



İki-Foton Mikroskopi Görüntülerinde Dendrit Dikenlerinin Otomatik Olarak Bölütlendirilmesi, Sınıflandırılması ve Takibi için Olasılık ve Makine Öğrenmesi Temelli Yöntemler

Program Kodu: 1001

Proje No: 113E603

Proje Yürütücüsü: Doç. Dr. Devrim Ünay

Araştırmacılar:

Doç. Dr. Müjdat Çetin

Danışmanlar:

Dr. Ali Özgür Argunşah (Yurtdışı)

Doç. Dr. Inbal Israely (Yurtdışı)

Bursiyerler:

Ertunç Erdil

Muhammad Usman Ghani

Naeimeh Atabakilachini

Bike Kılıç

Katkıda Bulunanlar:

Yrd. Doç. Dr. Lavdie Rada

Dr. Sümeyra Demir Kanık

Berktuğ Bayrak

Erdem Böcügöz

EKİM 2017

İZMİR

ÖNSÖZ

Bu rapor TÜBİTAK tarafından desteklemiş olan 113E603 numaralı “İki-Foton Mikroskopi Görüntülerinde Dendrit Dikenlerinin Otomatik Olarak Bölütlendirilmesi, Sınıflandırılması ve Takibi için Olasılık ve Makine Öğrenmesi Temelli Yöntemler?” başlıklı araştırma projesi kapsamında gerçekleştirilen bilimsel çalışmaları anlatmaktadır. Bu proje 1 Haziran 2014 tarihinde başlayıp 1 Haziran 2017 tarihinde sona ermiştir. Proje Doç Dr. Devrim Ünay tarafından İzmir Ekonomi Üniversitesi’nde yürütülmüştür. Proje çalışmalarına Sabancı Üniversitesi, Bahçeşehir Üniversitesi, ve Portekiz’deki Champalimaud Sinirbilim Programı’ndan bilim insanları katkıda bulunmuştur. Proje boyunca dergi makaleleri ve konferans bildiri-leri üreten önemli akademik katkılar yapılmış, doktora ve yüksek lisans tezleri yazılmış, ve sinirbilim alanındaki araştırmacıların kullanımına yeni veri işleme algoritmaları ve araçları sunulmuştur.

TÜBİTAK’a bu projeye sağladığı destek için teşekkür ediyoruz.

Devrim Ünay

İzmir, Ekim 2017

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	5
2.1 Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi	5
2.1.1 Dendrit Dikenlerinin İki Boyutta Bölütlenmesi	5
2.1.2 Dendrit Dikenlerinin Üç Boyutta Bölütlenmesi	5
2.1.3 Şekil Ön Bilgisi Kullanan Bölütleme Yöntemleri	6
2.2 Şekil Analizi	8
2.2.1 Sınıflandırma	9
2.2.2 Şekil Varyasyonlarının Sürekliliği	9
2.2.3 Önceki Çalışmalar	10
2.2.4 Çok Katmanlı Öğrenme	11
2.2.5 Doğrusal Gösterim	12
2.2.6 Ayrık Normal Şekil Modelleri (DNSM)	15
2.3 Dendrit Dikenlerinin Tespiti, Takibi ve Dinamik Bölütlenmesi	17
2.3.1 Diken Tespiti	17
2.3.2 Diken Takibi	18
2.3.3 Dinamik Bölütleme	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1 Veri Toplanması ve Ön-İşleme	21
3.1.1 Veri Toplanması	21
3.1.2 Ön-İşleme	23
3.1.3 Elle İşaretleme	23
3.2 Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi	23

3.2.1 İki-foton Mikroskopi Görüntülerindeki Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi için Ortak bir Sınıflandırma ve Bölütleme Yaklaşımı	24
3.2.2 Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi için Parametrik Olmayan Ortak Şekil ve Öznitelik Yoğunluk Kestirimi	30
3.2.3 Üç Boyutlu Dendrit Dikenlerinin Elle Bölütlenmesi için bir Araç Oluşturulması	34
3.2.4 Üç Boyutlu Dendrit Dikenlerinin Yeğlilik Bilgisi Kullanarak Bölütlenmesi	35
3.2.5 Üç Boyutlu Dendrit Dikenlerinin Parametrik Olmayan Şekil Ön Bilgisi Kullanılarak Bölütlenmesi	38
3.2.6 Dendrit Dikenlerinin Şekil, Yeğlilik ve Bağlam Ön Bilgileri Kullanılarak Bölütlenmesi	40
3.3 Dikenlerin Şekillerine göre Sınıflanması ve Topak Analizi	42
3.3.1 Diken Şekil Analizi için Morfolojik Öz Nitelikler	42
3.3.2 Çekirdek Yoğunluk Kestirme	48
3.3.3 Şekil ve Görünüm Öz Nitelikleri Tabanlı Yaklaşım	50
3.3.4 Doğrusal Temsil Tabanlı Yaklaşım	53
3.3.5 Çok katmanlı Öğrenme Temelli Yaklaşımlar	55
3.3.6 Derin Öğrenme Tabanlı Yaklaşım	57
3.3.7 Kümeleme	59
3.4 Dendrit Dikenlerinin Takibi ve Dinamik Bölütlenmesi	60
3.4.1 Diken Tespiti	60
3.4.2 Diken Takibi	66
3.4.3 Dinamik Bölütleme	71
4. BULGULAR	79
4.1 Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi	79
4.1.1 İki-foton Mikroskopi Görüntülerindeki Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi için Ortak bir Sınıflandırma ve Bölütleme Yaklaşımı Sonuçları	79
4.1.2 Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi için Parametrik Olmayan Ortak Şekil ve Öznitelik Yoğunluk Kestirimi Sonuçları	81
4.1.3 Üç Boyutlu Dendritik Dikenlerin Yeğlilik Bilgisi Kullanarak Bölütlenmesi Sonuçları	83

4.1.4 Üç Boyutlu Dendritik Dikenlerin Parametrik Olmayan Şekil Ön Bilgisi Kullanılarak Bölütlenmesi Sonuçları	85
4.1.5 Dendritik Dikenlerin Şekil, Yeğlilik ve Bağlam Ön Bilgileri Kullanılarak Bölütlenmesi Sonuçları	89
4.2 Dikenlerin Şekillerine göre Sınıflanması ve Topak Analizi	90
4.2.1 Sınıflandırma Sonuçları	90
4.2.2 Kümeleme Sonuçları	98
4.3 Dendrit Dikenlerinin Tespiti, Takibi ve Dinamik Bölütlenmesi	103
4.3.1 Diken Tespiti Sonuçları	103
4.3.2 Diken Takibi Sonuçları	107
4.3.3 Dinamik Bölütlenme Sonuçları	111
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	125
6. KAYNAKLAR	129
EKLER	143
Ek-1: Ters-Evrişim Yaklaşımı ile Mikroskopi Görüntülerinin İyileştirilmesi	143

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	En büyük yeğlilik izdüşümü yöntemiyle 2B görüntüye indirilmiş örnek bir iki-foton mikroskopi görüntüsü.	7
Şekil 2	Diken sınıfları: Mantar, Gүdük, İnce, Filopodya (Soldan Sağa). Yeğlilik ve karşılık gelen elle bölütlemeler her bir diken sınıfı için gösterilmiştir. . . .	9
Şekil 3	Keskin ve yumusak politoplarla elde edilmiş DNSM şekil temsili.	16
Şekil 4	Soldan sağa: İlgi alanı bölgesi, başlangıç çevriti, diken baş bölütlemesi $\mu = 1$, diken baş bölütlemesi $\mu = 0.5$	25
Şekil 5	Mantar ve güdük diken sınıflarından örnekler içeren eğitim veri kümesi. İlk satır: Uzman tarafından elle yapılmış bölütlemeler. İkinci satır: İlk satır-daki bölütlemeler karşılık gelen yeğlilik görüntüleri.	26
Şekil 6	Soldan sağa: ilk bölge, ikinci bölge.	27
Şekil 7	Farklı özellik vektör kümelerinin görselleştirilmiş hali. Kırmızı renk boynu olan dikenleri, mavi renk ise boynu olmayan dikenleri göstermektedir.	27
Şekil 8	İlk satır: Hizalanmış diken boyun şekillerinden oluşan eğitim kümesi. İkinci satır: Diken baş bölgesi bölütlemesinden sonra oluşturulmuş diken şekillerinin eğitim kümesi. İlk satırdaki diken boyun bölütlemeleri Şekil 5'teki ilk 12 dikene aittir.	28
Şekil 9	İlk satır: mantar ve güdük örneklerden oluşan, Deney 1'de kullanılan, hizalanmış eğitim veri kümesi. Soldan sağa ilk 8 diken mantar, geri kalanlar güdük dikenlerdir. İkinci satır: boyun şekillerinden ve güdük dikenlerden oluşan, Deney 2'de kullanılan eğitim veri kümesi.	34
Şekil 10	Elle bölütleme aracının görüntüsü.	36
Şekil 11	En yüksek yeğlilik izdüşümü görüntüsünün gösterilmesi.	36
Şekil 12	Seçilen üç boyutlu dikenin bir kesiti "Current Slice" adı verilen pencerede gösterilir.	36
Şekil 13	Elle bölütlenmiş bir üç boyutlu dendritik diken kesiti.	37
Şekil 14	Üç boyutlu bir dendrit görüntüsüne ait tüm kesitler.	38
Şekil 15	Bazı dikenlere çember uydurulması.	43
Şekil 16	Uydurulan çemberin diken baş bölgesiyle kesişme durumu \Rightarrow NeckUzunluğu = 0.	44

Şekil 17	Boyun tabanına göre aday noktaların seçilmesi.	44
Şekil 18	Boyun taban noktaları seçimi.	45
Şekil 19	Boyun uzunluğu hesaplaması için en kısa yollar.	45
Şekil 20	Bazı dikenler için boyun yolları.	48
Şekil 21	Bazı dikenler için hizalanmış boyun yolları.	48
Şekil 22	2B olabilirlik oranı uzayında sınıflandırma karar bölgeleri.	51
Şekil 23	Veri kümesinden birkaç görüntü. (üst) yeğlilik görüntüleri, (alt) bölütlemeler. İlk 2 diken mantar, 3. diken güdük, 4. diken ise zayıf olarak işaretlenmiştir (Mesadi vd., 2015). Otomatik bölütleme sonuçları mükemmel değildir; bazen gereğinden büyük bazen de gereğinden küçük bölütleme problemi yaşanır. Yine de bölütleme sonuçları şekil tiplerini oldukça iyi gösterirler ve sınıflandırma için kullanılabilirler.	52
Şekil 24	HOG için kullanılan veri kümesinden bir kaç görüntü. Soldan sağa ilk diken zayıf, 2. ve 3. dikenler mantar, 4. diken ise güdük olarak etiketlenmişlerdir.	53
Şekil 25	Farklı temsile sahip algoritmalar kullanarak doğrusal temsil katsayılarının kestirilmesi.	55
Şekil 26	ISOMAP 2B öz nitelikleri: Diken baş çapı y eksenini boyunca, boyun uzunluğu da x eksenini boyunca değişir. DNSM bölütleme yönteminin sonuçları veri kümemizdeki bazı dikenler için verilmiştir.	57
Şekil 27	Ölçeklendirilmiş ve merkeze göre kesilmiş görüntülerden bir kaç örnek. Soldan sağa ilk ve ikinci dikenler mantar, üçüncü diken güdük ve dördüncü diken ise zayıftır.	58
Şekil 28	Orijinal görüntü (sol) ile nokta-doğrusal parça pekiştirme süzgeci sonucunun karşılaştırılması.	65
Şekil 29	Ardışık zaman verisinde SIFT temelli imge çakıştırma. Hizalanmamış veri (sol) ve SIFT temelli çakıştırma sonucu.	67
Şekil 30	ICP ve SIFT temelli yöntemlerle eşleştirilen dikenlerin merkezlerinin zamana bağlı hareketi.	68

Şekil 31	Ardışık iki görüntüde önerdiğimiz yöntem ile elde edilen takip sonucuna örnek. Görünmeye devam eden yani takibi ve eşleştirilmesi başarıyla gerçekleştirilen (sarı) ile $t = k + 1$ anında beliren (yeşil), tespit edilemeyen (kırmızı) ya da yeniden beliren (mavi) dikenler işaretlenmiştir.	69
Şekil 32	Bir dendritin ardışık zaman noktalarındaki iki foton mikroskopi görüntüleri.	72
Şekil 33	Farklı dikenlere ait ilk (üstte) ve ikinci zaman noktalarındaki elle bölütlemeler.	73
Şekil 34	Soldan sağa Diken 1, Diken 4, Diken 15, Diken 18 ve Diken 22 dikenlerine ait görsel bölütleme sonuçları. İlk satır: Önerilen yöntem. İkinci satır: Kim vd. (2007a)	81
Şekil 35	Dice ölçütünün dikenler arası benzerliği ölçmede anlamlı bir sonuç vermediği bir örnek.	81
Şekil 36	Deney 2’de dendritik diken 1, 3, 11, 25 ve 26’da elde edilmiş bazı görsel bölütleme sonuçları. İlk satır: Yeğlilik öznitelikleri ile önerilen yöntem, ikinci satır: Geometrik öznitelikleri ile önerilen yöntem, üçüncü satır: Erdil vd. (2015), dördüncü satır: Erdil vd. (2015).	83
Şekil 37	Üç boyutlu bir dendritik dikenin ardışık 6 kesitindeki bölütleme sonuçları.	86
Şekil 38	Üç boyutlu bir dendritik dikenin ardışık 6 kesitindeki bölütleme sonuçları.	87
Şekil 39	Eğitim veri kümesinden güdük (1. ve 2. satırlar) ve mantar (3. ve 4. satırlar) dendritik diken sınıfına ait birer 3B dendritik diken örneği. Her bir satırdaki 2B görüntüler, soldan sağa 3B dendritik dikenin z eksenindeki dilimlerini gösterir.	88
Şekil 40	Güdük dendritik diken sınıfına ait bir 3B dendritik diken test görüntüsüne ait görsel sonuç. Her bir satırdaki 2B görüntüler, soldan sağa 3B dendritik dikenin z eksenindeki dilimlerini gösterir. İlk satır: yeğlilik görüntüsü, ikinci satır: uzman bölütlemesi, üçüncü satır: önerilen yöntem, dördüncü satır: Chan ve Vese (2001) yöntemi.	89
Şekil 41	Mantar dendritik diken sınıfına ait bir 3B dendritik diken test görüntüsüne ait görsel sonuç. Her bir satırdaki 2B görüntüler, soldan sağa 3B dendritik dikenin z eksenindeki dilimlerini gösterir. İlk satır: yeğlilik görüntüsü, ikinci satır: uzman bölütlemesi, üçüncü satır: önerilen yöntem, dördüncü satır: Chan ve Vese (2001) yöntemi.	90

Şekil 42	2B olabilirlik oranı uzayı DNSM+HOG+InfoGain kullanarak DataA üzerinde elde edilmiştir. Daha iyi görsellik için sıklık grafiği üzerine transparanlık ekledik. Transparanlık sayesinde, farklı şekil örneklerinin farklı renklerin karışımı ile oluşan ızgara üzerinde yayılmasını görebiliriz.	97
Şekil 43	HOG öz nitelikleri ile elde edilmiş kümelerin ortalama görüntüleri. . . .	100
Şekil 44	HOG öz nitelikleri ile küme 1 ve 4 de kümeleneşmiş dikenlerin yeğinlik (üst) ve karşılık gelen elle işaretlenmiş görüntüleri (alt).	101
Şekil 45	DNSM öz nitelikleri kullanılarak oluşturulmuş kümelerin ortalama görüntüleri.	102
Şekil 46	DNSM temsili ile 1 kümesine atanmış bazı dikenlerin yeğinlik (üst) ve karşılık gelen elle bölütlenmiş görüntü (alt).	103
Şekil 47	Morfolojik öz nitelikler kullanılarak elde edilmiş kümelerdeki ortalama görüntüler.	104
Şekil 48	Morfoloji tabanlı öz nitelikler kullanılarak elde edilmiş küme 3 ve küme 4'te bulunan bazı dikenlere ait yeğinlik (üst) ve elle bölütleme görüntüleri (alt).105	105
Şekil 49	HOG+DNSM öz nitelikleri kullanarak elde edilen kümelerin ortalama görüntüleri.	106
Şekil 50	HOG+DNSM tabanlı öz nitelikler kullanarak elde edilmiş kümelerde bulunan bazı dikenlere ait yeğinlik (üst) ve elle bölütleme görüntüleri (alt). .	107
Şekil 51	Bir dendrit dikeninin nokta pekiştirme temelli tespiti ve watershed-etkileşimli bölütlenmesi.	108
Şekil 52	Bir dendrit dikeninin SIFT temelli tespiti ardından watershed-etkileşimli bölütlenmesi.	109
Şekil 53	Bir konfokal mikroskopi görüntüsünde örnek sonuç. Sol: Yöntem 1, nokta pekiştirme temelli diken tespiti ve watershed-etkileşimli bölütleme. Sağ: Yöntem 2, SIFT temelli diken tespiti ve watershed-etkileşimli bölütleme. . .	109
Şekil 54	SIFT temelli yaklaşım olan Yöntem 2 (solda) ile Yöntem 3'ün (nokta pekiştirme ile Yöntem 2'yi birleştiren yaklaşım) diken tespit başarımlarının iki farklı veride görsel karşılaştırılması. $\alpha = 3$ seçilmiştir.	110

Şekil 55	NeuronIQ web sayfasından alınan görüntüde varysayılan parametre değerleri ile NeuronIQ kullanılarak (sol), nokta pekiştirme ve watershed bölütleme kullanılarak (orta), SIFT ve watershed bölütleme kullanılarak elde edilen sonuçlar.	111
Şekil 56	NeuronIQ'nun (sol) başarısız, SIFT temelli yöntemimizin ise başarılı olduğu bir görsel sonuç. Yöntemimiz SIFT özneliklerini kullanarak SVM sınıflayıcı ile diken tespiti yapar (orta görsel. kırmızı yıldızlar dikenleri mavi daireler diken olmayanları gösterir) ve tespit edilen dikenlerin bölütlenmesini gerçekleştirir (sağ).	111
Şekil 57	Orijinal (sol) ve yeniden bölütleme yaklaşımlarımız ile ilk dört zaman serisinde elde edilen takip başarımı. Rakamlar her dikenin takip oranını belirtir.	112
Şekil 58	Birinci zaman serisinin farklı anlarına ait takip bilgisinden faydalanılarak yeniden tespit edilip bölütlenmiş dikenler (sınırları kırmızı işaretli olanlar). .	113
Şekil 59	İkinci zaman serisinin farklı anlarına ait takip bilgisinden faydalanılarak yeniden tespit edilip bölütlenmiş dikenler (sınırları kırmızı işaretli olanlar). .	113
Şekil 60	Üçüncü zaman serisinin farklı anlarına ait takip bilgisinden faydalanılarak yeniden tespit edilip bölütlenmiş dikenler (sınırları kırmızı işaretli olanlar). .	113
Şekil 61	Dördüncü zaman serisinin farklı anlarına ait takip bilgisinden faydalanılarak yeniden tespit edilip bölütlenmiş dikenler (sınırları kırmızı işaretli olanlar). .	114
Şekil 62	Dendritik diken veri kümesi. İlk satır: ilk zaman noktasına ait elle bölütlemeler, ikinci satır: ikinci zaman noktasına ait elle bölütlemeler, üçüncü satır: ikinci zaman noktasına ait yeğinlik görüntüleri.	114
Şekil 63	Görsel bölütleme sonuçları. Birinci sütun önerilen yöntem ile, ikinci sütun ise Kim vd. (2007a) ile elde edilmiştir.	117
Şekil 64	Benzetimli ters evrişim.	145
Şekil 65	Örnek mikrotane görüntüsü (en yüksek yoğunluk izdüşümü uygulanmıştır).	146
Şekil 66	Örnek bir mikrotane görüntüsünde ters evrişim sonucu.	147

TABLO LİSTESİ

Tablo 1	Proje süresince toplanan veriler	22
Tablo 2	Bölütlemeler ile elde edilmiş Dice ölçütü sonuçları. Diken 1 ve Diken 17 arası boynu olan dikenler (mantar), geri kalanlar boynu olmayan dikenler (güçük).	80
Tablo 3	34 dendritik diken üzerinde elde edilen sayısal sonuçlar. Sol: <i>Deney 1</i> Sağ: <i>Deney 2</i> . Diken 1-24 arası mantar, Diken 24-34 arası güçük dikenlerdir.	84
Tablo 4	Dice ölçütü sonuçları.	85
Tablo 5	Dice ölçütü sonuçları.	89
Tablo 8	Sınıflandırma sonuçları, öz nitelik çıkarımlarının ve sınıflandırma yöntemlerinin karşılaştırılması.	93
Tablo 6	Dice ölçütü sonuçları.	118
Tablo 7	Dendritik dikenleri sınıflandırılması için oran kriteri.	119
Tablo 9	Farklı sınıfların ayrılması için iki örnek iki boyutlu Kolmogorov-Smirnov Two-sample testi sonuçları. Boşluk hipotezini farklı dağılımlar aynı ortalama-ya sahip olacak şekilde aldık ki bu her durumda reddedilmiştir. Bu sonuç farklı şekil sınıflarının varlığını destekler.	119
Tablo 10	Kümeleme sonuçları ve uzman etiketlerinin karşılaştırılması.	119
Tablo 11	İlk iki diken tespit yönteminin başarımı. TP: gerçek doğru, FP: hatalı doğru.	120
Tablo 12	Yöntem 3'ün farklı α değerleri için diken tespit başarımı.	120
Tablo 13	Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin birinci veri setindeki başarımı.	121
Tablo 14	Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin ikinci veri setindeki başarımı.	121
Tablo 15	Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin üçüncü veri setindeki başarımı.	121
Tablo 16	Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin dördüncü veri setindeki başarımı.	122
Tablo 17	Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin beşinci veri setindeki başarımı.	122

Tablo 18	Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin altıncı veri setindeki başarımı.	122
Tablo 19	Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin yedinci veri setindeki başarımı.	123
Tablo 20	Dinamik bölütleme yöntemlerinin Dice ölçütü ile elde edilen sonuçları.	124

ÖZET

Nöronların dendritleri üzerindeki dikenlerin (spine) yapılarının ve yapısal dinamiklerinin analizi, öğrenme, hafıza oluşumu ve ilgili patolojilerin temelini oluşturan mekanizmaların aydınlatılmasında önem taşımaktadır. Son yıllarda bu yapıları görüntüleyen teknolojilerde elde edilen önemli ilerlemeler sonucunda, analiz edilmesi gereken veri miktarı çok artmıştır. Bahsedilen analizler sinirbilim araştırmacıları tarafından çoğunlukla elle yapıldığından hem çok vakit almakta hem de yorgunluğa/dikkatsizliğe bağlı insan hatası içermektedir. Bunun bir sonucu olarak dikenlerin yapısal, uzamsal, ve zamansal değişimlerini hızlı ve güvenilir bir şekilde analiz etmeye yarayacak görüntü işleme araçlarının geliştirilmesi son yıllarda önemli bir araştırma konusu olarak ortaya çıkmıştır.

Bu projenin konusu dinamik plastisite çalışmalarına olanak tanıyan iki-foton mikroskopisi verilerinin otomatik olarak işlenmesi ve bu verilerden bilgi çıkarılması için algoritma geliştirme üzerinedir. Projede dendrit dikenlerinin analizi için olasılık ve makine öğrenmesi temelli yeni görüntü işleme algoritmaları geliştirilmiştir. Daha somut olarak, projede dendrit dikenlerinin iki-foton mikroskopisi görüntülerinden otomatik olarak (1) tespiti, (2) bölütlenmesi, (3) takibi ve dinamik olarak bölütlenmesi, (4) şekil analizi (sınıflandırılması ve kümelenmesi) için ayrı ayrı ve bu problemlerin bazıları için birden fazla olmak üzere yeni yöntemler ve akademik katkılar üretilmiştir. Projedeki çalışmalara dayalı olarak şu ana kadar 3 dergi makalesi ve 15 konferans bildirisi yayımlanmış, 1 doktora ve 2 yüksek lisans tezi üretilmiştir. Ayrıca 1 dergi makalesi değerlendirme ve 5 dergi makalesi de yazım aşamasındadır. Yayınlara ek olarak ortaya çıkan diğer önemli bir çıktı ise projede geliştirilen analiz yöntemlerini içeren Matlab temelli, kullanıcı dostu grafik arayüzlü bir yazılım aracıdır. Bu yazılım aracını araştırmacılar projenin <http://spines.sabanciuniv.edu/> web sitesi üzerinden temin edip kullanabileceklerdir.

Proje Doç.Dr. Devrim Ünay'ın (İzmir Ekonomi Üniversitesi) yürütücülüğünde Sabancı Üniversitesi, Bahçeşehir Üniversitesi ve Portekiz'deki Champalimaud Sinirbilim Programı'nın ortak çalışmaları ile gerçekleştirilmiştir.

ABSTRACT

Recent findings on the structural dynamics and functional plasticity of dendritic spines (small protrusions from a neuron's dendrite) in pyramidal neurons have shown that density and morphology of spines are correlated with memory and learning. Thus, understanding how activity correlates with structural changes of spines may provide an important link to elucidating how information is stored in the brain, and may contribute to our understanding of several neurodevelopmental disorders, such as Fragile-X and neurodegenerative diseases, which involve abnormalities in both spine structure and function. Recent advances in the field of neuron imaging together with the increased number of studies focused on neuronal structure leads to the collection of vast amount of data to be analyzed, which is conventionally realized manually by neuroscientists. However, such manual analysis is time-consuming and prone to human error. As a result, developing image analysis tools for fast, robust, and accurate analysis of structural, spatial, and temporal changes in dendritic spines has recently emerged as a challenging research topic.

The aim of this project is to develop algorithms for automated processing of and information extraction from two-photon microscopy data, which can enable studies on dynamic plasticity. Accordingly, in this project new probabilistic and machine-learning based image processing algorithms have been developed for the analysis of dendritic spines. More specifically, we have developed novel methods and academic contributions for automated (1) detection, (2) segmentation, (3) tracking and dynamic segmentation, and (4) shape analysis (classification and clustering) of dendritic spines from two-photon microscopy images. Our project work has given birth to 3 journal papers and 15 conference proceedings, as well as 1 Ph.D. and 2 master's theses. Also, 1 journal paper is under review and 5 journal papers are in preparation. As another important output in addition to the publications, the algorithms developed in this project are included in a Matlab-based toolbox with an easy-to-use graphical user interface. Researchers may obtain and use this toolbox from the project website <http://spines.sabanciuniv.edu/>.

The project has been lead by Assoc. Prof. Devrim Ünay (İzmir University of Economics) and realized as a collaborative effort between Sabancı University, Bahçeşehir University, and Champalimaud Neuroscience Programme of Portugal.

1. GİRİŞ

İki-foton mikroskopi görüntüleme yöntemi kullanılarak elde edilen nöron görüntülerindeki dendrit dikenlerinin (spine) zaman içindeki morfolojik ve hacimsel değişimlerinin analizi, sinirbilimi alanındaki araştırmacılar açısından önem taşımaktadır. Dikenlerin analizi geleneksel olarak sinirbilimi araştırmacıları tarafından elle işaretleme yoluyla yapıldığından yorucu ve zaman alıcıdır. Diken analizini kolaylaştıracak, hızlandıracak bilgisayar temelli otomatik/yarı-otomatik yöntemlere ihtiyaç vardır. Bu gözlemin ışığında, bu projede iki-foton mikroskopi görüntülerinde dendrit dikenlerinin otomatik bölütlenmesi, sınıflandırılması ve takibi için olasılık ve makine öğrenmesi temelli yöntemler geliştirilmiştir.

Projede gerçekleştirilen çalışmalar aşağıda listelenmiştir.

1. Şekil ön bilgisi daha önce zorlu biyomedikal görüntü işleme problemlerinde başarıyla kullanılmıştır. Fakat, şekil dağılımı birden fazla şekil sınıfı içeriyor ise şekil ön bilgisinin etkili kullanımı daha zorlu hale gelir. Bu durumlarda, bölütlenecek şeklin sınıfını bilmek bölütleme sürecine yardımcı olabilir; bu tabii ki bilinmeyen bir ön bilgidir. Bölüm 3.2.1’de, dendrit dikenlerinin bölütlenmesi için, bölütleme sırasında dendrit dikeninin sınıf bilgisini bulan ve geri kalan bölütleme sürecini bu bilgiye göre uyarlayan ortak bir sınıflandırma ve bölütleme yaklaşımı önermekteyiz. Önerdiğimiz yaklaşımı dendrit dikenini içeren iki-foton mikroskopi görüntülerine uyguladık ve parametrik olmayan şekil ön bilgisini kullanan mevcut bir bölütleme yöntemiyle karşılaştırdık. Görsel ve sayısal sonuçlar, önerdiğimiz yöntemin dendrit dikenlerinin bölütlenmesinde etkin olduğunu göstermektedir.
2. Çok doruklu şekil yoğunluk kestirimi bir çok biyomedikal imge bölütleme probleminde zorlu bir problemdir. Literatürdeki mevcut yöntemler şekil dağılımını, şekil uzayına Parzen yoğunluk kestiricisini genişleterek kestirir. Bu tür yoğunluk kestirimi şekiller arasındaki uzamsal uzaklık ile açıklanır ki bu, şekil yoğunluğunun çok doruklu ve karmaşık olduğu ve yeğlilik bilgisi bölütlenecek nesneyle ilgili kısıtlı bilgi sağladığı durumlarda doğru bölütlemeyi garanti etmez. Bu durumlarda, ayırt edici öznitelikler kullanmak ve ortak şekil ve öznitelik kestirimi yapmak bölütleme sürecine katkıda bulunabilir. Bölüm 3.2.2’de, Parzen yoğunluk kestiricisi kullanarak ortak şekil ve öznitelik

kestirimi yapan bir bölütleme yöntemi önermekteyiz. Bu yöntemde yoğunluk kestirimi, şekiller ve öznitelikler arasındaki uzaklıklar ile temsil edilmektedir. Öğrenilen ortak şekil ve öznitelik dağılımı, sonsal dağılımın en büyüklenmesiyle problemi olarak temsil edilir ve ortaya çıkan en iyileme problemi etkin çevritler kullanarak çözülür. Çok doruklu şekil yoğunluğu içeren, 2 fotonlu mikroskopi görüntülerindeki dendritik dikenlerin bölütlenmesi üzerinde deneysel sonuçlar sunulmuştur.

3. Dendritik dikenlerin doğru bölütlenmesi, bu analizleri daha gürbüz ve güvenilir yapacak otomatik araçların geliştirilmesi sürecinin önemli bir parçasıdır. Bölüm 3.2.5'te, 3B dendritik dikenlerin bölütlenmesi için parametrik olmayan şekil ön bilgisi kullanan bir yöntem önermekteyiz. Önerdiğimiz yöntem, verilen bir eğitim kümesindeki şekillere Parzen yoğunluk kestiricisi uygulayarak önsel şekil dağılımını öğrenir. Daha sonra, öğrenilen önsel şekil dağılımı ve veri dağılımı Bayesçi çerçevede birleştirilerek sonsal şekil dağılımı elde edilir. Son olarak, elde edilen sonsal dağılımı en büyükleyen bölütleme sonucu etkin çevritler kullanılarak bulunur. Elde edilen ön sonuçlar, şekil ön bilgisi kullanmanın daha iyi 3B dendritik diken bölütlenmeleri elde edilmesine yardımcı olduğunu göstermektedir.
4. Bölüm 3.2.6'da, 3B dendritik dikenlerin bölütlenmesi için parametrik olmayan şekil ön bilgisinin yanında yeğnlik ve bağlam ön bilgilerini de kullanan bir yöntem önermekteyiz. Önerdiğimiz yöntem, verilen bir eğitim kümesindeki şekillere Parzen yoğunluk kestiricisi uygulayarak önsel şekil dağılımını öğrenir. Öğrenilen şekil dağılımı, yine eğitim veri kümesinden öğrenilen yeğnlik ve bağlam dağılımları ile birleştirilerek Bayesçi yaklaşımla sonsal dağılım elde edilir. Son olarak, elde edilen sonsal dağılımı en büyükleyen bölütleme sonucu etkin çevritler kullanılarak bulunur. Elde edilen ön sonuçlar, şekil, yeğnlik ve bağlam bilgisini birlikte kullanmanın, diğer yöntemlere göre daha iyi bölütleme sonuçlarının elde edilmesine yardımcı olduğunu ortaya koymaktadır.
5. Dendrit dikenlerinin şekillerine göre sınıflanması ve topak analizi için şekil ve görünüm öznitelikleri temelli (Bölüm 3.3.3), doğrusal temsil temelli (Bölüm 3.3.4), çok katmanlı öğrenme temelli (Bölüm 3.3.5), derin öğrenme temelli (Bölüm 3.3.6) ve kümeleme temelli (Bölüm 3.3.7) yaklaşımlar önermekteyiz. Elde edilen sonuçlar, önerdiğimiz yöntemlerden şekil ve görünüm öznitelikleri temelli olanın ve derin öğrenme (AlexNet)

temelli olanın başarımının diğer tüm yöntemlerin başarımından daha yüksek olduğunu göstermiştir.

6. Dendrit dikenlerinin iki-foton mikroskopi görüntülerinde otomatik analizi için dikenlerin zaman serisi verisinde başarılı bir şekilde tespit ve takip edilmeleri gereklidir. Bu hedefle bölüm 3.4.1’de üç yeni diken tespit yöntemi ve bölüm 3.4.2’de de tespit ve takip sonuçlarını birbirinden faydalanacak şekilde kullanarak kaybolan, beliren ve tekrar beliren dikenleri bulabilen yeni bir otomatik yöntem önermekteyiz. Yöntemlerin başarımlarını hem uzmanların elle işaretlemeleri hem de ticari olmayan NeuronIQ yazılımının sonuçları ile karşılaştırdık. Elde edilen sonuçlar, önerdiğimiz yöntemlerin zaman serilerinde dikenleri hızlı ve doğru olarak tespit edebildiğini ve kaybolan, beliren, tekrar beliren dikenleri bulabildiğini ortaya koymaktadır.
7. Bölüm 3.4.3’te önceki zaman noktasındaki bölütleme bilgisinden (bağlaşik şekil önsel bilgisi olarak) faydalanarak diken sınırının daha gürbüz ve doğru olarak bulunmasını sağlayan yeni bir dinamik bölütleme yöntemi önermekteyiz. Gerçekleştirdiğimiz deneylerin sonuçları, önerdiğimiz dinamik bölütleme yönteminin literatürdeki geleneksel bölütleme yaklaşımlarına daha yüksek başarıma ulaştığını göstermektedir.
8. Görüntüleme tekniğinin doğası gereği iki-foton mikroskopinin sinyal-gürültü oranı konfokal mikroskopiye göre daha düşüktür. Bu nedenle literatürde iki-foton mikroskopi görüntülerinde otomatik analizin ilk adımı olarak ters-evrişim temelli görüntü iyileştirilme çalışmaları da yapılmıştır. Görüntülerin ters-evrişim temelli iyileştirilmesi için yaptığımız bir ön çalışma raporun Ekler kısmında sunulmuştur. Bu tip bir çalışma proje teklifimizde önerilen işlerden birisi değildir ve proje ekibinin ek çabası ile gerçekleştirilmiştir.

Proje, İzmir Ekonomi Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü’nden Doç. Dr. Devrim Ünay’ın yürütücülüğünde bir araştırmacı, danışmanlar ve bursiyerlerden oluşan bir ekip tarafından tamamlanmıştır. Çalışmanın veri toplanması ve ön-işleme kısımları Portekiz’deki Champalimaud Sinirbilim Programı’nda, yöntemlerin geliştirilmesi kısımları ise Sabancı Üniversitesi, Bahçeşehir Üniversitesi ve İzmir Ekonomi Üniversitesi’nde gerçekleştirilmiştir.

Bu raporda Bölüm 2’de dendrit dikenlerinin tespiti, bölütlenmesi, takibi ve şekil analizi konularındaki literatür taraması sunulmuştur. Bölüm 3’te projede geliştirilen yöntemler ayrıntılarıyla açıklanmıştır. Bölüm 4’te önerilen yöntemlerin deney sonuçları ve ilgili gözlemler detaylandırılmıştır. Bölüm 5 ise tartışma ve sonuç kısmını içerir. Son olarak, raporun Ekler kısmında mikroskopi görüntülerinin iyileştirilmesi için ters-evrişim temelli ön-çalışmalarımız sunulmuştur.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi

Bu projede, hem 2B hem de 3B dendritik dikenlerin bölütlenmesi için parametrik olmayan şekil ön bilgisini kullanan yöntemler geliştirilmiştir. O yüzden bu bölümde, literatürdeki 2B ve 3B dendritik dikenlerin bölütlenmesi için önerilen yöntemler ve farklı uygulamalar için önerilmiş şekil tabanlı bölütleme yöntemleri için literatür özetleri ayrı bölümlerde verilmiştir.

2.1.1 Dendrit Dikenlerinin İki Boyutta Bölütlenmesi

Dendritik dikenler, baş ve boyun adı verilen iki temel bölümden oluşur. Literatürde, dendritik dikenler genellikle üç gruba ayrılır: mantar (mushroom), ince (thin) ve güdük (stubby). Ancak, daha kaba bir sınıflandırma iki diken sınıfı açığa çıkarır: boynu olanlar ve olmayanlar (Nimchinsky vd., 2002). Güdük dikenler sadece baş bölümünden oluşur ve sadece yeğinlik ve konum bilgileri kullanılarak bölütlenebilir. İki-foton mikroskopi görüntülerinde, dikenin boyun bölgesini içeren alan genellikle çok düşük karşıtlığa sahip ve bulanık olduğu için, boynu olan dendrit dikenlerinin bölütlenmesi daha zorlu bir problemdir. Dolayısıyla, dikenin boyun bölgesiyle ilgili bir şekil ön bilgisi başarılı bir bölütleme için gereklidir.

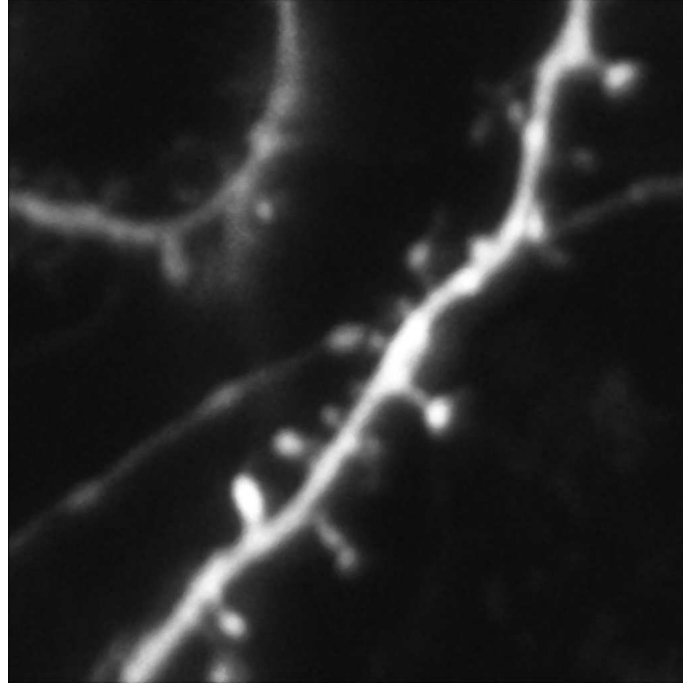
Literatürde, iki-foton mikroskopi görüntülerindeki dendritik dikenlerin bölütlenmesi için çeşitli yöntemler önerilmiştir. Bai vd. (2007) ve Cheng vd. (2007) çalışmalarındaki gibi eşikleme temelli yöntemler, uygun eşik değerini bulmanın zor olmasının sıkıntısını çekerler. Dendrit dikeninin boynunun bulunduğu alan genellikle düşük yeğinlik değerine sahip olduğu için, dikenin boyun bölgesiyle birlikte bölütleyecek bir eşik değerinin bulunması mümkün değildir. Literatürdeki tüm mevcut bölütleme yöntemlerinin temel darboğazı, sadece yeğinlik bilgisini kullanıyor olmalarıdır. Bu yüzden, farklı sınıflardaki dendrit dikenlerinin bölütlenmesi için kolaylıkla kullanılamazlar. Basu vd. (2016) bu problemlerin üstesinden yarı otomatik bir bölütleme yöntemi önererek gelmeyi amaçlamıştır. Fakat yarı otomatik yöntemleri uygulamak da, otomatik olmayan yöntemler gibi, zaman alan ve insan hatasına yol açabilecek bir süreçtir. Cheng vd. (2010) önerdiği Markov rassal alanları temelli yöntemde, dendritik dikenlerin doğru olarak bölütlenmesinden çok kaba bir bölütleme yaparak bu bilgiyi dikenlerin tespiti için kullanmıştır.

2.1.2 Dendrit Dikenlerinin Üç Boyutta Bölütlenmesi

Nöronal yapılar ve bu yapıların görevleri arasındaki ilişki, mikroskopi görüntüleme tekniklerinde son yıllarda yaşanan gelişmeler sayesinde, tek bir dendritik diken seviyesinde araştırılabilmektedir (Matsuzaki vd., 2004; Arvind vd., 2011). İki-foton-foton mikroskopi görüntüleme yöntemi, nöronların 3B ($x \times y \times z$) görüntülenmesine imkan tanımaktadır. Bu sebeple, analiz edilmek istenen görüntülerdeki dendritik dikenler de 3B yapılardır. Fakat, özellikle z boyutundaki çözünürlüğün çok düşük olmasından dolayı 3B dendritik dikenlerin bölütlenmesi zorlu bir problemdir. Bu sebeple, literatürdeki bir çok dendritik diken bölütleme algoritması 3B görüntüleri, en büyük yeğinlik izdüşümü yöntemiyle 2B görüntüye indirgeyip (bkz. Şekil 1), 2B dendritik dikenleri bölütlerler (Bai vd., 2007; Cheng vd., 2007; Erdil vd., 2012, 2015, 2013, 2016a). Gerçek şekilleri 3B olan dendritik dikenlerin 2B görüntülere indirgenerek bölütlenmesi, yapılacak olan dendritik diken şekil ve hacim analizlerinde hatalara yol açabilir. 3B görüntülerde yapılan çalışmalarda daha çok 3B görüntülerin geri çatılarak daha iyi görüntüler elde edilmesine ve bu görüntüler üzerinde dendritik diken bölütlemesi yapılmasına yoğunlaşılmıştır (Rodriguez vd., 2008; Wearne vd., 2005; Janoos vd., 2009). Geri çatma yapmadan, mevcut 3B görüntü üzerinde dendritik diken bölütlemesi yapan nadir yöntemlerden biri Zhang vd. (2010) tarafından, konfokal mikroskopi ile elde edilen görüntülerdeki dendritik dikenlerin bölütlenmesi için önerilmiştir. Bu yöntem, dendritik diken merkezlerini tespit ettikten sonra, hızlı yürüyüş (fast marching) (Sethian, 1996), yöntemiyle dendritik dikenleri bölütler. Konfokal mikroskopi ile elde edilen görüntüler z yönünde daha yüksek çözünürlüğe sahip olduğu için iki-foton mikroskopi görüntülerine göre daha kolay bir problem oluşturmaktadırlar. Fakat, konfokal mikroskopi sırasında görüntülenene hücre canlı olmadığı için, dendritik dikenlerin zaman içindeki değişimini görüntülemeye imkan tanımaz.

2.1.3 Şekil Ön Bilgisi Kullanan Bölütleme Yöntemleri

Bir ön bilgiyi bölütleme sürecine dahil etmeye çalışan ilk çalışmalardan biri, Kass vd. (1988) tarafından önerilen etkin çevritler modelidir. Etkin çevritler, eğrinin pürüzsüzlüğü ve uzunluğunun ceza olarak kullanıldığı genel bir düzenleyici terimi ön bilgi olarak kullanır. Bu ön bilgi, pürüzsüz ve kısa eğrilerin daha olası olduğu kabullenmesine dayanır (Kim vd., 2007a). Ancak, bir çok uygulamada bölütlenecek nesneye özel şekil ön bilgisi bir eğitim veri kümesi yardımıyla öğrenilebilir. Bu bağlamda Cootes vd. (1995) tarafından önerilen etkin şekil modelleri, şekil ön bilgisi kullanarak bölütleme yapan güçlü bir yöntemdir. Etkin şekil modelleri yönteminin farklı bölütleme problemlerine uygulanmış çeşitli varyasyonları ve bir inceleme



Şekil 1. En büyük yeğlilik izdüşümü yöntemiyle 2B görüntüye indirilmiş örnek bir iki-foton mikroskopi görüntüsü.

çalışması Van Ginneken vd. (2002); Milborrow ve Nicolls (2008); de Bruijne vd. (2003); Wang vd. (2002); Heimann ve Meinzer (2009) çalışmalarında bulunabilir.

Orijinal etkin şekil modellerinde şekiller, sınırları üzerinde alınan noktalar ile temsil edilir. Şekil varyasyonu, bu şekilde temsil edilmiş bir eğitim veri kümesinden temel parçacık analizi yöntemi ile oluşturulur. Temel parçacık analizi gibi bir doğrusal analiz aracı kullanan etkin şekil modelleri sadece tek doruklu şekil önsel dağılımının olduğu durumlarda kullanılabilir. Bir başka deyişle, orijinal etkin şekil modelleri eğitim kümesindeki şekillerin tek doruklu, Gauss benzeri, bir dağılımdan geldiği kabullenmesini yapar. Bu yüzden bu yöntemler, daha karmaşık (çok doruklu) şekil dağılımlarını modelleyemezler.

Çok doruklu şekil dağılımlarının öğrenilmesi için etkin şekil modelleri üzerinde çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (Cootes ve Taylor, 1999; Etyngier vd., 2007; Kirschner vd., 2011). Bu yöntemler Gauss karışımı (Cootes ve Taylor, 1999), çok katmanlı öğrenme (Etyngier vd., 2007) ve çekirdek temel parçacık analizi tabanlı (Dambreville vd., 2008) yöntemlerdir.

Ancak bu yöntemler çok karmaşık şekil varyasyonlarını modelleyemeyecek parametrik olasılık dağılımlarını kullanırlar (Zhang vd., 2012). Buna ek olarak, şekil sınırları üzerinden noktalar alarak oluşturulan şekil temsiline iki tane çok temel kısıtlaması vardır. İlki, bu temsili oluşturmak için şekil sınırları üzerinden noktaların işaretlenmesi zorlu ve zaman alan bir süreçtir. İkinci olarak ise bu temsiline şekillerdeki topolojik değişiklikleri temsil edecek şekilde kullanılması kolay bir işlem değildir. Bu gösterimin getirdiği zorlukları aşmak için seviye kümeleri tabanlı şekil ön bilgisi kullanan yöntemler önerilmiştir (Tsai vd., 2003; Bresson vd., 2006). Seviye kümeleri temsili üstü kapalı bir temsil olduğu için şekillerdeki topolojik değişikliklere kolaylıkla uyum sağlar (Amadiou vd., 1999; Jehan-Besson vd., 2003). Tsai vd. (2003) ve Bresson vd. (2006) tarafından önerilen yöntemlerde şekil varyasyonu seviye temsili üzerinde temel parçacık analizi yaparak öğrenilir. Ancak yukarıda da bahsettiğimiz gibi bu teknikler sadece küçük şekil varyasyonlarını temsil eder. Dolayısıyla çok doruklu şekil dağılımları temsil edilemez.

Çok doruklu şekil dağılımlarının öğrenilmesi için Kim vd. (2007a) ve Cremers vd. (2006) seviye kümeleri temsili ile parametrik olmayan şekil ön bilgisi kullanan yöntemler önermiştir. Bu yöntemler, şekil önsel dağılımını, evrilen çevrit ile eğitim kümesindeki şekiller arasındaki uzaklıklara Parzen yeğlilik kestiricisi uygulayarak kestirir. Bu fikirler aynı zamanda birden fazla nesnenin bölütlenmesi problemine için de geliştirilmiştir (Uzunbas vd., 2010). Parametrik olmayan şekil önsellerinin ilginç bir kullanımı Foulonneau vd. (2009) tarafından önerilmiştir. Bu çalışmada şekiller Legendre momentleri ile temsil edilir ve bu temsil kullanılarak şekil önsel dağılımını Parzen yeğlilik kestiricisi ile kestirilir. Legendre momentlerinin aynı zamanda içsel hizalama için de faydalı özellikleri vardır. Parametrik olmayan şekil önselleri öğrenme tabanlı veri terimleri ile birleştirilebilir (Chen ve Radke, 2009; Yang vd., 2013; Soğanlı vd., 2014). Parametrik olmayan şekil önsellerinin kullanıldığı bazı yeni çalışmalar ve bir inceleme çalışması Mesadi vd. (2015); Erdil vd. (2016b); Mesadi vd. (2017); Cremers vd. (2007); Wang vd. (2015); Kihara vd. (2016) referanslarında bulunabilir.

2.2 Şekil Analizi

Literatürde, dendritik diken şekillerinin farklı sınıflara mı sahip olduğu yoksa sürekli bir şekil varyasyonu şeklinde mi modellenmesi gerektiği tartışılan bir konudur. Bu projede, hem farklı sınıf hem de sürekli değişen şekil varyasyonları bakış açılarıyla tartışacağız.



(a) İki-foton mikroskopi ile elde edilmiş yeğlilik görüntüleri.

(b) Elle yapılmış bölütlemeler.

Şekil 2. Diken sınıfları: Mantar, Gүdük, İnce, Filopodya (Soldan Sağa). Yeğlilik ve karşılık gelen elle bölütlemeler her bir diken sınıfı için gösterilmiştir.

2.2.1 Sınıflandırma

Dendritik dikenler farklı şekil tiplerine sahiptirler ve araştırmacılar farklı morfolojik varyasyonların fonksiyonel rollerle veya gelişimsel aşamalarla orantılı olduğunu düşünürler (Parnass vd., 2000). Literatürde dendritik dikenler genel olarak dört sınıfa ayrılırlar: mantar, güdük, ince ve filopodya (Yuste, 2010; Son vd., 2011; Rodriguez vd., 2008; Chang ve Greenough, 1984; Peters ve Kaiserman-Abramof, 1970). Her sınıftan birer dendritik diken örneği Şekil 2’de verilmiştir. Mantar dikenler büyük yuvarlağımsı baş ve uzun boyun bölgelerine, ince dikenler küçük baş ve zayıf boyun bölgelerine sahipken güdük dikenler ya boyunsuz olur ya da boyunları çok küçüktür. Filopodya dikenler ise daha uzun boyun bölgesine sahipken net bir baş bölgesi yoktur (Yuste, 2010). Daha önce bahsettiğimiz gibi, farklı sınıflardaki dendritik dikenlerin dağılımı beyin bölgelerine göre farklılık gösterir. Ayrıca görüntüsü alınan hayvanın yaşına da bağlıdır. Örneğin, güdük dikenlerin doğum sonrası erken gelişme döneminde baskın olduğu bilinir fakat olgun hayvanlarda da bulunur (Yuste, 2010). Grutzendler vd. (2002) filopodya dikenlerin genç hayvanlarda yoğun olduğunu ve olgun hayvanlarda görülmediğini gözlemlemişlerdir. Olgunluk döneminde dendritik diken plastisiteleri önemli ölçüde azalır ve uzun süreli hafıza yeteneğine erişilir (Matus., 2000).

2.2.2 Şekil Varyasyonlarının Sürekliliği

Bir önceki bölümde anlatılan şekillerin sınıflandırılması bir çok çalışmada kullanılmıştır. Ancak, farklı şekil gruplarının olup olmadığı veya bunların şekillerin sürekliliği ile modellenmesinin gerekip gerekmediği hala açık bir sorudur. Ayrıca, Peters ve Kaiserman-Abramof (1970) kendi veri kümelerinde ara şekillerin de olduğunu ve bu şekillerin standart bir sınıfa

atanmasının zor olduğunu işaret etmişlerdir. Parnass vd. (2000) dendritik dikenlerin morfolojik gruplandırılmasının farklı sınıflar oluşturmadığını, onun yerine yaşam süreleri boyunca aldıkları farklı varyasyonlar olduğunu önermişlerdir. Dendritik dikenlerin morfolojik değişiklikleri sinapsal fonksiyonlar ve nöronsal aktiviteler ile ilgilidir. Bourne ve Harris (2007) ince dikenin sinapsal geliştirme ile mantar dikene geliştiğini raporlamışlardır.

Dendritik diken analizini sınıflandırma veya sürekli morfolojik varyasyonların modellenmesi problemi olarak görmek hala açık bir sorudur ve literatürde yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. Arellano vd. (2007) geleneksel diken sınıfları kullanılarak sınıflandırma yapmanın, ara morfolojik karakteristiklere sahip dikenler olduğu için mümkün olmadığını raporlamışlardır ve bu karakterize etme için morfolojik öz nitelikler kullanmışlardır. Spacek ve Hartmann (1983) bunun yanında, güdük-mantar arasında ve mantar-ince arasında iki ara diken sınıfı daha eklemişlerdir. Ruszczycki vd. (2012) tarafından yapılan dikenleri büyük ve küçük olmak üzere iki sınıfa ayırma önermesi daha iyi duyarlılığa yol açmıştır. Basu vd. (2016) kendi veri kümelerinde uzmanın etiketlemeleri yaptığı sırada bazı dikenlere etiket verirken emin olmadığını rapor etmişlerdir.

Wallace ve Bear (2004) kendi verilerindeki dikenlerde yapılan morfolojik ölçümlerin farklı diken sınıfları olma fikrini desteklemediğini iddia etmişlerdir. Diken baş yarı çapını ve uzunluğuna bakarak bunların sürekli bir dağılıma sahip olduğunu raporlamışlardır. Mancuso vd. (2013) sayısal analizlerin morfolojik parametrelere göre yapılmasını önermişler, bunları doğal gruplara ayırmışlar ve farklı gruplardaki dikenleri saymışlardır. Ruszczycki vd. (2012) standart bir sınıflandırma kuralının olmadığına inanırlar ve farklı araştırmacılar farklı kriterleri kullanırlar. Biz de literatürdekilere benzer bir gözlem yaparak standart bir sınıf olmadığı ve her bir grubun bir veya birden fazla uzmanla çalışarak sınıfları tanımladığı sonucuna vardır. Bu sonuç analizlerin öznel olduğunu göstermektedir.

2.2.3 Önceki Çalışmalar

Bu bölümde dendritik diken sınıflandırması için daha önce yapılmış çalışmalarını sunmaktayız. Dendritik dikenlerin otomatik bölütlenmesi için çok sayıda yöntem önerilmesine rağmen, literatürde otomatik sınıflandırma için çok az sayıda yöntem bulunmaktadır.

Rodriguez vd. (2008) konfokal lazer taramalı mikroskopi ile alınan 3B dendritik diken görüntülerinin sınıflandırılması için baş-boyun oranı, boyun uzunluğu, baş yarıçapı ve en-

boy oranını hesapladıkları bir çalışmayı raporlamışlardır. Sınıflandırmayı karar ağaçları kullanılarak yapmışlar ve sonuçları uzmanın elle yaptığı işaretlemeler ile karşılaştırarak doğrulamışlardır. Elle işaretlemeler sırasındaki, operatörler arası ve operatörler içi değişikliklerini de raporlamışlardır. Son vd. (2011) boyun ve baş çapını, şekil kriterlerini, alanı, uzunluğu ve çevreyi kullanarak karar ağacı ile sınıflandırmışlardır. Aynı zamanda konfokal mikroskopi görüntüleri kullanmışlardır ve uzman etiketlerini değerlendirme için kullanmışlardır. Shi vd. (2009) 3B konfokal mikroskopi görüntüleri için yarı-gözetimli bir yöntem geliştirmiş ve bu yöntemde boyun ve baş çapını, hacmi ve uzunluğu öznitelik olarak kullanmışlardır. Konfokal lazer taramalı mikroskopi görüntülerinde yapılan yeni bir sınıflandırma çalışmasında kural tabanlı sınıflandırıcı yaklaşımını kullanılmıştır (Basu vd., 2016).

Koh vd. (2002), Harris vd. (1992) tarafından kullanılan oran kriterlerinden ilham alarak bir sınıflandırma yaklaşımı geliştirmiş ve diken uzunluğu-boyun uzunluğu oranı ve baş-boyun çapı oranlarını kullanmışlardır. Bu çalışmada 2-fotunlu mikroskopi görüntüleri kullanılmışlardır. Dendritik dikenlerin analizini yapan çalışmaların pek çoğu konfokal mikroskopi görüntüleri kullanılarak yapılmıştır. İki-foton mikroskopi görüntüleri kullanılarak yapılan çalışma çok azdır. Bir diğer gözlem ise literatürdeki çalışmaların genellikle morfolojik öz nitelikler ve kural tabanlı sınıflandırıcılar kullanmasıdır. Biz bu boşluğu doldurmayı amaçlayarak yeni olasılıksal ve makine öğrenmesi temelli yöntemler geliştirmeyi amaçlıyoruz.

