

**İNSAN KROMOZOM PREPARATLARININ
BİLGİSAYAR DESTEKLİ
SİTOGENETİK ANALİZLERİ VE
DÜŞÜK MALİYETLİ SİSTEM TASARIMI**

**2017
DOKTORA TEZİ
BİLGİSAYAR MÜHENDİSLİĞİ**

Hakan YILMAZ

**İNSAN KROMOZOM PREPARATLARININ BİLGİSAYAR DESTEKLİ
SİTOGENETİK ANALİZLERİ VE
DÜŞÜK MALİYETLİ SİSTEM TASARIMI**

Hakan YILMAZ

Karabük Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalında

Doktora Tezi

Olarak Hazırlanmıştır

KARABÜK

Kasım 2017

Hakan YILMAZ tarafından hazırlanan “İNSAN KROMOZOM PREPARATLARININ BİLGİSAYAR DESTEKLİ SİTOGENETİK ANALİZLERİ VE DÜŞÜK MALİYETLİ SİSTEM TASARIMI” başlıklı bu tezin Doktora Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Yrd. Doç. Dr. M. Kamil TURAN
Tez Danışmanı, Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir. 30/11/2017

Ünvanı, Adı SOYADI (Kurumu)

İmzası

Başkan : Prof. Dr. Mehmet AKBABA (KBÜ)

Üye : Doç. Dr. Mustafa GÜNAY (KBÜ)

Üye : Doç. Dr. Ergin YILMAZ (BEÜ)

Üye : Yrd. Doç. Dr. M. Kamil TURAN (KBÜ)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Okan ERKAYMAZ (BEÜ)

15/12/2017

KBÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu, bu tez ile, Doktora derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Filiz ERSÖZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdür V.



“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Hakan YILMAZ

ÖZET

Doktora Tezi

İNSAN KROMOZOM PREPARATLARININ BİLGİSAYAR DESTEKLİ SİTOGENETİK ANALİZLERİ VE DÜŞÜK MALİYETLİ SİSTEM TASARIMI

Hakan YILMAZ

Karabük Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı:

Yrd. Doç. Dr. M. Kamil TURAN

Kasım 2017, 146 sayfa

Kromozom yapılarında görülen anormallikler perinatal ölümlere veya gelişimsel anomalilere neden olmaktadır. Sitogenetik analiz (kromozom analizi, karyotip analizi) down sendromu başta olmak üzere birçok kromozomal anomalinin tanısında en çok kullanılan ve ilk başvuru olan yöntemdir. Kromozom analizi hücrelerin metafaz aşamasında durdurulmasıyla yapılır. Çünkü kromozomların en iyi görüntülenebildiği aşamadır. Bundan dolayı kromozom analizi yapılabilmesi için metafaz plağı görüntülerine ihtiyaç vardır.

Metafaz plakları elle kontrol edilen mikroskoplarda veya motorize mikroskoplarda bulunabilir. Motorize mikroskoplar yanlı tarama yapmadıkları için daha objektif sonuçların elde edilmesini sağlar. Ancak motorize mikroskoplar yüksek maliyetli

olabilir ve parçaları kolay temin edilemeyebilir. Bu yüzden motorize, parçaları kolay temin edilebilir ve düşük maliyetli sistemler tercih edilmektedir.

Bu çalışmada, insan metafaz kromozomlarının sınıflandırılmasında kullanılabilecek genetik tanı-destek sisteminin, elektro-mekanik ve kontrol yazılımı olarak tasarlanması, düşük maliyetli olarak üretilmesi ve analiz yazılımlarının geliştirilmesi amaçlanmıştır. Kromozom analizi yapılabilmesi için gerekli metafaz plaklarını bulabilen bir otomatik metafaz bulucu tasarımı ve üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda üretilen otomatik şaryo ile manuel mikroskopların motorize mikroskoba dönüştürülmesi hedeflenmiştir. Metafazları artefaktlardan ayırıp tespitini sağlayacak bir filtre de bu amaçla geliştirilmiştir. Kromozomların ön plana çıkmasını sağlayan yeni bir eşikleme yöntemi tanımlanmıştır. Karyotip analizi yapılırken dokunan ve çakışan kromozomların bölütlenmesi, bu kromozomların düzeltilmesi ve bulunan kromozomların benzerliklerine göre eşleştirilmesi sağlanmıştır. Tüm bu amaçlara ulaşmak için geliştirilen yazılımlar Türkçe dilinde yazılarak millileşme sürecine katkı sağlanmaya çalışılmıştır.

Anahtar Sözcükler : Sitogenetik analiz, kromozom analizi, metafaz bulucu, görüntü işleme, motorize şaryo, motorize mikroskop, otomatik tarama, otomatik odaklama, tıbbi cihaz tasarımı.

Bilim Kodu : 924.1.014

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

COMPUTER AIDED CYTOGENETIC ANALYSIS OF HUMAN CHROMOSOME PREPARATES AND LOW COST SYSTEM DESIGN

Hakan YILMAZ

Karabük University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Computer Engineering

Thesis Advisor:

Assist. Prof. Dr. M. Kamil TURAN

November 2017, 146 pages

Abnormalities in chromosome structures cause perinatal mortality or developmental anomalies. Cytogenetic analysis (chromosome analysis, karyotype analysis) is the first and most commonly used method for diagnosis of many chromosomal anomalies, especially down syndrome. Chromosome analysis is performed by stopping cells in the metaphase stage which is the best stage to monitor chromosomes. Therefore, metaphase images are needed to perform chromosome analysis.

Metaphase images could be found with either manual microscopes or motorized microscopes. Motorized microscopes provide to obtain more objective results since they do not partially scan. However motorized microscopes are generally high cost

and components may not be available easily. Thus, motorized and low-cost systems which contain easily available components are preferred.

In this study, it is aimed to design the genetic diagnosis-support system which can be used for classification of human metaphase chromosomes as electro-mechanical and control software, producing as low cost and to developing an analysis software. An automated metaphase finder design and production has been performed that can detect the necessary metaphase images for chromosome analysis. In this context, it is aimed to convert manual microscopes to motorized microscope with automatic carriage produced. A filter has also been developed to separate metaphases from artefacts and detect them in this scope. A novel thresholding method has been presented to bring chromosome to the fore. When karyotyping is performed, segmentation of touching and overlapping chromosomes, correction of these chromosomes and matching of similar chromosomes are provided. The software that is developed to achieve these goals has been written in Turkish language and contributed to the nationalization process.

Key Word : Cytogenetic analysis, chromosome analysis, metaphase finder, image processing, motorized carriage, motorized microscope, auto scan, auto focus, medical device design.

Science Code : 924.1.014

TEŞEKKÜR

Bu tez alışmasının planlanmasında, araştırılmasında, yrtlmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı tamamlamamı sağlayan sayın hocam Yrd. Doç. Dr. M. Kamil TURAN'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Çalışma kapsamında değerli yorum ve değerlendirmeleri ile tezin Őekillenmesine katkıda bulunan tez izleme komitesindeki hocalarım Prof. Dr. Mehmet AKBABA ve Doç. Dr. Mustafa GÜNAY'a teşekkür ederim. Yine bu çalışmanın mekanik tasarımları kısmında desteklerini esirgemeyen Öğr. Gör. Dr. Nafız YAŐAR'a ve çalışma kapsamında hazırlanan yayının çevirisi konusunda yardımcı olan ArŐ. Gör. Eftl ŐEHİRLİ'ye teşekkür ederim.

Beni büyütüp yetiştiren ve bu günlere gelmemde en büyük pay sahibi olan anne-babama ve aile bireylerine sonsuz teşekkür ederim. Bu zorlu süreçte desteğini hep hissettiğim, fedakrca davranan ve benim yerime de çocuklarımızla ilgilenen eŐime, ihmal etmek zorunda kalmama rağmen yorulduğumda kendince hep destek olmaya çalışan oğlum Furkan Giray'a ve yeni doğan oğlum Süleyman Kutay'a teşekkür ederim.

Bu alışmayı BAP Projesi kapsamında, KB-BAP-15/2-DR-024 numaralı proje ile destekleyen Karabük niversitesi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xix
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	4
KROMOZOMLAR VE SİTOGENETİK ANALİZ	4
2.1. KROMOZOM TANIMI	4
2.2. KROMOZOM MORFOLOJİSİ	6
2.3. SİTOGENETİK ANALİZ	8
2.3.1. Yapısal Kromozom Anomalileri.....	10
2.3.1.1. Translokasyon	10
2.3.1.2. Delesyon.....	10
2.3.1.3. Duplikasyon	11
2.3.1.4. İnversiyon.....	11
2.3.1.5. Halka Kromozom	11
2.3.1.6. İzokromozom.....	11
2.3.2. Sayısal Kromozom Anomalileri	12
2.3.3. Kromozom Anomalilerinin Sebep Olduğu Durumlar	12
2.3.3.1. Down Sendromu	12
2.3.3.2. Patau Sendromu	13

	<u>Sayfa</u>
2.3.3.3. Edwards Sendromu	13
2.3.3.4. Cri-Du-Chat Sendromu	13
2.3.3.5. Klinefelter Sendromu	14
2.3.3.6. Turner Sendromu	14
2.3.3.7. Angelman Sendromu	14
2.3.3.8. Williams Sendromu	15
2.3.4. Metafaz Bulucular	15
2.3.5. Kromozom Görüntülerinde Ön İşleme Ve Bölütleme	20
BÖLÜM 3	37
MİKROSKOPLAR	37
3.1. IŞIK VE MİKROSKOP	37
3.2. MİKROSKOP ÇEŞİTLERİ	38
3.2.1. Elektron Mikroskobu	38
3.2.2. Işık Mikroskobu Ve Bölümleri	39
3.2.2.1. Mekanik	39
3.2.2.2. Aydınlatma	40
3.2.2.3. Optik	40
3.2.2.4. Motorize Mikroskop Şaryosu	41
BÖLÜM 4	43
DOĞRUSAL HAREKET SİSTEMLERİ VE BİLEŞENLERİ	43
4.1. MEKANİK HAREKET BİLEŞENLERİ	43
4.1.1. Vidalı Miller Ve Somunları	43
4.1.2. Minyatür Raylar Ve Arabalar	44
4.1.3. Adım Motorları	45
4.2. ELEKTRONİK BİLEŞENLER	46
4.2.1. Kontrol Kartı	46
4.2.2. Adım Motoru Sürücüleri	47
4.2.3. Durdurma Modülü	48

	<u>Sayfa</u>
BÖLÜM 5	49
GÖRÜNTÜ İŞLEME.....	49
5.1. GRİYE ÇEVİRME YÖNTEMLERİ.....	50
5.1.1. Ortalama Yöntemi.....	50
5.1.2. BT709 Yöntemi	50
5.1.3. Açıklık Yöntemi.....	51
5.1.4. Renk Kanalı Yöntemi.....	51
5.2. HİSTOGRAM, KONTRAST VE PARLAKLIK.....	51
5.2.1. Histogram Eşitleme	52
5.2.2. Kontrast Germe	52
5.2.3. Parlaklık Değiştirme.....	53
5.3. EŞİKLEME YÖNTEMLERİ	53
5.3.1. Ön Tanımlı Eşikleme	54
5.3.2. Bradley Yerel Eşiklemesi	54
5.3.3. Otsu Eşiklemesi	55
5.3.4. İntermodes Eşiklemesi	56
5.3.5. Tekrarlı Eşikleme	56
5.3.6. Standart Sapmaya Dayalı Eşikleme	57
5.4. MORFOLOJİK İŞLEMLER.....	57
5.4.1. Aşındırma	57
5.4.2. Genişletme	58
5.4.3. Açma ve Kapama	58
5.4.4. Sınır Çıkarma.....	59
5.4.5. Boşluk Doldurma	59
5.4.6. İnceltme	60
5.4.7. İskelet Çıkarma	60
5.4.8. Budama.....	61
5.5. KENAR ÇIKARMA YÖNTEMLERİ.....	62
5.5.1. Sobel Kenar Çıkarma Yöntemi.....	62
5.5.2. Canny Kenar Çıkarma Yöntemi.....	63
5.5.3. Homojen Kenar Çıkarma Yöntemi	64
5.5.4. Prewitt Kenar Çıkarma Yöntemi	64

	<u>Sayfa</u>
5.6. NESNE İŞLEMLERİ.....	65
5.6.1. Bağlantılı Bileşen Etiketleme	65
5.6.2. Parça Filtresi	66
5.6.3. Köşe Tespiti.....	66
5.6.4. Dörtgen Tespiti Ve Dönüşümü	66
5.6.5. Benzerliğe Göre Eşleştirme	68
BÖLÜM 6	69
DENEYSEL ÇALIŞMA	69
6.1. MATERYAL.....	69
6.1.1. Kamera	69
6.1.2. Mikroskop.....	71
6.1.3. Elektronik Kontrol Ünitesi Ve Bilgisayar	72
6.1.3.1. Kontrol Ve Genişleme Kartı	73
6.1.3.2. Adım Motoru Sürücüleri	74
6.1.3.3. Dış Kutu Ve Güç Kaynağı	75
6.1.3.4. Mikroskop Işık Kaynağı.....	76
6.1.3.5. Bilgisayar	76
6.1.4. Preparatlar.....	76
6.1.5. Üretilen Otomatik Şaryo.....	78
6.2. YÖNTEM.....	84
6.2.1. Başlangıç Yazılımları.....	85
6.2.1.1. Kontrol Yazılımı.....	85
6.2.1.2. Sistem Hareketlerinin Metrik Birimlere Dönüştürülmesi	86
6.2.1.3. Ayarlar Penceresi.....	88
6.2.2. Metafaz Bulucu	89
6.2.2.1. Taramaya Hazırlık Aşaması	91
6.2.2.2. Otomatik Odaklama	91
6.2.2.3. Metafazların Bulunması Ve Kaydedilmesi	96
6.2.2.4. Resimden Bul Arayüzü	99
6.2.3. Kromozom Analizi.....	99
6.2.3.1. Görüntünün Alınması Ve Eşikleme İşlemleri	101

6.2.3.2. Parça Filtresinin Uygulanması Ve Parçalara Çerçeve Eklenmesi.....	103
6.2.3.3. Görüntü Parçalarının İskeletinin Çıkarılması.....	104
6.2.3.4. Uçların Sayılması Ve Görüntülerin Sınıflandırılması	105
6.2.3.5. Bölütlemenin Yapılması	106
6.2.3.6. Kromozomların Düzleştirilmesi	108
6.2.3.7. Kromozomların Eşleştirilmesi.....	113
BÖLÜM 7	115
DENEYSEL ÇALIŞMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	115
7.1. ÜRETİLEN OTOMATİK ŞARYO	115
7.1.1. Uyarlanabilirlik	115
7.1.2. Maliyet.....	116
7.1.3. Yeniden Konumlanma Kaybı Ve Boşluk Testi	117
7.1.4. Teknik Özellikler	120
7.2. METAFAZ BULUCU	121
7.2.1. Tarama Süresi	121
7.2.2. Metafaz Tarama Sonuçları.....	122
7.3. KROMOZOM ÖN SINIFLANDIRMA SONUÇLARI	124
BÖLÜM 8	128
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	128
8.1. SONUÇLAR	128
8.2. ÖNERİLER.....	132
KAYNAKLAR.....	134
ÖZGEÇMİŞ.....	146

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.	Işık mikroskobunda elde edilen kromozom görüntüsü.....	5
Şekil 2.2.	Mitoz bölünme aşamaları.....	6
Şekil 2.3.	İnsan kromozomlarının bilinen üç farklı görünümü.....	7
Şekil 2.4.	Erkek bireye ait kromozom grupları.....	9
Şekil 2.5.	Metafaz plaklarında yer alan kromozom dışındaki artefaktlar.....	21
Şekil 2.6.	Birbirine değen ve çakışan kromozomların bölütlenmesi.....	21
Şekil 3.1.	Işık mikroskobu ve bölümleri.....	39
Şekil 4.1.	Vidalı mil ve somun kesiti.....	44
Şekil 4.2.	Minyatür ray ve arabası.....	44
Şekil 4.3.	Adım motoru.....	45
Şekil 4.4.	Bipolar adım motoru sargı görünümü.....	46
Şekil 4.5.	Arduino Uno kontrol kartı.....	47
Şekil 4.6.	Adım motoru sürücüsü.....	47
Şekil 4.7.	Durdurma modülü.....	48
Şekil 5.1.	Düşük kontrasta sahip orijinal görüntü, histogram eşitlemesi yapılarak kontrastı yükseltileen görüntü.....	52
Şekil 5.2.	Orijinal görüntü, kontrastı gerilmiş görüntü.....	53
Şekil 5.3.	Orijinal görüntü, parlaklığı -50 değiştirilmiş görüntü.....	53
Şekil 5.4.	Orijinal görüntü, $T=155$ olarak eşiklenen görüntü.....	54
Şekil 5.5.	Orijinal görüntü, bradley yerel eşikleme yapılmış görüntü.....	55
Şekil 5.6.	Orijinal görüntü, histogram, otsu uygulanmış görüntü.....	55
Şekil 5.7.	Orijinal görüntü, tekrarlı eşikleme yapılmış görüntü.....	56
Şekil 5.8.	Orijinal görüntü, otsu eşikleme yapılan görüntü, standart sapma değeri olan $T=36$ ya göre yapılan eşikleme.....	57
Şekil 5.9.	Orijinal görüntü, aşındırma yapılmış görüntü.....	58
Şekil 5.10.	Orijinal görüntü, genişletilmiş görüntü.....	58
Şekil 5.11.	Orijinal görüntü, açma yapılan görüntü, kapama yapılan görüntü.....	59
Şekil 5.12.	Sınır çıkarma işlemi.....	59
Şekil 5.13.	Orijinal görüntü, boşluk doldurma yapılmış görüntü.....	60
Şekil 5.14.	Orijinal görüntü, inceltme yapılmış görüntü.....	60

Şekil 5.15. Orijinal görüntü, iskeleti çıkarılmış görüntü.....	61
Şekil 5.16. İskeleti çıkarılmış görüntü, budama yapılmış görüntü.	61
Şekil 5.17. 3X3 komşuluk gösterimi.	62
Şekil 5.18. Orijinal görüntü, sobel uygulanmış görüntü.	63
Şekil 5.19. Orijinal görüntü, canny uygulanmış görüntü.	63
Şekil 5.20. Orijinal görüntü, homojen kenar çıkarma uygulanmış görüntü.	64
Şekil 5.21. Orijinal görüntü, prewitt uygulanmış görüntü.	65
Şekil 5.22. İkili görüntü, bağlantılı bileşen etiketleme uygulanmış görüntü	66
Şekil 6.1. Web kamerasından alınan görüntü, güvenlik kamerasından alınan görüntü, DigiRetina ile alınan görüntü.	70
Şekil 6.2. Soif ışık mikroskobu.	71
Şekil 6.3. Halojen ışık kaynağında alınan görüntü, led ışık kaynağı ile alınan görüntü.	72
Şekil 6.4. Fez Panda II kontrol kartı.	73
Şekil 6.5. Arduino Mega 2560 ve Ramps 1.4.	74
Şekil 6.6. Easydriver adım motoru sürücüsü, A4988 adım motoru sürücüsü.	75
Şekil 6.7. Elektronik kontrol ünitesinin görünümü.	75
Şekil 6.8. Led ışık kaynağı ve ışık parlaklığını kontrol eden potansiyometre.	76
Şekil 6.9. Kameradan alınan görüntülerin RGB ve Intensity bandındaki histogramları.	77
Şekil 6.10. Tarama yapılacak preparat alanı.	77
Şekil 6.11. Şaryonun 3B modellenmiş çizimi.	79
Şekil 6.12. Eksenlerde kullanılan durdurma modülü.	80
Şekil 6.13. Kullanılan minyatür ray ve araba.	80
Şekil 6.14. Üretilen Delta tipi 3D yazıcı.	82
Şekil 6.15. Odaklama yapan adım motoru ve taşıyıcı tabla motoruna ait durdurma modülü tutucusu, preparat taşıyıcı adım motoruna ait durdurma modülü tutucusu, ince ayar vidası ve adım motoru şaftını birleştiren kaplin, taşıyıcı tablayı hareket ettiren vidalı mil ve adım motorunu birleştiren parça, doğrusal hareketi taşıyıcı tablaya aktaran parça, doğrusal hareketi preparat taşıyıcıya aktaran parça, preparat taşıyıcı	83
Şekil 6.16. Sistemin genel görünüşü.	84
Şekil 6.17. Kontrol kartına gönderilen örnek komut dizisi.	86
Şekil 6.18. Elle kontrol arayüzü.	87
Şekil 6.19. Ayarlar penceresi görünümü.	88
Şekil 6.20. Otomatik/elle metafaz taramaya olanak sağlayan arayüz.	89

Şekil 6.21. Otomatik metafaz tarama fonksiyonu akış şeması.	90
Şekil 6.22. Otomatik tarama öncesi preparata ait bilgi giriş penceresi.	91
Şekil 6.23. Preparatın taranması için oluşturulan matris.	91
Şekil 6.24. Genel odaklama algoritmasına ait akış şeması.	93
Şekil 6.25. Tek yönlü odaklama yapılırken uzaklık ve odak değerleri.	94
Şekil 6.26. İki yönlü odaklama akış şeması.	95
Şekil 6.27. İki yönlü odaklama yapılırken uzaklık ve odak değerleri.	96
Şekil 6.28. Metafiltre akış şeması.	97
Şekil 6.29. a-Orijinal görüntü, b-kontrast germe ve griye çevirme uygulanan görüntü, c-bradley yerel eşikleme uygulanan görüntü, d-kenar çıkarma uygulanan görüntü, e-aşındırma ve genişletme uygulanan görüntü, f-metafaz filtresi uygulandıktan sonra kalan metafaz görüntüsü.	98
Şekil 6.30. Taranan metafazlardan seçim yapılmasını sağlayan arayüz.	98
Şekil 6.31. Bulunan metafazların veri tabanına kaydedilmesi.	99
Şekil 6.32. Resimden bul arayüzü.	99
Şekil 6.33. Kromozom analizi akış şeması.	100
Şekil 6.34. Orijinal görüntü, modifiye edilmiş basamaklı binom eşikleme yapılmış görüntü.	102
Şekil 6.35. Orijinal görüntü, standart sapmaya dayalı eşikleme yapılmış görüntü.	103
Şekil 6.36. Parça filtresi sonucu elde edilen ve sonrasında çerçeve eklenen görüntü parçaları.	104
Şekil 6.37. İkili kromozom görüntülerinin iskeletlerinin çıkarımı.	104
Şekil 6.38. Komşu analizine göre uçların belirlenmesi.	105
Şekil 6.39. Uç analizi sonrası oluşan sınıflandırma.	105
Şekil 6.40. Dallanma yerlerinin tespit edilmesi için oluşturulan çemberler.	106
Şekil 6.41. Uç sayısına göre çizilen üçgenler.	107
Şekil 6.42. Dokunan ve çakışan kromozomların bölütlenmesi.	107
Şekil 6.43. Parçalama işlemi için oluşturulan bilgi ekranı.	108
Şekil 6.44. Büyük parça düzeltmesi yapılacak kromozomun belirlenmesi.	109
Şekil 6.45. Büyük parça düzeltmesi için kesim yerinin belirlenmesi.	110
Şekil 6.46. a- Büyük parçalama yapılan orijinal görüntü, b- kesim yerinin belirlenip kesimin yapılması, c- tekrar birleştirme yapılması.	110
Şekil 6.47. Parçalı düzeltme yapılacak kromozomun belirlenmesi, tam düzeltme yapılacak kromozomun belirlenmesi.	111

Sayfa

Şekil 6.48. Parçalı düzeltme yapılan orijinal görüntü, kesim noktalarının belirlenmesi, düzeltilen kromozom görüntüsü.	111
Şekil 6.49. Tam düzeltme için düzeltme açısının belirlenmesi.	112
Şekil 6.50. Tam düzeltme yapılan orijinal görüntü, düzeltilen kromozom görüntüsü.....	112
Şekil 6.51. Düzeltme yapılan kromozom görüntüleri.	112
Şekil 6.52. Kromozom analizi arayüzü.	114
Şekil 7.1. Üretilen motorize şaryoyu mikroskoba bağlayan alt bağlantı tablası. ...	116
Şekil 7.2. Ölçülen yeniden konumlanma değerlerinin gösterilmesi.	117
Şekil 7.3. X ve Y eksenleri arasındaki zaman serisi grafiği.	118
Şekil 7.4. X eksenindeki ölçümlerin Y eksenine göre dağılımları.....	119
Şekil 7.5. Bulunan nesnelere ve metafaz plakları.	122

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 6.1. DigiRetina 16 bilimsel kameraya ait özellikler.	70
Çizelge 6.2. Soif binoküler mikroskop özellikleri.	72
Çizelge 6.3. Açıların sınıflandırılması.	109
Çizelge 7.1. Sistem üretimi maliyet çizelgesi.	117
Çizelge 7.2. Yeniden konumlanma ölçümlerine ait hata analiz sonuçları.	118
Çizelge 7.3. Konumlanma hata sonuçları.	120
Çizelge 7.4. Otomatik şaryoya ait teknik özellikler.	120
Çizelge 7.5. Metafaz bulucu sistemlerin tarama hızı bakımından karşılaştırılması.	121
Çizelge 7.6. Metafaz bulucu sistemlerin süre bakımından karşılaştırılması.	121
Çizelge 7.7. Metafaz tarama sonuçlarına ait karışıklık matrisi.	123
Çizelge 7.8. Metafaz bulucu sistemlerin doğruluk bakımından karşılaştırılması.	124
Çizelge 7.9. Metafaz bulucu sistemlerin TPR bakımından karşılaştırılması.	124
Çizelge 7.10. Metafaz bulucu sistemlerin FPR bakımından karşılaştırılması.	124
Çizelge 7.11. Kromozom olarak tespit edilen nesnelere ait karışıklık matrisi.	125
Çizelge 7.12. Dokunan kromozom grubu olarak tespit edilen nesnelere ait karışıklık matrisi.	126
Çizelge 7.13. Dokunan/çakışan kromozom grubu olarak tespit edilen nesnelere ait karışıklık matrisi.	127

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

- ° : Derece
A : Amper
G_{ij} : Piksel
I(i,j) : İlgili piksel parlaklık değeri
ixj : Sayısal görüntü boyutu
mA : Miliamper
V : Volt
W : Watt
X-Y : İki boyutlu düzlemde hareket yönleri
X-Y-Z : Üç boyutlu düzlemde hareket yönleri

KISALTMALAR

- 3B : Üç Boyutlu
CAD : Computer Aided Detection (Bilgisayar Destekli Tespit)
CNC : Computer Numerical Control (Bilgisayarlı Sayısal Denetim)
DCE : Discrete Curve Evolution (Ayrık Eğri Açılımı)
DNA : Deoksirübo Nükleik Asit
DSP : Digital Signal Processor (Sayısal Sinyal İşlemcisi)
FISH : Floresan In Situ Hibridizasyon
FNR : False Negative Rate (Yalancı Negatif Oranı)
FPR : False Pozitif Rate (Yalancı Pozitif Oranı)
FPS : Frame Per Second (Saniyedeki Çerçeve Sayısı)
GB : Gigabayt
GVF : Gradient Vector Flow (Gradyan Vektör Akışı)
HR : High Resolution (Yüksek Çözünürlük)

- IOT : Internet Of Things (Nesnelerin İnterneti)
- ISCN : International System For Human Cytogenetic Nomenclature (İnsan Sitogenetik Terminolojisi İçin Uluslararası Sistem)
- KB : Kilobayt
- MP : Megapiksel
- NPV : Negative Predictive Value (Negatif Belirleyicilik Değeri)
- PLA : Polilaktik Asit
- PPV : Positive Predictive Value (Pozitif Belirleyicilik Değeri)
- RGB : Red-Green Blue Color Space (Kırmızı-Yeşil-Mavi Renk Uzayı)
- RNA : Ribo Nükleik Asit
- ROC : Recevier Operating Characteristic (Alıcı İşletim Karakteristiği)
- TNR : True Negative Rate (Gerçek Negatif Oranı)
- TPR : True Positive Rate (Gerçek Pozitif Oranı)
- USB : Universal Serial Bus (Evrensel Seri Veriyolu)
- WPF : Windows Presentation Foundation
- XAML : EXtensible Application Markup Language (Genişleyebilir Uygulama İşaretleme Dili)
- YSA : Yapay Sinir Ağı

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Genetik düzensizlikler, konjenital ve gelişimsel anomalilerin nedenlerindedir. Anormal kromozom yapısı perinatal ölümlere ve kayıplarla sonuçlanan gebeliklere yol açabilir. Doğum öncesi döneme ait tanılarda kromozom analizi sıkça kullanılmaktadır. Fetüse ait kromozomların 450 bant düzeyinde (1200 banda kadar analiz yapılabilir) yapılan analizi başta trizomi 21 olmak üzere birçok kromozomal bozukluğun tespitinde en çok kullanılan yöntem olma özelliği ile ilk başvurulanlar arasındadır. Fetüse ait kromozomların analizi, hücrelerin metafaz aşamasında durdurulmasıyla yapılır. Çünkü kromozomların en iyi görüntülenebildiği aşama hücrenin metafaz aşamasıdır. Bu aşamada kromatin iplik kısalıp kalınlaşarak, kromozom şeklinde hücrenin merkezinde ve ekvatorial düzlemde sıralanmış durumda bulunur. Bu özel biçimlenim metafaz plağı adını alır.

Metafaz plağı görüntülerinin, mikroskop desteğiyle, bilgisayara aktararak, yazılım yardımıyla analiz edilmesi tüm hastane ve laboratuvarlarda kullanılan ana yöntemdir. Bu aşamada bilgisayara aktarılmış görüntülerde, kromozomları diğer kromozom dışı artıklardan ayıran yazılımların becerileri ve güvenilirlikleri büyük önem taşımaktadır. Ayrıca metafaz preparatları hazırlanırken kromozomların hücrelerden bağımsız hale getirilmesi (bölütlenmesi) aşamalarında kaçınılmaz olarak üst üste binme (çakışma), katlanma, yapışma (dokunma) gibi istenmeyen biçimlenmeler oluşmaktadır. Bu biçimlenmelerin düzeltilip bölütlemenin tamamlanmasında büyük oranda kullanıcının yaptığı düzeltmelere ve yönlendirmelere ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada, insan metafaz kromozomlarının sınıflandırılmasında kullanılabilecek genetik tanı-destek sisteminin, elektro-mekanik ve kontrol yazılımı olarak tasarlanması, düşük maliyetli olarak üretilmesi ve analiz yazılımlarının geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Karyotip analizi yapılırken bir insana ait preparatlardan belli oranda incelenmesi esastır. Her preparattan ise belli sayıda metafaz plağı, analiz için sabit sayısal görüntü formatına getirilmelidir. Bu süreci tamamen otomatik hale getirecek, metafaz plaklarını bulup analiz edilebilir vasıfta olanlarını analiz için saklayabilen bir metafaz bulucunun yapılması alt amaçlar arasındadır. Metafaz plaklarının tam otomatik olarak belirlenmesi, koordinatlarının alınması ve gerektiğinde yeniden bulunması için gerekli olan hareket sisteminin tasarlanması, elektro-mekanik olarak kurulması ve üretilmesi, bu sayede metafaz plaklarının preparatlardan seçimini insan etkisinden ve olası hatalardan uzaklaştırıp tamamen rastlantısal hale getirmek hedeflenmektedir. Ayrıca üretilen motorize mikroskop şaryosu ile manuel mikroskoplar kolayca bilgisayar bağlantılı motorize hale getirebilir.

Metafaz plaklarının, hücre artıkları, boya kalıntıları gibi artefaktlardan temizlenerek sadece metafaz plaklarının görüntülenebilmesi için gerekli nesne tanıma filtresinin oluşturulması alt amaçlardandır. Tespit edilen metafaz plakları içinde saçılmış durumda bulunan kromozomların insan müdahalesine gerek kalmadan bölütlenebilmesi için, plak dâhilinde artefaktların kromozomlardan ayrılmasına olanak sağlayan tam otomatik yeni bir eşikleme metodunun geliştirilmesi hedeflenmektedir.

Karyotipin oluşturulması esnasında dokunan, kendi üzerinde katlanan ya da çakışan kromozomların insan müdahalesi gerektirmeden birbirinden ayrılıp tanımlanabilmesi için gerekli desteği sağlayabilen yazılımının tasarlanması hedeflenmektedir.

Bölütlenen kromozomların ön sınıflandırılmalarının yapılabilmesi için kromozomları düzleştiren ve benzerliklerine göre eşleştiren destek yazılımının oluşturulması alt amaçlardandır.

Günümüzde medikal aletlerde asıl maliyet faktörü olan yazılımın tamamen üniversite bünyesinde yapılacak olması, hem millileştirme sürecinde (rahat anlaşılır olma, ülkemizdeki yaygın işletim sistemine uygunluk, her an isteğe göre yeniden düzenlenebilme, düzenli bakım ve düzenli güncelleme, geliştiriciye direk ulaşma ve

kişiyekuruma özel çözümler geliştirebilme yeteneği vb.) hem de rekabet ve Türk Malı'nın gücünü pekiştirme sürecinde önde gelen amaçlardan biridir.

Kromozomların isimlendirilmesi, ISCN (İnsan Sitogenetik Terminolojisi İçin Uluslararası Sistem) notasyonunda yazılması ve olası ön tanıların belirlenmesi kapsam dışı bırakılmıştır.

Hazırlanan bu çalışma, genel itibarıyla literatür taraması ve deneysel çalışmalar olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Ancak, literatür taraması ve deneysel çalışmalar kendi içinde farklı konu başlıkları altında oluşturulmaya çalışılmıştır.

Çalışmanın birinci bölümünde (Giriş), çalışmanın amacı ve alt amaçları tanıtılarak çalışma kapsamı hakkında kısa bilgilendirme yapılmıştır.

Çalışmanın ikinci bölümünde, kromozomların tanımı, morfolojisi, sitogenetik analiz ve kromozom grupları, yapısal ve sayısal kromozom anomalileri, anomalilerin neden olduğu durumlar, metafaz bulucular ile kromozomların görüntülenmesinde karşılaşılan güçlükler ve geliştirilen çözümler, geniş bir literatür taramasıyla anlatılmıştır.

Çalışmanın üçüncü bölümünde, mikroskopların tanımı yapılarak mikroskop çeşitleri, ışık mikroskobuna ait bölümler ve motorize mikroskop şaryosu tanıtılmıştır.

Çalışmanın dördüncü bölümünde, doğrusal hareket sistemleri ve bu sistemleri oluşturan bileşenler iki alt başlıkta verilmiştir. Mekanik bileşenler olarak adlandırılan vidalı miller ve somunlar, minyatür raylar ve arabalar ve adım motorları ile bu mekanik bileşenlerin hareket edebilmesi için gerekli olan elektronik kontrol kartı, adım motoru sürücüsü, durdurma modülleri de bu bölümde tanıtılmıştır.

Çalışmanın beşinci bölümünde, görüntü işleme aşamaları olan görüntünün elde edilmesi, griye çevirme yöntemleri, histogram ve kontrast işlemleri, eşikleme yöntemleri, morfolojik işlemler, kenar çıkarma yöntemleri ve nesne işlemleri bu bölümde tanıtılmıştır.

Çalışmanın altıncı bölümünde, yapılan deneysel çalışma, geliştirilen ürünler ve kullanılan yöntemler, materyal ve yöntem olarak iki farklı alt başlık altında anlatılmıştır.

Çalışmanın yedinci bölümünde, deneysel çalışmalar sonucunda bulunan veriler açıklanarak, elde edilen bulgular, deneysel çalışmanın amacına uygun bir biçimde yorumlanmıştır.

Çalışmanın sekizinci bölümünde ise deneysel çalışmaların nihai sonuçlarına, önerilere, yapılan çalışmanın bilim dünyasına katkılarına ve gelecekte yapılabilecek çalışmalara değinilmiştir. Kaynaklar dizini bu bölümden sonra verilmiştir.

BÖLÜM 2

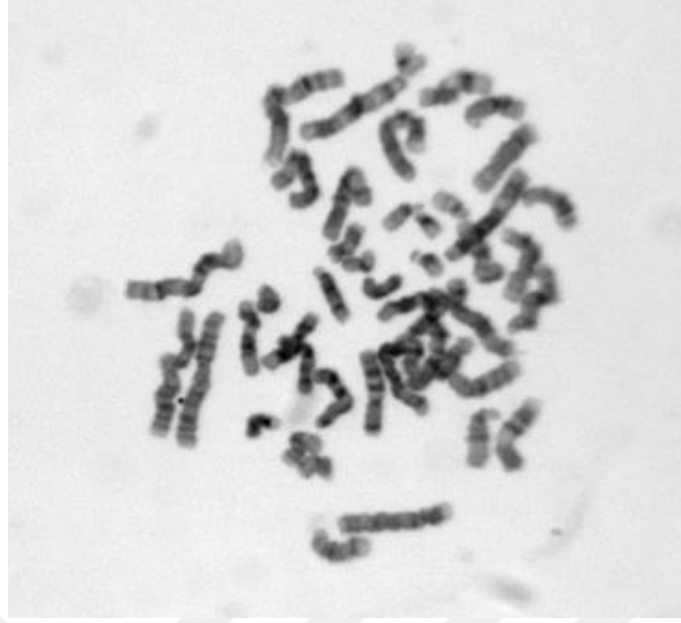
KROMOZOMLAR VE SİTOGENETİK ANALİZ

Canlılarda, virüsler de dâhil olmak üzere genetik materyal olarak tanımlanan nükleik asitler vardır. Bu nükleik asitler DNA (Deoksirübo Nükleik Asit) ve RNA (Ribo Nükleik Asit) olarak bilinir. DNA molekülleri, gen adı verilen birimlerden oluşmaktadırlar. Genlerin davranışları, hücrelerin metabolik hareketlerini yönetirler. DNA, gen dizileriyle birlikte kromozomlar adı verilen yapılar halinde düzenlenmişlerdir. Kromozomlar genetik bilginin aktarılmasında görev alırlar [1].

Sitogenetik analiz, kromozom yapılarının ve kalıtımlarının incelenmesidir. 50 yıldan fazla bir süredir, kromozom anomalileri (kromozomların sayısı veya yapısında görünür değişiklikler), kromozom bozuklukları olarak adlandırılan bir dizi klinik durumu açıklamaktadır. Genetik materyalin tümüne odaklanarak, artan öneme sahip kromozom analizi, klinik tıptaki sayısız alanda çok önemli bir tanı yöntemidir [2].

2.1. KROMOZOM TANIMI

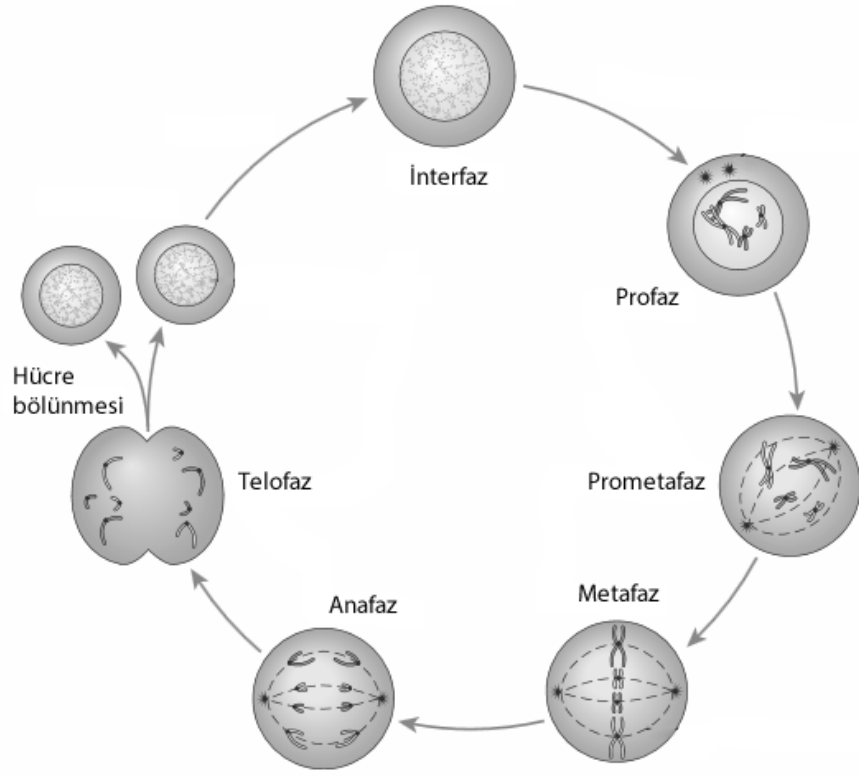
Karakteristik özelliklerin kuşaklar arası aktarımını sağlayan yapıya gen adı verilir. Genler DNA sarmalı boyunca sıralanırlar. Hücre çekirdeğinde yer alan nükleoproteinler kendine özgü bir boyanma karakteristiğine sahiptir. Karyokinez yoluyla çoğalan hücrelerde yer alan bu yapılara kromozom adı verilir [3]. Kromozomlar, bitkiler, hayvanlar ve insanlara ait genetik bilgileri taşır ve latince olarak “renkli yapı” anlamına gelir [4]. Kromozomlar hücre bölünmesi sırasında özel boyalarla boyandığında ışık mikroskobu ile görülebilir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Işık mikroskobunda elde edilen kromozom görüntüsü (birbirini izleyen koyu ve açık yapılar).

Kromozomlar normal bir hücrede kromatin ağ olarak bulunurlar ve belirgin değildirler. Hücre bölünmesi aşamalarından profaz aşamasından itibaren kıvrılmaya ve kalınlaşmaya başlar. Metafaz evresinde ise en iyi görüntülenme sağlanır çünkü kromozomlar bu aşamada en kısa boya ve en fazla kalınlığa erişerek canlıya özgü bir sayı ve şekle dönüşür (Şekil 2.2) [5].

İnsanda 46 adet kromozom bulunur. Bunlardan 44 tanesi otozomal genleri bulunduran otozomal kromozomlardır. Bu kromozomlardan birer çift bulunur ve bu çiftler homolog kromozomlar olarak adlandırılıp biçimleri aynıdır. Otozomal kromozomlar sayı ile ifade edilir. Diğer iki kromozom ise kadında (XX), erkekte (XY) olarak bulunan ve harfle ifade edilen cinsiyet kromozomlarıdır. Bu kromozomlar gonozomal genleri taşır ve gonozom kromozomları olarak adlandırılır [6].



Şekil 2.2. Mitoz bölünme aşamaları [2].

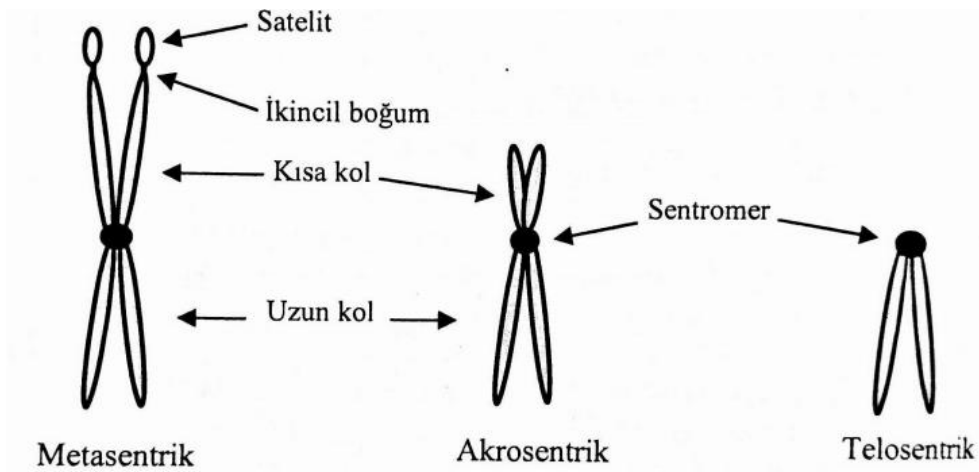
2.2. KROMOZOM MORFOLOJİSİ

Kromozomlar, hücre bölünmesi sırasında iğ ipliklerinin kromozoma bağlandığı yer olan sentromerin pozisyonuna göre farklı gruplar olarak isimlendirilir. Sentromer, kromozom kolları arasında sıkıştırılmış bir boğum olarak tanımlanmaktadır [7].

Sentromerler, bir kromozomda yer alan, kromozomu uzun kol (q kolu) ve kısa kol (p kolu) olmak üzere ikiye ayıran ve tekrarlayan diziler içeren konstitütif heterokromatin yapılar halinde bulunur. Bir kromozom, iki kromatidini bir arada tutan sentromer ile metafaz evresinde iğ ipliklerine tutunur. İğ iplikleri anafaz evresinde kromatidlerin iki ayrı kutba çekilmesinden de sorumludur. Bu nedenle hücre bölünmesinde kalıtsal unsurların yavru hücrelere eşit dağılımında önemli rol oynarlar. İnsan kromozomları, sentromer konumlarına ve boylarına göre metasentrik, submetasentrik ve akrosentrik olmak üzere üç farklı şekilde bulunur (Şekil 2.3). Bir kromozomda bir sentromer ve iki telomer bölgesi bulunur [8].

Her kromozom çiftinin bir üyesi erkekten, diğer üyesi ise dişiden gelir. İnsana ait kromozomların analiz edilebildikleri en iyi süreç, hücre bölünmesinin metafaz evresidir. Şekil 2.3'te verilen normal bir kromozomda gözlenen morfolojik oluşumlar şunlardır [3].

- *Sentromer*: Boyandığında en soluk olarak kalan kesimdir. Hücre bölünmesi sırasında iğ ipliklerine tutunmayı sağlayan bu yapılar her kromozomda bir adettir ve kromozom üzerinde konumlanmalarına göre insan için kromozomları üç gruba ayırır.
 - *Metasentrik Kromozom*: Sentromeri ortada olan ve iki kolu neredeyse bir birine eşit olan kromozomlardır.
 - *Submetasentrik Kromozom*: Sentromeri merkezden uzak ve iki kolu bir birine eşit olmayan kromozomlardır.
 - *Akrosentrik Kromozom*: Sentromeri kromozomun bir ucuna çok yakın olan kromozomlardır.
- *Satelit (Uydu)*: Belirli bazı kromozomların kısa kollarına ince bir sap ile bağlanan kromatin materyalidir.
- *Sekonder Darlık*: Sentromerin aksine tüm kromozomlarda görülmeyen bir yapıdır. Sentromerden daha açık boyanırlar ve kromozomun uzun kolunda olup sentromere bitişiktirler.



Şekil 2.3. İnsan kromozomlarının bilinen üç farklı görünümü [7].

2.3. SİTOGENETİK ANALİZ

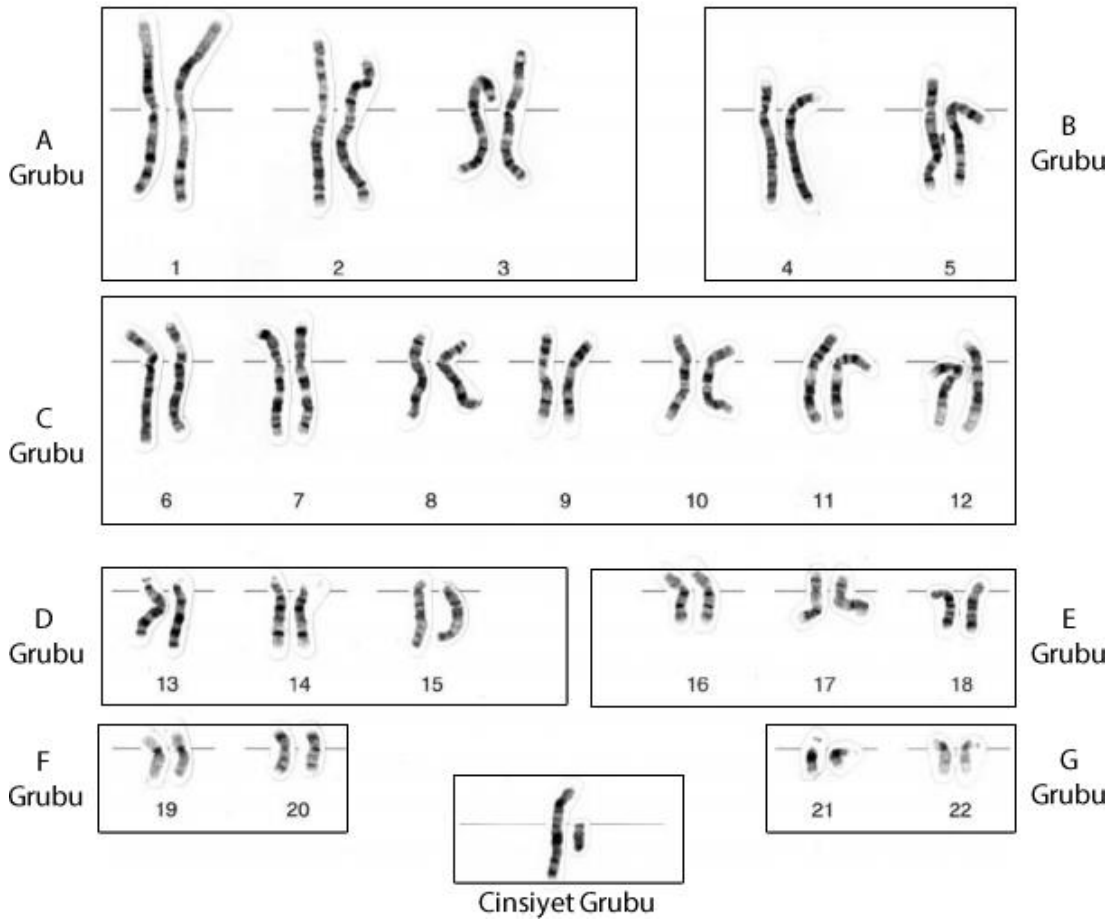
Bir türün kromozomlarının sayısı dışında büyüklük ve biçimi de sabittir. Bu içeriğe karyotip adı verilir. Karyotipler türler arası değişiklik gösterirken, aynı türe ait sağlıklı bireylerde aynıdır [9].

Sitogenetik analiz (kromozom analizi, karyotip analizi), insan genomunu bütün olarak incelemeyi mümkün kılmaktadır ve kromozomların sayısal ve yapısal anomalilerinin tespiti için kullanılır. Rutin analizler için 400-550 bant düzeyinde çözünürlük yeterli olurken HR (Yüksek Çözünürlük) yöntem 1200 bant düzeyine kadar incelemeyi mümkün kılmaktadır. Mitoz aşamasındaki hücrelerin, kolşisin adı verilen kimyasal yardımıyla metafaz aşamasında durdurulması ve kromozomların boyanıp mikroskop altında görüntülenmesi esasına dayanır. Kromozomlar; boyut ve şekillerine göre dizilip incelenir [10].

Kromozomların çeşitli kimyasallar yardımıyla belirginleştirilmesine boyama ya da bantlama adı verilir. Kromozom bantlanmasının en yaygın yöntemleri G- (giemsa), R- (reverse), C- (centromete) ve Q- (kinakrin) bantlamasıdır. Güçlü boyanma gösteren bantlara pozitif bantlar denir. Bununla birlikte boyama paternleri sadece siyah beyaz ile sınırlı değildir, farklı yoğunluklara boyanabilir. G-pozitif bantlara genellikle sadece G-bantları denir. Q-bantları, G-bantlarına eşdeğer kabul edilir. Kromozom tanımlama (karyotiplendirme) ve kromozom anomalilerinin belirlenmesi için en sık kullanılan teknikler G ve R bantlamasıdır. Bu, insan genetiği ve tıbbi üzerinde FISH (Fluoresan In Situ Hibridizasyon) yöntemi ile birlikte yüksek bir etkiye sahiptir [11].

İnsanda 46 adet kromozom bulunmaktadır. Yapılan bilimsel çalışmalar kromozomların normal ve anormal yapıları hakkında çok çeşitli bilgiler vermiştir. Bu kromozomlar içinde 24 farklı tip ve 23 çift vardır. Bulunan 23 çiftten 22 çifti otozomal kromozomlar olarak adlandırılır ve büyükten küçüğe doğru sıralanırlar. Diğer çift ise cinsiyet kromozomu olarak adlandırılır. Erkek bireylerde XY olarak, dişi bireylerde ise XX olarak bulunur [2].

Otozomal kromozom çiftleri (A, B, C, D, E, F, G) olmak üzere yedi gruba ayrılırlar (Şekil 2.4). Bu kromozomlar en büyükten başlamak üzere 1-22 arasında numara olarak sıralanırlar. A grubunda, sentromerleri ortaya yakın en büyük üç metasentrik kromozom çifti, B grubunda, sentromerleri merkezden uca doğru yaklaşan iki büyük submetasentrik kromozom çifti, C grubunda, B grubundaki kromozomlardan daha küçük yedi submetasentrik kromozom çifti, D grubunda, sentromeri iyice uca yaklaşmış üç akrosentrik kromozom çifti, F grubunda, iki küçük metasentrik kromozom çifti, G grubunda ise çok daha küçük iki akrosentrik kromozom çifti bulunur. Cinsiyet kromozomlarından X kromozomu C grubu kromozomlarına, Y kromozomu ise G grubu kromozomlarına benzer, fakat karyotipin sonunda gonozomal kromozomlar şeklinde verilirler [3].



Şekil 2.4. Erkek bireye ait kromozom grupları [2].

2.3.1. Yapısal Kromozom Anomalileri

Yapısal anomaliler kromozom kırıkları sonrası ortaya çıkmaktadır. Kromozomlar kendiliğinden kırılabileceği gibi iyonize edici radyasyon, fiziksel stres ya da kimyasallar ile kırılabilir. Kromozom kırıldığı zaman iki kararsız yapışkan uç ortaya çıkar. Bu yapışkan uçlar, kırılma yaşamayan kromozomlara yapışamazlar. Eğer kırılan uçlar tekrar kırılma yerlerinden birleşirse herhangi bir anomali oluşmaz, Ancak çoklu kırılma yaşanır ve farklı kromozom parçaları bir araya gelirse veya kırıklar yapışamaz ise yeni düzenlenmiş kromozomlar ortaya çıkmaktadır [1, 7–9].

2.3.1.1. Translokasyon

Yer değiştirme olarak bilinen kromozom materyallerinin kromozomlar arasındaki değişimleridir. Farklı kromozomlarda olan kırıkların kendi parçaları ile değil, farklı kromozomlar ile birleşmeleri sonucu ortaya çıkar. Bu değişim genellikle DNA'da kayba neden olmaz fakat gen düzeyinde pek çok anomaliye neden olabilir. Ancak bu durum gelecek nesil için önemlidir. Translokasyonlar oluş durumlarına göre resiprokal, robertsonian ve insersiyon olarak üç gruba ayrılır. Resiprokal translokasyon, iki farklı kromozom arasında parça değişimi olarak tanımlanmaktadır. Robertsonian translokasyon, iki akrosentrik kromozomun uzun kolları arasında meydana gelir ve sonucunda tek bir metasentrik ya da submetasentrik kromozom ortaya çıkar. İnsersiyon translokasyon ise kromozomda meydana gelen aralıklı iki kırılma o kromozomdan parça ayrılmasına neden olur. Bu kopan kromozom parçası tek kırığın olduğu başka bir kromozoma eklenir [1, 8, 12]. ISCN notasyonunda ifade edilirken kısaltması *t* olarak verilir [13].

2.3.1.2. Delesyon

Bir kırılma veya kopma sonucu kromozomun parçasının eksilmesidir. Bu parça eksilmesi, kısa ya da uzun koldan olabilir. Ayrılan parçanın büyüklüğü ve üzerinde taşıdığı genlerin sayısına bağlı olarak ortaya çıkan klinik bulgular değişebilir [1, 8]. ISCN notasyonunda ifade edilirken kısaltması *del* olarak verilir [13].

2.3.1.3. Duplikasyon

Kromozom üzerinde bulunan bir segmentin, bulunduğu kromozom üzerinde kendini bir ya da birden çok tekrarlaması sonucu ortaya çıkan yapısal bozukluktur. Duplikasyona uğramış segment, kendi bölgesine aynı şekliyle yerleşebilir, kendi bölgesine ters dönerek yerleşebilir veya kendi bölgesinden farklı bir bölgeye yerleşebilir [3, 8, 12]. ISCN notasyonunda ifade edilirken kısaltması *dup* olarak verilir [13].

2.3.1.4. İnversiyon

Kromozom üzerinde iki kırık oluşması ve bu kırıklar arasında kalan birimin ters dönerek kendi bölgesine yerleşmesine inversiyon adı verilir. Oluşan kırıklar sadece kollardan birinde oluşmuş ise genlerin sırası değişir ancak yapısı ve sentromerin yeri değişmez. Bu tip oluşumlara parasentrik inversiyon adı verilir. Kırıklar sentromerin farklı tarafında meydana gelirse (sentromeri içine alacak şekilde) perisentrik inversiyon olarak adlandırılır [8, 9, 12]. ISCN notasyonunda ifade edilirken kısaltması *inv* olarak verilir [13].

2.3.1.5. Halka Kromozom

Kromozomun her iki kolunda oluşan kırık sonrası iki ucun birleşerek halka görünümü alması sonucu ortaya çıkan anomalidir [3]. Bazı durumlarda genetik kayıp olabileceği gibi olmadan da gerçekleşebilir. ISCN notasyonunda ifade edilirken kısaltması *ring* olarak verilir [13].

2.3.1.6. İzokromozom

Kromozomun bir kolunun iki kopyasını barındıran yapıya izokromozom adı verilmektedir. Tek bir sentromere bağlı ve birbirlerinin ayna görüntüsü formunda oluşum görülür [12]. ISCN notasyonunda ifade edilirken kısaltması *i* olarak verilir [13].

2.3.2. Sayısal Kromozom Anomalileri

Kromozom sayılarında artış ya da azalma olarak ifade edilebilen bu anomali tipi, poliploidi ve anoploidi olmak üzere ikiye ayrılır. Poliploidiler, türün kromozom setinin tam sayı katları şeklinde artışıdır. Triploidi, kromozom sayısının üç katı oranında artması, tetraploidi ise dört katı oranında artmasıdır. Poliploidiler, genellikle fetal kayıplarla son bulur ve canlı doğumlarda nadir görülürler.

Anoploidi, kromozom sayılarının katları kadar olmayan artma ya da azalmalardır. Anoploidi, poliploidiye göre daha sık ortaya çıkar ve kromozomal sendromların büyük bölümünde gözlenir. Monozomi çift kromozomlardan birinin kaybolması, trizomi ise kromozom çiftine ek olarak bir kromozomun daha bulunmasıdır [1, 3, 12].

2.3.3. Kromozom Anomalilerinin Sebep Olduğu Durumlar

Kromozomal anomaliler perinatal ölümlere, sağlıklı bireylerin doğumlarına yol açtığı gibi fetal kayıplarla sonlanan gebeliklere (abortus) de neden olabilir.

2.3.3.1. Down Sendromu

Genetik düzensizlik sonucu 21. kromozomdan fazladan bir tane daha bulunması sonucu ortaya çıkan ve Trizomi 21 olarak ta bilinen kromozom anomalisidir. Sendrom olarak görülen durumlarda tipik olarak birçok fenotip özellik bulunur. Bu sendromu taşıyan insanların ortak özellikleri arasında zihinsel kavramada bozukluklar, tipik yüz şekli, yuvarlak baş, ağzın açık kalmasına neden olan kısmen çıkık kırışık dil, kısa ve geniş eller yer alır. Ancak her sendrom taşıyan bireyde bu özelliklerin tamamı görünmeyebilir. Down sendromu gebelik sırasında ya da doğumda tanımlanabilen bir rahatsızlıktır ve yaklaşık her 800 canlı doğumda görülür [1, 14].

2.3.3.2. Patau Sendromu

Trizomi 13 olarak ta bilinen sendrom, 13 numaralı kromozomdan fazladan bir tane daha olması sonucu ortaya çıkar. Hasta bireylerde, zihinsel gerilik, sağırılık, yarık dudak ve damak, çoklu parmak yapısı gözlenir. Bu bireylerin otopsilerinde, birçok organda doğuştan gelen bozukluk bulunmuştur. Bireyler ortalama üç ay kadar yaşarlar. 19 000 doğumda bir görülen bu nadir sendroma yol açan kromozomun kaynağının anne, baba veya her ikisi olup olmadığı saptanamamıştır [1].

2.3.3.3. Edwards Sendromu

Down sendromundan sonra en çok görülen anomalidir. Trizomi 18 olarak ta bilinen sendrom 18 numaralı kromozomdan fazladan bir tane daha olmasıyla ortaya çıkar. Fenotip olarak down ve patau sendromlu bireylere benzer ve normal yaşam süreleri kısadır. Bu bebekler normal bebeklere göre daha küçüktür. Kulakları normalden düşük ve şekilleri bozuktur. Bu bireylerde kalça çıkığı, basık çene ve kalın boyun en çok gözlenen belirtileridir. Genelde bireylerin yaşam süresi kısadır ve ölüm nedenleri arasında zatürre ve kalp yetmezliği büyük yer kaplar [1].

2.3.3.4. Cri-Du-Chat Sendromu

İnsanlarda otozomal monozomi doğum vakaları rapor edilmemiştir. Otozomal kromozom eksikliğine sahip bireyler oluşmakta, ancak fetal gelişimlerini tamamlayamamaktadırlar. Bunun yanında, kromozomunun bir kısmını kaybederek kısmi monozomi gösteren bireyler bulunmaktadır. Bu sendromlardan birisi de kedi miyavlaması ya da kedi çığlığı ismiyle biline Cri-du-chat sendromudur. Bu sendromda beşinci kromozomun kısa kolunun tamamen ya da bir parçasının eksik olduğu raporlanmıştır. Bu sendromu taşıyan bireylerde doğum ağırlığı ve zayıf büyüme, kalp komplikasyonları, mide-bağırsak semptomları ve zekâ geriliği görülür. Nefes borusunun ağzında ve larinksde gelişim bozukluğu sonucu birey, sendroma adı verilen kedi miyavlaması sesi çıkarır [1].

2.3.3.5. Klinefelter Sendromu

Hücre bölünmesi sırasında eşey kromozomlarından X'in ayrılmaması durumundan kaynaklanan bir sendromdur. Bu bireyler genellikle erkek olup, genital organlara sahip olmalarına rağmen testisleri körelmiştir ve sperm üretmede başarısızdırlar. Genellikle uzun boy, kol ve bacaklı olup, büyük el ve ayaklara sahiptirler. Kromozomun ayrılmaması sonucu iki tane X kromozomu taşıyan bir yumurta hücresinin, normal bir sperm ile döllenmesi ile meydana gelir. Normalde 46,XX olması gereken birey, bu sendromda 47,XXY olarak görünür. Her ne kadar bazı erkeksi gelişmeler olsa da, kadınımsı cinsel gelişim tam olarak baskılanmamıştır. Göğüslerin hafifçe büyümesi yaygındır ve kalça kısımları yuvarlaktır. Sesleri erkeklere nazaran daha incedir [1, 2].

2.3.3.6. Turner Sendromu

Bu sendroma sahip bireyler çoğunlukla monozomiktir ve cinsiyet kromozomu olarak sadece X kromozomuna sahiptirler. Karyotipleri 45,X şeklindedir. Dişi dış genital organlara sahiptirler fakat yumurtalıkları körelmiştir. Diğer belirgin özellikler arasında kısa boy, göğüs kafes farklılığı, kısırılık olarak sayılabilir. Zekâ düzeyi sıklıkla normaldir [1].

2.3.3.7. Angelman Sendromu

Anneden gelen 15 numaralı kromozomdaki bir bozukluktan meydana geldiği sanılan nörogenetik bir sendromdur. Sendromun genel bulguları zekâ geriliği, yürüyüş koordinasyon bozukluğu ve uygunsuz gülümsemeler olarak sayılabilir. Hatta bu sebeple hastalık "mutlu kukla" sendromu olarak ta bilinir. Tanı genellikle karakteristik davranış ve özelliklerin belirginleştiği yaşlar arasında pediyatrist ve sitogenetik uzmanları tarafından gözlenerek ve kromozom analiz sonuçları izlenerek konulur [2].

2.3.3.8. Williams Sendromu

Williams sendromu yedi numaralı kromozomun uzun kolunda meydana gelen bir delesyon sonucu ortaya çıkar. Birbirine yakın ve çekik gözler, yüksek üst damak, basık burun kökleri, geç gelişen dil becerileri, kalp rahatsızlığı gibi belirtiler görülür. Sosyal olarak aktif olmalarına rağmen motor becerilerini zor öğrenirler. Grup aktiviteleri ile gelişme gösterebilirler ve hafızaları güçlüdür [1].

2.3.4. Metafaz Bulucular

Metafaz plağı görüntülerinin mikroskop desteğiyle bilgisayara aktarılarak yazılım yardımıyla analiz edilmesi tüm hastane ve laboratuvarlarda kullanılan ana yöntemdir. Bu aşamada bilgisayara aktarılmış görüntülerde kromozomları diğer kromozom dışı artıklardan ayıran yazılımların becerileri ve güvenilirlikleri büyük önem taşımaktadır. Otomatik metafaz bulmanın ve görüntü analizi için yüksek objektif çözünürlüğünde geri getirmenin analizlerde büyük fayda sağladığı bilinmektedir [15]. Sitogenetik analiz, metafazların bulunması ve karyotip analiz olarak iki aşamadan oluşur [16]. Kromozomların doğru analiz edilebilmeleri için tüm kromozomların tam olarak görüntülenmesi ve sınıflandırılması gerekir. Aksi durumda mozaik olan bireyler gözden kaçabilir. Bu işler çoğu zaman teknik personelin uğraşları ile yapılmaktadır. Bu durum insan kaynaklı hataların (kolay analiz edilebilir metafazların yanlış olarak seçilmesi, ihtiyaç duyulandan daha az metafazın analize hazır hale getirilmesi vb.) artmasını ve yanlış teşhise kadar birçok konuda soruna yol açmaktadır. Ayrıca işlemler yavaş ilerlemekte (bir birey için 10 kromozom preparatı hazırlanması ve her preparattan en az 100 metafaz plağının seçilmesi) ve büyük zaman kaybına yol açmaktadır.

Çoğalan örnek sayılarını analiz edebilmek için otomatik sistemlere ihtiyaç duyulmuştur. Metafaz bulucu sistem, otomatik olarak tarama yapan, metafazları bulan ve görüş alanında gösteren otomatik bir sistemdir [17]. Metafaz bulucu sistemler genellikle okülere takılmış kamera, bilgisayar kontrollü motorize mikroskop ve yazılımdan oluşmaktadır [18–20]. Bazı bulucularda barkod okuyucu, çoklu preparat desteği gibi özelliklerde yer alır [21].

van Vliet vd. tarafından üretilen “Athena” isimli yarı otomatik bir metafaz bulucu sistem, kromozom görüntüleri içeren metafaz plaklarını bularak, kromozomları otomatik olarak bölütlemeyi hedeflemiştir. C programlama dilinde yazılan arayüzü sadece 200 KB (Kilobayt) yer kaplamaktadır. Sistem bulunan nesnelere kromozom olmayanları ayırılması, birbirine dokunan kromozomların tespiti, kromozomların döndürülmesi, sentromer konumlarının tespiti, bant paternlerinin tanımlanması ve kromozomların sınıflandırılması işlemlerini içerir [22].

Korthof ve Carothers, ticari olarak kullanılabilen dört farklı yarı otomatik sitogenetik sistemini, metafaz bulma ve karyotip performansı konusunda değerlendirmeye tabii tutmuşlardır. Bulunan tüm nesnelere iyi analiz edilebilir, orta analiz edilebilir, kötü analiz edilebilir, analiz edilebilir ve metafaz olmayan olarak sınıflandırılmıştır. Ortak test preparatları ve aynı ölçütlerin kullanıldığı değerlendirme sonrası, sistemler, zamanlama, kullanıcı etkileşimi, FPR (Yalancı Pozitif Oranı) ve FNR (Yalancı Negatif Oranı) konusunda kıyaslanmışlardır [23].

Castleman, ticari olarak üretilen bir otomatik metafaz bulucu sistem üzerinde çalışmalar yaparak doğruluk ve hız ölçümlerini raporlamıştır. Sistem, 20 mm X 40 mm alanı 10 dakika içinde tarayarak metafaz plaklarının koordinatlarını listelemektedir. Tarama yaparken otomatik odaklama yapabilmekte ve 1,5 mm²/sn tarama hızına sahiptir. İyi kalitedeki preparatlarda % 80 doğruluk oranı ve % 20'den daha az FPR bildirilmiştir [24].

Weber vd., standart metotlarla hazırlanan ve Giemsa ile boyanan preparatlar üzerinde otomatik olarak metafaz bulabilen “Metafer2” isimli metafaz bulucu üzerinde çalışmışlardır. Çalıştıkları laboratuvarında 1000 metafazın incelenmesi için sitogenetik uzmanının 51,5 saat çalışması gerekirken, otomatik metafaz bulucu sistem ile bu süre 17,3 saate düşmüştür. FPR ise % 3 olarak bildirilmiştir [25].

Piper vd., FISH yöntemi ile boyanmış preparatlardaki metafaz plaklarını bulabilecek otomatik bir floresan metafaz bulucu sistem üzerinde çalışmışlardır. Kameradan alınan görüntüler üzerinde analizler yaparak metafaz plaklarını otomatik olarak belirlemişlerdir. Sitogenetik uzmanı ve sistem tarafından bulunan metafazların

değerlendirilmesine göre FPR % 9,3 ve tarama hızı 0,16 mm²/sn olarak bildirilmiştir [15].

Huber vd., “Metafer2” isimli otomatik metafaz bulucu sistemi kullanarak, otomatik olarak sistem tarafından bulunan ve kişi tarafından bulunan metafaz plağı görüntülerini karşılaştırmışlardır. Kişi tarafından yapılan taramaya göre, sistem tarafından yapılan tarama çok daha hızlı olmaktadır. Metafazlar arasında yapılan etkileşimli görsel eleme işlemi, metafaz bulma aşamasını daha hızlı ve daha kolay hale getirmektedir. Tarama alanı olarak her bir preparat için azami 20 mm X 36 mm belirlenmiş ve bu alan 15 ila 20 dakika arasında taranmaktadır [16].

McLean ve Johnson, mikroskopla ve bilgisayarla kombine edilmiş, basit bir karar verme algoritması kullanan otomatik metafaz bulucu tanımlamışlardır. Preparatlar bilgisayar kontrolü altında taranmakta ve bulunan metafazların bilgileri, sonraki insan müdahaleleri için bellekte saklanmaktadır. Metafaz bulucunun performans analizleri ROC (Alıcı İşletim Karakteristiği) eğrileriyle yapılarak değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Yapılan değerlendirme sonrası doğruluk oranı % 89,4, TPR (Gerçek Pozitif Oranı) % 74 ve FPR % 6 olarak rapor edilmiştir [26].

Odawara vd., ticari bir insan metafaz bulucuyu kullanarak yarı-otomatik bir kromozom analiz sistemi oluşturmaya çalışmışlardır. Bu sistemle, laboratuvar ortamında Çin hamster hücreleri kullanarak kromozom anomali testleri yapmayı amaçlamışlardır. Sistemin bir preparat üzerinde 100 metafaz plağı bulması ortalama 7 dakika sürmektedir. Analiz için ise ortalama 30 dakika süre harcanmaktadır [27].

Corkidi vd., otomatik hücre yayılma analizi için metafaz kromozom dağılımlarına ait görüntülerin gri seviyelerini çıkararak, bu seviyelerin tepe noktalarını ve özelliklerini incelemişlerdir. Örnekler için rasgele seçilen 97 çekirdek, 76 metafaz ve 94 artefakt ele alınmıştır. Diğer sistemler ile performans karşılaştırması yapılmıştır. Metafaz tespiti için % 84 TPR, artefaktlar için % 77 TPR, çekirdekler için ise % 87 TPR elde edilmiştir [28].

Arámbula Cosío vd., metafazların ve çekirdeklerin otomatik olarak belirlenebilmesi için YSA (Yapay Sinir Ağı) temelli bir algoritma kullanmışlardır. 10X büyütme ile alınan görüntülerde bulunan her bir nesne için 10 farklı morfometrik, fotometrik ve dokusal özellik hesaplanmıştır. Oluşturulan YSA ile bu özellikler analiz edilerek nesnelere, metafazlar, çekirdekler ve artefaktlar olarak üç sınıfa ayrılmıştır. Test setinde 191 metafaz, 331 çekirdek ve 387 artefakt kullanılmıştır. Sistem % 91,8 TPR ve % 2,9 FPR elde etmiştir [18].

Roy vd., metafaz bulurken zamandan tasarruf edebilen yeni bir görüntü analiz sistemi üzerinde çalışmışlardır. Yapılan çalışma, otomatik metafaz bulucu, yüksek büyütme altında görüntü alınması ve verilerin, anomalilerin yorumlanabilmesi için optimize edilmesi adımlarını kapsamaktadır. Kromozomal anomalilerin tespiti için gerekli görüntülerin yakalanabilmesi amaçlanmıştır. Tarama alanı kullanıcı tarafından belirlenmektedir. Odaklama işleri ise kullanıcının belirlediği üç noktadan yapılarak optimum görüntü keskinliği elde edilmeye çalışılmıştır. Florasan ışığı altında yapılan tarama hızı 0,18 mm²/sn olarak hesaplanmış ve % 14 FPR elde edilmiştir [29].

Vega-Alvorado vd., metafazların tespiti sırasında, analiz edilebilir metafazları belirleyebilmek için yeni bir doku kalite ölçümü üzerinde çalışmalar yapmışlar ve deneyimlerini aktarmışlardır. Bu ölçüm metafaz plaklarının gri seviyelerinin yoğunluk profilini analiz ederek sitolojik nesnelere dokusunu ve kalitesini hesaplamaya yaramaktadır. Rasgele yönlendirilmiş test çizgileri üzerinde yapılan yoğunluk ölçümlerine göre bulunan nesne analiz edilebilir metafaz veya artefakt olarak sınıflandırılır. Böylece otomatik metafaz bulma işlerinde morfolojik ve dokusal parametrelerin kullanıldığı bir çözüm sunmuşlardır. Çalışmada 76 metafaz ve 191 artefakt veri seti olarak kullanılmıştır. Çalışma sonunda metafazları ayırma konusunda TPR % 96 ve FPR % 5 olarak bildirilmiştir [30].

Furukawa vd., ticari olarak bulunabilen ürünleri bir araya getirerek düşük maliyetli bir metafaz bulucu üzerinde çalışmışlardır. Piyasadan bulunabilecek mikroskop, motorize mikroskop tablası, bilgisayar ve görüntü analiz yazılımıyla oluşturdukları metafaz bulucu sistemde düşük maliyet ve yeni boyama yöntemlerine kolay uyum

sağlayabilmeyi amaçlamışlardır. Matematiksel morfoloji tabanlı görüntü işleme algoritması kullanılan sistem metafazları tespit etmektedir. Sistemin performans analizleri yapıldığında ortalama tarama hızı 0,10 mm²/sn olarak bildirilmiştir. TPR ise ortalama % 73,9 olarak raporlanmıştır. Bu metafaz bulucu sistemin en dikkat çeken yönü maliyetinin düşük olmasıdır. Bu “el yapımı” metafaz bulucunun yaygın olarak kullanılan ticari ürünleri bir araya getirerek ortaya çıkarılması maliyet açısından avantaj kazandırmıştır. Bu sistem ticari sistemlerin maliyetinin üçte birine oluşturulabilmektedir [17].

Uttamatin vd., yaptıkları çalışmada karyotip için kullanılabilir olan metafaz plaklarının tespiti için kural tabanlı “MetaSel” isimli bir yazılım aracı oluşturmuşlardır. Kromozom şekilleri dört ana sınıfta toplanabilir. Birinci ve ikinci sınıflar düz ve eğik şekillere sahip kromozomlara, üçüncü sınıf çakışan kromozomlara, dördüncü sınıf ise kromozom olmayan nesnelere ayrılmıştır. İyi bir metafaz plağı için, plak içinde yer alan kromozomlardan çoğu birinci ve ikinci sınıftan olmalı, üçüncü sınıf ise minimum tutulmalıdır. Örnek bir görüntü grubu kural tabanlı sınıflandırmayı oluşturmak için kullanmıştır. Her parametrenin eşik değeri istatistiksel bir model kullanılarak belirlenir. Önerilen kurallar çerçevesinde metafaz plaklarının analiz edilebilir olup olmadıkları % 90'nın üstünde doğrulukla bulunmuştur [31].

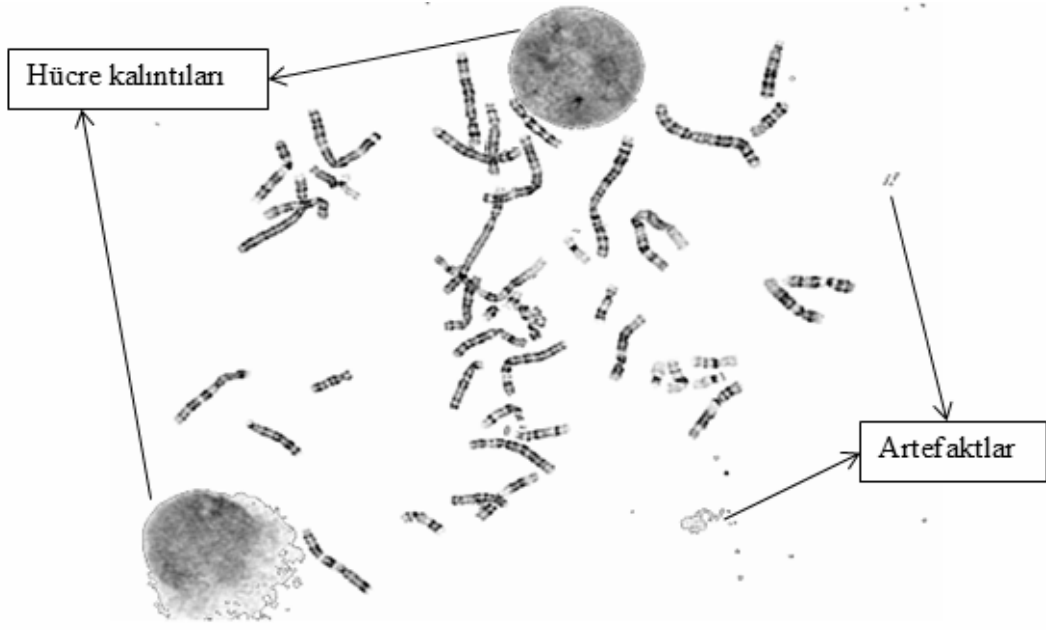
Qui vd. mikroskop taramalarında kullanılacak metafaz kromozomlarının tespiti için performans optimizasyonu sağlayan bir dizi özellik üzerinde çalışmışlardır. Bilgisayar destekli algılama şemasının geliştirilmesinde özellik seçimi, şemanın doğruluğunu direk etkilediğinden kritik öneme sahiptir. Birçok özellik daha önceki çalışmalarda incelenmiş olsa dahi, tarama için en uygun özellikleri seçmek genelde uygulamaya yöneliktir. Bu çalışmada, 200 kemik iliği hücresi incelenmiştir. Daha sonra görüntüler için ayrı ayrı dokuz farklı özellik uygulanarak hücreler klinik olarak analiz edilebilir ve analiz edilemez olarak sınıflandırılmıştır. Bu yöntemlerin performansı için ROC yöntemi kullanılmıştır. Bu çalışma, gelecekte tarama mikroskobu için CAD (Bilgisayar Destekli Tespit) şemalarının optimizasyonunu kolaylaştırmak için etkili bir özellik seçimi ve karşılaştırma metodunu göstermektedir [32].

Furukawa tarafından yapılan çalışmada ise düşük maliyetli metafaz bulucu için farklı bir çözüm önerilmiştir. Motorize bir tablaya sahip mikroskop, 4X objektif lensi ve renkli kameradan oluşan sistem, matematiksel morfoloji filtreleri kullanır. Yeni sistem kompakt ve düşük maliyetlidir. Bu sistem üzerinde sadece insan kanı değil, insan dışı örnekler de incelenebilir. Sistemin tarama hızı ortalama olarak 0,45 mm²/sn olarak bildirilmiştir. Metafaz bulucuya ait FPR ise % 5 olarak raporlanmıştır [33].