Aynı zamanda burada anlatılan bazı çalışmalarda olduğu gibi, bir çok araştırma grubu bir veya birden fazla uzmanın elle yaptığı etiketlemeleri kullanmış ve yöntemlerinin başarımlarını bu etiketler ile ölçmüşlerdir. Elle yapılmış etiketleri kullanmak bu çalışmalar için kabul edilebilir olsa da öznellik katmaktadır. Biz bu sorun, dikenlerin doğal gruplarını denetimsiz olarak ve farklı öz nitelikleri kullanarak keşfeden bir kümeleme yaklaşımı sunarak işaret etmeyi amaçlamaktayız.

2.2.4 Çok Katmanlı Öğrenme

Çok katmanlı öğrenme, veri sıkıştırması, örüntü tanıma ve makine öğrenmesi gibi bir çok alanda uygulaması olan önemli bir yöntemdir (Ghodsi, 2006). Çok katmanlı öğrenme yüksek boyutlu verinin sıkıştırılmış gösterimini oluşturan bir boyut azaltma yöntemi olarak düşünülebilir. Ayrıca, verideki varyasyonun pek çoğunu yeniden üretmek için gerekli parametre sayısını hesaplayan bir yöntem olarak da görülebilir (Ghodsi, 2006). Matematiksel olarak

çok katmanlı öğrenmeyi, N boyutlu bir $\mathbf{x} = (x_1, x_2, \dots, x_N)^T$, rassal değişkeni verildiğinde, bunun $D \leq N$ olmak üzere düşük boyutlu temsilinin, $\mathbf{y} = (y_1, y_2, \dots, y_D)^T$, orijinal yüksek boyutlu verideki bilgiyi, bazı kriterlere göre, mümkün olan en fazla şekilde koruyarak hesaplanması olarak tanımlayabiliriz (Fodor, 2002).

Boyut azalmak için farklı algoritmalar farklı kriterler uygularlar. Örneğin esas bileşen analizi (principle component analysis (PCA)) en yüksek salınım kriterini kullanır.

Bir çok boyut azaltma tekniği farklı alanlara uygulanarak geliştirilmişlerdir. Bu teknikler genel olarak linear olan veya olmayan olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Bütün bu yöntemler boyut azaltma amacını paylaşırlarken, uygulanan yaklaşımlar birbirlerinden farklıdır. Bu yöntemlerin başarımlarının arkasındaki sebep, doğal görüntülerin bir çoğunda gereksiz tekrarlamalar olması ve doğal görüntülere sahip yüksek boyutlu verilerin genellikle daha düşük boyutlu bir manifolda yakın olmalarıdır (Ghodsi, 2006).

PCA çokça kullanılan klasik bir yöntem olup, dönüştürülmüş düşük boyutlu gösterim en yüksek salınımı korumayı amaçlar. Fakat PCA'nın başarımı, genel doğrusallık özelliği bir çok uygulamada yeterli değildir (Jolliffe, 1986). Çok boyutlu ölçeklendirme (MDS) noktalar arasındaki uzaklığı koruyarak bir düşük boyutlu gösterim oluşturmayı amaçlar. Fakat bu yöntem de PCA ile benzer problemlere sahiptir (Cox ve Cox, 2000). Yerel doğrusal yerleştirme (LLE) lineer olmayan bir boyut azaltma yöntemi olup, yüksek boyutlu verinin yerleşimini koruyarak düşük boyutlu bir gösterim elde etmek için çabalar (Roweis ve Saul, 2000).

ISOMAP bir diğer lineer olmayan boyut azaltma yöntemi olup PCA ve MDS'nin en iyi özelliklerini sergiler (Tenenbaum vd., 2000). MDC yönteminin, Öklid uzaklığı yerine jeodezik uzaklık kullanan bir uzantısı olarak da görülebilir. Laplace özharitaları yöntemi K en yakın komşuluk kullanarak bir çizge oluşturur ve ağırlıkları, gradyanların norm'u en küçük kareler ile en küçüklenecek şekilde hesaplar (Belkin ve Niyogi, 2002). Yerel tanjant uzay hizalaması (LTSA) da K en yakın komşuluk kullanarak bir çizge oluşturur ve boyut azaltmayı her bir komşuluğa yerel tanjant uzayının bir yaklaşımını uygular (Zhang ve Zha, 2005).

2.2.5 Doğrusal Gösterim

Wright vd. (2009) yüz tanıma için seyrek gösterim tabanlı bir sınıflandırıcı önermiştir. Yak-

laşım iki aşamadan oluşur: ilki verilen bir test görüntüsünü eldeki eğitim görüntülerinin doğrusal kombinasyonu olarak temsil etmek, diğeri ise bu temsili ℓ_1 -norm kısıtı ile başarmak.

ℓ_1 -norm yöntemi Seyrek gösterim, bir sözlükteki sinyalleri seyler parçalarına ayırmayı amaçlar (Mallat, 2008). Seyrek gösterimin, sinyal temsilinden sinyal edinmeye ve yüksek boyutlu sinyallerin sıkıştırılmasına kadar bir çok uygulamada başarılı olduğu gösterilmiştir Wright vd. (2010). Ayrıca yüz tanıma (Wright vd., 2009) ve imge sınıflandırma (Mairal vd., 2008) gibi pek çok bilgisayarlı görü problemine etkin çözümler sunmuştur. Bu yaklaşımın bir çok doğal görüntüden miras kalan özellikleri kullandığı iddia edilmiştir; aynı sınıftaki görüntüler dejenere olmuş yapılara sahiptirler (Wright vd., 2010).

Seyreklik tabanlı sınıflandırma yaklaşımının kabullenmesi, aynı sınıftaki dendritik dikenlerin düşük boyutlu doğrusal bir alt uzayda bulunduğudır. Buradaki fikir, gelen test diken görüntüsünün eğitim veri kümesindeki dikenlerin doğrusal kombinasyonu şeklinde temsil edilmesidir. Bu temsil ile üretilmiş seyrek katsayılar sınıflandırma için kullanılabilir (Wright vd., 2009). Seyreklik, bu katsayıların bir sınıf için baskın, diğer sınıflar için ise sıfır olmasını gerektirir. Bu da ℓ_0 en küçüklemeyle başarılabilir. Ancak, bir çok uygulama için bu NP-zor bir problemdir (Wright vd., 2009). Ancak, eğer ℓ_0 çözümü yeterince seyrek ise bu, problemi ℓ_1 en küçükleme ile çözmeye denktir (Wright vd., 2009).

i . sınıftan n_i eğitim örneğini içeren $A_i = [s_{i,1}, s_{i,2}, \dots, s_{i,n_i}] \in \mathbb{R}^{m \times n_i}$ matrisini oluşturuyoruz. Burada her bir eğitim örneği, eğitim görüntüsünün sütunları birbirine eklenerek, A_i 'nin bir sütununa karşılık gelir. Böylece, her bir s_i sütunu $m = width \times height$ satıra sahiptir. Eğitim için yeterli örnek olduğu varsayımından yola çıkarak, i . sınıftan olan herhangi bir yeni görüntü ($t \in \mathbb{R}^m$), o sınıftaki eğitim örnekleri kullanılarak doğrusal bir şekilde (33) denkleminde olduğu gibi temsil edilebilir.

$$t = \zeta_{i,1}s_{i,1} + \zeta_{i,2}s_{i,2} + \dots + \zeta_{i,n_i}s_{i,n_i}. \quad (1)$$

Burada, $\zeta_{i,j} \in \mathbb{R}$, $\forall j$ olmak üzere bir skalerdir. Sınıflandırma için, sınıf aitliği başlangıçta bilinmediğinden, tüm k sınıfları için n eğitim örneği yeni bir A matrisini (34) denkleminde verildiği gibi oluşturuyoruz.

$$A = [A_1, A_2, \dots, A_k] = [s_{1,1}, s_{1,2}, \dots, s_{k,n_k}] \quad (2)$$

Doğrusal temsil (3) denklemindeki şekilde de yazılabilir.

$$s = Ax_0 \in \mathbb{R}^m \quad (3)$$

Burada, $x_0 = [0, \dots, \zeta_{i,1}, \zeta_{i,2}, \dots, \zeta_{i,n_i}, 0, \dots, 0]^T \in \mathbb{R}^n$ vektörün seyrek katsayıları olup, idealde i . sınıfa ilişkili olan elemanları dışındaki tüm elemanlarının sıfır olması beklenir. Burada, sınıf bilgisi x_0 vektörünün bileşenlerine kodlanmıştır ki sınıflandırma yapmak için bundan kolayca faydalanılabilir. Daha önce bahsedildiği gibi ℓ_0 en küçükleme NP-zor bir problemdir ve yeterince seyrek olduğu kabul edilirse ℓ_1 en küçüklemesine denktir. Bu problemin çözümü polinom zamanda elde edilebilir ve literatürde bu şekilde raporlanmış sonuçlar vardır.

En küçük kalıntı tabanlı sınıflandırmalar (seyrek gösterim temelli sınıflandırmalar olarak da adlandırılır) Wright vd. (2009) tarafından, test görüntüsünün eğitim görüntülerinin doğrusal kombinasyonu şeklinde temsil edildiğinde sınıflandırılması için önerilmiştir. İsminden de anlaşılacağı üzere, en küçük kalıntı tabanlı sınıflandırma yaparlar ((4) denkleminde gösterildiği gibi). Bu denkleminde, $\delta_i(\hat{x}_i)$ i . sınıftaki kalıntıları göstermektedir. Buradaki fikir, test görüntüsün ideal durumda kendisini temsil eden sınıfa temsil edilmesidir. Fakat bu, gerçek görüntülerdeki gürültü ve diğer yapaylıklardan dolayı pratikte başarılıdır değildir. Her durumda, yanlış sınıfa ait temsil katsayıları olabilirken, bir çok katsayının doğru sınıftan gelmesi gerekmektedir.

$$Class(t) = \operatorname{argmin}_i \|t - A\delta_i(\hat{x}_i)\|_2 \quad (4)$$

En küçük kareler yöntemi

En küçük kareler yönteminin arkasındaki fikir ℓ_1 yaklaşımındakine yakındır. Yani, test görüntüsünü eğitim kümesindeki görüntülerin kombinasyonu şeklinde temsil etmeyi amaçlar. Ancak, ℓ_1 durumu ile karşılaştırıldığında ζ (5) denklemi kullanılarak en küçük kareler yöntemi uygulanmasıyla bulunur (Shi vd., 2011).

$$\hat{\zeta} = \operatorname{argmin}_{\alpha \in \mathbb{R}^n} \|t - A\zeta\|_2 \quad (5)$$

(5) denkleminin çözümü yalancı-tersi yeniden formüle edilebilir. Girdi verimiz gerçek olduğu için \mathbf{Q} orthonormal temelleri oluşturur \mathbf{R} ise üst üçgensel matrisi oluşturur. Böylece QR çarpanlarına ayırma uygulayabiliriz. Bu yaklaşımı kullanarak $\hat{\zeta}$ gösterim katsayılarını (6) denklemindeki gibi tahmin edebiliriz. Temsil katsayıları tahmin edildikten sonra SRC algoritması sınıflandırma için uygulanabilir.

$$\begin{aligned} \text{Compute } \mathbf{QR} &= \mathbf{A} \\ \hat{\zeta} &= \mathbf{R}^{-1} \mathbf{Q}^T \mathbf{t} \end{aligned} \quad (6)$$

ℓ_2 -Norm Yöntemi

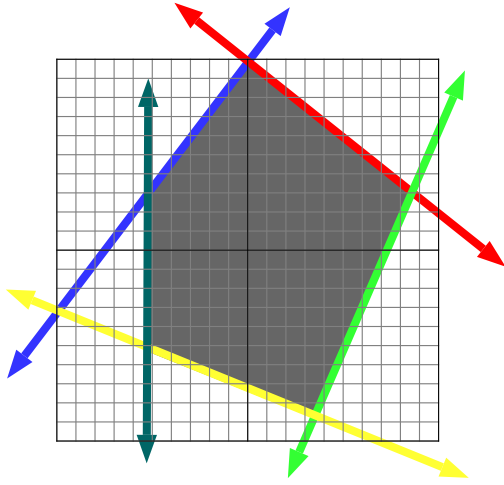
Bu yöntemi kullanarak, test görüntüsünü eğitim görüntülerinin doğrusal kombinasyonu olarak temsil edebiliriz. Ancak, biz bu temsili Tikhonov düzenlemesi ile elde ediyoruz. $\hat{\zeta}$ temsil katsayılarını, katsayılar üzerine ℓ_2 -norm kısıtı uygulayarak bu temsili tahmin ediyoruz. Sınıflandırmayı ise bu temsil üzerine SRC algoritması uygulayarak başarıyoruz.

$$\text{minimize } \|Ax - t\|_2^2 + \lambda^2 \|x\|_2^2 \quad (7)$$

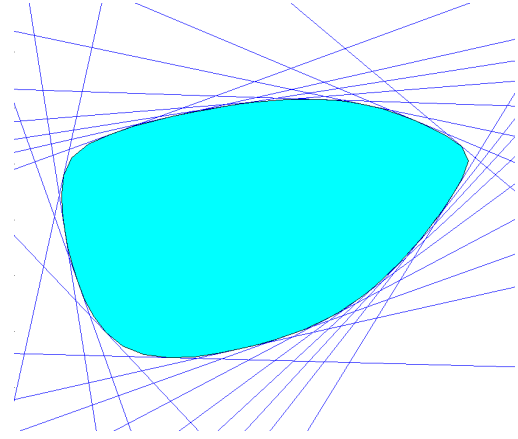
2.2.6 Ayrık Normal Şekil Modelleri (DNSM)

Ayrık Normal Şekil Modelleri (DNSM) yeni önerilmiş bir şekil modelidir. Biz bu modelin parametrelerinden yararlanarak bu yöntemi öz nitelik çıkarım algoritması olarak kullanıyoruz. DNSM üstü kapalı bir model olup, şekilleri konveks politopların birleşimi olarak temsil eder. Mesadi vd. (2015) DNSM tabanlı şekil ve görünüm tabanlı bir bölütleme yöntemi önermiş ve çeşitli uygulamalarda uygulamıştır. Bu yöntemin literatürdeki yöntemlere göre daha yüksek başarımlar elde ettiği kanıtlanmıştır.

Şekiller bir karakteristik fonksiyon ile temsil edilebilirler ve DNSM şekillerin karakteristik fonksiyonlarını N konveks politopun birleşimi ile temsil eder. Bu politoplar, Şekil (3a)'da gösterildiği gibi M tane yarım uzayın kesişimleri ile bulunur. Ayrıca bu yarım uzaylar sigmoid fonksiyonu ile daha yumuşak hale getirirler (Şekil 3b). Sonuç olarak ortaya çıkan DNSM karakteristik fonksiyonu yakınsaması (8) denkleminde verilmiştir. Bu denklemde,



(a) Keskin politoplar



(b) Yumuşak politoplar

Şekil 3. Keskin ve yumuşak politoplarla elde edilmiş DNSM şekil temsili.

$\mathbf{x} = \{x, y, 1\}$, ve 2 boyutlu şekiller için $D = 2$. w_{ijk} DNSM parametreleri olup yarım uzayların konumunu ve oryantasyonunu belirler. DNSM ile ilgili daha detaylı bilgi için Ramesh vd. (2015) çalışmasına bakılabilir.

$$f(\mathbf{x}) = 1 - \prod_{i=1}^N \left(1 - \prod_{j=1}^M \frac{1}{1 + e^{\sum_{k=1}^{D+1} w_{ijk} x_k}} \right) \quad (8)$$

Mesadi vd. (2015) DNSM tabanlı şekil ve görünüm ön bilgilerini kullanarak bölütlemeyi iyileştiren bir yöntem önermişlerdir. Bu çalışmada, DNSM tabanlı bölütleme yaklaşımını dendritik dikenleri bölütlemek için kullandık. Bu yöntem DNSM'nin parametrik özelliğinden yararlanarak şekil ve görünüm ön bilgilerini bir eğitim veri kümesinden öğrenerek test görüntüsünün bölütlemesini gerçekleştirir. DNSM şekil ve görünüm ön bilgileri tabanlı yöntemin 2 aşaması vardır: eğitim ve test.

Eğitim aşaması 2 adımdan oluşur. İlk adım elle bölütlenmiş görüntüleri DNSM parametreleriyle temsil etmektir. İkinci adımda ise yerel görünüm ve şekil bilgilerini, eğitim veri kümesindeki yeğlilik ve elle bölütleme görüntülerinden öğrenmektir. Bu yöntem yeterli miktarda şekil varyasyonunu eğitim şekillerinin kombinasyonu ile üretir ki yöntemin bu özelliği eğitim veri kümesinin kısıtlı olduğu durumlarda da iyi bölütlemeler oluşturmayı sağlar. Buna

ek olarak, yerel görünüm ön bilgileri her bir yarım uzayın yanındaki yerel görünüm istatistikleri ile öğrenilir.

Test aşamasında görüntüler şekil ve görünümü içeren bir enerji fonksiyonunun ağırlıklı ortalaması bölütlenir. w_{ijk} ağırlıkları gradyan azalımının her adımında güncellenir (Şekil 9). Burada α , and γ şekil ve görüntü ağırlıklarını belirleyen parametrelerdir.

$$w_{ijk} \leftarrow w_{ijk} - \alpha \frac{\partial E_{Shape}}{\partial w_{ijk}} - \gamma \frac{\partial E_{Appr}}{\partial w_{ijk}} \quad (9)$$

2.3 Dendrit Dikenlerinin Tespiti, Takibi ve Dinamik Bölütlenmesi

2.3.1 Diken Tespiti

Dendrit dikenlerinin morfolojilerindeki hızlı ve doğal değişimler bilginin beyinde nasıl saklandığı ve nöro-gelişimsel hastalıkların anlaşılması konularında bize önemli ipuçları vermektedirler (Harvey ve Svoboda, 2011; Hering ve Sheng, 2001; Maletic-Savatic vd., 1999; Zhou vd., 2006; Tanaka, 2008; Arvind vd., 2011; Bear vd., 2004; Weng vd., 2011). Bu nedenle zaman-aşımli iki-foton mikroskopi görüntülerinde dikenlerinin morfolojilerindeki değişimin tespit ve takibi sinirbilim alanında gittikçe artan öneme sahiptir. Nöron görüntüleme teknolojisindeki ilerlemeler sayesinde dendritik dikenlerin ayrımlarının yapılabileceği optik çözünürlükte mikroskopi verisi elde edilebilmektedir. Günümüzde çoğunlukla sinirbilim uzmanlarının görsel değerlendirmesi ile yorucu ve vakit alan bir şekilde gerçekleştirilen veri analizinin bu teknolojik ilerlemeye ayak uydurması ve otomatik hale getirilmesi gerekmektedir. Ancak, hem dendritik dikenlerin topolojik özelliklerinin zamanla değişmesi hem de floresan mikroskopi ile elde edilen görüntülerin yöntemin optik özelliklerinden ötürü yüksek seviyede gürültü, bulanıklık ve kayma içermesi nedenleriyle dikenlerin otomatik tespiti ve takibi zorlu bir problemdir.

Bunlara ek olarak aşağıda açıklanan durumlar problemi daha da zorlaştırmaktadır. 1) İki-foton ve konfokal mikroskopi görüntüleri arasındaki fark (biri için geliştirilen bir yöntem uyarlanmadan diğerine uygulanırsa yanlış sonuçlar verebilir.); 2) Dikenler doğaları gereği oldukça dinamiktir; hareket ederler, şekilleri ve boyutlar değişir, zamanla kısmen ya da tama-

men kaybolabilirler (Fischer vd., 1998; Matus., 2000); 3) Zaman aşımli görüntülerin alınma sıklığına bağıli olarak ilk ve son görüntüye ait diken merkezleri arasında uzaklık önemli ölçüde artabilir; 4) Diken takip işlemleri birçok görüntü işleme adımının birleşiminden oluştuğı için geliştirilecek yöntemlerin genel geçer kabul görmesi amacıyla yönteme ait sabit parametrelerin en az sayıda olması ve yöntemin manuel etkileşime izin veriyor olması önemlidir.

Literatürdeki iki-foton mikroskopi görüntülerinin işlenmesi çalışmalarının çoğıu diken takibi yerine diken tespiti ve analizi problemine odaklanmıştır. Diken tespiti için dendrit eksenini bulma temelli önerilen ilk çözümler (Koh vd., 2002; Weaver vd., 2004) gürültünün tespiti etkisini azaltmak amacıyla yerel sinyal-gürültü-oranından (signal-to-noise ratio, SNR) faydalanılarak iyileştirilmiş ve sonrasında uyarlamalı eşikleme ya da aktif çevrit kullanarak tespiti gerçekleştirmiştir (Zhang vd., 2007a; Cheng vd., 2007). Koh ve Lindquist (2001); Mosaliganti vd. (2006) çalışmaları ise dendrit eksenini bulmak için eşikleme yöntemiyle elde edilen iki görüntü üzerinde morfolojik inceltme uygulamış, yapısal süzgeçleme ile diken eksenini, ayrıık dikenleri ve dallanma noktalarını belirlemiştir. Cheng vd. (2007) ise benzer yaklaşımları sinyal-gürültü-oranı gibi daha özenli kriterler ile uygulayarak dikenleri gürültüden ayırdetmiş ve Koh ve Lindquist (2001) çalışmasından daha iyi sonuçlara ulaşmıştır. Bahsi geçen bu çalışmalar Otsu eşikleme (Otsu, 1975) yöntemini kullanmış, ancak silik dikenlerde görüntü yeğlinliğinin homojen olmaması nedeniyle sorun yaşamışlardır.

Bunlara ek olarak kesel aktif çevrit bölütleme ile yerel diken tespitini birlikte kullanan bir yöntem de önerilmiştir (Son vd., 2011). Bu yöntemlerin tümü diken boynunun dendrite doğru incelendiğı bölgelerde görüntü çözünürlüğünün yetersiz kalması veya kesel aktif çevrit temelli bölütlemenin gürültüye duyarlı olması sebepleriyle başarısız olmaktadır. Pikselleri özel olarak tasarlanan sınıflayıcılar kullanarak gruplamayı hedefleyen sınıflama temelli yöntemlere ilk örnek Zhang vd. (2007b) tarafından önerilmiş, daha sonra Rodriguez vd. (2008) tarafından iyileştirilmiştir. Bu yöntem diken tespiti için piksel kümelemeden yararlanır. Pikselin dendrit yüzeyindeki en yakın noktaya uzaklığını kümeleme kriteri olarak kullandığından bu yöntem gürültüden etkilenebilir ve gerçekte olmayan dikenleri tespit edebilir.

2.3.2 Diken Takibi

Sinirbilim araştırmalarında dendrit dikenlerinin davranış analizi için gerekli olan yüksek çıkıltılı (high throughput) uzay-zamansal ölçümleri sağlayacak olması açısından zaman aşımli

mikroskopi görüntülerinde dendrit dikenlerinin otomatik takibi önemli bir rol oynar. Otomatik diken takibi özellikle morfolojik değişimlerin algılanması ve bu değişimlerin *hafıza ve öğrenme* gibi fonksiyonel özelliklerle ilişkinlerinin belirlenmesi açısından birincil öneme sahip zor bir sinirbilim problemidir. Bu hedef için dikenin görüntü zaman serisinde gürbüz ve doğru bir şekilde tespit edilmesi, bölütlenmesi, ölçümlerinin yapılması ve takibi gereklidir.

Dendrit dikenlerinin takibi için görüntü çakıştırma uygulanarak zaman serisinin hizalanmasına ve hizalanan görüntülerinde dikenlerin eşleştirilmesine ihtiyaç vardır. Literatürde bu amaç için son on yılda bir takım yarı-otomatik ya da otomatik yöntem önerilmiştir (Koh ve Lindquist, 2001; Koh vd., 2002; Mosaliganti vd., 2006; Fan vd., 2009; Li vd., 2009, 2011). Zaman serisi verisinde dikenlerde gözlenen değişimler görüntüleme sırasında meydana gelen genel kaymalar ile diken şekillerinde ortaya çıkan yerel değişimlerin birleşimidir. Bu nedenle uygun bir çerçeve hizalama ile hassas bir çakıştırma yönteminin uygulanması yoluyla daha başarılı diken eşleştirme sonuçlarına ulaşılabilir. Zaman serisini hizalamak amacıyla katı (rigid) ve katı-olmayan (non-rigid) çakıştırma yöntemlerinin kombinasyonları, diken eşleştirme için ise $\{0 - 1\}$ programlama ya da çizge temelli yaklaşımlar uygulanmıştır. Örneğin Koh vd. (2002) zaman serisini hizalamak amacıyla genel bir çakıştırma ve dikenlerin eşleştirilmesi için ise karşılıklı ilintiyi en iyileyen (maximized cross correlation) bir yöntem kullanmıştır. Ancak hizalama başarımının düşük (ardışık görüntülerde aynı dikene ait bölgelerin örtüşmesi %25'ten daha az ise) veya diken yoğunluğunun yüksek olduğu durumlarda bu yöntem hatalı eşleştirme yapabilir. Mosaliganti vd. (2006) global eşikleme ile dendrit eksenini zaman serisinde tespit eder ve ardışık görüntülerdeki eksenleri "iteratif en yakın nokta" (iterative closest point, ICP) yaklaşımı ile hizalar. Bu yöntemin dezavantajı en iyi çözüme yakınsamayı garantilememesi ve başarımının dendrit eksenini tespit doğruluğuna bağlı oluşudur. Fan vd. (2009), in vivo görüntü serilerini dikenlere göre hizalamak için çizge eşleştirme (graph matching) temelli bir yöntem önermiştir. Farklı çizgelerdeki düğümleri aynı dikene ait olup olmadığını anlamak için olasılık dağılım fonksiyonu olarak altı boyutlu bir Gauss kullanmıştır. Ancak yöntemin parametrelerinin ince ayarlarının elle yapılması gereklidir ve başarımı sadece 3 farklı zaman noktasına sahip veride ölçülmüştür. Dolayısıyla yöntemin başarımının bizimki gibi çok (>20) zaman noktalı veride düşük olacağı tahmin edilmektedir. Yakın zamanda Li vd. (2011), konfokal mikroskopi zaman serilerinde çoklu dikenlerin tespiti, bölütlenmesi ve eşleştirilmesi için katı-olmayan görüntü çakıştırma ve tamsayı pro-

gramlama (integer programming) temelli bir yöntem sunmuştur. Bu yöntemin dezavantajı başarımının dendrit eksenini bulma başarımına ve eşikleme parametrelerine bağlı olmasıdır. Yöntemin başarımı 8'den az zaman noktasına sahip sınırlı sayıda konfokal mikroskopi veri kümesinde ölçülmüştür. Teorik olarak iki-foton mikroskopi konfokal mikroskopiye göre daha yüksek doku penetrasyon derinliğine, daha verimli ışık tespitine ve daha düşük fototoksititeye sahiptir ancak sinyal-gürültü-oramı da daha düşüktür. Bu bilgiyle uyumlu olarak Rada vd. (2014) çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz deneyler sonucunda Li vd. (2011) yönteminin başarımının iki-foton mikroskopi görüntülerinde düşük olduğunu gözlemledik.

2.3.3 Dinamik Bölütleme

Dinamik bölütleme, ardışık zamanlardaki bilgiden de faydalandığı için kalp ve dendrit dikenleri gibi biçimi değişebilen (deformable) objelerin video ya da zaman serisi verilerinde bölütlenmesi problemlerinde geleneksel bölütleme yaklaşımlarına göre daha gürbüz ve daha doğru sonuçlar verebilmekte ve dolayısıyla daha çok tercih edilmektedir. Örneğin, kalp döngüsünün farklı anlarına ait zaman serisi görüntülerinde (örn. nefes tutmalı kardiyak manyetik rezonans görüntüleri) sol karıncık sınırının kestirilmesi problemine dinamik bölütleme başarıyla uygulanmıştır (Sun vd., 2008). Bununla birlikte dendrit dikenlerinin sınırlarının kestirimi için zaman serisi verilerinde önceki/sonraki anlara ait bilgiden de faydalanan herhangi bir dinamik bölütleme yaklaşımına literatürde rastlanmamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Projede kullanılan ve geliştirilen yöntemler bu bölümde detaylı olarak sunulmuştur.

3.1 Veri Toplanması ve Ön-İşleme

Bu proje kapsamında 3 farklı mikroskoptan alınan veriler üzerinde çalışmalar gerçekleştirildi. Bu veriler Tablo 1’de özetlenmiş ve verilerin nasıl toplandığının ayrıntıları aşağıda sunulmuştur.

3.1.1 Veri Toplanması

İki-foton lazer taramalı mikroskop ile beyin dokuları en az miktarda hasar ile görüntülenebilmektedir. Sinir hücrelerinin sistemik faaliyetlerini kusursuz olarak yerine getirebilmeleri için mümkün olan en düşük hasar ile görüntülenmeleri yapılan araştırmanın sağlığı açısından büyük önem taşır. Aksi taktirde, analizlerimizde kullandığımız 3-4 saat süre ile toplanan verilerin gerçekçi sonuçlar doğurduklarından emin olamazdık.

Birinci veri kümesinde topladığımız veriler P7-P10 (7 ile 10 günlük) fare beyinlerinin hipokampus kısmındaki CA1 hücreleri kullanılarak elde edildi. Fare beyinleri kültür edildikten 4 ila 6 gün sonra balistik gen transferi yöntemi ile yeşil floresan gen taşıyan (Dendra-2 (Evrogen) plazmit DNA ($100\mu g$) ya da AFP) plazmitli kurşunlar ($10mg$, $1.6\mu m$ yarıçap, Biorad) ile ateşlenerek $910nm$ dalga boyunda lazerle görüntülenmeye uygun hale getirildiler. Daha sonra iki-foton mikroskop altında her 5 dakikada bir olmak üzere yaklaşık 4 saate kadar görüntülendiler. Elde edilen görüntüler $0.198 \times 0.198\mu m$ xy ve $0.3\mu m$ z çözünürlüğüyle 10X optik yakınlaştırma ile toplandı.

İkinci veri kümesi Zeiss 7 MP 2-p mikroskopu ile 20x objektif (1.0 NA) kullanılarak, GaAsP foto-çoğaltıcı detektör ve Mai Tai DeepSee 2-p lazer ile görüntülendi. Ayrıntılı bilgi için Priller vd. (2006) incelenebilir.

Üçüncü veri kümesi Zeiss LSM 710 AxioObserver ile 63X objektif (1.4 NA) kullanılarak görüntülendi. Bu veriler için piksel boyutu $0.03 \times 0.03 \times 0.40\mu m$, optik büyütme 4.3’tür ve veriler 5 dakikada bir 1 saat süresince toplanmıştır (Fernandes ve Carvalho, 2016).

Şu an itibariyle elimizde 60’a yakın veri kümesi bulunmaktadır. Bu verilerden yaklaşık

Tablo 1. Proje süresince toplanan veriler

Veri No	Boyut	Z-Dilim #	Zaman		Mantar	Güdüük	İnce	Uzman
			Nokta #	Diken #	Diken #	Diken #	Diken #	İşaretleme
1	3B	21	1	7	7	0	0	Evet - 2B
2	3B	24	1	5	5	0	0	Evet - 2B
3	3B	21	1	7	7	0	0	Evet - 2B
4	3B	22	1	5	5	0	0	Evet - 2B
5	3B	25	1	7	5	2	0	Evet - 2B
6	3B	22	1	9	6	3	0	Evet - 2B
7	3B	15	1	10	3	7	0	Evet - 2B
8	2B	1	1	-	-	-	-	Hayir
9	2B	1	1	-	-	-	-	Hayir
10	2B	1	53	-	-	-	-	Hayir
11	2B	1	41	-	-	-	-	Hayir
12	2B	1	44	-	-	-	-	Hayir
13	2B	1	42	-	-	-	-	Hayir
14	2B	1	31	-	-	-	-	Hayir
15	3B	22	29	-	-	-	-	Hayir
16	3B	34-37	54	-	-	-	-	Hayir
17	3B	3,7,24-30	44	-	-	-	-	Hayir
18	3B	23-25	46	-	-	-	-	Hayir
19	3B	4,30-34	49	-	-	-	-	Hayir
21	3B	20,30-34	50	-	-	-	-	Hayir
22	3B	37-46	14	-	-	-	-	Hayir
23	3B	35-40	38	-	-	-	-	Hayir
24	3B	28-32-40	5	-	-	-	-	Hayir
25	3B	26-43	15	-	-	-	-	Hayir
26	3B	26-33	47	-	-	-	-	Hayir
27	3B	36-40	53	-	-	-	-	Hayir
28	3B	27	16	-	-	-	-	Hayir
29	3B	36-37	54	-	-	-	-	Hayir
30	3B	19	1	32	28	3	1	Hayir
31	2B	1	1	32	28	3	1	Evet - 2B
32	3B	23	1	19	12	7	0	Hayir
33	2B	1	1	19	12	7	0	Evet - 2B
34	3B	25	1	26	19	6	1	Hayir
35	2B	1	1	26	19	6	1	Evet - 2B
36	3B	25	1	30	24	5	1	Hayir
37	2B	1	1	30	24	5	1	Evet - 2B
38	3B	23	1	26	16	10	0	Hayir
39	2B	1	1	26	16	10	0	Evet - 2B
40	3B	25	1	27	21	6	0	Hayir
41	2B	1	1	27	21	6	0	Evet - 2B
42	3B	23	1	23	18	4	1	Hayir
43	2B	1	1	23	18	4	1	Evet - 2B
44	3B	27	1	15	12	1	2	Hayir
45	2B	1	1	15	12	1	2	Evet - 2B
46	2B	1	1	-	-	-	-	Hayir
47	2B	1	1	-	-	-	-	Hayir
48	2B	1	1	-	-	-	-	Hayir
49	2B	1	1	-	-	-	-	Hayir
50	3B	30	4	15	15	-	-	Evet - 3B
51	3B	30	50	15	15	-	-	Evet - 3B
52	2B	1	10	-	-	-	-	Evet - 2B
53	2B	1	10	-	-	-	-	Evet - 2B
54	2B	1	10	-	-	-	-	Evet - 2B
55	2B	1	10	-	-	-	-	Evet - 2B
56	2B	1	10	-	-	-	-	Evet - 2B
57	3B	20-30	1	78	37	25	16	Evet - 3B

olarak yarısı elle bölütlendi ve geliştirilen yöntemlerle karşılaştırılmak üzere hazırlandı. Birden fazla veri kümesinde çalışmamızın nedeni yöntemlerimizin sadece bir veri kümesine bağlı kalmadan farklı mikroskoplar ve boyutlarda veriler ile çalışabilmesini sağlamaktır.

3.1.2 Ön-İşleme

Geliştirdiğimiz analiz yöntemlerinin ön-işleme aşamasında iki farklı yöntemin yararlı olduğuna karar verdik. Bunlardan bir tanesi medyan süzgeçleme, diğeri ise iki-foton görüntüleri için geliştirilmiş olan CANDLE (Coupé vd., 2012) yöntemidir. Bizim elde ettiğimiz görüntüler için 5×5 ile 11×11 aralığında boyuta sahip bir medyan süzgecinin güzel sonuçlar verdiğini gördük. Medyan süzgeçleme için kullanılan boyutun toplanılan imgelerin çözünürlüğü ve kullanılan optik yakınlaştırma ile ilgili olduğu kanaatine vardık.

3.1.3 Elle İşaretleme

Otomatik analiz sonuçlarının doğruluğunun ölçülebilmesi için referans veri seti olarak kullanılmak üzere toplanan verilerin el ile bölütlemesinin gerçekleştirilmesi gerekiyordu. Bu işlem için öncelikle Matlab ortamında çalışan bir elle bölütleme aracı hazırlandı ve bu araç kullanılarak 500'ün üzerinde diken 2 farklı uzman tarafından iki boyutta elle bölütlendi. Ayrıca uzmanların elle bölütlemeyi üç boyutta yapabilmelerine olanak sağlayan, Matlab ortamında çalışan yeni bir elle bölütleme aracı daha hazırlandı ve dikenlerin üç boyutta elle bölütlemeleri gerçekleştirildi. Elle bölütleme aracının detayları Bölüm 3.2.3'te verilmiştir.

Buna ek olarak diken sınıflama problemi için 252 mantar, 79 güdük, 22 ince ya da filopodya olmak üzere 353 diken elle işaretlendi, ve diken takip problemi için de iki farklı veri kümesinde 50 adet dikenin tüm zaman noktalarında işaretlenmesi/bölütlenmesi gerçekleştirildi.

3.2 Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi

Bu bölümde, proje süresince iki-foton mikroskopi verilerindeki dendrit dikenlerinin bölütlenmesi ile ilgili yapılan çalışmalar anlatılacaktır.

Proje önerisinde de belirtildiği üzere, bu iş paketinde, dendrit dikenlerinin üç boyutta bölütlenmesi için, bölütlenecek sahnedeki mikroskopi verilerinin yanı sıra eldeki problemle ilgili şekil ve bağlam ön bilgisinden yararlanan ilkeli yaklaşımlar geliştirilecektir. Üç boyutlu

iki-foton mikroskobu verileri işlenmesi son derece zorlu veriler olduğundan, projemizin ilk dönemlerinde iki boyutlu izdüşüm görüntüleri üzerinde çalışmalar yapılmış ve bu çalışmalar sırasında elde edilen bilgi ve deneyimler kullanılarak üç boyutlu dendritik dikenlerin bölütlenmesi için yöntemler geliştirilmiştir. Aynı zamanda, projemiz süresince yürütülen şekil bilgisini öğrenme temelli çalışmalar literatüre yeni bir şekil modeli kazandırmıştır (Erdil vd., 2017).

3.2.1 İki-foton Mikroskopi Görüntülerindeki Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi için Ortak bir Sınıflandırma ve Bölütleme Yaklaşımı

Bu çalışmada önerilen yöntem, 2015 yılında “International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro” konferansında sunulmuştur (bkz. Erdil vd. (2015)).

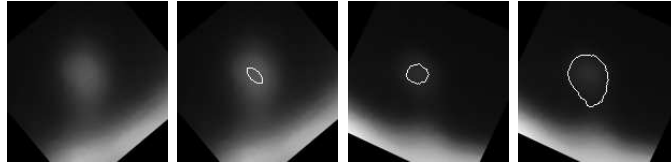
Bu çalışmada, iki-foton mikroskopi görüntülerindeki farklı sınıflara ait dendrit dikenlerinin bölütlenmesi için ortak bir sınıflandırma ve bölütleme yaklaşımı önermekteyiz. Önerdiğimiz yöntem ilk olarak, Chan ve Vese (2001) tarafından önerilmiş yeğinlik tabanlı aktif çevritler yöntemine, diken baş bölgesinin ilgi alanı içindeki konum bilgisi ekleyerek diken baş bölgesini bölütler. Diken baş bölgesi bölütlendikten sonra bölütlenmekte olan dendritik dikenin sınıf bilgisi, diken boynunu içermesi muhtemel alanlardaki uzamsal yeğinlik dağılımları kullanılarak çıkarılır. Diken boynunu içermesi muhtemel alanlar, diken baş bölgesinin konumundan faydalanılarak bulunur. Diken sınıfı güdük olarak belirlenirse bölütleme süreci sonlanır. Boynu olan dikenler için bölütleme süreci, el ile bölütlenmiş boynu olan dikenlerden oluşan eğitim veri kümesinden alınan istatistiksel şekil ön bilgisini kullanarak devam eder. Özel olarak, diken boyun bölgesini bölütlemek için Kim vd. (2007a) tarafından önerilmiş parametrik olmayan şekil bilgisi yöntemini kullanmaktayız.

Önerdiğimiz yöntemin ilk ve genel katkısı, yazarların bildiği kadarıyla, herhangi şekil tabanlı bir bölütleme yöntemi mikroskopi görüntülerindeki dendritik dikenlerin bölütlenmesi için ilk kez kullanılmıştır. İkinci ve daha özel katkı ise dendritik dikenlerin ortak sınıflandırılması ve bölütlenmesini içermesidir. Özel olarak, bölütleme sürecinin bir kısmından elde edilen bilgi diken sınıf bilgisinin çıkarımını yapmak için kullanılır ve bu bilgiden yararlanılarak bölütleme süreci iyileştirilir ve sonlandırılır. Bu yöntem, diken boynunu içermesi muhtemel alanlardaki yeğinlik dağılımları bilgisinden faydalanarak çok kipli şekil dağılımlarının üstesinden etkin bir şekilde gelir. Kim vd. (2007a) tarafından önerilen parametrik olmayan şekil ön

bilgisi yönteminin problem üzerinde direkt olarak uygulanması yeterli olmazken, önerdiğimiz yöntemde sınıflandırma aşamasından sonra, boyun bölgesinin bölütlenmesi aşamasında, etkin bir biçimde kullanılmaktadır. Deneysel sonuçlar, önerdiğimiz yöntemin etkinliğini ortaya koymaktadır.

Önerdiğimiz yaklaşım üç adımdan oluşmaktadır: diken baş bölütlemesi, sınıflandırma, diken boyun bölütlemesi.

Yaklaşımımız dendritik dikenin içeren ilgi alanını girdi olarak alır. Burada, dendritik dikenin ilgi alanının ortasında olduğunu ve ilgi alanının, diken boyun bölgesi yatay eksene dik olacak şekilde döndürüldüğünü kabul ediyoruz (bkz. Şekil 4).

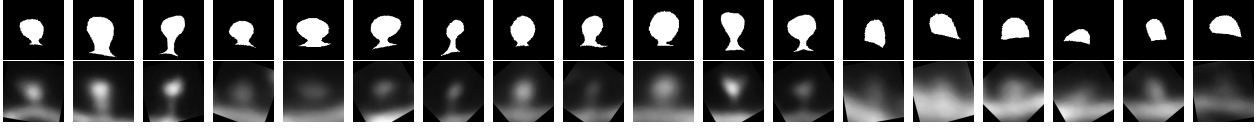


Şekil 4. Soldan sağa: İlgi alanı bölgesi, başlangıç çevriti, diken baş bölütlemesi $\mu = 1$, diken baş bölütlemesi $\mu = 0.5$.

Diken baş bölgesi bölütlemesi için Chan ve Vese (2001) tarafından önerilmiş enerji fonksiyonuna dendritik dikenin baş bölgesinin konum bilgisini ekleyerek etkin çevritler algoritmasını kullanıyoruz. Diken baş bölgesinin, ilgi alanının ortasında olduğu kabullenmesini kullanarak, görüntünün yeşinlik değerlerini, merkezi, ilgi alanının merkezi ile aynı olan $2B$ dairesel Gauss fonksiyonu - $G_\sigma(x, y)$, σ standart sapma olmak üzere - ile çarpıyoruz. Bu bakış açısıyla, aşağıdaki enerji fonksiyonunu kullanmaktayız:

$$E(C) = \lambda_1 \oint_C ds + \lambda_2 \left(\int_{inside(C)} G_\sigma(x, y) \cdot |I_0(x, y) - c_1|^2 dx dy + \int_{outside(C)} G_\sigma(x, y) \cdot |I_0(x, y) - \mu \cdot c_2|^2 dx dy \right) \quad (10)$$

Burada, C evrilen çevriti, I_0 bölütlenen görüntüyü, c_1 ve c_2 ise sırasıyla C çevritinin içindeki ve dışındaki ortalama yeşinlik değerleridir. Bu denklemdeki ilk terim olan eğri uzunluğu



Şekil 5. Mantar ve güdük diken sınıflarından örnekler içeren eğitim veri kümesi. İlk satır: Uzman tarafından elle yapılmış bölütlemeler. İkinci satır: İlk satırdaki bölütlemeler karşılık gelen yeşinlik görüntüleri.

terimi, istatistiksel olarak kısa eğrilerin doğru şekle daha yakın olduğu kabullenmesini kullanarak düzgün (pürüzsüz) eğriler üretir. λ_1 ve λ_2 sabit değerler olup testlerimizde her ikisi de 1 olarak alınmıştır.

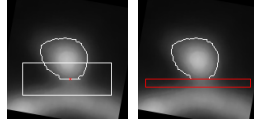
Çevritin geliştirilmesi Şekil 4’te görüldüğü gibi bir başlangıç çevritinin verilmesiyle başlar. Önerdiğimiz yöntemde çevriti dar bant düzey kümesi fonksiyonu (narrowband level set function) ile temsil ediyoruz. Dar bant temsili ve $G_\sigma(x, y)$, σ ile temsil edilen dendrit dikeninin konum bilgisinin kullanılması, dendrit bölgesinin ön plan bölgesine dahil edilmesini engeller.

Denklem (33)’te verilen enerji fonksiyonunun, Chan ve Vese (2001) yönteminde kullanılan enerji fonksiyonundan bir diğer farkının c_2 teriminin $\mu \in (0, 1)$ sabitiyle çarpılmış olmasıdır. Bu sabit, çevritin dendrit baş bölgesinin sınırlarına doğru ilerlemesini sağlar (Şekil 4). Bu sabitin olmaması evrilmekte olan çevriti, dendrit bölgesi çok yüksek yeşinlik değerlerine sahip olduğu için, diken baş bölgesinin sınırlarını dendrit bölgesinin çok uzağında bulur (Şekil 4).

Sadece yeşinlik bilgisini kullanarak daha fazla ilerlemek zor olduğundan, diken boyun bölgesini bölütlemek için diken boyun bölgesiyle ilgili şekil ön bilgisine ihtiyacımız bulunmaktadır. Bu bilgi, diken sınıfının (boynu olan veya olmayan) ne olduğuna bağlıdır. Bu bölümde, diken baş bölgesi bölütlemesinden faydalanarak diken sınıf bilgisini bulan bir sınıflandırma yöntemi önermekteyiz. Eğitim veri kümesi, 18 dendrit dikene ait yeşinlik görüntüleri ve bunlara karşılık gelen elle yapılmış diken bölütlemelerini içermektedir. Bu verilerden 12 tanesi mantar (boynu olan), 6 tanesi ise güdük (boynu olmayan) dikenlerdir (Şekil 5).

Diken boynu mevcutsa, diken baş bölgesinin altındaki alanda yer almaktadır. Bu yüzden, diken baş bölütlemesini elde ettikten sonra, diken boynu içermesi muhtemel alanları kolaylıkla bulabiliriz. Bu bizi, diken sınıfının boynun bulunması muhtemel alanlardaki yeşinlik bilgisini kullanarak belirlememiz yönünde güdüler. Bu bağlamda, diken boynunu içermesi

muhtemel, Şekil 6'daki gibi iki adet dikdörtgensel bölge oluşturuyoruz. Burada ilk bölge, diken baş ve dendrit bölgelerinin bir kısmını içerecek şekilde oluşturulurken, ikinci bölge diken baş bölgesinin hemen altında, neredeyse sadece boyun bölgesini içerecek genişlikte oluşturulmaktadır.

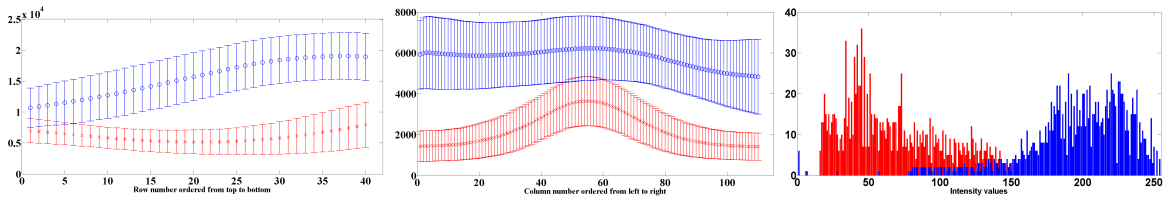


Şekil 6. Soldan sağa: ilk bölge, ikinci bölge.

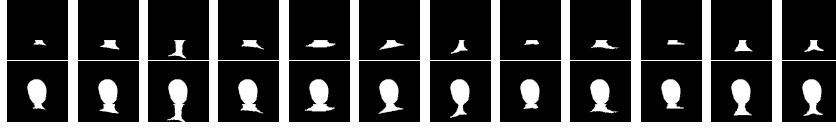
Şekil 6'da gösterilen dikdörtgensel bölgeleri kullanarak üç farklı özellik vektörü kümesi oluşturulmaktadır. Birinci özellik vektörü kümesi, ilk dikdörtgensel bölgedeki yeşinlik değerlerinin toplanmasıyla elde edilir. Benzer şekilde, ikinci özellik vektörü kümesi, yine ilk dikdörtgensel bölgedeki yeşinlik değerlerinin dikey olarak toplanmasıyla bulunur. Üçüncü özellik vektörü kümesi ise ikinci dikdörtgensel bölgedeki yeşinlik değerlerinin sıklık grafiğidir (histogram).

Şekil 5'te verilmiş eğitim veri kümesindeki elle yapılmış bölütlemeler ve yeşinlik görüntüleri kullanılarak hesaplanmış üç farklı özellik vektörü kümesinin, mantar ve güdük dikenler için ortalamaları alınarak görselleştirilmiş hali Şekil 7'de verilmiştir. Özellik vektörlerinin görsel analizleri, vektörlerin diken sınıfları ile ilgili ayırt edici bilgiler verdiğini göstermektedir.

Sınıflandırma için doğrusal-çekirdekli Destek Vektör Makinaları (DVM) algoritması kullanılmıştır. Bunun için, her bir özellik vektörü kümesi için farklı bir DVM sınıflandırıcısı eğitilmiştir. Diken baş bölgesi bölütlemesi verilen bir sınama (test) görüntüsünde, üç sınıflandırıcı



Şekil 7. Farklı özellik vektör kümelerinin görselleştirilmiş hali. Kırmızı renk boynu olan dikenleri, mavi renk ise boynu olmayan dikenleri göstermektedir.



Şekil 8. İlk satır: Hizalanmış diken boyun şekillerinden oluşan eğitim kümesi. İkinci satır: Diken baş bölgesi bölütlemesinden sonra oluşturulmuş diken şekillerinin eğitim kümesi. İlk satırdaki diken boyun bölütlemeleri Şekil 5'teki ilk 12 dikene aittir.

için de diken sınıfı kararı alınır. Sonuç sınıf kararı, her üç sınıflandırıcı tarafından verilen en çok karar olarak alınır. Sınıflandırma sonucu güdük (boynu olmayan diken) ise bölütleme süreci sonlanır. Aksi halde, bölütleme süreci diken boyun bölütlemesi adımı ile devam eder.

Diken baş bölgesi bölütlemesi sonucu elde edilen çevrit, uzmanın elle yaptığı bölütlemelerden oluşan bir eğitim verisinden (Şekil 8) alınan parametrik olmayan şekil ön bilgisini Kim vd. (2007a) kullanarak geliştirilir. Diken şekillerinden oluşan eğitim veri kümesi (Şekil 8, ikinci satır), diken boyun şekillerinin (Şekil 8, ilk satır) ilk adımda bulunan diken baş bölütlemesine eklenmiş halidir. Böylece, bu bölümde diken baş bölgesi bölütlemesini daha fazla değiştirmemekteyiz.

Şekil ön bilgisi kullanarak diken boyun bölütlemesi yapmak için aşağıdaki enerji fonksiyonunu kullanmaktayız:

$$E(C) = \alpha \left(\int_{inside(C)} |I_0(x, y) - c_1|^2 dx dy + \int_{outside(C)} |I_0(x, y) - c_2|^2 dx dy \right) - \beta \log(p_C(C)) \quad (11)$$

Burada, $p_C(C) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n k(d_{L_2}(\phi_C, \phi_i), \sigma)$ öğrenilen şekil ön bilgisi yoğunluğu, $k(\cdot, \sigma)$ çekirdek boyutu σ olan 1B Gauss çekirdeği, $d_{L_2}(\cdot, \cdot)$ L_2 uzaklık metriği, n eğitim veri kümesindeki şekil sayısı ve, ϕ_C ve ϕ_i sırasıyla, C çevritinin ve eğitim veri kümesindeki i . şeklin düzey kümesi gösterimlerini temsil etmektedir. α ve β sabitleri her bir terimin katkısını belirlerken, testlerimizde $\alpha = 0.1$ ve $\beta = 5$ olarak alınmıştır. Burada veri terimi sadece diken boyun ve baş bölgelerinin uyumlu birleştirilmelerini sağladığı ve baş bölgesinin bölütlemesinin değişmemesi istendiği için, veri teriminin katkısı, şekil terimine göre daha düşük olarak seçilmiştir. Veri

teriminin bu kısıtlı görevi için Chan ve Vese (2001) tarafından önerilen veri terimi kullanılmıştır. Çevritin, denklem (34)'te verilen enerji fonksiyonunun gradyant'ı (gradient) yönünde yakınsayana kadar geliştirilmesi sonucu, en son bölütleme elde edilir.

3.2.2 Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi için Parametrik Olmayan Ortak Şekil ve Öznitelik Yoğunluk Kestirimi

Bu çalışmada önerilen yöntem, 2016 yılında “International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro” konferansında sunulmuştur (bkz. Erdil vd. (2016a)). Konferans bildirisinin dergi makalesi şeklinde geliştirilmiş hali ise "IEEE Transactions on Image Processing" dergisinde yayımlanmak üzere kabul edilmiştir.

Bu raporda, şekil dağılımının çok doruklu ve karmaşık, aynı zamanda şekil ön bilgisinin başarılı bir bölütleme için yeterli bilgi vermediği durumlara odaklanılmaktadır. Dolayısıyla, literatürdeki şekil yoğunluk kestirimini sadece şekiller arası uzaklığa göre yapan mevcut yöntemlerden farklı olarak, bölütlenecek olan nesne ile ilintili olan yeğinlik tabanlı veya geometrik tabanlı özniteliklerden faydalanılmaktadır. Bu amaçla, şekil yoğunluk kestirimi sürecine ayırt edici öznitelikler de ekleyerek, ortak şekil ve öznitelik yoğunluğu kestirimi yapılmaktadır. Özellikle, şekiller arasındaki uzaklıkları yanında, öznitelikler arasındaki uzaklıkları da göz önüne alarak ve daha yüksek boyutlu bir çekirdek kestirici kullanarak, eğitim veri kümesindeki her bir şeklin ağırlığını hesaplanmaktadır. Böylece, sınıfların ayırt edilebilirliğini daha yüksek boyutta bölütlenecek nesne ile ilgili ek bilgi kullanarak artırmaktadır.

Bu rapordaki katkımız, ortak şekil ve öznitelik yoğunluk kestirimi yapan bir bölütleme algoritmasıdır. Bildiğimiz kadarıyla, parametrik olmayan şekil ve öznitelik yoğunluk kestirimi literatürde daha önce kullanılmamıştır. Önerdiğimiz yöntem, daha ayırt edici bir önsel yoğunluk kullanarak şekli daha olası sınıflara doğru sürmektedir. Bunun yanında, özellikleri sadece belli ayırt edici öznitelikler ile belirtilebilen alt sınıflardaki şekil yoğunlukları da önerdiğimiz yöntem ile kestirilebilmektedir. Aynı zamanda önerdiğimiz yöntem, etkin şekil ve görüntü modellerinin (Cootes vd., 2001) parametrik olmayan yollarla genişletilmiş hali gibi de görülebilir. İki-foton mikroskop görüntülerindeki dendritik dikenlerin bölütlenmesi probleminde deneysel sonuçlar, yöntemimizin Kim vd. (2007a) tarafından önerilen yönteme göre daha iyi doğrulukta bölütlemeler ürettiği rapor edilmiştir. Aynı zamanda, Erdil vd. (2015) tarafından önerilen ortak sınıflandırma ve bölütleme yöntemiyle karşılaştırma sonuçları da verilmiştir.

Bu bölümde öncelikle Kim vd. (2007a) tarafından sunulan yöntemin matematiksel formülasyonunu vererek problemi motive edeceğiz. Ardından, ortak şekil ve öznitelik yoğunluk

kestirimi yapan yöntemimizi sunacağız.

$\mathbf{C} = \{C_1, C_2, \dots, C_n\}$ şeklinde n şekilden oluşan bir eğitim veri kümesi verildiğinde, Kim vd. (2007a) önsel şekil yoğunluğunu

$$p_C(C) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n k(d(C, C_i), \sigma_C) \quad (12)$$

şeklinde tanımlar. Burada C evrilen şekili, $d(.,.)$ uzaklık metriğini, $k(., \sigma_C)$ çekirdek genişliği σ_C olan 1 boyutlu Gauss çekirdeğini temsil etmektedir. Ardından, $p_C(C)$ veri terimiyle birlikte bir enerji fonksiyonuna eklenir. En küçüklenecek enerji fonksiyonu, sonsal dağılımın negatif logaritmasıyla orantılıdır:

$$E(C) = -\log p(\text{data}|C) - \log p_C(C) \quad (13)$$

Bu en iyileme problemi, evrilen şeklin seviye kümesi temsilinin, ϕ_C , enerji fonksiyonunun negatif gradyanı ile iteratif olarak yenilenmesiyle çözülür. Şablon (template) uzaklık metriği içeren şekil teriminin gradyanı aşağıda verilmiştir:

$$\frac{\partial \phi_C}{\partial t} = \frac{1}{p_C(C)} \frac{1}{\sigma^2} \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n k(d_T(\phi_C, \phi_{C_i}), \sigma) d_T(\phi_C, \phi_{C_i}) (1 - 2H(\phi_{C_i})) \vec{N} \quad (14)$$

Burada, \vec{N} şeklin normal yönünü ve $H(.)$ Heaviside fonksiyonunu temsil etmektedir. Şekil terimi şekli, yerel en iyide bir şekle doğru sürer ki bu, yaklaşık olarak komşu eğitim şekillerinin ağırlıklı ortalamasıdır. Şekil ağırlıkları, uzaklık metriğine ve Gauss çekirdeğine bağlı olarak bulunur. Düşük SNR'a sahip imgelerin olduğu bölütleme problemlerinde, bölütlemeyi doğru şekle sürmeyi sağlayacak nesne sınırı bilgisinin veriden elde edilmesi zordur. Bu da bizi, şekil bilgisini ayırt edici özniteliklerden elde edilen bilgiyle birleştirerek bölütlemek sonuçlarının iyileştirilmesi konusunda motive etmektedir.

Yukarıda belirtilen gözlemlere dayanarak, ortak şekil ve öznitelik yoğunluk kestirimi yapan bir bölütleme yöntemi önermekteyiz. Öznitelik vektörlerinden oluşan bir $\mathbf{f} = \{f_1, f_2, \dots, f_n\}$ eğitim kümesi \mathbf{C} kümesindeki eğitim şekillerinden ve/veya bunlara karşılık gelen yeğinlik

imgelerinden elde edilebilir (Lowe, 1999; Erdil vd., 2015). Bu durumda, ortak şekil ve öznitelik dağılımı şu şekilde yazılabilir:

$$p_{C,f}(C, f) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n k(d(C, C_i), d(f, f_i), \sigma_C, \sigma_f) \quad (15)$$

Burada $k(., ., \sigma_C, \sigma_f)$ çekirdek genişlikleri σ_C ve σ_f olan 2 boyutlu Gauss çekirdeğini temsil etmektedir. Denklem (12)'deki 1 boyutlu çekirdekte olduğu gibi, 2 boyutlu çekirdek ve uzaklık metrikleri de sonsuz boyutlu bir çekirdeğin rolünü oynamaktadır. Böylece, problem aşağıda verilen enerji fonksiyonunun en küçüklenmesi problemine dönüşür:

$$E(C, f) = -\log p(\text{data}|C) - \log p_{C,f}(C, f) \quad (16)$$

Denklem (15)'te bir çok farklı uzaklık metriği kullanılabilir. Deneylerimizde, şekiller arası uzaklık için şablon uzaklık metriği, öznitelikler arası uzaklık için ise L_2 uzaklık metriği kullanılmaktadır. Şekil teriminin C ve f 'ye göre kısmi türevleri aşağıdaki denklemlerde verilmektedir:

$$\frac{\partial \log p_{C,f}(C, f)}{\partial C} = \frac{1}{p_{C,f}(C, f)} \frac{1}{\sigma_C^2} \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n k(d_T(\phi_C, \phi_{C_i}), d_{L_2}(f_C, f_i), \sigma_C, \sigma_f) d_T(\phi_C, \phi_{C_i}) (1 - 2H(\phi_{C_i})) \vec{N} \quad (17)$$

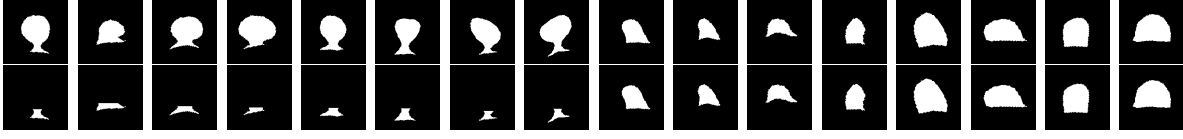
$$\frac{\partial \log p_{C,f}(C, f)}{\partial f} = \frac{1}{p_{C,f}(C, f)} \frac{1}{\sigma_f^2} \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n k(d_T(\phi_C, \phi_{C_i}), d_{L_2}(f_C, f_i), \sigma_C, \sigma_f) (f - f_i) \quad (18)$$

Şeklin seviye kümesi temsilini, ϕ_C , iteratif olarak her iki kısmi türevin negatif gradyanı ile yenilemek, şekli ortak şekil ve öznitelik yoğunluğuna göre en olası şekle doğru sürer.

Önerilen Yöntemin Dendritik Diken Verisine Uygulanması

Literatürde dendritik dikenler genel olarak 4 gruba ayrılırlar: mantar (mushroom), güdük (stubby), ince (thin) ve filopodya (filopodia). Deneylerimizde en çok görünen iki sınıfı göz önüne almaktayız: boynu olan dikenler (mantar) ve boynu olmayan dikenler (güdük) (her iki sınıftan örnekler için Şekil 9'a bakınız.). Diken baş bölgesi genel olarak parlaktır ve her iki diken sınıfında da bulunur. Bu yüzden, bir çok durumda sadece veri terimi kullanılarak bölütlenebilirler (Erdil vd., 2015). Ancak, boyun bölgesinin bölütlenmesi için şekil ön bilgisi gereklidir. Şekil tabanlı yöntemler genel olarak öncelikle şeklin görünen bölgesini veri terimi kullanarak bölütlerler. Ardından, enerji fonksiyonundaki şekil terimi açılır ve hem veri hem şekil teriminden gelen etkilerle geri kalan bölütleme süreci yapılır. Dendritik diken bölütlemesi probleminde veri terimiyle bulunan kısım diken baş bölgesi olduğu için ve bu bölge diğer sınıflardan dikenlerde de ortak olduğu için evrilen şekil güdük sınıfından şekillere daha yakın olarak görülür. Bu, mantar sınıfındaki dikenlerdeki boyun bölgesinin uzaklığı artırıcı etkisinden dolayıdır. Bu nedenle, Kim vd. (2007a) tarafından önerilen yöntem şekli, bölütlenen dikenin sınıfından bağımsız olarak güdük sınıfına doğru sürer. Bu eksikliği gidermek için Erdil vd. (2015) çalışmasında ortak sınıflandırma ve bölütleme yöntemi önerilmiştir. Bu yöntemde, dendritik diken baş bölgesi sadece veri terimi içeren bir enerji fonksiyonuyla bölütlenir (Mumford ve Shah, 1989; Chan ve Vese, 2001). Diken baş bölgesi bölütlemesinin bulunmasının ardından, yeğlilik tabanlı öznitelikler, diken baş bölgesinin etrafındaki bölgeden hesaplanır ve "Support Vector Machine (SVM)" algoritması kullanılarak sınıflandırma yapılır. Eğer sınıf kararı güdük ise bulunan baş bölgesi bölütlemesi verilen dikenin bölütleme sonucu olarak geri döndürülür. Eğer sınıf kararı mantar ise, Kim vd. (2007a) tarafından önerilen yöntem, sadece mantar sınıfından eğitim örnekleri kullanılarak uygulanır. Erdil vd. (2015), elde edilen diken baş bölgesi bölütlemesinin yeteri kadar iyi olduğunu kabul eder ve bu bölütlemeyi şekil terimiyle yapılan evrilme aşamasında değiştirmez. Bu yüzden kullanılan mantar örneklerinden oluşan eğitim veri kümesi, bulunan baş bölgesi bölütlemesinin, eğitim kümesinde verilen boyun örneklerinin (Şekil 9'un 2. satırında verildiği gibi) üzerine eklenmesiyle bulunur. Her ne kadar Erdil vd. (2015) çalışmasında sunulan yöntem tatmin edici sonuçlar verse de, dendritik dikenin sınıfıyla ilgili kesin karar verilmesi hatalı bölütlemeler oluşmasına neden olur.

Önerdiğimiz yöntemi, iki-foton mikroskopi görüntülerindeki dendritik diken bölütlemesi probleminde uygulamaktayız. Bunun için öncelikle, Erdil vd. (2015) çalışmasında önerilen



Şekil 9. İlk satır: mantar ve güdük örneklerden oluşan, Deney 1’de kullanılan, hizalanmış eğitim veri kümesi. Soldan sağa ilk 8 dike mantar, geri kalanlar güdük dikenlerdir. İkinci satır: boyun şekillerinden ve güdük dikenlerden oluşan, Deney 2’de kullanılan eğitim veri kümesi.

veri terimini kullanarak diken baş bölgesini bulmaktayız. Ardından, bölütlenecek diken ile ilgili yeğlilik ve geometrik tabanlı öznitelikler çıkarmaktayız. Yeğlilik tabanlı öznitelikler, diken baş bölgesinin altında kalan küçük bir dikdörtgensel alandaki yeğlilik değerlerinin yatay ve diken olarak toplanması, ve buradaki histogramın hesaplanmasıyla çıkarılır (Erdil vd., 2015). Dendritik diken’in boyun bölgesinin uzunluğu, diken sınıfının bulunması açısından önemli bir özniteliktir. Bu geometrik özneliği, dendritik diken baş bölgesinden, ilgi alanındaki (region of interest) dendrit parçasına uzaklığı hesaplanarak çıkarılır. Boyun ve güdük diken şekillerinden oluşan eğitim veri kümesi Şekil 9’da verilmiştir. Mantar dikenlerin eğitim kümesi, bulunan baş bölgesi bölütlemesinin, eğitim kümesindeki boyun örneklerinin üzerine eklenmesiyle oluşturulur. Burada amaç, dendritik diken baş bölgesi bölütlemesinin, veri terimi ve şekil terimi birlikte kullanılarak yapılan bölütleme sürecinde değişmemesidir. Son olarak şekil, (16) denkleminde verilen enerji fonksiyonunun negatif gradyanı yönünde yakınsama sağlanana kadar evrilerek, verilen dikenin bölütlemesi elde edilir.

3.2.3 Üç Boyutlu Dendrit Dikenlerinin Elle Bölütlenmesi için bir Araç Oluşturulması

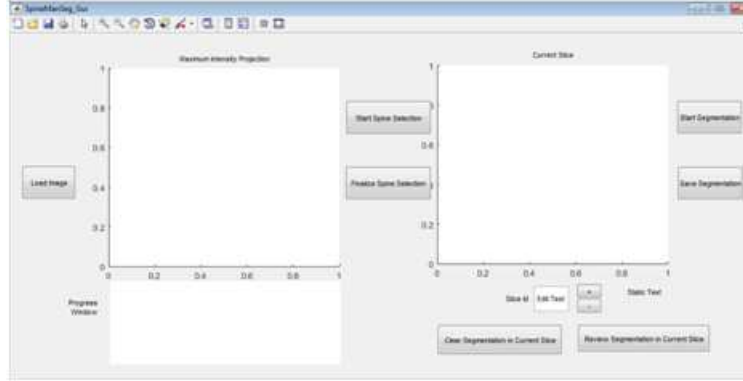
Üç boyutlu dendritik dikenlerin elle bölütlenmesi, üç boyutlu dendritik diken bölütleme yöntemlerinin geliştirilmesi için önemli bir adımdır. Uzman sinirbilimciler tarafından elle bölütlenen dendritik dikenler, hem geliştirilecek yöntemlerin başarımının test edilmesinde hem de bu yöntemlerde kullanılacak eğitim veri kümelerinin elde edilmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu amaçla, grubumuzdaki araştırmacılar tarafından, sinirbilimi araştırmacılarının kolaylıkla kullanabileceği, MATLAB yazılım platformu tabanlı bir elle bölütleme aracı geliştirilmiştir. Bu yazılım aracının geliştirilmesi aşamasında sinirbilimi araştırmacılarıyla defalarca görüşülmüş ve kullanımı kolay, kullanıcının yapma ihtimali olan hatalara

karşı bildirim mekanizması olan bir araç geliştirilmiştir. Bu bölümde, bu yazılım aracının özelliklerinden kısaca bahsetmekteyiz.

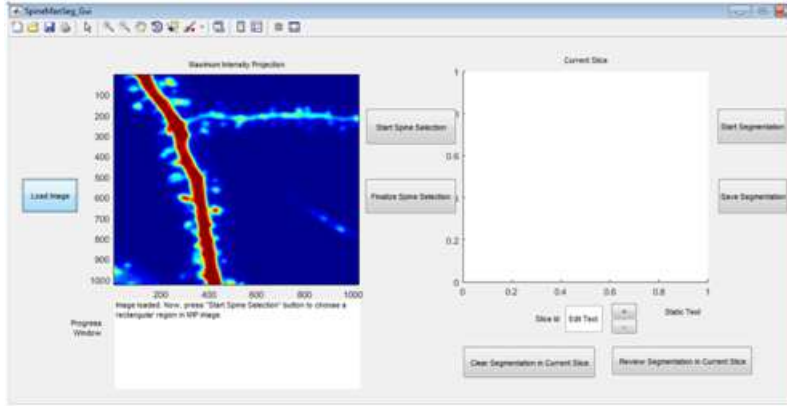
Geliştirdiğimiz elle bölütleme aracının ilk açılış görüntüsü Şekil 10’da verilmiştir. Burada kullanıcı “Load Image” butonuna tıklayarak bölütlemek istediği üç boyutlu imgenin bulunduğu klasörü seçebilmektedir. Bu seçimden sonra üç boyutlu imgenin en yüksek yeğlilik izdüşümü alınır ve bu imge Şekil 11’deki gibi “Maximum Intensity Projection” başlıklı şekil bölgesinde gösterilir. Ayrıca aracın kullanılmasının her alamasında kullanıcı, “Progress Window” yazan bölgedeki uyarılar ile yönlendirilir. Bu aşamadan sonra kullanıcı, “Start Spine Selection” butonuna tıklayarak, elle bölütlemek istediği dendritik dikenin dikdörtgenel bir bölge içine alır. Kullanıcı “Finalize Spine Selection” butonuna bastıktan sonra seçilen dikdörtgenel alandaki üç boyutlu dikenin bir kesiti, “Current Slice” yazan şekil alanında kullanıcıya gösterilir (Şekil 12). Kullanıcı burada “+” ve “-” butonlarını kullanarak üç boyutlu kesitler arasında geçiş yapabilmektedir. İstenilen kesit seçildikten sonra “Start Segmentation” butonuna tıklanır ve kullanıcı “Current Slice” penceresindeki dendritik dikenin sınırlarını şekil üzerine tıklayarak belirleyebilir (Şekil 13). Dendritik dikenin bulunduğu her bir kesit bu şekilde elle bölütlendikten sonra “Save Segmentation” butonuna tıklanarak .mat formatında kaydedilebilir. Ayrıca “Review Segmentation in Current Slice” butonuna tıklayarak mevcut kesitte yapılmış olan elle bölütleme tekrar gösterilip, istenirse düzeltilebilir. “Clear Segmentation in Current Slice” butonu ise mevcut kesitteki bölütlemeyi tamamen siler. Son olarak, kesitler arasında dolaşılırken bazı kesitlerin bölütlenmesinin unutulmaması için, “+, -” butonları yanında “Segmented” (bölütlenmiş) veya “Not Segmented” (bölütlenmemiş) uyarıları yer almaktadır.

3.2.4 Üç Boyutlu Dendrit Dikenlerinin Yeğlilik Bilgisi Kullanarak Bölütlenmesi

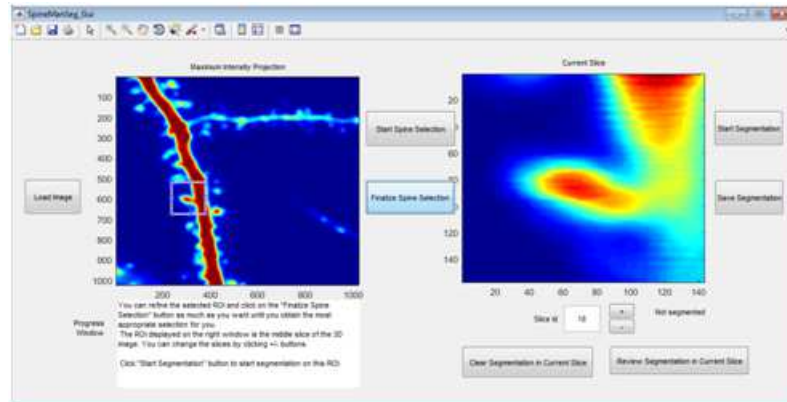
Bilindiği üzere bir çok sınıftaki dendritik dikenler, diken baş ve boyun bölgesi olmak üzere 2 temel bölümden oluşmaktadır. Diken baş bölgesi genellikle yüksek yeğlilik değerine sahip olduğu için yeğlilik temelli yöntemler diken baş bölgesinin bölütlenmesi için genellikle yeterli olmaktadır. Her ne kadar doğru bir diken bölütlemesi için baş ve boyun bölgelerinin birlikte bölütlenmesi gerekse de, diken hacim değişimlerinin incelenmesi için diken baş bölgesinin bölütlenmesinin yeterli olduğu literatürde belirtilmektedir. Bu sebeple, üç boyutlu dendritik dikenlerde, iki boyutlu dikenlerde yaptığımız gibi, öncelikle yeğlilik tabanlı yöntemlerle



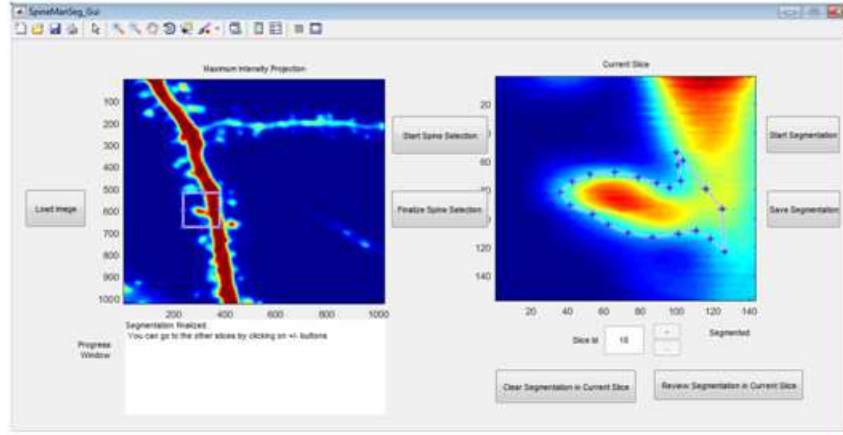
Şekil 10. Elle bölütleme aracının görüntüsü.



Şekil 11. En yüksek yeğlilik izdüşümü görüntüsünün gösterilmesi.



Şekil 12. Seçilen üç boyutlu dikenin bir kesiti "Current Slice" adı verilen pencerede gösterilir.

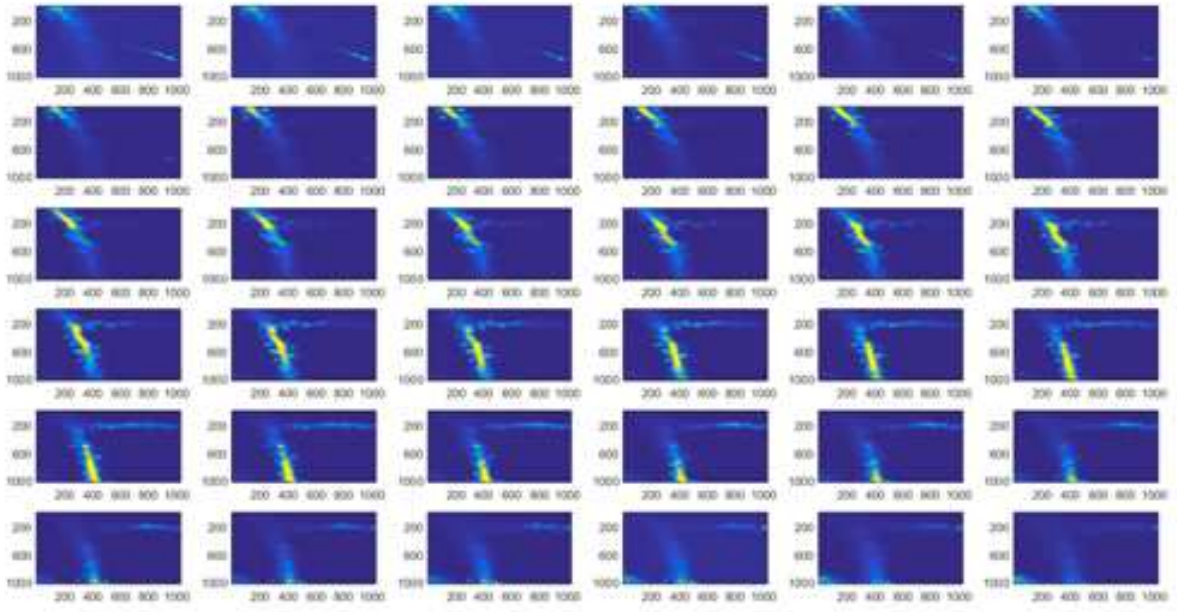


Şekil 13. Elle bölütlenmiş bir üç boyutlu dendritik diken kesiti.

dendritik diken baş bölgesinin bölütlenmesi problemine odaklanmaktayız. Bu bölümde, üç boyutlu dendritik dikenlerin bölütlenmesi için geliştirdiğimiz “watershed” bölütleme yöntemi tabanlı bir yöntem önermekteyiz. Aynı zamanda bu yöntemle elde ettiğimiz görsel ve sayısal ön sonuçları da paylaşmaktayız.

“Watershed” bölütleme tabanlı yöntemler, bölütlenecek bölgelerin tabanlarını havuzların dip noktası olarak düşünür ve havuzları aynı anda doldurmaya başlar. Havuzların birleştiği bölgelerde de bölütlemelerin sınırlarını çizer. İki boyutlu dendritik dikenlerin bölütlenmesi için bir yöntem daha önce grubumuz araştırmacıları tarafından önerilmiştir (Erdil vd., 2012). Bu motivasyonla benzer bir yöntemi üç boyutlu dendritik dikenleri bölütlenmesi için önermekteyiz.

Önerdiğimiz yöntemde öncelikle kullanıcıya üç boyutlu görüntünün tüm kesitleri ayrı ayrı Şekil 14’teki gibi gösterilir. Kullanıcı bu şekil üzerinde dendritin en üst ve en alt kısımlarına tıkladıktan sonra bu noktalar arasındaki dendrit üzerinden geçen en kısa yol “Fast Marching” ve en kısa yol algoritmaları kullanılarak bulunur. Üç boyutlu dendrit üzerinde bulunan bu yol, “watershed” algoritmasına verilecek dendrit bölütlemesini oluşturacak havuzun dip noktası olacaktır. Ardından yine kullanıcı bölütlemek istediği dendritik dikenlerin orta noktalarına tıklar. Bu noktalar da üç boyutlu olup, “watershed” algoritmasına verilecek ve dendritik diken bölütlemelerini oluşturacak olan havuzların dip noktaları olacaktır. Son olarak, havuzun arka plana taşmasını engellemek için de bir sınır koyulması gerekmektedir. Bu sınır



Şekil 14. Üç boyutlu bir dendrit görüntüsüne ait tüm kesitler.

ise tüm üç boyutlu imgenin Otsu eşiklemesinden geçirilmesiyle elde edilir.

3.2.5 Üç Boyutlu Dendrit Dikenlerinin Parametrik Olmayan Şekil Ön Bilgisi Kullanılarak Bölütlenmesi

Bu bölümde önerilen yöntem, “IEEE Sinyal İşleme ve İletişim Uygulamaları Kurultayı” adlı konferansta sunulmuştur (Böcügöz vd., 2017).

Bu çalışmada, 3B dendritik dikenlerin iki-foton mikroskopi görüntülerinden parametrik olmayan şekil ön bilgisi kullanılarak bölütlenmesini sağlayan bir yöntem önermekteyiz. Parametrik olmayan şekil ön bilgisini kullanan bölütleme yöntemleri ilk olarak Kim vd. (2007a) ve Cremers vd. (2006) tarafından önerilmiştir. Bildiğimiz kadarıyla, parametrik olmayan şekil ön bilgisi kullanan bölütleme yöntemleri literatürde daha önce iki-foton mikroskopi ile elde edilen görüntülerdeki 3B dendritik dikenlerin bölütlenmesi için kullanılmamıştır. Önerdiğimiz yöntemin sonuçları ve şekil ön bilgisi kullanmayan, sadece yeğlilik bilgisini kullanan, bir başka bölütleme yönteminin sonuçları, uzmanın el ile yaptığı bölütlemeler ile Dice ölçütü kullanılarak karşılaştırılmıştır. Elde edilen sayısal sonuçlar, parametrik olmayan şekil ön bilgisini kullanmanın bölütleme sonuçlarını iyileştirdiğini göstermektedir.

Verilen bir I imgesi için, bu imgeyi bölütleyen C çevritinin sonsal dağılımı, Bayesçi yaklaşım ile

$$p(C|I) \propto p(I|C)p(C) \quad (19)$$

şeklinde yazılabilir. Buradan hareketle, C çevritine bağlı bir enerji fonksiyonu (19) denkleminin negatif logaritması alınarak aşağıdaki şekilde yazılır:

$$E(C) = -\log p(I|C) - \log p(c) \propto -\log p(C|I). \quad (20)$$

(56) denklemindeki $-\log p(I|C)$ veri terimi için, Mumford-Shah fonksiyonunun, Chan ve Vese (2001) çalışmasında önerilen parçalı sabit versiyonunu kullanılmaktadır. Bu terim, C_{ic} ve C_{dis} sırasıyla C çevritinin içi ve dışı, m_{ic} ve m_{dis} sırasıyla C çevritinin içindeki ve dışındaki ortalama yeğinlik değerleri olmak üzere

$$-\log p(I|C) = \left[\int_{C_{ic}} (I(x) - m_{ic})^2 dx + \int_{C_{dis}} (I(x) - m_{dis})^2 dx \right] \quad (21)$$

denkleminde yazılır. (56) denklemindeki $-\log p(C)$ terimi ise eğitim veri kümesinden öğrenilen önsel şekil dağılımının negatif logaritması olup, $p(C)$, Parzen yeğinlik kestiricisi ile aşağıdaki gibi hesaplanabilir:

$$p(C) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n k(d_{L_2}(C, C_i), \sigma). \quad (22)$$

(22) denkleminde, C_1, C_2, \dots, C_n hizalanmış eğitim şekilleri, $k(\cdot, \sigma)$, σ standart sapmalı 1B Gauss fonksiyonu, $d_{L_2}(\cdot, \cdot)$ ise L_2 uzaklık metriğidir.

Bölütleme problemi, (56) denkleminde verilen enerji fonksiyonunu en küçükleme problemine dönüşmektedir. Bu fonksiyonu en küçükleme için gradyan azalımı yöntemini kullanılmaktadır. Bu sebeple, $E(C)$ enerji fonksiyonunun C çevritine göre türevinin hesaplanması gerekmektedir. $E(C)$, veri ve şekil terimlerinin toplamı şeklinde yazıldığı için bu terimlerin C çevritine göre türevleri ayrı ayrı hesaplanabilir. Buna göre (21) denkleminin türevi $\frac{-\partial \log p(I|C)}{\partial C}$ aşağıdaki gibi yazılabilir:

$$\frac{-\partial \log p(I|C)}{\partial C} = -(I(x) - m_{ic})^2 + (I(x) - m_{dis})^2. \quad (23)$$

(56) denklemindeki şekil teriminin türevi ise

$$\frac{-\partial \log p(C)}{\partial C} = \frac{1}{p(C)} \frac{1}{\sigma^2} \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n k(d_{L_2}(\phi_C, \phi_{C_i}), \sigma)(\phi_{C_i} - \phi_C) \quad (24)$$

şeklinde hesaplanır. (24) denklemindeki ϕ_C ve ϕ_{C_i} sırasıyla C bölütleme çevritinin ve i . eğitim şekli C_i 'nin seviye kümesi temsilidir (Sethian, 1999). Seviye kümesi temsilinde, C çevritinin içinde kalan bölgede $\phi_C < 0$, dışında kalan bölgede ise $\phi_C > 0$ olmaktadır. Önerilen bölütleme yönteminde, öncelikle verilen bir C başlangıç çevritinin ϕ_C seviye kümesi temsili hesaplanır. Daha sonra ϕ_C özyineli olarak, α basamak büyüklüğü olmak üzere, $\alpha \frac{\partial E(C)}{\partial C}$ ile güncellenir. Yeterli sayıda özyineleme adımı sonunda ϕ_C istenilen bölütleme sonucuna yakınsar.

3.2.6 Dendrit Dikenlerinin Şekil, Yeğlilik ve Bağlam Ön Bilgileri Kullanılarak Bölütlenmesi

Bu çalışmada önerilen yöntem bir konferans bildirisi haline getirilip, sonrasında yapılacak kapsamlı deneyler yapılarak dergi makalesine dönüştürülecektir.

Bu çalışmada, 3B dendritik dikenlerin iki-foton mikroskopi görüntülerinden parametrik olmayan şekil, yeğlilik ve bağlam ön bilgileri kullanılarak bölütlenmesini sağlayan bir yöntem önermekteyiz. Bildiğimiz kadarıyla şekil, yeğlilik ve bağlam ön bilgileri daha önce 3B dendritik diken bölütlemesi probleminde uygulanmamıştır. Önerdiğimiz yöntemin sonuçları literatürdeki diğer yöntemlerle Dice ölçütü kullanılarak karşılaştırılmıştır. Elde edilen sayısal sonuçlar, parametrik olmayan şekil, yeğlilik ve bağlam ön bilgisini kullanmanın bölütleme sonuçlarını iyileştirdiğini göstermektedir.

$\mathbf{C} = \{C_1, \dots, C_n\}$ hizalanmış eğitim şekillerinin bir kümesi, $\mathbf{y} = \{y_1, \dots, y_n\}$ bu eğitim şekil örneklerinin alındığı yeğlilik görüntüleri, b ise bölütlenecek nesnenin bağlam bilgisi olsun. Buna göre, verilen bir I imgesi ve bu imgeyi bölütleyen C çevritinin sonsal dağılımı, Bayesçi yaklaşımla

$$\begin{aligned} p(C|I, \mathbf{y}, b) &\propto p(I, \mathbf{y}, b|C)p(C) \\ &\propto p(I|C, \mathbf{y})p(b|C)p(C) \end{aligned} \quad (25)$$

şeklinde yazılabilir. Buradan hareketle, C çevritine bağlı bir enerji fonksiyonu (25) denkleminin negatif logaritması alınarak aşağıdaki şekilde yazılır:

$$E(C) = -\log p(I|C, \mathbf{y}) - \log p(b|C) - \log p(c). \quad (26)$$

(26) denklemindeki $-\log p(I|C, \mathbf{y})$ veri terimi aşağıdaki gibi yazılabilir:

$$\log p(I|C, \mathbf{y}) = \int_{dis(C)} \log p_{dis(C)}(I(x))dx + \int_{ic(C)} \log p_{ic}(I(x))dx \quad (27)$$

Burada $p_{dis}(\cdot)$ ve $p_{ic}(I(x))$, \mathbf{y} eğitim veri kümesindeki yeğlilik görüntülerden elde edilmiş, karşılık gelen çevritlerin iç ve dışlarında kalan yeğlilik olasılık yoğunluk fonksiyonlarıdır (Soğanlı vd., 2014). Benzer şekilde $\log p(b|C)$ eğitim veri kümesindeki şekillerin bağlamlarından öğrenilerek

$$\log p(b|C) = \int_{dis(C)} \log q_{dis(C)}(x)dx + \int_{ic(C)} \log q_{ic}(x)dx \quad (28)$$

şeklinde yazılır. $q_{dis(C)}(\cdot)$ ve $q_{ic(C)}(x)$ ise eğitim veri kümesindeki şekillerde x pikselinin sırasıyla dışarıda ve içeride bulunma olasılıklarıdır. Son olarak (26) denklemindeki $-\log p(C)$ terimi ise eğitim veri kümesinden öğrenilen önsel şekil dağılımının negatif logaritması olup, $p(C)$, Parzen yeğlilik kestiricisi ile aşağıdaki gibi hesaplanabilir:

$$p(C) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n k(d_{L_2}(C, C_i), \sigma). \quad (29)$$

(29) denkleminde, C_1, C_2, \dots, C_n hizalanmış eğitim şekilleri, $k(\cdot, \sigma)$, σ standart sapmalı 1B Gauss fonksiyonu, $d_{L_2}(\cdot, \cdot)$ ise L_2 uzaklık metriğidir.

Bölütleme problemi, (26) denkleminde verilen enerji fonksiyonunu en küçükleme problemine dönüşmektedir. Bu fonksiyonu en küçükleme için gradyan azalımı yöntemini kullanmaktayız. Bu sebeple, $E(C)$ enerji fonksiyonunun C çevritine göre türevinin hesaplanması gerekmektedir. $E(C)$, veri, bağlam ve şekil terimlerinin toplamı şeklinde yazıldığı için bu terimlerin C çevritine göre türevleri ayrı ayrı hesaplanabilir. Buna göre (27) denkleminin türevi $\frac{-\partial \log p(I|C, \mathbf{y})}{\partial C}$ aşağıdaki gibi yazılabilir:

$$\frac{-\partial \log p(I|C, \mathbf{y})}{\partial C} = \log p_{dis}(I(x)) - \log p_{ic}(I(x)) \quad (30)$$

(26) denklemde verilen bağlam teriminin türevi

$$\frac{-\partial \log p(b|C)}{\partial C} = \log q_{dis}(x) - \log q_{ic}(x) \quad (31)$$

(26) denklemdeki şekil teriminin türevi ise

$$\frac{-\partial \log p(C)}{\partial C} = \frac{1}{p(C)} \frac{1}{\sigma^2} \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n k(d_{L_2}(\phi_C, \phi_{C_i}), \sigma)(\phi_{C_i} - \phi_C) \quad (32)$$

şeklinde hesaplanır. (32) denklemdeki ϕ_C ve ϕ_{C_i} sırasıyla C bölütleme çevritinin ve i . eğitim şekli C_i 'nin seviye kümesi temsilidir (Sethian, 1999). Seviye kümesi temsilinde, C çevritinin içinde kalan bölgede $\phi_C < 0$, dışında kalan bölgede ise $\phi_C > 0$ olmaktadır. Önerilen bölütleme yönteminde, öncelikle verilen bir C başlangıç çevritinin ϕ_C seviye kümesi temsili hesaplanır. Daha sonra ϕ_C özyineli olarak, α basamak büyüklüğü olmak üzere, $\alpha \frac{\partial E(C)}{\partial C}$ ile güncellenir. Yeterli sayıda özyineleme adımı sonunda ϕ_C istenilen bölütleme sonucuna yakınsar.

3.3 Dikenlerin Şekillerine göre Sınıflanması ve Topak Analizi

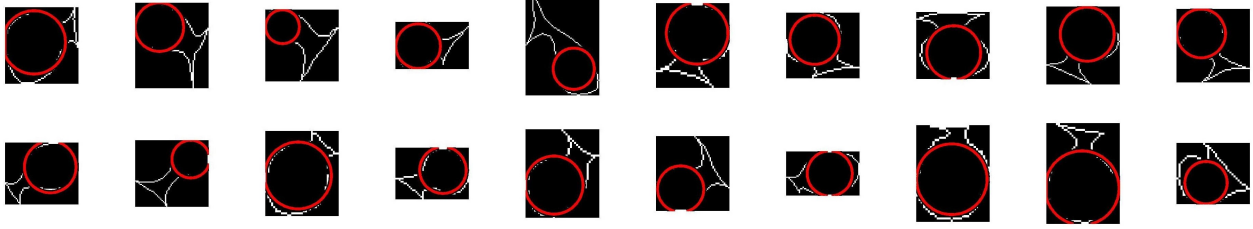
3.3.1 Diken Şekil Analizi için Morfolojik Öz Nitelikler

Bu bölümde 2B ve 3B dendritik dikenlerin sınıflandırılması için önerdiğimiz morfolojik öz nitelik çıkarma yaklaşımını sunmaktayız.

2B görüntülerde morfolojik analiz. (Morph3B)

2B dendritik dikenlerin sınıflandırılması için bilgi verecek öz nitelik çıkarım yöntemleri önermekteyiz. Temel görüntü işleme yöntemlerini dendritik dikenlerin morfolojik öz niteliklerini hesaplamak kullanılmaktadır. Bu sürece dikenleri DNSM ile bölütleyerek başlıyoruz ve bölütlenmiş görüntülerden morfolojik öz nitelikleri çıkarıyoruz. Bu çalışmada kullanılan morfolojik öz nitelikler aşağıda belirtilmiştir:

- Baş çapı
- Boyun uzunluğu
- Alan (Diken bölütlemesi bölgesinde kalan piksel sayısı)



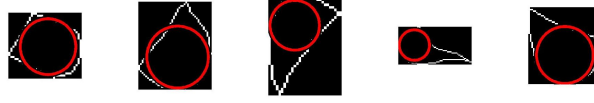
Şekil 15. Bazı dikenlere çember uydurulması.

- Çevre
- Dikeni sınırlayan kutunun yüksekliği
- Dikeni sınırlayan kutunun genişliği
- Boyun uzunluğu-Baş çevresi oranı
- Yuvarlaklık
- Dikeni sınırlayan kutudaki beyaz-siyah piksel oranı
- Şekil Faktörü

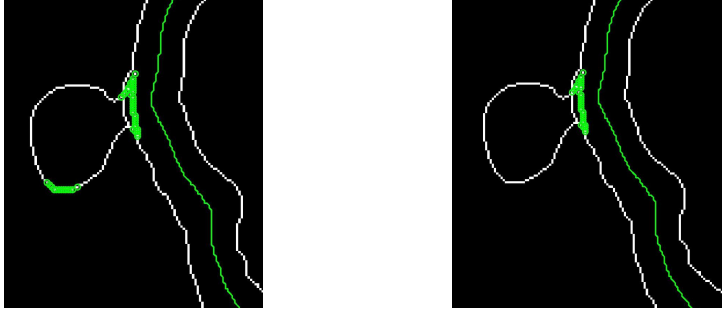
Baş çapını hesaplamak için, Hough Çember Dönüşümü (HCT) (Atherton ve Kerbyson, 1999) ile dikendeki en büyük çember buluyoruz. Bazı dikenler için HCT diken baş bölgesine oturmayabilir. Bu durumda Xie ve Ji (2002) çalışmasındaki elips uydurma algoritmasını uyguluyoruz. Son olarak baş çapı uydurulan çember veya elips kullanarak bulunur. Çember uydurma algoritması Şekil 15'te bazı dikenler için verilmiştir. Yuvarlaklık, çevre ve alan hesaplanarak (33) denklemlerle bulunur.

$$Circularity = \frac{Perimeter^2}{4\pi \times Area} \quad (33)$$

Boyun uzunluğu hesaplaması zorlu bir süreçtir. İlk olarak dendrit çevresi ve orta eksen 2B görüntüden hesaplanır ve daha sonra referans noktası olarak kullanılırlar. Bunu başarmak için ilk önce Otsu eşiklemesi (Otsu, 1975) ile dendritik kaba bir bölütlemesini (dikeni de içerebilir) elde ettik (Uitert ve Bitter, 2007). Ardından dahil edilen dikenleri elemek için



Şekil 16. Uydurulan çemberin diken baş bölgesiyle kesişme durumu \Rightarrow NeckUzunluğu = 0.



(a) Diken sınırından baş merkezine en uzak N nokta seçilir.

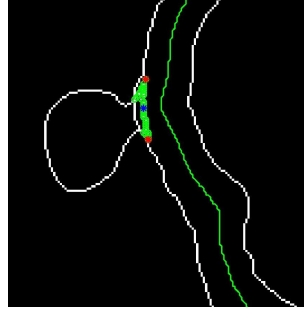
(b) $distance \leq T_m$ olan noktalar bulunur.

Şekil 17. Boyun tabanına göre aday noktaların seçilmesi.

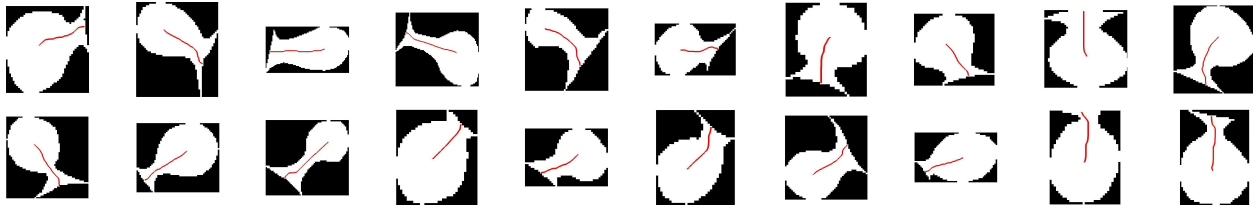
yerel olarak adapte olabilen boyutlu ve disk şeklinde yapısal eleman kullanarak erozyon uyguladık.

Güdük dikenlerin elle analizi ile sezgisel bir yöntem uyguladık. Buna göre, eğer uydurulan çember dendrit ile kesişirse, dikenin boynu yoktur diyebiliriz (Şekil 16). Aksi halde boyun uzunluğu hesaplama algoritması uygulanır. Ardından algoritma diken sınırlarının baş merkezine olan uzaklığını hesaplar ve N adet en büyük uzaklığa sahip olan noktayı seçer (Şekil 17a). Ardından, sıralanmış diken noktaları ve dendrit orta eksenindeki uzaklık ile hesaplanır. Bu uzaklıklara, belirlenen bir eşikleme değeri, T_m , uygulanır. T_m şu şekilde hesaplanır: $T_m = meanDistance + 2 \times StandardDeviation$. Burada $meanDistance$ ve $StandardDeviation$ sırasıyla hesaplanan uzaklıkların ortalama ve standart sapmasını temsil ederler. T_m eşiklemesinin altında kalan uzaklıklar temel noktalar için aday pikseller olurlar (Şekil 17b). Temel noktalar, dikenin dendrit yüzeyine bağlandığı noktalardır. Bu yaklaşım, dendrite en yakın ve diken baş bölgesinden en uzak pikselleri bulmamıza yarar.

Aday pikseller arasından, $\leq 3 \times headRadius$ koşul uzaklığına göre birbirinden en uzak 2 piksel bulunur (Şekil 18). Burada $headRadius$ diken başının yarı çapını temsil eder. Son



Şekil 18. Boyun taban noktaları seçimi.



Şekil 19. Boyun uzunluğu hesaplaması için en kısa yollar.

olarak çok şablonlu hızlı ilerleme (MSFM) (Hassouna ve Farag, 2007) yöntemi ile uzaklık haritası oluşturulur. Bu harita, Runge-Kutta (Butcher, 1987) algoritmasına girdi olarak verilir. Bu algoritma ile diken başının merkez noktası ile hedef nokta (taban pikseller arasındaki merkez nokta) arasındaki en kısa yol hesaplanır. Bir kaç diken için bulunan en kısa yol Şekil 19’da verilmiştir. Boyun uzunluğu diken başının yarıçapı en kısa yolun uzunluğundan çıkarılarak (34) denklemindeki gibi bulunur.

$$NeckLength = Dist - headRadius \quad (34)$$

Şekil faktörü 3 kısıttan oluşur ve algoritma sınırlayan kutu içine yarıçapı $radius = (NeckLength + HeadDiameter)/2$ olan bir çember uydurur. Ardından, çember içindeki beyaz pikseller, çember dışındaki beyaz pikseller, çember içindeki siyah pikseller hesaplanır ve şekil faktörünün üç öz niteliği olarak hesaplanır. Bu yöntem ile elde edilmiş sınıflandırma sonuçları küçük bir veri kümesi üzerinde Ghani vd. (2015) çalışmasında sunulmuştur.

3B görüntülerde morfolojik analiz. (Morph3D)

3B dendritik dikenlerin analizi için dikenlerin bölütlenmesine gerek olmayan bir yöntem

geliştirdik. Bu çalışmada 3B boyun uzunluğunu hesaplıyor, boyun yollarını çakıştırıyor ve şekil ve görünüm öz niteliklerini boyun yolu bilgisini kullanarak çıkartıyoruz.

3B analiz sürecine diken etrafında bir ilgi alanı (ROI) seçerek başlıyoruz. ROI, diken başı seçilen bölgenin ortasında olacak şekilde seçilmektedir. Ardından, watershed tabanlı bölütleme yöntemini kullanarak diken baş bölgesini bölütlüyoruz. Diken baş bölgesi bölütlendikten sonra hızlı yürüme yöntemi (Hassouna ve Farag, 2007) ile bölütlenmiş dikenin baş bölgesinden başlayarak bölütlenmiş dendrit üzerindeki aday hedef noktalarına yollar bulunur. Böylece, her bir hedef noktası için bir boyun uzunluğu hesaplanmış oluruz. Bu adaylar arasından boyun yolunu seçmek için boyun yolu uzunluğu, yol karmaşıklığı (yol türevlerinin ℓ_1 -normu) ve yol yumuşaklığı (yol boyunca olan yeğliliklerin ℓ_1 -normu) kısıtlarını kullanmaktayız. Bu kısıtlardan en düşük toplam değerine sahip boyun yolunu, boyun yolu olarak seçmekteyiz.

Boyun uzunluğu hesaplanması diken şekil varyasyonunun ve boyun hareketinin fazla olmasından dolayı zorlu bir problemdir. Bu hesaplama $k = 1$ seçerek diken başını watershed yöntemi ile bölütleyerek başlıyoruz. Bu bölütleme ayrıca diken başının merkezini bulmak için kullanılır. Dendrit iskeleti ve bölütlemesi daha önce 2B için anlattığımız yöntemle yapılır. Dendriti z eksenine eşlemek için iskeletin her bir noktasında tüm dilimlerdeki yeğlilik değerlerinden oluşan bir vektör oluşturup z ekseni boyunca bir Gauss fonksiyonu uyduruyoruz. Uydurulan Gauss fonksiyonunun ortalama değeri dendritin z eksenindeki koordinatı olacaktır. Bu gözlemler, z ekseni boyunca da diken olduğu gerçeğinden ötürü gürültülüdür. Bu gürültünün üstesinden gelmek için z eksenindeki değerlerin medyanı hesaplanır. Bu kabullenme tüm dendrit için doğru olmasa bile yerel olarak çalışmaktadır. Benzer yaklaşım diken baş merkezini z eksenine eşlemek için de kullanılır.

Dendritin her bir dilimi disk şeklinde bir yapısal elemanla erozyon yapılarak yapay yollar azaltılır. Çok şablonlu hızlı yürüyüş (MSFM) yöntemi (Hassouna ve Farag, 2007) 3B uzaklı eşlemesini hesaplamak için diken baş merkezini kaynak olarak kullanarak uygulanır. Ardından Runge-Kutta algoritması (Butcher, 1987) 3B eşleşmeler üzerine uygulanarak dendrit çevresinden diken baş merkezine olan en kısa N yol hesaplanır.

Sonuç olarak, doğru boyun uzunluğunun hesaplanması kritik bir aşamadır. Basit bir yaklaşım en kısa uzunluğa sahip yolu bulmak olabilir ((35) denklemi). Fakat, bu yöntem kendili-

iğinden hareket edebilen boyunlar olduğu durumlarda çalışmayabilir. Bu yüzden sadece yol uzunluğu yeterli değildir. En iyi jeodezik yolu seçmek için ek olarak 2 kısıt uygulamaktayız. İlk kısıt yol karmaşıklığıdır (denklem (36)). Yani yol mümkün olduğu kadar basit olmalıdır. Diğer kısıt ise yol üzerindeki görüntü yeğliliklerinin yumuşaklığıdır ((37) denklemi). Yani yol üzerindeki yeğlilik değişimi mümkün olduğunca az olmalıdır. (38) denklemi doğru yolu bulmak için kullanılır. Sonuç olarak bulunan boyun yolları bazı dikenler için Şekil 20’de verilmiştir.

$$L_P = \oint_{\bar{P}} ds \quad (35)$$

$$C_P = \left\| \frac{\partial P}{\partial x} \right\|_1 + \left\| \frac{\partial P}{\partial y} \right\|_1 + \left\| \frac{\partial P}{\partial z} \right\|_1 \quad (36)$$

$$S_P = \left\| \frac{dV(x_P, y_P, z_P)}{dI} \right\|_1 \quad (37)$$

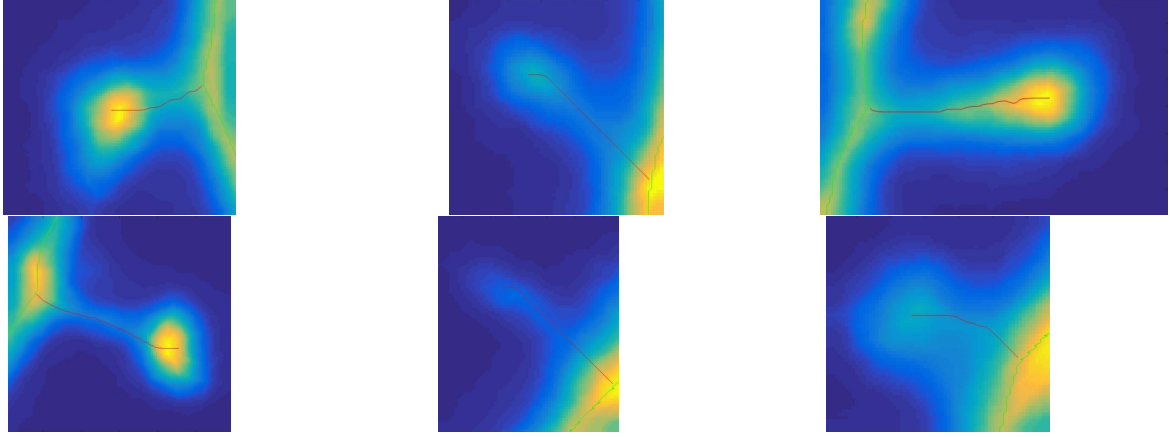
$$NeckPath = argmin_P \left(\frac{L_P}{max(L_p)} + \frac{C_P}{max(C_p)} + \frac{S_P}{max(S_p)} \right) \quad (38)$$

(35) denklemi dendrit yüzeyinden diken baş merkezine olan uzunluğa karşılık gelir. Boyun uzunluğunu hesaplamak için, ilk önce diken başının yarıçapını, watershed ile bölütlenmiş diken başına Hough çember dönüşümü ile bir çember uydurarak buluyoruz ve ardından (39) denklemini uyguluyoruz.

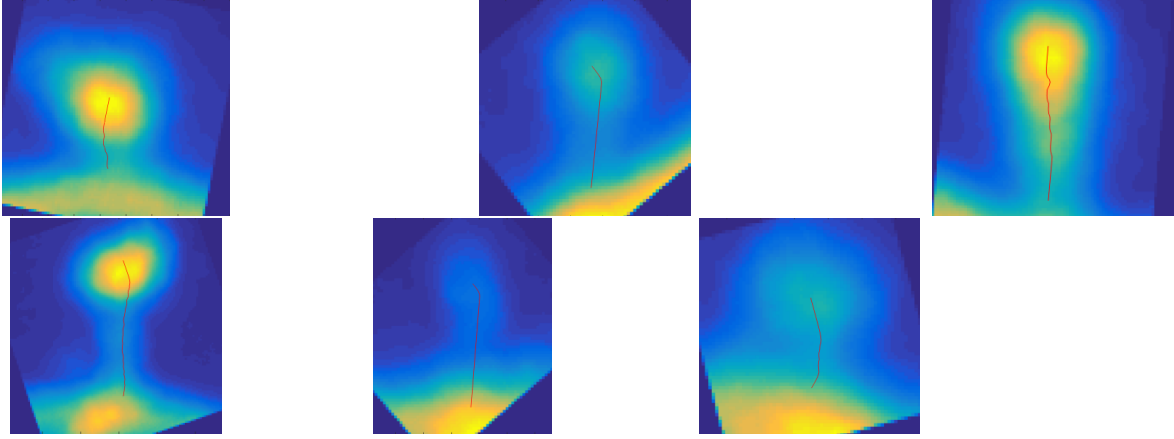
$$NeckLength = L_P - radius \quad (39)$$

Yukarıda anlatılan yöntemle hesaplanan 3B boyun yolları boyun şeklinin bir temsilini bulmayı sağlar. Eğer tüm dikenleri tek bir referans noktasında çakıştırabilirsek bu yollar iyi bir boyun şekli temsili elde etmemize yardımcı olabilir. Dikenler aşağıda bahsedildiği gibi çakıştırılabilir:

- Boyun tabanı ile diken başı arasındaki açığı bul.



Şekil 20. Bazı dikenler için boyun yolları.



Şekil 21. Bazı dikenler için hizalanmış boyun yolları.

- Diken pozisyonunun dendrit yüzeyine göre olan hizalama açısını hesapla.
- Çakıştırma açısına göre geometrik dönüşümü uygulayarak hizalamayı yap.

Bu yöntemi kullanarak boyun yollarını hizalıyoruz (Şekil 21). Bu yolları kullanarak çıkarılan basit öznitelikler sınıflandırmada kullanılabilir. Bu çalışmada, baş çapı, boyun uzunluğu, boyun yolu şekil öznitelikleri (δx , δy , δz) ve boyun yolu görünüm özniteliklerini (yol üzerindeki yeğliliklerin gradyanı) kullanmaktayız.

3.3.2 Çekirdek Yoğunluk Kestirme

Parametrik olmayan yoğunluğu çekirdek yoğunluk kestirme (Kernel Density Estimation, KDE) ile tahmin edip olabilirlik oranı (LRT) uygulayarak sınıflandırma yapıyoruz. Parametrik olmayan yoğunluk kestiricisi yaklaşımımız Kim vd. (2007a) çalışmasına benzerdir. n boyutlu bir $p(x)$ yoğunluk fonksiyonundan örneklenmiş m boyutlu bir öz nitelik vektörümüz, x_1, x_2, \dots, x_m , olduğunu kabul edelim. Parzen yoğunluk kestiricisi 40 denklemi ile bulunur.

$$\hat{p}(x) = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m k(x - x_i, \Sigma) \quad (40)$$

Burada $k(x, \Sigma) = \mathcal{N}(x; 0, \Sigma^T \Sigma)$, n boyutlu küresel ($\Sigma = \sigma I$) bir çekirdektir. Buna göre (40) denklemi (41) denklemi şeklinde sadeleştirilebilir.

$$\hat{p}(x) = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m k(d(x, x_i), \sigma) \quad (41)$$

Burada $d(x, x_i)$, x ve $x_i \in \mathbb{R}^n$ arasındaki ℓ_2 uzaklığı, ve $k(x, \sigma) = \mathcal{N}(x; 0, \sigma^2)$ 1B Gauss vektörüdür. Çekirdek genişliği (*sigma*) parantez yöntemi ile tahmin edilmiştir Burden vd. (2015). İlk olarak her bir öz nitelik vektöründen 1B boyutlu çekirdek genişliğini ve ardından bu m boyutlu çekirdek genişliği vektöründen en küçük (σ_{min}) ve en büyük (σ_{max}) çekirdek genişliğini hesaplıyoruz. Son olarak, parantez yöntemi ile $[\sigma_{min}, \sigma_{max}]$ aralığındaki en uygun çekirdek boyutunu buluyoruz.

Bir görüntünün mantar (l_m), güdük (l_s), ve zayıf (l_t) sınıfına ait olma olabilirliğini hesapladıktan sonra LRT kullanarak sınıflandırma yapabiliriz. İlgilendiğimiz problem 3 sınıflı bir sınıflandırma problemidir ve birden fazla olabilirlik karşılaştırması gerektirir. (42) denkleminde olduğu gibi 2 olabilirlik oranı tanımlıyoruz. Burada \mathcal{L}_s güdük ve \mathcal{L}_t zayıf dikenleri temsil etmektedir.

$$\begin{aligned}\mathcal{L}_s &= \frac{l_s}{l_m} \\ \mathcal{L}_t &= \frac{l_t}{l_m}\end{aligned}\tag{42}$$

Son olarak bu olabilirlik oranlarını (43), (44) ve (45) denklemlerinde gösterildiği gibi hesaplayabiliriz. Burada “Not M”, sınıflandırma kararı olarak Mantar sınıfına karar vermemek, “Not S” sınıflandırma kararı olarak güdük sınıfına karar vermemek ve “Not T” ise sınıflandırma kararı olarak zayıf sınıfına karar vermemek anlamındadır. Bu şekilde, karar olarak tek bir sınıf kalana kadar bu indirgemeci yaklaşımı kullanmaktayız. Bu yaklaşım n boyutlu sınıflandırma problemini, problemi olabilirlik oranları ile belirleyerek basit hale getirir. Şekil 22, 2B olabilirlik oranı uzayındaki karar bölgelerini gösterir.