2.3.5. Kromozom Görüntülerinde Ön İşleme Ve Bölütleme

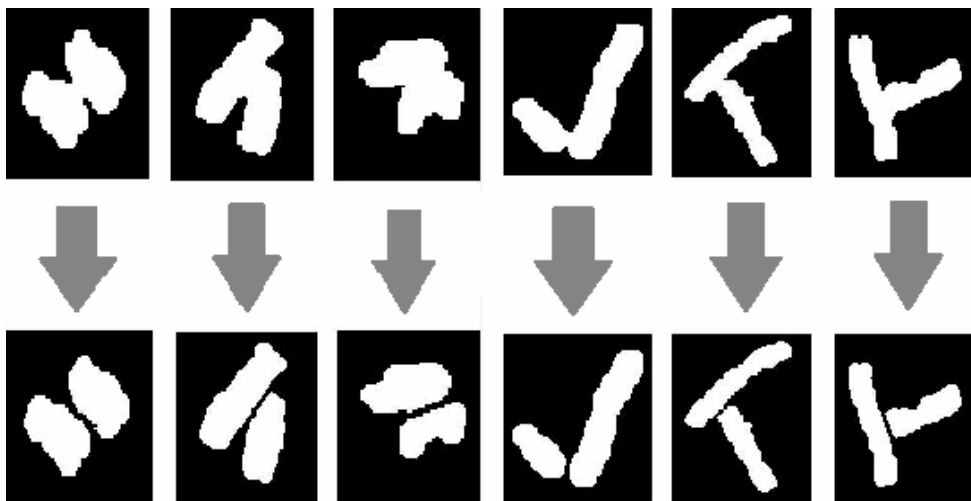
Karyotip, ön işleme, bölütleme ve sınıflandırma olmak üzere üç ana aşamadan oluşur. Bu aşamalardan ön işleme ve bölütleme son aşama olan sınıflandırmanın performansını doğrudan etkilediği için oldukça önemlidir. Metafaz aşamasında bulunan kromozomların mikroskoptaki görüntülerinin, metafaz bulucular tarafından bilgisayara aktarılmasıyla gerekli görseller elde edilir. Ancak bu görüntülerde sadece kromozomlar değil hücre kalıntıları ve diğer dış maddelerde (boya artıkları vb.) yer alır. Ayrıca kromozomlar katlanabilir, birbirlerine dokunabilir veya çakışabilir. Buna ek olarak, hemen hemen her metafaz plağında dokunan ve çakışan kromozomlar var olduğu için bu sorunun çözümü önemlidir [34].

- *Kromozom Dışı Atıklar:* Metafaz aşamasındaki durdurulan kromozomların yer aldığı plaklarda hücre kalıntıları, boya artıkları ve çevresel faktörlerden kaynaklı artefaktlar bulunabilir. Karyotiplemenin ilk aşaması olan ön işleme aşamasında bu kalıntıların temizlenerek sadece kromozomların ortaya çıkarılması gerekir (Şekil 2.5). Bu kalıntıların temizlenmesi ve sadece kromozomların görüntüde bırakılması sonraki aşama olan bölütleme için oldukça önemlidir.



Şekil 2.5. Metafaz plaklarında yer alan kromozom dışındaki artefaktlar [10].

- *Kromozomların Dokunması ve Çakışması*: Kromozomların bölütlenerek sınıflandırılması için her birinin tespit edilmesi ve tekil hale getirilmesi gerekir. Kromozomlar, plak üzerinde bir birine dokunabilir veya üst üste gelerek çakışabilir (Şekil 2.6). Böyle bir durumda farklı görüntü işleme algoritmaları kullanılarak kromozomların ayrılması gerekir.



Şekil 2.6. Birbirine değen ve çakışan kromozomların bölütlenmesi [34].

Zack vd., yaptığı çalışmada insan kromozomlarında kardeş kromatid değişimlerini saptamak ve saymak için otomatik bir sistem geliştirmişlerdir. Giemsa boyaması ile elde edilen metafaz preparatları, bilgisayar kontrollü bir televizyon-mikroskop sisteminde taranarak sayısal hale getirilmiştir. Görüntülerdeki her bir nesne eşikleme prosedürü ile tanımlanmıştır. Her nesnenin tek olması ihtimali, ayrı kromozom boyutu ve şekil ölçümlerinden tahmin edilmiştir. Her nesnenin koyu kromatid alanlarının ilişkileri kardeş kromatit değişimleri için tahmin imkânı vermiştir [35].

Groen vd., otomatik kromozom analizi için yeni teknikler sunmuşlardır. Bunlardan birisi düz olmayan kromozomların korunarak uzatılması için sunulan yöntemdir. Bu yöntemde kromozomun gri değerlerine göre, kromozom orta ekseninden geçen noktalar bulunur. Bu noktalar ortak bir eksen doğrusunda birleştirilir. Noktaların bulunduğu yerden doğruya çekilen dikmelerle kromozomun parçaları elde edilir ve bu parçaların düzeltilip birleştirilmesi ile kromozom düzleştirilmiş olur. Kromozom sentromerlerinin bulunması ve sınıflandırma için de yöntemler sunmuşlardır [36].

Piper ve Granum, etkileşimli eksen ve sentromer düzeltmenin aşamalarından olan kromozom eksenlerinin ve sentromerlerin konumlarının tespiti için tam otomatik bir analiz sistemi üzerinde çalışmışlardır. Sentromer tespitinin doğruluğu ve sonucunda kromozom polaritesinin belirlenmesi deneysel olarak ölçülmüştür. Kromozom sınıflandırması için önceden bildirilmemiş bazı özellikler açıklanmış ve özellikle bir dizi genel şekil özelliği sunulmuştur. Özellik ölçümlerinin ayırım kabiliyeti, basit istatistikler kullanılarak ve çeşitli özellik alt gruplarıyla eğitilmiş sınıflandırıcıların performansına bakılarak değerlendirilmiştir. Genel şekil özelliklerinin ayırma kabiliyetleri, yaygın biçimde kullanılan yerel şekil özelliği olan sentromer konumuyla kıyaslanabileceğini göstermiştir. Farklı dokulardan, hazırlama yöntemlerinden ve görüntülerin elde edildiği donanımlardan dolayı, farklı laboratuvarlardan gelen verilerin değişkenliği, üç veri tabanı kullanılarak karşılaştırılmıştır. Sentromerlerin otomatik olarak bulunmasında % 90,4 başarı yakalanmıştır. Farklılıkların önemli olabileceği, uygun özellik seçimi ve sınıflandırıcı eğitiminin, sınıflandırma performansını önemli ölçüde geliştirdiği gösterilmiştir [37].

Errington ve Graham, çok katmanlı bir YSA kullanarak metafaz kromozomlarının otomatik sınıflandırılmasına yönelik bir yaklaşım sunmaktadır. Ağ girdileri olarak, kromozomun boyutu, sentrometrik indeksi ve kromozom bant profilinin kabaca nicelenmiş bir gösterimi kullanılmaktadır. Eğitim aşamalarının ardından, yapay sinir ağının sınıflandırma performansının, parametrik bir sınıflandırıcı ile karşılaştırıldığında daha iyi olduğu görülmüştür. Ağ performansının giriş parametrelerindeki değişime duyarlılığı araştırılmış ve girdilerin değerlerinin değiştirilmesiyle verimlilik elde edilebileceği ortaya çıkmıştır. Özellikle örnek sayısı ve yapay sinir ağının katmanlarındaki düğümler arttıkça hata oranını düşüdüğü görülmüştür. Geliştirilen sınıflandırıcının esnekliği, geliştirilme potansiyeli ve karyotipleme konusundaki mevcut eğilimlerin ihtiyaçlarına nasıl adapte olacağı tartışılmıştır [38].

Carothers ve Piper, insan kromozomlarının bilgisayar destekli sınıflandırılmasına dair bir tarama çalışması yayınlamışlardır. Yayınladıkları çalışmada, bilgisayar destekli görüntüleme sistemlerinin, sitogenetik laboratuvarlarda, geleneksel kromozom analiz yöntemlerinin sıkıntı ve emek yoğunluğunu azaltmak için yaygın bir şekilde kullanıldığını, otomatik kromozom sınıflandırmanın bu tür sistemlerin vazgeçilmez bileşeni olduğunu vurgulayarak, katkıda bulunan istatistiksel yöntemleri taramışlardır. Çalışma sonunda, hatasız sınıflandırmaya ulaşılmamış olmasına ve başarıma ihtimalinin olmamasına rağmen, hata oranlarının birçok rutin amaç için kabul edilebilir seviyeye indirildiğini belirtmişlerdir [39].

Ji tarafından yapılan çalışmada, yüksek çözünürlükle alınan metafaz görüntülerinin sınıflandırılması amaçlanmıştır. Çekirdeklerin, lekelerin ve diğer gürültülerin otomatik tanımlanması ve elenmesi, dokunan ve çakışan kromozomların otomatik tespiti ve bölütlenmesi, eksik veya yanlış bölünmüş olarak değerlendirilen veya analiz için uygun olmayan hücrelerin elenmesi hedeflenen amaçlardandır. Çalışmada, hücrenin bir dizi bireysel kromozom veya küme olmaktan ziyade bütün olarak ele alınmasını sağlayan kural tabanlı bir yaklaşım anlatılmıştır. Kurallar her hücre için sınıflandırma ve bölütleme parametrelerini uygulamıştır. Başlangıçta, hücrelerin boyanma yöntemine ve bölütleme amaçlarına göre farklı parametre setleri

seçilmiştir. Gerçek verilerden 713 hücre seçilerek test edilmiş ve % 90 ila % 95 arasında başarı elde edilmiştir [40].

Cho ve Hong, Giemsa boyalı insan metafaz kromozomlarının görüntülerini, görüntü işleme teknikleri ve sinir ağı kullanarak analiz etmiş ve sınıflandırmışlardır. Kromozomların sınıflandırılması sırasında kullanılan doğrusal olmayan özellikleri, çok katmanlı sinir ağı kullanarak belirlemeye çalışmışlardır. 460 kromozom görüntüsü üzerinde yapılan çalışmanın sinir ağı eğitiminde, giriş parametreleri olarak normalize edilen yoğunluk profillerinden elde edilen özellikler kullanılmıştır. Eğitim ve geri çağırma aşamaları için 27 ve 52 vektörlü öğrenme seti kullanılmıştır. Çalışma sonunda hata oranı % 6,52 olarak bildirilmiştir. Böylece çok katmanlı sinir ağlarının, Giemsa ile boyanmış insan kromozomlarının sınıflandırılmasında yüksek potansiyele sahip olduğunu göstermişlerdir [41].

Musavi vd. yaptıkları çalışmada, fare kromozomlarının sınıflandırılmasında iki farklı sinir ağı uygulamışlardır. Bu ağlardan birisi, hızlı ortogonal arama algoritması kullanılarak oluşturulan radyal temelli fonksiyon, diğeri ise olasılıksal sinir ağıdır. Hızlı ortogonal arama algoritması, radyal temelli fonksiyonun eğitimi için kullanılmıştır. Çalışmada 840 eğitim kromozomu ve 540 test kromozomu kullanılmıştır. Sınıflandırma sırasında en iyi hata oranı, % 16,4 olarak raporlanmıştır [42].

Charters ve Graham, çakışan kromozomların bölütlenmeleri için kromozom bant özelliklerini kullanan bir mekanizma üzerinde çalışmışlardır. Alt kromozomlara ait bant profilleri kullanılarak modeller oluşturulmuştur ve oluşturulan modele göre kromozomlar taranmıştır. Bu tarama sonuçlarına modele en yakın parçalar eşleştirilerek bölütleme yapılmıştır. Yapılan test sonuçlarına göre, başarı oranı, tekil kromozomlar için % 90,8, kromozom grupları için % 55,4 ve çakışan kromozomlar için % 70,6 olarak bildirilmiştir [43].

Popescu vd., çakışan metafaz kromozomlarının otomatik olarak karyotiplendirilebilmesi için bir sistem ortaya çıkarmışlardır. Sistemin amacı, metafaz görüntüsünde yer alan kromozomları, en az insan müdahalesi ile

etiketleyebilmektir. Otomatik karyotipleme sistemi, çakışan kromozomları otomatik işlemek üzere kurulmuştur. Bunu yaparken dört yeni algoritma ortaya koymuştur [44].

Mousavi vd. yaptıkları çalışmada, sınıflandırma amaçlı kromozomların mikroskopik görüntülerinden çoklu özellikler için yeni bölütleme ve sınıflandırma algoritmaları tanımlamışlardır. Bu amaçla peptik nükleik asidi ile hazırlanan metafaz kromozomlarının renkli görüntüleri kullanılmıştır. Sentromerler, tekrarlı bulanık mantık ve gradyan yöntemi kullanılarak segmentlere ayrılmıştır. Ayrıca, kromozom görüntüleri üstünde telomer uzunluğunu ölçmüşler ve görüntü veri tabanı için normalize etmişlerdir. Kromozomlar, geliştirilen algoritmalar sonucunda, çoklu yoğunluk özelliklerine göre sınıflandırılmıştır [45].

Ritter ve Pesch, kutupları olmayan kromozomların otomatik olarak sınıflandırılmasına dair çalışma yapmışlardır. Metafaz kromozomlarının, ışık mikroskobu altında otomatik olarak sınıflandırılması genellikle üç aşamada yapılmaktadır. Birincisi, kutupları bulmak için sentromerleri tespit edilir, sonra kromozom profillerinden bir dizi özellik çıkarılır, son olarak ta özellik setlerine göre sınıflandırma yapılır. Sentromerleri tespit etmenin kolay olmadığı ilk adım hatalara eğilimlidir. Kromozomun yanlış yarısı belirlenirse, kutupsal yanlış olur ve ikinci aşamada hatalı özelliklere ve çoğunlukla yanlış sınıflandırmaya yol açar. Yapılan çalışma sonunda uygulanan doğru yöntemler sonucunda hata oranları % 1 altında gerçekleşmiştir [46].

Binghan vd., çakışan kromozomları ayırabilmek için matematiksel morfolojiye dayalı bir ayırma algoritması sunmuşlardır. Algoritma iki basamaktan oluşur. İlk olarak, çakışan kromozom sistemlerinin ağırlık merkezlerini (sentroid) bulmak için, bu kromozom alanlarına mesafe dönüşüm (distance transformation) algoritması uygulanır. Daha sonra otomatik ayırmayı gerçekleştirebilmek için sentroidden dışarı doğru genişleme yapılarak bağlanma noktaları bulunur. Bulunan yöntem hepatitli hastaların karaciğer hücrelerini ayırmak için kullanılmış ve çalışma sonucunda, tekniğin hızlı olduğu ve ayırma sonuçlarının tatmin edici olduğu görülmüştür [47].

Cai vd., siyez buğdayı olarak ta bilinen, triticum monococcum kromozom görüntülerinin model tabanlı sinir ağı kullanılarak bölütlenmesi üzerinde çalışmışlardır. Çalışmada kullanılan ve model tabanlı sinir ağının kullanıldığı görüntüler yüksek çözünürlükte seçilmiştir. Farklı eşikleme değerleri ile denemeler yapılmış ancak en iyi sonuç, eşikleme değeri 173 seçilerek elde edilmiştir. Oluşturulan model tabanlı sinir ağının siyez buğdayı kromozomlarının otomatik analizi için uygun olduğunu ve bitki kromozom analizlerinin doğruluğunu ve hızını arttırmak için önemli olduğunu vurgulamışlardır [48].

Choi vd., kromozom kümesinin geometrik özellikleri, piksel sınıflandırma sonuçları ve kromozom boyutlarını kullanarak, çakışan ve dokunan kromozomları ayırmak için yeni bir yöntem sunmuşlardır. Bilgisayarların kromozom analizinde kullanılmasından sonra, tamamen otomatik bir kromozom analiz sistemi kurmak nihai hedef olmuştur. Diğer pek çok zorluğun yanı sıra, kromozom sınıflandırması ve bölütlenmesinin otomatikleştirilmesi, özellikle kromozomların çakışmasına ve dokunmasına bağlı olarak en büyük zorluklardan biridir. Bu çalışmada bu sorunların çözümü için kromozom kümesinin geometrik bilgisini, piksel sınıflandırma sonuçlarını ve kromozom boyutlarını temel alarak çoklu hipotezler oluşturulur. Bu hipotezler değerlendirilir ve maksimum olasılığı olan hipotez en iyi ayrışım olarak seçilir. Doğruluk oranı kromozom kümeleri için % 90, kromozomlar için ise % 95 civarında hesaplanmıştır [49].

Moradi ve Setarehdan, kromozom sınıflandırma sürecinin otomatik hale getirilmesinin, otomatik bir karyotip sisteminin tasarlanmasındaki ilk adım olduğunu vurgulamışlardır. Yaptıkları çalışmada, kromozomların daha iyi gösterimi ve sınıflandırılması için yeni bir özellik grubu tanımlamayı amaçlamışlardır. Her kromozomun en göz alıcı bölgesinin karakteristik bantlarının ortalama yoğunluğu, kromozomun genişliği ve konumu önerilen yeni özelliklerdendir. Her bir kromozom için uzunluk, sentrometrik indeks, görüntünün ortalama koyuluğu veya aydınlığı gibi dokuz farklı özelliğin vektörleri tanımlanmıştır. Karakteristik bantları bulmak ve yeni özellikleri hesaplamak için kromozomların yoğunluk profilleri, kromozomların koyulukları ve genişlikleri temel alınarak hesaplanmıştır. Çalışma, E grubu kromozomların sınıflandırılması üzerine odaklanmıştır. Kullanılan üç katmanlı YSA,

her bir kromozomu olası üç sınıftan biri (16., 17. ve 18. kromozomlar) olarak sınıflandırmıştır. Elde edilen en iyi sonuçlara göre kromozomlar % 98,6 oranında doğru sınıflandırılmıştır [50].

Nanni yaptığı çalışmada, kromozom sınıflandırma konusunda makine öğrenmesinden bahsetmiş ve çalışma sonucunda literatürdeki diğer yöntemlere göre daha başarılı sonuçlar elde ettiğini vurgulamıştır. Normalleştirilmiş yoğunluk profilleri kullanılarak ikinci dereceden yoğunluk tabanlı rassal bir alt uzay topluluğu oluşturulmuştur. Bu alt uzay topluluğunun kullanıldığı çalışmada, önerilen özellikler eğitilen sinir ağları ile birlikte kullanıldığında çok düşük hata oranı elde etmenin mümkün olduğunu iletmiştir [51].

Kao vd. tarafından önerilen çalışmada, sentromer tanımlamaksızın orta eksen tayini ve insan kromozomlarının profil eşleştirilmesi için etkin yaklaşımlar önermişlerdir. Orta eksen tayinini basit kesit analizi ile yapmışlardır. Eksen boyunca elde edilen bant profiline özellikleri daha sonra dizilim eşleştirme tekniğine dayanan kromozom sınıflandırması için kullanılmıştır. Özel bir dizilim oluşturma yapısı kullanılarak tespit edilen profiller arasında hızlı bir arama ve eşleştirme yapılmıştır. Deneysel sonuçlara göre oluşturulan sistem, verilen kromozomların orta eksenini otomatik olarak etkili bir şekilde belirlemiştir [52].

Ritter ve Gao, metafaz kromozomlarının varyant analizleri üzerine yaptıkları çalışmada, kromozom bölütleme problemini, şekil analizi ve sınıflandırmaya dayanarak çözmeye çalışmışlardır. Çözüm önerisi iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada dokunan ve çakışan kromozom şekillerine ait belirgin özellikler tanımlanmış, ikinci aşamada ise kalan belirsiz ve karmaşık durumlar ele alınmıştır. Sistem, bant desenleri hiç görünmeyen veya iyi görünmeyen hücreler ile kliniksel hücrelerde çalışabilmektedir [53].

Wang vd., metafaz evresindeki kromozomları otomatik olarak analiz edilebilir veya edilemez olarak sınıflandıran bir sistem geliştirmeyi amaçlamışlardır. 170 görseli içeren iki bağımsız veri seti, sistemi eğitmek ve test etmek için kullanılmıştır. Sistem, kromozomları saptamak için görüntü filtreleme, eşik ve etiketleme algoritmaları

kullanmıştır. Her bir kromozom için ve aynı zamanda tanımlanan her metafaz hücresi için bir dizi özellik hesaplanır. Ayrı kromozomların özelliklerine dayanan bir karar ağacı ve metafaz hücrelerinin özelliklerini kullanan bir YSA da dâhil olmak üzere iki makine öğrenme sınıflandırması, analiz edilebilir ve analiz edilemeyen hücreler arasında sınıflandırma yapmak üzere optimize edilmiş ve test edilmiştir. Karar ağacı temelli sınıflandırma sonucu sitogenetik uzmanı ve sistem arasında yapılan karşılaştırma sonrası kappa katsayısı eğitim seti için 0,83, test seti için ise 0,89 olarak hesaplanmıştır. ROC eğrisi tüm veriler için 0,93 olarak bildirilmiştir [54].

Wang vd. yaptıkları çalışmada, sentromerleri otomatik olarak tanımlayabilen, analiz edilebilir ve analiz edilemez olan metafaz kromozomlarının kutuplarını belirlemek için çok aşamalı bir kural tabanlı bilgisayar şeması araştırmışlardır. Şema ilk olarak, bir kromozomun orta eksenini tanımlamak için modifiye bir inceltme algoritması uygulamış ve üç özellik profili çıkarmıştır. Önceden optimize edilmiş sınıflandırma kurallarından oluşan bir set temel alınarak sentromerler ve kutuplar bulunmuştur. Karışık, düz ve bükülmüş kromozomların yanı sıra normal ve çarpık (kanser hücresi gibi) bant örüntülerine sahip olan kromozomları içeren rasgele toplanan metafaz kromozomlarına şema uygulanmıştır. 24 anormal ve 26 normal Giemsa metafaz hücresinden edinilen 2287 kromozomdan oluşan görüntü veri seti, şemayı optimize etmek ve test etmek için kullanılmıştır. Genel doğruluk, sentromer tanımlama için % 91,4 ve kutup ataması için % 97,4 olarak bildirilmiştir. Deneysel sonuçlar, şemanın, kanser hücrelerinden çıkarılan ciddi bükülmüş ve anormal kromozomları içeren çeşitli kromozomlara başarıyla uygulandığını göstermiştir [55].

Zhou vd., çakışan kromozomlarda görüntü tamamlama için yeni bir yaklaşım önermişlerdir. Önerilen yaklaşımda verilen kromozomlarda eksik bölgeler olduğunda, insan müdahalesi olmadan otomatik tamamlamanın gerçekleşmesi amaçlanmıştır. Tamamlanmaya çalışılan kromozom olabildiğince orjinaline yakın kalarak tamamlanmıştır. Kromozom bant modelleri ortaya çıkarılmış ve eksik alanlar Belief Propagation algoritmasıyla tamamlanmaya çalışılmıştır [56].

Grisan vd., kromozomların bölütlenmesi için otomatik bir prosedür önermişlerdir. Boşluk varyantlarına dayalı eşikleme şeması kullanmışlardır. Dokunan ve çakışan

kromozomları tespit etmek ve kesim yerlerini belirlemek için tekrarlı seçim ağacı oluşturarak en iyi sonucu almaya çalışmışlardır. Çalışma sonunda bölütleme başarısını % 94 olarak ifade etmişlerdir. Ayrıca kullandıkları veri setini internet üzerinden erişilebilir olarak kullanıma açmışlardır [57].

Wang vd., geliştirdikleri iki katmanlı sınıflandırma kullanan bir otomatik karyotipleme şeması geliştirmişlerdir. En etkin özellikleri seçerek ve sınıflandırıcıları adaptif olarak optimize ederek, otomatik karyotipleme sırasındaki karmaşıklığı ortadan kaldırmayı amaçlamışlardır. Bu amaçla, 6900 kromozomu içeren görüntü veri tabanı kullanılmış ve çok katmanlı YSA topolojisini optimize etmek için genetik algoritma kullanılmıştır. Şemanın ilk katmanında, 24 kromozomu yedi sınıfa ayırmak için tekil bir YSA kullanılmıştır. İkinci katmanda ise yedi YSA, bireysel kromozomları tanımlamak için uyarlanarak optimize edilmiştir. Şema eğitim-test-doğrulama yöntemi kullanılarak güçlendirilmiştir. Birinci katmanda, doğrulama veri seti için sınıflandırma doğruluğu % 92,9 olarak belirtilmiştir. İkinci katta yedi YSA'nın sınıflandırma doğruluğu % 67,5 ile % 97,5 arasında değişmiştir. Kullanılan yedi YSA'dan altı tanesi % 93,7'nin üzerinde doğruluğa ulaşmış ve sadece bir tanesi performansı düşürmüştür [58].

Yan, yaptığı çalışmada, metafaz hücresindeki toplam kromozom sayısının sayılması ve DNA indeksinin hesaplanmasının önemine vurgu yaparak, çakışan kromozomlar için bir sayma algoritması sunmuştur. Çakışan kromozomları ayırıp sayabilmek için görüntülere yüksek seviyede erozyon işlemi uygulanmış ve sekizli bağlantılı bileşen etiketlemesi yapılmıştır [59].

Karvelis vd., çoklu FISH tekniğiyle oluşturulmuş kromozom görüntülerinde dokunan ve çakışan kromozom gruplarının bölütlenmesi için bir yöntem sunmuşlardır. Başlangıçta watershed algoritması uygulanmış ve görüntü böylece alanlara bölünmüştür. Daha sonra, her bir alan için yüksek iç bükey noktalarından başlayarak gradyan alanları hesaplanmıştır. Son olarak komşu bölgeler birleştirilerek son kromozom alanları üretilmiştir. Yöntemi doğrulamak için 183 görüntüden oluşan bir karşılaştırma veri tabanı kullanılmıştır. Doğrulama sonuçlarına göre, dokunan

kromozomlarda % 90,6 başarı oranı, çakışan kromozomlarda ise % 80,4 başarı oranı bildirilmiştir [60].

Subasinghe Arachchige vd., insan metafaz kromozomlarının merkez ekseninin doğru çıkarılması için bir görüntü işleme algoritması önermişlerdir. Önerilen hibrit algoritma, GVF (Gradyan Vektör Akışı) kullanarak, DCE (Ayrık Eğri Açılımı) ve morfolojik işlemlerden oluşmaktadır. GVF ile kromozomların aktif sınırları belirlenmiştir. DCE ile iskelet budaması yapılmış ve morfolojik inceltme ile orta eksen bulunmuştur [61].

Wenzhong ve Xiaohui, çakışan kromozomların bölütlenebilmesi için watershed tabanlı bir yöntem belirtmişlerdir. İlk olarak görüntüde histogram eşitlemesi yapılmış, sonra eşikleme ile görüntü ikili hale getirilmiştir. Aşındırma ile görüntü üzerindeki küçük gürültüler giderilmiş ve etiketleme algoritması ile tüm nesnelere etiketlenmiştir. Bu bir dizi ön işlemden sonra watershed algoritması uygulanarak bölütleme yapılmıştır. Kullanılan yöntemin çakışan kromozomlar üzerinde başarılı olduğunu belirtmişlerdir [62].

Arezo vd., çakışan ve dokunan kromozomların ayrılması için sundukları çözümde, görüntünün arka planından kromozomları ayırmışlar ve kümelenen kromozomları bölmeyi amaçlamışlardır. Kromozomları arka plandan ayırmak için önce otsu eşikleme yöntemi, sonra ise yerel adaptif eşikleme kullanılmıştır. K-means kümeleme algoritması ve kenar tespit algoritmaları ile bölütleme yapılmaya çalışılmıştır. Doğruluk oranları ise dokunan kromozomlarda % 74, çakışan kromozomlarda ise % 66 olarak ifade edilmiştir [63].

Yan, yaptığı çalışmada kromozom sınıflandırması yaparken YSA kullanmıştır. YSA'nın ağ eğitimi yoluyla uzman bilgi ve deneyimlerinin uygulanmasına izin verdiğini, bu yüzden YSA'nın bu görev için ideal olduğunu vurgulamıştır. Farklı özellik temelli ve piksel değer dağılımına bağlı YSA oluşturularak kromozomların sınıflandırılmasında test edilmiş ve değerlendirilmiştir. Çalışmada, bu algoritmalar üzerinde durularak, algoritmaların prensibi ve gerçekleştirilmesi analiz edilmiştir. Kullanılan algoritmalar içerisinde en az hata oranı % 3,33 olarak elde edilmiştir [64].

Feng vd., gradyan profili ve benzerlik eşleme algoritması uygulayarak insan kromozomlarının otomatik olarak eşleştirilmesini amaçlamışlardır. Önemli bir özellik olarak vurgulanan yoğunluk profilleri, bant modellerinden çıkarılmıştır. Sonrasında medyan ve mean filtreleri ile yumuşatılmıştır. Kromozom eşleştirilirken yoğunluk profili ile kromozom uzunluğu ve sentromer indeksinin dönüştürülmesiyle elde edilen gradyan profili kullanılmıştır. Gradyan profilinin kosinüs değeri hesaplanarak kromozomlar karşılaştırılmış ve 23 çifte bölünmüştür. Erkek ve dişi hücrelerindeki sınıflandırma doğruluğu % 91,3 olarak bildirilmiştir [65].

Joshi vd., çakışan kromozomların bölütlenmesi için kesim noktalarının otomatik algılanması üzerine çalışma yapmışlardır. Çalışmada gerekli kesme noktalarının otomatik olarak saptanmasıyla metafaz görüntüsünün karyotiplenmesi için çakışan kromozomların bölütlenmesine doğru birinci adım önerilmektedir. Kesme noktalarını otomatik olarak tespit etmek için önerilen basit fakat yeni ve etkili yaklaşım, çakışan kümenin sınırındaki piksellerin hesaplama geometrisine dayanmaktadır. Yaptıkları çalışmanın katkısını ve yeniliğini, algoritmanın birden fazla kromozoma sahip bir kümedeki kesme noktalarını başarılı bir şekilde tanımlama olarak bildirmişlerdir. Sistem performansı, çakışan kromozom gruplarında test edilmiştir. Bölütleme doğruluk oranı, bir ve iki çakışmanın olduğu kromozom kümelerinde % 100, üç ve dört çakışmanın olduğu kromozom kümelerinde % 88 olarak raporlamışlardır [66].

Loganathan vd., insan kromozom görüntülerinde sentromer konumu ve sentromer indeksinin otomatik tanımlanması için çalışmışlardır. Yaptıkları çalışmada, kromozomların geometrik öznitelik çıkarımları için etkili bir algoritma sunmuşlardır. Bu özniteliklerin çıkarılması için kromozom uzunluğu ve sentromer kullanılmıştır. Kromozom uzunluğunu kromozom görüntüsü üzerinde merkez çizgisi çizilerek, sentromer pozisyonları ise dışbükey ve içbükey özelliklerle hesaplanmıştır. Önerilen çözümün 135 dereceye kadar eğik olan tüm kromozom görüntülerinde çalışabileceği ve hesaplama karmaşıklığının azalacağı bildirilmiştir [67].

Madian ve Jayanthi, çakışan ve dokunan kromozomların bölütlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, kromozom görüntülerinin konturlarını belirlemişlerdir. Belirlenen konturlar üzerinde, eğrilik fonksiyonu yardımı ile içbükey noktalar

hesaplanarak kromozom görüntüleri üzerinde çizilmiştir. Böylece bölütleme işlemleri için olası hipotezler oluşturulabilmiştir [68].

Mohammadi, kromozom anomalilerin tespiti için çoğunlukla karyotip kullanıldığını, bunun için kromozomların her birinin mikroskopik görüntülerden tanımlamak gerektiğini, her kromozom için morfolojik ve bant desen tabanlı özelliklerin tanımlanmasının ve çıkarılmasının, onları tanımlamanın ilk adımı olduğunu, sentromer yerinin kromozom için önemli bir morfolojik özellik olduğunu vurgulamıştır. Yaptığı çalışmada, sentromer yerini belirleyebilmek için kromozomun içbükey noktalarına dayalı yeni bir algoritma sunulmuştur. Bu yöntemde, kromozomun merkez çizgisi hesaplanmış ve merkez çizgideki her pikselin puanı, kromozom sınırında ona dik olan iki pikseldeki içbükeylik derecesinin toplamı olarak kabul edilmiştir. Son olarak, merkez hattın konumu, merkez çizgisinde, maksimum puana karşılık gelen bir piksel olarak tahmin edilmiş ve sentromerinin yeri belirlenmiştir. 50 görüntü üzerinde önerilen algoritma uygulandığında, sentromer yerinin belirlenmesi için ortalama 2,25 piksel hata oluşmuştur [69].

Munot vd. yaptıkları çalışmada kromozomları otomatik olarak eşleştirmek için kromozomlar arasındaki yakınlığın belirlenmesine dayanan etkili bir yaklaşım önermişlerdir. Geleneksel karyotipleme prosedürlerinde kullanılan özelliklerin yanı sıra, bant modellerine dayalı olarak yakınlık faktörü isimli yeni bir özellik kullanılmıştır. Çalışma 50 görüntü üzerinde test edilmiştir. Test sonuçlarına göre, doğru eşleşme oranı, A grubuna ait kromozomlarda % 100, C grubu kromozomlarda ise % 97 olarak bildirilmiştir [70].

Nithya ve Nirmala, yaptıkları çalışmalarında, çakışan kromozomların insan müdahalesine gerek kalmadan, otomatik olarak bölütlenebilmesini amaçlamışlardır. Kromozom görüntülerinin konturları bulunarak zincir kod algoritması yardımı ile içbükey ve dışbükey noktalar tespit edilmiştir. Eğrilik fonksiyonu kullanılarak içbükey noktalar tespit edilerek, bu noktalar arasındaki muhtemel ayırma çizgileri oluşturulmuştur [71].

Poletti vd., Q-bant kromozom görüntülerinin otomatik olarak sınıflandırılabilmesi için modüler bir yapı üzerinde çalışmışlardır. Önerdikleri yöntem, kromozomun orta ekseninin tahmin edilmesiyle başlamıştır. Standart bir YSA sınıflandırmasından sonra, insan karyotipinin sınırlandırılmış bileşimini kullanarak, doğru sınıflandırma olasılığını en yükseğe çıkarmak için yeniden bir sınıflandırma algoritması kullanmışlardır. Önerilen yöntem 5474 kromozom görüntüsü üzerinde test edilmiş ve ortalama olarak % 94 oranında doğru sınıflandırma başarısı elde edilmiştir [72].

Munot vd., çakışan kromozomların kesim noktalarının otomatik tespit edilebilmesi amacıyla yaptıkları çalışmada 40 adet çok renkli FISH kromozom görüntüleri kullanmışlardır. Bu çalışmanın katkısını, kullanılan algoritmanın, birden fazla kromozom ile birden çok çakışmadaki doğru kesme noktalarını başarılı bir şekilde tanımlaması ve sezgisel bir yöntem olması olarak belirtmişlerdir. Ayrıca, önerilen algoritma şekil ve renk bilgilerinden bağımsız olduğu için, çok renkli FISH metafaz kromozomları için de geçerlidir. Sistem performansı, test edildiğinde % 98 oranında başarı elde edilmiştir [73].

Munot vd., çakışan kromozomların bölütlenmesi için delaunay üçgenlerinin kullanıldığı bir yöntem geliştirmişlerdir. Gri renkli kromozom görüntüleri üzerinde çalışan yöntem, tespit edilen kromozomları delaunay üçgenleri ile doldurduktan sonra kesim noktalarını tahmin edebilmektedir. Önerilen algoritma kamuya açık veri tabanlarından ve özel genetik laboratuvarlarından toplanan 60 çakışan kromozom görüntüsü üzerinde test edilmiştir. Test sonuçlarına göre başarı oranı, 1-6 arasındaki çakışma olan kromozomlarda % 75 ile % 100 arasında tespit edilmiştir [74].

Siddharth ve Tripathi, çakışan kromozomları bölütleme amaçlı yaptıkları çalışmada YSA kullanmışlardır. Farklı gizli katmanlardaki nöron sayılarıyla test edilen çalışma 100 farklı görüntü üzerinde denenmiştir. Gizli katmandaki nöron sayısı altı alındığında en yüksek doğruluk oranı elde edilmiş ve bu oran % 86 olarak bildirilmiştir [75].

Sri Balaji vd. yaptıkları çalışmada, çakışan ve dokunan insan kromozom görüntülerinin insan müdahalesi olmadan otomatik olarak bölütlenmesi için bir

yöntem geliştirmişlerdir. Kromozom görüntülerindeki konturlarda elde edilen içbükey ve dışbükey noktalar işaretlenerek olası tüm birleşme yerleri belirlenmiştir. Bu birleşme yerleri analiz edilerek muhtemel ayırma yerleri için hipotezler oluşturulmuştur [76].

Yan ve Bai, çakışan kromozomların bölütlenmesi konusunda tarama çalışması yaparak sonuçlarını yayınlamışlardır. Çalışma sonucunda en büyük olabilirlik yöntemi en başarılı yöntem olarak ifade edilmiştir [77].

Jensa vd., çakışan ve dokunan kromozomların otomatik bölütlenmesi üzerine yaptıkları çalışmada, GVF kullanarak kromozomun sınırlarını tespit etmişlerdir. Daha sonra çakışan kromozom alanları hesaplanarak kesim noktaları belirlenmiştir. Önerilen çalışmanın çakışan kromozomların ayrılmasına yardımcı olduğunu ve iki kromozom bulunan çakışmalarda daha iyi çalıştığını raporlamışlardır [78].

Madian ve Jayanthi, doğru kromozom sınıflandırması için iyi bir öznitelik şemasına sahip olmanın önemli olduğunu, kromozom sınıflandırmanın, ağırlıklı olarak sentromer konumunu doğru belirlemeye bağı olduğunu belirtmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, sentromer konumunun tespit edilmesi için iki algoritma kullanılmış ve bu algoritmaların karşılaştırmalarını yapmışlardır. Medial Axis Transformation ve Projection Vector isimini verdikleri iki algoritmanın test sonuçları karşılaştırıldığında, Projection Vector yaklaşımının, sentromer konumu belirlemede % 90 oranında başarı sağladığı görülmüştür [79].

Minaee vd., tam otomatik kromozom bölütlenmesi için geometrik bir yaklaşım sunmuşlardır. Bölütlemenin ilk adımının, artefaktların ve diğer gürültülerin temizlenmesi olduğunu, sonra dokunan ve çakışan kromozomların saptanması gerektiğini ve son olarak ta bu kromozomların bölütlenmesi olduğunu belirtmişlerdir. Önerdikleri geometrik tabanlı yaklaşımda bölütleme iki aşamada gerçekleşmiştir. İlk aşamada üç geometrik kıstas kullanılarak kromozom kümeleri saptanmış, ikinci aşamada ise kümeler kesme hattı kullanarak ayrılmıştır. Yöntemin her görüntü türüne uygulanabileceğini, ikiden fazla kromozom içeren kromozom kümelerini kolayca ayırdığını ve tamamen otomatik olduğunu vurgulamışlardır. Önerilen algoritmanın

testi için 1150 kromozom içeren 25 görüntü kullanılmıştır. Bu veri setinde yer alan 62 dokunan veya çakışan kromozom kümesinin bölütlenmesinde % 91,9 başarı oranı sağlanmıştır [34].

Saiyod ve Wayalun, çakışan metafaz kromozomlarının bölütlenmesi için hibrit bir teknik önermişlerdir. Önce Wayalun yöntemi kromozom görüntülerini ön işleme tabi tutmak için kullanılmıştır. Ardından çakışan kromozomların iskelet görüntülerinde Unsharp Mask ve Zhang-Suen yöntemi düğüm aramak için kullanılmıştır. Son olarak, çakışan kromozomları bölütlemek için dört kesme noktası aranmış ve noktadan noktaya oluşturulacak bölütlenme en küçük kareler yöntemi ile yapılmıştır. Deneysel sonuçlar bakıldığında ise önerilen yöntemin başarı oranı % 97 olarak bildirilmiştir [80].

Somasundaram ve Vijay Kumar, yaptıkları çalışmada çakışan kromozomların bölütlenmesi ve sentromer konumlarına göre homolog kromozomların tanımlanması üzerine yoğunlaşmaktadır. Yöntemin aşamaları kromozom görüntülerinin alınması, görüntülerin ikili görüntüye dönüştürülmesi, gerekli morfolojik işlemlerin uygulanması, ikili görüntülerin konturlarının çizilmesi, kesme noktalarının tanımlanması ve uygun yerlerden kromozomların bölütlenmesi olarak belirlenmiştir. Çalışmanın test sonuçlarına göre doğruluk oranı % 94 olarak bildirilmiştir [81].

Tanvi ve Dhir, çakışan kromozomların bölütlenmesi için hesaplama geometrisine dayanan bir yöntem sunmuşlardır. Önerilen yaklaşımda önce kontur çizgisi çakışan kromozomlar için izlenmiş ve daha sonra tüm kesme noktaları çakışan kromozomlar için izlenmiştir. Bu işlemlerden sonra hesaplama geometrisi yöntemine dayalı olarak belirli sayıda kesme noktası seçilmiş ve bunlar iki kromozomun ayrılması için kullanılmıştır. Önerilen yöntemi kullanarak görüntüler % 87,4 oranında doğru olarak bölütlenmiştir [82].

Sri Balaji ve Vidyha, yaptıkları çalışmada en yüksek olabilirlik yöntemini kullanarak dokunan ve çakışan kromozomları bölütlemeyi amaçlamışlardır. Renkli görüntüler üzerinde çalışan yöntem için gri görüntüler renkli hale getirilmiştir. Geliştirilen

yöntem hem çakışan kromozom görüntülerinde hem de dokunan kromozom görüntülerinde çalışmıştır [83].