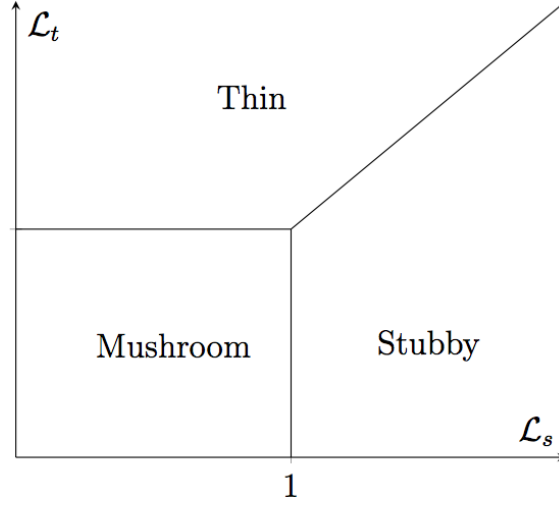
$$\begin{array}{c} \text{Not M} \\ \mathcal{L}_s \geq 1 \\ \text{Not S} \end{array}\tag{43}$$

$$\begin{array}{c} \text{Not T} \\ \mathcal{L}_s \geq \mathcal{L}_t \\ \text{Not S} \end{array}\tag{44}$$

$$\begin{array}{c} \text{Not M} \\ \mathcal{L}_t \geq 1 \\ \text{Not T} \end{array}\tag{45}$$

3.3.3 Şekil ve Görünüm Öz Nitelikleri Tabanlı Yaklaşım

Bölütleme ve şekil öz nitelikleri çıkarımı için DNSM kullanıyoruz. Bu yöntem DNSM şekil örneklerinin öğrenilmesi için el ile bölütlenmiş görüntülere ihtiyaç duyar. Çakıştırılmış veri kümesini elde etmek için ilk önce her bir diken için bir 2 ROI seçiyoruz. ROI seçimi diken baş bölgesi merkezinin ROI'nin merkezinde olacak şekilde yapılır. Ayrıca her bir diken 250×250



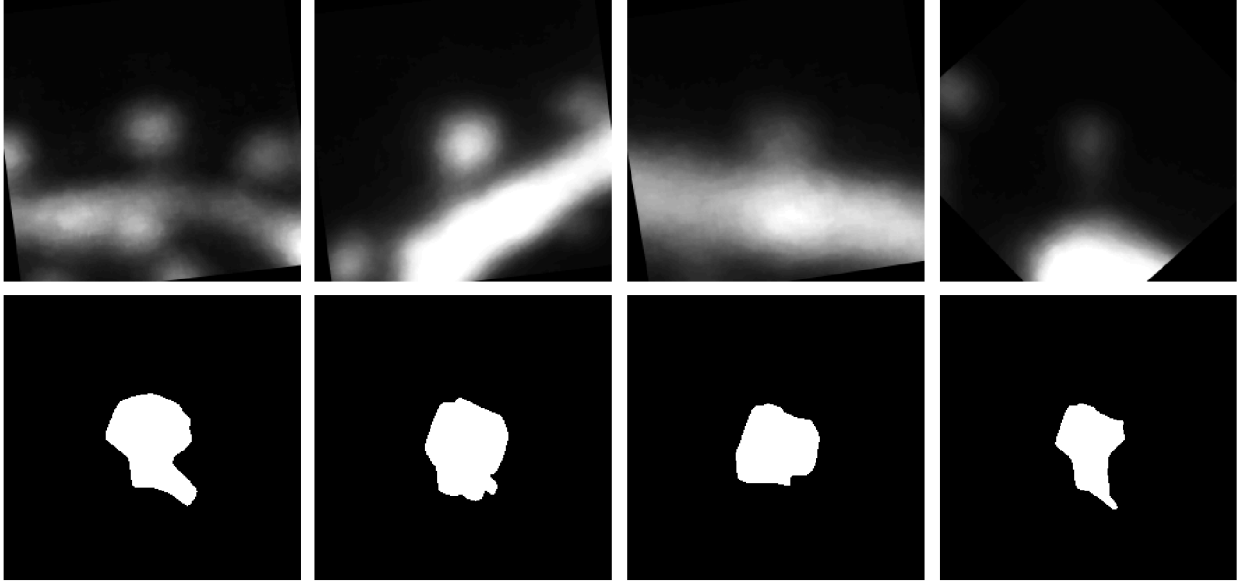
Şekil 22. 2B olabilirlik oranı uzayında sınıflandırma karar bölgeleri.

piksel boyutlarına ölçeklenir. Görünüm açısının değişmemesi için, ROI'nin kare olmasına dikkat edilir. Son olarak, her bir diken görüntüsü diken boynu yatay eksene paralel olacak şekilde döndürülür.

Bu sürecin bazı adımları şu anda elle yapılmaktadır. Ancak süreç, Hough çember dönüşümü ile diken baş bölgesi merkezini ve diken boyun yolunu hesaplayarak dikenin dendrite göre yönü otomatik olarak bulunabilir (Ghani vd., 2015). Bu yaklaşımı 2B dendritik dikenin bölütlenmesine uygulayarak şekil parametrelerini öznitelik olarak kullanıyoruz.

DNSM şekil ve görünüm ön bilgisi temelli yaklaşım (Mesadi vd., 2015) 2 aşamadan oluşur: eğitim ve test. Bu amaçlar elimizdeki veri kümesini 10 katlamalı çapraz doğruluk yöntemi kullanarak test ve eğitim olmak üzere iki kümeye ayırdık. Bu yöntem yerel şekil ve görünüm ön bilgilerini kullanır ki özellikle görünüm ön bilgisinin kullanılması, dendrit ve diken bölgelerini ayırması açısından önemlidir. İki-foton mikroskopi görüntülerinde yağınlik seviyeleri diken ve dendrit için aynı olduğundan iyi bir diken bölütlemesi için yerel görünüm ön bilgisinin kullanılması kritik önem taşır.

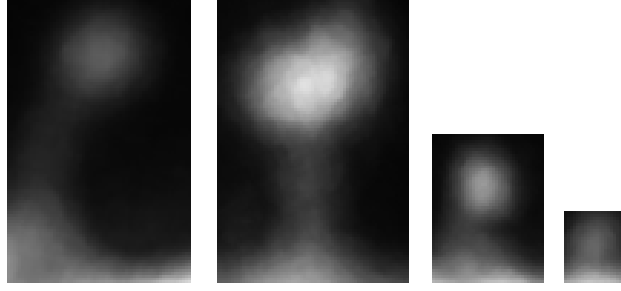
Bu yöntemin, farklı uygulamalarda ayarlanması gereken bir kaç farklı parametresi vardır: M yarım uzayların sayısı, N politopların sayısı, α şekil ön bilgisinin katkısı ve γ görünüm ön bilgisinin katkısı. Bir uygulamamızda deneysel olarak $M = 16$, $N = 8$, $\alpha = 0.05$, ve



Şekil 23. Veri kümesinden birkaç görüntü. (üst) yağınlik görüntüleri, (alt) bölütlemeler. İlk 2 diken mantar, 3. diken güdük, 4. diken ise zayıf olarak işaretlenmiştir (Mesadi vd., 2015). Otomatik bölütleme sonuçları mükemmel değildir; bazen gereğinden büyük bazen de gereğinden küçük bölütleme problemi yaşanır. Yine de bölütleme sonuçları şekil tiplerini oldukça iyi gösterirler ve sınıflandırma için kullanılabilirler.

$\gamma = 0.5$ kullandık. Bir kaç diken için bölütleme sonuçları Şekil 23'te verilmiştir. Bölütlemenin sonucu olarak, her bir dikenin karakteristik fonksiyonuna DNSM parametreleri ile yakınsadık. DNSM her bir bölütlemeyi $M \times N \times 3$ parametre ile temsil eder. Daha önce bahsettiğimiz üzere, DNSM parametrelerini öz nitelik vektörü olarak sınıflandırıcı eğitmek ve diken sınıflandırması yapmak için kullandık. DNSM öz nitelikleri kullanılarak elde edilen sınıflandırma sonuçları küçük bir veri kümesi üzerinde test edilip Ghani vd. (2016c) çalışmasında raporlanmıştır.

Yağınlik görüntüleri veri kümesi analizlerinden çıkardığımız bir sonuç, dikenlerin iç bölgesindeki yağınlik dağılımı sınıflandırma için faydalı bilgiler taşımaktadır. Ancak, yağınlik seviyesi dendrit ve veri kümesine göre değişiklik göstermektedir. Bizim veri kümemizde diken baş bölgesinde tek düze yağınlik dağılımı olduğunu fakat, bunun boyun için geçerli olmadığını gözlemledik. Böylece, bu yerel görünüm bilgisini kullanmak diken sınıflandırması için bize yardımcı olur. Bu yüzden görünüm öz niteliklerini çıkarmak için HOG uygulamaya karar



Şekil 24. HOG için kullanılan veri kümesinden bir kaç görüntü. Soldan sağa ilk diken zayıf, 2. ve 3. dikenler mantar, 4. diken ise güdük olarak etiketlenmişlerdir.

verdik.

HOG özniteliklerini hesaplamak için bir ROI seçtik. Daha sonra bu ROI'yi diken boynu dikey olarak çakışacak şekilde döndürdük. Bu veri kümesinden bir kaç görüntü Şekil 24'te verilmiştir.

HOG farklı bileşenlere sahiptir ve bu bileşenlerin değerlerini değiştirmek tanımlayıcıları etkiler. Bu parametreler hücre boyu, blok boyu, blok kesişme oranı ve aynı yöne getirilmiş sıklık grafiği kutularıdır. Hücre boyutu değerinin seçimi genel yüksek boyutlu öz nitelikler veya yerel öz nitelikler isteyip istemediğimize bağlıdır. Eğer yüksek boyutlu öz nitelikler ile ilgileniyorsak, yüksek bir hücre boyutu değeri istenebilir. Bunun sebebi, hücre boyutunu artırdığımızda daha çok piksel seçecek olması ve yerel seviyedeki veya küçük boyuttaki değişimleri kaybederek sadece genel bilgiyi alacak olmamızdır. Hücre boyutuna benzer olarak, küçük blok boyu yerel ışıklandırma değişikliklerini almamızı sağlar. Eğer zıtlık normalizasyonu istiyorsak, hücre boyundan büyük bir blok boyu değeri gerekli olacaktır. Ayrıca zıtlık normalizasyonu, blok kesişimi ile de kontrol edilir. Eğer işaretli olmayan gradyan yönü kullanırsak, karanlıktan aydınlığa ya da tam tersi geçişleri ayırt edemeyiz. Aynı yöne getirilmiş sıklık grafiği kutularının sayısı öz nitelik vektörünün boyunu kontrol eder. Yüksek değer öz nitelik vektörü boyutunu artırır fakat daha iyi yeğlilik geçişleri elde etmemizi sağlar. HOG öz niteliklerinin değerlerini deneysel olarak şu şekilde seçtik: $HücreBoyu = \lceil \frac{yükseklik}{5}, \frac{genişlik}{5} \rceil$, $BlokBoyu = 2 \times HücreBoyu$, $BlokKesişim = 1$, ve $KutuSayısı = 9$.

3.3.4 Doğrusal Temsil Tabanlı Yaklaşım

Bu yöntemi uygulamamızın arkasındaki motivasyonumuz Wright vd. (2009) yönteminin yüz tanıma problemindeki başarımıdır. Bu yaklaşım iki fikir sunar; biri test görüntüsünü eğitim görüntülerinin doğrusal kombinasyonu şeklinde temsil etmek, diğeri ise bu gösterimi ℓ_1 -norm kısıtı uygulayarak sağlamaktır (seyreklik). Doğrusal temsil veya seyreklik kısıtı fikirleri sayesinde başarılı performans artışı analiz etmek için farklı deneyler yaptık. Bildiğimiz kadarıyla bu yaklaşım daha önde diken analizi problemine uygulanmamıştır. Bu yüzden, seyreklik kabullenmesinin dendritik dikenler için uygun olup olmayacağını anlama yönünde ilginç bir deneydir.

DNSM (Ramesh vd., 2015) tabanlı yöntemi dikenleri otomatik bölütlemek için uyguladık. Daha sonra en küçük kareler, ℓ_2 -norm, ve ℓ_1 yöntemlerini test görüntüsünü temsil etmek için SRC yöntemini ise sınıflandırma için uyguladık. Yang vd. (2010) çalışmasında sunulan ℓ_1 küçükleme aracını kullanarak ℓ_1 temsil katsayılarını elde ettik. Dikenleri otomatik olarak DNSM ile bölütlemek için 10 katlamalı çapraz doğruluk yaklaşımını kullandık. Aynı eğitim ve test katlamaları sınıflandırma boyunca kullanılmıştır.

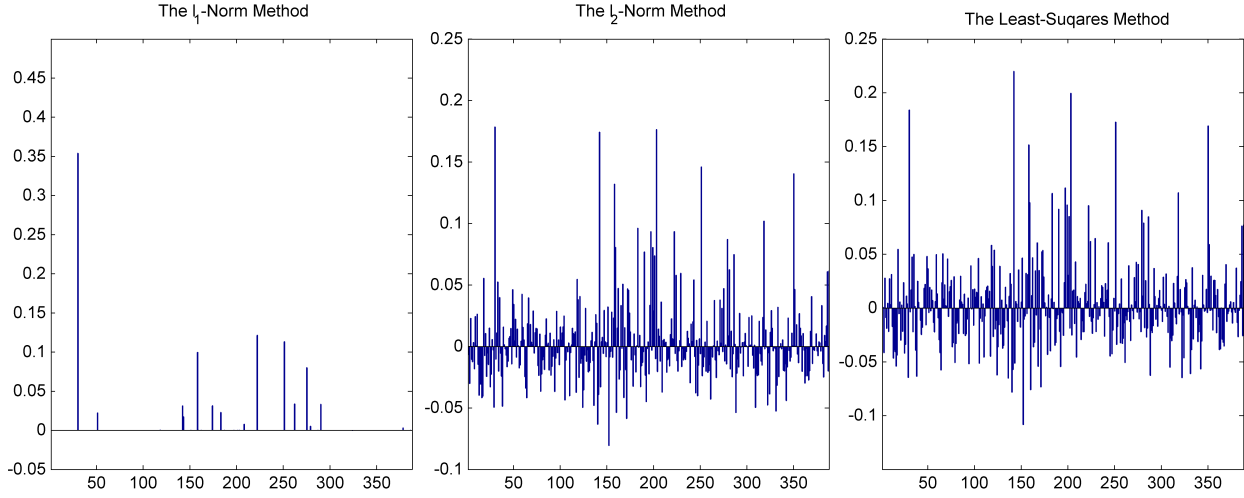
ℓ_1 temsili elde etmek için, Kim vd. (2007b) tarafından önerilmiş ℓ_1 düzenlenmiş en küçük kareler problemi (LSP) (46) denklemindeki gibi kullandık.

$$\text{minimize } \|Ax - t\|^2 + \lambda \|x\|_1 \quad (46)$$

Burada $x \in \mathbb{R}^n$ değişken, λ düzenleyici parametre ve $t \in \mathbb{R}^m$ 'dir.

λ düzenleyici parametresini optimize etmek (46) denklemiyle yeterince seyrek bir çözüm elde etmek için önemlidir. Bu amaçla, seyreklik ölçüsünü tanımlayarak her iki tekniğin de seyrekliğini optimize ediyoruz. Hurley ve Rickard (2008) farklı seyreklik ölçütlerini karşılaştırmış ve Gini indisini (GI) en iyisi olarak raporlamıştır. GI seyreklik ölçütü için sıkça kullanılır ve diğer yöntemlere göre avantajları vardır. GI normalize edilmiştir; 0 değeri en az seyrek çözüm, 1 ise en seyrek çözüm anlamına gelmektedir. λ düzenleyici parametreyi en iyilemek için ikiye ayırma (parantez) yöntemini kullanıyoruz. ℓ_1 tabanlı çözüm ile λ değeri 401.45 bulunmuş olup ortalama GI değeri 0.971'dir.

Artık belirlenmiş durum için, $m > n$, doğrusal sistem denkleminin çözümü x_0 genellikle tektir. Burada, n eğitim görüntülerinin sayısı ve m 'de görüntünün boyutudur ($width \times$



Şekil 25. Farklı temsile sahip algoritmalar kullanarak doğrusal temsil katsayılarının kestirilmesi.

height). Böylece, çözümün tekliği eğitim görüntülerinin sayısına ve boyutuna bağlıdır. Diken sınıflandırması problemi için $m = 456$ ve $n = 62,500$ 'dir. Bu yüzden bu artık belirlenmiş bir sistemdir.

ℓ_2 -norm yöntemi için, $\hat{\zeta}$ gösterim katsayılarını, (7) denklemindeki gibi katsayılar üzerine ℓ_2 -norm kısıtları uygulanarak tahmin etmekteyiz. Düzenleyici parametrenin, λ , değerini L -eğrisi yöntemi (Hansen ve O'Leary, 1993) ile en iyilemekteyiz. Bu yaklaşımla elde edilen sınıflandırma sonucu küçük bir veri kümesi üzerine uygulanarak Ghani vd. (2016b) çalışmasında verilmiştir.

En küçük kareler yöntemi için, $\hat{\zeta}$ gösterim katsayılarını, (5) denklemindeki gibi tahmin etmekteyiz. En küçük kareler, ℓ_2 -norm ve ℓ_1 -norm yöntemleri için temsil katsayıları bahsedilen yöntemlerle elde edilmiş ve bir diken için elde edilen katsayılar Şekil 25'te verilmiştir.

3.3.5 Çok katmanlı Öğrenme Temelli Yaklaşımlar

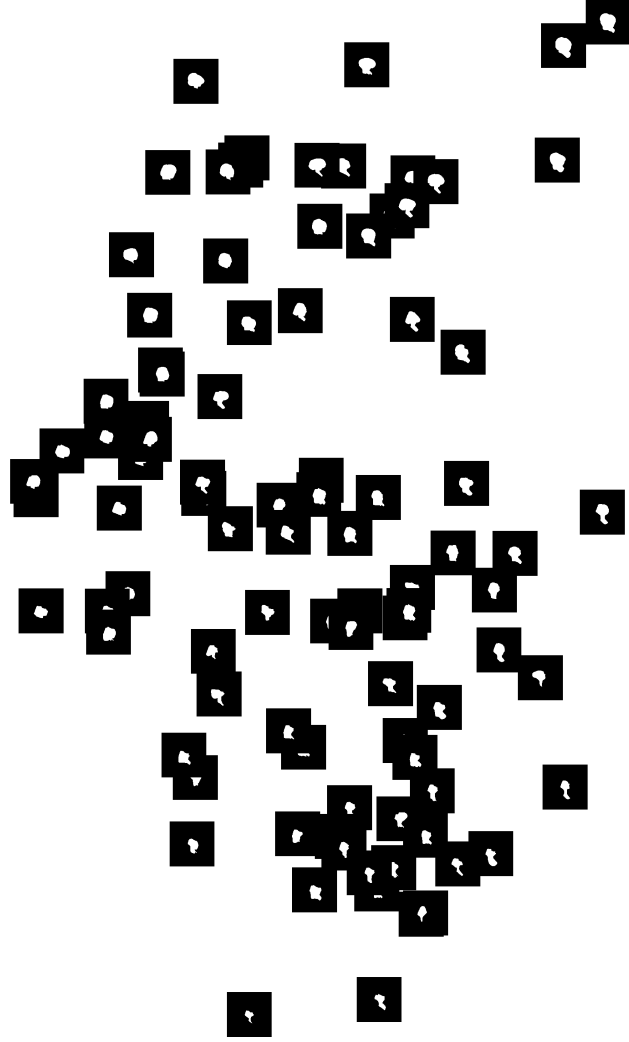
Bu çalışmada, çeşitli çok katmanlı öğrenme tekniklerini dendritik diken sınıflandırması problemine uygulayıp başarımlarını karşılaştırmaktayız. Aşağıda listelenmiş çok katmanlı öğrenme algoritmaları bu çalışmada boyut azaltmak için kullanılmış olup bu bölümde kısaca değinilecektir.

- Temek Parçacık Analizi (PCA) (Jolliffe, 1986)
- Çok boyutlu ölçeklendirme (MDS) (Cox ve Cox, 2000)
- Yerel Doğrusal Katıştırma (Embedding) (LLE) (Roweis ve Saul, 2000)
- Laplace öz haritaları (Belkin ve Niyogi, 2002)
- Yerel Tanjant Uzayı Çakıştırması (Zhang ve Zha, 2005)
- ISOMAP (Tenenbaum vd., 2000)

DNSM ile bölütlenmiş görüntüyü alarak başlayıp, bu görüntünün sütunlarını arka arkaya ekleyerek öz nitelik vektörünü oluşturuyoruz. İlk önce, her bir bölütlenmiş diken için 62, 500 boyutlu bir öz nitelik vektörü oluşturulur. Bu öz nitelik vektörleri öz nitelik matrisini elde etmek için kullanılır. Son olarak, çok katmanlı öğrenme algoritmaları bu matris üzerine uygulanarak 25 boyutlu öz nitelik vektörleri elde edilir. Bu yaklaşımı küçük bir veri kümesine uygulayarak elde ettiğimiz ön sonuçlar Ghani vd. (2016a) çalışmasında raporlanmıştır.

ISOMAP-Uzay Analizi

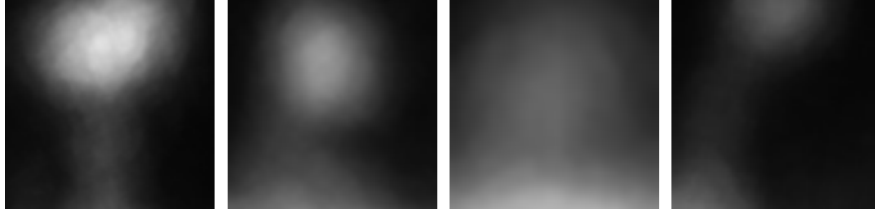
ISOMAP (Tenenbaum vd., 2000) bir veri kümesinden ayırt edici öz nitelikleri hesaplayabilme özelliği ile bilinir. 2B ISOMAP öz nitelik uzayından bazı örnekler Şekil 26'da gösterilmiştir. Bu öz nitelik uzayının görsel olarak incelenmesi ilginç gözlemlere yol açar: dikenlerin baş bölgesinin çapı dikey eksen, boyun uzunluğu da yatay eksen boyunca değişir. Bu gözlem Ghani vd. (2015) çalışmasında yaptığımız baş çapı ve boyun uzunluğu dikenlerin sınıflanması için en önemli öz niteliklerdir iddiamızı doğrular. Bu aynı zamanda ISOMAP yönteminin üstü kapalı olarak veri kümesini temsil etmek için gerekli parametre sayısını hesapladığıdır. Bizim durumumuzda bu 2'dir. Benzer analizler daha önce yüz ve rakam veri kümeleri için yapılmıştır (Tenenbaum vd., 2000).



Şekil 26. ISOMAP 2B öz nitelikleri: Diken baş çapı y eksenini boyunca, boyun uzunluğu da x eksenini boyunca değişir. DNSM bölütleme yönteminin sonuçları veri kümemizdeki bazı dikenler için verilmiştir.

3.3.6 Derin Öğrenme Tabanlı Yaklaşım

Bu çalışmada, iyi bilinen bir CNN mimarisi olan AlexNet (Krizhevsky vd., 2012) üzerine transfer öğrenme uygulayarak, doğal görüntüler üzerinde eğitilmiş bir ağı öz nitelik çıkarımı için kullanıyoruz. Ayrıca, bu ağı dendritik diken veri kümesinde kullanmak için ince ayar yapıyoruz. CNN'den öz nitelik çıkarım, CNN'nin eğitim ve testi için Caffe (Jia



Şekil 27. Ölçeklendirilmiş ve merkeze göre kesilmiş görüntülerden bir kaç örnek. Soldan sağa ilk ve ikinci dikenler mantar, üçüncü diken güdük ve dördüncü diken ise zayıftır.

vd., 2014) kütüphanesini kullanıyoruz. Bildiğimiz kadarıyla daha önce transfer öğrenme veya herhangi başka bir derin öğrenme yöntemi dendritik diken sınıflandırması probleminde uygulanmamıştır. Bu yüzden, transfer öğrenmeyi derin öğrenme yöntemleri ile uygulayarak elde edilen sonuçları literatürdeki en iyi sonuçları veren yöntemlerle karşılaştırmak ilginç bir deneydir.

İlk önce dendritik dikenlerin tamamı görünecek şekilde ROI'leri yeğlilik görüntülerinden seçiyoruz. Bu aşamada ROI'lerin aynı boyutta olması önemli değildir. Daha sonra ROI'ler diken boynu yatak eksene dik olacak şekilde döndürülür. Bu işlemler bize farklı boyutta verileri olan bir veri kümesi oluşturur. Ancak, bizim bu çalışmada kullandığımız CNN mimarisi, AlexNet (Krizhevsky vd., 2012), aynı boyutta imgeleri girdi olarak kabul eder. Bu yüzden, ROI'nin kısa olan boyutunu 256 olarak ölçeklendirdikten sonra ROI'nin merkezi etrafında 256×256 'lık bir parça kesiyoruz. Bu şekilde oluşturulmuş bir kaç örnek Şekil 27'de verilmiştir.

Dendritik diken sınıflandırması için transfer öğrenme uygulayarak elde edilen sonuçları öz nitelik çıkarımı ve CNN mimarisine ince ayar yapma ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırdık. 1,000 sınıfa sahip ImageNet veri kümesinde eğitilmiş olan AlexNet mimarisini kullandık. Bu mimariyi öz nitelik çıkarımı için kullanırken en son bir ($fc8$) veya iki ($fc7$ ve $fc8$) tamamen bağlı katmanları kestik ve 4,096 boyutlu öz nitelik vektörlerini 7. veya 6. katmanlarda elde ettik (Yosinski vd., 2014).

Transfer öğrenme uygulamak için kullanılan diğer bir yöntem, eğitilmiş bir ağın parametrelerine ince ayar yapmaktır. 1,000 sınıflı ImageNet üzerinde eğitilmiş AlexNet parametrelerini başlangıç değeri olarak kullanarak son katman olan $fc8$ 'i çıktı sayısı 3 olacak şekilde (3 sınıflı bir problemle ilgilendiğimiz için) değiştirdik. Böylece $fc8$ eğitime rastgele ağırlıklar-

dan başlamış oldu. AlexNet zaten büyük bir veri kümesiyle eğitildiği için tüm ağıın öğrenme oranını 0.00001'e düşürerek ağ ağırlıklarının yavaşça değişmesini sağladık. Bu amaç için bir diğer yaklaşım ise başlangıç katmanlarının ağırlıklarını dondurarak (başlangıç katmanlarda genel öz nitelikler elde edildiğini göz önüne alarak) sadece son katmandaki tamamen bağlı ağı yeni uygulama için eğitmektir. Biz her iki yöntemi de kullandık: tüm katmanlara ince ayar yapmak (FT $fc1 - fc7$ AlexNet) ve ilk 2 evrimsel katmanı dondurmak (FT $fc3 - fc7$ AlexNet). Ağı bu şekillerde 3,000 iterasyon eğittik. Her iki yöntemle yapılan ince ayardan sonra $fc7$ katmanından öz nitelikleri elde ettik. Aynı zamanda ince ayarlanmış AlexNet'in son katmanından çıkan sınıflandırma sonucunu da kullandık. Önerilen yöntemin başarımını ölçmek için 10 katlamalı çapraz doğruluk yöntemini kullandık. Yani, 10 ağına ince ayar yaptık ve bu ağlardan öz nitelik çıkarımı yaparak karşılık gelen test katlamasında sınıflandırma yaptık.

3.3.7 Kümeleme

Jain (2010) kümeleme için iki amaçtan bahseder: keşifçi ve onaylayıcı. Keşifçi amaç bir hipotez ya da model olmadığında var olan şablonları keşfetmeyi öngörür. Onaylayıcı amaç ise önceden belirlenmiş bir model ya da hipotezin varlığında modelin kullanılan veride doğrulanmasıdır. Dendrit diken şekillerinin incelenmesinde literatür bir model ortaya koymaktadır. Bu kısımdaki çalışmalarımız, literatürde verilen modelin verimizle ne kadar uyumlu olduğunu incelemek ve eğer bu model elimizdeki veriye uymuyorsa verideki doğal grupları keşfetmek üzerine kuruludur.

Jain (2010)'e göre kümeleme algoritmaları arasında en iyisi yoktur çünkü her kümeleme tekniği dolaylı ya da doğrudan veri üzerine bir yapı dayatır. Bunun sonucunda eğer iyi bir eşleştirme olursa güzel sonuçlar verir. Ayrıca şablonların dolaylı ya da doğrudan keşfedilmesine olanak sağlayan uygun özniteliklerin seçiminin can alıcı olduğunun altını çizer. Kümeleme işlemini doğru kümeleme yöntemini seçmek yerine doğru öznitelikleri seçmek açısından ele alarak farklı öznitelik gruplarının kümeleme sonuçlarını karşılaştırdık. K-ortalamlar kümesinin geliştirilmiş bir hali olan ve küme sayısının elle belirlenmesine gerek duymayan x-ortalamlar kümesini kullandık. Verilen küme sayısı aralığından verideki küme sayısını BIC kullanarak otomatik belirleyen bu yöntem için küme aralığını 2-10 olarak seçtik.

3.4 Dendrit Dikenlerinin Tespiti, Takibi ve Dinamik Bölütlenmesi

3.4.1 Diken Tespiti

Literatürde diken tespiti için önerilen yöntemlerin (Cheng vd., 2007; Li vd., 2009, 2011; Zhang vd., 2007b) ortak noktası eğrisel yapıların tespitine dayalı bir yaklaşım kullanarak diken sınırlarının ve dendrite bağlantı noktalarının (branch points) zaman serilerinde bulunmasıdır. Yakın dönemde gerçekleştirdiğimiz Rada vd. (2014) çalışmamızda biri dendrit ekseninin bulunması diğeri ise sınıflama temelli olmak üzere iki farklı yöntem önermiştik. Birinci yöntem “nokta pekiştirme? (dot enhancement) süzgeci sonucu ile eksen uç noktalarından faydalanarak dikenleri tespit eder ve “watershed”–değişimli (watershed–variational) temelli bir yaklaşım kullanarak dikenleri bölütler. İkinci yöntem ise diken tespiti için SIFT öznelik vektörleri ile eğitilmiş bir destek vektör makinasını (SVM) sınıflayıcı olarak kullanır, bölütlemeyi ise yine “watershed”–değişimli temelli yaklaşım ile gerçekleştirir. Son olarak her iki yöntemin güçlü yönlerini birleştiren üçüncü ve daha doğru bir yöntem daha sunulmuştur. Geliştirdiğimiz yöntemler, NeuronIQ (The Methodist Research Institute, Center for Bioengineering and Informatics) gibi referans çözümler ile benzer başarıma ulaşırken parametre değişimlerinden daha az etkilenmektedir. Deneysel sonuçlara göre NeuronIQ dikenlerin yansıra diken olmayan uzantıları ve gürültüyü de bölütleyebilmekte ve görüntünün yeğlilik dağılımına bağlı olarak diken kısmı ya da parçalı bölütleyebilmektedir (bkz. Şekil 56). Ticari olmayan bir yazılım olan NeuronIQ (Cheng vd., 2007) (<http://www.cbi-tmhs.org/Neuroniq>) ile detaylı karşılaştırmalar için Rada vd. (2014) çalışmasına bakılabilir.

Yöntem 1: Nokta pekiştirme süzgeci ve morfolojik işlevler ile diken tespiti

Birinci yöntemimiz nokta pekiştirme süzgeci sonucu ile iskelet uç noktalarını birlikte kullanır. Nokta pekiştirme (dot enhancement) süzgeçleri görüntünün nokta görünümlü alanlarında yüksek tepki verdiği ve noktaya benzemeyen şekillere duyarsız kaldığı için ilgi çekicidir. Bu yöntemde kullandığımız süzgeç görüntü uzayının her noktasında yeğinliklere uygulanan Hessian matrisinin özdeğer analizine dayanır ve daha önce Li vd. (2003) tarafından nodül tespitinde duyarlılığı iyileştirmek amacıyla parametre–bağımsız bir yaklaşım olarak sunulmuştur. Aşağıda bu süzgeçleri $2B$ uzayda açıklayacağız.

2B nokta pekiştirme süzgeçlerinin oluşturulması: Medyan süzgeç ile işlenmiş $2B$ bir $I(x, y)$ görüntüsünün ikinci dereceden türevleri I_{xx} , I_{yy} ve $I_{xy} = I_{yx}$ olarak tanımlandıktan

sonra görüntünün her pikselinde gerçel simetrik Hessian matrisi $H = \begin{bmatrix} I_{xx} & I_{xy} \\ I_{yx} & I_{yy} \end{bmatrix}$ oluşturulur.

Hessian matrisinin özdeğeri $K = (I_{xx} + I_{yy})/2$ ve $Q = \sqrt{I_{xx} * I_{yy} - I_{xy} * I_{yx}}$ olacak şekilde aşağıdaki gibi bulunur

$$\lambda_1 = K + \sqrt{K^2 - Q^2}, \lambda_2 = K - \sqrt{K^2 - Q^2}. \quad (47)$$

Genelliği kaybetmeden, $|\lambda_1| \geq |\lambda_2|$ koşulunu sağlayacak şekilde λ_1 'in en büyük özdeğer olduğunu varsayalım; aksi durumda λ_1 ile λ_2 'yi yer değiştirelim. Koyu bir arkaplanda parlak nesnelere pekiştirmek istediğimiz için ikinci türevlerin işaretinin negatif olmasını ve noktaya/nodüle benzer bölgelerde $\lambda_1 \approx \lambda_2 < 0$ olmasını bekleriz. $k(\lambda_1, \lambda_2) = |\lambda_2|/|\lambda_1|$ olarak tanımlarsak iki özdeğerin eşit olduğu durumda $k(\lambda_1, \lambda_2) = 1$ olur. Bu durumda $k(\lambda_1, \lambda_2)$ fonksiyonu daire ($k = 1$), elips ($0 < k < 1$) ve çizgi ($k = 0$) şekillerinin ayırteğilmesine olanak sağlayacaktır.

Süzgecin kalitesini belirlemek amacıyla duyarlık (sensitivity) ve özgüllük (specificity) ölçütlerinden yararlanabiliriz. Li vd. (2003) çalışmasındaki notasyona bağlı kalarak, $z(\lambda_1, \lambda_2)$ bir (nokta ya da doğrusal parça) pekiştirme süzgecinin büyüklük (g_{dot} ya da g_{line}) ve ihtimal (k_{dot} ya da k_{line}) işlevlerinin çarpımından oluşan sonucunu gösterebilir.

k_{dot} ve k_{line} ihtimal işlevlerinin oluşturulması: Bahsi geçen ihtimaller, bir pikselin bir noktaya ya da doğrusal parçaya ait olma olasılığını gösterir. Koyu bir arkaplanda parlak nesnelere pekiştirmek istediğimiz için ikinci türevlerin işaretinin negatif olmasını ve noktaya/nodüle benzer bölgelerde

$$\lambda_1 \approx \lambda_2 = -1/\sigma^2 < 0. \quad (48)$$

olmasını bekleriz.

Böylece, Li vd. (2003) çalışmasında detayları verildiği üzere nokta ve doğrusal parça pekiştirme süzgeçleri için ihtimal işlevlerini aşağıdaki gibi sadeleştirebiliriz.

- Nokta pekiştirme ihtimali: $k_{dot}(\lambda_1, \lambda_2) = e_2 = |\lambda_2|/|\lambda_1|$,

- Doğrusal parça pekiştirme ihtimali: $k_{line}(\lambda_1, \lambda_2) = 1 - e_2 = (|\lambda_1| - |\lambda_2|)/|\lambda_1|$.

Bir şekil için yukarıdaki ihtimal işlevlerinden bir tanesi 1 değerini verir iken diğer 0 değerini verecektir.

g_{dot} ve g_{line} büyüklük işlevlerinin oluşturulması: Büyüklüklerini göreceli tanımlayarak dairesel ve çizgisel bölgelerin birbirinden ayırtedebilmek amacıyla nokta ve doğrusal parça büyüklük işlevlerini özeğerlerin mutlak hallerini kullanarak sırasıyla $g_{dot} = |\lambda_2|$ ve $g_{line} = |\lambda_1|$ olacak şekilde tanımladık.

Böylece pekiştirme süzgeçlerinin sonucu büyüklük ve ihtimal işlevlerinin çarpımından oluşacak şekilde aşağıdaki gibi yazılabilir.

$$z_{dot}(\lambda_1, \lambda_2) = \begin{cases} |\lambda_2|^2/|\lambda_1| & \text{for } \lambda_1 < 0, \lambda_2 < 0 \\ 0 & \text{otherwise .} \end{cases} \quad (49)$$

$$z_{line}(\lambda_1, \lambda_2) = \begin{cases} |\lambda_1| - |\lambda_2| & \text{for } \lambda_1 < 0, \lambda_2 < 0 \\ 0 & \text{otherwise .} \end{cases} \quad (50)$$

Gürültüden ve obje büyüklüğündeki değişimlerden en az etkilenmek amacıyla yukarıda (49) ve (50) denklemlerinde sunulan süzgeç çoklu-ölçekte (multiscale enhancement) uygulanabilir. $[d_0, d_1]$ ölçek aralığındaki tüm objeleri pekiştirmek için, Li vd. (2003); Lindeberg (1998) çalışmalarında yapıldığı gibi, önce $[d_0/4, d_1/4]$ ölçek aralığında Gauss yumuşatması uygulanmalı sonra nokta pekiştirme gerçekleştirilmelidir. İki adımlı olarak sunduğumuz bu pekiştirme süzgeçleri, her defasında yumuşatma ölçeği artırılarak N defa tekrarlanmalı ve N adet pekiştirilmiş görüntü elde edilmelidir. Bahsedilen N adet yumuşatma ölçeği $r = (d_1/d_0)^{1/N-1}$ olacak şekilde şöyle seçilebilir: $\sigma_1 = d_0/4$, $\sigma_2 = r\sigma_1, \dots, \sigma_N = r^N\sigma_1 = d_1/4$. Her piksel noktasında çoklu-ölçekte uygulanan N adet pekiştirme süzgeçlerinden elde edilen en yüksek değer o pikselin sonucu olarak kabul edilir. Şekil 51 bir dendritik diken görüntüsüne ait nokta pekiştirme sonucunu gösterir.

İskelet uç pikselleri ve diken tespiti: Nokta pekiştirme işleminden sonra dikenlerin dendrit dallanmalarının uçlarında olduğu bilgisinden faydalanarak dendrit yapılarının iskelet-

lerini buluyor ve bu iskeletler ile nokta pekiştirme işlemi uygulanmış sonucu kullanarak diken tespitini gerçekleştiriyoruz. İskeleti bulmak için orijinal görüntüye sırasıyla uyarlamalı eşikleme ve morfolojik inceltme uyguluyoruz. Elde ettiğimiz ikili görüntüdeki piksellere nokta olanları belirlemek için komşuluk bağlantılarını inceliyoruz ve $2B$ 'de 8'li komşuluk ilişkisinde 2'den az komşusu olanları iskelet uç pikselleri olarak kabul ediyoruz.

Gürültü, bulanıklık ve görüntüdeki diğer bozulmalar nedeniyle iskelet çıkarma işlemi sonucunda elde edilen dendrit ekseninde kopuk parçalar, fazlalık çıkıntılar gibi pürüzler ve bu pürüzlerden dolayı iskelet uç noktası tespitinde hata olabilir (bkz. Şekil 51). Bunu önlemek için tespit edilen her bir iskelet uç noktasının 2×2 komşuluğunda nokta pekiştirme ile bulunmuş bir dikenin varlığına bakıyor, diken yok ise o uç noktasını eliyoruz. Böylece yöntemimiz ile nokta benzeri iskelet uçlarını diken olarak tespit etmiş oluyoruz (Şekil 51).

Yöntem 2: SIFT öznitelikleri ve SVM sınıflayıcısı temelli diken tespiti

SIFT (Lowe, 1999) görüntüden ölçekleme, öteleme, dönme ve aydınlık değişimlerinden etkilenmeyen yerel öznitelikler çıkarmaya yarayan popüler bir yöntemdir. Görüntüyü geniş bir yerel öznitelik vektör seti ile betimler ve obje eşleştirme/tanımda kullanılmak üzere her biri 128-boyutlu kilit noktaları (keypoints) belirler.

İki-foton mikroskopi görüntülerinde SIFT uygulayınca diken merkezlerinin çoğunlukla kilit noktası olarak belirlendiğini gözlemledik. Bu gözlemden faydalanan ikinci yöntemimiz eğitim ve test olmak üzere iki aşamadan oluşur. Eğitim aşamasında bir grup eğitim verisinden SIFT öznitelikleri çıkartılır ve her bir kilit noktası diken merkezine denk gelip gelmediğine göre *diken* ya da *diken değil* olarak elle işaretlenir. Doğrusal çekirdekli bir SVM sınıflayıcı bu veri ile eğitilir (Daha karmaşık çekirdekler de kullanılabilir, ancak o durumda ayarlanması gereken parametre sayısı artacaktır). Test aşamasında yeni bir görüntüden elde edilen her bir SIFT kilit noktası eğitilmiş sınıflayıcı tarafından sınıflanır ve *diken* olarak belirlenenlerin konumları işaretlenir (Şekil 52 kırmızı işaretliler).

Bu yöntemin parametre bağımlılığı, yukarıda açıklamış olduğumuz ilk yönteme göre daha azdır; haliyle yöntemin dendrit morfolojisindeki değişimlere daha az duyarlı olması beklenmelidir. Ayrıca bu yöntem daha basit ve hızlıdır.

Yöntem 3: Nokta pekiştirme ile birleştirilmiş SIFT öznitelikleri ve SVM sınıflayıcısı

temelli diken tespiti

Nokta pekiştirme süzgeçleri, noktasal bölgelerde güçlü diğer şekillerde zayıf cevap verdikleri için eğitilmiş bir yöntemle birlikte kullanıldıklarında diken tespitini iyileştirebilirler. Bu gözlem ışığında üçüncü yöntemimizde çoklu-ölçekte pekiştirme süzgeçlerinin çıktılarını ile SIFT öznelikleri ve SVM sınıflayıcısını birlikte kullandık.

Önceki bölümde kullandığımız notasyonu takip ederek, görüntülerde nokta ve doğrusal parça pekiştirme işini $Z(x, y) = z_{line} + z_{dot}$ ile tek adımda gerçekleştirebiliriz, bkz Şekil 28. Bir görüntüde diken (nokta) ve diken olmayan bölgeleri daha iyi belirlemek amacıyla görüntünün ve süzgeç sonucunun ağırlıklı toplamını kullanabiliriz:

$$I(x, y) + \alpha Z(x, y).$$

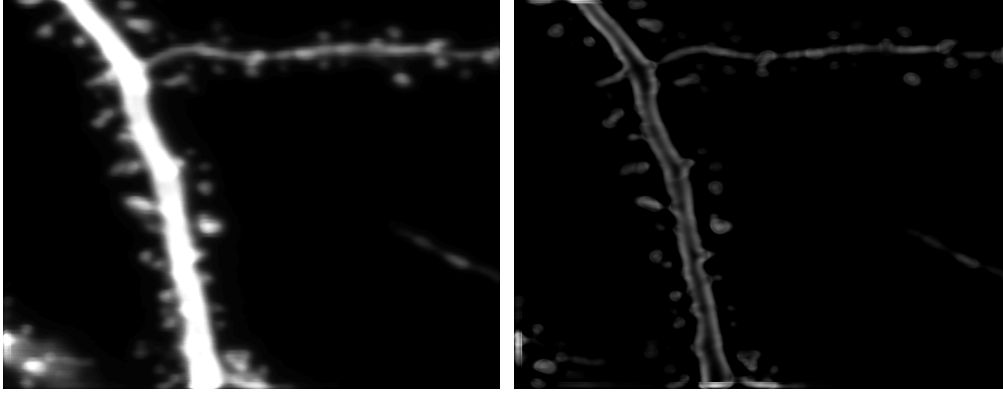
Burada α pekiştirilmiş şeklin katkısını belirtir sabit bir katsayıdır.

Dendrit omurgasını süzgeçlere eşikleme uygulayarak bulan ve dendrit–diken bağlantısına göre diken tespiti yapan eksen temelli yaklaşımlara göre bu yöntemimizde SIFT özneliklerinden yararlanacağız.

Önceki çalışmamızda Rada vd. (2014) diken tespitine uyarladığımız SIFT (Lowe, 2004) yaklaşımı - tıpkı diken bölütleme çalışmalarında (Bai vd., 2007) olduğu gibi - eğriçizgisel (curvilinear) yapıların tespitini takiben diken-dendrit bağlantı bilgisine veya herhangi bir eşik değerine ihtiyaç duymaz. Burada SIFT özneliklerini çıkarmak ve SVM temelli sınıflama ile dikenleri tespit etmek için Yöntem 2’de anlatılan yaklaşımı $I(x, y) := I(x, y) + \alpha Z(x, y)$ yeni görüntüsüne uyguluyoruz. Son olarak Şekil 54’te görüldüğü üzere sınıflayıcı tarafından diken olarak belirlenen kilit noktalarının öznelik vektörlerini kullanıyoruz.

Yöntemin başarımını ölçmek için yaptığımız tüm deneylerde sağlıklı bir karşılaştırma yapabilmek amacıyla Rada vd. (2014) çalışmamızda kullandığımız veriden faydalandık.

Diken tespitini yukarıda açıklanan yöntemlerden biriyle gerçekleştirdikten sonra diken sınırlarını bulmak için aşağıda detaylandırılan bölütleme yaklaşımını kullanıyoruz. Son adım olarak dikenlerin tüm zaman noktalarında eşleştirilmeleri için sonraki bölümde detaylarını sunacağımız makine öğrenmesi temelli bir takip yöntemi kullanıyoruz.



Şekil 28. Orijinal görüntü (sol) ile nokta-doğrusal parça pekiştirme süzgeci sonucunun karşılaştırılması.

Watershed-değişimli (watershed-variational) temelli bölütleme

Tespit edilen dikenlerin bölütlenmesi için Rada vd. (2014)'te sunduğumuz watershed ve level-set bölütleme yöntemlerini birlikte kullanan çokdüzeyli (multilevel) yaklaşımdan yararlanılmıştır. Watershed yöntemi ile elde edilen bölütleme sonucu genellikle diken sınırlarının dışına taşar. Daha doğru bölütleme için watershed ile elde edilen bölütlerden diken olanlar SIFT ve SVM sınıflayıcı kullanarak belirlenmekte ve bu sonuç üzerinde level-set yöntemi çalıştırılmaktadır.

Level-set yaklaşımında Guyader ve Gout (2008)'de önerilen kenar bilgisi ve Chan ve Vese (2001) modeline benzer bir alan bilgisinden birlikte faydalanan bir değişimli işlev (variational function) kullanılır:

$$\delta_\epsilon(\phi(\mathbf{x})) \left\{ \mu \nabla \cdot \left(g(\mathbf{x}) \frac{\nabla \phi(\mathbf{x})}{|\nabla \phi(\mathbf{x})|} \right) - \lambda ((I(\mathbf{x}) - c_1)^2 - (I(\mathbf{x}) - c_2)^2) \right\} = 0,$$

burada $g(\mathbf{x}) = \frac{1}{1 + |\nabla I(\mathbf{x})|^2}$ kenarları tespit edilmiş görüntüyü, μ ve λ sabitleri gösterir. c_1

ve c_2 Chan ve Vese (2001) modeline benzer şekilde şöyle hesaplanır: $c_1 = \frac{\int_\Omega f(\mathbf{x}) H_\epsilon(\phi(\mathbf{x})) d\mathbf{x}}{\int_\Omega H_\epsilon(\phi(\mathbf{x})) d\mathbf{x}}$

ve $c_2 = \frac{\int_\Omega f(\mathbf{x})(1 - H_\epsilon(\phi(\mathbf{x}))) d\mathbf{x}}{\int_\Omega (1 - H_\epsilon(\phi(\mathbf{x}))) d\mathbf{x}}$. H_ϵ ve δ_ϵ düzenlenmiş Heaviside ve ilgili dürtü fonksiy-

onlarıdır. Çalışmamızda $H_\epsilon = \frac{1}{2}(1 + \frac{2}{\pi} \arctan(\frac{\mathbf{x}}{\epsilon}))$ ve ilgili dürtü fonksiyonu olarak $\delta_\epsilon = \frac{d}{dt}H_\epsilon(\mathbf{x}) = \frac{\epsilon}{\pi(\epsilon^2 + \mathbf{x}^2)}$, öncül level set ϕ_0 için ise diken kilit noktalarının merkezine oturtulmuş çokdüzeyli versiyon kullandık. Detaylar için Rada vd. (2014) çalışmamıza başvurulabilir.

3.4.2 Diken Takibi

Yukarıda sunduğumuz yöntemlerde diken tespit ve takibi birbirinin sonuçlarından faydalanmaz. Bu bölümdeki katkımız diken takip bilgisinden yararlanarak tespit doğruluğunu artırmaktır. Bu hedefle zaman aşımli görüntülerde dikenlerin takibi, her zaman noktasında bölütlenmeleri ve yapısal plastisite (structural plasticity) analizinde kullanılmak üzere görünmeye devam eden, beliren, kaybolan ve tekrar beliren dikenlerin saptanması için tespit ve takibi birlikte kullanan otomatik bir yöntem öneriyoruz.

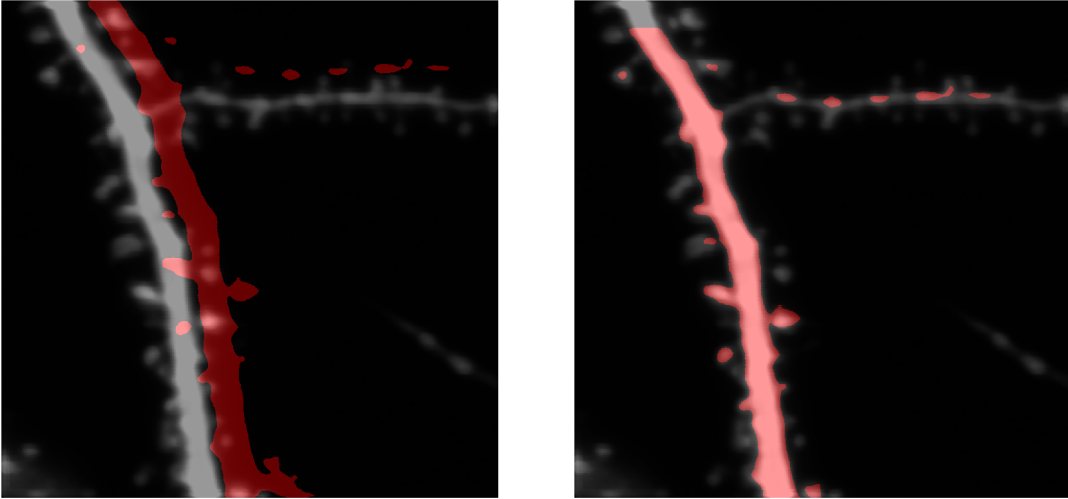
Öncelikle, Yöntem 3'teki gibi nokta pekiştirme süzgeci ile SIFT öznelikleri ve SVM sınıflayıcısını kullanarak dikenleri zaman aşımli görüntülerde tespit ediyoruz. SIFT kilit noktalarını kullanarak aynı zaman serisine ait görüntüleri katı çakıştırma yaklaşımıyla hizalıyoruz. Dikenlere Rada vd. (2014) çalışmamızdaki gibi watershed-değişimli bölütleme uyguluyoruz. Hizalama ve diken eşleştirmeyi SIFT temelli bir çakıştırma yöntemiyle gerçekleştiriyor ve $\{0 - 1\}$ programlama ile ardışık zamanlardaki hareketlerinin mesafelerini inceleyerek “ortak dikenleri” belirliyoruz. Zaman aşımli görüntülerde takibini gerçekleştirdiğimiz dikenlerin olasılık dağılımlarına bakarak diken sınırlarının zayıf olmasından ötürü bazı zaman noktalarında takip edilemeyen (kaybolan) dikenleri yakalayarak zaman serisinde bölütleme ve takip başarımını artırıyoruz. Aşağıda bu yöntemin detaylarını sunuyoruz.

Görüntü serisinin SIFT temelli çakıştırılması:

Dikenlerin ardışık görüntülerdeki konumunu gürbüz biçimde takip edebilmek için görüntüleme aşamasında oluşan kaymaların en aza indirgenmesi yani imge çakıştırması uygulanması ve dikenlerin eşleştirilmesi gereklidir. Görüntülerdeki kaymayı en aza indirmek için SIFT temelli katı imge çakıştırması uyguladık. Zhang vd. (2007b); Li vd. (2011) çalışmalarında yararlanan katı olmayan yaklaşımlar ya da Low (2004) çalışmasında kullanılan gibi “iteratif en yakın nokta” (iterative closest point, ICP) temelli yaklaşımlar yerine SIFT temelli katı çakıştırma yaklaşımını tercih etmemizin sebebi olarak basit, hızlı ve doğru çakıştırma elde etmek sayılabilir. Bu savı desteklemek amacıyla gerçekleştirdiğimiz deneylerde

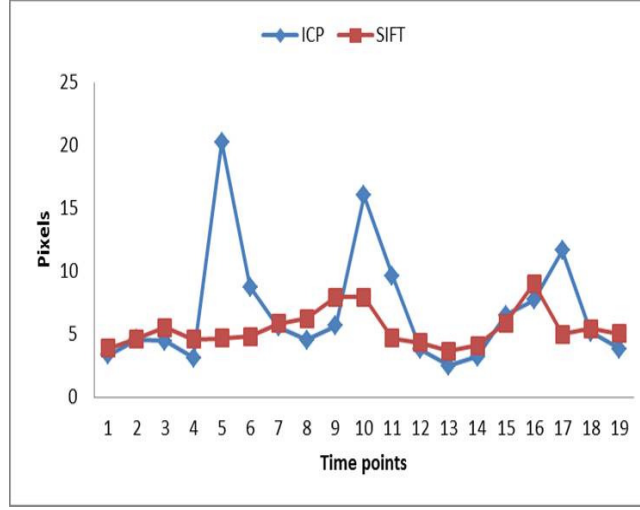
gördük ki ardışık zamanlarda diken merkezleri arasındaki ortalama uzaklık SIFT’te daha dengelidir (bkz. Şekil 30). Bunun bir nedeni ICP’nin bazı zaman noktalarında hatalı hizalama gerçekleştirmesidir. Bu da ICP’nin - yerel yeğinlik ve gradyan bilgilerini kullanan SIFT’e göre - pikseller arasındaki Öklid uzaklığına bakarak global karşılaştırma yapmasından, dolayısıyla gürültü ve yerel kaymalara daha duyarlı olmasından kaynaklıdır.

Yöntemimizde ilk olarak, tespit edilmiş dikenlerin merkez noktaları ve ilgili SIFT öznelik vektörleri elde edilir. Benzer öznelik vektörleri bulunur (kosinüs benzerliği deneme yanılma ile belirlenmiş eşik seviyesinin altında kalanlar) ve bu vektörlerin konumlarını birleştiren doğruların eğimleri hesaplanır. En fazla görülen eğimin doğru eşleşmeye karşılık geldiği tahminiyle, eğimi farklı doğrular elenerek ideal eşleşmeler belirlenir ve bu eşleşmeler kullanılarak ardışık zaman görüntüleri birbirine karşılaştırılır. Örnek bir karşılaştırma sonucu Şekil 29’da görülebilir. Yöntemin çıktısı olarak elde edilen kayma vektörü (translation vector) kullanılarak her bir dikenin ardışık zaman noktalarına ait görüntüleri merkezlerine göre $x - y$ düzleminde hizalanır.



Şekil 29. Ardışık zaman verisinde SIFT temelli imge karşılaştırma. Hizalanmamış veri (sol) ve SIFT temelli karşılaştırma sonucu.

Ardışık zaman noktalarında dikenlerin eşleştirilmesi: İki-foton mikroskopi zaman serilerinde dendritik dikenlerin kaybolup yeniden belirmesi dikenlerdeki biyolojik değişim-



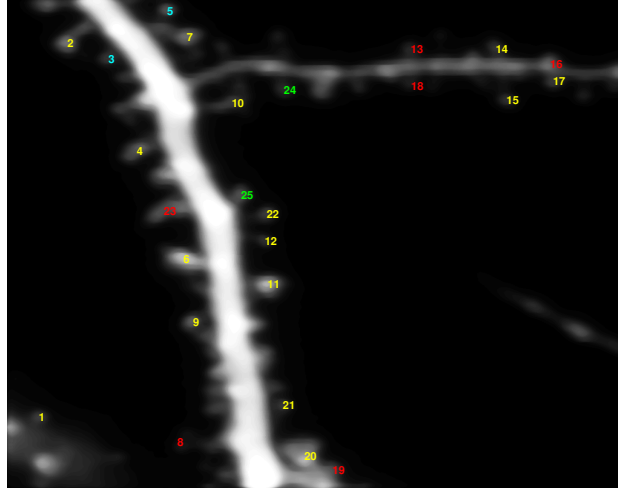
Şekil 30. ICP ve SIFT temelli yöntemlerle eşleştirilen dikenlerin merkezlerinin zamana bağlı hareketi.

lerden kaynaklanabileceği gibi en yüksek yoğunluk izdüşümü (maximum intensity projection) ile üç-boyutlu verinin iki-boyuta indirgenmesi sırasında dikenlerin dendrit ya da başka dikenlerin ardında kalması (occlusion) veya düşük sinyal-gürültü oranında ötürü tespit edilememeleri nedenlerinden ortaya çıkabilir. Çalışmamızda kaybolan veya yeniden beliren dikenlerin eşleştirilmesini gerçekleştirmek amacıyla çizge eşleştirme (Li vd., 2011) gibi hesaplama yükü ağır yaklaşımlar yerine $\{0 - 1\}$ programlama kullanmayı tercih ettik.

Zaman serisinde dikenlerin eşlenmesi ve görünmeye devam eden, beliren ve kaybolan dikenlerin tespiti için Öklid uzaklığını kullanıyoruz. $t = k$ ve $t = k + 1$ ile tanımlı ardışık zaman verisinde yöntemimiz ile bulunan görünmeye devam eden dikenler Şekil 31'de sarı işaretli olarak gösterilmiştir.

$P^k = \{p_i^k | i = 1, 2, \dots, n\}$ ve $P^{k+1} = \{p_j^{k+1} | j = 1, 2, \dots, m\}$ sırasıyla $t = k$ ve $t = k + 1$ zamanlarına ait dikenleri, p_i^k k . zaman noktasına ait i . dikenini, n ve m de bu zaman noktalarındaki toplam diken sayısını gösterebilir. Bu durumda SIFT temelli karşılaştırma sonucunda M_i adet dikenin $M_i = (p_i^k, p_j^{k+1}) | j = 1, 2, \dots, m_i, t = k + 1$ zaman noktasındaki aday eşleştirmeler (ortak dikenler) olarak belirlendiğini varsayalım. Bu varsayımlardan yola çıkarak diken eşleştirmesini nasıl gerçekleştirdiğimizi aşağıda açıklayacağız.

Yeniden beliren dikenlerin eşlenmesi: Hizalamamın başarılı olduğunu varsayarak $t = k$



Şekil 31. Ardışık iki görüntüde önerdiğimiz yöntem ile elde edilen takip sonucuna örnek. Görünmeye devam eden yani takibi ve eşleştirilmesi başarıyla gerçekleştirilen (sarı) ile $t = k + 1$ anında beliren (yeşil), tespit edilemeyen (kırmızı) ya da yeniden beliren (mavi) dikenler işaretlenmiştir.

anındaki dikenlerin bilgilerini referans olarak $t = k + 1$ anındaki dikenleri yeniden etiketleriz. Bunun yanısıra yeni ve kaybolan dikenler ile $t = k + 1$ anında ilk kez belirmiş (önceki zamanlarda etiketlenmemiş) ya da kaybolup yeniden belirmiş dikenleri (Şekil 31) bir $\{0, 1\}$ -matrisinde saklarız. Basitçe açıklayacak olursak, $t = k$ ve $t = k + 1$ zamanlarını karşılaştırırken $t = k$ anına ait dikenlerin herhangi birinin ϵ -komşuluğuna girmeyen bir diken bulduğumuz zaman, bu dikenin daha önceden etiketlenmiş olup olmadığını belirleriz.

$t = k$ anındaki tüm dikenlerin olası eşlenme sayısı $N = \sum_{i=1}^n m_i$ ve bundan farklı eşlenmelerin sayısı $M = \sum_{i=1}^n M_i$ olsun. $t = k$ anındaki p_i^k dikenin $t = k + 1$ anındaki p_j^{k+1} ile tanımlanan adaylarına benzerliği

$$\min \delta(p_i^k, p_j^{k+1}), \quad (51)$$

olsun. Burada δ fonksiyonu p_i^k ve p_j^{k+1} dikenlerinin merkez koordinatları arasındaki $d_{SIFT}(x, y) + \epsilon_1$ uzaklığını verir. $d_{SIFT}(x, y)$ Öklid uzaklığı olarak hesaplanır ve ϵ_1 de ortalamadan standart sapma kadar uzak bir sabiti gösterir. Tüm $j = 1, \dots, m_i$ için uzaklıkları $d_{SIFT}(x, y) + \epsilon_1$ 'den büyük dikenler $\{0, 1\}$ programlamayla yeni ya da yeniden belirmiş olarak etiketlenir.

Ardışık zaman noktalarının her birinde dikenlerin eşlenmesi tamamlandığında dikenlerin

her anda yeniden etikenlenmesi şu şekilde gerçekleştirilir. Öncelikle $t = 1$ anındaki dikenler $(p_i^1, i = 1 : m_1)$ etiketlenir ve tüm elemanları 1 olacak şekilde bir $\{0, 1\}$ -matrisi $A_{m,1}$ oluşturulur. $t = k$ anındaki etiketlenmiş her dikenin $t = k + 1$ anında ϵ -komşuluğunda aynı etikete sahip diken varlığı araştırılır. Aynı etikete sahip diken varsa $A_{i,k+1} = 1$ olarak bırakılır ve $i = i + 1$ olacak şekilde sıradaki dikenin incelenmesine geçilir. ϵ -komşuluğunda aynı etikete sahip dikenin bulunmaması dikenin kaybolduğu ya da tespit edilemediği anlamını taşır. Bu durumda p_i^k aynı etiket ile işaretlenir, $A_{i,k+1} = 0$ ile $m = m + 1$ güncellemeleri yapılır ve $i+1$ 'den m 'ye kadar olan tüm dikenlerin etiketleri p_{i+1}^k olarak yenilenir. Eğer $m = n + m_1 > n$ olursa, t^{k+1} anında yeni dikenlerin bulunduğu anlamına gelir; p_i^k 'nin etiketi p_i^{k+1} 'e taşınır ve $i = 1 : m_i$ için $A_{i,k} = 0, A_{i,k+1} = 1$ güncellemesi gerçekleştirilir.

Sonuçta elde edilen A matrisi her dikenin o zaman serisinin hangi anlarında kaç kere takip edilebildiğini, ne kadar süreliğine kaybolduğunu, yeniden belirip belirmediğini, vs. gösterir.

Takip bilgisi kullanılarak diken tespit ve bölütlemesinin iyileştirilmesi: Yukarıda açıkladığımız şekilde takibi gerçekleştirilmiş ama bazı anlarda kaybolan dikenlerden takip oranı 0.1'den büyük (yani zaman serisinin %10'undan fazlasında başarıyla takip edilmiş) olanlar için tespit ve bölütleme kısıtları hafifletilerek yeniden oluşturulmuş tespit, bölütleme ve takibin iyileştirilmesi sağlanmıştır. Bunun için dikenin kaybolduğu andan hemen önceki zaman noktasına ait ilgi alanı (ROI, region-of-interest) ve bölütleme sonucu elde edilmiş diken sınırı dikenin kaybolduğu ana taşınır ve hem (ilgi alanı kullanılarak) tespit hem de (diken sınırı kullanılarak) bölütleme yöntemleri kısıtları hafifletilerek yeniden oluşturulur. Bu işlem takip oranı 0.1'den büyük tüm kayıp dikenlerin her kayıp anında gerçekleştirilir. Komşu dikenlerin varlığından kaynaklanabilecek hataları en aza indirmek amacıyla takibi başarıyla tamamlanmış dikenlerin ilgi alanı bölgeleri işlemi gerçekleştirilecek dikenin ilgi alanından hariç tutulur.

$t = k$ anında tespit edilememiş bir diken için önceki zamana ait ilgi alanını kullanmak probleme yeni bir tespit problemi olarak yaklaşmamızı ve problemin çözümü için şu avantajlardan faydalanmamızı sağlar: a) dikenin kaybolduğu zaman noktasında var olma olasılığı önceki anda tespit edilmiş olması nedeniyle yüksektir, b) muhtemel diken sınırı bilgisi önceki zamanlardan ödünç alınabilir, c) işlem önceki zamandan taşınan ilgi alanı ile sınırlandırıldığı için sonuç daha hızlı elde edilir ve görüntünün tümünde etkili yegginlik değişimlerinden (özellikle bölütleme aşaması) daha az etkilenir.

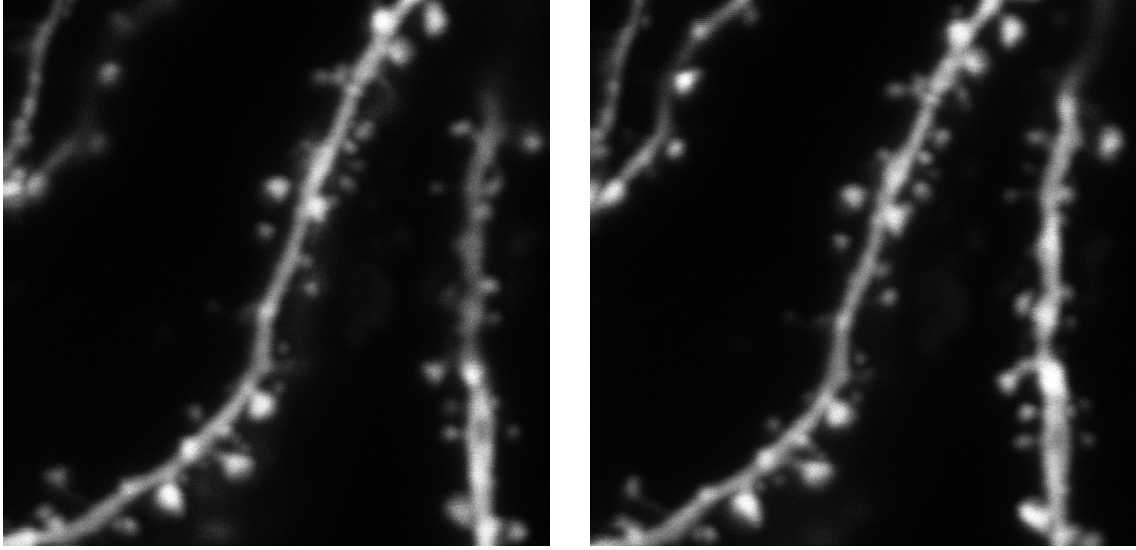
3.4.3 Dinamik Bölütleme

Biyomedikal görüntülerin bölütlenmesi özellikle veri kalitesinin düşük veya veride eksiklik olması durumlarında zor bir problemdir. Dendritik dikenlerin morfolojilerinde zaman içinde oluşan değişimlerin analizi, özellikle diken sınırının bölütlemeyle elde edilmesi, zaman aşımli nöron görüntülerinin etkili ve doğru şekilde işlenmesini gerektirir. Bir dendritin ardışık zaman noktalarındaki iki foton mikroskopi görüntüleri Şekil 32’de gösterilmiştir. Görüldüğü üzere iki foton mikroskopi görüntülerinde dikenlerin boyun bölgeleri yüksek kontrasta sahip değildir ve bulanık görülür ve ayrıca baş bölgeleri de dendrit ile aşağı yukarı aynı yeğinliğe sahiptir. Dolayısıyla bölütleme işlemi, boyun kısmının veya dendritin bazı bölgelerinin tespit edilememesi nedenleriyle, dikenin gerçek sınırını bulmada başarısız olabilir. Bu gibi durumlarda dikenlerin yalnızca veri güdümlü yaklaşımla bölütlenmesi zordur ve önsel bilginin de kullanımı daha doğru bölütleme sonuçları sağlayabilir.

Diken şekilleri zamanla evrilir ve değişir; ve biz de bu değişimlerin analizi ile ilgileniyoruz. İki foton mikroskopi dikenlerin zamanla değişen görüntülerinin elde edilmesini kapsar, ancak varolan görüntü işleme yöntemleri diken bölütlemesinin tek bir zaman noktasındaki veri kullanılarak, diğer zamanlardaki veri görmezden gelinerek, gerçekleştirilmesi ile ilgilenmektedir. Burada zaman aşımli görüntülerde diken bölütlemesi problemine bir dinamik tahmin problemi olarak yaklaşıyor ve başlangıç niteliğinde bir yaklaşım öneriyoruz. Önceki zamanlarda elde edilen diken sınırı bilgisi dikenin şimdiki zaman verisinde bölütlenmesi için faydalı bir önsel bilgi sağlayabilir ve bölütleme işlemine yararlı olabilir. Dolayısıyla dendrit dikenlerinin zamana bağlı bölütlenmesi için önceki zaman verisinden elde edilen şekil bilgisini dikenin şimdiki zaman verisinde bölütlenmesi için kullanma fikrinden esinlenen yeni bir yöntem öneriyoruz.

Bu düşünceyle, dikenlerin ardışık zamanlardaki parametrik olmayan ortak şekil yoğunluklarını elle bölütlenmiş eğitim verisinden öğreniyoruz. Daha sonra öğrendiğimiz yoğunlukları kullanarak önceki zamanların bölütlemelerinden gelen bilgiyi bölütleme işlemine önsel şekil bilgisi olarak katıyoruz ve böylece dikenin şimdiki zaman noktasında bölütlenmesi işlemini iyileştiriyoruz.

Burada, önerdiğimiz yaklaşımın matematiksel formülasyonu ve detaylı açıklaması sunulmaktadır.

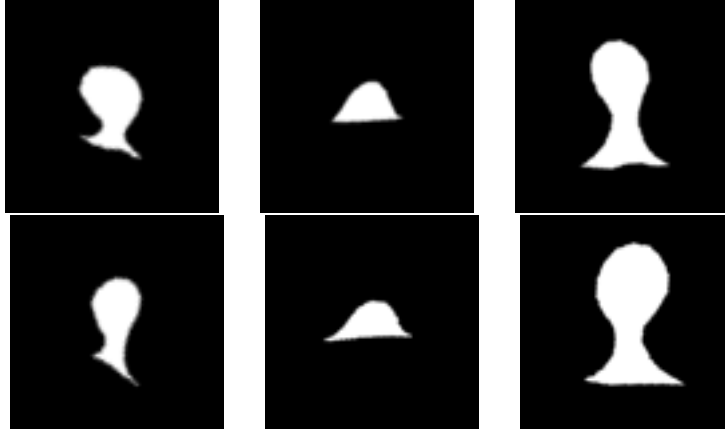


Şekil 32. Bir dendritin ardışık zaman noktalarındaki iki foton mikroskopi görüntüleri.

Elimizde eğitim kümesi olarak kullanacağımız $(t-1)$ zamanına ait n adet şekil olduğunu varsayalım $\mathbf{C}^{(t-1)} = \{C_1^{(t-1)}, C_2^{(t-1)}, \dots, C_n^{(t-1)}\}$. Aynı eğitim kümesinin (t) zamanına ait yine n adet şeklin de elimizde olduğunu varsayalım $\mathbf{C}^{(t)} = \{C_1^{(t)}, C_2^{(t)}, \dots, C_n^{(t)}\}$; burada her $i \in [1, n]$ için $C_i^{(t-1)}$ ve $C_i^{(t)}$ aynı dikenin ardışık zamanlardaki sınırlarını gösterir. Üç farklı dikenin ardışık zamanlardaki sınırlarını gösteren örnekler Şekil 33'de görülmektedir. Poz farklılıklarından kaynaklanan varyasyonların giderilmesi için $C^{(t-1)}$ ve $C^{(t)}$ 'deki şekillerin hizalandığını belirtelim. Öyleyse sırasıyla $(t-1)$ ve (t) anlarındaki yeğlilik görüntüleri $y^{(t-1)}$ ve $y^{(t)}$ olacak şekilde $C^{(t)}$ 'ye ait sonsal olasılık şöyle yazılabilir

$$p(C^{(t)}|y^{(t-1)}, y^{(t)}) = \int p(C^{(t)}, C^{(t-1)}|y^{(t-1)}, y^{(t)})dC^{(t-1)}. \quad (52)$$

Bayes kuralını ve diken sınırlarına koşullu olarak $y^{(t-1)}$ ile $y^{(t)}$ 'nin birbirinden bağımsız olduğu varsayımını kullanarak, aşağıdakini elde ederiz



Şekil 33. Farklı dikenlere ait ilk (üstte) ve ikinci zaman noktalarındaki elle bölütlemeler.

$$\begin{aligned}
& p(C^{(t)}|y^{(t-1)}, y^{(t)}) \\
& \propto \int p(y^{(t-1)}, y^{(t)}|C^{(t)}, C^{(t-1)})p(C^{(t)}, C^{(t-1)})dC^{(t-1)} \\
& = \int p(y^{(t-1)}|C^{(t-1)})p(y^{(t)}|C^{(t)})p(C^{(t)}|C^{(t-1)})p(C^{(t-1)})dC^{(t-1)} \\
& \propto p(y^{(t)}|C^{(t)}) \int p(C^{(t)}|C^{(t-1)})p(C^{(t-1)}|y^{(t-1)})dC^{(t-1)}.
\end{aligned} \tag{53}$$

Bu noktadan itibaren Denklem (53)'teki olasılık yoğunlukları ile ilgili çeşitli varsayımlar kullanılabilir. Başlangıç niteliğindeki bu yaklaşımımızda $p(C^{(t)}|C^{(t-1)})$ 'i eğitim kümesinden parametrik olmayan bir şekilde öğreniyor ve $p(y^{(t)}|C^{(t)})$ için daha sonra detaylı açıklayacağımız Chan ve Vese (2001)'de önerilen veri terimini kullanıyoruz. Sonsal yoğunluk, $p(C^{(t-1)}|y^{(t-1)})$, delta fonksiyonu olarak kabul edilirse aşağıdaki gibi yazılabilir:

$$p(C^{(t-1)}|y^{(t-1)}) = \delta(C^{(t-1)} - C') \tag{54}$$

Burada $\delta(\cdot)$ dirak delta fonksiyonunu ve C' de dikenin $(t - 1)$ anına ait elimizde olduğu varsaydığımız kusursuz bölütlemesini gösterir. Bu durumda Denklem (53)

$$p(C^{(t)}|y^{(t-1)}, y^{(t)}) \propto p(y^{(t)}|C^{(t)})p(C^{(t)}|C'). \quad (55)$$

haline dönüşür. Son olarak, en aza indirgenmeye çalışılan enerji fonksiyonu Denklem (55)'in negatif logaritması alınarak şu şekilde yazılır

$$E(C^{(t)}) = -\log p(y^{(t)}|C^{(t)}) - \log p(C^{(t)}|C'). \quad (56)$$

Denklem (56)'daki ilk terim $-\log p(y^{(t)}|C^{(t)})$ için Chan ve Vese (2001)'de önerilmiş Mumford işlevinin Mumford ve Shah (1989) parçalı sabit (piecewise-constant) halini kullanıyoruz:

$$\begin{aligned} -\log p(y^{(t)}|C^{(t)}) &= \int_{C_{in}^{(t)}} (I(x) - m_{in})^2 dx \\ &+ \int_{C_{out}^{(t)}} (I(x) - m_{out})^2 dx. \end{aligned} \quad (57)$$

Burada m_{in} (m_{out}) $C^{(t)}$ çevritinin içindeki (dışındaki) ortalama yeğinliği gösterir. Denklem (56)'da $p(C^{(t)}|C')$ olarak gösterilen ikinci terimi eğitim kümesinden Parzen yoğunluk tahmini yoluyla parametrik olmayan şekilde aşağıdaki gibi öğreniyoruz:

$$p(C^{(t)}|C') \propto \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n k(d_{L_2}(C^{(t)}, C_i^{(t)}), d_{L_2}(C', C_i^{(t-1)}), \sigma). \quad (58)$$

Burada $k(., ., \sigma)$ standart sapması σ olan bir 2B Gauss'a ve $d_{L_2}(., .)$ ise L_2 uzaklık ölçütünü gösterir.

Denklem (56)'daki enerji fonksiyonunun en aza indirgenmesini kademeli iniş (gradient descent) yöntemi ile gerçekleştiriyoruz. Çevriti yaymak için ϕ ile belirttiğimiz ikili şekillerin düzey kümesi temsili kullanıyoruz (çevritin iç bölgesi $\phi < 0$, dış bölgesini ise $\phi > 0$ ile gösterilir). Enerji fonksiyonunun kademeli akışı, biri veriye diğeri ise bağlaşıklık şekil önseline karşılık gelen iki terimin toplamından oluşur. Veri teriminin kısmi türevi \vec{N} çevritin dışa dönük normalini gösterecek şekilde şöyle hesaplanır:

$$\frac{-\partial \log p(y^{(t)}|\phi^{(t)})}{\partial \phi^{(t)}} = \beta \left[-(I(x) - m_{in})^2 + (I(x) - m_{out})^2 \right] \vec{N}. \quad (59)$$

Bağlaşık şekil önselinin kısmi türevi ise

$$\frac{\partial \log p(\phi^{(t)}|\phi')}{\partial \phi^{(t)}} = \frac{1}{p(\phi^{(t)}|\phi')} \frac{1}{\sigma^2} \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n k(d_{L_2}(\phi^{(t)}, \phi_i^{(t)}), d_{L_2}(\phi', \phi_i^{(t-1)}), \sigma)(\phi_i^{(t)} - \phi^{(t)}). \quad (60)$$

ile hesaplanır.

Yaklaşımımızda bölütlemeyi ilk çevritin düzey temsili ile başlatıyoruz ve çevriti Denklem (56)'daki enerji fonksiyonunun gradyanı ile güncelliyoruz. Sonunda, çevrit bir noktaya yakınsadığında $\phi^{(t)}$ 'yi 0 seviyesinde eşikleyerek $C^{(t)}$ 'yi buluyoruz.

Yöntemimizin başarımı dendritik dikenlerin iki foton mikroskopi görüntülerinde ölçülerek etkinliği bulgular bölümünde detaylandırılmış olan görsel ve nicel sonuçlarla gösterilmiştir. Hem görsel hem de nicel sonuçlara göre yöntemimizin diken bölütleme başarımı önceki zaman noktasına ait dinamik önsel bilgisi yerine statik şekil önselinden faydalanan Kim vd. (2007a) yaklaşımından daha yüksektir.

Daha önce tartıştığımız üzere, ilk çalışmamızda dikenlerin dinamik bölütlemesi için önceki zaman verisinden elde ettiğimiz şekil bilgisini dikenin şimdiki zaman verisinde bölütlenmesi için kullanıyoruz. Özellikle çevritin evrilmesi aşamasında şekil bilgisinin katkısını belirleyecek (elle bölütlenmiş eğitim kümesinden öğrenilen) bir bağlaşık şekil önseli terimi oluşturulmuş ve enerji fonksiyonunun en aza indirgenmesi kademeli iniş ile düzey temsili kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Şimdiye kadar, işleme tabi tuttuğumuz dikenin önceki zaman noktasına ait bölütleme sonucunun hatasız olduğunu varsaymıştık. Bu varsayım sayesinde formülasyonumuzda $p(C^{(t-1)}|y^{(t-1)})$ terimini görmezden gelebilmiştik ($t-1$ anındaki diken sınırı $C^{(t-1)}$ ile dikenin yeğlilik görüntüsü de $y^{(t-1)}$ ile gösterilir). Çalışmamızın doğal devamı olacak şekilde, önceki zaman noktasından elde edilen bölütlemenin hatalı olabileceğini varsayıyor ve bu hatalı bölütlemenin sonsal dağılımını kullanarak genelleştirilmiş ve daha eksiksiz bir dinamik tahmin yaklaşımı öneriyoruz.

Bu noktadan itibaren bu genelleştirilmiş yaklaşımı açıklayacağız.

Önceki çalışmamızın matematiksel formülasyonuna benzer şekilde, $(t - 1)$ ve (t) anlarındaki yeğlilik görüntüleri $y^{(t-1)}$ ve $y^{(t)}$ olmak üzere $C^{(t)}$ 'nin sonsal dağılımı Denklem (52)'de verilmiştir.

Bayes kuralını ve diken sınırlarına koşullu olarak $y^{(t-1)}$ ile $y^{(t)}$ 'nin birbirinden bağımsız olduğu varsayımını kullanarak, aşağıda yeniden sunulan Denklem (53)'ü elde ederiz.

$$\begin{aligned}
& p(C^{(t)}|y^{(t-1)}, y^{(t)}) \\
& \propto \int p(y^{(t-1)}, y^{(t)}|C^{(t)}, C^{(t-1)})p(C^{(t)}, C^{(t-1)})dC^{(t-1)} \\
& = \int p(y^{(t-1)}|C^{(t-1)})p(y^{(t)}|C^{(t)})p(C^{(t)}|C^{(t-1)})p(C^{(t-1)})dC^{(t-1)} \\
& \propto p(y^{(t)}|C^{(t)}) \int p(C^{(t)}|C^{(t-1)})p(C^{(t-1)}|y^{(t-1)})dC^{(t-1)}.
\end{aligned}$$

Yeni yaklaşımımızda, dikenin önceki zaman noktasına ait bölütleme sonucunun hatalı olabileceği varsayımından yola çıkarak Denklem (53)'teki sonsal dağılımı tanımlamalıyız. Bunun için parçacık süzgecinden faydalanıyoruz. Parçacık süzgeci, önem örnekleme (importance sampling) yöntemiyle elde edilen bir grup ağırlıklandırılmış örnekleme kullanarak bir sonsal dağılımı tahmin etmeye yarayan bir araçtır. Yaklaşımımızı geliştirirken ilk zaman noktasına ait şekil örneklerine de ihtiyaç olduğunu gözlemledik. Bu hedefle, sonsal dağılımdan ilk zaman noktasına ait örnekleri üretmek amacıyla MCMC (Markov zinciri Monte Carlo) temelli bir şekil örnekleme yöntemi geliştirdik (Erdil vd., 2016b). Geliştirdiğimiz MCMC temelli şekil örnekleme yöntemi parçacık süzgecini kullanarak dinamik bölütleme yöntemimizi temelini oluşturur.

Ön-çalışma olarak, ardışık iki zaman noktasına odaklandık; ki bu diken bölütlemesini sadece bir önceki zamana ait kusurlu bölütleme sonucunu (diken sınırını) kullanarak gerçekleştirmek anlamına gelir.

Yaklaşımımız şöyle çalışmaktadır:

Öncelikle, Erdil vd. (2016b) çalışmamızda önermiş olduğumuz MCMC temelli şekil örnekleme yöntemimizi kullanarak $p(C^{(t-1)}|y^{(t-1)})$ 'den N adet örneklem üretiyoruz. Parçacık

süzgeci çerçevesinde kullanılmak üzere tanımlanması gereken $q(C^{(t)}|C^{(t-1)})$ önem dağılımını (importance distribution) aşağıdaki gibi öneriyoruz:

$$q(C^{(t)}|C^{(t-1)}) = N(C^{(t-1)}, \sigma_1) \quad (61)$$

Bu denklemden anlaşılacağı üzere parçacıklar MCMC tarafından dikenin önceki zaman noktasına ait ortalama sınırına ($C^{(t-1)}$) rassal Gauss gürültüsü eklenerek üretilen örneklerden oluşturulmaktadır.

Sonraki aşamada örneklerin ağırlıklarını hesaplayacağız. Denklem (53)'te görüldüğü üzere Bayes kuralını uyguladıktan sonra örneklerin ağırlıklarına katkıda bulunan üç terim vardır ve bu terimlerin her bir parçacık için değerlendirilmesi gereklidir. $p(y^{(t)}|C^{(t)})$ için Chan ve Vese (2001)'de sunulan Mumford işlevinin parçalı sabit halini aşağıdaki gibi kullanıyoruz.

$$\begin{aligned} -\log p(y^{(t)}|C^{(t)}) &= \int_{C_{in}^{(t)}} (I(x) - m_{in})^2 dx \\ &+ \int_{C_{out}^{(t)}} (I(x) - m_{out})^2 dx \end{aligned} \quad (62)$$

Burada m_{in} (m_{out}) $C^{(t)}$ çevritinin içinde (dışında) kalan yeğliliklerin ortalamasını belirtir.

$p(y^{(t-1)}|C^{(t-1)})$ 'nin hesaplanmasında da aynı yöntemi kullanıyoruz.

$p(C^{(t)}|C^{(t-1)})$ 'yi ise eğitim verisinde Parzen yoğunluk kestiricisini kullanarak parametrik olmayan bir şekilde aşağıdaki gibi öğreniyoruz.

$$p(C^{(t)}|C^{(t-1)}) \propto \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n k(d_{L_2}(C^{(t)}, C_i^{(t)}), d_{L_2}(C^{(t-1)}, C_i^{(t-1)}), \sigma_2) \quad (63)$$

Burada $k(., ., \sigma)$ standart sapması σ olan $2B$ Gauss'u ve $d_{L_2}(., .)$ ise L_2 uzaklık ölçütünü belirtir.

$p(C^{(t)}|y^{(t-1)}, y^{(t)})$ 'yi yukarıda açıkladığımız şekilde her parçacık için değerlendirdikten

sonra her parçacığın ağırlığını aşağıdaki gibi hesaplayabiliriz.

$$W_n(C_{1:n}) = W_{n-1}(1 : n) \frac{\pi_n(C_{1:n})}{\pi_{n-1}(C_{1:n})q(C_n|C_{1:n-1})} \quad (64)$$

Burada $\pi(\cdot)$ Denklem 53'teki hem kestirmeyi hem de kendisinden örnekler türetmeyi amaçladığımız nihai sonsal dağılımı gösterir.

Son olarak, bölütleme sonucunu ağırlıklandırılmış parçacıklardan ortalama kestirimi hesaplayarak elde ederiz.

Genelleştirdiğimiz bu yeni yaklaşımın başarımını da diken veri kümesinde değerlendirdik. Bulgular bölümünde sunulan sonuçlara göre yaklaşımımız en iyi başarıma ve en yüksek Dice değerlerine ulaşmıştır.

Bu çalışmayı özetleyen makalemizi birkaç ay içerisinde IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence dergisine göndermeyi hedefliyoruz.

4. BULGULAR

4.1 Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi

4.1.1 İki-foton Mikroskopi Görüntülerindeki Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi için Ortak bir Sınıflandırma ve Bölütleme Yaklaşımı Sonuçları

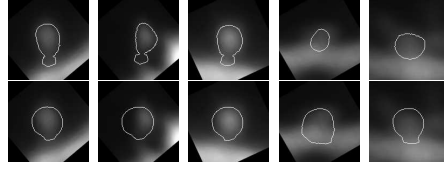
Deneylerimizde, eğitim veri kümesinde yer almayan 22 farklı diken kullanılmıştır. Bölütleme yaklaşımımızın başarımı, uzmanın elle yaptığı bölütlemeler ile Dice ölçütü (Dice, 1945) kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca, Dice ölçütü sonuçları, Chan ve Vese (2001) ile Kim vd. (2007a) çalışmalarında önerilen yöntemlerle de elde edilmiştir. Kim vd. (2007a) tarafından önerilen yöntem Şekil 5'te gösterilen tüm şekillerden oluşan bir eğitim verisi üzerinde, şekil ön bilgisi yoğunluk tahmini yaparak bölütleme gerçekleştirir. Bir başka ifadeyle, önerdiğimiz yöntemde olduğu gibi diken sınıf bilgisini elde etmez.

Elde ettiğimiz niceliksel sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir. Önerdiğimiz ortak bölütleme ve sınıflandırma yaklaşımı, Dice ölçütü açısından en iyi sonuçları vermektedir. Bunun yanında, önerdiğimiz sınıflandırma yöntemi, Diken 12 dışındaki tüm dikenlerde doğru diken sınıfını tespit etmiştir.

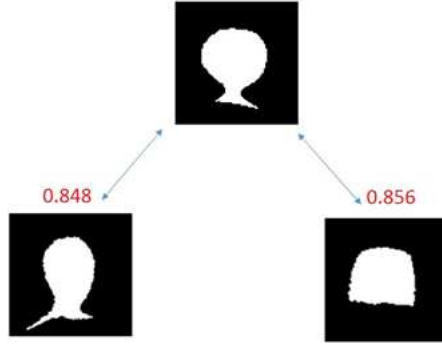
Bazı görsel bölütleme sonuçları Şekil 34'te verilmiştir. Bölütleme sonuçlarının değerlendirilmesinde Dice ölçütü sonuçlarının tek başına yeterli olmadığı ve görsel sonuçlara da bakılmasının önemi Şekil 35'te örneklendirilmiştir. Şekil 35'te ortada bulunan mantar şekline sahip diken ile sol tarafta bulunan mantar şekline sahip diken ve sağ tarafta bulunan güdük şekilli diken arasındaki Dice ölçütü benzerliği hesaplanmıştır. Dice ölçütü sonucuna göre ortada bulunan mantar şekilli diken sağ tarafta bulunan güdük şekilli dikene daha yakın olmasına rağmen görsel değerlendirmeler tam tersini göstermektedir. Dice ölçütü sonuçlarına göre, mantar şekilli olan dikenlerde (Diken 1 - 17) önerdiğimiz yöntemin sonuçları ile Kim vd. (2007a) sonuçları yakın gibi görünse de, görsel sonuçlar daha başarılı bölütlemeler elde ettiğimizi açıkça göstermektedir. Önerdiğimiz yöntemin boyun bölgesini de bölütlemesi bu başarımı getirmektedir. Benzer şekilde, Kim vd. (2007a) yöntemiyle güdük dikenlerde (Diken 18 - 22) daha iyi Dice ölçütü sonuçları elde edilmiştir. Fakat görsel sonuçlar incelendiğinde Kim vd. (2007a) yönteminin farklı güdük dikenler için benzer bölütlemeler oluşturduğu ya da bölütlemelere belli belirsiz de olsa boyun bölütlemesi eklediği (bkz. Şekil 34, 2. satır,

Tablo 2. Bölütlemeler ile elde edilmiş Dice ölçütü sonuçları. Diken 1 ve Diken 17 arası boynu olan dikenler (mantar), geri kalanlar boynu olmayan dikenler (güdük).

	Önerilen Yöntem	Kim vd. (2007a)	Chan ve Vese (2001)
Diken 1	0.8303	0.8389	0.1737
Diken 2	0.7426	0.6744	0.0000
Diken 3	0.7140	0.6619	0.2636
Diken 4	0.7291	0.6386	0.2658
Diken 5	0.8426	0.6221	0.2996
Diken 6	0.8095	0.7678	0.2036
Diken 7	0.8618	0.7282	0.5671
Diken 8	0.8021	0.7516	0.1783
Diken 9	0.8927	0.8469	0.1133
Diken 10	0.8333	0.8141	0.6339
Diken 11	0.8291	0.7388	0.5032
Diken 12	0.8482	0.7846	0.4157
Diken 13	0.7886	0.7990	0.4357
Diken 14	0.7868	0.7045	0.1517
Diken 15	0.8892	0.8450	0.3891
Diken 16	0.7599	0.7500	0.4863
Diken 17	0.8135	0.7322	0.4501
Diken 18	0.4156	0.4820	0.2017
Diken 19	0.7876	0.9244	0.1977
Diken 20	0.6839	0.7383	0.1906
Diken 21	0.7753	0.8068	0.3243
Diken 22	0.7727	0.8566	0.2020
Ortalama	0.7822	0.7375	0.3021



Şekil 34. Soldan sağa Diken 1, Diken 4, Diken 15, Diken 18 ve Diken 22 dikenlerine ait görsel bölütleme sonuçları. İlk satır: Önerilen yöntem. İkinci satır: Kim vd. (2007a)



Şekil 35. Dice ölçütünün dikenler arası benzerliği ölçmede anlamlı bir sonuç vermediği bir örnek.

Diken 22) görülmektedir. Buna karşılık, önerdiğimiz yöntemle elde ettiğimiz güdük diken bölütlemeleri gerçek güdük diken şekline daha yakındır. Sonuç olarak, görsel sonuçlar önerdiğimiz yöntemin her iki diken sınıfı için de daha iyi bölütlemeler ürettiğini göstermektedir. Kim vd. (2007a) yaklaşımının farklı diken sınıfları için benzer bölütlemeler üretmesinin sebebi, parametrik olmayan yöntemle olasılık yoğunluk işlevi kestirimini (probability density function estimation) doğru olarak yapamamış olmasıdır. Dolayısıyla, evrilen çevrit ortalama bir şekle ulaşır ki bu da gerçek bir uygulamada istenen bir durum değildir.

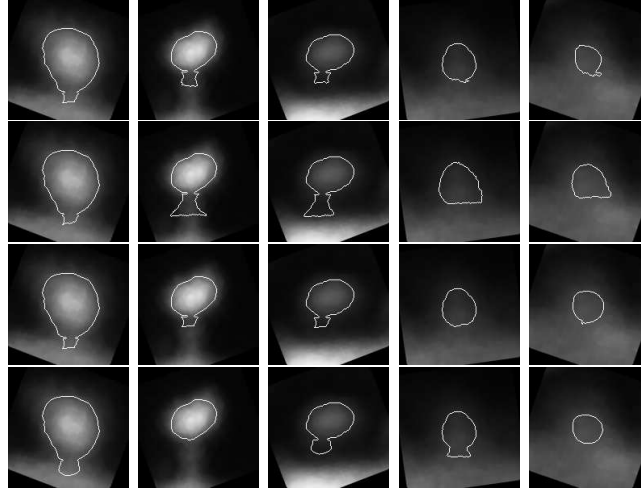
4.1.2 Dendrit Dikenlerinin Bölütlenmesi için Parametrik Olmayan Ortak Şekil ve Öznitelik Yoğunluk Kestirimi Sonuçları

Yöntemimizin başarımını göstermek için 2 farklı deney yapmaktayız. Her iki deneyde de 24 mantar ve 10 güdük diken örnekleri kullanılmaktadır. Bölütleme sonuçlarının doğruluğu, bulunan bölütlemelerin, uzmanın el ile yaptığı bölütlemeler ile Dice ölçütü kullanılarak ölçülmüştür (Dice, 1945). Dice ölçütü, karşılaştırılan 2 bölütlemenin tamamen aynı olduğu durumda 1 değerini almaktadır.

Deney 1'de önerdiğimiz yöntemin Kim vd. (2007a) çalışmasında önerilen yönteme göre, şeklin doğru sınıftan şekillere sürülmesi konusundaki avantajını göstermek için tasarlanmıştır. Bu deneyde, Şekil 9 ilk satırda gösterilen, hem mantar hem de güdük diken örnekleri içeren eğitim veri kümesi kullanılmıştır. Ayrıca, ayırt edici öznelik olarak, bir önceki bölümde belirttiğimiz geometrik öznelik, boyun uzunluğu (Ghani vd., 2015) kullanılmıştır.

Tablo 3, Dice ölçütü sonuçlarının yanısıra, oluşturulan şeklin mantar sınıfında olma olasılığının $(p_m(C, f) = p(C, f)(C, f|class(C) = mantar))$ önerilen yöntem için, $p_m(C) = p_C(C|class(C) = mantar)$ Kim vd. (2007a) yöntemi için) güdük sınıfında olma olasılığına $(p_g(C, f) = p(C, f)(C, f|class(C) = güdük))$ önerilen yöntem için, $p_g(C) = p_C(C|class(C) = güdük)$ Kim vd. (2007a) yöntemi için) oranı verilmiştir. $(p_m(C, f))/(p_g(C, f))$ ve $(p_m(C))/(p_g(C))$ oranlarının mantar dikenler için (diken 1 - 24) 1'den büyük, güdük (diken 25 - 34) dikenler için 1'den küçük olması, şeklin doğru sınıfa doğru sürüldüğünü göstermektedir. Bu sonuçlar Tablo 3'ün ilgili kısımlarında koyu renk ile belirtilmiştir. Sonuçlar, önerdiğimiz yöntemin tüm dendritik dikenleri doğru sınıfa doğru sürdüğünü gösterirken, Kim vd. (2007a) tarafından önerilen yöntemin tüm dikenleri (diken 4 hariç) güdük sınıfına doğru sürdüğünü göstermektedir. Diken 4'te, veri terimi boyun bölgesinin bir kısmını da bölütlemeye dahil etmektedir. Bu sebeple, bu şekil mantar sınıfındaki şekillere daha yakın hale gelir ve bu sınıfa doğru sürülür. Sonuçlara göre, ayırt edici öznelikler kullanımının şekillere doğru sınıfa sürmede sonuçları iyileştirdiğini göstermektedir. Bunun yanında, Dice skoru sonuçlarına göre, önerdiğimiz yöntem Kim vd. (2007a) yönteminden daha iyi ortalama sonuçlara sahiptir.

Deney 2'de, bir önceki bölümde anlatıldığı gibi, önerdiğimiz yöntemi dendritik diken bölütlemesi problemine uygulamaktayız. Bu deneyde, yöntemimizin bölütleme başarımını Kim vd. (2007a) ve Erdil vd. (2015) yöntemleri ile karşılaştırmaktayız. Bu deneyde kullanılan tüm yöntemlerde, Şekil 9'de ikinci satır'daki eğitim veri kümesi kullanılmıştır ve eğitim veri kümesindeki mantar örnekleri, diken baş bölgesi bölütleme sonucunun, eğitim kümesindeki boyun örneklerinin üzerine eklenmesiyle elde edilir. Eğitim veri kümesinin bu şekilde oluşturulması, Erdil vd. (2015) çalışmasında belirtildiği gibi dendritik diken bölütlemesi probleminde daha iyi bölütleme sonuçları oluşmasını sağlar. Önerdiğimiz yöntemin başarımını, önceki bölümde belirttiğimiz yeğinlik tabanlı ve geometrik öznelikler kullanarak ayrı ayrı ölçmekteyiz. Elde edilen yeğinlik tabanlı öznelik vektörlerini ard arda birleştirerek tek bir vektör olarak deneylerimizde kullandık. Bu öznelik vektörlerini ayrı ayrı kullanmak için



Şekil 36. Deney 2’de dendritik diken 1, 3, 11, 25 ve 26’da elde edilmiş bazı görsel bölütleme sonuçları. İlk satır: Yeşinlik öznelikleri ile önerilen yöntem, ikinci satır: Geometrik öznelikleri ile önerilen yöntem, üçüncü satır: Erdil vd. (2015), dördüncü satır: Erdil vd. (2015).

Denklem (15)’deki Gauss çekirdeğine fazladan boyut eklemek ve kısmi türevleri bu yönde güncellemek düşünülebilir.

Eğitim kümesindeki mantar diken şekillerini, bulunan diken baş bölgesinin bölütlemesini, eğitim kümesinde verilen boyun bölgesi örneklerinin üzerine ekleyerek oluşturmak, eğitim kümesindeki mantar diken örnekleriyle evrilen şekil arasındaki yakınlığı, Deney 1’deki duruma göre artıracaktır. Bu sebeple bu eğitim veri kümesini kullanarak Kim vd. (2007a) yönteminin şekli doğru sınıfa doğru sürme başarımı daha fazladır. Deney 2’de hem önerdiğimiz yöntem hem de Kim vd. (2007a) çalışmasında önerilen yöntem tüm test görüntülerinde doğru sınıftan diken bölütlemeleri bulur. Dice ölçütü sonuçları (bkz. Tablo 3), en iyi bölütleme sonuçlarının önerdiğimiz yöntemin geometrik öznelikleri kullanmasıyla elde edildiğini göstermektedir. Önerdiğimiz yöntem, yeşinlik tabanlı öznelikleri kullanarak Erdil vd. (2015) ile benzer sonuçlar üretmektedir. Ancak, Erdil vd. (2015) çalışmasında önerilen yöntem 7 dendritik dikende yanlış sınıf kararı verdiği için farklı sınıflardan bölütleme sonuçları üretir. Deney 2’de kullanılan tüm yöntemlere ait bazı görsel sonuçlar Şekil 36’da verilmiştir.

4.1.3 Üç Boyutlu Dendritik Dikenlerin Yeşinlik Bilgisi Kullanarak Bölütlenmesi Sonuçları

Tablo 3. 34 dendritik diken üzerinde elde edilen sayısal sonuçlar. Sol: *Deney 1* Sağ: *Deney 2*. Diken 1-24 arası mantar, Diken 24-34 arası güdük dikenlerdir.

	<i>Deney 1</i>				<i>Deney 2</i>			
	Önerilen Yöntem with Geometrik Öznitelik		Kim vd. (2007a)		Önerilen Yöntem Yeğİnlik Tabanlı Öznitelik	Önerilen Yöntem Geometrik Öznitelik	Kim vd. (2007a)	Erdil vd. (2015)
	Dice	$\frac{p_m(C,F)}{p_s(C,F)}$	Dice	$\frac{p_m(C,F)}{p_s(C,F)}$				
	Dice							
Diken 1	0.759	1.764	0.710	0.885	0.875	0.878	0.876	0.869
Diken 2	0.778	3.657	0.736	0.821	0.795	0.790	0.792	0.813
Diken 3	0.807	381.160	0.724	0.856	0.767	0.787	0.750	0.772
Diken 4	0.728	4410278.801	0.677	1.030	0.681	0.704	0.657	0.616
Diken 5	0.670	896.867	0.685	0.900	0.672	0.738	0.769	0.740
Diken 6	0.762	2.398	0.697	0.861	0.750	0.746	0.736	0.748
Diken 7	0.644	76585655.727	0.675	0.637	0.662	0.686	0.670	0.675
Diken 8	0.755	1.443	0.720	0.955	0.890	0.893	0.889	0.876
Diken 9	0.757	2.466	0.713	0.933	0.869	0.870	0.861	0.848
Diken 10	0.829	2.998	0.761	0.805	0.856	0.855	0.855	0.851
Diken 11	0.799	147019.913	0.763	0.829	0.699	0.767	0.695	0.718
Diken 12	0.839	12662.596	0.779	0.837	0.742	0.777	0.737	0.754
Diken 13	0.818	12.217	0.822	0.793	0.885	0.894	0.889	0.889
Diken 14	0.641	54.154	0.629	0.759	0.882	0.877	0.876	0.895
Diken 15	0.866	1.132	0.853	0.768	0.882	0.884	0.882	0.908
Diken 16	0.841	1.351	0.814	0.798	0.845	0.859	0.832	0.849
Diken 17	0.828	2.783	0.842	0.826	0.784	0.813	0.670	0.801
Diken 18	0.779	3.244	0.790	0.781	0.774	0.757	0.756	0.745
Diken 19	0.864	1.263	0.828	0.840	0.842	0.826	0.822	0.840
Diken 20	0.836	1.678	0.846	0.783	0.908	0.901	0.911	0.884
Diken 21	0.699	1.683	0.679	0.994	0.761	0.747	0.769	0.756
Diken 22	0.766	38.337	0.719	0.900	0.713	0.673	0.700	0.706
Diken 23	0.762	7385.921	0.696	0.941	0.612	0.677	0.614	0.633
Diken 24	0.853	652840.919	0.709	0.820	0.631	0.687	0.634	0.639
Diken 25	0.434	0.062	0.385	0.160	0.539	0.671	0.541	0.606
Diken 26	0.419	0.063	0.370	0.198	0.332	0.480	0.401	0.362
Diken 27	0.653	0.079	0.725	0.308	0.613	0.807	0.634	0.599
Diken 28	0.431	0.064	0.560	0.278	0.433	0.645	0.535	0.484
Diken 29	0.572	0.029	0.582	0.276	0.570	0.628	0.568	0.585
Diken 30	0.557	0.081	0.584	0.315	0.465	0.601	0.486	0.541
Diken 31	0.448	0.036	0.474	0.232	0.459	0.581	0.443	0.476
Diken 32	0.373	0.041	0.535	0.363	0.520	0.630	0.276	0.495
Diken 33	0.451	0.072	0.501	0.337	0.555	0.656	0.415	0.433
Diken 34	0.498	0.062	0.486	0.165	0.494	0.540	0.431	0.396
Ortalama	0.692		0.679		0.702	0.745	0.687	0.700

Önerdiğimiz yöntem 6 farklı dendritik diken üzerinde test edilmiştir. Bu dendritik dikenlerden ikisine ait ve 4 kesitinde, görsel bölütleme sonuçları Şekil 37 ve Şekil 38’de verilmektedir. Bölütlenen tüm dendritik dikenler, uzmanın elle yaptığı bölütlemelerle Dice ölçütü kullanılarak karşılaştırılmıştır. Dice ölçütü 0-1 arası değerler üretilir, 1 elle bölütlemeye en yakın sonuç anlamına gelmektedir. Tablo 4’te verilen Dice ölçütü sonuçlarına göre, önerdiğimiz yöntemin bölütlemelerinin uzman bölütlemelerine ortalama 0.7780 Dice ölçütü oranında benzerlik göstermektedir.

Tablo 4. Dice ölçütü sonuçları.

	Diken 1	Diken 2	Diken 3	Diken 4	Diken 5	Diken 6
Dice	0.856865	0.778175	0.839876	0.733702	0.747409	0.712174

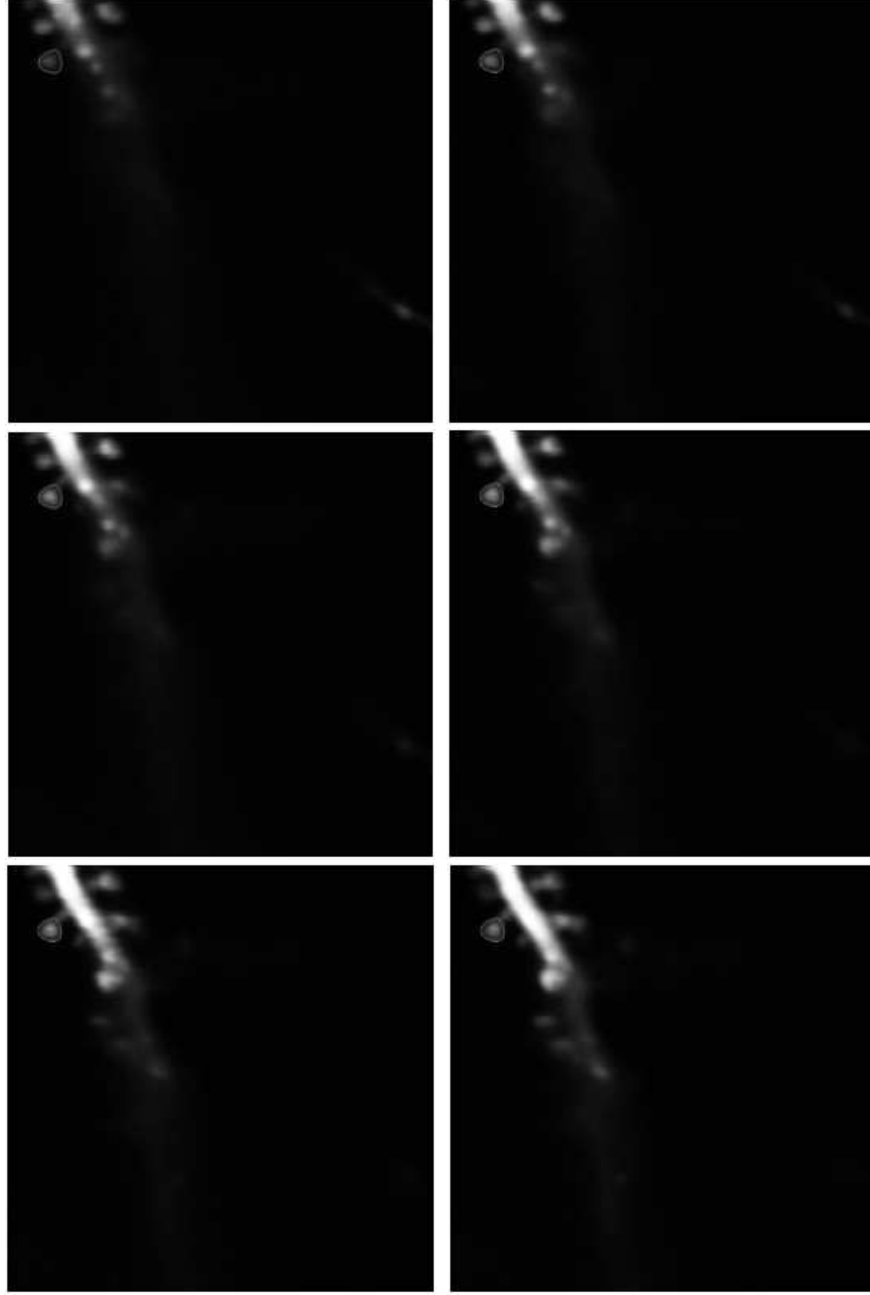
4.1.4 Üç Boyutlu Dendritik Dikenlerin Parametrik Olmayan Şekil Ön Bilgisi Kullanılarak Bölütlenmesi Sonuçları

Bu bölümde iki-foton mikroskopi görüntüleme yöntemiyle elde edilmiş görüntülerdeki 3B dendritik dikenlerin bölütlenmesi için yaptığımız deney sonuçlarını sunuyoruz. Bölütleme sonuçlarının doğruluğu, uzmanın el ile yaptığı bölütlemeler baz alınarak Dice ölçütü (Dice, 1945) ile karşılaştırılmıştır. Dice ölçütü, verilen iki X ve Y kümesi arasındaki benzerliği ölçmektedir. Bölütleme sonuçlarını karşılaştırırken X ve Y sırasıyla, uzmanın el ile yaptığı ve bir algoritma tarafından bulunan bölütleme sonuçlarını gösteren ikili görüntülerdir. Dice ölçütü, $[0, 1]$ aralığında değerler almakta olup, 1 değeri X ve Y kümelerinin tamamen aynı olduğunu göstermektedir. Dice ölçütü

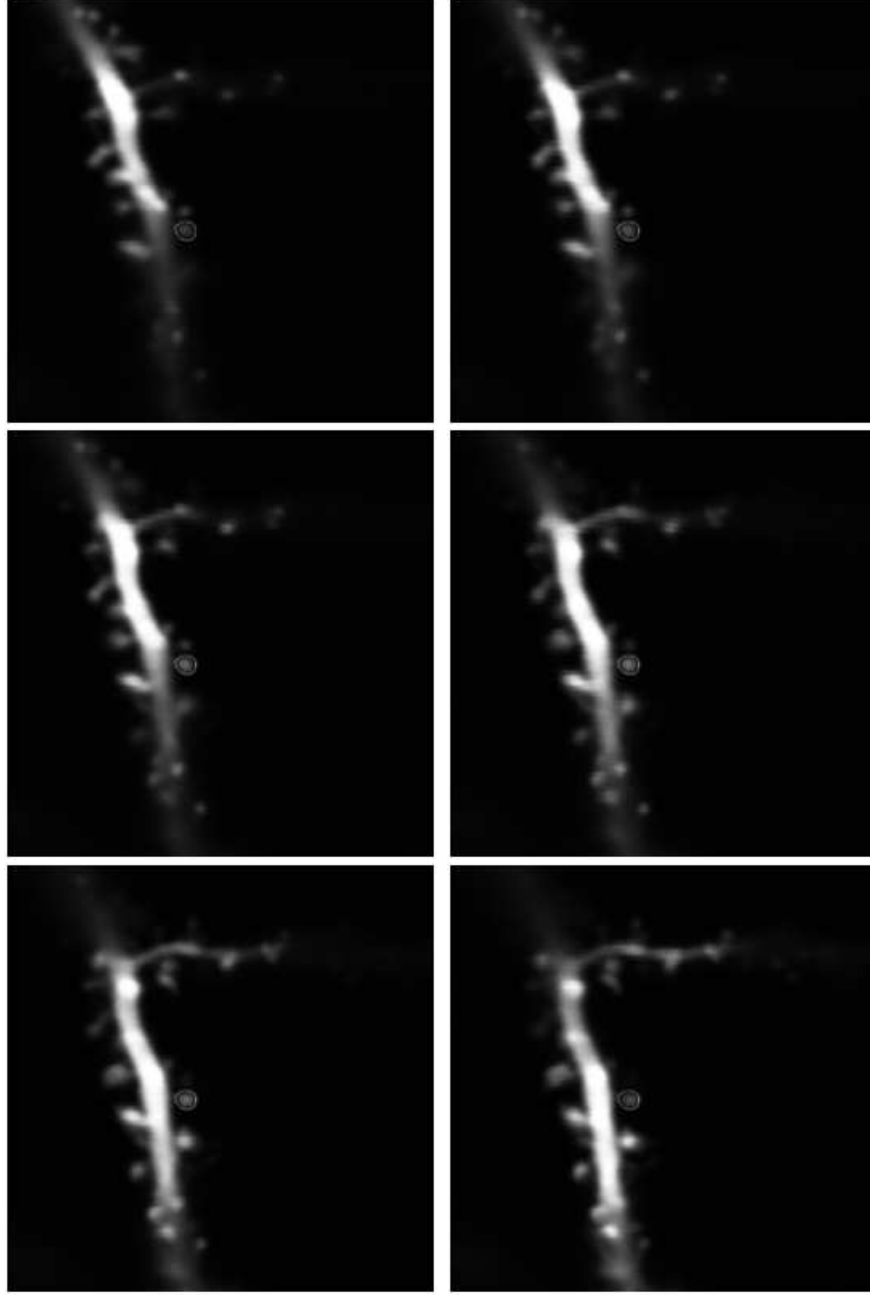
$$D(X, Y) = \frac{2|X \cap Y|}{|X| + |Y|} \quad (65)$$

formülüyle hesaplanmaktadır.