Arora ve Dhir, yaptıkları tarama çalışmasında otomatik karyotipleme için metafaz kromozomları seçimi yapan çeşitli yöntemleri karşılaştırmışlardır. Yapılan analiz ve karşılaştırmalar sonucunda Uttamatinin vd.[31] tarafından ortaya sürülen “Metasel” isimli yöntemin en iyi yaklaşım olduğu sonucuna varmışlardır. Bu yöntemin, otomatik bölütleme ve sınıflamanın karmaşıklığını azaltmaya yardımcı olduğunu, otomatik karyotipleme için tam otomatik bir sistem oluşturarak, deneyimli personele olan ihtiyacı kaldırabileceğini belirtmişlerdir [84].



BÖLÜM 3

MİKROSKOPLAR

Çıplak gözle görülemeyen nesnelerin görüntülenebilmesi için mikroskoplar kullanılmaktadır. Kromozomların ve hücrelerin görüntülenebilmesi için ışık mikroskopları yeterli olmaktadır. Yapay veya doğal ışık kaynaklarının sağladığı aydınlatma ile görüntüleme sağlayan mikroskoplar, elle kontrol edilebildiği gibi motorize olarak çalışabilen çeşitleri de vardır.

3.1. IŞIK VE MİKROSKOP

Doğrusal dalgalar halinde yayılan elektromanyetik dalgalara ışık adı verilir. İnsan gözü tarafından görülebilen ışık dalga boyu 380-780 nanometre arasındadır [85].

Işığın enerjisi frekansı arttıkça artmakta, dalga boyu arttıkça ise azalmaktadır. Işık ışınlarının frekanslarına ya da dalga boylarına göre sıralanmasıyla ışık tayfi elde edilir. Görünür ışık, bu tayfin ortalarında yer alır. Işık tayfi, dalga boyuna göre sırasıyla radyo dalgaları, mikrodalgalar, kızılötesi ışık, görünür ışık, morötesi ışık, X ışınları ve gama ışınları olarak sıralanır [86].

Işık dalgalar halinde yayılırken enerjisini kaybetmez. Işığın diğer elektromanyetik dalgalar gibi temelde üç özelliği vardır [85].

- *Frekans:* Dalga boyu ile ters orantılı olan bu özellik insan gözü tarafından renk olarak algılanır. Bir cismin rengi, ona çarpıp yansıyan ışığın frekansına bağlıdır.
- *Şiddet:* Genlik olarak algılanan ışık şiddeti, insan gözü tarafından parlaklık olarak algılanır.
- *Polarite:* İnsan gözü tarafından algılanamayan titreşim açısidir.

Mikroskop; küçük cisimlerin incelenmesi amacıyla kullanılan, büyütülmüş görüntüler oluşturan bir araçtır [85]. Mikroskop ismi, **micro** (küçük) ve **skopein** (gözlem) kelimelerinin bir araya gelmesi ile ortaya çıkmıştır. 16. yüzyılın sonunda 10X büyütme ile başlayan çalışmalar, 17. yüzyılda 300X büyütme, bu tarihlerden sonra geliştirilerek günümüze ulaşmıştır [87].

3.2. MİKROSKOP ÇEŞİTLERİ

Mikroskoplar, gözle görülemeyecek kadar küçük nesnelere görmeyi ve görüntülemeyi sağlayan bir araçtır. Büyütme oranları 1000 kat ile 400 000 kat ve üzeri arasında değişebilmektedir. Mikroskoplar çalışma yöntemlerine göre elektron mikroskobu ve ışık mikroskobu olarak iki gruba ayrılmıştır [87].

3.2.1. Elektron Mikroskobu

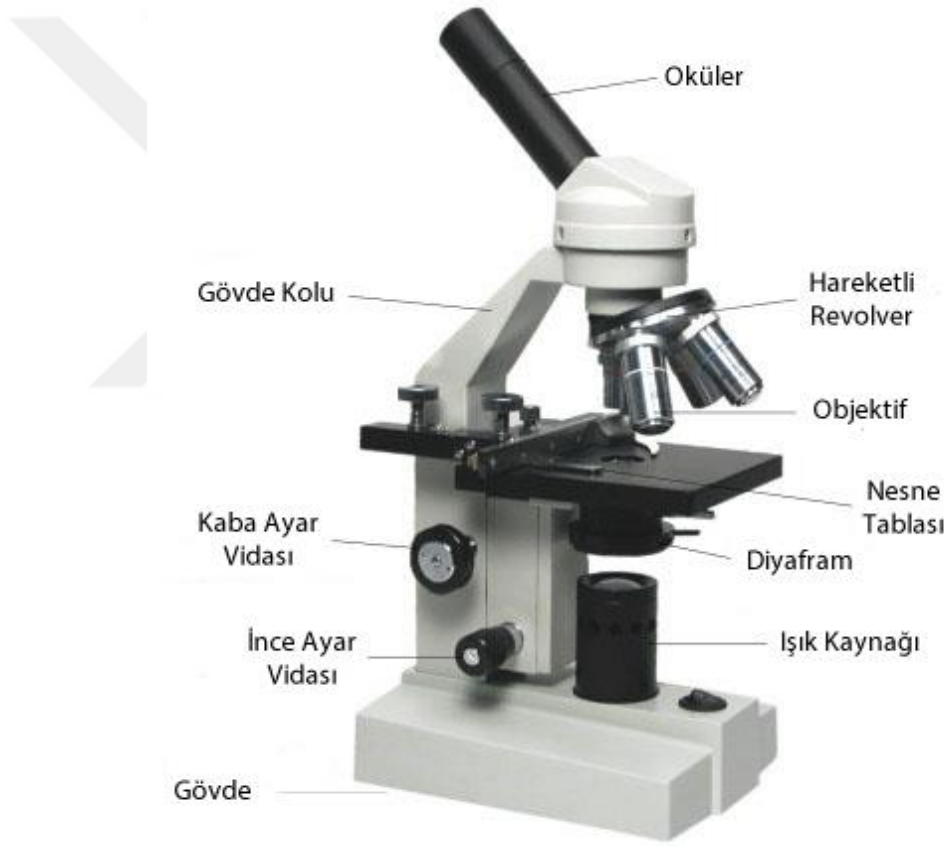
Elektron mikroskoplarında büyütme ışık dalgaları aracılığıyla değil, elektronlar ile yapılır. Bu yüzden çok büyük büyütme oranları yakalanabilir. Elektronların dalga uzunluğu, görünür ışığın dalga uzunluğundan 100 000 kat daha kısadır. İlave edilen büyüteçlerle büyütme oranı 500 000 kata kadar çıkabilir.

Elektron mikroskopları, ışık mikroskoplarına göre çok daha gelişmiş bir mikroskop türüdür. Çok küçük yapıların incelenmesine olanak sağlar ancak karmaşık yapıları, preparatların hazırlanması ve mikroskobun kullanımının zor olması, maliyetin fazla olması olumsuz yanlarındandır.

Elektron mikroskobu ile ışık mikroskobu arasındaki temel farklar, ışık kaynağı yerine elektronlar kullanılması ve cam mercekler yerine elektromanyetik kondansatörlerin kullanılmasıdır. Daha çok atom, virüs gibi çok küçük oluşumların incelenmesi için kullanılır [88].

3.2.2. Işık Mikroskobu Ve Bölümleri

Işık mikroskoplarında büyütme işlemi mercekler tarafından yapılır. Nesnelerin görüntülenebilmesi için gözle görülebilen ışık dalgaları gereklidir ve görüntü görünür ışık ile sağlanır (Şekil 3.1). Aydınlatma doğal ışık veya yapay ışık kaynakları ile yapılabilir. Kullanım amacına göre incelenecek malzeme (şeffaf preparatlar, ışık geçiren malzemeler) ışık kaynağı ve objektif arasında olabileceği gibi kayaç, metal gibi malzemeler incelenirken ışık kaynağı ve objektif aynı yönde olabilir. Işık mikroskobu mekanik kısım, aydınlatma ve optik olmak üzere üç gruba ayrılır [87].



Şekil 3.1. Işık mikroskobu ve bölümleri.

3.2.2.1. Mekanik

Ana gövdeyi oluşturan ve optik ile aydınlatma birimlerini taşıyan kısımdır. Bu bölümde gövde, mikroskop ayağı, nesne tablası, kaba ve ince ayar vidası yer alır. Işık mikroskoplarının çoğunda bazı şekil değişiklikleri olsa da bu yapı korunur. Gövde,

mikroskobun bütün olarak durmasını sağlar ve geri kalan tüm parçaları taşıyacak sağlamlıktadır. Gerektiğinde mikroskoba eklenebilecek parçaları taşıyabilecek niteliktedir. Mikroskop ayağı, ışık kaynağını içine alabilecek ve titreşimleri azaltmak için ağır bir yapıdadır. Nesne tablası, preparatların ya da incelenecek nesnelerin kolaylıkla yerleştirilebilmesi için genelde geniş ve dikdörtgen biçimindedir. Tabla içine gömülü şaryo sistemi, incelenecek nesnenin objektif önünde X-Y eksenlerinde hareket ettirilmek suretiyle görüntülenmesini sağlar. Motorize tablalarda ise, hareketler elektronik kontrollü ve motorlar yardımı ile bilgisayar destekli yapılabilir. Kaba (makro) ve ince (mikro) ayar vidaları netlik (odaklama) ayarı yapmak için kullanılır. Gelişmiş mikroskoplarda bu kısım da motorlar ve bilgisayar destekli yapılabilir [89].

3.2.2.2. Aydınlatma

İncelenecek nesnenin net ve aydınlık görüntülenmesini sağlayan birimdir. Işık kaynağı, diyafram ve kondansatörden oluşur. Bazı mikroskoplarda filtre ve ayna da kullanılabilir. Işık kaynağı, incelenecek nesneyi aydınlatmak için gerekli ışığı sağlar ve genellikle elektrikle çalışanları tercih edilir. Halojen ışık kaynaklarının yanı sıra LED ışık kaynakları da kullanılmaktadır. Kondansatör, ışığı nesne üzerine toplamaya yarayan, genelde iki mercekten oluşan bir yapıdır. Diyafram, ışık kaynağından çıkan ve kondansatöre giren ışığın daha az veya daha çok olmasını sağlar. Fazla aydınlatma istendiğinde diyafram açılarak daha çok ışığın nesne üstüne düşmesi sağlanır. Filtreler ise gelen ışıkları süzerek ihtiyaca göre renklenmesini sağlar. Ayna ise ışık kaynağı kondansatörün altında olmayan mikroskoplarda ışığın kondansatöre ulaşması için yansıtma görevi görürler [88].

3.2.2.3. Optik

Oküler, oküler tüpleri ve objektiflerden oluşan birimdir. Oküler, objektif ile birlikte çalışır ve objektif tarafından oluşturulan ara görüntüyü kendi büyütme oranı kadar büyütür ve göze ulaştırır. Üzerlerinde 5X, 10X gibi büyütme numaraları ve 16 mm, 20 mm gibi çap değerleri yer alır. Genellikle iki ya da üç mercekten oluşurlar. Bir

mikroskobun büyütme oranı (BO), objektif (OOB) ve okülerin (OOK) çarpımı ile bulunur (Eşitlik 2.1).

$$BO = OOB \cdot OOK \quad (2.1)$$

Tüp ise okülerin devamı olarak mikroskoba bağlandığı yerdir. İzleme yeri tek olan mikroskoplara monoküler, iki olan ve iki gözle izlemeye imkân veren mikroskoplara binoküler, iki izleme yeri ve bir kamera yeri olan üç okülerli mikroskoplara ise trinoküler adı verilir. Objektif ise optik bölümü içinde en önemli kısımdır. İncelenecek nesneyi büyütme gücü oranında büyütür ve ara görüntüyü oluşturur ve tüp yoluyla okülere iletir. Nesneden gelen ışınları birleştirir, odak noktasında toplar ve odakta oluşan görüntüyü büyütür [89].

3.2.2.4. Motorize Mikroskop Şaryosu

Mikroskoplar birçok alanda ve küçük işletmelerden büyük kurumlara kadar tıbbi, ticari ve eğitim amaçlı kullanılmaktadır. Mikroskoplarda nesne incelemek için nesnenin yerleştirildiği tablanın X-Y veya X-Y-Z eksenlerinde hareket edebilmesi gerekir.

Birçok görüntüleme uygulaması için üç eksenli motorlu bir mekanizma önemli bir parçadır. Ancak ticari olarak temin edilen sistemler genelde pahalıdır. Yazılımları kolay değiştirilemez ve mikroskoplara uyarlanabilmesi zordur. Elle kontrol edilen mikroskoplarda tekniker ihtiyacı vardır ve hassasiyeti yakalamak zor olabilir. Ayrıca otomatik izleme, görüntü mozaikleri ve görüntü haritası oluşturma gibi konularda motorize şaryoya ihtiyaç duyulur [90].

Sanal mikroskopi teriminin hayatımıza girmesi ile preparatların tamamen sayısallaştırılması ihtiyacı doğmuştur. Sanal mikroskopi kavramı, mikroskobik sayısal görüntülerin edinimini ve depolanmasını tanımlamak için kullanılır. Sayısal görüntüler, yalnızca bir veya birkaç ilgi bölgesi ile sınırlı kalmaksızın, seçilen bir alandan veya tüm histoloji veya sitoloji preparatından oluşabilir. Sanal mikroskopi, mikroskop kullanılmadan bir kişisel bilgisayar veya dijital cihaz kullanarak preparat

içindeki tüm bölgelere erişime izin verir. Yeni teknolojilerin geliştirilmesiyle, motorlu mikroskoplar olarak sınıflandırılan preparat tarayıcılar için geniş bir teknolojik çözüm yelpazesi ortaya çıkmıştır [91, 92].

Üç eksen hareket olanağı olan mikroskop şaryoları otomatik odaklama (auto focus) yapabilmektedirler. Teknik olarak odaklama, alınan görüntünün en iyi kalitede algılanacak şekilde objektif konumunun ayarlanması olarak tanımlanabilir [93].

Bu çalışma kapsamında X-Y-Z eksenlerinde hareket kabiliyetine sahip, otomatik odaklama yapabilen, kolaylıkla temin edilebilecek metal parçalardan ve 3B (Üç Boyutlu) yazıcıdan elde edilebilecek plastik malzemelerden oluşan, elle kontrol edilebilen mikroskoplara kolay uyum sağlayabilecek, sanal mikroskopi yöntemi için temel oluşturabilecek bir motorize mikroskop şaryosu üretilmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM 4

DOĞRUSAL HAREKET SİSTEMLERİ VE BİLEŞENLERİ

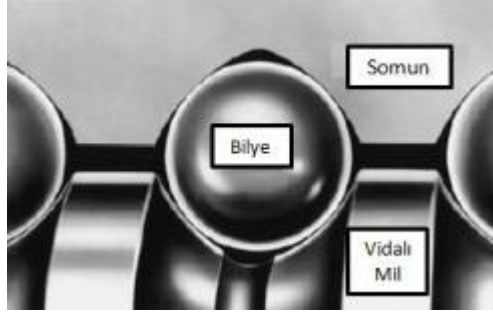
Bir doğru boyunca hareket eden sistemlere doğrusal hareket sistemi adı verilmektedir. X-Y-Z eksenlerinden sadece bir tanesinde hareket sağlanır. Hareket kaynağı ise genelde elektrik motorlarıdır. Birden fazla doğrusal hareket sistemi bir araya getirilerek farklı yönlerde hareket etmek mümkündür. Doğrusal hareket sistemlerine ait bileşenler, mekanik ve elektronik olarak iki grupta toplanabilir.

4.1. MEKANİK HAREKET BİLEŞENLERİ

Elektrik motorları ile birlikte üretilen dönme hareketini, doğrusal harekete çeviren ve yükü taşıyan kısımdır. Sistemlerin görünür yerlerinin büyük bir kısmını oluştururlar.

4.1.1. Vidalı Miller Ve Somunları

Vidalı miller, bilye yataklı bir somunun vida dişleri açılmış bir mil üzerinde dönmesi sonucu, milin kazandığı dönme hareketini doğrusal harekete çeviren bir makine birimidir. Doğrusal hareket sırasında sürtünmenin azaltılması ve hassasiyetin artması amacıyla somun ile mil arasındaki boşlukta yer alan bilyeler bulunur (Şekil 4.1). Hassas bir vida olarak üretilen miller, helezonik yapıdaki kanallar ile bilyelerin rahat hareketlerine olanak tanır. Azalan sürtünme ile yüksek verim elde edilir. Uzun ömür, yüksek aksenal rijitlik, yüksek hassasiyet gibi nitelikler taşıyan bu aletler yüksek hassasiyetli takım tezgâhlarında, uzay ve havacılık endüstrisinde, otomasyon sistemlerinde, tıbbi cihazlarda, yazı ve baskı makinelerinde kullanılmaktadır [94].

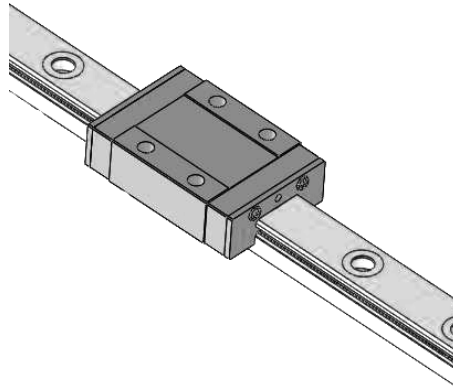


Şekil 4.1. Vidalı mil ve somun kesiti [94].

Vidalı miller genellikle çapları ve hatve boyları ile adlandırılırlar. Milin bir tur atması sonucu somunun gittiği yola hatve boyu adı verilir. Örneğin 16 mm çapında ve 5 mm hatvesi olan bir mil 1605 olarak ifade edilebilir. Bu mil bir tam dönüşte 5 mm yol kat eder. Somunlardaki bilyeler, mil ve somun arasındaki boşlukları doldurduğu için vidalı millere somunlar takılırken bilyelerin yerlerinden düşmemesine dikkat edilmelidir.

4.1.2. Minyatür Raylar Ve Arabalar

Makine sistemlerinde dönme hareketi söz konusu olmadığında hareketin iletilmesi ve yüklerin taşınması için doğrusal raylar ve üzerlerine takılan arabalar kullanılabilir. Ray ve arabanın birleşim yerlerinde bulunan bilyeler sayesinde kayma işlemi sağlanır (Şekil 4.2). Bu sistemlerin avantajları, yuvarlanma sürtünmesi nedeni ile kolay yol alma, düşük aşınma, montaj ve bakım kolaylığı sayılabilir [95].



Şekil 4.2. Minyatür ray ve arabası.

4.1.3. Adım Motorları

Adım motorları, tam turu eşit adımlarla atabilen fırçasız bir senkron motor çeşididir (Şekil 4.3). Adım motorlarının mekanik olarak çalıştırılması, ayrı elektrik sinyalleri ile indüklenen manyetik kuvvetli aktif parçaları hareket ettirmekle mümkündür. Değişken relüktans basamaklı motor olarak adlandırılan temel bir step motor türü, ferromanyetik malzemedan yapılmış stator ve rotor parçalardan oluşur [96].

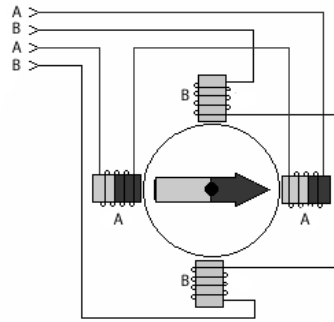


Şekil 4.3. Adım motoru.

Adım motorlarının açık çevrim davranışları oldukça yüksek doğruluk pozisyonuna sahiptir ve yüke yeterli momenti sağlayabilirler. Geniş bir tutma torkuna sahiptirler. Bu motorlarla basit ama çok hassas işler yapılabilir. Yapıları gereği yüksek hızlarda dönemezler, bu yüzden hızlı pozisyonlama gerektiren uygulamalarda kullanılamazlar. Bir adım motorunun bir turu sürücü yapısına bağlı olarak 50 000 adıma kadar bölünebilir. Ayrıca yapısı ve sürme kolaylığı bakımından maliyeti düşürücü bir faktördür [97].

Bütün elektrik motorlarının ortak yapısı stator, rotor ve sargılardan oluşur. Genelde elektrik verildiğinde dönmeye başlar ve kesilene kadar dönme hareketi sürer. Adım motorları özel yapıları sebebiyle çalışması diğer motorlardan farklıdır. Adım motoru sargılarına uygulanan gerilim darbe şeklindedir. Çünkü sargıya gerilim uygulandıktan sonra rotor bir adım atarak belli bir açı kadar döner ve gerilim kesilirse dahi dönme durur. Bundan dolayı adım motorlarının dönmeleri için gerilim özel sürücüler tarafından kesik kesik verilir [98].

Adım motorları sargı bağlantılarına göre genelde unipolar ve bipolar olarak ikiye ayrılırlar. Unipolar adım motorları faz başına iki sargı içerirler. Bu sargılardan biri akım yönü içindir. Böylece dönme yönü akım yönü değiştirilmeden terslenebilir. İki sargı içerdikleri için tel çapı küçük seçilir. Bipolar adım motorlarında ise faz başına tek sargı vardır (Şekil 4.4). Akımı ters yöne döndürmek için manyetik kutbu ters yöne döndürmek gerekir. Tek sargı olduğu için daha kalın tel çapı seçilebilir. Böylece daha çok tork elde edilebilir [98].



Şekil 4.4. Bipolar adım motoru sargı görünümü.

Adım motorlarının çalışmaları pals adı verilen elektrik darbelerine bağlıdır. Adım motora pals uygulandığı zaman bir adım atar ve belli bir derece kadar döner ve durur ancak pozisyonunu tutmaya devam eder. Sonraki pals geldiğinde yine bir adım atar ve durur. Gerilim kesilmediği sürece pals gelmese bile pozisyonunu korumaya devam ederler. Bu şekilde uygulanan palslar ile tam turu sağlayabilirler [97].

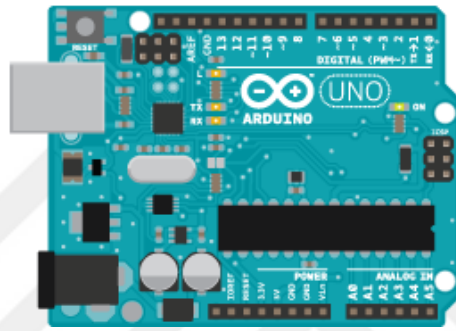
4.2. ELEKTRONİK BİLEŞENLER

Doğrusal hareket sistemleri için gerekli hareket kaynağı elektronik bileşenler ile kontrol edilir. Kontrol kartının değişmez olduğu bu bileşenlerde, motor durumuna göre sürücü kartları ve diğer entegre bileşenler yer alır.

4.2.1. Kontrol Kartı

Kontrol kartları bilgisayar, kullanıcı ve kullanılan mekanik donanım arasındaki koordinasyonu sağlayan elektronik devre kartıdır. Üzerinde mikro denetleyici ve

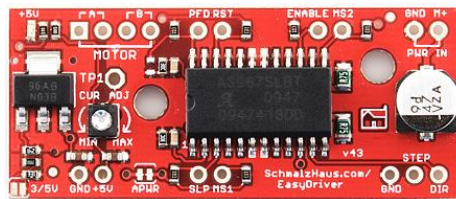
gerekli yongalar ile birlikte adım motoru sürücülerinin, durdurma modüllerinin bağlanabileceği dijital ve analog giriş çıkışlar yer alır. Mikro denetleyici konusunda detaylı bilgi sahibi olunmasa bile yapısı ve kütüphaneleri gereği kolaylıkla programlanabilir, bağlanabilen genişleme kartları ile giriş çıkış portları çoğaltılabilir veya farklı işlevler kazandırılabilir. Bilgisayara seri port, paralel port veya USB (Evrensel Seri Veriyolu) aracılığıyla bağlanabilir. 3B hareket sistemlerinde, eğitim alanında, robotik işlemlerde, giyilebilir teknolojilerde ve IOT (Nesnelerin İnterneti) konusunda çokça kullanılmaktadırlar (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Arduino Uno kontrol kartı.

4.2.2. Adım Motoru Sürücüleri

Adım motorunu çalıştıracak darbeler belirli sıralama ve zamanlama ile yapılmalıdır. Bu yüzden darbeleri bir sürücü devresinin oluşturması gerekir. Bu devreler motorların özelliklerine göre farklı yapıda olabilir [98]. Motor ihtiyacına göre A veya mA akım iletebilir. Ayrıca üzerindeki entegrelere göre adımları 2-4-8-16-32-64-128 birime kadar bölebilir. Adım motoru sürücüleri, en kolay yönetilebilen sürücüler olmasının yanı sıra oldukça ekonomiktirler. Sayısal kontrollü sistemlere uygundur ve geri besleme ile adım hataları giderilebilir (Şekil 4.6) [97].



Şekil 4.6. Adım motoru sürücüsü.

4.2.3. Durdurma Modülü

Limit switch adıyla da bilinen durdurma modülü, bir hareketli mekanizmanın temas etmesi sonucu mekanik olarak tahrik edilerek elektriksel kontakları pozisyon değiştiren elektriksel bir anahtardır. Devrenin açılması veya kapanması mekanik tahrikli olabileceği gibi kızılötesi ile optik yoluyla da olabilir. Düşük maliyetleri nedeniyle sensör yapılarına göre daha çok tercih edilirler. Hassasiyetleri genel kullanımlar için yeterli olsa dahi yüksek hassasiyet gerektiren kullanım alanları için yeterli olmayabilir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Durdurma modülü.

BÖLÜM 5

GÖRÜNTÜ İŞLEME

Görüntü işleme, kamera, tarayıcı gibi cihazlardan elde edilen görüntünün bilgisayar ortamında veya DSP (Sayısal Sinyal İşlemcisi) ile işlenmesidir. Görüntü işleme teknikleri, elde edilen görüntüden yeni görüntüler elde etme amacıyla yapılan aşamalardır. Görüntü elde etme cihazlarından elde edilen sayısal görüntü iki boyutlu bir sinyaldir. Bu sinyal X ve Y eksenlerinde cisimden yansıyan enerjiyi temsil eden bir fonksiyonu taşır. Bu yönüyle sonlu bir bileşen olan görüntü, iki boyutlu bir dizi halini alır. Bu dizinin her bir elemanına piksel adı verilir. G, bir görüntü sinyalini temsil etmek üzere, pikselleri G_{ij} olarak ifade edilir ve bu görüntünün boyutu (ixj) 'dir. Sayısal görüntüdeki her bir (i,j) noktasındaki pikselin parlaklık değeri $I(i,j)$ olarak ifade edilir [85].

Görüntü işleme yöntemleri matematiksel tekniklerden oluşabileceği gibi, yapay sinir ağları, genetik algoritmalar gibi tekniklerden veya bunların birleşiminden oluşan hibrit tekniklerden de oluşabilir [99].

Görüntü işlemede görüntüler temel olarak renkli görüntü, gri görüntü ve ikili (siyah-beyaz) görüntü olarak üçe ayrılır. Bilgisayar ekranları ve dijital kameraların kullandığı format olan RGB (Kırmızı-Yeşil-Mavi Renk Uzayı) renkli görüntüler için kullanılır. Üç ana renk olan kırmızı (R), yeşil (G) ve mavi (B) renklerinin additif (katkılı) etkileşimi sonucu diğer renkler oluşturulur. 0-255 arasında değer alabilen renk değerlerinin tamamı sıfır olursa siyah, tamamı 255 olursa beyaz renk görünür. Her renk için 8 bit olmak üzere toplam 24 bit ile ifade edilir. Gri görüntü ise 0-255 arasında sekiz bitlik renk değeri taşır. Görüntü siyah ve beyazın tonlarından oluşur. İkili görüntü ise en basit görüntü tipidir. Sadece siyah ve beyaz renkler yer alır. Görüntü işlemede genellikle renkli görüntü gri görüntüye, gri görüntü ise ikili görüntüye çevrilerek teknikler uygulanır [85].

5.1. GRİYE ÇEVİRME YÖNTEMLERİ

Elde edilen görüntüler içerisinde aranan nesnelere performanslı olarak bulunabilmesi için görüntünün olabildiğince basite indirgenmesi gerekir. Eşikleme yapılmadan önce renkli görüntü gri görüntüye çevrilerek diğer işlemler için hazırlık yapılır. Griye çevirme yöntemleri temelde aynı mantığa dayansa bile işlem aşamaları ve işlemler sonrası oluşan çıktı farklıdır.

İşlenmek istenen görüntünün doğasına göre gri tonlamalı görüntü kullanılabileceği gibi RGB uzayında tanımlı olan bir görüntü de daha çok bilgi taşıyan bir bant ya da birden çok bant da işleme amacıyla kullanılabilir.

5.1.1. Ortalama Yöntemi

Ortalama yönteminde görüntüyü oluşturan her bir piksel için RGB değerleri ayrı ayrı elde edilerek toplanır ve üçe bölünerek ortalamaları alınır. Her bir piksel için bulunan bu ortalama değeri, pikselin gri değeri olarak belirlenir (Eşitlik 5.1). Görüntü üzerindeki tüm pikseller üzerinde bu işlem uygulanarak renkli görüntü gri görüntüye çevrilmiş olur [100].

$$I = (R + G + B)/3 \quad (5.1)$$

5.1.2. BT709 Yöntemi

Parlaklık yöntemi olarak ta bilinen BT709 yöntemi, ortalama yöntemin daha gelişmiş halidir. Ortalama yöntemine benzer olarak piksel renk değerlerinin ortalaması alınır ancak insan gözünün algılamasına bağlı olarak ağırlıklı bir ortalama oluşturulur. İnsan gözü yeşile daha duyarlı olduğu için yeşil değeri ağırlıklı olarak hesaplanır (Eşitlik 5.2) [100].

$$I = 0,21R + 0,72G + 0,07B \quad (5.2)$$

5.1.3. Açıklık Yöntemi

Desatürasyon yöntemi olarak ta bilinen açıklık yönteminde en belirgin ve en az belirgin renklerin ortalamalarının alınarak gri değeri bulunur (Eşitlik 5.3). Her bir piksel için bu işlem yapılarak görüntü griye çevrilmiş olur [100].

$$I = (\max(R, G, B) + \min(R, G, B)) / 2 \quad (5.3)$$

5.1.4. Renk Kanalı Yöntemi

Tek renk kanalındaki veriyi kullanarak grileştirme yapılan yöntemdir. Kırmızı, Yeşil ya da Mavi değerlerinden birisi seçilerek gri değeri bu değerlerden birisi olur. Diğer yöntemlere göre hesaplama olmadığı için daha hızlıdır. Çoğu dijital fotoğraf makinesinin kullandığı gri filtresi bu yöntem ile sağlanmaktadır.

5.2. HİSTOGRAM, KONTRAST VE PARLAKLIK

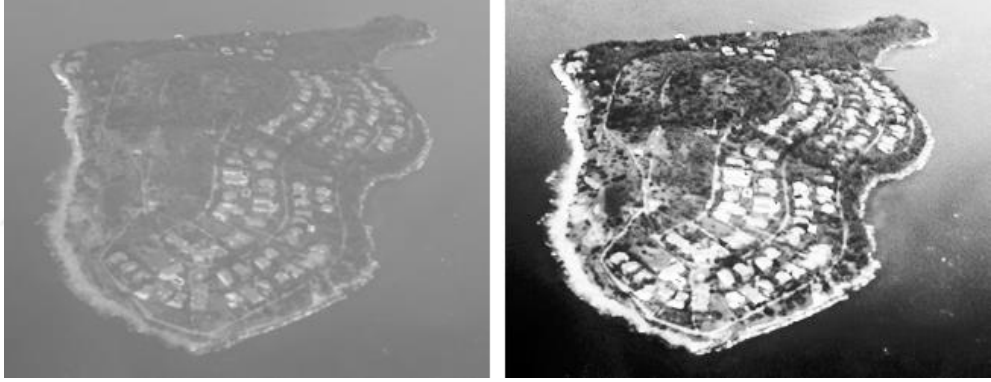
Histogram, görüntü içerisinde her renk değerinden kaç tane olduğunu gösteren bir grafikdir. Bu grafik incelenerek görüntünün parlaklık durumu ya da renk tonları hakkında bilgi sahibi olunabilir [101, 102].

Kontrast, zıtlık anlamına gelen bir ifadedir. Görüntülerde karanlık ile aydınlık alan arasındaki fark ya da oran olarak adlandırılır. Kontrastın yüksek olması görüntü içerisindeki nesnelerin daha kolay fark edilmesini sağlar ve kenar çıkarımını kolaylaştırır. Kontrast, karşıtlık ya da zıtlık anlamıyla ele alındığında görüntü içinde bilgiyi taşıyan komponent olarak karşımıza çıkar.

Parlaklık, ışık ya da aydınlık değeri olarak bilinir. Histogramı sol tarafa toplanan görüntüler genel olarak koyu renklidir ve bazı detayların fark edilmesi zor olabilir. Işık ayarları değiştirilerek parlaklık arttırılabilir ya da azaltılabilir.

5.2.1. Histogram Eşitleme

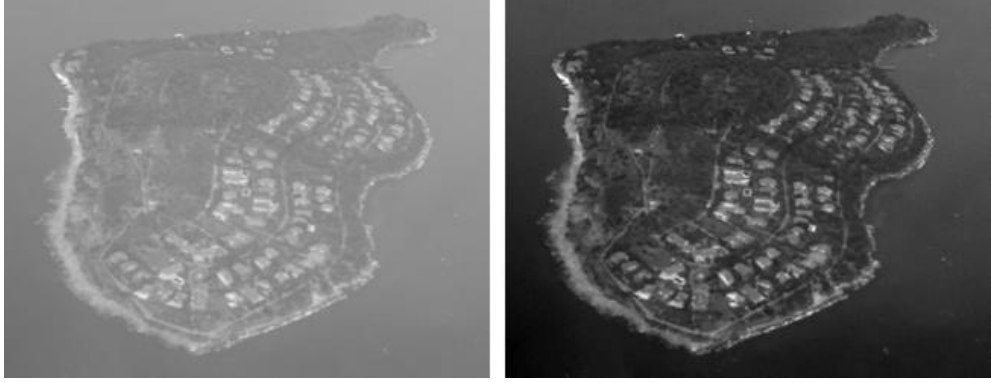
Kontrast zenginleştirme yöntemlerinden birisidir. Histogram eşitlemesi ile görüntüde parlaklığın en çok toplandığı alana en büyük eşitleme yapılır [103]. Görüntüye ait histogramda her sütunda tekrarlanan piksel sayısının görüntüdeki yüzdesi hesaplanır. En küçük değerden başlayarak kümülatif yüzde oranları hesaplanır. Gri değer aralıklarına ait oranlar hesaplanır ve kümülatif yüzde oranları ile gri değer aralıklarına ait oranlar karşılaştırılır. Buna göre yeni piksel değerleri oluşturularak işlem tamamlanır [104]. Böylece görüntü üzerindeki kontrast artırılmış olur. Piksel değerlerinin yakın kontrast değerlerine sahip olduğu görüntülerde etkisi daha iyi görülebilir. Daha düşük kontrasta sahip olan görüntülerin daha yüksek kontrasta sahip görüntüler haline dönüştürülmesinde kullanılır (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. Düşük kontrasta sahip orijinal görüntü (solda), histogram eşitlemesi yapılarak kontrastı yükseltelen görüntü (sağda).

5.2.2. Kontrast Germe

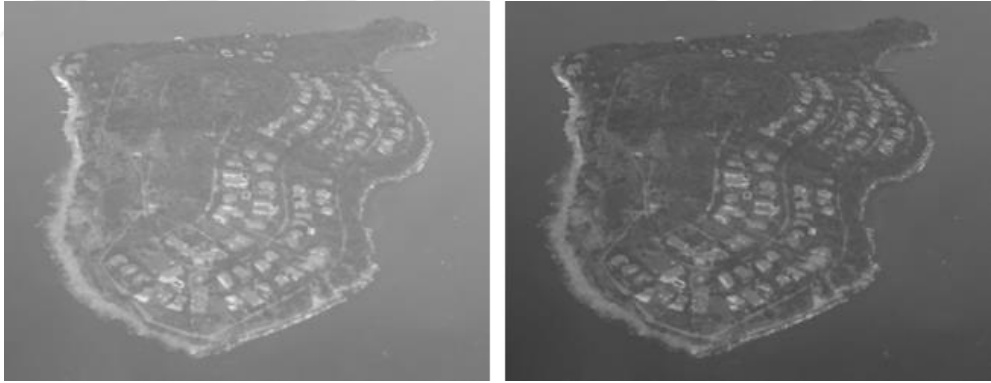
Kontrastı kötü, histogramı dar bir alana yayılmış görüntülerin histogramını geniş bir bölgeye yayarak kontrast iyileştirmesi amaçlanan bir yöntemdir. Bu yöntem, histogram germe olarak ta bilinir. Belirli bir ton etrafından toplanan histogram eğrisi en küçük ton değeri ve en yüksek ton değeri arasında düzgün bir şekilde dağıtılır (Şekil 5.2). Böylece görüntünün keskinliği artar ve sonraki yapılacak işlemlerin daha iyi sonuç vermesi sağlanır [104, 105].



Şekil 5.2. Orijinal görüntü (solda), kontrastı gerilmiş görüntü (sağda).

5.2.3. Parlaklık Değişirme

Parlaklık değişirme en kolay görüntü işleme operasyonlarından birisidir. Kırmızı, yeşil ve mavi renk değerlerine belirtildiği kadar değer eklenir veya çıkarılır. Elde edilen yeni değer 0-255 arasında değilse bu değerlere indirgenir veya yükseltilir. Böylece parlaklık değiştirilmiş olur (Şekil 5.3).



Şekil 5.3. Orijinal görüntü (solda), parlaklığı -50 değiştirilmiş görüntü (sağda).

5.3. EŞİKLEME YÖNTEMLERİ

Eşikleme, görüntüdeki ön planda olan nesnelere (obje) arka plandan ayıran bir yöntemdir. Yöntemin arkasındaki basit fikir, her gri tonlamalı pikselin ön tanımlı eşik değere göre sınıflandırılmasıdır [103, 106]. Genel olarak ön tanımlı eşikleme yöntemleri olduğu gibi, otomatik olarak uyarlanabilen yöntemlerde mevcuttur.

5.3.1. Ön Tanımlı Eşikleme

Gerçekleştirilme basitliği ve hızı nedeniyle ön tanımlı eşikleme görüntü işleme uygulamalarında önemli bir yere sahiptir. Nesneleri arka plandan ayırmak için ön tanımlı yöntemde bir kullanıcı tarafından keyfi ya da duruma en uygun eşikleme değeri tanımlanır. Tüm pikseller bu değere göre sınıflandırılır. Arka plan değeri ve aranan nesnelere göre bu değerden küçük olanlar arka plan veya nesne, büyük olanlar nesne veya arka plan olarak belirlenir (Eşitlik 5.4) [101, 107].

$$g(x, y) = \begin{cases} 1, f(x, y) > T \text{ ise} \\ 0, f(x, y) \leq T \text{ ise} \end{cases} \quad (5.4)$$

Eşitlik 5.4'te verilen ifadeye göre piksel değeri T değerinden büyük olan pikseller nesne olarak, diğerleri ise arka plan olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 5.4).

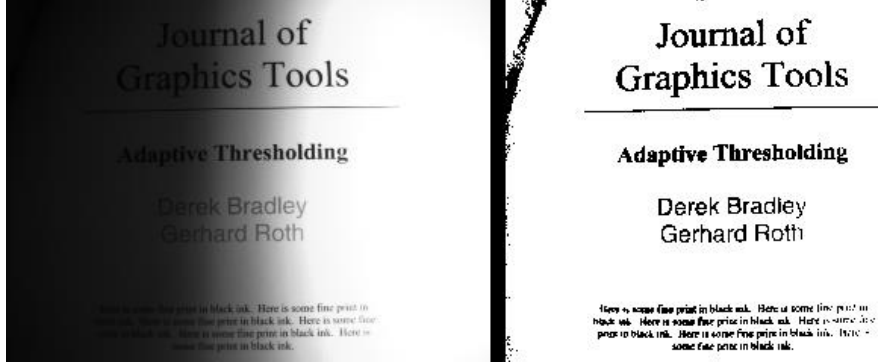


Şekil 5.4. Orjinal görüntü (solda), $T=155$ olarak eşiklenen görüntü (sağda).

5.3.2. Bradley Yerel Eşiklemesi

Bu algoritmadaki ana fikir, her bir pikselin çevresindeki piksellerin ortalamasına kıyaslanmasıdır. Parlaklığı alınan piksel, belirlenen boyuttaki bir penceredeki çevre piksellerinin ortalama parlaklığından, belirlenen yüzde değerinden daha düşükse piksel siyah olarak, değilse beyaz olarak belirlenir. Bu yöntemin avantajı sabit kontrast çizgilerini korur ve görüntü üzerinde bir kez çalışması yeterlidir [108]. Şekil 5.5'te parlaklık değeri % 15 ve çerçevedeki piksel sayısı 40 olarak alınmıştır. Bu 40 pikselden oluşan çerçevenin ortalama değeri ve pikselin parlaklık değeri

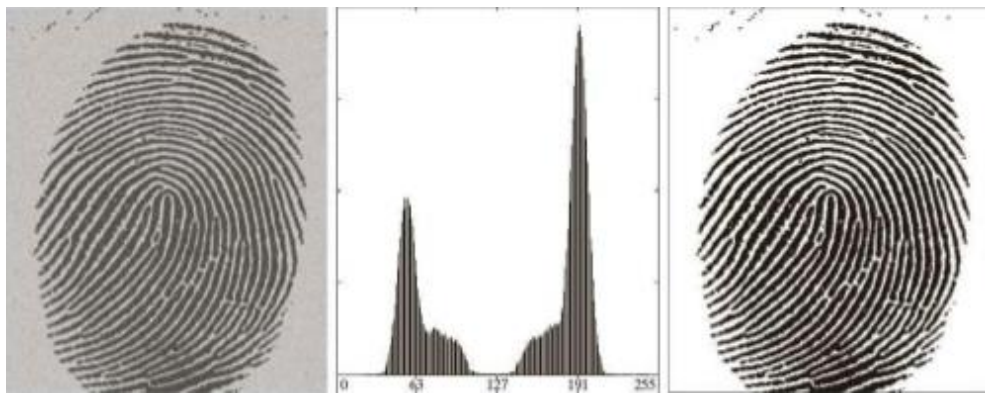
karşılaştırılmıştır. Piksel değeri ortalama değerden % 15 küçük ise siyah, değil ise beyaz olarak işaretlenmiştir.



Şekil 5.5. Orijinal görüntü (solda), bradley yerel eşikleme yapılmış görüntü (sağda) [109].

5.3.3. Otsu Eşikleme

Bu yöntemde herhangi bir ön eşik değeri verilmez. Yöntemde görüntüde ön plan ve arka plan olmak üzere iki sınıf olduğu kabul edilir. Bu iki sınıfın eşiklenmiş siyah ve beyaz piksellerin sınıflar arası varyansını en aza indiren değer genel eşik değeri olarak belirlenir (Şekil 5.6). Temel fikir, sınıflar arasındaki gri ton değerleri için en iyi ayrımı veren eşik değeri en uygun eşik değeri olarak seçilir. Otsu yöntemi, dizi olarak elde edilebilen histogram üzerinde yapılan hesaplamalara dayalı olması gibi önemli bir özelliğe sahiptir [106, 110–113].



Şekil 5.6. Orijinal görüntü (solda), histogram (ortada), otsu uygulanmış görüntü (sağda) [112].

5.3.4. İntermodes Eşiklemesi

En çok kullanılan genel eşikleme yöntemlerindendir ve histogram analizine dayanır. İki durumlu bir histogram varsayılır. Histogram yalnızca iki yerel maksimum değer elde edilinceye kadar üç noktalı ortalama filtresi kullanılarak tekrarlanır. Histogramda iki tepe noktası kaldığında tepe noktaların ortası veya tepe noktalar arasındaki minimum yer eşik değeri seçilerek eşikleme yapılır [111, 114].

5.3.5. Tekrarlı Eşikleme

Görüntü üzerinde nesneye ve arka plana ait piksel yeğinlik dağılımları yeterince farklı olduğunda tek bir eşik değeri kullanarak eşikleme yapmak mümkündür. Birçok uygulamada bu uygun bir yaklaşım olsa dahi görüntüler arasında gözle görülür farklılıklar oluşur. Bu yüzden daha iyi sonuçlar elde edebilmek için eşik seviyesini otomatik olarak belirleyebilen yöntemlere ihtiyaç duyulur. Tekrarlı eşikleme bu amaç için kullanılabilir. Bu yöntemde ön tanımlı bir eşik değeri ve kabul edilen hata payı belirlenir. Eşik değerine göre tarama yapılır ve görüntü bölütlenir. Böylece nesne ve arka plan ayrılır. Arka plan gri tonlarının ve nesne gri tonlarının ortalaması alınır. Bu iki ortalama toplanıp ortalamaları alınır ve yeni eşik değeri belirlenir. Önceki eşik değeri ve yeni eşik değeri arasındaki fark, başta belirtilen hata payından küçük oluncaya kadar devam eder. Eşik değerleri arasındaki fark hata payından küçük olduğunda bulunan değer eşik değeri olarak belirlenir. Bu yöntem nesnelere ve arka plan ile ilgili histogramlarda belirgin ayrımlar olduğunda iyi çalışmaktadır [112]. Şekil 5.7’de ilk eşik değeri 128, hata payı 2 olarak verilmiş ve son eşik değeri 102 olarak hesaplanmıştır.

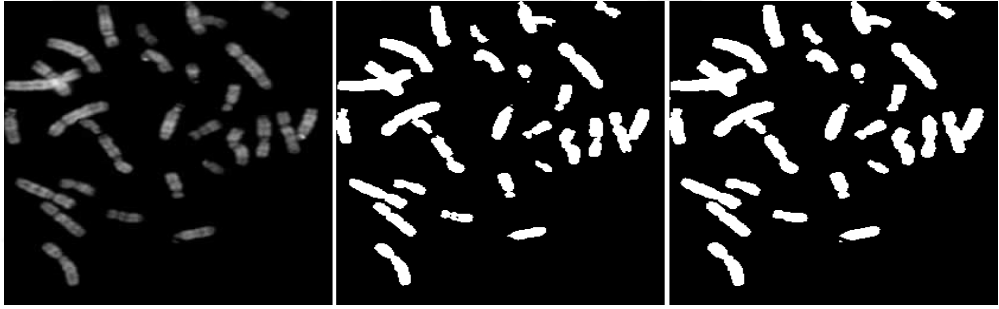


Şekil 5.7. Orijinal görüntü (solda), tekrarlı eşikleme yapılmış görüntü (sağda) [109].

5.3.6. Standart Sapmaya Dayalı Eşikleme

Gerçek zamanlı çalışan uygulamalarda veya çoklu görüntülerin işlenmesi sırasında eşikleme değerinin otomatik olarak belirlenmesi önemlidir. Ayrıca eşikleme değerinin en iyi değer olarak seçilmesi gerekir. Eşikleme değerinin otomatik seçilmesinde kullanılan yöntemlerden birisi de standart sapmaya dayalı eşiklemedir. Görüntünün histogram değeri üzerinde Eşitlik 5.5'e göre standart sapma değeri hesaplanır ve bu değer eşik noktası olarak belirlenir. Böylece görüntü ikili görüntüye çevrilir (Şekil 5.8) [115].

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad (5.5)$$



Şekil 5.8. Orijinal görüntü (solda), otsu eşiklemesi yapılan görüntü (ortada), standart sapma değeri olan $T=36$ ' ya göre yapılan eşikleme (sağda).

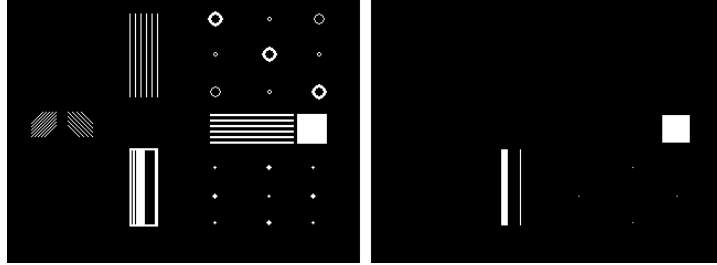
5.4. MORFOLOJİK İŞLEMLER

Morfolojik işlem, bir görüntüdeki nesnelerin uzamsal biçimi veya yapısının değiştirildiği bir görüntü işleme tekniğidir. Bu işlemlerle nesne genişletilebilir, daraltılabilir, iskeleti çıkarılabilir ve budanabilir. İkili görüntülerde çok daha iyi sonuç verirler [116].

5.4.1. Aşındırma

Erozyon işlemi olarak bilinir. Özellikle ikili hale (binary) dönüştürülmüş görüntüdeki küçük nesnelerin temizlenmesi için kullanılır. Görüntü kenarlarından aşındırılarak

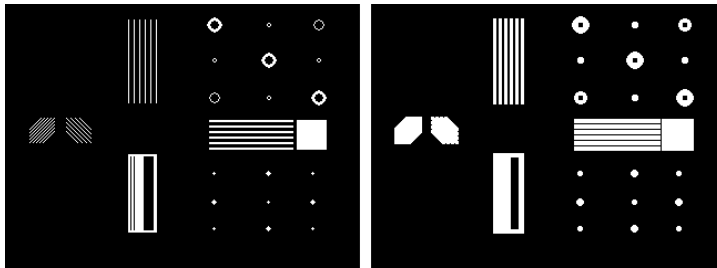
içerde kalan kısım ortaya çıkarılır. Özellikle kenarlardaki pürüzlerin giderilmesi ve yakın nesnelerin birbirlerinden ayrılmasında sıkça kullanılır (Şekil 5.9). Ancak kalan nesnelerin küçülmesi dezavantajdır.



Şekil 5.9. Orijinal görüntü (solda), aşındırma yapılmış görüntü (sağda) [109].

5.4.2. Genişletme

Belirgin olmayan ikili nesnelerin belirgin hale getirilmesi (kalınlık ve çap olarak arttırılması gibi) ve birbirine yakın nesnelerin birleştirilerek tek nesne haline getirilmesi için kullanılır. Nesne kenarlarından genişletilir. Nesneler sınır oranlarına bağlı kalınarak büyütülmek istendiğinde de kullanılabilir (Şekil 5.10). Genişletme uygulanmış bir görüntüde, görüntü içerisindeki boşlukların ve deliklerin doldurulması ve köşe noktalarda yumuşama gözlenir [117].



Şekil 5.10. Orijinal görüntü (solda), genişletilmiş görüntü (sağda) [109].

5.4.3. Açma Ve Kapama

Aşındırma ve genişletme kullanılarak nesneler üzerinde oynamalar yapılabilir ve görüntü üzerindeki istenmeyen sınırlar veya gürültüler temizlenebilir. Ancak aşındırma yapılan bir görüntüde kalan tüm nesneler küçülür ve orijinal formlarından

saparlar. Genişletme yapılan görüntüde ise istenmeyen çatlaklar kapanırken kalan nesnelerin boyutları büyür. Bunlardan kaçınmak ve bu olumsuz etkileri yok etmek için aşındırma ve genişletme sırayla kullanılabilir. Önce aşındırma sonra genişletme yapılırsa açma, önce genişletme sonra aşındırma yapılırsa da kapama yapılmış olur (Şekil 5.11) [105].



Şekil 5.11. Orijinal görüntü (solda), açma yapılan görüntü (ortada), kapama yapılan görüntü (sağda) [109].

5.4.4. Sınır Çıkarma

Görüntüdeki nesnenin dış sınırlarının (border) veya dış kenarlarının çıkarılması için kullanılan bir yöntemdir. Sınırları çıkarılmak istenen görüntüye önce aşındırma yapılır. Orijinal görüntüden aşındırma yapılan görüntü çıkarılarak nesnenin sınırları basitçe ortaya çıkarılır (Şekil 5.12) [112].

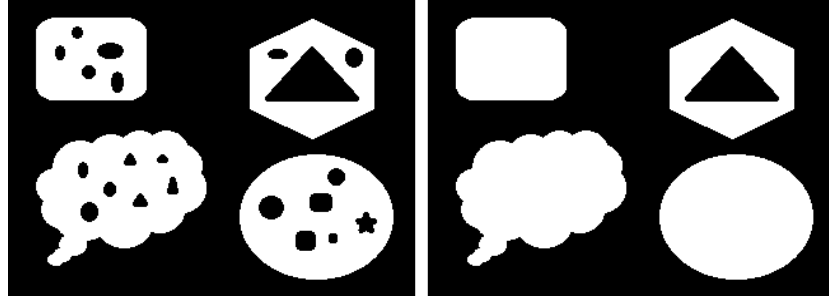


Şekil 5.12. Sınır çıkarma işlemi [112].

5.4.5. Boşluk Doldurma

Boşluk, ön plandaki piksellerin birbirine bağlı kenarlıklarıyla çevrili bir arka plan bölgesi olarak tanımlanabilir. Boşluk doldurma için genişleme ve kesişim tabanlı

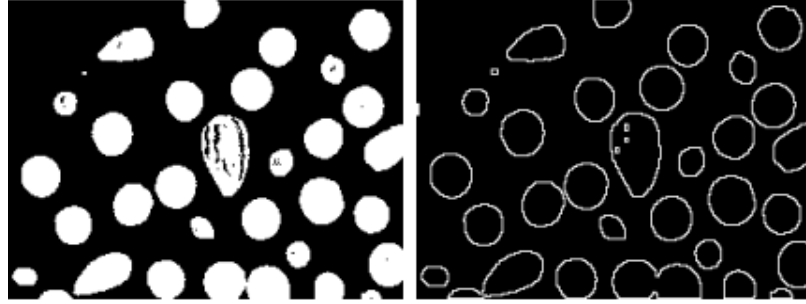
işlemler yapılır. Tespit edilen boşluklar 8 komşudan itibaren genişletme yapılarak kaybedilir (Şekil 5.13) [112].



Şekil 5.13. Orijinal görüntü (solda), boşluk doldurma yapılmış görüntü (sağda) [109].

5.4.6. İnceltme

Bazı durumlarda, nesnenin topolojisini koruyarak, farklı parçalara ayırmadan aşındırmak gerekebilir. Böyle durumlarda aşındırma işlemi yapılabilir ancak nesnenin parçalara bölünme riski vardır. İnceltme bir aşındırma türüdür ancak nesne parçalara bölünmez, nesne kısaltılmaz ve nesne silinmez (Şekil 5.14) [105].

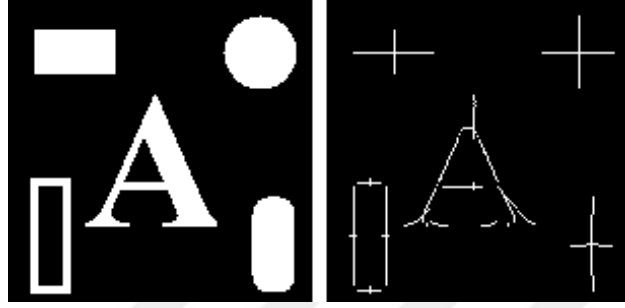


Şekil 5.14. Orijinal görüntü (solda), inceltme yapılmış görüntü (sağda) [105].

5.4.7. İskelet Çıkarma

Basit nesnelerin yatay ve dikey olarak çubuk kadar kalıncaya kadar inceltilmesi iskelet çıkarma olarak tanımlanabilir. İskelet çıkarmanın sezgisel açıklaması Prairie yangın analogisi ile ifade edilebilir. Dikdörtgen şeklindeki bir kurumuş çim alanı olduğu varsayılarak bu çim alanı her kenarından yakılmaya başlansa alevler her kenardan merkeze doğru ilerler ve kenarlar birleştiğinde yangın söner. Bu birleşme

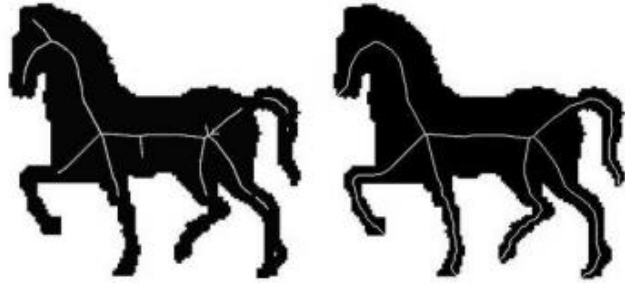
ve sönümlenme yerleri alanın iskeletini verir. İskelet ve kenar arasındaki mesafeye söndürme mesafesi denir. Daha genel olarak, bir nesnenin iskeleti, nesnenin sınırının en yakın iki noktasından eşit mesafede bulunan noktalar kümesinden oluşur. Söndürme mesafesi ve iskelet kullanılarak nesnenin kenarları tekrar oluşturulabilir (Şekil 5.15) [116].



Şekil 5.15. Orijinal görüntü (solda), iskeleti çıkarılmış görüntü (sağda) [109].

5.4.8. Budama

Budama yöntemi, inceltme ve iskelet çıkarma yöntemlerini tamamlayıcı bir yöntemdir. Çünkü inceltme veya iskelet çıkarma uygulanan bir nesne, temizlenmesi gereken pürüzler bırakmaya eğilimlidir. Bu pürüzler, çizginin genel şekli için düğüm olmayan ve çıkarılması gereken bir çizginin dallarını ifade eder. Standart bir budama algoritması tüm çizgileri dolaşarak dalların nokta sayısına göre, dalı görüntüden çıkarır veya bırakır. Böylece budama işlemi tamamlanmış olur (Şekil 5.16) [118].



Şekil 5.16. İskeleti çıkarılmış görüntü (solda), budama yapılmış görüntü (sağda) [118].

5.5. KENAR ÇIKARMA YÖNTEMLERİ

Kenar çıkarma veya keskinleştirmenin temel amacı, yeğinlik değişimindeki geçişleri vurgulamaktır. Görüntü keskinleştirmenin kullanım alanları çeşitlilik göstermekte ve elektronik baskı ve tıbbi görüntüleme endüstriyel inceleme ve askeri sistemlerdeki uygulamalara kadar birçok yerde kullanılmaktadır [112].

5.5.1. Sobel Kenar Çıkarma Yöntemi

Sayısal bir görüntü, nokta üzerindeki gradyan değerinin, 3X3 komşulukla (Şekil 5.17) mümkün olan dört merkezi yönde elde edilebilir gradyan değerlerinin vektör toplamları şeklinde oluşturulması düşüncesine dayanır. Bu düşünce ile sobel yöntemi oluşturulmuştur [119].

P1	P2	P3
P8	x	P4
P7	P6	P5

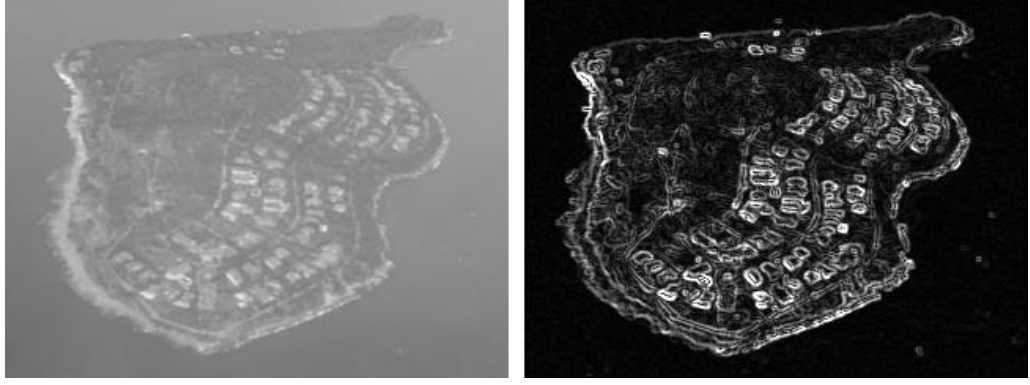
Şekil 5.17. 3X3 komşuluk gösterimi.

Her bir piksel için Eşitlik 5.6'daki çekirdek uygulanarak pikselin değeri bulunur.

$$G_x = \begin{bmatrix} -1 & 0 & +1 \\ -2 & 0 & +2 \\ -1 & 0 & +1 \end{bmatrix} \quad G_y = \begin{bmatrix} +1 & +2 & +1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{bmatrix} \quad (5.6)$$

Bu işlem sonucunda Şekil 5.16'da verilen orta konumdaki pikselin yeni değeri Eşitlik 5.7'ye göre hesaplanır ve kenar çıkarımı tamamlanır (Şekil 5.18).

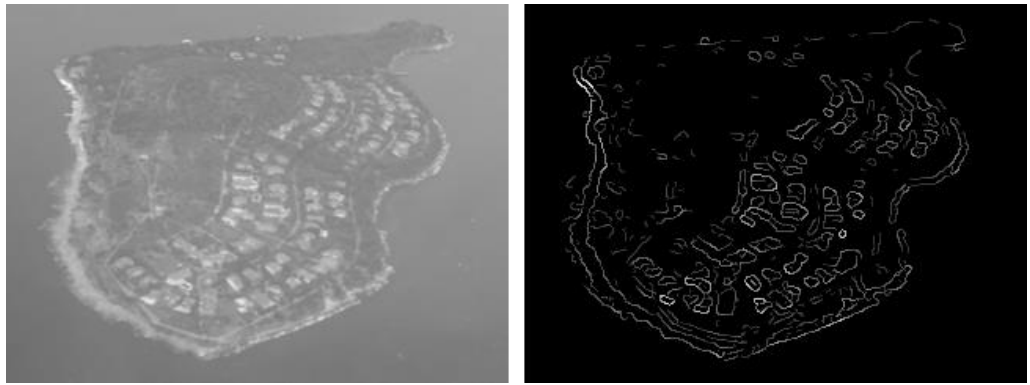
$$|G| = |P1 + 2P2 + P3 - P7 - 2P6 - P5| + |P3 + 2P4 + P5 - P1 - 2P8 - P7| \quad (5.7)$$



Şekil 5.18. Orijinal görüntü (solda), sobel uygulanmış görüntü (sağda).

5.5.2. Canny Kenar Çıkarma Yöntemi

Kenar çıkarmada son derece etkili olan bir yöntemdir ve işlenecek verilerin miktarını önemli ölçüde azaltır. Çeşitli bilgisayar görme sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Düşük hata oranına sahip kenarın algılanması, algılamanın mümkün olduğunca görüntüde gösterilen kadar çok kenarı yakalaması gerektiği anlamına gelir. Operatör tarafından tespit edilen kenar noktası, kenarın merkezinde doğru bir şekilde lokalize edilmelidir. Görüntünün belirli bir kenarı yalnızca bir kez işaretlenmelidir ve mümkün olduğunca görüntü gürültüsü sahte kenarlar oluşturmamalıdır. Gürültüyü gidermek ve görüntüyü düzleştirmek için Gauss filtresi uygulanır. Görüntünün yoğunluk gradyanları bulunur. Sahte kenarlardan kurtulmak için baskılama yapılır. Olası kenarları belirlemek için eşikleme yapılarak kenarlar belirlenir (Şekil 5.19).

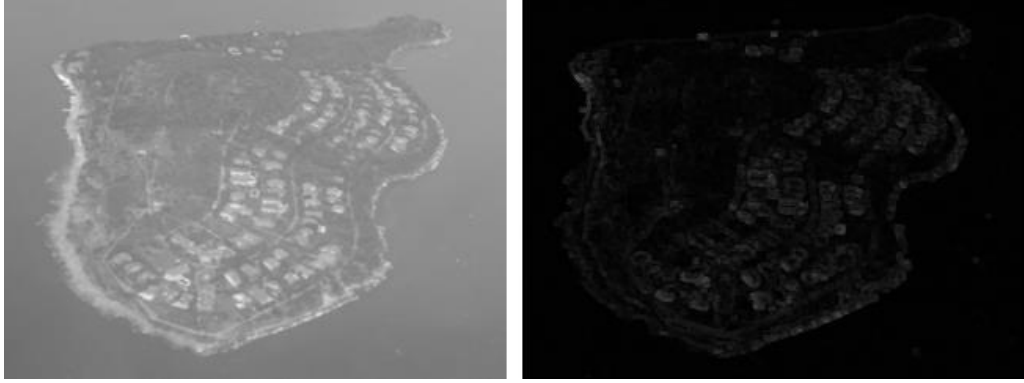


Şekil 5.19. Orijinal görüntü (solda), canny uygulanmış görüntü (sağda).

5.5.3. Homojen Kenar Çıkarma Yöntemi

Kenar çıkarma, gürültülü görüntülerde zordur. Çünkü gürültü ve kenarlar yüksek geçirgen frekansa sahiptir. Gürültüyü azaltma denemelerinde bulanık ve çarpık kenarlar oluşabilir. Ayrıca tüm kenarlar aynı yoğunluğu içermez. Kırılma ya da zayıflama durumları olabilir. Bu yöntem bu olumsuzlukların üstesinden gelebilecek şekilde optimize edilmiştir. Yöntem, pikselin 3X3 komşularıyla (Şekil 5.16) her birinin farklarının mutlak değerini hesaplar ve bu farklardan maksimum olan orta pikselin yeni değeri olmuş olur (Eşitlik 5.8) (Şekil 5.20) [120].

$$x_n = \max(\{|x - p_i|; i = 1 \dots 8\}) \quad (5.8)$$

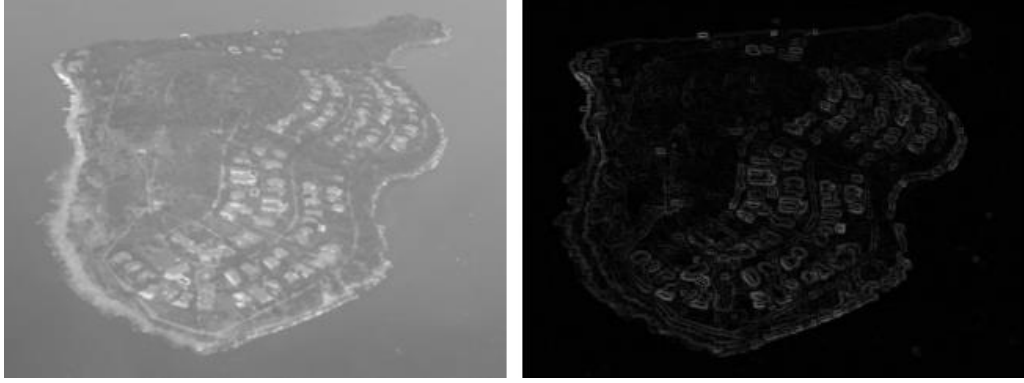


Şekil 5.20. Orijinal görüntü (solda), homojen kenar çıkarma uygulanmış görüntü (sağda).

5.5.4. Prewitt Kenar Çıkarma Yöntemi

Çalışma şekli olarak sobel yöntemine oldukça benzer. Düşey ve yatay yönlerde işlem yaparak kenarları çıkarır. 3X3 çekirdek matrisi kullanarak tüm görüntü üzerinde dolaşır. Kullanılan tarama matrisleri Eşitlik 5.9’da verilmiştir (Şekil 5.21).

$$G_x = \begin{bmatrix} +1 & 0 & -1 \\ +1 & 0 & -1 \\ +1 & 0 & -1 \end{bmatrix}, G_y = \begin{bmatrix} +1 & +1 & +1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -1 & -1 \end{bmatrix} \quad (5.9)$$



Şekil 5.21. Orijinal görüntü (solda), prewitt uygulanmış görüntü (sağda).

5.6. NESNE İŞLEMLERİ

Görüntü işlemedeki amaç, görüntü içerisinde istenilen özelliklerdeki nesne veya nesnelerin tespit edilebilmesini sağlamaktır. Yapılan ön işlemlerden sonra görüntü üzerinde kalanların istenilen nitelikleri taşıyıp taşımadığını saptamak için nesne işlemleri yapılır.

5.6.1. Bağlantılı Bileşen Etiketleme

Varsayılan olarak siyah arka planı olan görüntülerde çalışan yöntem, birbiri ile komşu pikselleri tespit ederek bir grup içine toplamaya yaramaktadır. Bu gruplama sonucunda görüntü üzerindeki her bir grup bir nesneyi temsil eder. Bağlantılı bileşen etiketleme, dört komşuluk veya sekiz komşuluk olarak ikiye ayrılır. Düşey ve yatay piksellerde gruplama yapılmak istenirse dört komşulu, her yönde gruplama yapılmak istenirse sekiz komşulu etiketleme yapılmalıdır.

En çok kullanılan tarama yöntemi çift geçiş yöntemidir. İlk geçişte tüm pikseller taranır. Piksel siyah değil ise, pikselin tüm komşularına bakılır. Tüm komşular siyah veya beyaz ise bu piksele bir etiket atanarak diğer piksele geçilir. Bu pikselde komşulardan en az biri etiketli ise piksele etiketli komşuların en küçüğü atanır ve tarama böylece devam eder. İkinci geçişte ise, bağlantılı olup farklı etiketli nesnelere var ise bunların etiketleri birleştirilir. Böylece nesnelere ait pikseller tespit edilmiş olur [121]. Şekil 5.22'de ikili kromozom görüntüsüne uygulanan bağlantılı bileşen etiketleme sonucu renklendirilerek verilmiştir.



Şekil 5.22. İkili görüntü (solda) , bağlantılı bileşen etiketleme uygulanmış görüntü (sağda).

5.6.2. Parça Filtresi

Ön işlem yapılan görüntü üzerinde kalan nesnelere işaretlemek, yerlerini tespit etmek veya ayırmak için kullanılır. Genelde tarama yapılan görüntüde siyah alanların tamamı arka plan, siyah olmayan alanlar ise ön plan veya nesne olarak adlandırılır. Bağlantılı bileşen etiketlemesi yapılarak nesnelere ait pikseller bulunur. Daha sonra bu pikseller kullanılarak her bir nesne için genişlik, yükseklik, başlangıç noktası gibi bilgiler elde edilir. Çok küçük nesnelere göstermemesi için aranan nesneye ait eşik değerleri tanımlanabilir.

5.6.3. Köşe Tespiti

Moravec tarafından öne sürülen yöntem her pikselin komşularını bulup, kare farkı algoritması kullanarak komşular arası yeğlilik farkını hesaplamaya dayanır. Yeğlilik değişimi sifıra yakınsa değişiklikler küçüktür. Piksel, kenar doğrultusunda ilerledikçe küçük farklar, kenara dik ilerlediğinde büyük farklar beklenir. Farklar bütün yönlerde ise pikselin köşe ya da izole olan bir nokta olması beklenir [122].

5.6.4. Dörtgen Tespiti Ve Dönüşümü

Köşe tespiti ile bulunan nesneye ait noktalar kullanılarak nesnenin üçgen veya dörtgen olup olmadığına bakılır. Noktalardan sırasıyla X ve Y eksenindeki en küçük değere sahip olan nokta başlangıç köşesi olarak kabul edilir. Saat yönünün tersine

noktalar taranarak nesnenin anlamlı bir şekli olup olmadığı incelenir. Nesne anlamlı bir dörtgen ise, dikdörtgene dönüştürülür [123].

Dörtgenlerin dönüşümü için farklı yöntemler bulunmaktadır. Bu dönüşümlerden birisi Helmert dönüşümü olarak ta bilinen benzerlik dönüşümüdür. Geometrik biçimler, dönüşümden sonra ilk hallerine benzer. Benzerlik dönüşümü, nokta kümesinin koordinatlarını referans yüzeye göre döndürme, ölçekleme ve öteleme işlemlerini içeren dönüştürmeyi ifade eder. Bu dönüşüm yönteminde açılar korunur [124–126].

Dönüşümler için sık kullanılan yöntemlerden birisi de Afin dönüşümleridir. Benzerlik dönüşümünün aksine, dörtgendeki açılar değişmesi gerektiğinde tercih edilir. Afin dönüşümleri, geometrik dönüşümlere dayalı temel işlemler olan öteleme, döndürme, ölçekleme, germe ve eğme işlemlerinin genel bir formudur. Bu dönüşüm ile bir dikdörtgen paralel kenara çevrilebilir. Afin dönüşümü, x ve y eksenleri için farklı ölçek ve dönme parametreleri içermesi bakımından benzerlik dönüşümünden farklıdır. Dönüşüme uğrayan dörtgen, ilk halinden şekil olarak farklıdır fakat kenarlar birbirine paralel kalırlar. Eşitlik 5.10'da verildiği gibi vektörler ve matris çarpımı ile ifade edilebilir.

$$\begin{bmatrix} x' \\ y' \\ 1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & t_x \\ a_{21} & a_{22} & t_y \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x \\ y \\ 1 \end{bmatrix} \quad (5.10)$$

Bir Afin dönüşümü, dönüşüm için kullanılan altı özelliğe sahiptir. Bunlardan (t_x , t_y) öteleme için, (a_{11} , a_{12} , a_{21} , a_{22}) ise döndürme, ölçekleme, germe ve eğme için kullanılır [105, 116, 125–127].

Projektif dönüşümü olarak ta bilinen perspektif dönüşüm ise düzlemlerin farklı iz düşümleriyle tanımlanabilir. Perspektif dönüşümü klasik kartezyen koordinat sistemi yerine homojen koordinat sistemini kullanır. Kartezyen koordinat sisteminde (x , y , 1) olarak ifade edilen bir koordinat, homojen koordinat sisteminde (x' , y' , w) olarak ifade edilir. Değişken olarak kullanılan (w) ile Eşitlik 5.11 kullanılarak tekrar kartezyen koordinat sistemine dönüş yapılabilir.

$$x = \frac{x'}{w} \quad (5.11)$$

$$y = \frac{y'}{w}$$

Perspektif dönüşümü homojen koordinat sistemi ile Eşitlik 5.12'deki gibi ifade edilir.

$$\begin{bmatrix} x' \\ y' \\ w \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & a_{13} \\ a_{21} & a_{22} & a_{23} \\ a_{31} & a_{32} & a_{33} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x \\ y \\ 1 \end{bmatrix} \quad (5.12)$$

Bu dönüşüm türü ile dörtgenlerin şekilleri, açıları ve kenarların paralellikleri değişir.

Bir dikdörtgen yamuğa dönüştürülebilir [116, 125–127].

5.6.5. Benzerliğe Göre Eşleştirme

Görüntüler arasındaki benzerliklerin bulunarak birbirine en çok benzeyen görüntülerin eşleştirilmesi için kullanılan yöntemlerden birisi de içerik tabanlı görüntü erişimi yöntemidir.

İçerik tabanlı görüntü erişimi ile ilgili çalışmalara bakıldığında 1970'lerden itibaren plaka tanımlama, bir şeklin görüntülerden çıkarılması, yüz tanıma gibi çalışmalar olduğu görülmektedir. Bu çalışmaların belirgin özelliği örneğe benzeyen görüntülerin benzeme düzeylerine göre bulunmasıdır [128]. Yapılan çalışmalarda farklı yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemler şablon eşleme, öznitelik çıkarımı ve bu uygulamaların birlikte kullanımı olarak karşımıza çıkmaktadır.

Özniteliklerin çıkarılması sırasında kullanılan yöntemlerden birisi 64-bin histogram yöntemidir. Görüntüyü oluşturan piksellere ait renk değerlerinden her birisi sekiz bit ile ifade edilmektedir. Renk bileşenlerini taşıyan bu sekiz bit, değerli bitler ve daha az değerli bitler olarak iki gruba ayrılırlar. En solda kalan iki bit, değerli bitler olarak sınıflandırılır ve renk hakkında bilgi verir. Kalan altı bit ise daha çok parlaklık hakkında bilgi veren bitlerdir. Görüntü üzerinde tarama yapılarak piksellere ait ilk iki bit ile yeni bir histogram çıkarılır. Özellikle içerik tabanlı görüntü erişimi yapılan çalışmalarda kullanılan bu yöntem 64-bin histogram adı verilmektedir. [129, 130].

BÖLÜM 6

DENEYSEL ÇALIŞMA

Çalışma kapsamında yapılan deneysel çalışmalar bu bölümde tanıtılmıştır. Deneysel çalışma bölümü, materyal ve yöntem olmak üzere iki alt bölüm olarak tasarlanmıştır. Materyal başlığı altında verilen birinci alt bölümde, kullanılan gereçlerin tanıtımı, oluşturulma aşamaları ve kullanım amaçları verilmiştir. Yöntem olarak belirlenen ikinci bölümde ise birinci bölümde anlatılan gereçlerin kullanımı ve yöntemler tanıtılmıştır.

6.1. MATERYAL

Oluşturulan ve deneysel çalışmalarda kullanılan sistem, kamera, ışık mikroskobu, elektronik kontrol ünitesi, bilgisayar, preparatlar ve üretilen otomatik şaryodan oluşmaktadır.

6.1.1. Kamera

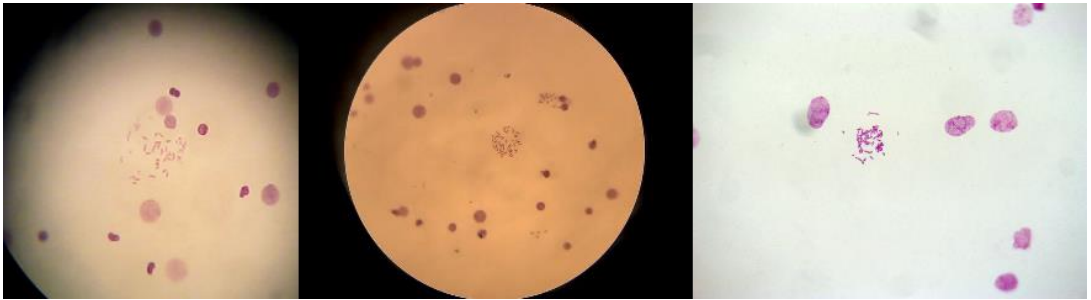
Görüntü işleme sürecinin ham maddesi görüntülerdir. Oluşturulan sistemin yeteneklerinden birisi metafaz plaklarını tespit edebilmesidir. Metafazların tespit edilebilmesi, otomatik odaklamanın ve preparat taramasının yapılabilmesi için öncelikle görüntü aktarımının sağlanması gerekmektedir. Çalışma kapsamında üç farklı kamera ile görüntü alınmıştır. İlk denemeler web kamerası olarak kullanılan basit bir USB kamerasıdır. Mikroskop okülerine karton bir aparat yardımı ile bağlanarak görüntü aktarımı yapılmıştır. Bu kameradan istenilen hassasiyet alınamayınca farklı arayışlara girilmiştir. Otomatik netleme ve otomatik pozlama özelliklerine sahip olduğu için Sony marka ağ kamerası seçilerek denemelerde bu kamera kullanılmıştır. Preparatın konumu değiştiğinde oluşan titreşimlerden ve alınan görüntünün dairesel formda olmasından dolayı performans düşüklüğü

yaşanmıştır. Ayrıca kameranın mikroskoptan bağımsız olarak uçayak ile kullanılması kullanım zorluğuna sebep olduğu için bu kameranın kullanımı bırakılmıştır.

Mikroskoptan görüntülerin alınması için son olarak yüksek çözünürlüklü DigiRetina 16 USB kamera kullanılmıştır. İnceleme amaçlı alınan görüntüler 25 FPS (Saniyedeki Çerçeve Sayısı), 4 MP (Megapiksel) çözünürlükte alınmıştır. Kameraya ait teknik özellikler Çizelge 6.1’de verilmiştir. Görüntü elde edilmesi sırasında beyaz dengesi ve pozlama süresi otomatik olarak seçilmiştir. Çalışmada kullanılan ve denemeler yapılan üç kameradan alınan görüntülerin karşılaştırılması Şekil 6.1’ de gösterilmiştir.

Çizelge 6.1. DigiRetina 16 bilimsel kameraya ait özellikler [131].

Sensör	CMOS
Görüntü İletimi	High-speed (FPGA+DDR)
Piksel Ölçüsü	1.335µm x 1.335µm
Dinamik/Statik Çözünürlük	4608x3456 2304x1728
Çerçeve Oranı	25FPS-4MP 5FPS-16MP
Pozlama Süresi	1 ms-999 ms
Pozlama Modu	Otomatik/Elle
Beyaz Dengesi	Otomatik/Elle
Optik Arayüz	Standard C-Mount
Veri Arayüzü	USB3.0, compatible with USB2.0



Şekil 6.1. Web kamerasından alınan görüntü (solda), güvenlik kamerasından alınan görüntü (ortada), DigiRetina ile alınan görüntü (sağda).

6.1.2. Mikroskop

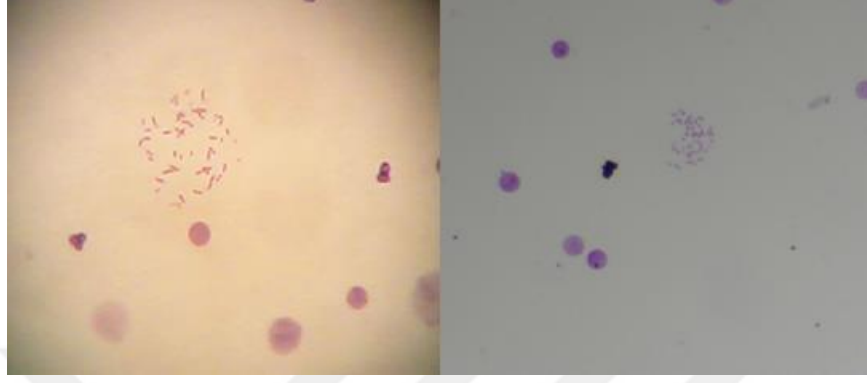
Üretilen otomatik şaryonun kullanılması için binoküler optik mikroskop (Soif) kullanılmıştır (Şekil 6.2). Bu mikroskop genel laboratuvar incelemeleri ve araştırmaları için kullanılabilen, düşük maliyetli bir çözüm olması nedeni ile seçilmiştir. Üzerinde 4X, 10X, 40X, 100X objektifler ve 10X oküler kuruludur. Halojen aydınlatma sistemine sahiptir. Kaba ayar vidası ve ince ayar vidası düzeneği ile hareket eden ve elle kontrol edilebilen şaryoya sahiptir. Kullanılan mikroskobun şaryosu çıkarılarak üretilen motorize şaryo monte edilmiştir.