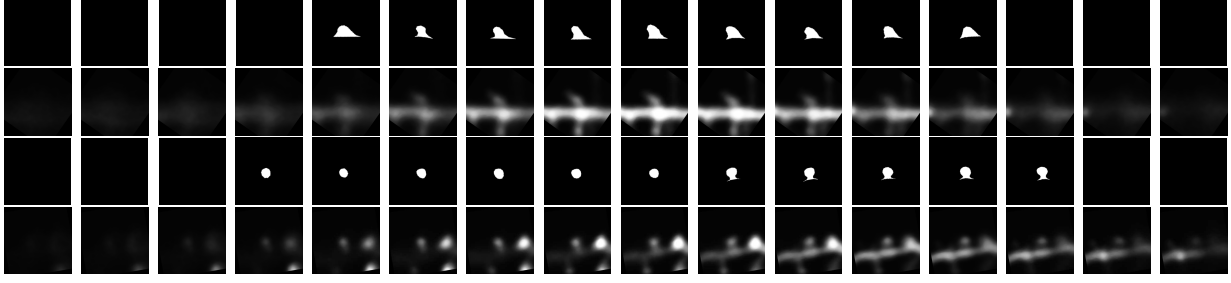
Deneylerimizde kullandığımız 3B dendritik diken veri kümesi 30 adet dendritik diken görüntüsünden oluşmaktadır. Bu görüntülerin 15 adedi mantar, geriye kalan 15 adedi ise güdük dendritik diken sınıfına aittir. Veri kümesindeki her bir dendritik diken görüntüsü uzman tarafından el ile bölütlenmiştir. Deneylerimizde kullandığımız eğitim veri kümesi, her bir dendritik diken sınıfından 10 adet olmak üzere, rastgele seçilmiş toplam 20 adet ikili 3B dendritik diken görüntüsünden oluşmaktadır. Eğitim veri kümesinden bir mantar bir de



Şekil 37. Üç boyutlu bir dendritik dikenin ardışık 6 kesitindeki bölütleme sonuçları.



Şekil 38. Üç boyutlu bir dendritik dikenin ardışık 6 kesitindeki bölütleme sonuçları.



Şekil 39. Eğitim veri kümesinden güdük (1. ve 2. satırlar) ve mantar (3. ve 4. satırlar) dendritik diken sınıfına ait birer 3B dendritik diken örneği. Her bir satırdaki 2B görüntüler, soldan sağa 3B dendritik dikenin z eksenindeki dilimlerini gösterir.

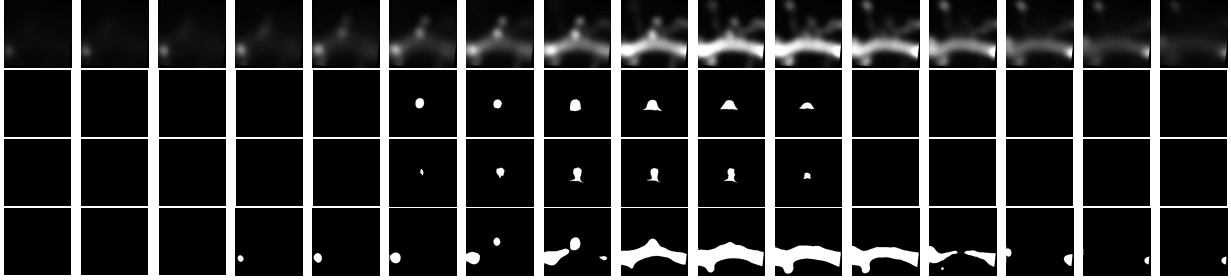
güdük şekilli 3B dendritik diken örneği Şekil 62’de verilmiştir. Geriye kalan 5 mantar ve 5 güdük sınıfına ait 3B dendritik dikenlerin görüntüleri test için kullanılmıştır. Test veri kümesi, eğitim veri kümesinden tamamen farklı dendritik diken şekillerinden oluşmaktadır. 3B dendritik dikenlerin bölütlenmesi için önerdiğimiz parametrik olmayan şekil ön bilgisi tabanlı bölütleme yöntemi, sadece yeğinlik bilgisini kullanan, Chan ve Vese (2001) tarafından önerilmiş etkin çevritlere dayalı bölütleme yöntemiyle karşılaştırılmıştır.

Tablo 5’te deneyler sonucunda elde edilen, Dice ölçütü ile hesaplanmış sayısal sonuçlar gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre, 3B dendritik dikenlerin bölütlenmesi için önerdiğimiz yeğinlik bilgisinin yanında parametrik olmayan şekil ön bilgisini de kullanan bölütleme yöntemi, Chan ve Vese (2001) tarafından önerilen ve sadece yeğinlik bilgisini kullanan bölütleme yönteminin sonuçlarını önemli derecede iyileştirmektedir.

Deneyler sonucunda elde edilen bazı görsel bölütleme sonuçları Şekil 40 ve 41’de verilmiştir. Şekil 40’daki görüntüler Diken 2 test görüntüsüne, Şekil 41’deki görüntüler de Diken 6 test görüntüsüne aittir. Görsel bölütleme sonuçlarına göre önerdiğimiz yöntem, Chan ve Vese (2001) yöntemine göre daha doğru bölütlemeler oluşturmaktadır. Chan ve Vese (2001) tarafından önerilen bölütleme yöntemi sadece görüntülerdeki yeğinlik bilgilerini kullanarak görüntüyü parlak ve koyu olmak üzere 2 bölgeye ayırdığı için, bölütleme sonuçlarına parlak olan bütün bölgeleri dahil etme eğilimindedir. Önerdiğimiz, parametrik olmayan şekil ön bilgisi kullanan bölütleme yöntemi ise evrilen çevritin dendritik diken şeklinden çok fazla uzaklaşmasına izin vermeyerek veriden kaynaklanan yanlış yönlendirmelerin önüne geçer. Böylece önerdiğimiz yöntem 3B dendritik diken şekline daha yakın bölütleme sonuçları üretir.

Tablo 5. Dice ölçütü sonuçları.

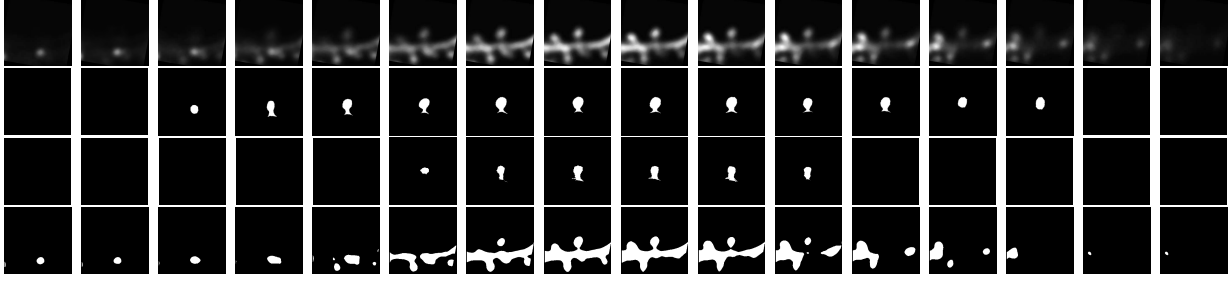
	Önerilen Yöntem	Chan ve Vese (2001)
Diken 1	0.605	0.006
Diken 2	0.592	0.131
Diken 3	0.492	0.002
Diken 4	0.413	0.014
Diken 5	0.569	0.058
Diken 6	0.497	0.099
Diken 7	0.559	0.136
Diken 8	0.438	0.038
Diken 9	0.457	0.062
Diken 10	0.504	0.002
Ortalama	0.512	0.055



Şekil 40. Gүdük dendritik diken sınıfına ait bir 3B dendritik diken test görüntüsüne ait görsel sonuç. Her bir satırdaki 2B görüntüler, soldan sağa 3B dendritik dikenin z eksenindeki dilimlerini gösterir. İlk satır: yeğınlık görüntüsü, ikinci satır: uzman bölütlemesi, üçüncü satır: önerilen yöntem, dördüncü satır: Chan ve Vese (2001) yöntemi.

4.1.5 Dendritik Dikenlerin Şekil, Yeğınlık ve Bağlam Ön Bilgileri Kullanılarak Bölütlenmesi Sonuçları

Bu bölümde, önerdiğimiz yeğınlık, bağlam ve şekil ön bilgilerini kullanan bölütleme yaklaşımına ait deneysel sonuçlar sunulmaktadır. Deneylerimizde 3B dendritik diken veri kümesi kullanılmıştır. Bu veri kümesi 64 adet elle yapılmış dendritik diken bölütlemesi ve karşılık gelen yeğınlık görüntülerinden oluşmaktadır. Deneylerimizde, bu veri kümesinden 34 örnek eğitim, geri kalan 30 örnek ise test amaçlı kullanılmıştır. Önerdiğimiz yöntemin sonuçları, sadece bölütlenen görüntüdeki yeğınlık bilgisini kullanan Chan ve Vese (2001) yöntemiyle ve bölütlenen görüntüdeki yeğınlık bilgisinin yanında parametrik olmayan şekil ön bilgisini de



Şekil 41. Mantar dendritik diken sınıfına ait bir 3B dendritik diken test görüntüsüne ait görsel sonuç. Her bir satırdaki 2B görüntüler, soldan sağa 3B dendritik dikenin z eksenindeki dilimlerini gösterir. İlk satır: yeğlilik görüntüsü, ikinci satır: uzman bölütlemesi, üçüncü satır: önerilen yöntem, dördüncü satır: Chan ve Vese (2001) yöntemi.

kullanan Kim vd. (2007a) yöntemiyle karşılaştırılmıştır. Ayrıca, önerdiğimiz yöntemin başka bir versiyonu olarak (Versiyon 2) şekil bilgisinin etkisi çıkarılarak sadece yeğlilik ve bağlam ön bilgileri kullanarak da sonuçlar elde edilerek karşılaştırmalarda kullanılmıştır. Bölütleme sonuçları, uzmanın elle yaptığı bölütlemeler ile Dice ölçütü kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Tablo 6'da karşılaştırmalarda kullanılan tüm yöntemlere ait Dice ölçütü sonuçları verilmiştir. Buna göre, önerilen yöntem, Chan ve Vese (2001) ve Kim vd. (2007a) yöntemlerine göre açık farkla daha iyi sonuçlar üretmektedir. Tablo 6'da Önerilen Yöntem (Versiyon 2) olarak belirtilen, önerilen yöntemin şekil bilgisi kullanmayan versiyonu olan yöntem de, şekil bilgisi kullanan versiyonuna çok yakın sonuçlar üretmektedir. Bu sonuçlar, 3B dendritik diken bölütlemesi probleminde bağlam ön bilgisi kullanmanın bölütleme sonuçlarını iyileştirmede önemli bir etkisi olduğunu göstermektedir. Yine Tablo 6'daki bazı sonuçlarda sadece yeğlilik ve bağlam ön bilgisi kullanan yöntemin sonuçlarının (Önerilen Yöntem (Versiyon 2)), bu yönteme şekil bilgisi de eklendiğinde (Önerilen Yöntem) kötüleştiği görülmektedir. Bunun en temel sebebi, bağlam bilgisi kullanırken de üstü kapalı olarak bir şekil bilgisi kullanılmasıdır. Bunun üzerine parametrik olmayan şekil ön bilgisinin de eklenmesi, bazı durumlarda bölütlemeyi istenen şekilden biraz uzaklaştırabilir ki bu da beklenen bir durumdur.

4.2 Dikenlerin Şekillerine göre Sınıflanması ve Topak Analizi

4.2.1 Sınıflandırma Sonuçları

İlgili bölümlerde bahsettiğimiz şekillerde öz nitelikleri çıkarıp sınıflandırma yaptık. Sınıflandırma sonuçlarını değerlendirmek için uzman tarafından el ile atanmış etiketleri kullandık. Önerdiğimiz sınıflandırma yöntemlerinin başarımlarını Koh vd. (2002), NeuronStudio (Rodriguez vd., 2008) ve 2dSpAn (Basu vd., 2016) yöntemleri ile karşılaştırdık. NeuronStudio otomatik bir diken tespit yöntemi kullanır; bu yaklaşım bizim veri kümemizden toplamda 83 diken tespit edememiştir. 2dSpAn aracı genel bir eşikleme yaklaşımı kullanarak dendrit ve diken bölütlemesi yapar. Bu yöntem bizim veri kümemizde toplam 197 diken yanlış bölütlemiştir. Adil bir karşılaştırma için dört farklı veri kümesi üzerinde deneyler yaptık; DataA:tüm veri kümesi, DataB: sadece NeuronStudio tarafından doğru tespit edilmiş dikenleri içeren veri kümesi, DataC: sadece 2dSpAn aracı ile doğru bölütlenmiş dikenlerden oluşan veri kümesi, ve DataD: sadece Morph3D yaklaşımı ile doğru bölütlenmiş dikenlerden oluşan veri kümesi. DataA, 288 mantar, 113 güdük ve 55 zayıf olmak üzere 456 dikenden oluşur. DataB 251 mantar, 96 güdük ve 26 zayıf olmak üzere 373 dikenden oluşur. DataC 182 mantar, 71 güdük ve 6 zayıf olmak üzere 259 dikenden oluşur. DataD 290 mantar, 84 güdük ve 54 zayıf olmak üzere 428 dikenden oluşur.

Koh vd. (2002) çalışmasında kullanılan oran kriterini öz niteliklerini kullanarak sınıflandırma yaptık. Koh vd. (2002) tarafından kullanılan oran kriterleri ilk olarak Harris vd. (1992) tarafından önerilmiş olup Tablo 7’de verilmiştir. Burada L diken uzunluğunu, d_n diken boyun çapını, ve d_h baş çapını temsil eder. Ancak, bu kriterler belli veri kümeleri için özelleştirilmiş gibi görünmektedir. Bu sebeple bizim veri kümemizde kötü başarımlara sebep olurlar. Bu çalışmalar tarafından önerilen öz niteliklerin başarımlarını karşılaştırmak için KDE, SVM ve NN eğiterek sınıflandırma yaptık. Bu başarımları diğer morfoloji tabanlı öz nitelik yaklaşımlarına yakın sonuçlar üretir. Bunun anlamı oran kriterleri tabanlı sınıflandırma bazı veri kümelerine özel tasarlanmıştır ve bu öz niteliklerin kullanımları önerilmemelidir.

NeuronStudio (Rodriguez vd., 2008) ile karşılaştırma yapmak için, NeuronStudio’nun son sürümünü indirdik ¹ ve sınıflandırma sonuçlarını hesapladık. Veri kümelerini yükledikten ve parametreleri ayarladıktan sonra, gürültü azaltmak için medyan filtrelemesi uyguladık. Yarı otomatik dendrit takibini kaynak noktasını elle vererek kullandık. Dendrit takibinden sonra NeuronStudio içinde olan diken tespiti ve sınıflandırması aracını kullanarak DataB veri kümesinden sınıflandırma sonuçlarını elde ettik.

¹<http://research.mssm.edu/cnic/tools-ns.html>

2dSpAn (Basu vd., 2016) diken sınıflandırması için yeni önerilmiş bir araçtır. Başlangıç olarak kullanıcı iki noktaya tıklayarak ROI seçer. Bölütleme için genel eşikleme kullanır. Eşikleme değeri elle ayarlanabilir ancak iki-foton mikroskopi görüntülerinin zorlu olmasından dolayı tük dikenleri genel eşikleme ile bölütlemek çok olası değildir. Bu yüzden, eşikleme değerini en fazla doğru bölütleme elde edecek şekilde seçtik. Ayrıca diken tespiti el ile gerçekleştirilir; kullanıcı her bir dikene tıklar. Araç morfolojik öz nitelikleri hesaplar ve kural tabanlı bir yöntem ile sınıflandırmayı gerçekleştirir.

Yöntemimizin başarımını üç farklı sınıflandırıcı ile test ettik: KDE, destek vektör makineleri (SVM) ve sinir ağları (NN). SVM için doğrusal çekirdek ve 2 katmanlı ve her bir katmanında $\frac{\text{Öz nitelik sayısı} + \text{sınıf sayısı}}{2}$ adet düğüm olan bir ağ kullanılmıştır. Her bir sınıflandırıcı için öz nitelik çıkarım yöntemleri 10 katlamalı öz nitelik çıkarımı ile karşılaştırılmıştır (Tablo 8).

Tablo 8'den görüldüğü üzere, AlexNet ve şekil ve görünüm öz nitelikleri tabanlı yöntemler diğer tüm yöntemleri geçmektedir. Aynı zamanda sonuçlardan açıkça görülmektedir ki önerdiğimiz yöntemler diğer kullanılan morfoloji tabanlı yöntemlerden (Koh vd., 2002; Rodriguez vd., 2008; Basu vd., 2016) daha iyi sonuçlar üretmektedir. Sonuçlar, derin öğrenme tabanlı yöntemlerin gürbüzlüğünü ve güvenilirliğini doğrular. Bu yöntem diğer el ile üretilmiş öz niteliklerin bazılarında daha iyi sonuçlar üretmiştir. Hatta bu öz niteliklerin bazıları, morfolojik öz nitelikler, dendritik diken sınıflandırması için özel olarak tasarlanmıştır. Orijinal AlexNet için en iyi performans *fc6* katmanından elde edilen ve CFS tabanlı yöntemle seçilen öz niteliklerle elde edilmiştir. Bu da Codella vd. (2015); Donahue vd. (2014) çalışmalarında raporlanmış olan *fc6* öz niteliklerinin *fc7*'den daha iyi sonuçlar ürettiği gözlemini doğrular. İnce ayar yapılmış AlexNet için en iyi sonuçlar, ilk 2 evrimsel katmanın ince ayar sırasında dondurulduğu durumda en son katmanda elde edilmiştir. Bu gözlem Yosinski vd. (2014) çalışmasında da bahsedildiği gibi ince ayarlamamanın ağın performansını artırması beklendiğinden dolayı ilginçtir. Ancak, şunun da farkına varılması önemlidir ki ImageNet veri kümesi ve dendritik diken veri kümeleri oldukça farklıdır. Aynı zamanda bizim veri kümemiz oldukça küçük olup sadece 456 örnek vardır.

Elle üretilmiş öz niteliklerden, şekil ve görünüm tabanlı yöntem en iyi başarıma sahiptir. Aynı zamanda HOG tabanlı görünüm öz niteliklerinin DNSM öz niteliklerinden biraz daha iyi olduğu açıkça görülmektedir. DNSM ve HOG öz niteliklerini birleştirmek bazı durumlarda biraz daha iyidir. Ayrıca HOG ve DNSM öz niteliklerinin birleşimine öz nitelik seçimi uygu-

Tablo 8. Sınıflandırma sonuçları, öz nitelik çıkarımlarının ve sınıflandırma yöntemlerinin karşılaştırılması.

Sınıflandırıcı	Öz nitelikler	DataA	DataB	DataC	DataD
KDE	Koh vd. (2002)	54.17%	54.16%	52.12%	54.21%
	Morph2D	61.18%	61.39%	64.87%	60.51%
	Morph3D	-	-	-	77.10%
	Morph3D+CFS	-	-	-	80.37%
	Morph3D+IG	-	-	-	77.34%
	ISOMAP	68.64%	70.51%	74.90%	69.86%
	Laplacian	68.86%	73.99%	73.75%	68.46%
	LLE	71.05%	73.19%	69.88%	71.26%
	LTSA	50.22%	56.84%	57.14%	55.38%
	MDS	68.86%	73.19%	74.90%	69.16%
	PCA	69.96%	71.58%	76.06%	69.39%
	DNSM	75.60%	75.34%	75.29%	73.13%
	HOG	83.11%	84.45%	86.87%	81.08%
	DNSM+HOG	82.02%	83.65%	84.94%	79.44%
	DNSM+HOG+CFS	84.87%	85.26%	87.26%	81.08%
	DNSM+HOG+IG	83.33%	85.79%	85.71%	81.78%
	Orijinal AlexNet	83.77%	80.70%	84.94%	82.25%
	FT <i>fc1-fc7</i> AlexNet	85.53%	82.84%	87.65%	82.24%
FT <i>fc3-fc7</i> AlexNet	84.43%	80.96%	85.33%	82.48%	
SVM	Koh vd. (2002)	69.52%	72.92%	76.06%	71.03%
	Morph2D	69.30%	75.60%	74.13%	72.20%
	Morph3D	-	-	-	81.08%
	Morph3D+CFS	-	-	-	80.84%
	Morph3D+IG	-	-	-	83.88%
	ISOMAP	78.29%	80.16%	77.99%	75.70%
	Laplacian	76.32%	78.02%	81.08%	75.47%
	LLE	74.56%	78.28%	78.38%	77.80%
	LTSA	63.16%	67.29%	67.95%	67.76%

Tablo 8 – bir önceki sayfanın devamı

Sınıflandırıcı	Öz nitelikler	DataA	DataB	DataC	DataD
	MDS	78.51%	78.89%	81.47%	78.97%
	PCA	75.66%	78.02%	79.54%	77.10%
	DNSM	74.12%	78.82%	74.90%	72.90%
	HOG	82.46%	82.04%	85.71%	81.08%
	DNSM+HOG	81.36%	82.57%	86.10%	80.61%
	DNSM+HOG+CFS	80.48%	81.50%	84.94%	78.27%
	DNSM+HOG+IG	79.83%	81.77%	85.33%	78.51%
	Orijinal AlexNet	84.87%	83.91%	86.49%	82.25%
	FT <i>fc1-fc7</i> AlexNet	87.50%	86.86%	89.19%	83.65%
	FT <i>fc3-fc7</i> AlexNet	87.06%	83.11%	83.01%	82.01%
	Koh vd. (2002)	67.54%	70.78%	72.97%	67.76%
	Morph2D	69.96%	71.31%	74.90%	68.46%
	Morph3D	-	-	-	83.88%
	Morph3D+CFS	-	-	-	84.81%
	Morph3D+IG	-	-	-	83.88%
	ISOMAP	77.63%	80.16%	80.69%	76.64%
	Laplacian	76.32%	80.97%	82.24%	76.87%
	LLE	77.85%	79.29%	81.08%	76.87%
	LTSA	58.11%	63.00%	62.16%	64.95%
NN	MDS	76.75%	79.36%	80.70%	75.23%
	PCA	78.95%	79.09%	83.78%	76.40%
	DNSM	80.70%	82.04%	84.94%	79.91%
	HOG	84.21%	84.72%	87.26%	83.41%
	DNSM+HOG	85.53%	84.97%	85.33%	83.18%
	DNSM+HOG+CFS	83.55%	86.33%	86.10%	84.35%
	DNSM+HOG+IG	87.06%	87.13%	86.87%	83.65%
	Orijinal AlexNet	87.72%	85.52%	89.58%	86.22%
	FT <i>fc1-fc7</i> AlexNet	86.84%	85.19%	87.26%	82.94%
	FT <i>fc3-fc7</i> AlexNet	86.40%	83.65%	89.19%	84.11%

Tablo 8 – bir önceki sayfanın devamı

Sınıflandırıcı	Öz nitelikler	DataA	DataB	DataC	DataD
SRC	En küçük kareler yöntemi	68.64%	77.21%	78.76%	70.09%
	ℓ_2 -norm yöntemi	69.74%	75.34%	77.99%	70.09%
	ℓ_1 -norm yöntemi	75.44%	80.43%	83.78%	75.23%
Ratio Criteria	Koh vd. (2002)	25.66%	26.27%	19.04%	27.08%
AlexNet	FT $fc1-fc7$ AlexNet	87.50%	86.33%	89.58%	86.45%
	FT $fc3-fc7$ AlexNet	87.72%	86.60%	89.58%	86.45%
NeuronStudio	Rodriguez vd. (2008)	-	60.86%	-	-
	2dSpAn Basu vd. (2016)	-	-	39.38%	-

lamak da bazı durumlarda yüksek doğrulukta sonuçlar üretir. Tablo 8’den çıkarılabilecek bir diğer sonuç ise şekil ve görünüm tabanlı öz nitelikler sinir ağları ile birleştirildiğinde diğer el ile üretilmiş öz niteliklerden daha iyi sonuçlar üretirler. Şekil ve görünümünün istatistiksel temsilleri verildiğinde, KDE tabanlı yöntemin kullandığı olabilirlik oranının sınıflandırma için yeterli bir istatistik olduğu görülmektedir.

Morfolojik öz niteliklerden, 3B morfolojik öz nitelikler (Morph3D) tabanlı yaklaşım en iyi sonucu üretir. Bu, diğer morfolojik öz nitelikler tabanlı yaklaşımı açık ara geçer. NeuronStudio (Rodriguez vd., 2008) yönteminin öz nitelik çıkarımı sırasında 3B bilgiyi de kullandığını göz önüne almak önemlidir. Fakat Morph2D, Koh vd. (2002) ve Basu vd. (2016) morfolojik öz niteliklerini çıkarmak için 2B görüntüleri kullanır. Buradan çıkarılacak sonuç, üçüncü boyutu eklemek sadece Morph3D yönteminin başarımını artırmaz aynı zamanda Morph3D’nin ayırıcı öz nitelikleri sınıflandırma başarımını da artırır.

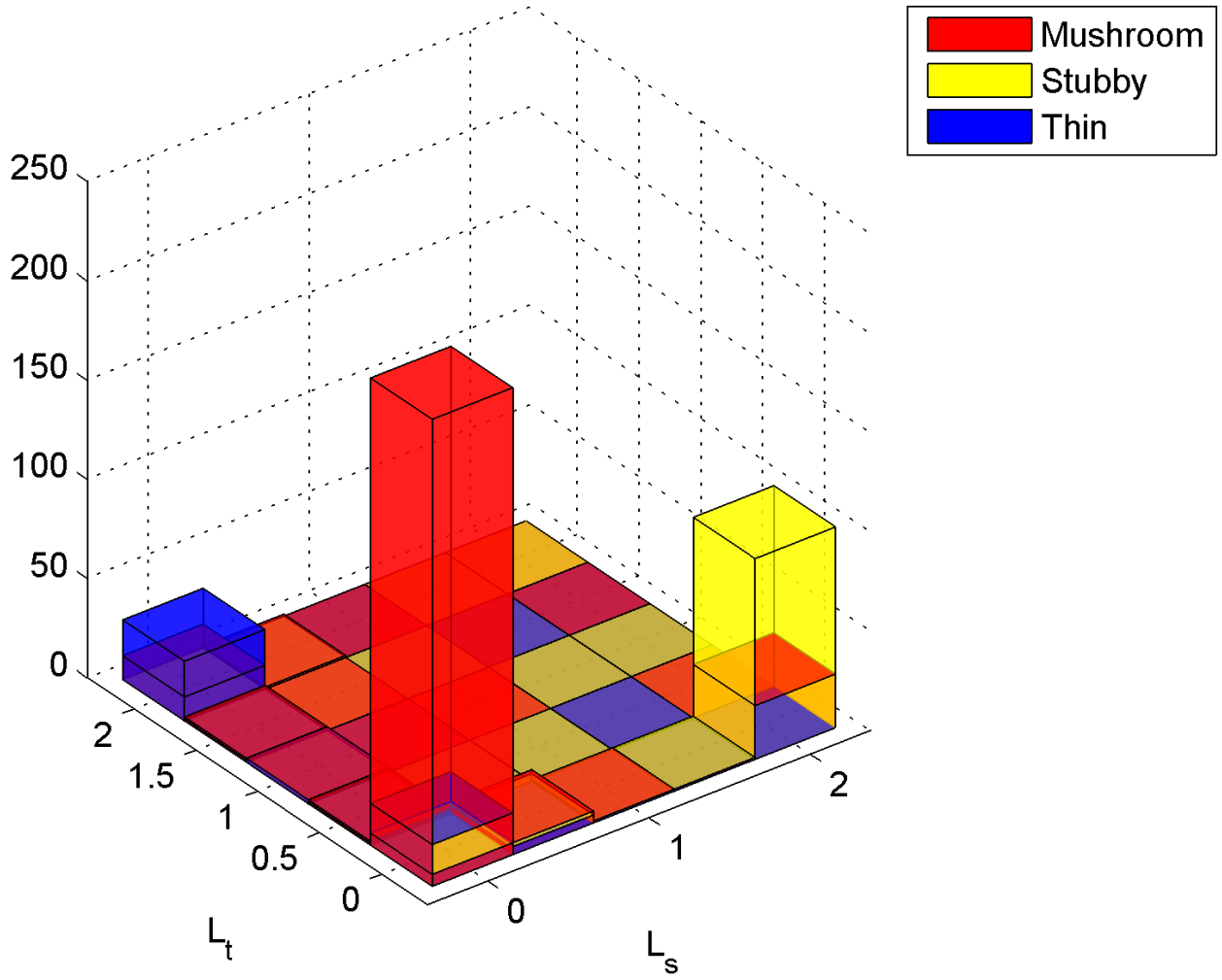
Doğrusal gösterim tabanlı yöntemler arasında ℓ_1 -norm tabanlı yöntem en iyi başarıma sahiptir. Aynı zamanda ℓ_1 -norm tabanlı gösterimde en baskın dikenleri görsel olarak incelediğimizde birbirlerine oldukça yakın olduğunu görmekteyiz. Eğer en baskın dikenlerin sınıf etiketlerini kullanarak sınıflandırma yaparsak DataA veri kümesinde %73.60 doğruluğa ulaşıyoruz ki bu SRC kullanarak yapılan sınıflandırmadan oldukça kötüdür. ℓ_2 -norm tabanlı yöntemler için λ düzenleyici parametresini L -eğrisi yöntemi ile seçtik. Ancak, ℓ_1 -norm ta-

banlı yöntemde yaptığımız gibi düzenleyici parametreyi GI yöntemi ile de seçebiliriz ki bu daha seyrek çözümler seçmeyi amaçlar. GI yöntemi, ℓ_2 -norm tabanlı yöntemin seyreklik amacı olmadığı için uygun olmamasına rağmen, biraz daha iyi sonuçlar üreterek DataA veri kümesinde %72.37 oranında doğru sınıflandırma yapar.

Deneylerden çıkarılabilecek bir diğer sonuç, SVM, KDE ve NN yöntemleri Rodriguez vd. (2008); Koh vd. (2002); Basu vd. (2016) çalışmalarında kullanılan kural tabanlı yöntemleri geçer. Bu yöntemlerin başarımlarının düşük olmasının altında yatan neden, bu yöntemlerin aşırı derecede o veri kümesine özel geliştirilmiş olmalarıdır. Biz bu yöntemlerin, ileri seviye makine öğrenmesi tabanlı sınıflandırma yöntemlerinden daha kötü olduğunu gösterdik.

Tablo 8'deki sonuçlar açıkça göstermektedir ki farklı öz nitelik çıkarım yöntemlerinin başarımları sınıflandırıcıya bağlıdır. Farklı sınıflandırıcılar farklı kriterlere bağlı olduğu için bu beklenen bir sonuçtur. Sınıflandırıcılar öz niteliklere bir yapı dayatmaya çalışırlar; öz nitelik gösterimi öz nitelik uzayını oluşturur, eğer bu dayatılan yapı ile iyi eşleşirse iyi başarıma sahip olurlar. Caruana ve Niculescu-Mizil (2006) farklı sınıflandırma yaklaşımlarıyla deneysel bir değerlendirme yapmışlar ve en iyi sınıflandırıcının bile bazen kötü performans sergilediği ve tam tersinin de doğru olduğu sonucuna varmışlardır. LeCun vd. (1995) de farklı sınıflandırıcılarla çeşitli karşılaştırmalar yapmış ve hata oranının eğitim örnekleri sayısının bir fonksiyonu olduğunu ve bu fonksiyonun farklı sınıflandırıcılar için farklı olduğunu tartışmışlardır. Aynı zamanda bir çok algoritmanın yeterli eğitim verisiyle makul sonuçlar ürettiğini iddia etmişlerdir. Bu çerçevede, her bir öz nitelik çıkarım yöntemini farklı sınıflayıcılarla birleştirerek farklı sınıflandırma başarımları gözlemledik. Ancak, küçük bir veri kümemiz olmasından dolayı, hangi sınıflandırıcının en iyi olduğunu söylemek zordur. Veri kümemiz her bir sınıf için dengeli olmayan sayıda örnek içerir; KDE, SVM ve NN bu problemin üstesinden yeterince makul şekilde gelir. Ancak, SRC algoritması bunu yapmayı başaramaz ve tüm ince dikenleri yanlış sınıflandırır. Genellikle NN SVM'den, SVM'de KDE'den biraz daha iyi sonuçlar üretir. Ancak bu fark, veri kümemizin boyutunu düşündüğümüzde çok büyük değildir. Sonuç olarak, dendritik dikenlerin sınıflandırılabilirliğini farklı sınıflandırıcı ve öz nitelik çıkarıcılar kullanarak test ettik ve bu yöntemlerle makul sınıflandırma sonuçları elde edilebildiği sonucuna vardık.

Olabilirlik Oranı Uzay Analizi



Şekil 42. 2B olabilirlik oranı uzayı DNSM+HOG+InfoGain kullanarak DataA üzerinde elde edilmiştir. Daha iyi görsellik için sıklık grafiği üzerine transparanlık ekledik. Transparanlık sayesinde, farklı şekil örneklerinin farklı renklerin karışımı ile oluşan ızgara üzerinde yayılmasını görebiliriz.

Daha önce bahsettiğimiz gibi, dikenlerin farklı sınıflara mı ait olduğu yoksa şekil değişimlerinin sürekliliği ile modellenenibilip modellenemeyeceği hala açık bir sorudur. KDE tabanlı sınıflandırma yaklaşımımız, bir dikenin mantar (l_m), güdük (l_s), ve ince (l_t) aitliği ile ilgili olabilirliğini verdiği için, bu sorunun prensipli bir şekilde araştırılması için kullanılabilir. Şekil 42’de verildiği gibi olabilirlik oranlarının sıklık grafiğini hesapladık ve bu farklı dorukları mı yoksa şekillerin sürekliliğini mi gördüğümüzü analiz ettik. Sıklık grafiği farklı dorukları açıkça göstermektedir ancak, üç sınıfa ait örnekler ızgara boyunca farklı yerlerde bulunabilir. Burada, farklı diken sınıfları olduğu ancak bunların dağılımında önemli bir keşim oluşu sonucuna varılabilir. Bu yapının istatistiksel olarak anlamlılığını analiz etmek için, Salınımın Çok-Rassal değişkenli Analizi (MANOVA) yöntemini boşluk hipotezi ile tüm sınıf dağılımları için aynı ortalamaya sahip olmak için uyguladık. İki tane bağlı değişkenimiz (\mathcal{L}_s ve \mathcal{L}_t) üç sınıfımız olduğu için, MANOVA istatistiksel anlamlılığı ölçmek için adil bir seçimidir. MANOVA’yı kendi verimize uyguladığımızda boşluk hipotezini $\alpha = 0.05$ anlamlılık seviyesinde reddettiğini bulduk. MANOVA sürekli şekil dağılımlarının varlığını reddeder. Ayrıca, tekil sınıfların ayrılabilirliğini iki örnekli, iki doruklu Kolmogorov-Smirnov testi (Peacock, 1983) iki dağılım için de aynı ortalamanın olduğu boşluk hipotezi ile analiz ettik. Burada, mantar-güdük, mantar-ince ve güdük-ince sınıflarının ayrıklığının analizi için üç farklı test yaptık. Bu testin sonuçları Tablo 9’da verilmektedir. Boşluk hipotezi farklı sınıfların varlığı argümanının desteklediği durumlarda reddedilir. Bu da bize farklı ortalama değerlere sahip farklı sınıflar olduğuna yani veri kümemizde üç farklı sınıf olduğuna işaret eder. Bu kadar düşük p değerleri, analizlerimizin doğruluğunu güçlü bir şekilde destekler.

Eğer bu probleme sınıflandırma problemi olarak bakarsak en iyi başarımlar 2B olabilirlik oran uzayı Şekil 22’deki gibi eşiklenerek sınıflandırma yapıldığında elde edilir. Ancak, sınırlara yakın bölgelerdeki dikenleri sınıflandırmak \mathcal{L}_s ve \mathcal{L}_t değerleri birbirlerine çok yakın oldukları için zorlu bir problemdir. KDE tabanlı yöntemlerimiz bu tarz dikenleri sınıflandırmak için ilkeli bir yaklaşım yapar. Eğer \mathcal{L}_s ve \mathcal{L}_t yeterince farklı değillerse sinirbilimcinin yardımı istenip kararı elle vermesi istenebilir. Benzer analizler 3B dikenlerde de farklı sınıflara ait olabilirlik değerleri çok yakınsa yapılabilir.

4.2.2 Kümeleme Sonuçları

Bu analizlerde kullandığımız veri kümesi 15 farklı dendritten seçilmiş 242 farklı diken içerir. Mantar ve güdük olarak uzman tarafından etiketlenmiş dikenler vardır. HOG tabanlı görünüm

ve yeğnlik profili tabanlı öz nitelikleri yeğnlik görüntülerinden; DNSM şekil ve morfolojik öz nitelikleri ise otomatik olarak bölütlenmiş görüntülerden hesapladık. Tüm durumlarda, küme sayısını BIC ile seçen x-means kümeleme algoritmasını uyguladık. Farklı öz nitelik temsilleri ile oluşturulmuş kümelerin analizi bu bölümde sunulmaktadır.

HOG öznitelikleri tabanlı analiz

HOG tabanlı görünüm temsili ile x-means kümeleme yöntemi 4 küme oluşturdu. Her bir küme için ortalama görüntüler, o kümedeki ikili görüntülerin ortalaması alınarak oluşturuldu (Şekil 43). Küme 1’de 49, küme 2’de 93, küme 3’te 72 ve küme 4’te 28 diken vardır. Ortalama görüntülerden görüldüğü gibi küme 2 ve 3 mantar dikenleri temsil eder. Ancak küme 1 ve 4 ya her iki sınıftan da örnekler içerir ya da bu iki sınıf arasında olması muhtemelen dikenleri içerirler. Şekil 44’teki kümelerdeki örnekleri tek tek incelediğimizde, benzer karakteristik gösterdiklerini görürüz. Yani küçük başlı ve boyunsuzdurlar. Ancak, yeğnlik görüntülerine daha yakın bakıldığında çok kısa boyunları vardır. Bu gözlem, herhangi bir sınıfa kolaylıkla atanabilecek örnekler olduğu kadar uzmanın bile işaretlerken zorlanabileceği çok sayıda örneğin (küme 1 ve 4’te olduğu gibi) olabileceğini göstermektedir. Bu analizler ayrıca mantar sınıfı içinde iki tane alt sınıf olabileceğini gösterir.

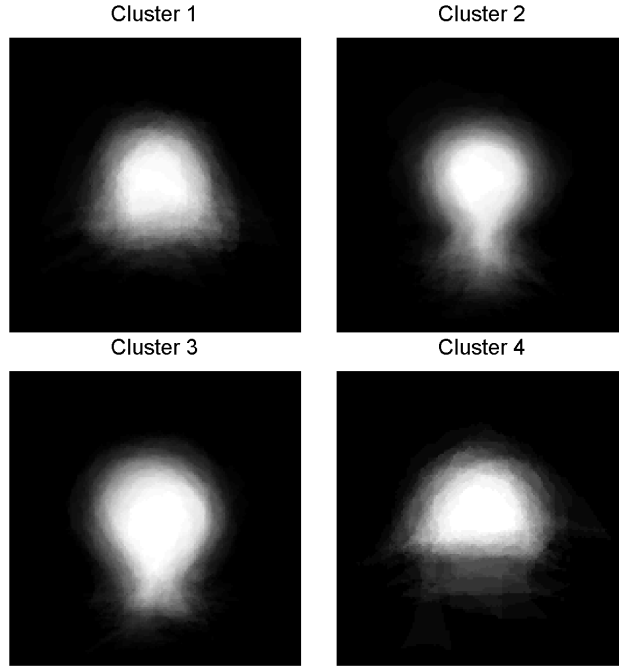
DNSM öz nitelikleri tabanlı analizler

DNSM kullanarak şekil öz niteliklerini hesapladık ve bu temsil üzerinde kümeleme yaptık. Algoritma 32, 48, 50, ve 112 diken içeren 4 sınıf üretti. Bu kümelerin ortalama görüntüleri Şekil 45’te verilmektedir. Mevcut kümelerden gözlemleneceği üzere boyun uzunluğu şu sırayla artmaktadır: küme 1, küme 3, küme 4, küme 2.

Küme 1’deki bir çok diken ya kısa boyuna sahip ya da boyunsuzdur; baş çapının boyun çapına oranı yaklaşık olarak 1’dir. 1 kümesinden bir kaç diken Şekil 46’da verilmiştir. Bu kümenin güdük dikenin karakteristik özelliklerine sahip olduğu kadar farklı baş ve kalın boyuna sahip dikenlere de sahip olduğu görülmektedir. Küme 2, küme 3 ve küme 4 genellikle mantar dikenlerdir. Benzer şekilde küme 2, küme 3 ve küme 4 mantar sınıfı içindeki muhtemel alt sınıfları gösterir.

Morfolojik öz nitelikler tabanlı analiz

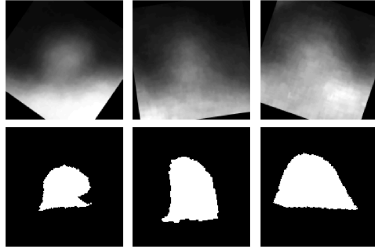
Morfolojik öz niteliklerle yaptığımız kümeleme analizi 102, 64, 64, ve 12 diken içeren 4 küme ortaya çıkardı. Üretilen her bir küme için elde edilen ortalama görüntüler Şekil 47’de ver-



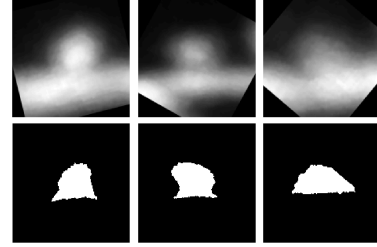
Şekil 43. HOG öz nitelikleri ile elde edilmiş kümelerin ortalama görüntüleri.

ilmiştir. Ortalama görüntülerin incelenmesi ile boyun uzunluğunun şu sırada arttığı görülür: küme 3, küme 4, küme 1, küme 2.

Şekil 47 açıkça göstermektedir ki küme 1 ve 2 mantar sınıflar yoğunluklu sınıflardır. Bir çok diken morfolojik özelliklerine bakılarak mantar olup olmadığı anlaşılabilir. Ancak, küme 3 ve 4 karmaşık örüntüler içermektedir. Bir çok diken kısa ve kalın boyna, küçük başa sahiptir ve en önemlisi baş ve boyun çapları benzerdir. Küme 3 ve 4'te olan bir kaç dikenin yeğinlik görüntüleri ve elle bölütlemeleri Şekil 48'de gösterilmiştir. Bu kümelerin aynı zamanda çok sayıda güdük diken içerdiği de görülmektedir. Bu örüntü diğer temsiller ile elde edilmiş kümelerde de gözlemlenmiştir. Hangi öz niteliklerin kümeleme sürecinde baskın olduğunun analizi sinirbilimciler için önemli olabileceğinden dolayı ilginçtir. Bu çerçevede, bilgi kazancı (Cover ve Thomas, 1991) kullanarak bir ön analiz yaptık ve boyun uzunluğunun en baskın öz nitelik olduğu sonucuna vardık ki bu da ISOMAP tabanlı analizin sonuçlarını doğrulamaktadır. Bu bize bazı dikenlerin standart şekil gruplarına kolaylıkla sınıflandırılmasına rağmen, sınıflandırılması zor veya bu sınıfların arasında bir yerde olabileceğini göstermiştir.



(a) Küme 1



(b) Küme 4

Şekil 44. HOG öz nitelikleri ile küme 1 ve 4 de kümelenmiş dikenlerin yeğinlik (üst) ve karşılık gelen elle işaretlenmiş görüntüleri (alt).

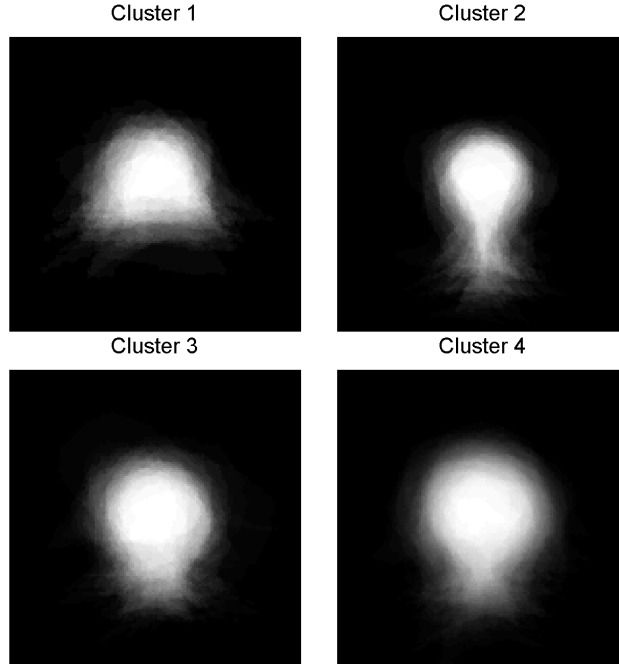
Birleştirilmiş öz nitelikler tabanlı analizler

Şekil ve görünüm birbirini tamamlayıcı öz nitelikler olduğu için, bu iki tipte olan öz nitelikleri birleştirerek kümeleme yapmak sezgiseldir. Her bir sınıftan öz nitelik benzerliği tabanlı yaklaşım kullanarak 100 öz nitelik seçtik. HOG ve DNSM tabanlı öz niteliklerin birleşimleri 30, 78, 22, ve 112 diken içeren 4 küme oluşturur. Bu kümelerin her biri için bulunan ortalama görüntüler Şekil 49'da gösterilmiştir. Küme 2 ve 4'ün benzer olduğu ve mantara benzeyen dikenlere sahip olduğu açıktır. Küme 1 ve 3'teki dikenler, büyük başlı ve küçük boyunlu (veya boyunsuz) oldukları için birbirlerine benzerdirler (Şekil 50). Bu kümelerdeki dikenlere bilinen bir sınıf etiketini atamak zor olabilir. Bu yüzden bu kümeleri karışık veya ara kümeler olarak adlandırıyoruz.

Kümeleme ve uzman karşılaştırması

Farklı temsillerle elde edilmiş kümeleme sonuçlarını sinirbilimi uzmanı tarafından atanmış etiketlerle karşılaştırıyoruz. Bu deneyin arkasındaki fikir aynı sınıfa ait örneklerin aynı kümede gruplanmış olması düşüncesidir.

Diken analizinde iki zorluk vardır: (i) mantar dikenlerin güdük dikenlerden ayrılması, ve (ii) ince dikenlerin filopodya dikenlerden ayrılması. Görüntülerin alındığı hayvanların gelişimsel yaşlarından dolayı veri kümemizde çok az sayıda filopodya tipinde diken bulunmaktadır. Bu yüzden biz ilk probleme odaklanıyoruz. Bu problem için analizleri yapmak, iki-foton görüntülerin çözünürlük limitlerinden dolayı zorlu bir problemdir. Aslında, STED mikroskopi görüntülerindeki mantar olarak rapor edilen bir çok diken güdük dikendir (Tonnesen vd., 2014).

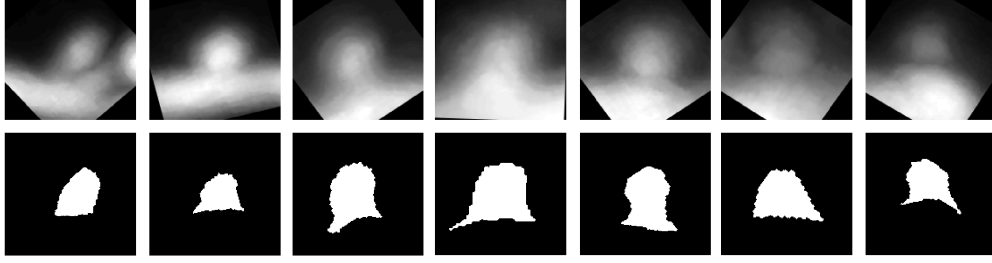


Şekil 45. DNSM öz nitelikleri kullanılarak oluşturulmuş kümelerin ortalama görüntüleri.

Bir uzman 60 güdük 182 mantar olmak üzere 242 dikenini bölütlemiştir. Tablo 10 her bir öz nitelik tipi ile oluşturulmuş her bir kümedeki dikenlerin sınıf aitliklerini göstermektedir. Bazı kümelerde bazı dikenlerin baskın olduğu görünürken, bazı kümeler ise karışıktır ki bu çıkarım önceki bölümlerde detaylı olarak açıklanmıştır.

El ile yapılan işaretlemeler verildiğinde, yaklaşımımızı doğrulayacak bir analiz yapalım. Özellikle, kümeleme sonuçlarımızı uzmanın el ile etiketleme sonuçları ile doğrulayalım. Bu amaçla, kümeleme yöntemimizin her kümeye o kümede en çok bulunan dikenin etiketini attığını varsayalım. Ardından, doğru ve yanlış sınıflandırma sonuçlarını sayalım. Bu yaklaşımı kullanarak, öz nitelik temsillerini değerlendirdik ve HOG öz niteliklerinin mevcut veride en iyi sonuçları (88.02%) ürettiğini gözlemledik. Eğer bu probleme denetimli sınıflandırma problemi olarak yaklaşıydık, HOG öz nitelikleri ve NN kullanarak 88.84% doğruluk elde edecektik. Bunun anlamı, önerdiğimiz kümeleme yöntemi ile makul sınıflandırma sonuçlarının elde edilebileceğidir.

Uzmanın etiketlerine göre, DNSM ile oluşturulmuş küme 2, 3 ve 4 mantar sınıfına karşılık gelir. Küme 1 ise güdük dikenlerin yoğunlukta olduğu bir kümedir. Şekil 46'da gösterilen



Şekil 46. DNSM temsili ile 1 kümesine atanmış bazı dikenlerin yeğlilik (üst) ve karşılık gelen elle bölütlenmiş görüntü (alt).

örnek görüntüler küme 1'deki dikenlerin benzer karakteristiğe sahip oldukları ancak uzmanın bu dikenlerin bazılarını mantar bazılarını ise güdük olarak etiketlediği görülmektedir. Bu analiz diken analizinin zorlu bir problem olduğunu ve uzman etiketlemesinin öznel olduğunu göstermektedir. Benzer gözlemler diğer öz nitelikler ile elde edilmiş kümelemeler için de geçerlidir. Yaptığımız deneysel analizler, geleneksel şekil sınıfları dışında ara sınıfların da olabileceğini göstermiştir. Bu çalışmalar üzerine yapılabilecek bir adım diken dağılımını sürekli bir şekil uzayında karakterize etmektir.

4.3 Dendrit Dikenlerinin Tespiti, Takibi ve Dinamik Bölütlenmesi

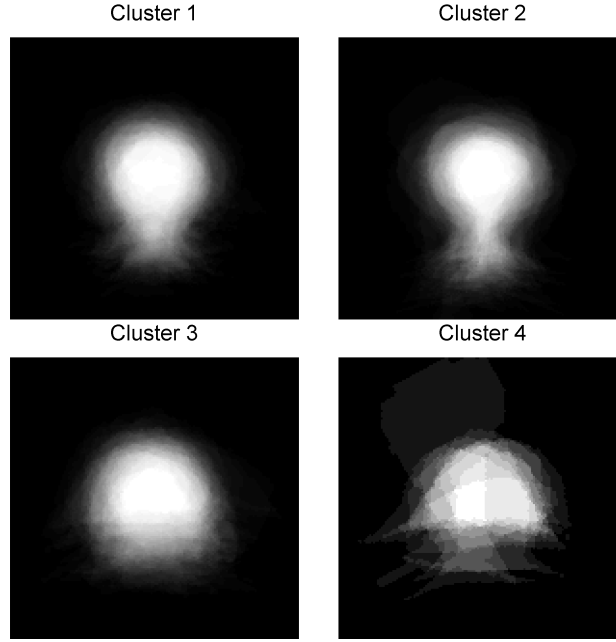
Bu bölümde diken tespiti, takibi ve dinamik bölütlenmesi için geliştirdiğimiz yöntemlerin deneysel sonuçlarını sunuyoruz.

4.3.1 Diken Tespiti Sonuçları

İlk olarak, diken tespiti için önerdiğimiz ilk iki yönteme ait deneysel sonuçları sunacağız. İlk iki yöntemin birleşiminden oluşan üçüncü yöntemin sonuçlarını da ardından vereceğiz.

İlk iki yöntemin karşılaştırılması için 14 farklı veri setinin en yüksek yoğunluk izdüşümü uygulanarak iki boyuta indirgenmiş iki-foton mikroskopi görüntülerini kullandık. Sonuçlarımızı ticari olmayan NeuronIQ (Cheng vd., 2007) (<http://www.cbi-tmhs.org/Neuroniq>) yazılımının sonuçları ile de karşılaştırdık.

Çapı $4(d_0)$ ile $32(d_1)$ piksel arasında değişen dikenlerin tespitini hedeflediğimiz için nokta pekiştirme süzgeçlerinde kullandığımız yumuşatma ölçeklerini tüm deneylerde 1'den 8'e seçtik.

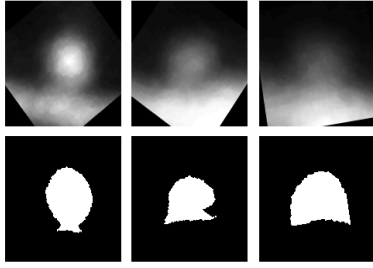


Şekil 47. Morfolojik öz nitelikler kullanılarak elde edilmiş kümelerdeki ortalama görüntüler.

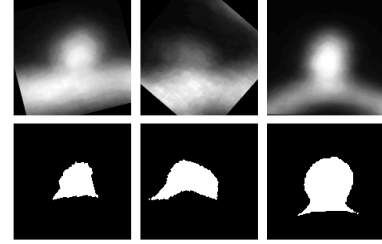
$\mu = 500$, $\lambda = 1$, $\epsilon = 1$ ve $\nu = 100$ parametre değerlerini kullandık. İkinci ve üçüncü yöntemin eğitim kümesi olarak karşılaştırma için kullandığımız 14 veri setinden farklı 2 verinin görüntülerinden faydalandık.

Analiz 1 - İlk iki diken tespit yönteminin ve watershed-değişimli bölütlemenin performansı: Diken tespiti için kullanılan ilk iki yöntemin örnek bir görüntü verisindeki sonuçları sırasıyla Şekil 51 ve Şekil 52’de sunulmuştur. Diken tespit yöntemlerimizin performanslarını nicel olarak belirlemek amacıyla iki farklı uzman tarafından gerçekleştirilmiş elle işaretlemelerin (diken - diken değil kararlarının) ortalamasından yararlandık. Görüntülerdeki gürültü veya bozulmalar nedeniyle uzman kararlarında farklılıklar olabilir. Tablo 11 her veri setindeki uzmanlarca belirlenmiş diken sayısını, her iki yöntem ile elde ettiğimiz gerçek doğru (true positive) ve hatalı doğru (false positive) sayılarını ve yöntemlerin ortalama duyarlılığını gösterir.

Tablo 11 sonuçlarında görüldüğü üzere ikinci yöntemin tespit başarımı daha yüksektir. Ayrıca Yöntem 1’in parametre değerlerinin belirlenmesi gereklidir. Bu nedenle eğitim verisinin olması durumunda diken tespiti için Yöntem 2 tercih edilmelidir. Buna karşılık



(a) Küme 3



(b) Küme 4

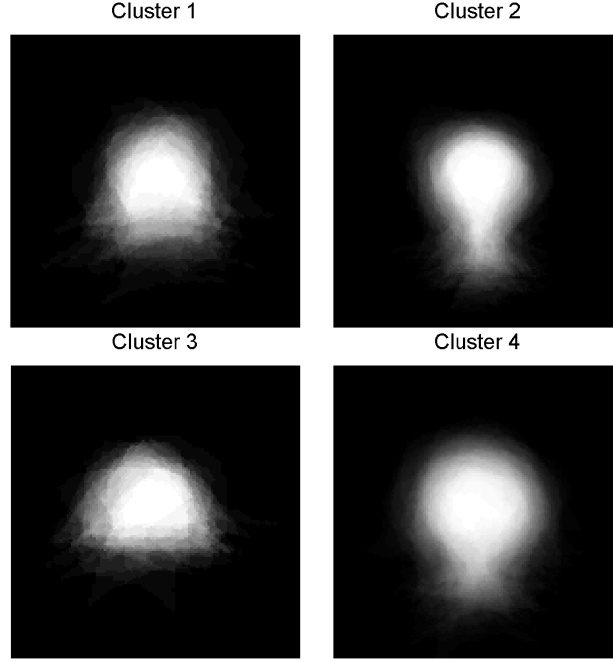
Şekil 48. Morfoloji tabanlı öz nitelikler kullanılarak elde edilmiş küme 3 ve küme 4'te bulunan bazı dikenlere ait yeğinlik (üst) ve elle bölütleme görüntüleri (alt).

eğitim verisinin olmadığı veya hatalı olduğu durumlarda Yöntem 1'in kullanımı önerilir. Örnek olarak eğitim ve test verilerinin farklı görüntüleme modalitelerinden alındığı, yani eğitim kümesinin iki-foton mikroskopi görüntülerinden test kümesinin ise konfokal mikroskop görüntülerinden oluştuğu, bir senaryo kurguladık. Şekil 53'te bu senaryoya ait bir görsel sonucu görmekteyiz. Bu durumda Yöntem 2, dendritin bazı bölgelerini diken olarak belirleyerek ve uzun dendritin çevresindeki bazı dikenleri kaçırarak hata yapmaktadır. Buna karşılık Yöntem 1 dikenlerin çoğunu doğru olarak tespit etmiştir ve hatalı doğru oranı düşüktür. Eğitim verisini de, test verisi gibi, konfokal görüntülerden oluşturmuş olsaydık Yöntem 2'nin başarımının da yüksek olmasını beklerdik.