Şekil 6.2. Soif ışık mikroskobu.

Görüntü işleme sırasında daha iyi sonuçlar almak ve daha az kaynak tüketmek için elde edilen görüntülerin olabildiğince az gürültülü olması gerekmektedir. Mikroskobun üzerinde yer alan halojen ışık kaynağı, görüntü alımı sırasında gürültülere yol açmıştır. Bu yüzden bu ışık kaynağı, LED ışık kaynağı ile değiştirilerek daha az gürültülü görüntüler elde edilmiştir (Şekil 6.3). Taramalar

sırasında mikroskop üzerine 10X objektif takılmıştır. Kameranın okülere montajı için ise 0.45X bağlantı aparatı kullanılmıştır. Kullanılan mikroskoba ait detaylı bilgiler ise Çizelge 6.2’de verilmiştir.



Şekil 6.3. Halojen ışık kaynağında alınan görüntü (solda), led ışık kaynağı ile alınan görüntü (sağda).

Çizelge 6.2. Soif binoküler mikroskop özellikleri.

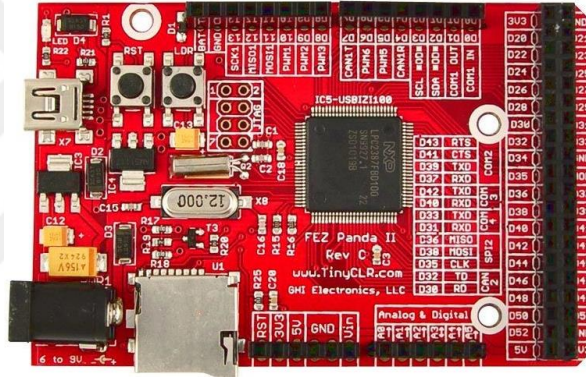
Oküler	10x 20 mm okülerler
Kafa Tipi	Binoküler başlık; 30° eğimli, 360° dönüşlüdür. Başlıkta alın ve gözler arası mesafe 50 – 75 mm. arasında ayarlanır.
Görünen Alan	Çift geniş saha.
Objektifler	4x,10x,40x,100x
Objektif Revolveri	Sonsuz dönüşlü ve her objektif yuvası stoperli olan 4 adet objektif için quadplex revolveri bulunur.
Şaryo	Koaksiyal çalışan kaba ve ince ayar düğmeleri gövdenin her iki tarafındadır.
Aydınlatma	Köhler tipi, ayak içinden trafolu, 6V-30W Halojen ampul ile sağlanır ve ışık şiddetini ayarlamak için sürgülü tip dimmer devresi bulunur

6.1.3. Elektronik Kontrol Ünitesi Ve Bilgisayar

Elektronik kontrol ünitesi tüm devreleri içine alabilecek şekilde tasarlanmıştır. Tüm devre elemanları ve bağlantılar için soketli yapı tercih edilmiştir. Böylece herhangi bir arıza durumunda ilgili parça kolaylıkla yenisi ile değiştirilebilir. Kontrol ünitesi, kontrol ve genişleme kartı, soğutucu fan, adım motoru sürücüleri, LED ışık ayar düğmesi ve bunları muhafaza eden metal kutudan oluşmaktadır.

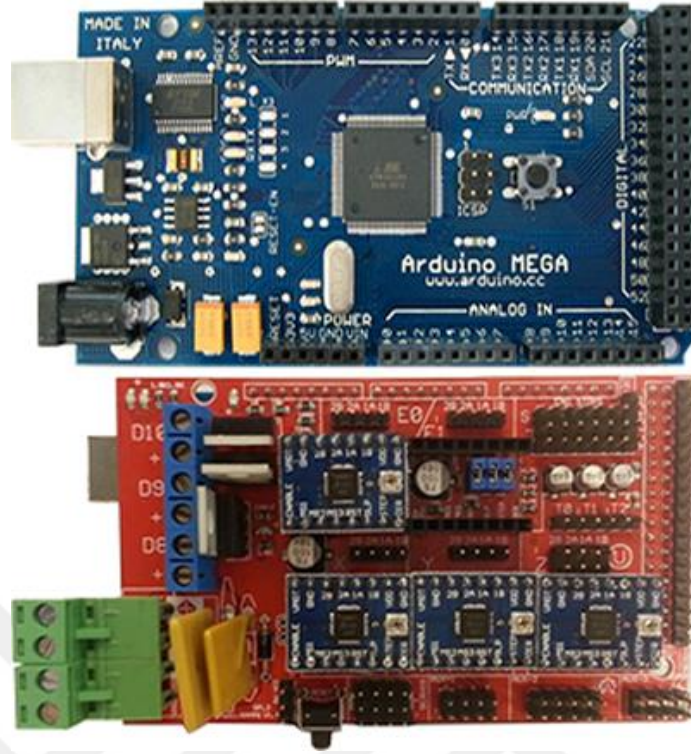
6.1.3.1. Kontrol Ve Genişleme Kartı

Çalışma sürecinin başında kontrol kartı olarak FEZ PANDA II kontrol kartı kullanılması planlanmıştır (Şekil 6.4). Bu kartın seçilmesindeki en büyük etken çalışmanın genel yazılım dili olan C# ile uyumlu olarak .NET framework altyapısını kullanmasıdır. Ancak yapılan denemelerde bilgisayar ile anlık seri haberleşmesinde aksaklıklar yaşanmıştır. Bilgisayardan gönderilen parametrelere anlık tepki verememiştir. Adım motorlarında geri kontrol mekanizması olmadığı için bu durum işlemlerin gecikmesine ve adım motorların yanlış konumlanmasına yol açmıştır. Sistemin tasarımı adım motorlarının hareketine bağlı olduğu için doğru konumlama yapılabilmesi büyük önem taşımaktadır.



Şekil 6.4. Fez Panda II kontrol kartı.

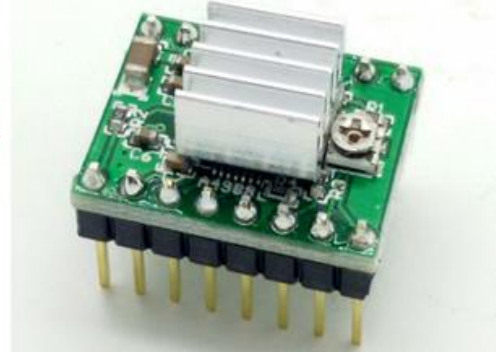
Sıralanan nedenlerden dolayı aynı işlemciyi kullanan ve tasarım olarak neredeyse birebir aynı olan Arduino Mega 2560 kontrol kartı olarak seçilmiştir. Üzerinde yer alan entegre seri port-USB çeviricisi sayesinde bilgisayar ile USB portu üzerinden anlık olarak haberleşebilmektedir. Genişleme kartı olarak ise Ramps 1.4 kartı seçilmiştir. Bu kart, genellikle CNC (Bilgisayar Sayımlı Yönetim) tezgâhlarında ve 3B yazıcılarda kullanılan, Arduino Mega 2560 üzerine direk takılabilen, üzerinde adım motoru sürücü yuvaları bulunan, kendine ait işlemcisi olmayan bir genişleme kartıdır. Bu kart ile birlikte seçilen adım motoru sürücüleri bu karta takılmıştır (Şekil 6.5). Böylece metal muhafaza kutusunun ebadı küçülmüştür.



Şekil 6.5. Arduino Mega 2560 ve Ramps 1.4.

6.1.3.2. Adım Motoru Sürücüleri

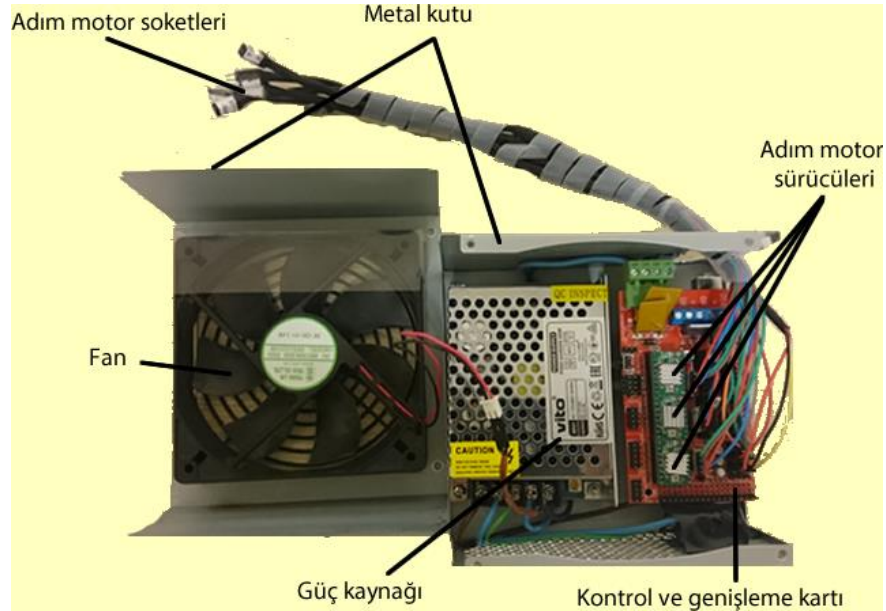
Çalışmanın başlangıcında, adım motorlarının kontrol edilebilmesi için Easydriver adım motoru sürücüleri kullanılmıştır (Şekil 6.6). Bu sürücüler genel olarak gereken şartları karşılamalarına karşın doğrudan kontrol kartına bağlanamamaları ve her bir sürücü için 6 farklı pin kullanılması kullanılabilirliğini azaltmıştır. Ayrıca zaman zaman ısınma sorunları ortaya çıkmaktadır. Bu yüzden çok daha ekonomik, daha küçük boyutlu ve genişleme kartı üzerine direk takılabilen, üzerinde alüminyum pasif soğutucusu olan A4988 adım motoru sürücüsü seçilmiştir (Şekil 6.6). Böylece kutu içeriğindeki kablo sayısı biraz daha azaltılarak kablo karmaşasının önüne geçilmiştir. Kullanılan adım motoru sürücüleri tam adımı sekize kadar bölebilecek kabiliyettedirler. Bu durum daha hassas konumlanmayı desteklemektedir.



Şekil 6.6. Easydriver adım motoru sürücüsü (solda), A4988 adım motoru sürücüsü (sağda).

6.1.3.3. Dış Kutu Ve Güç Kaynağı

Elektronik kontrol ünitesi, 12 santimetre çapında soğutucu fana sahip metal kutu içerisinde muhafaza edilmiştir. Böylece devrelerin ısınması önlenmiş ve tüm parçaların kapalı olarak muhafaza edilmesi sağlanmıştır. Tüm montaj işlerinde soketli yapı kullanılarak herhangi bir arıza ya da taşıma anında kolaylıkla sökülüp takılması sağlanmıştır. Güç kaynağı olarak ise 12V, 5A mini güç kaynağı seçilmiştir (Şekil 6.7).



Şekil 6.7. Elektronik kontrol ünitesinin görünümü.

6.1.3.4. Mikroskop Işık Kaynağı

Kullanılan mikroskopta orijinal ışık kaynağı olarak halojen ampul bulunmaktadır. Bu ışık kaynağı özellikle hızlı görüntü işleme adımları kısmında çokça görüntüsel parazite yol açmaktadır. Ayrıca sistemi besleyen güç kutusu ve mikroskop için iki farklı güç girişine ve kabloya ihtiyaç vardır. Halojen ampul 10W Power LED ile değiştirilerek hem görüntü parazitleri azaltılmış hem de ihtiyaç olan kablo ve güç girişi sayısı bire düşmüştür. Bunun yanında gerekli parlaklığı ayarlayabilmek için metal muhafaza kutusuna potansiyometre eklenmiştir. Bu durum mikroskoptan bağımsız olarak ışık parlaklık ayarı yapılmasına imkân tanımıştır (Şekil 6.8).



Şekil 6.8. Led ışık kaynağı ve ışık parlaklığını kontrol eden potansiyometre.

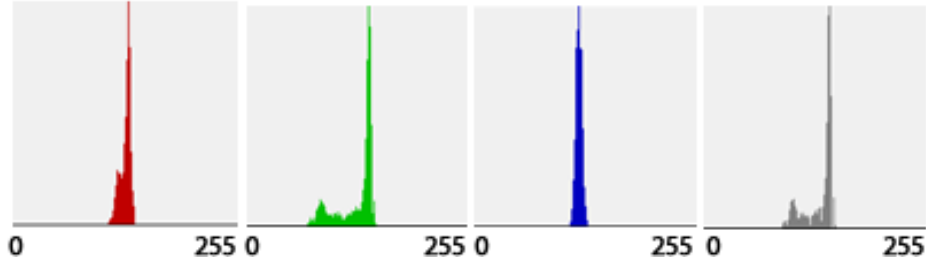
6.1.3.5. Bilgisayar

Çalışmanın yapıldığı bilgisayar olarak Intel i7 işlemcili, 8 GB (Gigabayt) önbelleği olan bir diz üstü bilgisayar seçilmiştir. Şaryoyu kontrol edecek yazılım C# ve C++ platformları üzerinde, ana yazılım ise Visual Studio 2015 yazılımı kullanılarak C# dilinde geliştirilmiştir.

6.1.4. Preparatlar

Çalışmanın denenmesi ve geliştirilmesi için kullanılan metafaz plağı içeren preparatlar atıl durumda, analiz için kullanılmayacak, tekrar edilmesi gerekli preparatlardan seçilmiştir. İlgili preparatlardan 2304X1728 çözünürlüğünde

görüntüler alınarak analize hazır hale getirilmiştir. Kameradan alınan görüntülerin histogramları Red, Green, Blue ve Intensity bandında incelenmiş ve Intensity bandında eşikleme yapıldığında daha iyi sonuç verdiği görülmüştür (Şekil 6.9).



Şekil 6.9. Kameradan alınan görüntülerin RGB ve Intensity bandındaki histogramları.

Metafaz bulmak için kullanılan preparatlar, standart 76X26 milimetre ölçülerindeki preparatlardandır. Preparatların uzun kenardan 28 milimetre olan boyalı kısım hasta bilgileri ile marka etiketi için kullanılmıştır. Geriye 48X26 milimetre saydam alan kalmaktadır.

Yapılan test taramaları sonucunda uzun kenarlardan altı milimetre ve kısa kenarlardan beş milimetre boş/değersiz alan olarak kabul edilmiştir. Preparat koruyucunun düzgün yapıştırılmaması gibi nedenlerden dolayı bu alanlar boş olabilmekte ve buradaki metafazlar genelde çok dağınık veya aşırı dağınık kromozomları içerdiğinden değerlendirilmeye alınmamıştır. Böylece tarama alanı 36X16 milimetre olarak belirlenmiştir (Şekil 6.10).



Şekil 6.10. Tarama yapılacak preparat alanı.

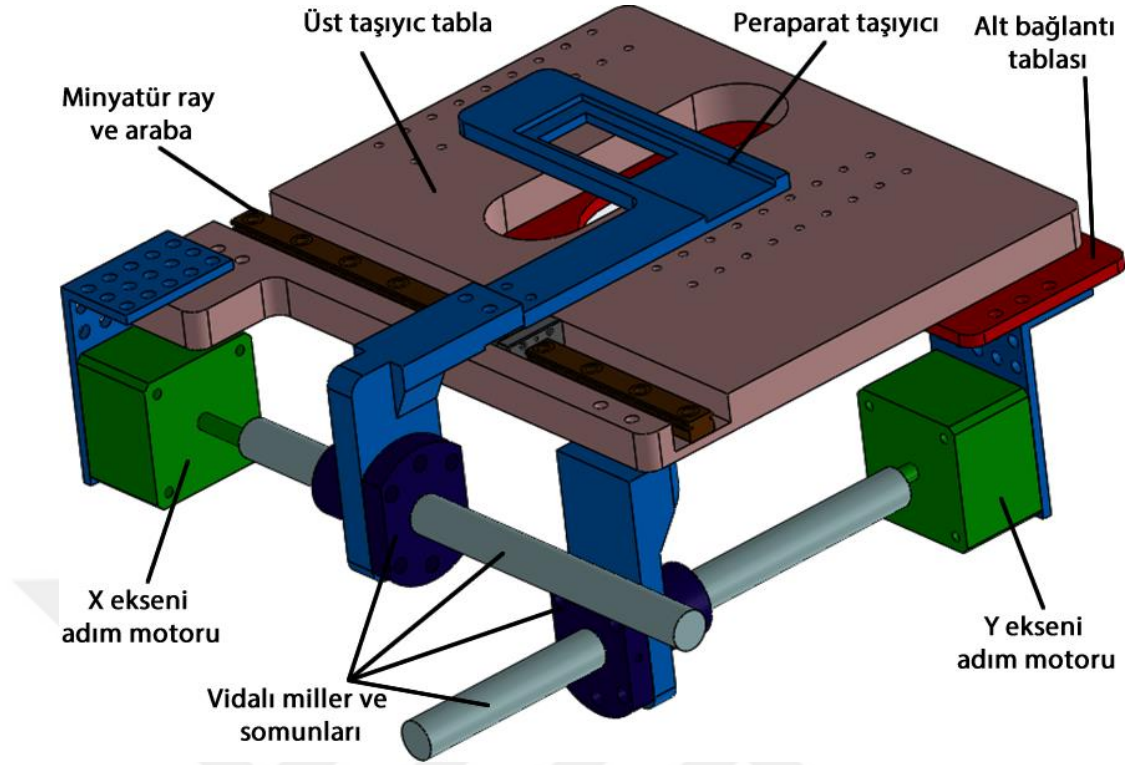
İlk tarama testlerinde, taramalar 40X objektif ile yapılmıştır. Bu şekilde yapılan taramalar vakit olarak çok uzun sürmüştür. Bu yüzden algoritma geliştirilerek 10X objektif ile alınan görüntüler üzerinde çalışmalar yapılmıştır. 40X objektif ile tarama matrisi oluşturulurken 100X50'lik 5000 hücreli yapı elde edilmekteyken 10X objektif ile alınan görüntülerde ise 30X18'lik 540 hücreli bir matris elde edilmiştir. Böylece tarama alanında yaklaşık % 90 iyileştirme yapılmıştır. Geliştirilen hızlı yöntemle birlikte kameradan alınan her bir kare yaklaşık 30-70 milisaniye zaman aralığında işlenmektedir.

6.1.5. Üretilen Otomatik Şaryo

Adım motorları, vidalı miller ve somunları, minyatür ray ve arabaları, durdurma modülleri, alt bağlantı tablası, üst taşıyıcı tabla, preparat taşıyıcı ve bunları tutan bağlantı malzemeleri, tasarlanan ve üretilen otomatik şaryonun bileşenlerini oluşturmaktadır.

Şaryoya otomatik hareket kabiliyetini verebilmek için adım motorlarının şaryoya bağlanması gerekmektedir. Bu yüzden kaliteli malzemedan, daha esnek ve geniş çalışma aralıklarına sahip, konumlandırma açısından daha hassas bir şaryonun üretilmesine karar verilmiştir. Üretilen şaryo tamamen parçalanabilir ve kaynak yapılmadan tekrar kolayca birleştirilebilir. Böylece olası arıza durumlarında ilgili parça kolaylıkla değiştirilebilmektedir. Ayrıca yeni ve özgün bir ürün imal edilmiştir.

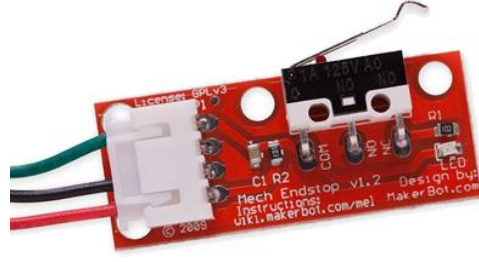
Şaryonun çizilmesi ve modellenmesi için katı modelleme yazılımı kullanılmıştır (Şekil 6.11). Bileşenlerin bir kısmı hazır olarak temin edilmiş, bir kısmı lazer kesim ile elde edilmiş ve bir kısmı da il içindeki imkânlar kullanılarak üretilmiştir.



Şekil 6.11. Şaryonun 3B modellenmiş çizimi.

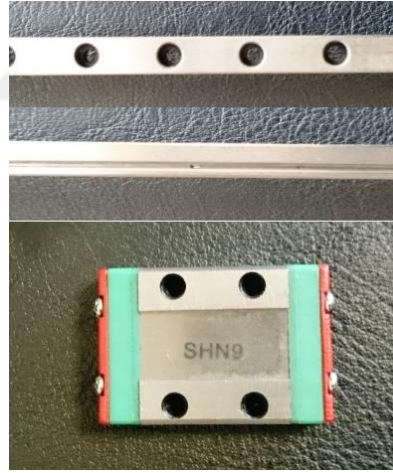
Adım motoru olarak Nema 17 tipinde adım motorları tercih edilmiştir. Bu motorların piyasada kolayca ve ekonomik olarak bulunması, gereken doğrusal hareket için torklarının yetmesi, 12 V ile sürülebilmeleri tercih edilmelerinde etkin rol oynamıştır. Bu adım motorları tam turu 200 adımda atabilmektedirler. Tasarlanan sistem üzerinde X-Y eksenleri için iki tane adım motoru şaryo üzerine konumlandırılmıştır. Odaklamayı yaptıracak üçüncü adım motoru ise ince ayar vidasının plastik kısmının çıkarılması sonucu ortaya çıkan mil ile birleştirilmiştir.

Eksenler üzerinde otomatik konumlama yapabilmek için mekanik durdurma modülleri kullanılmıştır (Şekil 6.12). Her bir eksen için birer tane olmak üzere üç durdurma modülü eksenlerin başlangıç konumlarına yerleştirilmiştir. Böylece parametrelerin sıfırlanması, ilk konuma alınması ve taramaya hazırlık aşamalarında oluşacak zaman kayıpları engellenmiştir.



Şekil 6.12. Eksenlerde kullanılan durdurma modülü.

Mikroskop üzerindeki hareket alanının çok kısıtlı olması ve şaryonun ortasından ışık geçiyor olması klasik doğrusal hareketli sistem tasarımlarını kullanmaya müsaade etmemiştir. Ayrıca çok küçük ilerlemelerle hareket sağlanacağından hata payının asgari olması gerekmektedir. Bu yüzden minyatür SHN-9 tipi ray ve bu ray üzerinde ilerleyebilecek minyatür arabalar tercih edilmiştir. Minyatür ray ve arabanın toplam yüksekliği 10 milimetredir. Bu arabalar 90 kilograma kadar hassasiyetlerini koruyabilmektedir (Şekil 6.13).

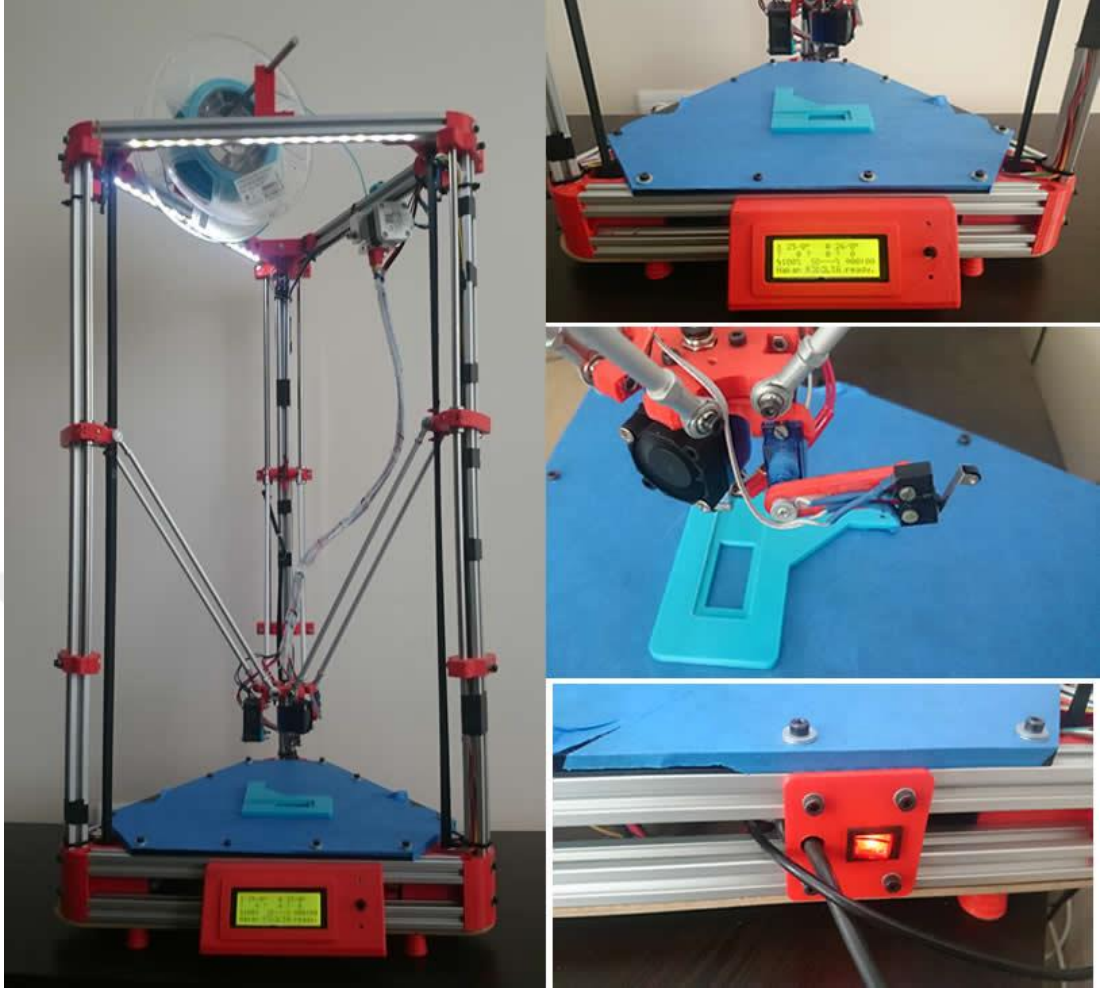


Şekil 6.13. Kullanılan minyatür ray ve araba.

Adım motorlarının doğrusal olarak verdiği hareketi ray ve arabalar vasıtasıyla tablolara iletecek olan vidalı mil ve milin dönme hareketini asgari sürtünme ile iletecek olan somun SFUR1204 serisinden seçilmiştir. Milin çapı 12 mm ve hatve ölçüsü 4 milimetredir. Böylelikle seçilen adım motorların bir tam adımında 1,25 mikrona kadar hassasiyetle ilerlemeleri sağlanabilmektedir.

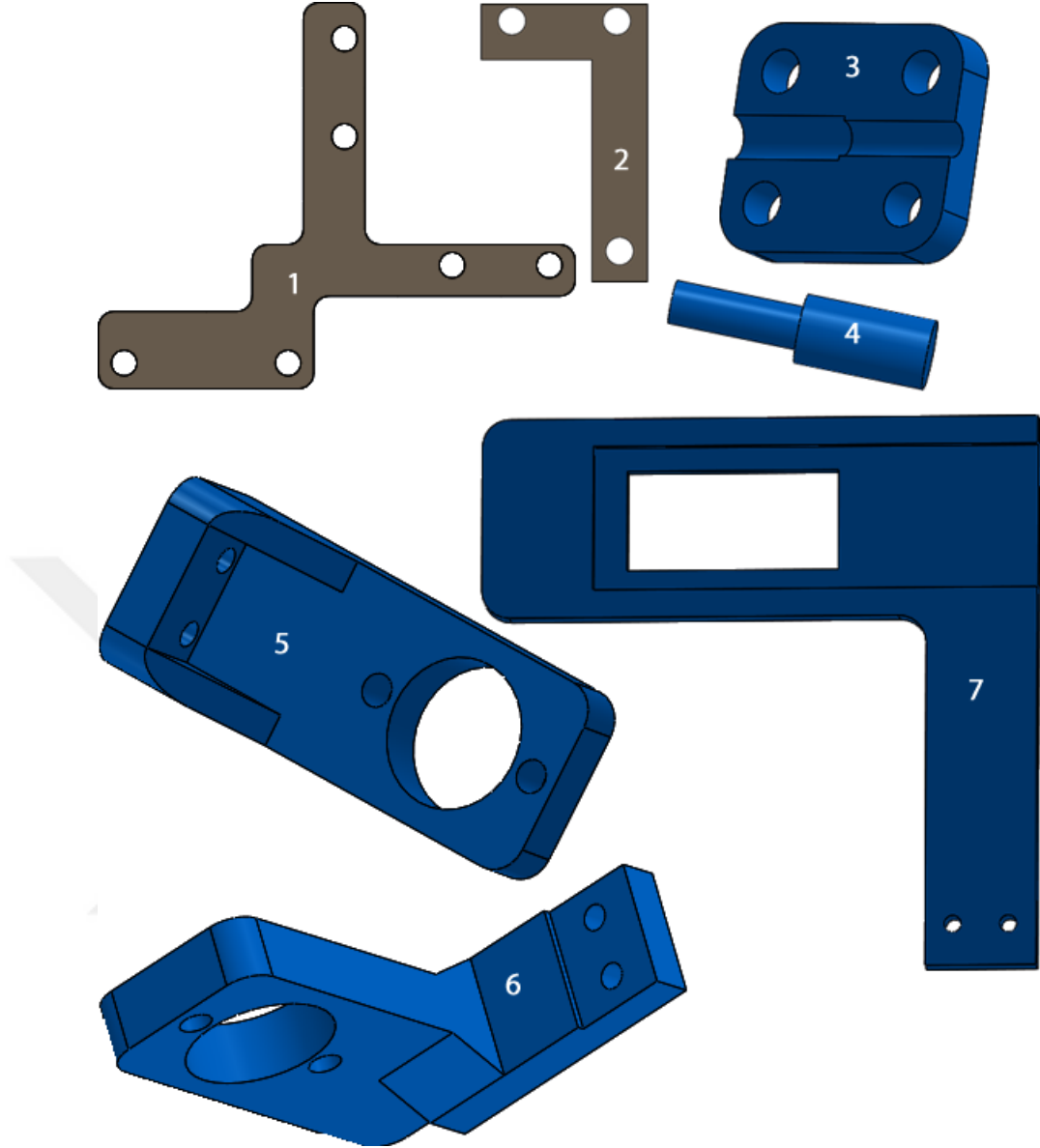
Taşıyıcı tabla 12 mm kalınlığında alüminyum malzemeden su jeti ile kesilmiştir. Üzerine freze tezgâhında ray kanalı açılarak rayın montajı yapılmıştır. Gerekli yerlere kılavuz açılarak diğer parçalar bağlanmıştır. Açılan kanal derinliği minyatür ray ve arabanın yerleştirilebilmesi için 10 mm olarak belirlenmiştir.

Alt bağlantı tablası, kalan diğer gerekli sabit parçalar ve bağlantı parçalarının lazer kesim, döküm, el işçiliği ile elde etme gibi yollarla temin edilmesi planlanmıştır. Bu süreç hem ekonomik olarak hem de ulaşılabilirlik açısından zorlayıcı olmaktadır. Ancak il içindeki imkânların kısıtlı olması, el işçiliği sonucunda elde edilen malzemelerin istenilen hassasiyeti sağlamaması sonucu farklı çözüm arayışları başlamıştır ve gerekli parçaların 3B yazıcıda üretilmesi fikri ortaya çıkmıştır. Bu amaca hizmet edebilmesi için sabit tablaya sahip, kollar yardımı ile üretim yapabilen, kalibrasyonu kolay bozulmayan ve hassas ürün üretimine izin veren Delta tipi bir 3B yazıcı seçilerek üretimi yapılmıştır. Üretilen 3B yazıcı 75 cm kule yüksekliğine, 36 cm alt ve üst eşkenar üçgen kenarlarına sahiptir. Otomatik kalibrasyon yapabilme, yaklaşık 20 cm çapında ve 25 cm yüksekliğindeki parçaları oluşturabilme kabiliyetindedir (Şekil 6.14). Böylece gerekli olan parçalar 3B yazıcıda basılarak bu konudaki dışa bağımlılık ortadan kaldırılmıştır.



Şekil 6.14. Üretilen Delta tipi 3D yazıcı.

Durdurma modüllerinin mikroskoba sabitlenmesi gerekmektedir ve bu durum için hazır parça bulunmamaktadır. Ayrıca kullanılan adım motorların hareket şaftları beş mm çapında olmasına rağmen vidalı miller 12 mm çapındadır. Piyasada bu iki parçayı birleştirebilecek kaplin bulunmamaktadır. Vidalı millerin verdiği hareketin taşıyıcı tablaya ve preparat taşıyıcısına iletilmesi gerekmektedir. Bunun için kullanılacak ara parça temin edilememektedir. Tüm bu sorunların üstesinden gelebilmek için gereken parçalar 3B modelleme yazılımında çizilmiştir (Şekil 6.15). Çizimi oluşturulan parçalar 3B yazıcıda PLA (Polilaktik Asit) malzeme kullanılarak üretilmiş ve montajı tamamlanmıştır. Böylece il içinde ve il dışında dahi bulunamayan parçalar 3B yazıcı ile üretilmiştir.



Şekil 6.15. Odaklama yapan adım motoru (Z eksen) ve taşıyıcı tabla motoruna ait (Y eksen) durdurma modülü tutucusu (1), preparat taşıyıcı adım motoruna ait (X eksen) durdurma modülü tutucusu (2), ince ayar vidası ve adım motoru şaftını birleştiren kaplin (3), taşıyıcı tablayı hareket ettiren vidalı mil ve adım motorunu birleştiren parça (4), doğrusal hareketi taşıyıcı tablaya aktaran parça (5), doğrusal hareketi preparat taşıyıcıya aktaran parça (6), preparat taşıyıcı (7).

Tüm parçaların temin edilmesi ile birlikte otomatik şaryo tamamlanarak kullanıma hazır hale getirilmiştir. Mikroskopun eski şaryosu çıkarılarak otomatik şaryo kolayca monte edilebilmektedir (Şekil 6.16). Böylece mikroskop gerektiğinde eski haline kolayca getirilebilmektedir.



Şekil 6.16. Sistemin genel görünüşü.

6.2. YÖNTEM

Bu bölümde, çalışma kapsamında geliştirilen ve sistemin kullanımı için oluşturulan yazılım anlatılmıştır. Bu yazılım ana yazılım olarak adlandırılmıştır. Ana yazılım üç farklı bölüm olarak düşünülebilir. İlk bölümde elektro-mekanik sistemi kontrol edebilecek kontrol yazılımı, sistem hareketlerinin metrik birimlere çevrilmesi ve ayarlar penceresi olmak üzere sistem başlangıç yazılımlarına yer verilmiştir. İkinci bölümde metafaz bulucu yazılım, metafaz bulucu filtre, otomatik odaklama yazılımı, bulunan metafazların veri tabanına kaydedilmesi ve var olan görüntüler üzerinde metafaz tespiti alt aşamaları incelenmiştir. Üçüncü bölümde ise kromozom görüntülerinin bulunarak eşiklenmesi, kromozomların sayılması, ayırık, dokunan ve çakışan kromozomların tespit edilmesi, dokunan ve çakışan kromozomların bölütlenmesi, kromozomların düzleştirilmesi ve eşleştirilmesi anlatılmıştır.

Ana yazılımın oluşturulmasında WPF (**Windows Presentation Foundation**) görsel tasarım arayüzü kullanılmıştır. WPF, grafik donanımının avantajlarından yararlanarak yerleşik çözünürlükten bağımsızdır ve vektör tabanlı işleme altyapısı kullanmaktadır. WPF, XAML (Genişleyebilir Uygulama İşaretleme Dili) denetimleri ile genişleyebilmektedir [132].

Yazılım özellikle otomatik metafaz tarama kısmında 6-9 dakika boyunca kendini kilitlemekte ve hiçbir ekran kontrolüne izin vermemektedir. Arayüzde bulunan mesafelerin gösterilmesi, ilerleme çubuğu, durum çubuğu, bulunan metafaz ön izlemeleri gibi alanlar sürekli dinamik olarak değişmektedir. Dolayısıyla ekranın kilitlemesi bunların görüntülenmesinin önüne geçmektedir. Bu problemi aşabilmek için asenkron kodlamaya geçilmiştir. Yeni bir standart olan “Task” yapısıyla birlikte ekran kilitlemelerinin önüne geçilmiştir.

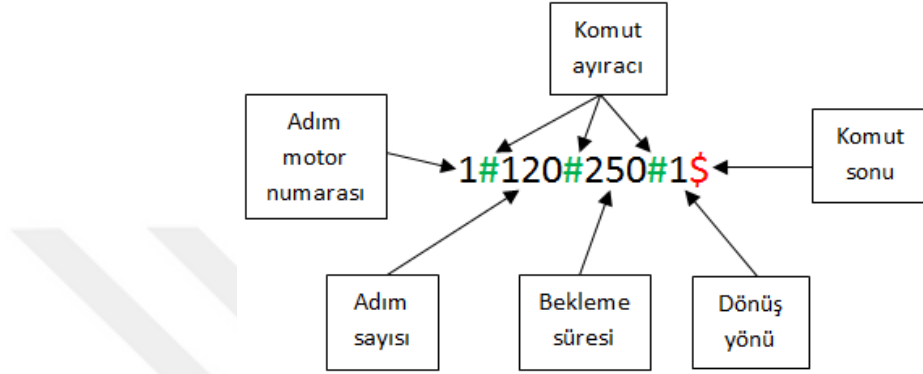
6.2.1. Başlangıç Yazılımları

Çalışma kapsamında geliştirilen, sistemin kullanılabilmesi için saklanan ayarların alınmasını ve sistemin hazırlanmasını sağlayan, başlangıçta çalıştırılması gereken yazılımlar bulunmaktadır. Üç başlık altında toplanan bu yazılımlar, elektro-mekanik kısmın çalışmaya hazırlanmasını sağlayan kontrol yazılımı, sistemin hareketlerini standarda çeviren dönüşüm yazılımı ve elektro-mekanik sistemin düzgün çalışması için kullanılan değerlerin belirlendiği ayarlar penceresinden oluşmaktadır.

6.2.1.1. Kontrol Yazılımı

Tarama, preparat görüntüleme ve otomatik odaklama işlerinin yapılabilmesi için oluşturulan elektro-mekanik sistemin ana yazılım tarafından kontrol edilebilmesi gerekir. Kontrol yazılımı olarak adlandırılan bu yazılım iki birimden oluşur. Bunlardan birincisi ana yazılım altında yer alan ve C# platformunda geliştirilen yazılım, diğeri ise kontrol kartı içine yüklenen C++ platformunda geliştirilen yazılımdır.

Kontrol kartına gönderilecek komutlar ana yazılımda oluşturulur. Etkinleştirilecek adım motoru numarasını, adım motorunun atacağı adım sayısını, adımlar arasındaki bekleme süresini ve adım motorunun dönüş yönünü gösteren verilerin arasına “#” simgesi, bu komut sonuna ise “\$” simgesi eklenerek gönderilecek veriler birleştirilir ve tek bir komut olarak kontrol kartına gönderilir (Şekil 6.17).



Şekil 6.17. Kontrol kartına gönderilen örnek komut dizisi.

Kontrol kartları ile ana yazılım USB üzerinden sanal seri port aracılığıyla iletişim kurmaktadır. Kontrol kartına USB ile iletilen komut dizisi, kontrol kartı içindeki yazılım aracılığıyla, her bir karakter ayrı olarak tek tek okunur. Okunan karakter “\$” simgesi olduğunda komut dizisinin tamamlandığını anlaşılır ve gelen dizi “#” simgesine göre parçalanarak gereken hareketin verilmesini sağlar.

6.2.1.2. Sistem Hareketlerinin Metrik Birimlere Dönüştürülmesi

Adım motorlarının tam tur atabilmesi için belirli bir adım sayısına ihtiyaç vardır. Örneğin çalışmada kullanılan adım motorları 200 tam adımda bir tur atabilmektedir. Ancak kullanılan adım motoru sürücüsü ile 3200 adım/tur hassasiyeti sağlanmaktadır. Bu dönme hareketi vidalı millerle doğrusal harekete çevrilmektedir ve farklı mil hatveleri ile birlikte kullanılabilir. Ancak adım motoru, adım motoru sürücüsü veya vidalı mil farklı özellikteki alternatifleri ile değiştirildiklerinde tutarsızlık oluşacaktır. Bu yüzden her harekette preparatın ne kadar ilerleyeceğinin veya metrik ölçüde ilerleme sağlanabilmesi için kaç adım atılması gerektiğinin bir standarda çevrilmesi gerekmektedir. Bundan dolayı adım sürücüsü mikro adım

düzeyi (MD), adım motorunun tam adımda bir turu tamamlaması için gereken adım sayısı (TTA), mil hatvesi (MH) ve gidilmesi istenen milimetrik mesafe (GM) ile birlikte bir denklem oluşturularak adım motoru için gereken adım sayısı (OA), Eşitlik 6.1'deki gibi hesaplanmıştır.

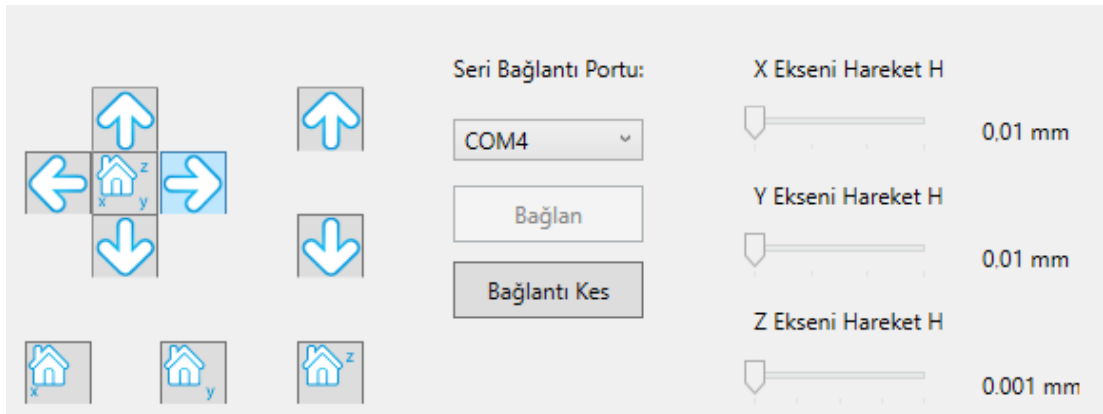
$$OA = \frac{MD \cdot TTA \cdot GM}{MH} \quad (6.1)$$

Örneğin 16X mikrostep düzeyi olan ve 1 turu 200 tam adımda tamamlayabilen bir adım motoru, 4 mm hatvesi olan bir mil üzerindeki preparat taşıyıcısını 1 milimetre hareket ettirebilmek için:

$$OA = \frac{16 \cdot 200 \cdot 1}{4}$$

$OA = 800$ adım atması gereklidir.

Bu durum adım motorlarının yazılım üstünden Z ekseninin 0.001 mm, X ve Y eksenlerinin ise 0.01 mm hassasiyete kadar yazılım tarafından kontrol edilmesini sağlamıştır (Şekil 6.18).



Şekil 6.18. Elle kontrol arayüzü.

6.2.1.3. Ayarlar Penceresi

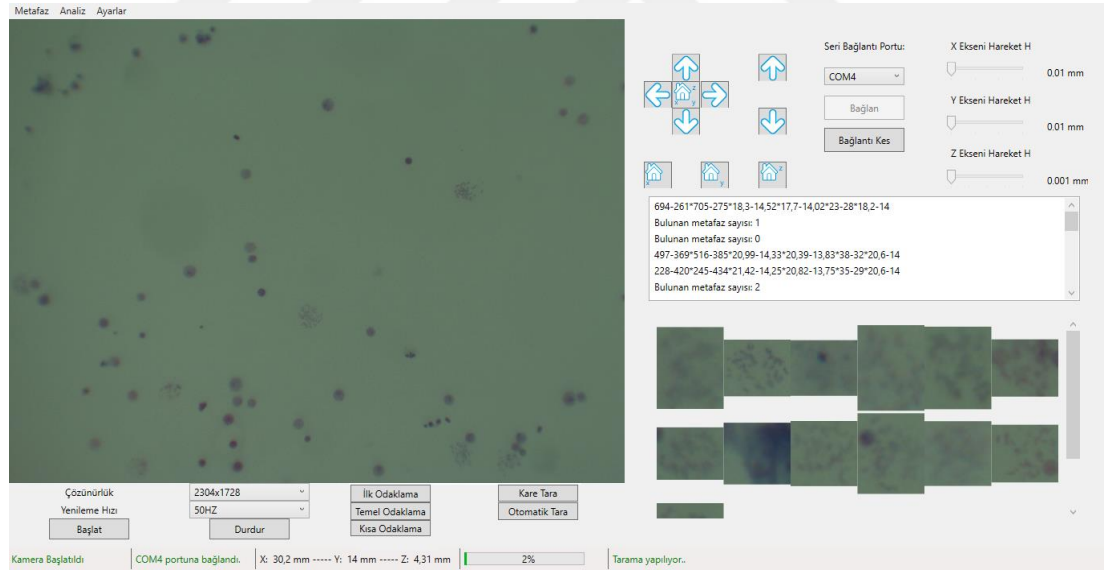
Oluşturulan sistemde, otomatik odaklamanın ve taramanın yapılması, doğrusal hareketlere bağlıdır. Sistemin tamamında soketli ve tak-çıkara bir tasarım anlayışı tercih edilmiştir. Böylece herhangi bir arıza, geliştirme, değiştirme durumunda hareket bileşenleri de dâhil olmak üzere her bir parça bağımsız olarak yenilenebilir. Bu yenileme durumlarında aynı parça temin edilemeyebilir veya alternatif parça kullanılmak istenebilir. Bu yüzden değişimlerin kolayca sisteme entegre edilebilmesi ve standardın sağlanabilmesi için bir arayüz oluşturulmuştur. Böylece vidalı mil, adım motoru veya adım motoru sürücüsü, farklı özelliklerde olan benzerleri ile bile değişse ayarlar penceresinden katalog değerleri girildiğinde gereken düzeltme yazılım tarafından hesaplanabilecektir. Bu pencerede girilen tüm değerler veri tabanına kaydedilmekte ve sistem her çalışmadan önce bu değerleri kontrol ederek kendisini optimize etmektedir. Bu pencere aracılığı ile kullanılan adım motorların bir tur atabilmesi için gerekli adım sayısı, X-Y-Z eksenlerinin her birisi için mikro adım katsayısı (1X, 2X, 4X, 8X, 16X), taşıyıcı tabla ve preparat taşıyıcı için hareket sağlayan vidalı milin hatve ölçüsü ve X-Y-Z eksenlerinin gidebilecekleri azami mesafeler milimetrik olarak kaydedilebilir (Şekil 6.19).

Tam Tur Adım Sayısı:	<input type="text" value="200"/>
X Microstep Seçimi:	<input type="text" value="16x"/>
Y Microstep Seçimi:	<input type="text" value="16x"/>
Z Microstep Seçimi:	<input type="text" value="16x"/>
X Mil Hatvesi:	<input type="text" value="4"/>
Y Mil Hatvesi:	<input type="text" value="4"/>
Z Mil Hatvesi:	<input type="text" value="0,2"/>
X Limit (mm):	<input type="text" value="60"/>
Y Limit (mm):	<input type="text" value="30"/>
Z Limit (mm):	<input type="text" value="10"/>
<input type="radio"/> Varsayılan	<input type="button" value="Kaydet ve Kapat"/>

Şekil 6.19. Ayarlar penceresi görünümü.

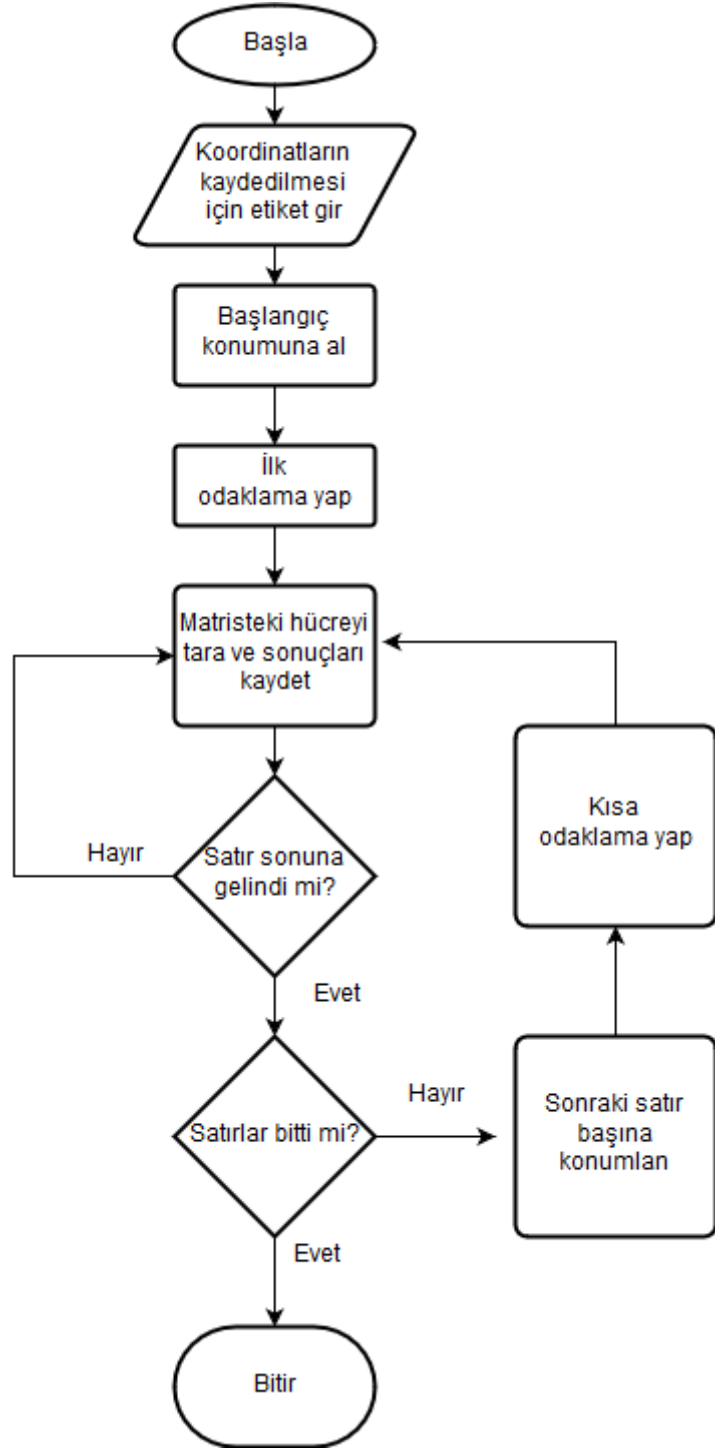
6.2.2. Metafaz Bulucu

Preparatların taranması ve taramanın tamamlanması için gerekli işlemleri yapan yazılımdır. Otomatik tarama, elle tarama ve var olan görüntülerden tarama yapabilecek kabiliyettedir. Otomatik tarama ve elle tarama fonksiyonları aynı arayüzü kullanmaktadır. Bu arayüzde kameranın çözünürlük ve yenileme hızı değiştirilebilir. Kameradan görüntü aktarımı başlatılıp durdurulabilir. Kameradan akan görüntü eş zamanlı olarak izlenebilir. Odaklama fonksiyonları çalıştırılabilir. Eksenler için istenilen hassasiyet ayarlanarak elle kontrol ve elle tarama yapılabilir. Elektronik kontrol ünitesi ile bağlantı kurulabilir veya kurulmuş bağlantı sonlandırılabilir. Bilgi ekranında, bulunan metafazlara ait bilgiler görüntülenebilir. Bulunan metafazların ön izlemeleri takip edilebilir. Durum çubuğunda kameranın durumu, elektronik kontrol ünitesi ile bağlantı durumu, X-Y-Z eksenlerinin başlangıç konumlarına mesafeleri, taramanın yüzde olarak oranı izlenebilir (Şekil 6.20).



Şekil 6.20. Otomatik/elle metafaz taramaya olanak sağlayan arayüz.

Elektronik kontrol ünitesi ile haberleşme, eksenlerin kalibrasyonu, preparatın başlangıç konumuna alınması, otomatik odaklama aşaması, metafazların bulunması ve bulunan metafazlara ait bilgilerin kaydedilmesi aşaması, otomatik taramanın bileşenlerini oluşturmaktadır (Şekil 6.21).



Şekil 6.21. Otomatik metafaz tarama fonksiyonu akış şeması.

Tespit edilecek metafazların koordinatlarının veri tabanına kaydedilmesi için tarama adı girilmesi otomatik taramaya başlamak için yeterlidir (Şekil 6.22). Bunun dışında herhangi bir ayar parametresi girmeye gerek yoktur. Tarama sırasında bulunan metafazlar ile ilgili görüntüler ve bilgiler eş zamanlı olarak takip edilebilir.

Şekil 6.22. Otomatik tarama öncesi preparata ait bilgi girişi penceresi.

6.2.2.1. Taramaya Hazırlık Aşaması

Tarama yapılırken yazılımın analiz yapabildiği alan, her bir kare için X ekseninde 1,2 milimetre, Y ekseninde ise 0,9 milimetredir. Preparatın X ekseninde tamamının taranması için 30 farklı kareye, Y ekseninde taranması için ise 18 farklı kareye ihtiyaç vardır. Bu yüzden preparat, 30 sütun, 18 satırdan oluşan 540 hücreli bir matrise bölünmüştür (Şekil 6.23). Kamera her bir hücre için ayrı taramalar yaparak metafazların bulunmasını sağlar.

$$A = \begin{bmatrix} a_{1,1} & . & . & . & a_{1,30} \\ . & & & & . \\ . & & & & . \\ . & & & & . \\ a_{18,1} & . & . & . & a_{18,30} \end{bmatrix}$$

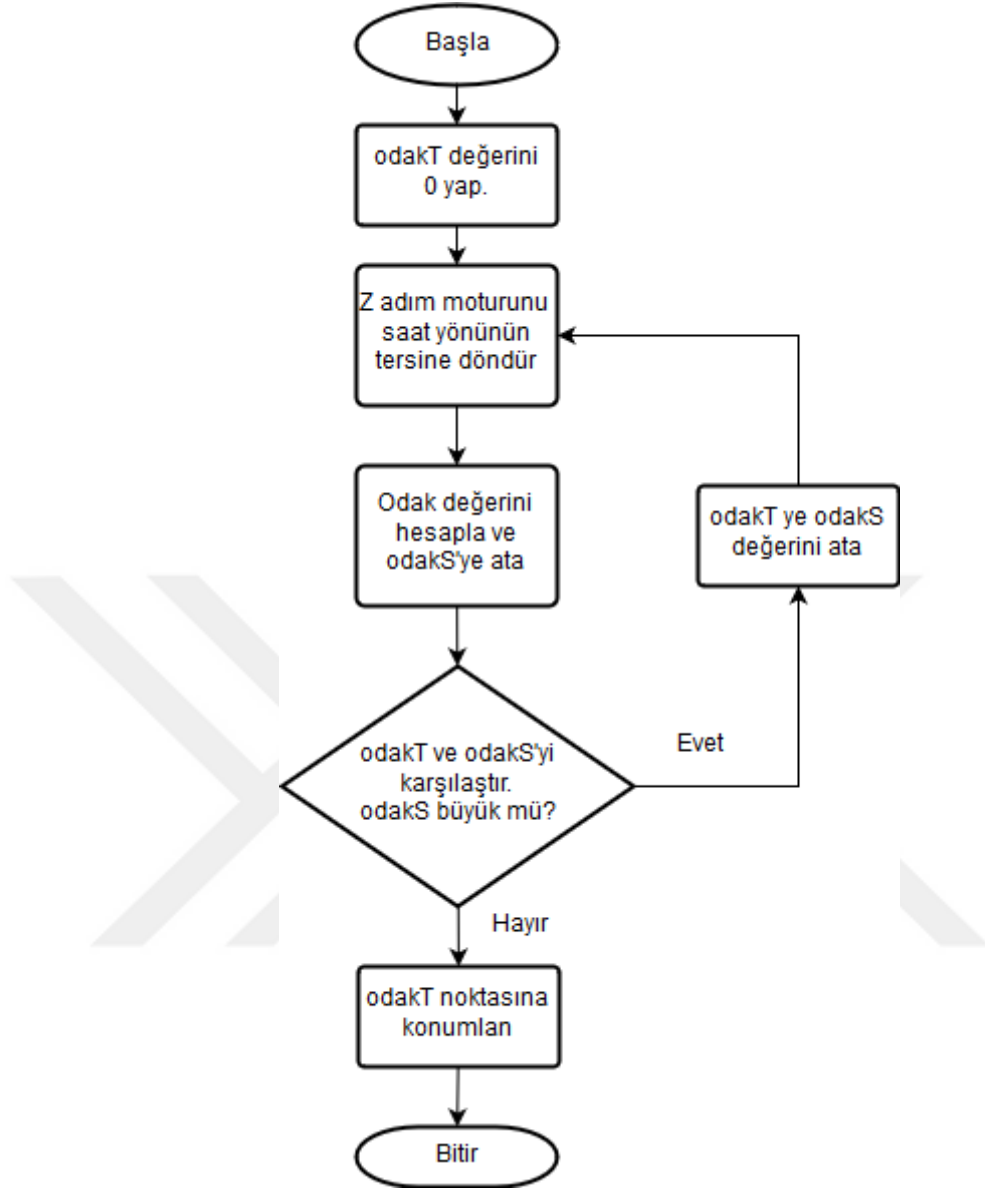
Şekil 6.23. Preparatın taranması için oluşturulan matris.

6.2.2.2. Otomatik Odaklama

Tarama yaparken çözülmesi gereken sorunlardan birisi de net görüntü alabilmek için odaklama yapılmasıdır. Görüntünün en iyi detaylarla alınması ve metafazların doğru tespit edilebilmesi doğru odaklamanın yapılmasına bağlıdır. Yazılım üzerinde iki yönlü odaklama ve tek yönlü odaklama olmak üzere iki farklı odaklama yöntemi ve bunların bileşenlerinden oluşan ilk odaklama, temel odaklama ve kısa odaklama fonksiyonları bulunmaktadır. Sistem, iki yönlü odaklama ya da tek yönlü odaklama seçeneklerinden hangisini uygulayacağına otomatik olarak karar verebilmektedir.

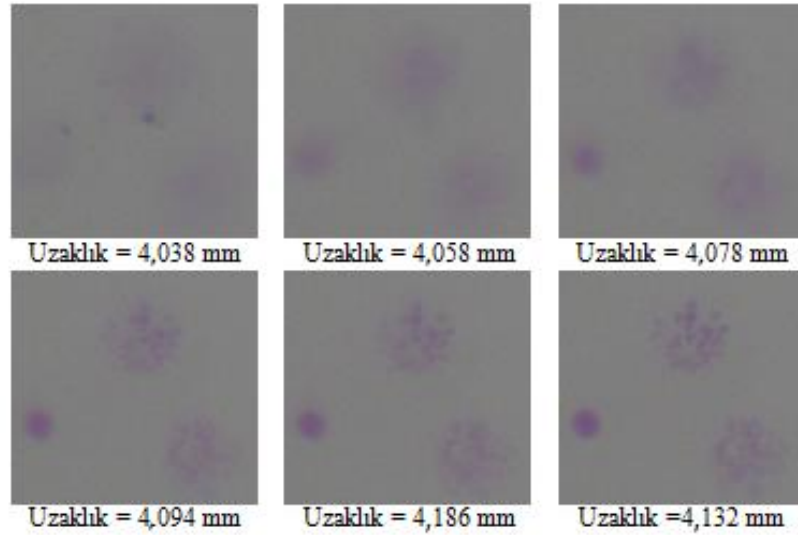
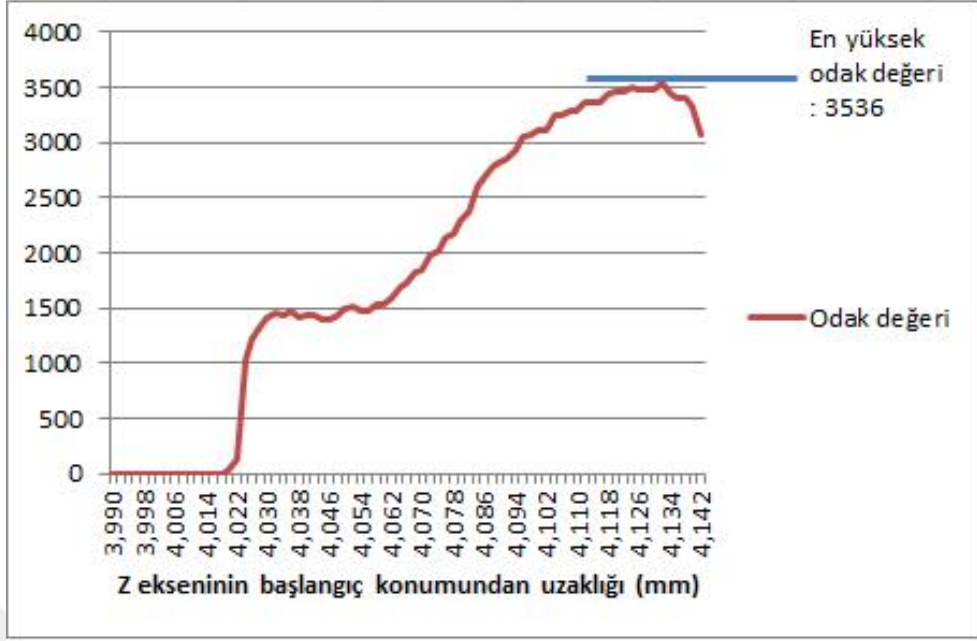
Temel odaklama ve ilk odaklama, tek yönlü odaklama fonksiyonunu kullanır. İlk odaklama taramanın başlangıç aşamasında yapılır. Kısa odaklama ise iki yönlü odaklama fonksiyonunu kullanarak çift yönlü çalışmaktadır. Tarama sırasında her 5-7 hücre tarandıktan sonra görüntü kalitesindeki bozulma durumunda yapılır. İki yönlü odaklama daha sınırlı bölgede çalıştığı halde, tek yönlü odaklama Z ekseninin başlangıç konumundan başlayarak görüntü netleşene kadar çalışır. İki yönlü odaklamanın yeterli gelmediği yerlerde tek yönlü odaklama yapılarak tekrar görüntü netleştirilir. Tüm bu odaklama seçeneklerinden hangisinin seçileceğine ana yazılım otomatik olarak karar verir.

Odaklama algoritması, kameradan gelen görüntüyü griye çevirdikten sonra eşikleme yapmakta ve görüntüdeki tüm piksellerin sayısı ile beyaz piksellerin sayısını karşılaştırarak odak değerini hesaplamaktadır. Odak değerinin azami olduğu yer en iyi odak noktası olarak belirlenerek görüntü netleştirilir. Akış şeması Şekil 6.24'te sunulmuştur.



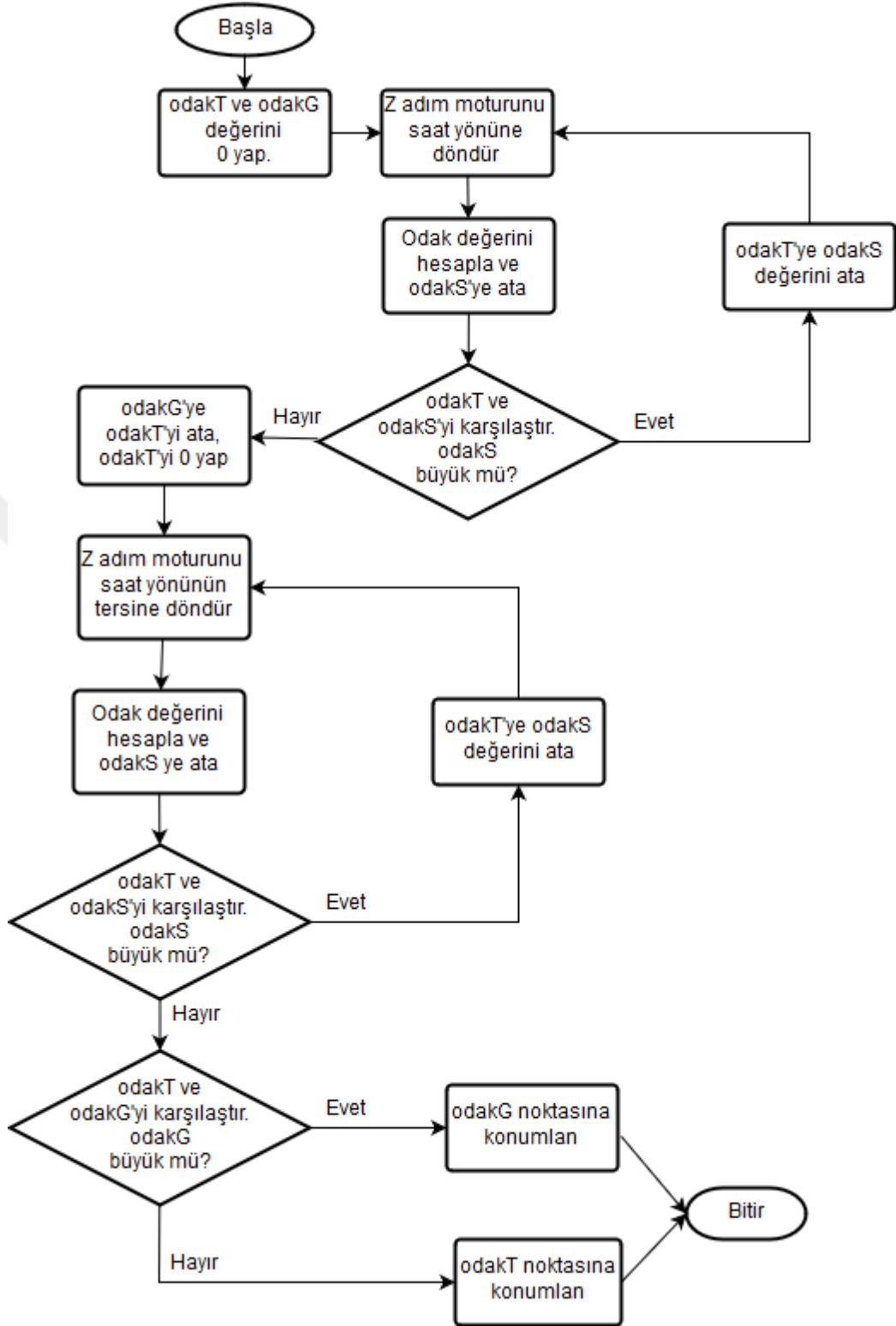
Şekil 6.24. Genel odaklama algoritmasına ait akış şeması.

Tek yönlü odaklama yapılırken Z eksenini kontrol eden adım motoru başlangıç konumuna konumlanır ve sonrasında saat yönünün tersi yöne doğru dönmeye başlar. Bu dönüş sırasında görüntünün odak değeri hesaplanarak kaydedilir. Yeni değer hesaplandıkça bir önceki odak değeri ile karşılaştırılır. Yeni hesaplanan odak değeri daha büyükse yeni odak değeri olarak kabul edilir. Bunlar yapılırken odak değerlerinin yönü hesaplanır. Odak değeri yönü yükselenden alçalana geçince odak değeri hesaplanması durur ve adım motoru saat yönünde dönerek en yüksek odak değerinin olduğu yere konumlanır. Böylece sistem taramaya başlamadan önce gerekli odak yapılmış olur (Şekil 6.25).



Şekil 6.25. Tek yönlü odaklama yapılırken uzaklık ve odak değerleri.

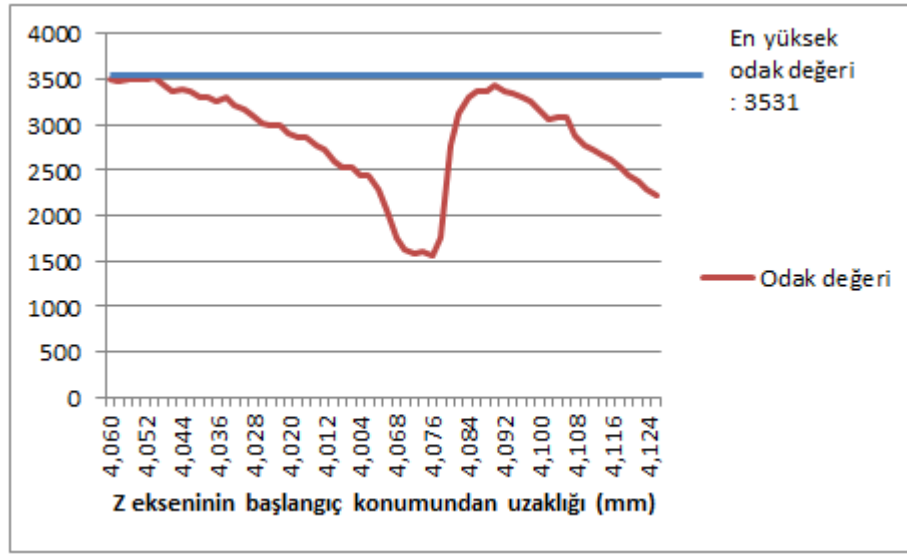
Preparat tutucu olarak kullanılan malzeme plastik türevi bir malzemedir. Bu malzemenin ortam sıcaklık değişimlerinde zaman zaman formunu kaybedebilmektedir. Böyle durumlarda tarama yapılırken iki yönlü odaklama yapılmasını gerektirir (Şekil 6.26).



Şekil 6.26. İki yönlü odaklama akış şeması.

İki yönlü odaklama yapılırken, adım motoru başlangıç konumuna doğru saat yönünde dönerek odak değerlerini ve değerlerin yönünü kaydeder. Değerlerin

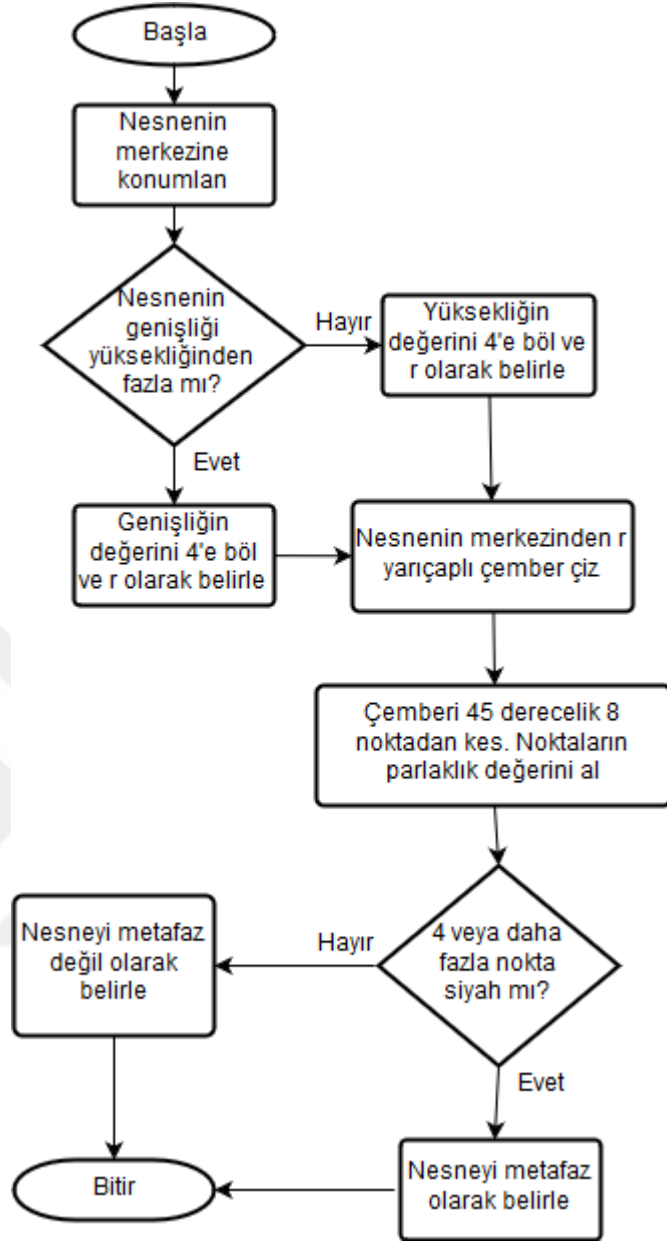
artandan azalana geçtiği nokta yerel odak noktası olarak belirlenir ve adım motoru saat yönünün tersi yönde dönmeye başlar. Odak değerleri ve yönü tekrar hesaplanır. Değerler tekrar azalana geçtiğinde ikinci yerel odak noktası bulunmuş olur. Hesaplanan yerel odak noktaları karşılaştırılarak büyük odak değerinin olduğu konuma konumlanma sağlanır. Böylece en net görüntüyü sağlayan odaklama yapılmış olur (Şekil 6.27).



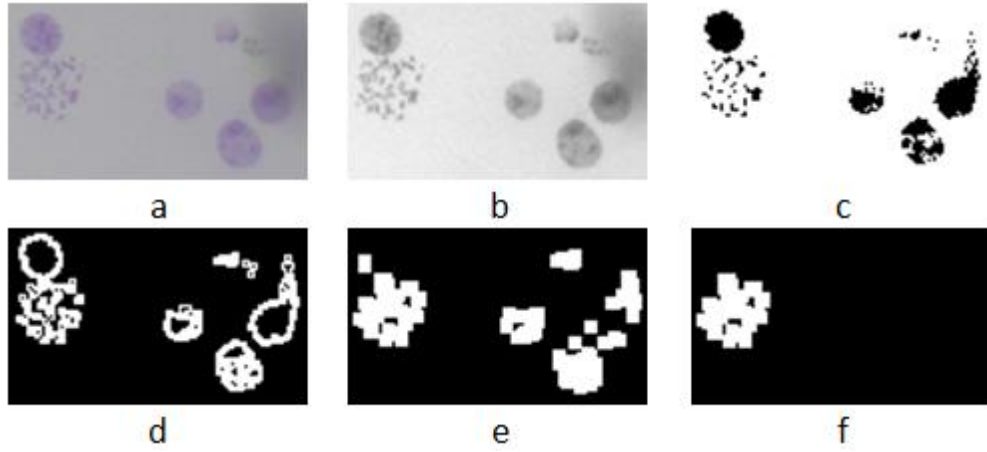
Şekil 6.27. İki yönlü odaklama yapılırken uzaklık ve odak değerleri.

6.2.2.3. Metafazların Bulunması Ve Kaydedilmesi

Gerekli odaklama yapıldıktan sonra sistem oluşturulan hücreleri taramaya başlar. Görüntü intensity banda çevrilir ve kontrast germe işlemi yapılır. Eşikleme yöntemi olarak bradley yerel eşikleme seçilmiştir. Bu yöntem ile ışık kaynağından kaynaklanan gürültüler en aza indirgenir. Sobel kenar çıkarma işleminden sonra aşındırma ve genişletme uygulanarak görüntü üzerinde metafazlar ve metafaza benzer artefaktlar kalır. Metafazların tespit edilebilmesi için bu çalışma kapsamında oluşturulan metafiltre kullanmıştır. Oluşturulan metafiltre'ye ait akış şeması Şekil 6.28'de sunulmuştur. Metafiltre uygulanması sonucu ortaya çıkan görüntü ise Şekil 6.29'da verilmiştir.

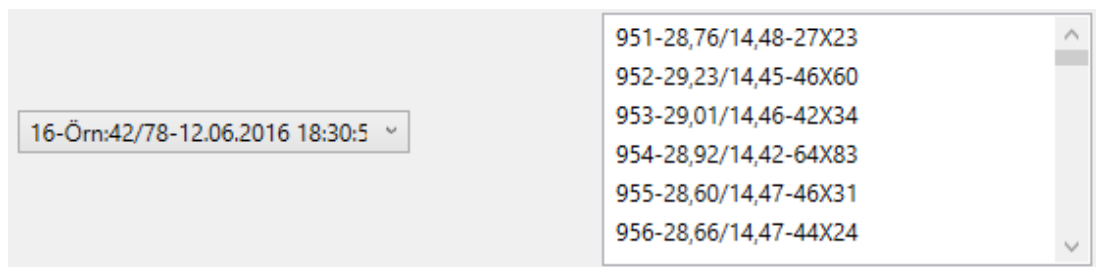


Şekil 6.28. Metafiltre akış şeması.



Şekil 6.29. a-Orijinal görüntü, b-kontrast germe ve griye çevirme uygulanan görüntü, c-bradley yerel eşikleme uygulanan görüntü, d-kenar çıkarma uygulanan görüntü, e-aşındırma ve genişletme uygulanan görüntü, f-metafaz filtresi uygulandıktan sonra kalan metafaz görüntüsü.

Bu analiz sonucuna göre metafazlar belirlenir. Tarama sırasında bazı karelerde metafaz olmazken bazılarında ise ona yakın metafaz bulunmuştur. Bu metafazların daha sonra tekrar görüntülenebilmesi için kaydedilmesi gerekmektedir. Bu kayıtlar veri tabanı üzerinde sonradan erişilebilir olarak tutulmaktadır. Taranan preparata ait bilgi etiketi ve tarih değeri ile kaydedilir. Bilgi etiketi ve tarama tarihi ile ulaşılan bu kayıtlardan istenilen seçildiğinde mikroskobun oraya konumlanması planlanmıştır (Şekil 6.30).



Şekil 6.30. Taranan metafazlardan seçim yapılmasını sağlayan arayüz

Belirlenen metafazların merkez koordinatları hesaplanarak veri tabanına kaydedilir (Şekil 6.31). Böylece 100X büyütme oranına sahip objektif ile yapılacak olan kromozom taramalarına ön hazırlık yapılmış olur. Ayrıca gerektiğinde veri tabanına kaydedilen her bir metafaz için yeniden konumlama yapılabilir.

meta_id	tanim_id	orta_noktax	orta_noktay	konum_noktax	konum_noktay	meta_ebatgen	meta_ebatyu
11600	29	234	335	22,83	14,92	22	28
11601	29	756	347	22,02	14,9	23	51
11602	29	340	339	22,67	14,91	30	31
11603	29	11	406	23,18	14,8	22	48
11604	29	586	407	22,28	14,79	41	31
11605	29	430	427	22,53	14,76	29	31

Şekil 6.31. Bulunan metafazların veri tabanına kaydedilmesi.

6.2.2.4. Resimden Bul Arayüzü

Yazılım, preparatı otomatik veya elle tarayarak eş zamanlı olarak metafaz plaklarını bulabilecek kabiliyettedir. Ancak test, performans ölçümleri, doğruluk ölçümleri gibi durumlarda önceden çekilip kaydedilmiş resimler üzerinde de tarama yapılabilir. Bu tarama ek görüntü üzerinde yapılabileceği gibi dizin içindeki tüm görüntüleri tarayıp, bulunan metafazların ve metafaz olmayan nesnelerin işaretlenmesine olanak vermektedir. Arayüz üzerinde bulunan metafaz plaklarına ait görseller ve bilgiler takip edilebilir (Şekil 6.32).

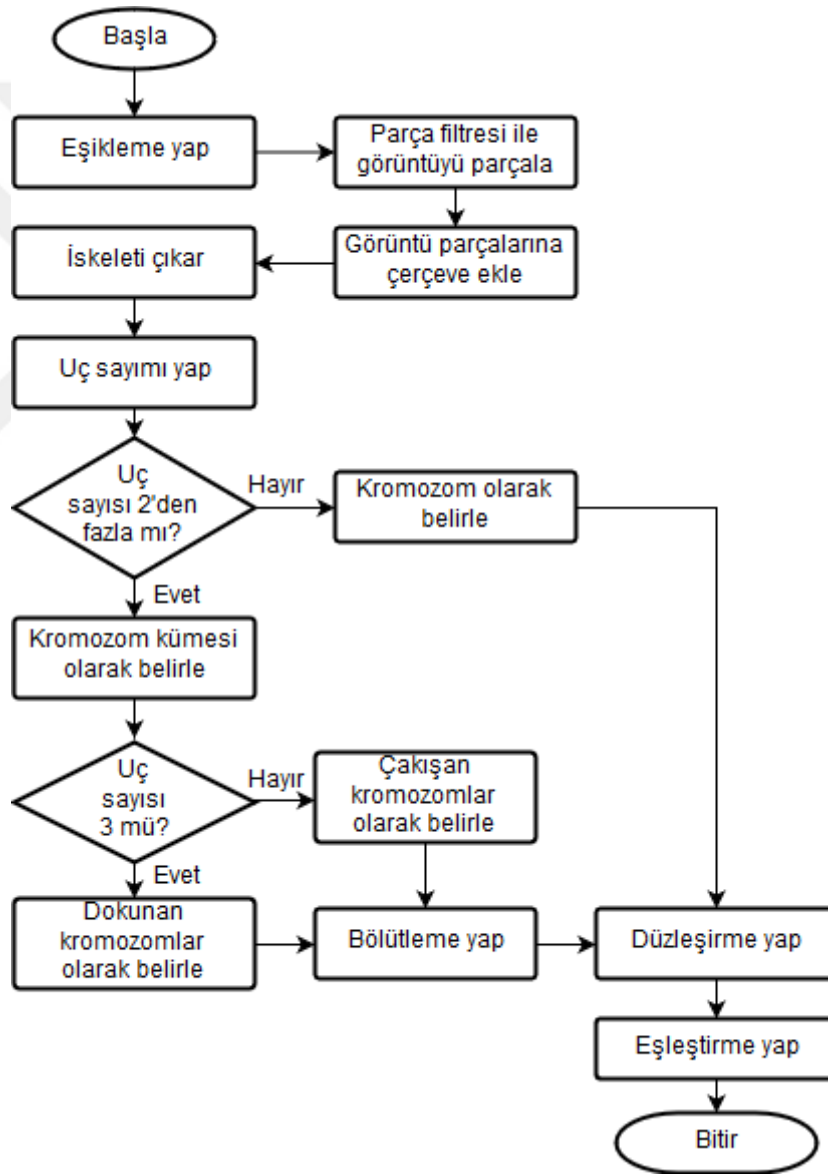


Şekil 6.32. Resimden bul arayüzü.