Watershed-etkileşimli bölütleme yönteminin başarımını değerlendirmek için ilgili sonuçları uzman tarafından sınırları elle işaretlenmiş veri ile Dice ölçütünü (Dice, 1945) kullanarak karşılaştırdık. İki bölütleme sonucu arasındaki örtüşmeden benzerliği hesaplayan Dice kusursuz örtüşme durumunda 1 değerine ulaşır. 36 farklı diken sonucu üzerinden ortalama Dice değeri 0.823 (en düşük 0.574 ve en yüksek 0.968) olarak ölçülmüştür.

Analiz 2 - Üçüncü diken tespit yönteminin başarımı: Nokta pekiştirme süzgeci ve SIFT öznitelikleri ile SVM sınıflayıcıyı birlikte kullanan üçüncü yöntemimizin başarımı 8 farklı veri setinde test edilmiş ve sonuçlar Tablo 12'de özetlenmiştir. Bu ve bir sonraki bölümde sonuçları sunulan tüm deneylerde $\mu = 800$, $\lambda = 1$ ve $\epsilon = 1$ seçilmiştir. Dikenlerin SIFT ve nokta pekiştirme yaklaşımıyla tespiti herhangi bir mudahale olmadan, otomatik olarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 12, $\alpha = 0, 1, 3, 5, 10, 100$ olacak şekilde farklı α değerleri için elde edilen sonuçları

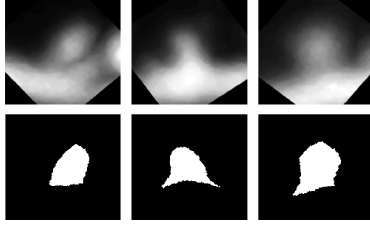


Şekil 49. HOG+DNSM öz nitelikleri kullanarak elde edilen kümelerin ortalama görüntüleri.

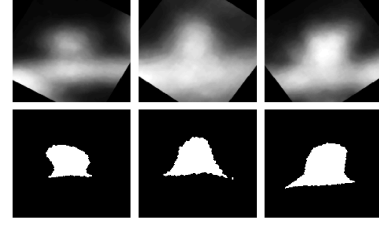
gerçek doğru, hatalı doğru, kesinlik (precision), hassaslık (recall) ve F-ölçütü (F-measure) cinsinden sunar. α sabiti artıçça SIFT kilit nokta sayısı ciddi miktarda artar, yöntemin hesaplama hızı düşer ve özellikle $\alpha > 10$ durumunda hatalı diken tespit miktarı (diken olmayan bölgelerin diken olarak tespit edilmesi, yanlış negatif) artar. Bu sabitin $0 < \alpha \leq 5$ aralığında seçilmesi durumunda diken tespit başarımı yüksektir (görsel bir sonuç için Şekil 54'e bakılabilir).

Yöntemin düşük bir α değeri ile çalıştırılması ve ardından bölütlemenin yeniden koşturulması (diken eşlenmesi, takibi, kayıp dikenlerin yeniden tespiti ve bölütlenmesi) sonuçları ciddi biçimde iyileştirmektedir. Aşağıda sunulan bir dizi deney sonucu bu gözlemi desteklemektedir.

Analiz 3 - NeuronIQ yazılımı ile karşılaştırma: Yöntemlerimizin başarımını The Methodist Research Institute, Center for Bioengineering and Informatics tarafından geliştirilmiş ticari olmayan bir yazılım olan NeuronIQ ile karşılaştırdık. Bu karşılaştırma için öncelikle NeuronIQ web sayfasında paylaşılan görüntülerden yararlandık. Şekil 55'te sunulan görsel sonuçlara göre NeuronIQ daha fazla sayıda diken yakalamış, ancak gerçekte diken



(a) Küme 1



(b) Küme 3

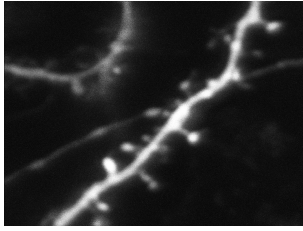
Şekil 50. HOG+DNSM tabanlı öz nitelikler kullanarak elde edilmiş kümelerde bulunan bazı dikenlere ait yeğinlik (üst) ve elle bölütleme görüntüleri (alt).

olmayan çıkıntı ve gürültü bölgelerini de diken olarak belirlemiş ve bazı dikenleri kısmi ya da parçalı bölütlemiştir. Bu hataların temel nedeni NeuronIQ’da (Cheng vd., 2007) çalışmasına benzer şekilde uyarlamalı eşikleme kullanılmasıdır.

Ayrıca NeuronIQ’nun ayarlanması gereken çok sayıda parametresi vardır ve parametre hassasiyeti yüksektir. Parametrelerinin varsayılan değerleri ile kendi web sayfasında paylaşılan görüntülerde yüksek başarıma ulaşmasına rağmen, Şekil 56’da görüldüğü üzere aynı değerler ile bizim verimizdeki başarıma düşük kalmıştır. Özetleyecek olursak önerdiğimiz yöntem NeuronIQ gibi referans yöntemler ile benzer başarıma ulaşmaktadır ve parametre hassasiyeti daha düşüktür.

4.3.2 Diken Takibi Sonuçları

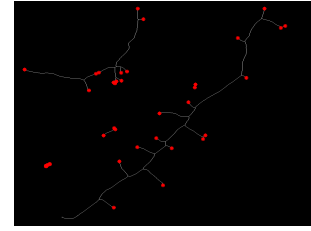
Diken tespit ve takip yöntemlerimizin başarılarını ölçmek için her biri değişik sayıda (en çok 50) zaman noktası içeren 6 farklı görüntü serisi kullandık. Tüm deneylerimizde dikenlerin her zaman noktasındaki tespitini SIFT temelli yaklaşım ile otomatik olarak yaptık. Dikenlerin zaman serisinde eşlenmesi ve etiketlerinin güncellenmesi işlemlerinden sonra her bir dikenin zaman serisinde eş-zamanlı olarak takibini gerçekleştirdik. Şekil 58, Şekil 59, Şekil 60 ve Şekil 61’de kırmızı işaretliler yöntemimiz kullanıldığında farklı zaman noktalarında bölütlemesi iyileşen dikenleri gösterir. Yöntemimiz dendrit ekseninin tespit edilmiş olmasına ihtiyaç duymaz, buna karşılık örneğin Li vd. (2011) yaklaşımı dikenlerin dendrite yakın olması durumunda diken hizalamadaki hatalar ile baş etmek zorundadır. Fan vd. (2009) çalışmasında dendritin yapısal bilgisi bir çizge olarak betimlenir ve dinamik programlama ile bu çizgenin sonsal olasılığı en iyilenir, ancak optimizasyon sürecinde eşleme hataları



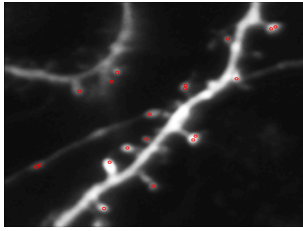
orijinal görüntü



nokta pekiştirme sonucu



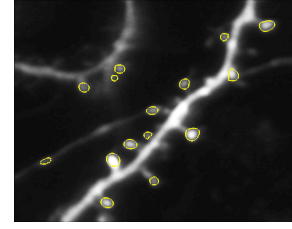
iskelet uç noktaları



diken tespit sonucu



tespit edilmiş dikenlerin watershed bölütlemesi



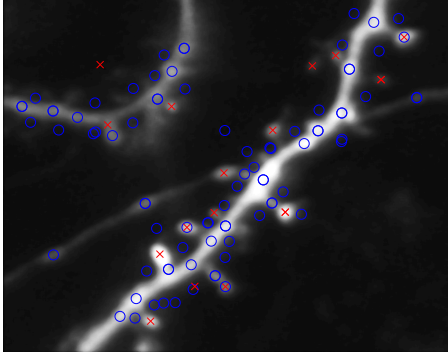
yeniden bölütleme sonucu

Şekil 51. Bir dendrit dikeninin nokta pekiştirme temelli tespiti ve watershed-etkileşimli bölütlenmesi.

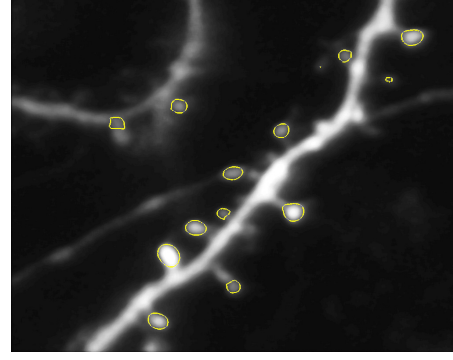
birikerek yöntemin başarımını kötü etkileyebilir.

Şekil 57, takip sonucu kaybolan dikenlerin kısıtlar hafifletilerek yeniden bölütlenmesi sayesinde başarımın önemli ölçüde arttığını diken takip oranı ölçütü aracılığı ile görsel olarak sergiler; Şekil 58, Şekil 59, Şekil 60 ve Şekil 61 ise farklı zaman noktalarına ait yeniden bölütleme sonuçlarını (sınırları kırmızı işaretli olanlar) gösterir.

Diken tespit ve takip yaklaşımlarımızın başarımı: Her biri birçok diken içeren farklı zaman serilerinden uzman tarafından her zaman noktasında elle işaretlenmiş bir referans veri seti oluşturduk. Yöntemimizi bu referans veri seti üzerinde koşturduk ve diken takip oranını diken başına %100'e kadar yükseltmeyi başardık (Şekil 57). Tablo 19, Tablo 17, Tablo 18, Tablo 14, Tablo 15 ve Tablo 16 yöntemimizin her bir veri setindeki başarımını detaylandırmaktadır. Yöntem uygulandığında başarımın, uygulanmadığı duruma göre, artışı özellikle F-ölçütü değerlerinden gözlemlenebilir. Yaptığımız deneylerde gözlemlediğimiz kadarıyla zaman serilerinde görüntüler arasındaki genel kayma ve yerel bozulmaların şiddeti arttıkça yöntemimizin başarımı ve diken tespit ve takibine katkısı artmakta.

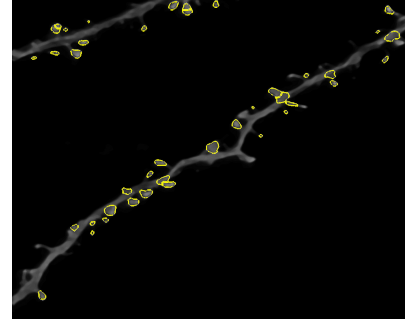
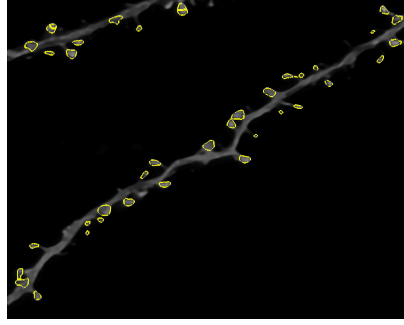


SIFT kilit noktaları



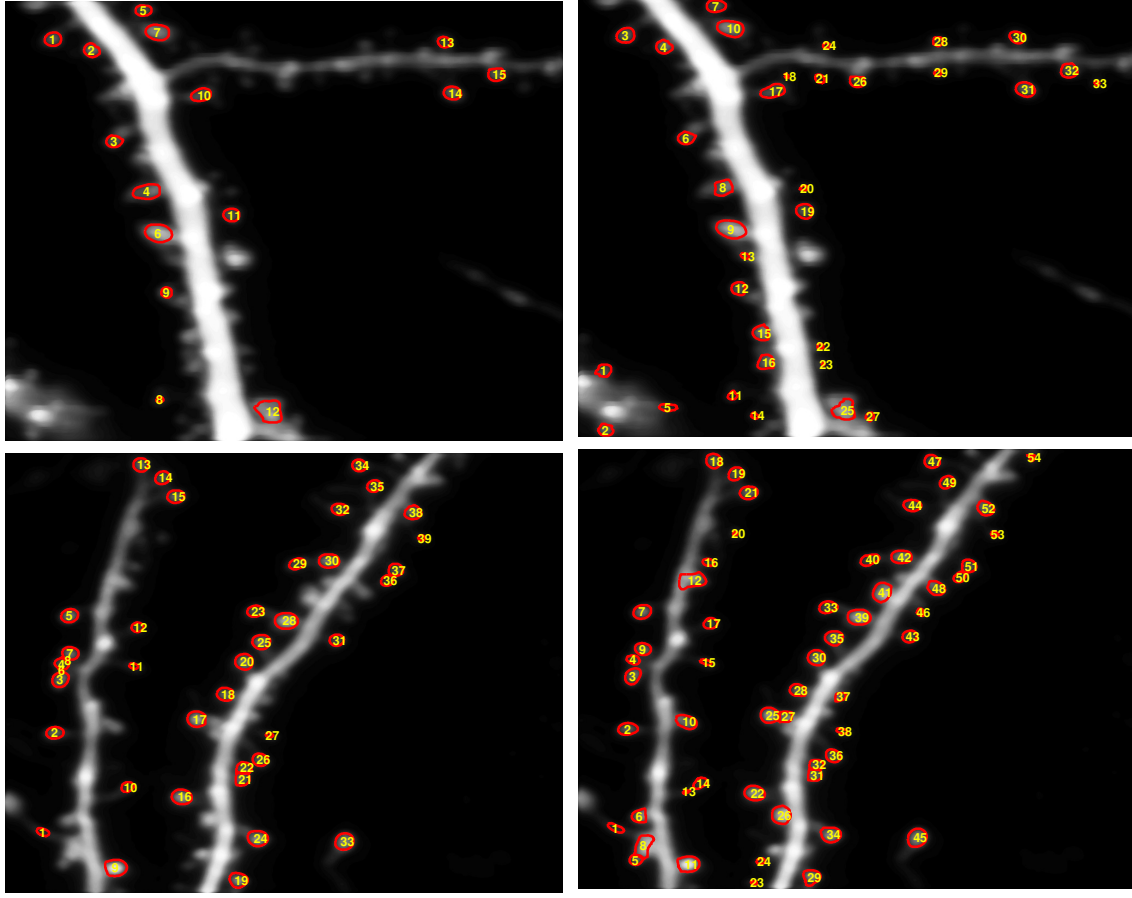
bölütlenmiş dikenler

Şekil 52. Bir dendrit dikeninin SIFT temelli tespiti ardından watershed-etkileşimli bölütlenmesi.



Şekil 53. Bir konfokal mikroskopi görüntüsünde örnek sonuç. Sol: Yöntem 1, nokta pekiştirme temelli diken tespiti ve watershed-etkileşimli bölütleme. Sağ: Yöntem 2, SIFT temelli diken tespiti ve watershed-etkileşimli bölütleme.

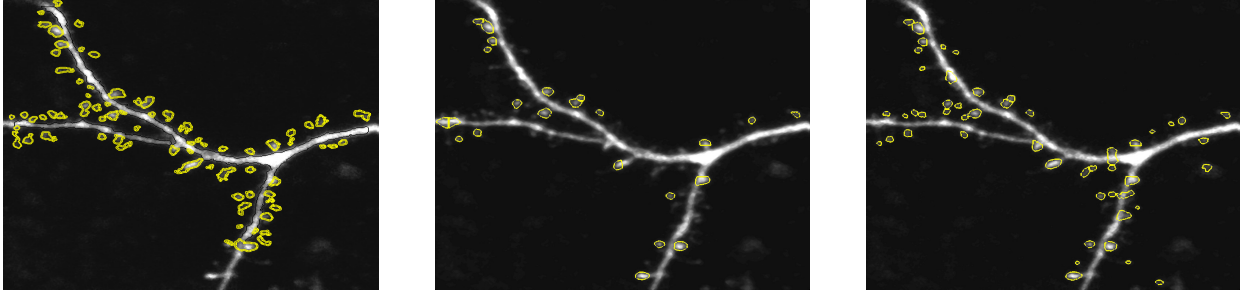
Bildiğimiz kadarıyla önerdiğimiz yöntem tespit ve takip sonuçlarını birbirini besleyecek ve iyileştirecek şekilde birlikte kullanan literatürdeki ilk örnektir. Bu yöntem sayesinde biyolojik olarak kaybolan ve yeniden beliren dikenlerin tespit ve takibini başarıyla gerçekleştirmekle kalmıyor, algoritmalarından kaynaklı tespit ve takip hatalarını da azaltabiliyoruz.



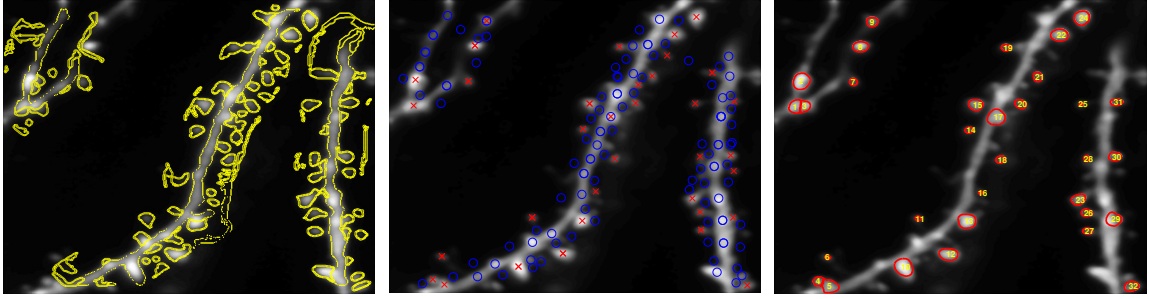
Şekil 54. SIFT temelli yaklaşım olan Yöntem 2 (solda) ile Yöntem 3'ün (nokta pekiştirme ile Yöntem 2'yi birleştiren yaklaşım) diken tespit başarımlarının iki farklı veride görsel karşılaştırılması. $\alpha = 3$ seçilmiştir.

Deneyler sırasında karşılaştığımız farklı problemleri ve çözüm önerilerimizi aşağıda listeledik:

- Bir diken baştan itibaren uzun süre tespit edilememiş olabilir. Bu durumda yöntemimiz dikenin ilk kez tespit edildiği andaki bilgiden faydalanır. Eğer veri setinin zaman nokta sayısı yüksek ve ardışık görüntüler arasındaki genel ve yerel kayma fazla ise ilkendirme (initialization) daha önce tespit edilmemiş bir komşu dikenini kapsayıp hatalı sonuç doğurabilir. Nadir görülen bu gibi durumları önlemek amacıyla görüntü çakıştırmayı iyileştirmeyi ve diken tespitini şekil önsel bilgisinden faydalanarak gerçek-



Şekil 55. NeuronIQ web sayfasından alınan görüntüde varysayılan parametre değerleri ile NeuronIQ kullanılarak (sol), nokta pekiştirme ve watershed bölütleme kullanılarak (orta), SIFT ve watershed bölütleme kullanılarak elde edilen sonuçlar.



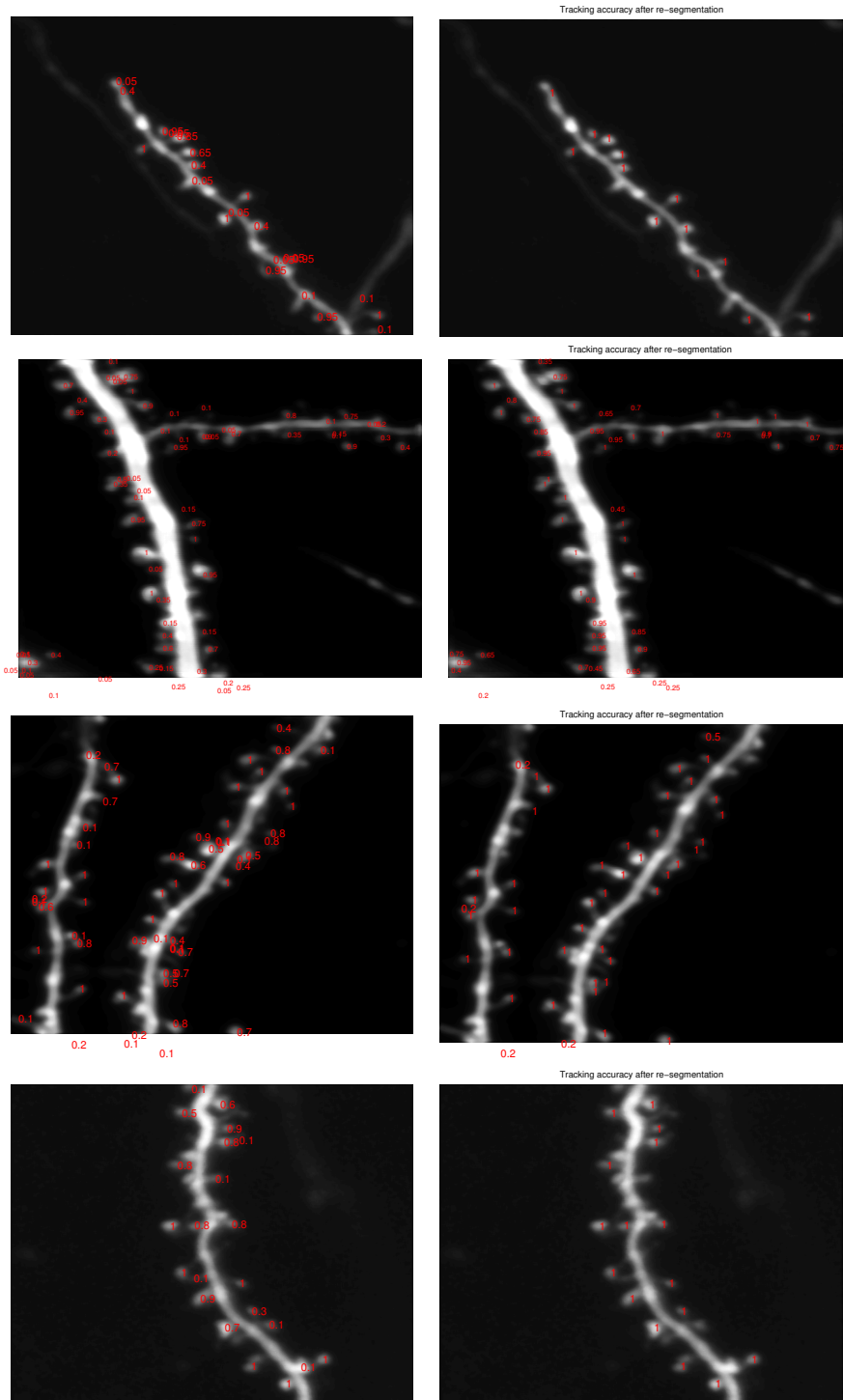
Şekil 56. NeuronIQ'nun (sol) başarısız, SIFT temelli yöntemimizin ise başarılı olduğu bir görsel sonuç. Yöntemimiz SIFT özneliklerini kullanarak SVM sınıflayıcı ile diken tespiti yapar (orta görsel. kırmızı yıldızlar dikenleri mavi daireler diken olmayanları gösterir) ve tespit edilen dikenlerin bölütlenmesini gerçekleştirir (sağ).

leştirmeyi hedefleyen çalışmalar yapmaktadı.

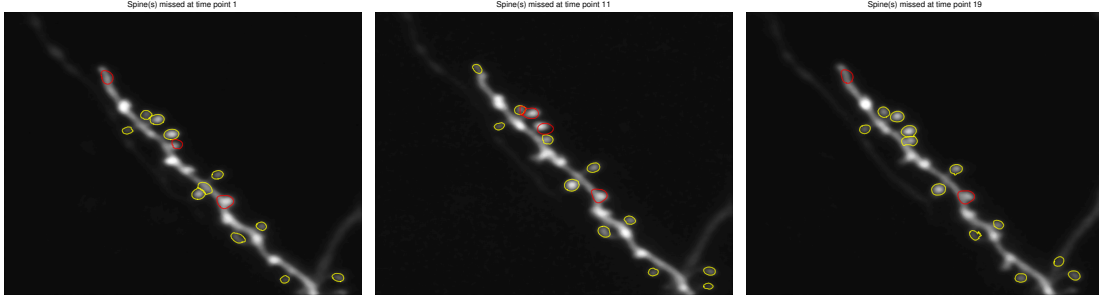
- Diken görüntü sınırlarının dışına çıkıp daha sonra tekrar içine girebilir. Bu durumda yöntemimiz dikenin görüntü sınırı dışında kaldığı zaman noktalarını dikkate almaz.
- Bir ilgi alanında diken olması gerekir iken watershed-etkileşimli bölütleme ile diken bulanamaz ise bölütleme kısıtları hafifletilerek otomatik olarak yeniden koşturulur.

4.3.3 Dinamik Bölütleme Sonuçları

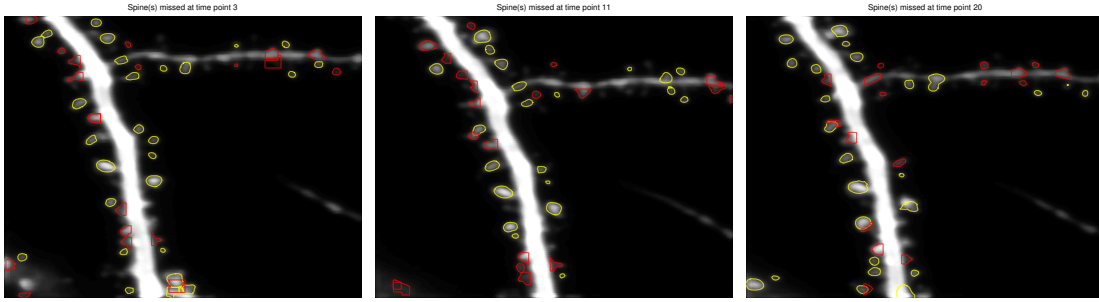
Bu bölümde geliştirdiğimiz dinamik bölütleme yaklaşımlarının dendritik diken veri kümesinde elde ettiğimiz deneysel sonuçlarımızı sunuyoruz. Dendritik diken veri kümesi Şekil 62'de



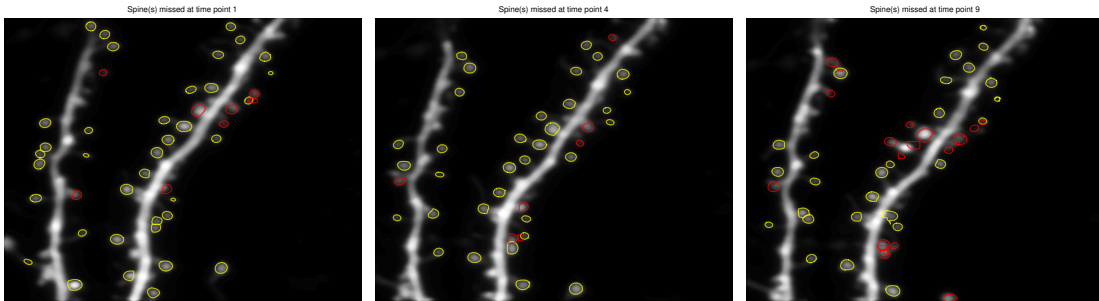
Şekil 57. Orijinal (sol) ve yeniden bölütleme yaklaşımlarımız ile ilk dört zaman serisinde elde edilen takip başarımı. Rakamlar her dikenin takip oranını belirtir.



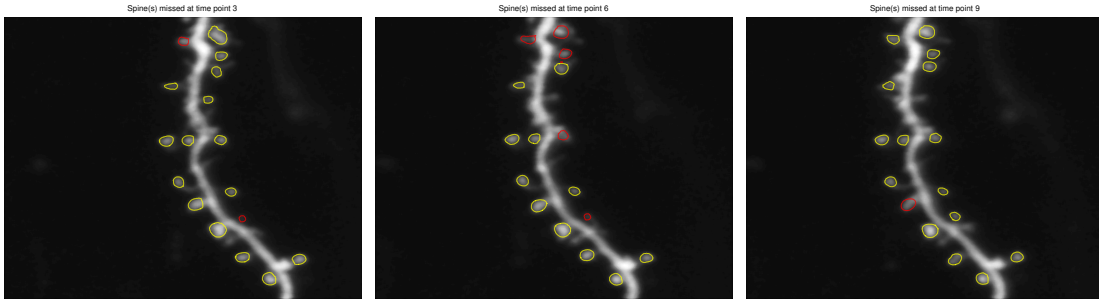
Şekil 58. Birinci zaman serisinin farklı anlarına ait takip bilgisinden faydalanılarak yeniden tespit edilip bölütlenmiş dikenler (sınırları kırmızı işaretli olanlar).



Şekil 59. İkinci zaman serisinin farklı anlarına ait takip bilgisinden faydalanılarak yeniden tespit edilip bölütlenmiş dikenler (sınırları kırmızı işaretli olanlar).

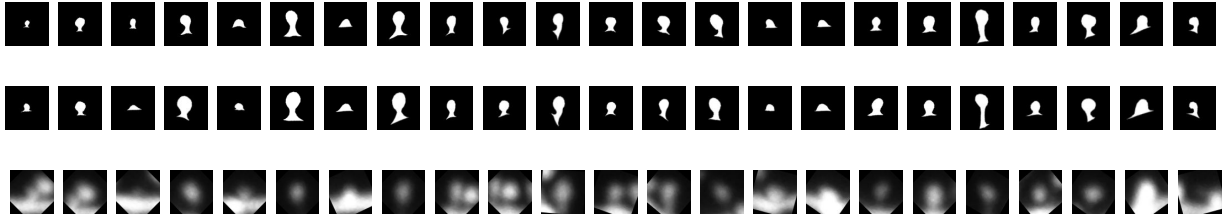


Şekil 60. Üçüncü zaman serisinin farklı anlarına ait takip bilgisinden faydalanılarak yeniden tespit edilip bölütlenmiş dikenler (sınırları kırmızı işaretli olanlar).



Şekil 61. Dördüncü zaman serisinin farklı anlarına ait takip bilgisinden faydalanılarak yeniden tespit edilip bölütlenmiş dikenler (sınırları kırmızı işaretli olanlar).

görüldüğü üzere 23 dikenin ardışık zaman noktalarındaki görüntülerinden ve uzman tarafından gerçekleştirilmiş elle bölütlemelerinden oluşmaktadır. Deneyleri bir dikenin yeğinlik görüntüsünü test için kalan 22'sinin ardışık zamanlardaki elle bölütlemelerini ise eğitimde kullanacak şekilde “birini dışarıda bırak” (leave one out) yaklaşımı ile gerçekleştirdik.



Şekil 62. Dendritik diken veri kümesi. İlk satır: ilk zaman noktasına ait elle bölütlemeler, ikinci satır: ikinci zaman noktasına ait elle bölütlemeler, üçüncü satır: ikinci zaman noktasına ait yeğinlik görüntüleri.

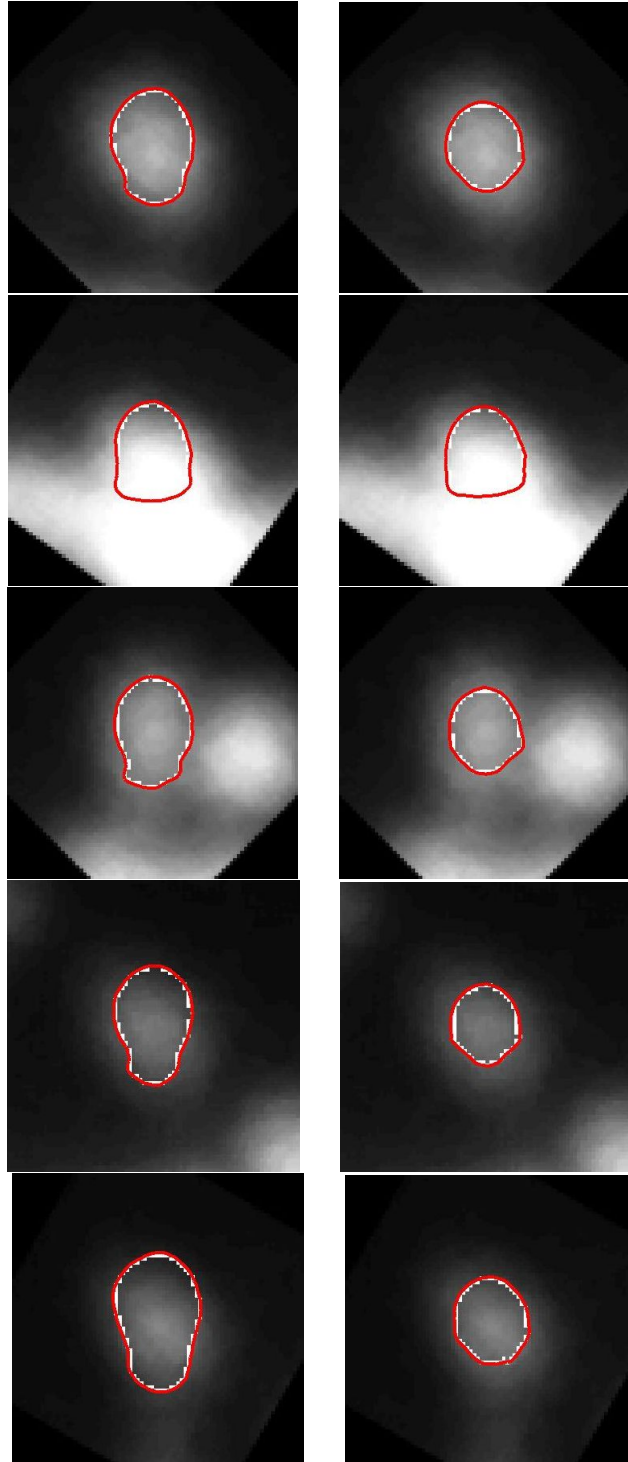
Önerdiğimiz iki yöntemin performans karşılaştırmasını, ilk zaman noktasına ait şekil önsel bilgisinden hiç faydalanmayan Kim vd. (2007a) yaklaşımı ile gerçekleştirdik. Yöntemlerin performanslarını ilgili bölütleme sonuçları ile uzmanın elle bölütlemelerini Dice ölçütü (Dice, 1945) kullanarak karşılaştırmak suretiyle elde ettik. Dice ölçütü X ve Y sonuç kümeleri arasındaki benzerliği aşağıdaki gibi ölçer ve iki kümenin mükemmel uyumu durumunda 1'i verecek şekilde 0–1 arasında bir değer sunar. Çalışmamızda X ve Y uzmanın elle işaretlemesi

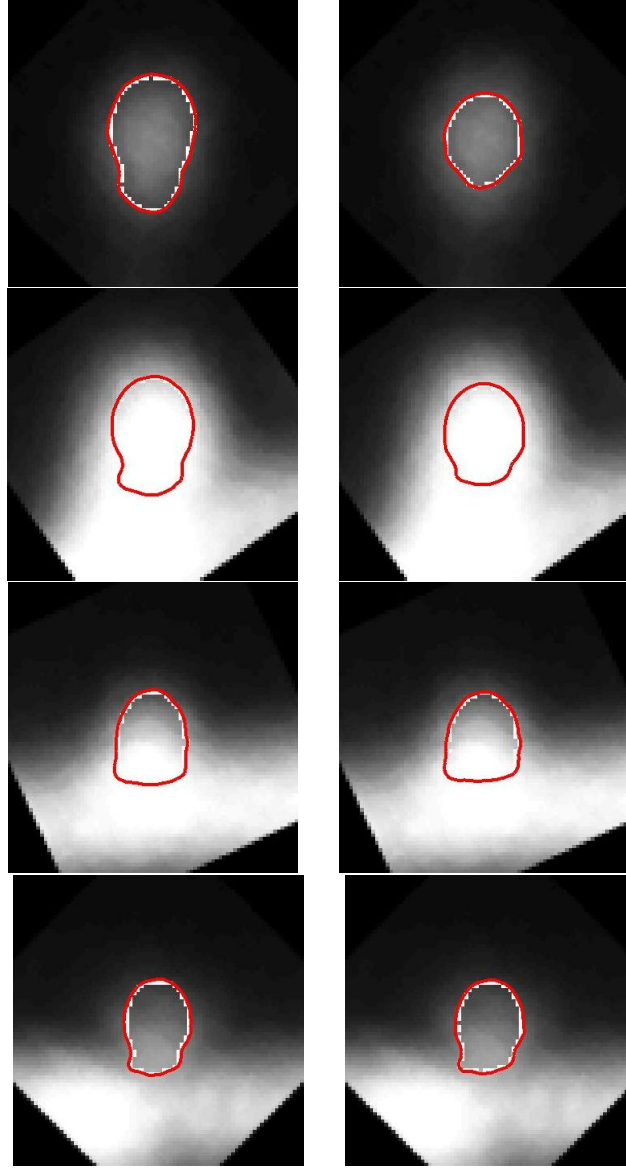
ve geliştirilen bölütleme yöntemi ile elde edilen ikili bölütleme sonuçlarını gösterir.

$$D(X, Y) = \frac{2|X \cap Y|}{|X| + |Y|}. \quad (66)$$

Tablo 20’de sunulan nicel sonuçlardan görüldüğü üzere önerdiğimiz yöntem önceki zaman noktasına ait bölütlemeyi bağlaşıklık şekil önsel bilgisi olarak kullanarak daha yüksek bölütleme başarımına ulaşmıştır. Ayrıca sonsal dağılımın parçacık süzgeci ile temsili yaklaşımının da Dice sonuçlarının iyileştirdiğini ve en iyi performansı sağladığını görmekteyiz.

Önerdiğimiz yöntem ve Kim vd. (2007a) yaklaşımı ile elde edilen görsel bölütleme sonuçlarını Şekil 63’de sunuyoruz. Bu görsel sonuçlar da göstermektedir ki önerilen yöntem Kim vd. (2007a) yaklaşımına göre diken sınırlarını daha doğru yakalamaktadır.





Şekil 63. Görsel bölütleme sonuçları. Birinci sütun önerilen yöntem ile, ikinci sütun ise Kim vd. (2007a) ile elde edilmiştir.

Tablo 6. Dice ölçütü sonuçları.

	Chan-Vese	Kim v.d.	Önerilen Yöntem	Önerilen Yöntem (Versiyon 2)
Diken 1	0.020916	0.535026	0.658485	0.550822
Diken 2	0.148983	0.31866	0.655288	0.709027
Diken 3	0.019747	0.275231	0.710179	0.749675
Diken 4	0.047727	0.481265	0.620734	0.460686
Diken 5	0.104125	0.394094	0.736411	0.711837
Diken 6	0.116973	0.450361	0.732946	0.7389
Diken 7	0.178582	0.412329	0.696465	0.69244
Diken 8	0.026595	0.389454	0.824537	0.799623
Diken 9	0.402561	0.470907	0.547344	0.578944
Diken 10	0.259594	0.642664	0.708342	0.777179
Diken 11	0.184076	0.497458	0.787214	0.843228
Diken 12	0.040082	0.545226	0.670834	0.668005
Diken 13	0.048384	0.311109	0.535367	0.465421
Diken 14	0.160905	0.377038	0.596792	0.516961
Diken 15	0.002927	0.358215	0.570696	0.564611
Diken 16	0.043354	0.323705	0.639683	0.60133
Diken 17	0.122233	0.540312	0.646573	0.651999
Diken 18	0.020566	0.42498	0.706243	0.69809
Diken 19	0.005336	0.408206	0.708127	0.69085
Diken 20	0.002969	0.372641	0.648895	0.648707
Diken 21	0.084809	0.442755	0.512158	0.5109
Diken 22	0.026636	0.581062	0.621469	0.621294
Diken 23	0.023973	0.388088	0.683558	0.694705
Diken 24	0.008008	0.330411	0.546458	0.534489
Diken 25	0.251788	0.533504	0.749328	0.75997
Diken 26	0.05853	0.303475	0.564637	0.559806
Diken 27	0.050253	0.468506	0.647892	0.624284
Diken 28	0.152822	0.385963	0.792946	0.828581
Diken 29	0.058648	0.467499	0.728093	0.728997
Diken 30	0.295918	0.529085	0.819505	0.810496
Ortalama	0.098934	0.431974	0.668906633	0.659729

Tablo 7. Dendritik dikenleri sınıflandırılması için oran kriteri.

L/d_n	d_h/d_n		
	[0,1.3)	[1.3,3)	[3,∞)
[0,2/3)	Güçük	Mantar	Mantar
[2/3,2)	Güçük	Güçük	Güçük
[2,3)	Güçük	Mantar	Mantar
[3,5)	Zayıf	Mantar	Mantar
[5,∞)	Zayıf	Zayıf	Zayıf

Tablo 9. Farklı sınıfların ayrılması için iki örnek iki boyutlu Kolmogorov-Smirnov Two-sample testi sonuçları. Boşluk hipotezini farklı dağılımlar aynı ortalamaya sahip olacak şekilde aldık ki bu her durumda reddedilmiştir. Bu sonuç farklı şekil sınıflarının varlığını destekler.

Test	p	Red/Kabul
Mantar vs. Güçük	1.49×10^{-43}	Rejected
Mantar vs. İnce	3.05×10^{-19}	Rejected
Güçük vs. İnce	1.54×10^{-25}	Rejected

Tablo 10. Kümeleme sonuçları ve uzman etiketlerinin karşılaştırılması.

Öz nitelik	Acc.	Sınıf	Küme			
			1	2	3	4
DNSM	79.34%	m	11	48	38	85
		s	21	0	12	27
Morfoloji	81.82%	m	88	64	26	4
		s	14	0	38	8
HOG	88.02%	m	15	91	68	8
		s	34	2	4	20
HOG+DNSM	79.34%	m	15	76	6	85
		s	15	2	16	27

Tablo 11. İlk iki diken tespit yönteminin başarımı. TP: gerçek doğru, FP: hatalı doğru.

	uzmanın işaretlediği ortalama diken sayısı	Yöntem 1		Yöntem 2	
		TP	FP	TP	FP
Veri 1	13	12	2	11	1
Veri 2	14	10	3	10	1
Veri 3	18	14	2	14	1
Veri 4	30	22	5	23	2
Veri 5	22	9	2	17	1
Veri 6	13	12	3	9	2
Veri 7	22	12	3	14	3
Veri 8	21	8	2	14	1
Veri 9	40	27	3	36	4
Veri10	37	25	2	30	2
Veri 11	41	27	3	34	10
Veri 12	36	31	4	32	12
Veri 13	24	14	0	13	1
Veri 14	12	9	5	10	5
Ortalama duyarlık		0.8421		0.8665	

Tablo 12. Yöntem 3'ün farklı α değerleri için diken tespit başarımı.

Veri	uzmanın işaretlediği ortalama diken sayısı	$\alpha = 100$					$\alpha = 10$					$\alpha = 5$				
		TP	FP	Kesinlik	Hassashk	F-ölçütü	TP	FP	Kesinlik	Hassashk	F-ölçütü	TP	FP	Kesinlik	Hassashk	F-ölçütü
1	45	29	15	0.66	0.65	0.65	38	23	0.62	0.84	0.72	34	9	0.80	0.75	0.77
2	24	19	74	0.21	0.79	0.33	22	8	0.73	0.92	0.82	22	6	0.79	0.92	0.85
3	65	38	48	0.44	0.59	0.51	43	12	0.78	0.67	0.72	48	6	0.89	0.74	0.81
4	20	11	88	0.11	0.55	0.19	15	20	0.43	0.75	0.55	14	9	0.61	0.68	0.64
5	32	20	53	0.27	0.64	0.38	23	4	0.85	0.73	0.79	24	1	0.96	0.76	0.85
6	33	14	8	0.64	0.42	0.51	18	5	0.78	0.55	0.64	18	3	0.86	0.55	0.67
7	59	32	35	0.48	0.54	0.51	37	10	0.79	0.63	0.70	35	1	0.99	0.59	0.73
8	17	10	17	0.37	0.59	0.46	11	5	0.70	0.62	0.66	11	2	0.85	0.65	0.73
Ortalama	36.75	21.63	42.25	0.40	0.60	0.44	25.81	10.81	0.71	0.71	0.70	25.56	4.44	0.84	0.70	0.76
Veri	uzmanın işaretlediği ortalama diken sayısı	$\alpha = 3$					$\alpha = 1$					$\alpha = 0$				
		TP	FP	Kesinlik	Hassashk	F-ölçütü	TP	FP	Kesinlik	Hassashk	F-ölçütü	TP	FP	Kesinlik	Hassashk	F-ölçütü
1	45	30	3	0.91	0.67	0.77	20.5	2.5	0.89	0.46	0.60	14.5	0.5	0.97	0.32	0.48
2	24	19	2.5	0.88	0.77	0.82	16	2	0.89	0.67	0.76	16	4	0.80	0.67	0.73
3	65	48	6.5	0.88	0.74	0.80	40	4	0.91	0.62	0.74	32	7	0.82	0.50	0.62
4	20	15	5.5	0.73	0.73	0.73	13	4	0.76	0.65	0.70	9	3	0.75	0.45	0.56
5	32	22	0.5	0.98	0.68	0.81	18	1	0.95	0.57	0.71	15	1	0.94	0.48	0.63
6	33	20	5	0.8	0.61	0.69	19	1	0.95	0.58	0.72	18	1	0.95	0.55	0.69
7	59	34	0.5	0.99	0.57	0.72	32	0	1	0.54	0.70	33	0	1	0.56	0.72
8	17	11	2	0.85	0.65	0.73	13	2	0.87	0.76	0.81	11	1	0.92	0.65	0.76
Ortalama	36.75	24.56	3.19	0.88	0.68	0.76	21.44	2.06	0.90	0.61	0.72	18.56	2.19	0.89	0.52	0.65

Tablo 13. Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin birinci veri setindeki başarımı.

Zaman noktası	Uzmanın işaretlediği diken sayısı	yeniden tespit <i>öncesi</i>					yeniden tespit <i>sonrası</i>				
		TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü	TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü
Time 1	19	10	1	0.91	0.53	0.67	12	2	0.86	0.63	0.73
Time 2	18	11	0	1	0.61	0.76	12	1	0.92	0.67	0.77
Time 3	18	10	1	0.91	0.56	0.69	12	1	0.92	0.67	0.77
Time 4	17	11	0	1	0.65	0.79	12	1	0.92	0.71	0.80
Time 5	19	12	1	0.92	0.63	0.75	13	0	1	0.68	0.81
Time 6	20	11	0	1	0.55	0.71	13	0	1	0.65	0.79
Time 7	18	10	0	1	0.56	0.71	13	1	0.93	0.72	0.81
Time 8	18	10	1	0.91	0.56	0.69	12	1	0.92	0.66	0.77
Time 9	18	11	1	0.92	0.61	0.73	13	1	0.93	0.72	0.81
Time 10	18	12	0	1	0.67	0.80	13	0	1	0.72	0.84
Ortalama	18.30	10.80	10.50	0.96	0.59	0.75	17.50	2.70	0.87	0.73	0.79

Tablo 14. Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin ikinci veri setindeki başarımı.

Zaman noktası	Uzmanın işaretlediği diken sayısı	yeniden tespit <i>öncesi</i>					yeniden tespit <i>sonrası</i>				
		TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü	TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü
Time 1	24	18	0	1	0.75	0.86	21	0	1	0.88	0.93
Time 2	22	15	1	0.94	0.68	0.79	15	2	0.88	0.68	0.77
Time 3	23	15	2	0.88	0.65	0.75	17	3	0.85	0.74	0.79
Time 4	24	15	2	0.88	0.63	0.73	16	3	0.84	0.67	0.74
Time 5	25	15	2	0.88	0.60	0.71	16	3	0.84	0.64	0.73
Time 6	24	15	2	0.88	0.63	0.73	20	3	0.87	0.83	0.85
Time 7	26	19	3	0.86	0.73	0.79	20	4	0.83	0.77	0.80
Time 8	24	14	1	0.93	0.58	0.72	16	3	0.84	0.67	0.74
Time 9	24	18	3	0.86	0.75	0.80	18	3	0.86	0.75	0.80
Time 10	25	12	3	0.80	0.48	0.60	16	3	0.84	0.64	0.73
Ortalama	24	15.60	1.90	0.89	0.65	0.75	17.50	2.70	0.87	0.73	0.79

Tablo 15. Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin üçüncü veri setindeki başarımı.

Zaman noktası	Uzmanın işaretlediği diken sayısı	yeniden tespit <i>öncesi</i>					yeniden tespit <i>sonrası</i>				
		TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü	TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü
Time 1	54	41	2	0.95	0.76	0.85	49	4	0.93	0.91	0.92
Time 2	56	46	2	0.96	0.82	0.89	52	5	0.91	0.93	0.92
Time 3	55	44	1	0.98	0.80	0.88	52	4	0.93	0.95	0.94
Time 4	52	41	1	0.98	0.79	0.87	49	2	0.96	0.94	0.95
Time 5	51	42	2	0.95	0.82	0.88	50	4	0.93	0.98	0.95
Time 6	52	40	2	0.95	0.77	0.85	48	5	0.91	0.92	0.91
Time 7	56	43	2	0.95	0.77	0.85	49	4	0.93	0.88	0.90
Time 8	52	43	1	0.98	0.83	0.90	49	4	0.93	0.94	0.93
Time 9	51	37	0	1	0.73	0.84	47	4	0.92	0.92	0.92
Time 10	54	33	0	1	0.61	0.76	49	3	0.94	0.91	0.93
Ortalama	53.3	41	1.30	0.97	0.77	0.86	49.40	3.90	0.93	0.93	0.93

Tablo 16. Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin dördüncü veri setindeki başarımı.

Zaman noktası	Uzmanın işaretlediği diken sayısı	yeniden tespit <i>öncesi</i>					yeniden tespit <i>sonrası</i>				
		TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü	TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü
Time 1	30	20	2	0.91	0.67	0.77	23	3	0.89	0.77	0.82
Time 2	27	16	0	1	0.59	0.74	23	1	0.96	0.85	0.90
Time 3	25	18	0	1	0.72	0.84	23	2	0.92	0.92	0.92
Time 4	29	18	0	1	0.62	0.77	23	2	0.92	0.79	0.85
Time 5	29	18	3	0.86	0.62	0.72	25	4	0.86	0.86	0.86
Time 6	29	21	0	1	0.72	0.84	25	1	0.96	0.86	0.91
Time 7	28	17	2	0.90	0.61	0.72	24	3	0.89	0.86	0.87
Time 8	27	18	1	0.95	0.67	0.78	26	2	0.93	0.96	0.95
Time 9	26	14	1	0.93	0.54	0.68	20	4	0.83	0.77	0.80
Time 10	24	18	3	0.86	0.75	0.80	23	4	0.85	0.95	0.90
Ortalama	27.40	17.80	1.20	0.94	0.65	0.77	23.50	2.60	0.90	0.86	0.88

Tablo 17. Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin beşinci veri setindeki başarımı.

Zaman noktası	Uzmanın işaretlediği diken sayısı	yeniden tespit <i>öncesi</i>					yeniden tespit <i>sonrası</i>				
		TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü	TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü
Time 1	53	38	2	0.95	0.72	0.82	45	3	0.94	0.85	0.89
Time 2	56	38	1	0.97	0.68	0.80	41	1	0.98	0.73	0.84
Time 3	57	35	1	0.97	0.61	0.75	40	3	0.93	0.70	0.80
Time 4	54	33	1	0.97	0.61	0.75	39	2	0.95	0.72	0.82
Time 5	57	37	1	0.97	0.65	0.78	42	3	0.93	0.74	0.82
Time 6	54	32	0	1	0.59	0.74	39	3	0.93	0.72	0.81
Time 7	55	37	1	0.97	0.67	0.80	39	1	0.98	0.71	0.82
Time 8	55	33	1	0.97	0.60	0.74	38	2	0.95	0.69	0.80
Time 9	55	27	0	1	0.49	0.66	39	3	0.93	0.71	0.80
Time 10	53	27	0	1	0.51	0.68	33	6	0.85	0.62	0.72
Ortalama	54.90	33.70	0.80	0.98	0.61	0.75	39.50	2.70	0.94	0.72	0.81

Tablo 18. Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin altıncı veri setindeki başarımı.

Zaman noktası	Uzmanın işaretlediği diken sayısı	yeniden tespit <i>öncesi</i>					yeniden tespit <i>sonrası</i>				
		TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü	TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü
Time 1	27	15	0	1	0.56	0.71	19	4	0.81	0.70	0.76
Time 2	30	15	0	1	0.50	0.67	20	1	0.95	0.67	0.78
Time 3	27	16	0	1	0.59		0.7420	2	0.91	0.74	0.82
Time 4	27	17	0	1	0.63	0.77	19	2	0.91	0.70	0.79
Time 5	26	17	0	1	0.65	0.79	19	1	0.95	0.73	0.83
Time 6	24	12	0	1	0.50	0.67	17	1	0.94	0.71	0.81
Time 7	24	14	0	1	0.58	0.74	21	1	0.96	0.88	0.91
Time 8	23	14	1	0.93	0.61	0.74	19	2	0.91	0.83	0.86
Time 9	26	15	0	1	0.58	0.73	22	1	0.96	0.85	0.90
Time 10	28	13	0	1	0.46	0.63	20	2	0.91	0.72	0.80
Time 11	29	11	0	1	0.38	0.55	20	2	0.91	0.69	0.78
Time 12	26	15	0	1	0.58	0.73	19	3	0.86	0.73	0.79
Time 13	23	13	0	1	0.57	0.72	19	2	0.91	0.83	0.86
Time 14	26	17	0	1	0.65	0.79	21	1	0.96	0.81	0.88
Time 15	25	17	0	1	0.68	0.81	20	2	0.91	0.80	0.85
Ortalama	26.06	14.73	0.06	1	0.57	0.72	19.67	1.80	0.92	0.76	0.83

Tablo 19. Takip bilgisinden faydalanarak yeniden tespit gerçekleştiren yöntemimizin yedinci veri setindeki başarımı.

Zaman noktası	Uzmanın işaretlediği diken sayısı	yeniden tespit <i>öncesi</i>					yeniden tespit <i>sonrası</i>				
		TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü	TP	FP	Kesinlik	Hassaslık	F-ölçütü
Time 1	45	22	5	0.82	0.49	0.61	35	3	0.88	0.78	0.82
Time 2	47	28	3	0.90	0.60	0.72	40	7	0.85	0.85	0.85
Time 3	45	22	3	0.88	0.61	0.63	37	7	0.84	0.82	0.83
Time 4	46	27	0	1	0.49	0.74	39	6	0.87	0.85	0.86
Time 5	43	25	0	1	0.59	0.74	40	4	0.91	0.93	0.92
Time 6	45	21	1	0.96	0.58	0.63	40	3	0.93	0.89	0.91
Time 7	47	23	0	1	0.47	0.66	38	4	0.91	0.81	0.85
Time 8	40	23	0	1	0.49	0.73	38	5	0.88	0.95	0.92
Time 9	45	21	0	1	0.58	0.64	36	4	0.90	0.80	0.85
Time 10	43	24	1	0.96	0.47	0.71	37	4	0.90	0.86	0.88
Time 11	48	20	1	0.95	0.56	0.58	37	3	0.93	0.77	0.84
Time 12	41	24	1	0.96	0.42	0.73	37	4	0.90	0.90	0.90
Time 13	48	24	2	0.92	0.59	0.649	37	5	0.88	0.77	0.82
Time 14	43	24	0	1	0.56	0.72	32	4	0.89	0.74	0.81
Time 15	45	19	1	0.95	0.42	0.59	35	6	0.85	0.78	0.81
Time 16	44	21	1	0.83	0.48	0.64	40	5	0.89	0.91	0.90
Time 17	45	19	4	0.96	0.42	0.56	34	8	0.81	0.76	0.78
Time 18	44	25	1	0.97	0.57	0.71	38	4	0.91	0.86	0.88
Time 19	44	24	1	0.96	0.55	0.70	36	5	0.88	0.82	0.85
Time 20	43	23	2	0.92	0.54	0.68	37	5	0.88	0.86	0.87
Ortalama	44.55	22.95	1.35	0.95	0.52	0.67	37.15	4.90	0.88	0.84	0.86

Tablo 20. Dinamik bölütleme yöntemlerinin Dice ölçütü ile elde edilen sonuçları.

	Önerilen yöntem	İlk çalışma	Kim vd. (2007a)
Spine 1	0.6386	0.6379	0.7373
Spine 2	0.7520	0.7470	0.9143
Spine 3	0.6343	0.6366	0.5223
Spine 4	0.7847	0.6727	0.6506
Spine 5	0.6627	0.6655	0.8281
Spine 6	0.7937	0.6673	0.8487
Spine 7	0.6689	0.6906	0.9317
Spine 8	0.7905	0.6789	0.8028
Spine 9	0.7488	0.6414	0.9439
Spine 10	0.7414	0.6643	0.8012
Spine 11	0.7536	0.6693	0.8669
Spine 12	0.7299	0.6435	0.8731
Spine 13	0.7703	0.6753	0.8189
Spine 14	0.7523	0.5977	0.7143
Spine 15	0.6872	0.7057	0.8076
Spine 16	0.6908	0.7145	0.9002
Spine 17	0.6965	0.5955	0.7323
Spine 18	0.8041	0.7352	0.9252
Spine 19	0.8079	0.6626	0.8497
Spine 20	0.7230	0.6473	0.8633
Spine 21	0.7963	0.6566	0.9360
Spine 22	0.7903	0.7696	0.8853
Spine 23	0.7162	0.6700	0.8730
Ortalama	0.8272	0.7362	0.6715

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu projede iki-foton mikroskopi verilerinde dendrit dikenlerinin analizi için olasılık ve makine öğrenmesi temelli yeni görüntü işleme yöntemleri geliştirilmiştir.

Projemiz başarıyla tamamlanmış ve sonuçlar hem uluslararası hem de ulusal platformlarda sunulmuştur. Projede yaptığımız çalışmalardan ve işbirliklerimizden 1 doktora tezi, 2 yüksek lisans tezi, 3 dergi makalesi, 9 uluslararası bildiri ve 6 ulusal bildiri yayımlanmıştır. Ayrıca 1 dergi makalesi değerlendirme ve 5 dergi makalesi de yazım aşamasındadır.

Projede yapılan yayınlarımız aşağıdaki listede verilmiştir.

1. “Nonparametric Joint Shape and Feature Priors for Image Segmentation”, Ertunc Erdil, Muhammad Usman Ghani, Lavdie Rada, Ali Özgür Argunsah, Devrim Unay, Tolga Tasdizen, Müjdat Çetin, IEEE Transactions on Image Processing, DOI: 10.1109/TIP.2017.2728185, 2017 (yayım aşamasında).
2. “Disjunctive Normal Parametric Level Set With Application to Image Segmentation”, Fitsum Mesadi, Müjdat Çetin, and Tolga Taşdizen, IEEE Transactions on Image Processing, 26(6): 2618-2631, 2017.
3. “Shape and appearance features based dendritic spine classification”, Muhammad Usman Ghani, Fitsum Mesadi, Sumeyra Demir Kanik, Ali Özgür Argunsah, Anna Felicity Hobbiss, Inbal Israely, Devrim Unay, Tolga Tasdizen, and Müjdat Çetin, Journal of Neuroscience Methods, 279: 13-21, 2017.
4. “Coupled Shape Priors for Dynamic Segmentation of Dendritic Spines”, Naeimeh Atabaki, Ertunc Erdil, A. Ozgur Argunsah, Lavdie Rada, Devrim Unay, and Müjdat Çetin, IEEE International Conference on Signal Processing, Communications Applications, 2017, Antalya (Türkçe).
5. “3D Dendritic Spine Segmentation Using Nonparametric Shape Priors”, Erdem Bocuoz, Ertunc Erdil, Ali Özgür Argunsah, Devrim Unay, and Müjdat Çetin, IEEE International Conference on Signal Processing, Communications Applications, 2017, Antalya (Türkçe).

6. “Disjunctive Normal Shape Boltzmann Machine”, Ertunc Erdil, Fitsum Mesadi, Tolga Tasdizen, and Müjdat Çetin, IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing, 2017, New Orleans.
7. “Disjunctive Normal Level Set: An Efficient Parametric Implicit Method”, Fitsum Mesadi, Müjdat Çetin, and Tolga Taşdizen, IEEE International Conference on Image Processing, 2016.
8. “Dendritic Spine Shape Analysis: A Clustering Perspective”, Muhammad Usman Ghani, Ertunç Erdil, Sümeyra Demir Kanık, Ali Özgür Argunşah, Anna Felicity Hobbiss, Inbal Israely, Devrim Ünay, Tolga Taşdizen, Müjdat Çetin, BioImage Computing Workshop of European Conference on Computer Vision (ECCV), 2016, Amsterdam.
9. “Nonparametric Joint Shape and Feature Priors for Segmentation of Dendritic Spines”, Ertunç Erdil, Lavdie Rada, Ali Özgür Argunşah, Inbal Israely, Devrim Ünay, Tolga Taşdizen, Müjdat Çetin, IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro (ISBI), 2016, Prague.
10. “On Comparison of Manifold Learning Techniques for Dendritic Spine Classification”, Muhammad Usman Ghani, Ali Özgür Argunşah, Inbal Israely, Devrim Ünay, Tolga Taşdizen, Müjdat Çetin, IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro (ISBI), 2016, Prague.
11. “Dendritic Spine Shape Analysis using Disjunctive Normal Shape Models”, Muhammad Usman Ghani, Fitsum Mesadi, Sümeyra Demir Kanık, Ali Özgür Argunşah, Inbal Israely, Devrim Ünay, Tolga Taşdizen, Müjdat Çetin, IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro (ISBI), 2016, Prague.
12. “Dendritic spine classification based on two-photon microscopic images using sparse representation”, Muhammad Usman Ghani, Sümeyra Demir Kanık, Ali Özgür Argunşah, Inbal Israely, Devrim Ünay, Müjdat Çetin, IEEE 24th International Conference on Signal Processing, Communications Applications, 2016, Zonguldak.
13. “Disjunctive Normal Shape and Appearance Priors with Applications to Image Segmentation”, Fitsum Mesadi, Müjdat Çetin, and Tolga Taşdizen, International Conference on Medical Image Computing and Computer Assisted Interventions, 2015.

14. “Dendritic Spine Shape Classification from Two-Photon Microscopy Images”, Muhammad Usman Ghani, Sümeysra Demir Kanık, Ali Özgür Argunşah, Tolga Taşdizen, Devrim Ünay, Müjdat Çetin, IEEE 23st International Conference on Signal Processing, Communications Applications, 2015, Malatya.
15. “Automated Dendritic Spine Tracking on 2-Photon Microscopic Images”, Bike Kılıç, Lavdie Rada, Ertunç Erdil, A. Özgür Argunşah, Müjdat Çetin, Devrim Ünay, IEEE 23st International Conference on Signal Processing, Communications Applications, 2015, Malatya (Türkçe).
16. “A Joint Classification and Segmentation Approach for Dendritic Spine Segmentation in 2-Photon Microscopy Images”, Ertunç Erdil, A. Özgür Argunşah, Tolga Taşdizen, Devrim Ünay, Müjdat Çetin, IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro (ISBI), 2015, New York.
17. “Automatic Dendritic Spine Detection Using Multiscale Dot Enhancement Filter and SIFT Features”, Lavdie Rada, Ertunç Erdil, A. Özgür Argunşah, Devrim Ünay, Müjdat Çetin, IEEE International Conference on Image Processing (ICIP), 2014, Paris.
18. “SpineS: An Automatic Tool for Finding Volume Changes of Dendritic Spines in Time in 2-Photon Microscopy Images”, Ertunç Erdil, A. Özgür Argunşah, Devrim Ünay, Müjdat Çetin, 12th National Neuroscience Congress, 2014, İstanbul (Türkçe).

Elde edilen sonuçların ışığında bu projenin aşağıda listelenmiş konularda açılımlar sağlaması beklenmektedir:

- Dikenlerin üç boyutlu bölütlenmesinde referans olarak kullanılacak elle işaretleme oldukça zor ve zaman alıcı bir işlemdir. Bu nedenle bu projede sınırlı sayıda işaretleme gerçekleştirilebilmiştir. Projenin bir açılımı da üç boyutta elle işaretlenmiş diken sayısını çoğaltarak, projede geliştirilmiş bölütleme yöntemlerinin başarımını daha geniş bir veri kümesinde test etmek ve yöntemlerin iyileştirilmesine yönelik çalışmalar yapmak olabilir.
- Literatürde genel olarak dikenler mantar, güdük, ince ve filopodya olmak üzere dört sınıfa ayrılır. Makine öğrenmesi tabanlı sınıflama yöntemlerinin başarımlarının yük-

sek olması için her sınıftan yeterli sayıda örnek olmalıdır. Projemizde çok sayıda veri toplamış olmamıza rağmen, özellikle ince ve filopodya sınıflarına ait örnek bulmakta zorlandık. Dolayısıyla bu sınıflara ait örneklerle genişletilmiş bir diken şekil veri kümesi oluşturmak ve geliştirilen sınıflama yöntemlerinin başarımının bu veri kümesinde ölçmek gereklidir.

- Dikenlerin boyutlarının küçük olması, şekillerindeki doğal değişimler, görüntüleme tekniğine özgü sorunlar nedenleriyle iki-foton mikroskopi zaman serilerinde diken takibi zor bir problemdir. Bu problem için geliştirilen yöntemlerin başarımının - özellikle kaybolan, beliren ve yeniden beliren dikenlerin tespit edilmesi noktasında -ölçülmesi için daha geniş veri kümeleri oluşturulabilir.
- Projede geliştirilen analiz yöntemleri kullanıcı dostu grafik arayüzlü bir yazılım aracında birleştirilmiştir. Bu yazılım aracının dünyanın farklı noktalarındaki laboratuvarlarda çalışan sinirbilim araştırmacıları tarafından kullanılmasının sağlanması, başarımının ölçülmesi ve kullanıcı geri-dönüşleri ile geliştirilmesi gereklidir.
- İki-foton mikroskopi verisinin doğası gereği düşük olan sinyal-gürültü oranını iyileştirmek diken analizi için geliştirilen yöntemlerin başarımını olumlu etkileyecektir. Bu amaçla projede ters-evrişim temelli iyileştirme ön çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmaların detaylandırılması ve genişletilmesi literatüre önemli katkı sağlayabilir.
- Bu projede geliştirilen görüntü işleme yöntemleri dikenlerin yapısal değişimlerinin analizine yöneliktir. Dikenlerde yapısal değişimin yanısıra işlevsel (functional) değişimler de görülmektedir. Dolayısıyla bu projenin çıktılarından yararlanarak dikenlerin yapısal ve işlevsel değişimlerini birlikte incelemeyi amaçlayan yeni bir araştırma projesi tasarlanabilir.

6. KAYNAKLAR

- Amadiou, O., Debreuve, E., Barlaud, M., Aubert, G. 1999. “Inward and outward curve evolution using level set method”. In *Image Processing, 1999. ICIP 99. Proceedings. 1999 International Conference on*, volume 3, 188–192. IEEE.
- Arellano, J. I., Benavides-Piccione, R., DeFelipe, J., Yuste, R. 2007. “Ultrastructure of dendritic spines: correlation between synaptic and spine morphologies”. *Frontiers in neuroscience*, 1(1).
- Arvind, G., Inbal, I., Shu-Ying, H., Susumu, T. 2011. “The dendritic branch is the preferred integrative unit for protein synthesis-dependent ltp”. *Neuron*, 69(1), 132–146.
- Atherton, T. Kerbyson, D. 1999. “Size invariant circle detection.”. *Image and Vision Computing*, 17(11), 795–803.
- Bai, W., Zhou, X., Ji, L., Cheng, J., Wong, S. T. 2007. “Automatic dendritic spine analysis in two-photon laser scanning microscopy images”. *Cytometry Part A*, 71(10), 818–826.
- Basu, S., Plewczynski, D., Saha, S., Roszkowska, M., Magnowska, M., Baczynska, E., Wlodarczyk, J. 2016. “2dspan: semiautomated 2-d segmentation, classification and analysis of hippocampal dendritic spine plasticity”. *Bioinformatics*, 32(16), 2490–2498.
- Bear, M. F., Huber, K. M., Warren, S. T. 2004. “The mglur theory of fragile x mental retardation”. *Trends in Neurosciences*, 27(7), 370–377.
- Belkin, M. Niyogi, P. 2002. “Laplacian eigenmaps for dimensionality reduction and data representation”. *Neural Computation*, 15, 1373–1396.
- Böcügöz, E., Erdil, E., Argunsah, A. Ö., Ünay, D., Çetin, M. 2017. “3b dendritik dikenlerin parametrik olmayan sekil ön bilgisi kullanılarak bölütlenmesi 3d dendritic spine segmentation using nonparametric shape priors”. In *Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU)*. IEEE.
- Bourne, J. Harris, K. M. 2007. “Do thin spines learn to be mushroom spines that remember?”. *Current opinion in neurobiology*, 17(3), 381–386.

- Bresson, X., Vandergheynst, P., Thiran, J.-P. 2006. “A variational model for object segmentation using boundary information and shape prior driven by the mumford-shah functional”. *International Journal of Computer Vision*, 68(2), 145–162.
- Burden, R. L., Faires, J. D., Burden, A. M. 2015. *Numerical Analysis*. Cengage Learning, 10 edition.
- Butcher, J. C. 1987. *The Numerical Analysis of Ordinary Differential Equations: Runge-Kutta and General Linear Methods*. Wiley-Interscience, New York, NY, USA.
- Caruana, R. Niculescu-Mizil, A. 2006. “An empirical comparison of supervised learning algorithms”. In *Proceedings of the 23rd international conference on Machine learning*, 161–168. ACM.
- Chan, T. F. Vese, L. A. 2001. “Active contours without edges”. *IEEE Transactions on image processing*, 10(2), 266–277.
- Chang, F. Greenough, W. T. 1984. “Transient and enduring morphological correlates of synaptic activity and efficacy change in the rat hippocampal slice”. *Brain Res.*, 309, 35–46.
- Chen, S. Radke, R. J. 2009. “Level set segmentation with both shape and intensity priors”. In *International Conference on Computer Vision*, 763–770. IEEE.
- Cheng, J., Zhou, X., Miller, E., Witt, R. M., Zhu, J., Sabatini, B. L., Wong, S. T. C. 2007. “A novel computational approach for automatic dendrite spines detection in two-photon laser scan microscopy”. *Journal of Neuroscience Methods*, 165, 122–134.
- Cheng, J., Zhou, X., Miller, E. L., Alvarez, V. A., Sabatini, B. L., Wong, S. T. 2010. “Oriented markov random field based dendritic spine segmentation for fluorescence microscopy images”. *Neuroinformatics*, 8(3), 157–170.
- Codella, N., Cai, J., Abedini, M., Garnavi, R., Halpern, A., Smith, J. R. 2015. “Deep learning, sparse coding, and svm for melanoma recognition in dermoscopy images”. In *International Workshop on Machine Learning in Medical Imaging*, 118–126. Springer.

- Cootes, T. F., Edwards, G. J., Taylor, C. J. 2001. "Active appearance models". IEEE Transactions on Pattern Analysis & Machine Intelligence, (6), 681–685.
- Cootes, T. F. Taylor, C. J. 1999. "A mixture model for representing shape variation". Image and Vision Computing, 17(8), 567–573.
- Cootes, T. F., Taylor, C. J., Cooper, D. H., Graham, J. 1995. "Active shape models-their training and application". Computer Vision and Image Understanding, 61(1), 38–59.
- Coupé, P., Munz, M., Manjón, J. V., Ruthazer, E. S., Collins, D. L. 2012. "A candle for a deeper in vivo insight". Med Image Anal, 16(4), 849–64.
- Cover, T. M. Thomas, J. A. 1991. Elements of Information Theory. Wiley.
- Cox, T. F. Cox, M. 2000. Multidimensional Scaling, Second Edition. Chapman and Hall/CRC, 2 edition.
- Cremers, D., Osher, S. J., Soatto, S. 2006. "Kernel density estimation and intrinsic alignment for shape priors in level set segmentation". International Journal of Computer Vision, 69(3), 335–351.
- Cremers, D., Rousson, M., Deriche, R. 2007. "A review of statistical approaches to level set segmentation: integrating color, texture, motion and shape". International journal of computer vision, 72(2), 195–215.
- Dambreville, S., Rathi, Y., Tannenbaum, A. 2008. "A framework for image segmentation using shape models and kernel space shape priors". IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence, 30(8), 1385–1399.
- de Bruijne, M., van Ginneken, B., Viergever, M. A., Niessen, W. J. 2003. "Adapting active shape models for 3d segmentation of tubular structures in medical images". In Information Processing in Medical Imaging, 136–147. Springer.
- Dempster, A. P., Laird, N. M., Rubin, D. B. 1977. "Maximum likelihood from incomplete data via the em algorithm". Journal of the royal statistical society, Series B (methodological), 1–38.

- Dice, L. R. 1945. “Measures of the amount of ecologic association between species”. *Ecology*, 26(3), 297–302.
- Donahue, J., Jia, Y., Vinyals, O., Hoffman, J., Zhang, N., Tzeng, E., Darrell, T. 2014. “Decaf: A deep convolutional activation feature for generic visual recognition.”. In *ICML*, 647–655.
- Erdil, E., Argunsah, A. O., Tasdizen, T., Unay, D., Cetin, M. 2015. “A joint classification and segmentation approach for dendritic spine segmentation in 2-photon microscopy images”. In *Biomedical Imaging (ISBI), 2015 IEEE 12th International Symposium on*, 797–800. IEEE.
- Erdil, E., Argunşah, A. Ö., Ünay, D., Çetin, M. 2013. “A watershed and active contours based method for dendritic spine segmentation in 2-photon microscopy images”. In *Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU), 2013 21st*, 1–4. IEEE.
- Erdil, E., Mesadi, F., Tasdizen, T., Cetin, M. 2017. “Disjunctive normal shape boltzmann machine”.
- Erdil, E., Rada, L., Argunsah, A. O., Israely, I., Unay, D., Tasdizen, T., Cetin, M. 2016a. “Nonparametric joint shape and feature priors for segmentation of dendritic spines”. In *Biomedical Imaging (ISBI), 2016 IEEE 13th International Symposium on*, 343–346. IEEE.
- Erdil, E., Yagci, A. M., Argunsah, A. Ö., Ramiro-Cortés, Y., Hobbiss, A. F., Israely, I., Unay, D. 2012. “A tool for automatic dendritic spine detection and analysis. part i: Dendritic spine detection using multi-level region-based segmentation”. In *Image Processing Theory, Tools and Applications (IPTA), 2012 3rd International Conference on*, 167–171. IEEE.
- Erdil, E., Yildirim, S., Cetin, M., Tasdizen, T. 2016b. “Mcmc shape sampling for image segmentation with nonparametric shape priors”. In *Proceedings of the IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 411–419.
- Etyngier, P., Segonne, F., Keriven, R. 2007. “Shape priors using manifold learning techniques”. In *International Conference on Computer Vision (ICCV)*, 1–8. IEEE.
- Fan, J., Zhou, X., Dy, J. G., Zhang, Y., Wong, S. T. 2009. “An automated pipeline for dendrite spine detection and tracking of 3d optical microscopy neuron images of in vivo mouse models”. *Neuroinformatics*, 7(2), 113–130.

- Fernandes, D. Carvalho, A. L. 2016. “Mechanisms of homeostatic plasticity in the excitatory synapse”. *Journal of Neurochemistry*, 139(6), 973–996.
- Fischer, M., Kaech, S., Knutti, D., Matus, A. 1998. “Rapid actin-based plasticity in dendritic spines”. *Neuron*, 20(5), 847–854.
- Fodor, I. 2002. “A survey of dimension reduction techniques”. Technical report, Center for Applied Scientific Computing, Lawrence Livermore National Laboratory.
- Foulonneau, A., Charbonnier, P., Heitz, F. 2009. “Multi-reference shape priors for active contours”. *International journal of computer vision*, 81(1), 68–81.
- Ghani, M. U., Argunsah, A. O., Israely, I., Unay, D., Tasdizen, T., Cetin, M. 2016a. “On comparison of manifold learning techniques for dendritic spine classification”. In *Biomedical Imaging (ISBI), 2016 IEEE 13th International Symposium on*. IEEE.
- Ghani, M. U., Kanik, S. D., Argunsah, A. O., Israely, I., Unay, D., Cetin, M. 2016b. “Dendritic spine classification based on two-photon microscopic images using sparse representation”. In *IEEE Signal Processing and Communications Applications (SIU)*.
- Ghani, M. U., Kanik, S. D., Argunsah, A. O., Tasdizen, T., Unay, D., Cetin, M. 2015. “Dendritic spine shape classification from two-photon microscopy images”. In *IEEE Signal Processing and Communications Applications (SIU)*.
- Ghani, M. U., Mesadi, F., Kanik, S. D., Argunşah, A. O., Israely, I., Unay, D., Tasdizen, T., Cetin, M. 2016c. “Dendritic spine shape analysis using disjunctive normal shape models”. In *Biomedical Imaging (ISBI), 2016 IEEE 13th International Symposium on*. IEEE.
- Ghodsi, A. 2006. “Dimensionality reduction: A short tutorial”. Technical report, Department of Statistics and Actuarial Science, University of Waterloo.
- Grutzendler, J., Kasthuri, N., Gan, W.-B. 2002. “Long-term dendritic spine stability in the adult cortex”. *Nature*, 420(6917), 812–816.
- Guyader, C. L. Gout, C. 2008. “Geodesic active contour under geometrical conditions theory and 3d applications”. *Numerical Algorithms*, 48, 105–133.

- Hansen, P. C. O’Leary, D. P. 1993. “The use of the l-curve in the regularization of discrete ill-posed problems”. *SIAM Journal on Scientific Computing*, 14(6), 1487–1503.
- Harris, K. M., Jensen, F. E., Tsao, B. 1992. “Three-dimensional structure of dendritic spines and synapses in rat hippocampus (ca1) at postnatal day 15 and adult ages: implications for the maturation of synaptic physiology and long-term potentiation [published erratum appears in *j neurosci* 1992 aug; 12 (8): following table of contents]”. *The Journal of neuroscience*, 12(7), 2685–2705.
- Harvey, C. D. Svoboda, K. 2011. “Locally dynamic synaptic learning rules in pyramidal neuron dendrites”. *Nature*, (450), 1195–1200.
- Hassouna, M. Farag, A. 2007. “Multistencils fast marching methods: A highly accurate solution to the eikonal equation on cartesian domains”. *Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on*, 29(9), 1563–1574.
- Heimann, T. Meinzer, H.-P. 2009. “Statistical shape models for 3d medical image segmentation: a review”. *Medical Image Analysis*, 13(4), 543–563.
- Hering, H. Sheng, M. 2001. “Dendritic spines: Structure, dynamics and regulation”. *Nature Reviews Neuroscience*, 2, 880–888.
- Hurley, N. P. Rickard, S. T. 2008. “Comparing measures of sparsity”. *CoRR*, abs/0811.4706.
- Jain, A. K. 2010. “Data clustering: 50 years beyond k-means”. *Pattern recognition letters*, 31(8), 651–666.
- Janoos, F., Mosaliganti, K., Xu, X., Machiraju, R., Huang, K., Wong, S. T. 2009. “Robust 3d reconstruction and identification of dendritic spines from optical microscopy imaging”. *Medical image analysis*, cilt 13, syf. 167–179.
- Jehan-Besson, S., Barlaud, M., Aubert, G. 2003. “Dream 2 s: Deformable regions driven by an eulerian accurate minimization method for image and video segmentation”. *International Journal of Computer Vision*, 53(1), 45–70.
- Jia, Y., Shelhamer, E., Donahue, J., Karayev, S., Long, J., Girshick, R., Guadarrama, S., Darrell, T. 2014. “Caffe: Convolutional architecture for fast feature embedding”. In *Proceedings of the 22nd ACM international conference on Multimedia*, 675–678. ACM.

- Jolliffe, I. 1986. *Principal Component Analysis*. Springer Verlag.
- Kass, M., Witkin, A., Terzopoulos, D. 1988. “Snakes: Active contour models”. *International Journal of Computer Vision*, 1(4), 321–331.
- Kempen, G. M. P. V., Vliet, L. J. V., Verveer, P. J., Voort, H. T. M. V. D. 1996. “A quantitative comparison of image restoration methods for confocal microscopy”. *Journal of Microscopy*, 185, 354–365.
- Kihara, Y., Soloviev, M., Chen, T. 2016. “In the shadows, shape priors shine: Using occlusion to improve multi-region segmentation”. In *Proceedings of the IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 392–401.
- Kim, J., Çetin, M., Willsky, A. S. 2007a. “Nonparametric shape priors for active contour-based image segmentation”. *Signal Processing*, 87(12), 3021–3044.
- Kim, S.-J., Koh, K., Lustig, M., Boyd, S., Gorinevsky, D. 2007b. “An interior-point method for large-scale l_1 -regularized least squares”. *Selected Topics in Signal Processing, IEEE Journal of*, 1(4), 606–617.
- Kirschner, M., Becker, M., Wesarg, S. 2011. “3d active shape model segmentation with nonlinear shape priors”. In *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention (MICCAI)*, 492–499. Springer.
- Koh, I. Y. Lindquist, W. B. 2001. “Automated 3d dendritic spine detection and analysis from two-photon microscopy”. In *BIOS 2001 The International Symposium on Biomedical Optics*, 48–59. International Society for Optics and Photonics.
- Koh, I. Y. Y., Lindquist, W. B., Zito, K., Nimchinsky, E. A., Svoboda, K. 2002. “An image analysis algorithm for dendritic spines”. *Neural Computation*, 14, 1284–1310.
- Krizhevsky, A., Sutskever, I., Hinton, G. E. 2012. “Imagenet classification with deep convolutional neural networks”. In *Advances in neural information processing systems*, 1097–1105.
- LeCun, Y., Jackel, L., Bottou, L., Brunot, A., Cortes, C., Denker, J., Drucker, H., Guyon, I., Muller, U., Sackinger, E., vd. 1995. “Comparison of learning algorithms for handwritten

- digit recognition". In International conference on artificial neural networks, volume 60, 53–60.
- Li, Q., Deng, Z., Zhang, Y., Zhou, X., Nagerl, U. V., Wong, S. T. 2011. "A global spatial similarity optimization scheme to track large numbers of dendritic spines in time-lapse confocal microscopy". *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 30(3), 632–641.
- Li, Q., Sone, S., Doi, K. 2003. "Selective enhancement filters for nodules, vessels, and airway walls in two-and three-dimensional ct scans". *Medical Physics*, 30(8), 2040–2051.
- Li, Q., Zhou, X., Deng, Z., Baron, M., Teylan, M. A., Kim, Y., Wong, S. T. 2009. "A novel surface-based geometric approach for 3d dendritic spine detection from multi-photon excitation microscopy images". In *Proc. IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI)*, 30(3), 1255–125.
- Lindeberg, T. 1998. "Feature detection with automatic scale selection". *International Journal of Computer Vision*, 30(2), 77–116.
- Low, K.-L. 2004. "Linear least-squares optimization for point-to-plane icp surface registration". Chapel Hill, University of North Carolina.
- Lowe, D. G. 1999. "Object recognition from local scale-invariant features". *Computer Vision. The Proceedings of the Seventh IEEE International Conference on*, 2, 1150–1157.
- Lowe, D. G. 2004. "Distinctive image features from scale-invariant keypoints". *International Journal of Computer Vision*, 60(2), 91–110.
- Mairal, J., Bach, F., Ponce, J., Sapiro, G., Zisserman, A. 2008. "Discriminative learned dictionaries for local image analysis". In *2008 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR 2008)*, 24-26 June 2008, Anchorage, Alaska, USA.
- Maletic-Savatic, M., Malinow, R., Svoboda, K. 1999. "Rapid dendritic morphogenesis in cal hippocampal dendrites induced by synaptic activity". *Science*, 283, 1923–1927.
- Mallat, S. 2008. *A Wavelet Tour of Signal Processing, Third Edition: The Sparse Way*. Academic Press, 3rd edition.

- Mancuso, J. J., Chen, Y., Li, X., Xue, Z., Wong, S. T. 2013. “Methods of dendritic spine detection: from golgi to high-resolution optical imaging”. *Neuroscience*, 251, 129–140.
- Matsuzaki, M., Honkura, N., Ellis-Davies, G. C., Kasai, H. 2004. “Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines”. *Nature*, 429(6993), 761–766.
- Matus., A. 2000. “Actin-based plasticity in dendritic spines”. *Science*, 290, 754–758.
- Mesadi, F., Cetin, M., Tasdizen, T. 2015. “Disjunctive normal shape and appearance priors with applications to image segmentation”. In *International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention (MICCAI)*, 703–710. Springer.
- Mesadi, F., Cetin, M., Tasdizen, T. 2017. “Disjunctive normal parametric level set with application to image segmentation”. *IEEE Transactions on Image Processing*, 26(6), 2618–2631.
- Milborrow, S. Nicolls, F. 2008. “Locating facial features with an extended active shape model”. In *European Conference on Computer Vision (ECCV)*, 504–513. Springer.
- Mosaliganti, K., Janoos, F., Xu, X., Machiraju, R., Huang, K., Wong, S. T. 2006. “Temporal matching of dendritic spines in confocal microscopy images of neuronal tissue sections”. In *MICCAI Workshop on Medical Image Analysis with Applications in Biology*, 106–113. Citeseer.
- Mumford, D. Shah, J. 1989. “Optimal approximations by piecewise smooth functions and associated variational problems”. *Communications on Pure and Applied Mathematics*, 42(5), 577–685.
- Nimchinsky, E. A., Sabatini, B. L., Svoboda, K. 2002. “Structure and function of dendritic spines”. *Annual Review of Physiology*, 64(1), 313–353.
- Otsu, N. 1975. “A threshold selection method from gray-level histograms”. *Automatica*, 11(285-296), 23–27.
- Parnass, Z., Tashiro, A., Yuste, R. 2000. “Analysis of spine morphological plasticity in developing hippocampal pyramidal neurons”. *Hippocampus*, 10(5), 561–568.

- Peacock, J. 1983. “Two-dimensional goodness-of-fit testing in astronomy”. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, 202(3), 615–627.
- Peters, A. Kaiserman-Abramof, I. R. 1970. “The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex. the perikaryon, dendrites and spines”. *The American Journal of Anatomy*, 127(4), 321–356.
- Priller, C., Bauer, T., Mitteregger, G., Krebs, B., Kretzschmar, H. A., Herms, J. 2006. “Synapse formation and function is modulated by the amyloid precursor protein”. *Journal of Neuroscience*, 26(27), 7212–7221.
- Rada, L., Erdil, E., Argunşah, A. Ö., Ünay, D., Cetin, M. 2014. “Automatic dendritic spine detection using multiscale dot enhancement filters and sift features”. In *IEEE International Conference on Image Processing (ICIP)*, 26–30.
- Ramesh, N., Mesadi, F., Cetin, M., Tasdizen, T. 2015. “Disjunctive normal shape models”. In *IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI)*, 1535–1539.
- Rodriguez, A., Ehlenberger, D., Dickstein, D., Hof, P., Wearne, S. 2008. “Automated three-dimensional detection and shape classification of dendritic spines from fluorescence microscopy images”. *PLoS One*, 3(4).
- Roweis, S. T. Saul, L. K. 2000. “Nonlinear dimensionality reduction by locally linear embedding”. *Science*, 290, 2323–2326.
- Ruszczycki, B., Szepesi, Z., Wilczynski, G. M., Bijata, M., Kalita, K., Kaczmarek, L., Włodarczyk, J. 2012. “Sampling issues in quantitative analysis of dendritic spines morphology.”. *BMC Bioinformatics*, 13, 213.
- Sarder, P. Nehorai, A. 2006. “Deconvolution methods for 3-d fluorescence microscopy images”. *IEEE Signal Processing Magazine*, 23(3), 32–45.
- Sethian, J. A. 1996. “A fast marching level set method for monotonically advancing fronts”. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, cilt 93, syf. 1591–1595.
- Sethian, J. A. 1999. *Level set methods and fast marching methods: evolving interfaces in computational geometry, fluid mechanics, computer vision, and materials science*. Cambridge university press, cilt 3.

- Shi, P., Zhou, X., Li, Q., Baron, M., Teylan, M. A., Kim, Y., Wong, S. T. 2009. “Online three-dimensional dendritic spines morphological classification based on semi-supervised learning”. In ISBI’09 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro, 1019–1022.
- Shi, Q., Eriksson, A., van den Hengel, A., Shen, C. 2011. “Is face recognition really a compressive sensing problem?”. In Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR), 2011 IEEE Conference on, 553–560.
- Snyder, D. L. Miller, M. I. 1991. Random point processes in time and space. Springer, 2 edition.
- Soğanlı, A., Uzunbaş, M. G., Çetin, M. 2014. “Combining learning-based intensity distributions with nonparametric shape priors for image segmentation”. Signal, Image and Video Processing, 8(4), 789–798.
- Son, J., Song, S., Lee, S., Chang, S., Kim, M. 2011. “Morphological change tracking of dendritic spines based on structural features”. Journal of Microscopy, 241(3), 261–272.
- Spacek, J. Hartmann, M. 1983. “Three-dimensional analysis of dendritic spines. i. quantitative observations related to dendritic spine and synaptic morphology in cerebral and cerebellar cortices”. Anatomy and Embryology, 167, 289–310.
- Sun, W., Cetin, M., Chan, R., Willsky, A. S. 2008. “Learning the dynamics and time-recursive boundary detection of deformable objects”. IEEE Transactions on Image Processing, 17(11), 2186–2200.
- Tanaka, J. 2008. “Protein synthesis and neurotrophin-dependent structural plasticity of single dendritic spines science”. Science, 319, 1683–1687.
- Tenenbaum, J. B., de Silva, V., Langford, J. C. 2000. “A global geometric framework for nonlinear dimensionality reduction”. Science, 290(5500), 2319.
- Tikhonov, A. N. Arsenin, V. Y. 1977. Solutions of Ill-posed problems. W.H. Winston.
- Tonnesen, J., Katona, G., Rózsa, J., Nagerl, U., vd. 2014. “Spine neck plasticity regulates compartmentalization of synapses”. Nature Neuroscience, 17(5), 678–685.

- Tsai, A., Yezzi Jr, A., Wells, W., Tempany, C., Tucker, D., Fan, A., Grimson, W. E., Willsky, A. 2003. “A shape-based approach to the segmentation of medical imagery using level sets”. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 22(2), 137–154.
- Uitert, R. V. Bitter, I. 2007. “Subvoxel precise skeletons of volumetric data based on fast marching methods”. *Medical Physics*, 34(2), 627–638.
- Uzunbas, M. G., Soldea, O., Unay, D., Cetin, M., Unal, G., Erçil, A., Ekin, A. 2010. “Coupled nonparametric shape and moment-based intershape pose priors for multiple basal ganglia structure segmentation”. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 29(12), 1959–1978.
- Van Ginneken, B., Frangi, A. F., Staal, J. J., Romeny, B. M., Viergever, M. A. 2002. “Active shape model segmentation with optimal features”. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 21(8), 924–933.
- Wallace, W. Bear, M. F. 2004. “A morphological correlate of synaptic scaling in visual cortex”. *Journal of Neuroscience*, 24(31), 6928–6938.
- Wang, B., Gao, X., Li, J., Li, X., Tao, D. 2015. “A level set method with shape priors by using locality preserving projections”. *Neurocomputing*, 170, 188 – 200.
- Wang, W., Shan, S., Gao, W., Cao, B., Yin, B. 2002. “An improved active shape model for face alignment”. In *IEEE International Conference on Multimodal Interfaces*, 523.
- Wearne, S., Rodriguez, A., Ehlenberger, D., Rocher, A., Henderson, S., Hof, P. 2005. “New techniques for imaging, digitization and analysis of three-dimensional neural morphology on multiple scales”. *Neuroscience*, 136, 661–680.
- Weaver, C. M., Hof, P. R., Wearne, S. L., Lindquist, W. B. 2004. “Automated algorithms for multiscale morphometry of neuronal dendrites”. *Neural Computation*, 16, 1353–1383.
- Weng, S. M., McLeod, F., Bailey, M. E. S., Cobb., S. R. 2011. “Synaptic plasticity deficits in an experimental model of rett syndrome: long-term potentiation saturation and its pharmacological reversal”. *Neuroscience*, 180, 314–321.
- Wright, J., Ma, Y., Mairal, J., Sapiro, G., Huang, T. S., Yan, S. 2010. “Sparse representation for computer vision and pattern recognition”. *Proceedings of the IEEE*, 98(6), 1031–1044.

- Wright, J., Yang, A. Y., Ganesh, A., Sastry, S. S., Ma, Y. 2009. “Robust face recognition via sparse representation”. *IEEE Transactions on Pattern Analysis & Machine Intelligence*, 31(2), 210–227.
- Xie, Y. Ji, Q. 2002. “A new efficient ellipse detection method”. In *16th International Conference on Pattern Recognition*, volume 2, 957–960.
- Yang, A. Y., Sastry, S. S., Ganesh, A., Ma, Y. 2010. “Fast l1-minimization algorithms and an application in robust face recognition: a review”. Technical report.
- Yang, R., Mirmehdi, M., Xie, X., Hall, D. 2013. “Shape and appearance priors for level set-based left ventricle segmentation”. *IET Computer Vision*, 7(3), 170–183.
- Yosinski, J., Clune, J., Bengio, Y., Lipson, H. 2014. “How transferable are features in deep neural networks?”. In *Advances in neural information processing systems*, 3320–3328.
- Yuste, R. 2010. *Dendritic spines*. MIT Press.
- Zhang, S., Zhan, Y., Dewan, M., Huang, J., Metaxas, D. N., Zhou, X. S. 2012. “Towards robust and effective shape modeling: Sparse shape composition”. *Medical Image Analysis*, 16(1), 265–277.
- Zhang, Y., Chen, K., Baron, M., Teylan, M. A., Kim, Y., Song, Z., Greengard, P., Wong, S. T. 2010. “A neurocomputational method for fully automated 3d dendritic spine detection and segmentation of medium-sized spiny neurons”. *Neuroimage*, 50, 1472–1484.
- Zhang, Y., Zhou, X., Degterev, A., Lipinski, M., Adjeroh, D., Yuan, J. 2007a. “A novel tracing algorithm for high throughput imaging: Screening of neuron-based assays”. *Journal of Neuroscience Methods*, 160, 149–162.
- Zhang, Y., Zhou, X., Witt, R. M., Sabatini, B. L., Adjeroh, D., Wong, S. T. 2007b. “Dendritic spine detection using curvilinear structure detector and lda classifier”. *Neuroimage*, 36(2), 346–360.
- Zhang, Z. Zha, H. 2005. “Principal manifolds and nonlinear dimensionality reduction via tangent space alignment”. *SIAM Journal on Scientific Computing*, 26(1), 313–338.

Zhou, X., Zhu, J., Liu, K., Sabatini, B. L., Wong, S. T. C. 2006. “Mutual information based feature selection in studying perturbation of dendritic structure caused by tsc2 inactivation”. *Neuroinformatics*, 4, 81–94.

EKLER

Ek-1: Ters–Evrişim Yaklaşımı ile Mikroskopi Görüntülerinin İyileştirilmesi

Mikroskop görüntülerinde 3-boyutlu ters evrişim (deconvolution) yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Sarder ve Nehorai, 2006). Görüntüleme özellikleri ve ölçüm kısıtlamaları gerçek 3 boyutlu görüntüyü bozmakta (distortion) ve elde edilen görüntünün çözünürlüğü (resolution) düşük olmaktadır. Bu durum aslen 3 boyutlu olan örneğin (sample) analizini kısıtlamaktadır (Kempen vd., 1996). Ters evrişim operasyonu mikroskopi görüntülerinde var olan bozulmaları hafifletmek için kullanılmaktadır.

Ters evrişimin özellikle gürültünün varlığı durumlarında zor ve eksik-sunumlu bir ters problem (ill-posed inverse problem) olduğu bilinmektedir (Tikhonov ve Arsenin, 1977). Matematiksel olarak bir problemin eksik-sunumlu olması için (i) çözüm mevcut olmayabilir, (ii) çözüm tek değildir, (iii) çözümün davranışı başlangıç koşullarına (initial conditions) göre sürekli olarak değişmez. Bu sebeplerden ötürü görüntü restorasyon yöntemleri bazı ileri istatistiksel yöntemler ile güçlendirilmiştir (Kempen vd., 1996). Bu çalışmada ters evrişim için önerilmiş olan istatistiksel çözümlerden iki tanesi, yinelenen kısıtlı Tikhonov-Miller algoritması (ICTM) ve Richardson-Lucy algoritması, karşılaştırmalı olarak test edilmektedir.

Görüntünün elde edilmesi (image acquisition) Yayılan ışığın doğası, elde edilen görüntüyü $g(x)$ görüntülenen sahnenin $f(x)$ noktasal yayılma fonksiyonu (point spread function) $h(x)$ ile konvolüsyonu olarak modellememize izin verir.

$$g(x) = \int_X h(x - \chi)f(\chi)d\chi \quad (67)$$

Foton sayımı (Poisson gürültüsü olarak kabul edilir), dedektörün okunması (Gauss gürültüsü olarak kabul edilir) ve analogdan dijitale çevrim (tek-biçimli, uniform, olarak kabul edilir) sırasındaki hatalardan kaynaklanan gürültü, görüntüyü bozar.

$$m(x) = N(g(x) + b(c)) \quad (68)$$

Yukarıdaki denklemde, $m(x)$ kayıt edilen görüntüyü $b(x)$ arkaplan gürültüsünü ve $N(.)$ genel gürültü fonksiyonunu gösterir.

Richardson-Lucy yöntemi: Konfokal mikroskopi, örneği 3 boyutta tarayarak görüntüyü elde eder. Her tarama noktasında yayılan fotonlar foto çoğaltıcı tüp (photo multiplier tube) tarafından elektriksel sinyale dönüştürülür ve sonrasında A/D çevirici ile dijital değerlere çevrilir. İdeal olmayan koşullarda bu dönüşüm bir Poisson sürecidir. Bizim problemimizde bu süreç $F(x)$ ve gerçek görüntüyü simgeleyen yoğunluk fonksiyonu $f(x)$ ile model koşullu yoğunluk olasılık fonksiyonu $m(x)$ 'e bağlıdır. Böyle bir Poisson sürecinin logaritmik ihtimal (likelihood) fonksiyonu (Snyder ve Miller, 1991)

$$L(x) = - \int_X g(x)dx + \int_X \ln[g(x) + b(x)]m(x)dx \quad (69)$$

$f(x)$ e bağlı olmayan değerleri düşürüp $m(x)$ e koşullu beklenen değeri hesapladığımızda sonucumuz

$$E[f(x)|m] = \int_X \left[\frac{h(x - \chi)}{g(\chi) + b(\chi)} \right] m(\chi) d\chi \quad (70)$$

olarak tanımlanır. En büyük olabilirlik kestirimi (maximum likelihood estimation) $\hat{f}(x)$, verilen $h(x)$ ve $m(x)$ kullanılarak beklenti-enchoklama (expectation-maximization) algoritması ile bulunabilir Dempster vd. (1977).

Tikhonov-Miller Yöntemi: Tikhonov-Miller yöntemi gürültünün toplanabilir (additive) olması varsayımına dayanır.

$$m'(x) = m(x) - b(x) = \int_X h(x - \chi)f(\chi)d\chi + n \quad (71)$$

Yukarıdaki denklemde n ortalaması sıfır olan toplanabilir gürültüyü belirtir ve merkezi sınır teoremi ile çözümlenebilir (Snyder ve Miller, 1991).

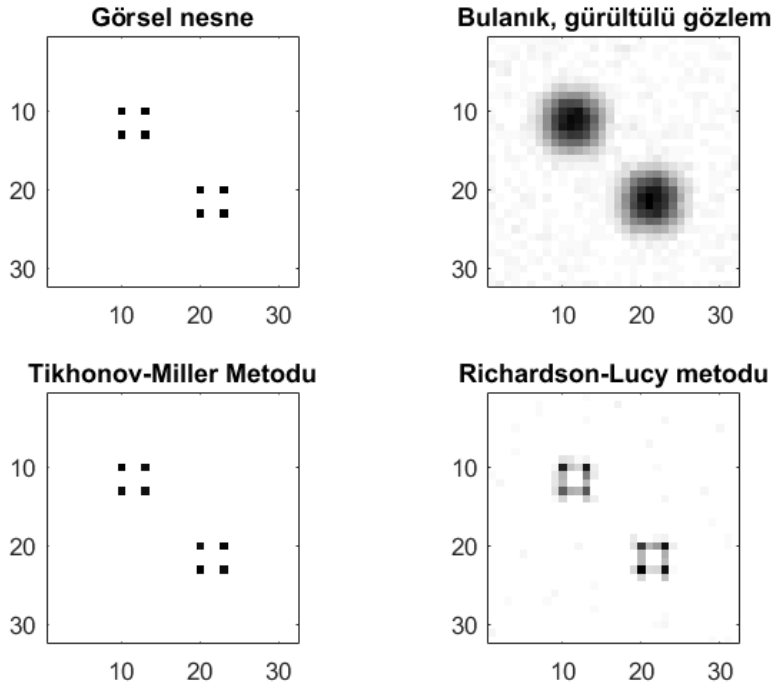
$$\Phi(f) = m'(x) - \int_X h(x - \chi)f(\chi)d\chi^2 + \lambda \int_X r(x - \chi)f(\chi)d\chi^2 \quad (72)$$

Düzenleştirme (regularization) parametresi λ ve düzenleştirme fonksiyonu $r(x)$ ile yukarıdaki denklemin en küçüklenmesi bize Tikonov-Miller çözümünü $a(x)$ verir (Snyder ve Miller,

1991).

$$\hat{F}(\omega) = A(\omega)M'(\omega) \quad , A(\omega) = \frac{H^*(\omega)}{\|H(\omega)\|^2 + \lambda\|R(\omega)\|^2} \quad (73)$$

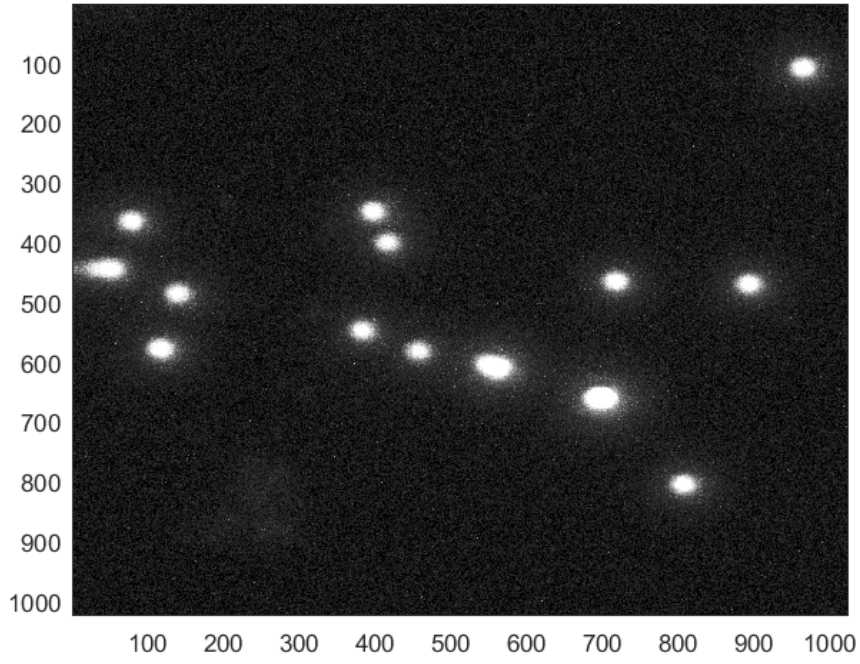
Görsel sonuçlar ve tartışma: Benzetim (simulation) aşamasında düzgelenmiş görüntüde birbirinden 3 piksel uzaklıktaki noktalar 0.1 varyanslı Gauss çekirdeği ile evriştirilmiş (convolved) ve üzerlerine 0.05 varyanslı beyaz gürültü eklenmiştir. Daha sonra Tikhonov-Miller ve Richardson-Lucy yöntemleri ile ters evrişim gerçekleştirilmiştir.



Şekil 64. Benzetimli ters evrişim.

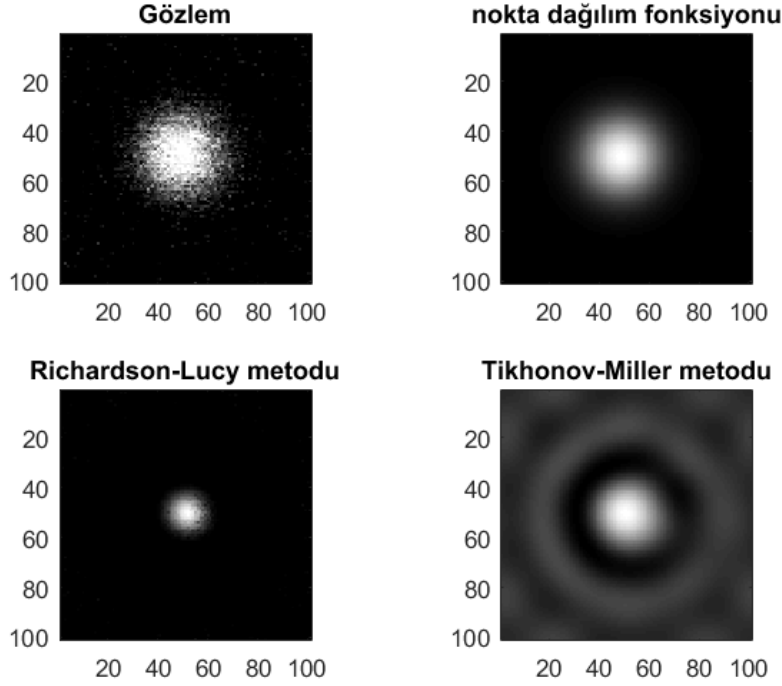
Veri kümemizde diken görüntülerinin yanısıra mikrotane (microbead) görüntüleri de bulunmaktadır. Küre biçimindeki bu mikrotanelerin ortalama çapı $0.10\mu m$ 'dir; bu da iki-foton mikroskopi görüntülerimizde xy düzleminde yaklaşık yarım piksele denk gelir.

Nokta dağılım fonksiyonunu görüntülerden elde edebilmek için her bir mikrotanenin ortasına denk gelen Z-diliminden olacak şekilde 5 farklı ve birbirinden ayrı mikrotanenin



Şekil 65. Örnek mikrotane görüntüsü (en yüksek yoğunluk izdüşümü uygulanmıştır).

görüntüsünü seçip ortalamalarını aldık ve 2 boyutlu Gauss çekirdeği modeline yerleştirdik. Test aşamasında yine aynı veri setinden ancak model için seçilmiş olanlardan farklı olan mikrotaneleri tercih ettik.



Şekil 66. Örnek bir mikrotane görüntüsünde ters evrişim sonucu.

Benzetimli ters evrişim sonuçlarına göre Tikhonov-Miller yöntemi gürültüyü azaltmak ve örneği gerçek boyutuna/şekline yaklaştırmak açılarından daha başarılı iken mikrotane verisinden elde edilen sonuçlara göre Richardson-Lucy yöntemi daha başarılı olmuştur. Bunun bir nedeni Tikhonov-Miller yönteminin gürültüye dayanıklı olmasına rağmen nokta dağılım fonksiyonu kestiriminde oluşan hatalara karşı toleransının düşük olması olabilir (Kempen vd., 1996).

Richardson-Lucy yöntemi kullanılarak diken veri setleri üzerinde ters evrişim başarımının incelenmesine ve aynı zamanda nokta dağılım fonksiyonunu elde edebilmek için farklı yöntemlerin araştırılmasına devam edilmektedir.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Doç. Dr. DEVRİM ÜNAY
Proje No:	113E603
Proje Başlığı:	İki-Foton Mikroskopi Görüntülerinde Dendrit Dikenlerinin Otomatik Olarak Bölütlenilmesi, Sınıflandırılması ve Takibi için Olasılık ve Makine Öğrenmesi Temelli Yöntemler
Proje Türü:	Uluslararası
Proje Süresi:	36
Araştırmacılar:	MÜJDAT ÇETİN
Danışmanlar:	ALİ ÖZGÜR ARGUNŞAH (Yurt Dışı), INBAL ISRAELY (Yurt Dışı)
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	İZMİR EKONOMİ Ü. MÜHENDİSLİK VE BİLGİSAYAR BİLİMLERİ F. ELEKTRİK ELEKTRONİK MÜHENDİSLİĞİ B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/06/2014 - 01/06/2017
Onaylanan Bütçe:	309530.4
Harcanan Bütçe:	237505.41
Öz:	<p>Nöronların dendritleri üzerindeki dikenlerin (spine) yapılarının ve yapısal dinamiklerinin analizi, öğrenme, hafıza oluşumu ve ilgili patolojilerin temelini oluşturan mekanizmaların aydınlatılmasında önem taşımaktadır. Son yıllarda bu yapıları görüntüleyen teknolojilerde elde edilen önemli ilerlemeler sonucunda, analiz edilmesi gereken veri miktarı çok artmıştır. Bahsedilen analizler sinirbilim araştırmacıları tarafından çoğunlukla elle yapıldığından hem çok vakit almakta hem de yorgunluğa/dikkatsizliğe bağlı insan hatası içermektedir. Bunun bir sonucu olarak dikenlerin yapısal, uzamsal, ve zamansal değişimlerini hızlı ve güvenilir bir şekilde analiz etmeye yarayacak görüntü işleme araçlarının geliştirilmesi son yıllarda önemli bir araştırma konusu olarak ortaya çıkmıştır.</p> <p>Bu projenin konusu dinamik plastisite çalışmalarına olanak tanıyan iki-foton mikroskopisi verilerinin otomatik olarak işlenmesi ve bu verilerden bilgi çıkarılması için algoritma geliştirme üzerinedir. Projede dendrit dikenlerinin analizi için olasılık ve makine öğrenmesi temelli yeni görüntü işleme algoritmaları geliştirilmiştir. Daha somut olarak, projede dendrit dikenlerinin iki-foton mikroskopisi görüntülerinden otomatik olarak (1) tespiti, (2) bölütlenmesi, (3) takibi ve dinamik olarak bölütlenmesi, (4) şekil analizi (sınıflandırılması ve kümelenmesi) için ayrı ayrı ve bu problemlerin bazıları için birden fazla olmak üzere yeni yöntemler ve akademik katkılar üretilmiştir. Projedeki çalışmalara dayalı olarak şu ana kadar 3 dergi makalesi ve 15 konferans bildirisi yayımlanmış, 1 doktora ve 2 yüksek lisans tezi üretilmiştir. Ayrıca 1 dergi makalesi değerlendirme ve 5 dergi makalesi de yazım aşamasındadır. Yayınlara ek olarak ortaya çıkan diğer önemli bir çıktı ise projede geliştirilen analiz yöntemlerini içeren Matlab temelli, kullanıcı dostu grafik arayüzlü bir yazılım aracıdır. Bu yazılım aracını araştırmacılar projenin http://spines.sabanciuniv.edu/ web sitesi üzerinden temin edip kullanabileceklerdir.</p> <p>Proje Doç.Dr. Devrim Ünay'ın (İzmir Ekonomi Üniversitesi) yürütücülüğünde Sabancı Üniversitesi, Bahçeşehir Üniversitesi ve Portekiz'deki Champalimaud Sinirbilim Programı'nın ortak çalışmaları ile gerçekleştirilmiştir.</p>
Anahtar Kelimeler:	dendrit diken, mikroskopi, görüntü işleme, makine öğrenmesi, tespit, bölütleme, sınıflama, takip
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır

Projeden Yapılan Yayınlar:	<p>1- Automated Dendritic Spine Tracking on 2-Photon Microscopic Images (Bildiri - Ulusal Bildiri - Poster Sunum),</p> <p>2- Nonparametric Joint Shape and Feature Priors for Segmentation of Dendritic Spines (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),</p> <p>3- Dendritic Spine Shape Analysis using Disjunctive Normal Shape Models (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),</p> <p>4- On Comparison of Manifold Learning Techniques for Dendritic Spine Classification (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),</p> <p>5- Disjunctive Normal Shape and Appearance Priors with Applications to Image Segmentation (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),</p> <p>6- Dendritic Spine Classification based on Two-Photon Microscopic Images using Sparse Representation (Bildiri - Ulusal Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>7- Dendritic Spine Shape Classification from Two-Photon Microscopy Images (Bildiri - Ulusal Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>8- Disjunctive Normal Shape and Appearance Priors with Applications to Image Segmentation (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>9- A JOINT CLASSIFICATION AND SEGMENTATION APPROACH FOR DENDRITIC SPINE SEGMENTATION IN 2-PHOTON MICROSCOPY IMAGES (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>10- AUTOMATIC DENDRITIC SPINE DETECTION USING MULTISCALE DOT ENHANCEMENT FILTERS AND SIFT FEATURES (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>11- Disjunctive Normal Parametric Level Set With Application to Image Segmentation (Makale - Diğer Hakemli Makale),</p> <p>12- Dendritic spine classification using shape and appearance features based on two-photon microscopy (Makale - Diğer Hakemli Makale),</p> <p>13- Disjunctive Normal Level Set: An Efficient Parametric Implicit Method (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),</p> <p>14- Dendritic Spine Shape Analysis: A Clustering Perspective (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum),</p> <p>15- 3D Dendritic Spine Segmentation Using Nonparametric Shape Priors (Bildiri - Ulusal Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>16- Coupled Shape Priors for Dynamic Segmentation of Dendritic Spines (Bildiri - Ulusal Bildiri - Sözlü Sunum),</p> <p>17- Disjunctive Normal Shape Boltzmann Machine (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Sözlü Sunum),</p>
----------------------------	--