6.2.3. Kromozom Analizi

Metafaz plakları tespit edildikten sonra 100X objektif ile görüntülenmesi ve sonrasında analiz edilebilmesi gerekmektedir. Kromozom analizi, görüntünün ön işleme tabi tutulması, ayırık kromozomların ve kromozom kümelerinin tespit edilmesi

ve bu tespitlere göre görüntünün parçalanması, elde edilen parçaların tekrar parçalamaya tabi tutulması, görüntüye çerçevenin eklenmesi, uygun inceltme algoritması ile iskeletinin çıkarılması, uçların sayılarak görüntülerin kromozom veya kromozom kümesi olarak belirlenmesi, kromozom kümesi olarak belirlenen görüntülerde uçların bulunarak dokunma veya çakışma durumlarının tespit edilmesi, tespit edilen duruma göre bölütlemenin yapılması, kromozomların düzleştirilmesi ve birbirine en benzeyenlerinin eşleştirilerek ekranda görüntülenmesi aşamalarından oluşmaktadır (Şekil 6.33).



Şekil 6.33. Kromozom analizi akış şeması.

6.2.3.1. Görüntünün Alınması Ve Eşikleme İşlemleri

Çalışma kapsamında kullanılan preparatlar atıl durumdaki çöp özelliği olan preparatlardandır. Bu yüzden alınan görüntülerde, kromozomların analiz edilemez şekilde silik olduğu, kromozomların ayırlamadan bütün bir yumak halinde kaldığı görülmüştür. Çalışma kapsamında geliştirilen yeni eşikleme yöntemi için preparattan alınan 100X büyütme görüntüleri kullanılmıştır. Ancak bu görüntüler bölütleme için kullanılmadığından diğer aşamalar için Grisan vd. [57] tarafından genel erişime açılan veri seti kullanılmıştır.

Modifiye Edilmiş Basamaklı Binom Eşiklemesi

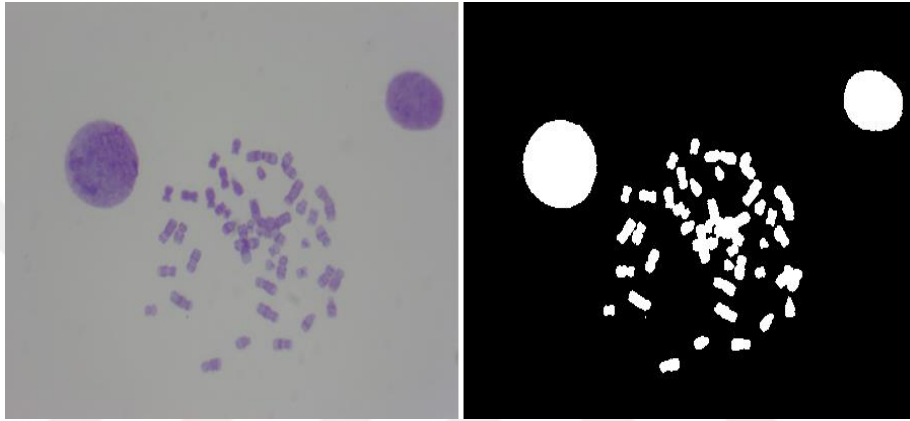
Literatürde özellikle medikal görüntülerin ikili hale dönüştürülmesi konusunda çokça eşikleme yöntemi tanımlanmıştır. Bu metotların en iyi bilineni Otsu eşikleme yöntemi olup sıklıkla kullanılmaktadır.

Çalışmada kullanılan preparatlardan alınan görüntülerde geleneksel yöntemler iyi sonuçlar vermemektedir. Bu nedenle modifiye edilmiş basamaklı binom eşikleme yapılmıştır. Bu eşikleme algoritması, görüntü üzerinde, Eşitlik 6.2’de verildiği gibi görüntünün yüksekliği (h), görüntünün genişliği (w) ve iki sabit katsayı (c, l) kullanılarak hesaplanan sayı kadar rasgele başlangıç noktası (sp) belirler.

$$sp = \frac{w \cdot h \cdot c}{l} \quad (6.2)$$

Eşitlik 6.2’de belirtilen “c” katsayısı sıfır ile bir arasında virgüllü bir sayıyı ifade eder. “l” katsayısı ise rasgele bulunan başlangıç noktalarından X eksenine doğruğultusunda kaç adet sıralı pikselin işleme alınacağını belirlemektedir. Örnek olarak “w” değeri 2304, “h” değeri 1728, “c” değeri 0,01 ve “l” değeri 10 olan bir eşitlikte “sp” değeri 3981 olarak hesaplanacaktır. Bu, görüntü üzerinde rasgele 3981 başlangıç noktası belirlenecek ve bu noktalardan başlayarak X eksenine üzerinde sıralı 10 adet piksel işleme alınacak anlamına gelmektedir. Toplamda 3981 adet 10 pikselden oluşan setler ortaya çıkacaktır. Bu sayede bazı setler sadece arka plana,

bazı setler sadece kromozomal alanlara, bazı setler ise arka plan ile kromozomal sahaların farklı oranlardaki birleşimlerine isabet etmektedir. Her bir set kendi içerisinde binom açılımı katsayılarına göre işleme alınarak bir yerel eşikleme değeri döndürür. Son olarak bu yerel eşikleme değerleri tekrar binom açılımı katsayılarıyla hesaplanarak genel bir eşikleme değeri oluşturulur. Bu eşikleme değeri kullanılarak yapılan eşiklemeden sonra kromozomlar ile arka planın ayrıldığı görülmüştür (Şekil 6.34).



Şekil 6.34. Orijinal görüntü (solda), modifiye edilmiş basamaklı binom eşiklemesi yapılmış görüntü (sağda).

Standart Sapmaya Dayalı Eşikleme

Grisan vd. [57] tarafından erişime açılan görüntülerde çalışma yapabilmek için kullanılan eşikleme yöntemidir. Görüntü griye çevrilerek sekiz bitlik bir görüntü elde edilmiştir. Bu görüntü üzerinde histogram ve standart sapma hesapları yapılmıştır. Hesaplanan standart sapma değeri, eşikleme değeri olarak belirlenmiştir. Böylece genel bir eşikleme değeri otomatik olarak belirlenmiş ve görüntü üzerinde eşikleme yapılarak ikili görüntünün elde edilmesi sağlanır (Şekil 6.35).



Şekil 6.35. Orijinal görüntü (solda), standart sapmaya dayalı eşikleme yapılmış görüntü (sağda).

6.2.3.2. Parça Filtresinin Uygulanması Ve Parçalara Çerçeve Eklenmesi

İkili hale getirilen görüntüye parça filtresi uygulanmaktadır. Bu filtrenin uygulanmasının iki amacı vardır. İlk amaç genişliği ve yüksekliği beş pikselden küçük olan nesnelerin görüntüden atılmasıdır. Böylece görüntü üzerindeki küçük gürültüler kaybedilmiş olmaktadır. İkinci amaç ise bir birinden ayrılan kromozomların ve kromozom gruplarının parçalar halinde elde edilmesidir.

Parça filtresi, ikili görüntüye ve orijinal görüntüye birlikte uygulanmaktadır. İkili görüntüde belirlenen sınırlara göre orijinal görüntü parçalara ayrılır. Bu durumun sonucunda her bir parçada bir ayrık kromozom veya bir dokunan/çakışan kromozom grubu bulunması beklenmektedir. Ancak ayrık olmasına rağmen birbirine çok yakın kromozom görüntüleri eşikleme sonrası birleşik gibi görünebilirler. Bu durumun önüne geçmek için orijinal görüntüye ait parçalara tekrar standart sapmaya dayalı eşikleme ve parça filtresi uygulanır. Böylece her görüntüde tek kromozomun veya dokunan/çakışan kromozomların kalması sağlanır. Bu işlemden sonra görüntü parçaları üzerinde yapılan işlemlerde (uçların bulunması, düzeltme, bölütleme) siyah arka plan üzerine beyaz nesnelere kullanılmaktadır. Bu yüzden kromozom görüntülerinin, görüntü sınırına komşu olmaması gerekir. Ancak parça filtresi sonucunda kromozom görüntüleri sınıra komşu olarak parçalanır. Bu olumsuzluğu ortadan kaldırmak için görüntü parçalarına siyah çerçeve eklenir. (Şekil 6.36).

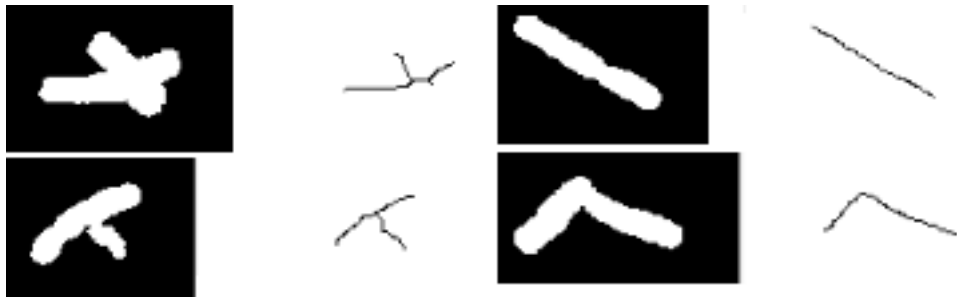


Şekil 6.36. Parça filtresi sonucu elde edilen ve sonrasında çerçeve eklenen görüntü parçaları.

6.2.3.3. Görüntü Parçalarının İskeletinin Çıkarılması

Parça olarak elde edilen görüntülerde kromozom veya kromozom grupları yer almaktadır. Bu görüntülerin kromozom veya kromozom grubu olarak sınıflandırılabilmesi için uçlarının tespit edilmesi ve sayılması gerekir. Bunun içinde ikili görüntülerde iskelet çıkarımının yapılması gerekir.

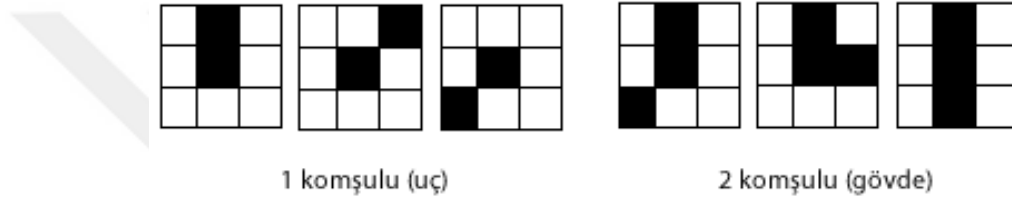
İskelet çıkarımı için Zhang Suen Thinning algoritması kullanılmıştır. Algoritmanın temel amacı ikili görüntüyü genişliği bir piksel kalıncaya kadar inceltmektir. Bu algoritmaya göre ikili halde bulunan görüntü üzerinde iki farklı tekrarlı aşama uygulanır. İlk aşama sağ alt sınır noktalarını ve sol üst köşe noktalarını, ikinci aşama ise sol üst sınır noktalarını ve sağ alt köşe noktalarını silerek ilerler. Bu işlemler bir piksel genişliği kalıncaya kadar tekrar eder ve pikseller arasındaki bağlantı korunur. Böylece görüntünün iskeleti çıkarılmış olur [133]. Şekil 6.37’de iskeleti çıkarılmış kromozom görüntüleri verilmiştir.



Şekil 6.37. İkili kromozom görüntülerinin iskeletlerinin çıkarımı.

6.2.3.4. Uçların Sayılması Ve Görüntülerin Sınıflandırılması

İskeletleri çıkarılan görüntülerdeki uç sayıları belirlenerek, görüntüdeki nesnenin kromozom, dokunan kromozom grubu veya dokunan/çakışan kromozom grubu olarak sınıflandırılması sağlanır. Uçlar belirlenirken her bir piksel çevre sekiz komşularına göre analiz edilirler. İskelet çıkarılırken her görüntü bir piksele kadar inceltildiği için uçların tek komşuya sahip olması gerekir. Görüntü üzerindeki her bir pikselin komşuluk analizleri yapılır ve bir komşulu olan yerler uç olarak, birden fazla komşulu olan yerler ise gövde olarak tanımlanır (Şekil 6.38).



Şekil 6.38. Komşu analizine göre uçların belirlenmesi.

Görüntü üzerindeki tüm uçlar ve gövdeler belirlenir. Analiz sonrası uçlar sayılır. Çıkan uç sayısına göre aşağıdaki sınıflandırma yapılır (Şekil 6.39).

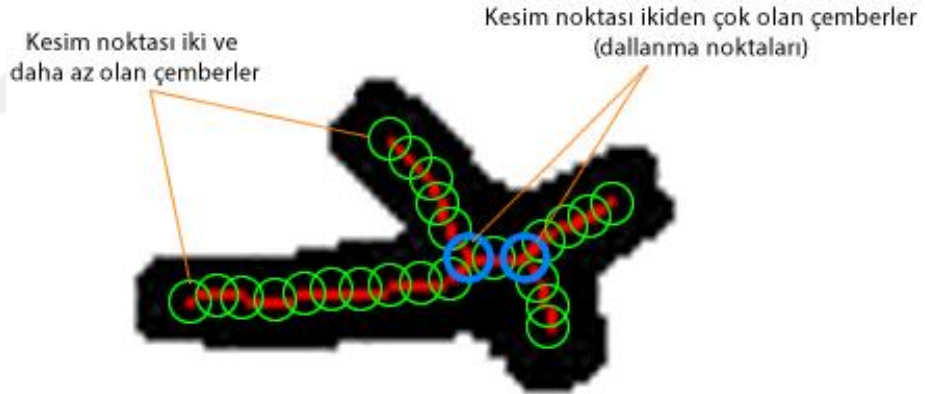
- *2 uç sayısı:* Görüntüdeki nesne tek kromozomdur. Bölütleme gerek yoktur.
- *3 uç sayısı:* Görüntüdeki nesne iki tane dokunan kromozomdan oluşan kromozom grubudur. Bölütleme yapılmalıdır.
- *4 veya daha fazla uç sayısı:* Görüntüdeki nesne çakışan veya dokunan en az iki kromozomun olduğu kromozom grubudur. Bölütleme yapılmalıdır.



Şekil 6.39. Uç analizi sonrası oluşan sınıflandırma.

6.2.3.5. Bölütlemenin Yapılması

Uç sayılarına göre sınıflandırılan görüntüler her birisi ayrı dizilerde toplanmak üzere gruplanırlar. Uç sayısı ikiden fazla olan tüm kromozom gruplarına bölütleme işlemi uygulanır. Bölütleme işleminin uygulanabilmesi için iskelet görüntüleri üzerinde dallanmaların tespit edilebilmesi gerekir. Bunun için iskeleti çıkarılan görüntü üzerindeki tüm piksellerin yerleri belirlenir. Bu işlemden sonra iskelet noktalarının her birisi merkez kabul edilerek yarıçapı üç piksel genişliğinde çemberler çizilir ve çemberlerin iskelet çizgisiyle kesişimlerine bakılır. Dallanma olmayan, kollar üzerinde bulunan iskelet noktasını merkez olarak çizilen çemberin en fazla iki yerinden iskelet çizgisi tarafından kesilmesi gerekir. Eğer ikiden fazla kesişim görünürse bu noktanın dallanma üzerinde olduğuna karar verilir ve dallanma görülen noktalar belirlenir. Daha sonra bu dallanma yerleri tespit edilerek görüntünün uçları ve dallanma yerleri belirlenmiş olur (Şekil 6.40).



Şekil 6.40. Dallanma yerlerinin tespit edilmesi için oluşturulan çemberler (mavi çemberler üç noktada kesim olduğunu göstermektedir).

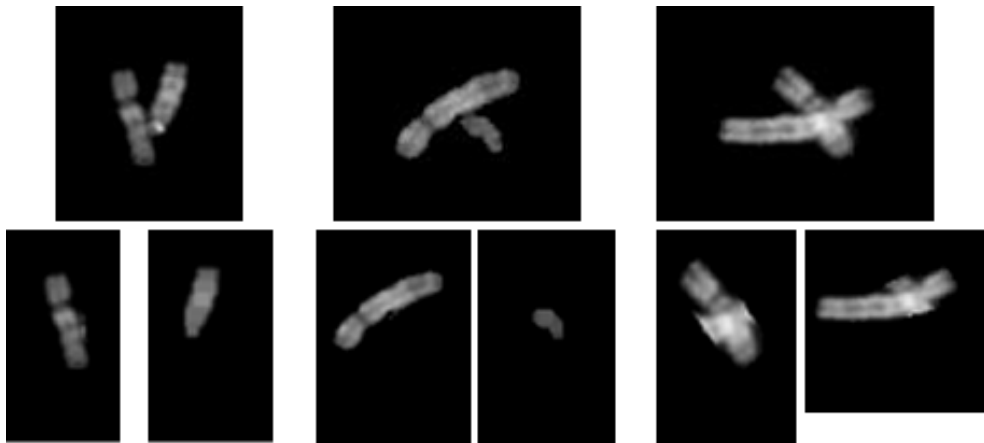
Bölütlemenin yapılabilmesi için uçlar içinde hangi ucun hangi parçaya ait olduğunun tahmin edilmesi gerekir. Bunu yapabilmek için dallanma tespit edilen tüm iskelet noktalarının ortalaması alınarak bir ana nokta oluşturulur. Bu ana nokta, uçların hangi parçalara ait olduğunu belirlemek için kullanılacak bir kılavuz noktadır. Bu nokta tepe noktası alınarak uçların ikiyeşerli birleşimleriyle birlikte üçgenler çizilir. Çizilen üçgenler içerisinde en geniş açığa sahip olan üçgene ait uçlar ilk parçanın uçları olarak belirlenir. Bu uçlar, uç dizisinden çıkarılarak işlemler iki veya daha az

uç kalıncaya kadar tekrarlanır. Böylece bölütleme yapılabilmesi için gerekli olan parçalar belirlenmiş olur (Şekil 6.41).



Şekil 6.41. Uç sayısına göre çizilen üçgenler (mavi renkli üçgenler içerisinde 1 numaralı olan en geniş açığa sahiptir ve uçları ilk parçayı oluşturur, 2 numaralı üçgen ikinci en geniş açığa sahip üçgendir ve uçları ikinci parçayı oluşturur).

Parçalara ait uçlar belirlendikten sonra uçlar arası doğrular çekilerek bu doğruya en yakın iskelet noktası ilgili parçaya ait olarak kabul edilir ve iskelet dizisinden çıkarılır. Bu yöntem ile tüm noktalar bir parçaya ait oluncaya dek tüm iskelet noktaları parçalar arasında paylaşılır. İskelet noktalarına göre kesim yapılarak parçaların bölütlenmesi sağlanır (Şekil 6.42).



Şekil 6.42. Dokunan ve çakışan kromozomların bölütlenmesi.

6.2.3.6. Kromozomların Düzleştirilmesi

Bölütlenen kromozomlar istenirse sistem tarafından düzleştirilebilmektedir. Yapılan bölütleme sonrası tüm kromozomlar tekil hale getirilmiştir. Böylelikle kromozomlar ayrı ayrı düzeltilebilir. Düzeltmelerin yapılabilmesi için iskelet noktalarından ve kromozom uç noktalarından faydalanılır. Kromozomların düzeltilmesi için üç farklı düzeltme uygulanmaktadır. Bunlardan birincisi katlanmış kromozomların ilk düzeltmeye uğraması için yapılan büyük parça düzeltmesidir. Büyük parça düzeltmesine uğrayan kromozomlar tekrar diğer düzeltmelerden uygun olanın uygulanması için sıraya alınır. İkinci düzeltme parçalı düzeltmedir. Bu düzeltme kromozomları küçük parçalara bölerek ayrı ayrı düzeltir ve sonrasında tekrar parçalama sırasına göre birleştirir. Üçüncü düzeltme ise tam düzeltmedir. Uygun kromozomların yatay açıları hesaplanarak bu açılara göre tam düzeltme uygulanır. Sistem, tüm görüntüyü tarayarak kromozomların durumları hakkında bilgi verir ve uygun düzeltmeleri seçer (Şekil 6.43).

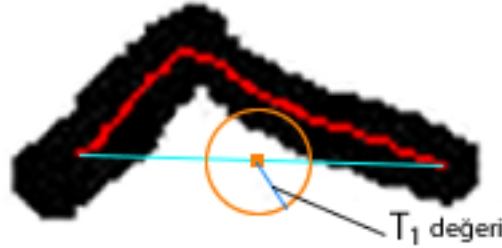
Büyük Parça Düzeltmesi Gereken Nesne Sayısı: 1
Parçalı Düzeltme Gereken Nesne Sayısı: 7
Tam Düzeltme Gereken Nesne Sayısı: 30
3 Uçlu Dokunan Nesne Sayısı: 3
Çok Uçlu Dokunan/Çakışan Nesne Sayısı: 1

Şekil 6.43. Parçalama işlemi için oluşturulan bilgi ekranı.

Hangi düzeltmenin uygulanacağına düzeltme seçim algoritması karar vermektedir. Seçim algoritmasına başlangıçta T_1 ve T_2 adında iki farklı eşik değeri verilir. Bu eşik değerlerinden T_1 olan büyük parça düzeltmenin yapılıp yapılmaması için karar vermede kullanılır. T_2 eşik değeri ise tam düzeltme veya parçalı düzeltmelerden hangisinin yapılacağına karar vermeye yardımcı olur. Bu algoritma, iskeletin iki ucunu kullanarak bu iki uç arasındaki orta noktayı bulur. Daha sonra bu orta nokta ile iskelete ait tüm noktaların arasındaki mesafeler Eşitlik 6.3'te belirtildiği gibi hesaplanır. Hesaplanan mesafeler ile belirlenen T_1 değeri karşılaştırılır. Eğer bulunan mesafelerin tamamı T_1 değerinden büyük bir değer çıkarsa, diğer bir deyişle bulunan orta nokta merkez kabul edilerek çizilen T_1 yarıçaplı çember içerisinde iskelet

noktalarından hiç birisi olmaz ise kromozom büyük parçalı düzeltmeye alınır (Şekil 6.44).

$$M = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2} \quad (6.3)$$



Şekil 6.44. Büyük parça düzeltmesi yapılacak kromozomun belirlenmesi.

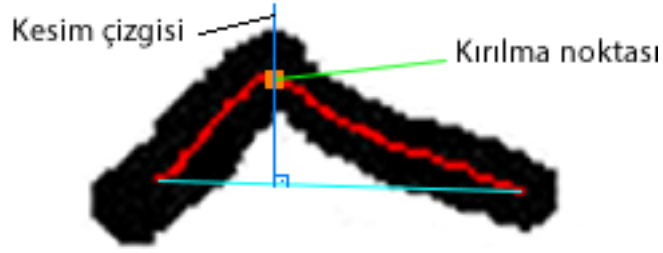
Büyük parçalı düzeltmeler yapılırken ilk olarak iskelet noktaları bir doğru gibi kabul edilir ve doğru üzerinde kırılma noktaları aranır. Bunun için doğrular üçerli olarak gruplanırlar ve alt doğru parçaları olarak kabul edilirler. Daha sonra bu doğru parçalarının yataya göre açıları Eşitlik 6.4'teki gibi hesaplanır. Hesaplanan açılar Çizelge 6.3'te olduğu gibi bölgelere ayrılırlar.

$$\text{Açı } (a) = 180 + \tan^{-1} \left(\frac{(y_2 - y_1)}{(x_2 - x_1)} \right) \quad (6.4)$$

Çizelge 6.3. Açılarının sınıflandırılması.

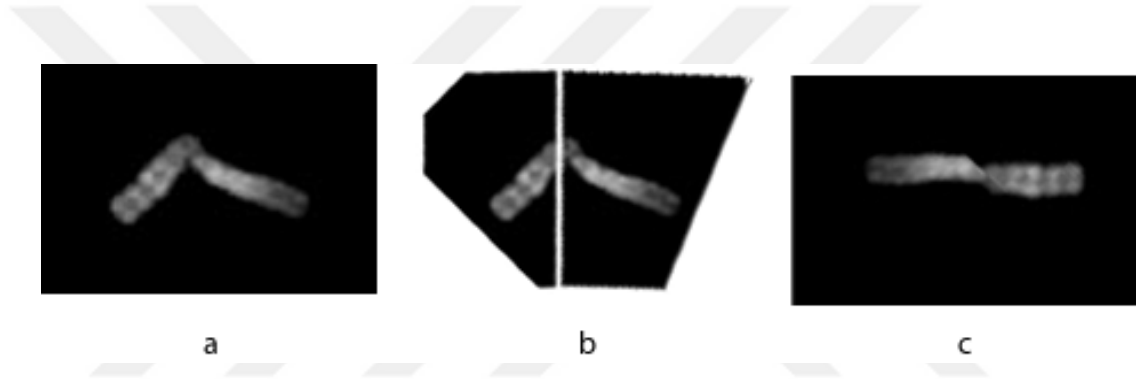
Açı değer aralığı (a)	Bölge
a = 90 ve a = 270	Tanımsız
90 < a < 180	II. Bölge
180 < a < 270	I. Bölge
a = 180	0 - Geçiş bölgesi

Bölge değişimlerinde iki bölge değişimi olan yerler (I. bölgeden II. bölgeye geçiş, II. bölgeden I. bölgeye geçiş) arasındaki noktalar kırılma yeri olarak belirlenir. Tespit edilen kırılma yerinden kromozom uç noktaları arasında oluşturulan doğruya dik çizilerek kesim yeri belirlenir (Şekil 6.45).



Şekil 6.45. Büyük parça düzeltmesi için kesim yerinin belirlenmesi.

Belirlenen yer veya yerlerden kesim yapıldıktan sonra parçalardan birisinin yansıma görüntüsü alınarak kesim yerinden birleştirilir ve parçalı/tam düzeltme işlemleri için sıraya alınır (Şekil 6.46).



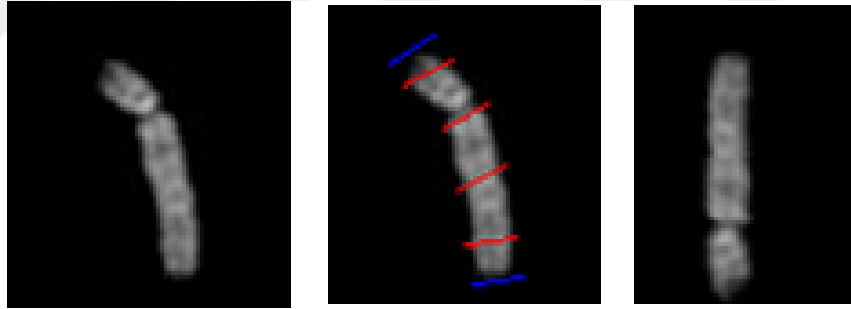
Şekil 6.46. a- Büyük parçalama yapılan orijinal görüntü, b- kesim yerinin belirlenip kesimin yapılması, c- tekrar birleştirme yapılması.

Büyük parçalı düzeltme işlemleri bittikten sonra tüm kromozomlar parçalı ya da tam düzeltme sırasına alınırlar. Bunlardan hangisinin uygulanacağına düzeltme seçim algoritması karar verir. Kromozomun uç noktalarının ortasındaki nokta ile iskelet noktaları arasındaki mesafeler Eşitlik 6.3'te verildiği gibi hesaplanır. Hesaplanan mesafeler ile belirlenen T_2 değeri karşılaştırılır. Eğer bulunan mesafelerin tamamı T_2 değerinden büyük bir değer çıkarsa, diğer bir deyişle bulunan orta nokta merkez kabul edilerek çizilen T_2 yarıçaplı çember içerisinde iskelet noktalarından hiç birisi olmaz ise kromozom parçalı düzeltmeye, parçalı düzeltme dışında kalan diğer kromozomlar tam düzeltmeye alınır (Şekil 6.47).



Şekil 6.47. Parçalı düzeltme yapılacak kromozomun belirlenmesi (solda), tam düzeltme yapılacak kromozomun belirlenmesi (sağda).

Parçalı düzeltme yapılırken iskelet noktaları her birisi en az 10 noktadan oluşan gruplara ayrılır ve bu grupların her birisi bir parça olarak belirlenir. Daha sonra bu nokta grupları ile bir doğru oluşturulur ve bu doğrunun başlangıç ve bitiş noktalarından başlayarak doğruya dik kesim doğruları oluşturulur. Bu oluşturulan kesim noktalarından kesim açıları Eşitlik 6.4'e göre belirlenerek her bir parça kesilir. Daha sonra her bir kesilen parçaya perspektif dönüşümü uygulanır ve sırasıyla tekrar birleştirilerek düzeltmenin tamamlanması sağlanır (Şekil 6.48).



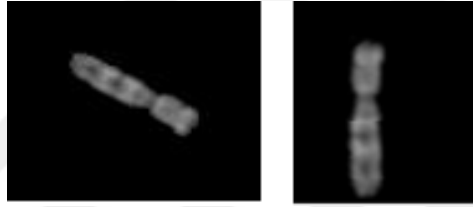
Şekil 6.48. Parçalı düzeltme yapılan orijinal görüntü (solda), kesim noktalarının belirlenmesi (ortada, mavi çizgiler uç noktalarını, kırmızı çizgiler gövde noktalarını temsil etmektedir), düzeltilen kromozom görüntüsü (sağda).

Kalan kromozom görüntülerinin tamamına tam düzeltme uygulanır. Tam düzeltme yapılacak kromozomlarda iskelet noktalarının ilk ve son noktaları arasında bir doğru çekilir. Bu doğrunun yatay eksene olan açısı Eşitlik 6.4'e göre hesaplanır (Şekil 6.49).

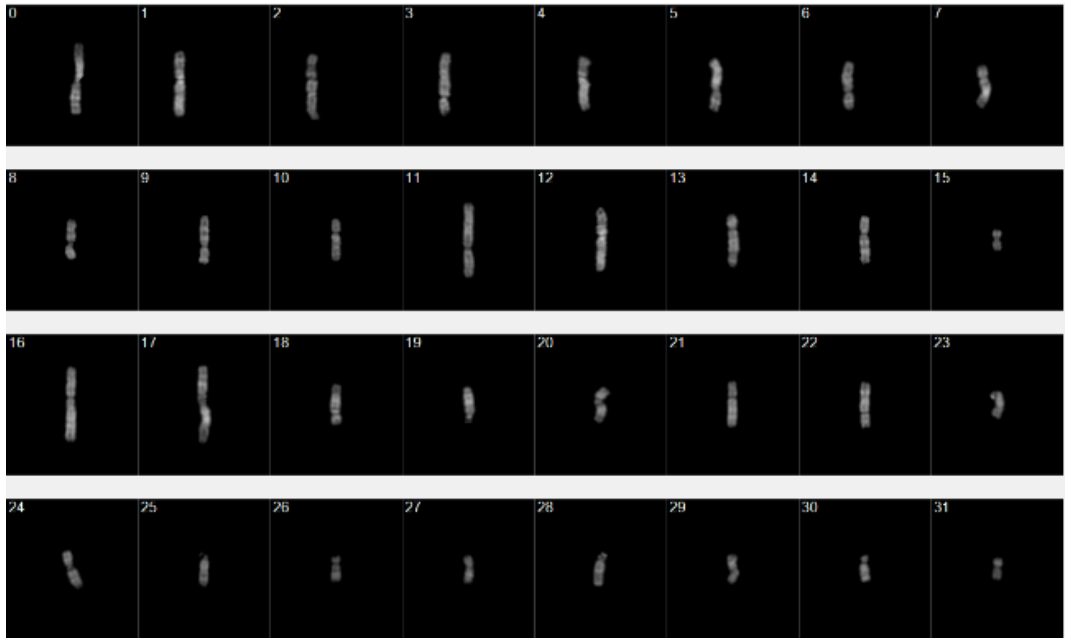


Şekil 6.49. Tam düzeltme için düzeltme açısının belirlenmesi.

Hesaplanan açı görüntünün düzeltilmesi için kullanılmaktadır. Bu işlemde sonra görüntü parçalanmadan bütün olarak düzeltilir (Şekil 6.50). Böylece tüm kromozomlar düzeltilmiş olur (Şekil 6.51).



Şekil 6.50. Tam düzeltme yapılan orijinal görüntü (solda), düzeltilen kromozom görüntüsü (sağda).



Şekil 6.51. Düzeltilen kromozom görüntüleri.

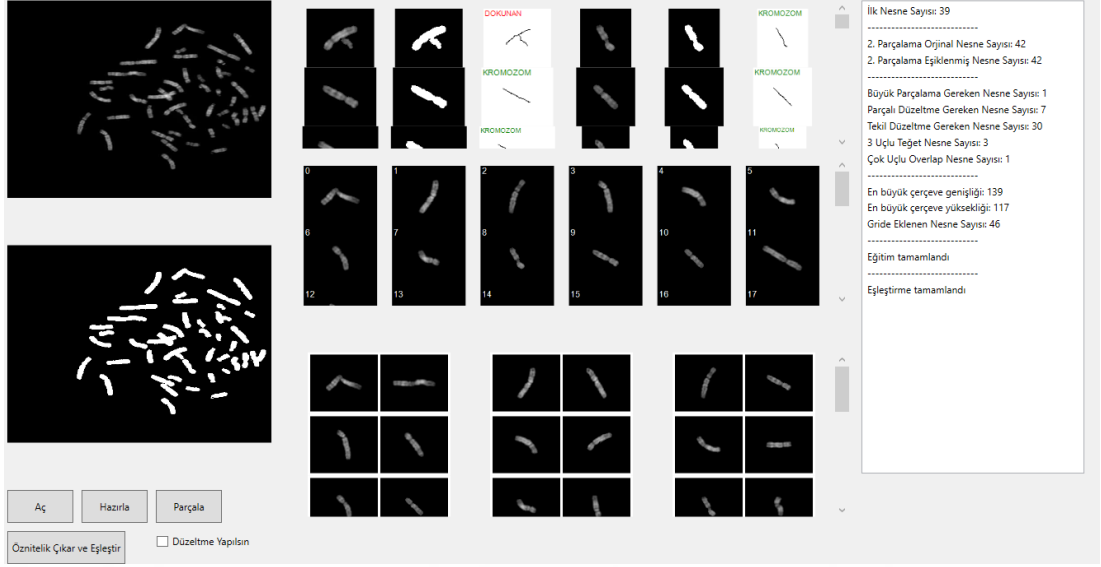
6.2.3.7 Kromozomların Eşleştirilmesi

Bölütleme ve düzeltme işlemlerinden sonra kromozomlar ortak bir dizi altında toplanırlar. Bu kromozomlar, benzerliklerine göre eşleştirilerek ön sınıflandırma yapılmış olur.

Benzerliklerin eşleştirilmesi için içerik tabanlı görüntü erişimi kullanılmıştır. Her bir kromozomun öznelikleri çıkarılarak bir değer elde edilmiştir. Öznelik çıkarımı için 64-bin histogram yöntemi kullanılmıştır. Renk tonunu ifade eden bit değerinin soldaki iki tanesi alınarak yeni bir histogram oluşturulmuştur. Tüm kromozomlar için histogram çıkarımı tamamlanarak histogramlar dizisi elde edilmiştir. Histogramlar dizisi içerisindeki her bir histogram, diğerleriyle karşılaştırılarak en yakın olanlar bir birine en benzer kromozomlar olarak kabul edilmiştir. Yakınlık hesaplaması için Eşitlik 6.5'te verilen Manhattan uzaklığı hesaplaması yapılmıştır.

$$U_{manhattan} = \sum_{i=1}^n |Histogram_{a_i} - Histogram_{b_i}| \quad (6.5)$$

Hesaplanan uzaklık sıfıra yaklaştıkça benzerlik artarken sıfırdan uzaklaştıkça benzerlik azalmaktadır. Histogramlar dizisindeki tüm histogramlar bitinceye kadar bu işlem devam eder ve tüm kromozomlar en benzerlerine göre eşleştirilerek ekranda gösterilir. Tüm işlemler tamamlandıktan sonra yazılımın arayüzü Şekil 6.52'deki gibi görünmektedir.



Şekil 6.52. Kromozom analizi arayüzü.

BÖLÜM 7

DENEYSEL ÇALIŞMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Yapılan çalışma üretilen otomatik şaryo, metafaz tarama ve kromozom analizi olarak üç farklı başlık altında değerlendirilmiştir.

7.1. ÜRETİLEN OTOMATİK ŞARYO

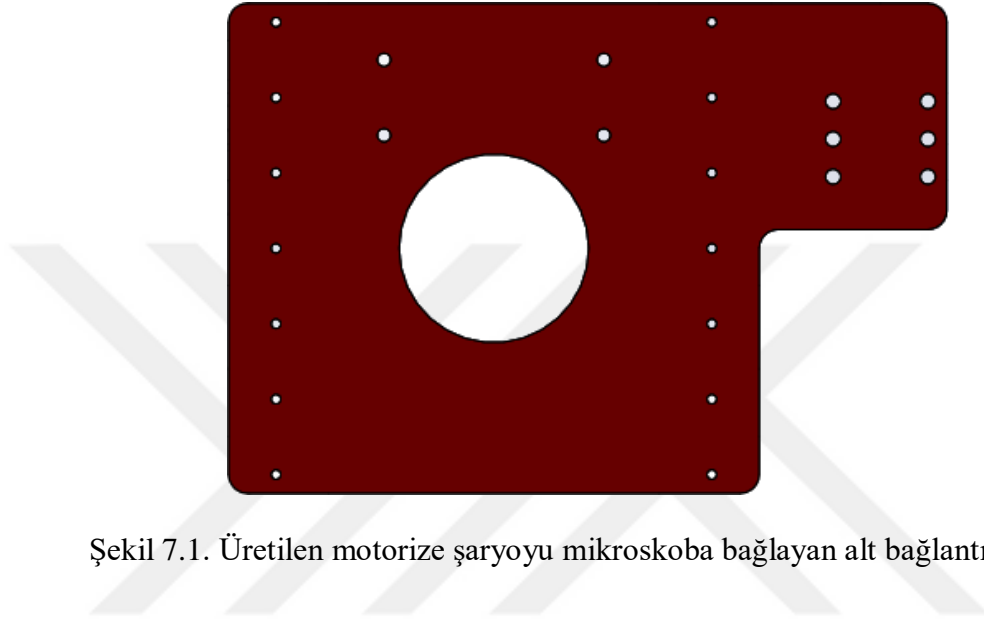
Çalışma kapsamından otomatik motorize bir mikroskop şaryosu tasarlanarak üretilmiştir. Üretilen otomatik şaryo, uyarlanabilirlik, maliyet, yeniden konumlanma hassasiyeti ve teknik özellikler olarak değerlendirilmiştir. Maliyet konusunda elde edilen sonuçlar karşılaştırma yapılabilmesi için Türk Lirası ve genelde kullanılan bir döviz türünde hesaplanarak verilmiştir.

7.1.1. Uyarlanabilirlik

Sisteme getirilen ayarlar arayüzü ile herhangi bir arıza durumunda adım motorları, adım motoru sürücüleri ve vidalı miller ayrı ayrı değiştirilebilir. Aynı malzemenin bulunamaması durumunda farklı vidalı mil, farklı adım motoru sürücüsü ya da farklı adım motoru takılabilir. Farklı malzemenin takılması durumunda, yeni takılan malzemenin değerleri ilgili arayüz üzerinden sisteme girilir ve veri tabanına kaydedilir. Böylece sistem hiçbir veri kaybı yaşamadan taramaya devam edebilecektir. Özellikle birçok parçanın 3B yazıcıda basılmış olması, parça temini konusunda dışa bağımlılığı ortadan kaldırmıştır.

Üretilen şaryo, dört tane alt bağlantı tablasına ve bir tane Z eksenine olmak üzere beş vida ile mikroskoba bağlanmakta ve elle kontrol edilen mikroskobu motorize hale getirmektedir. Gerektiğinde bu beş vida kolayca çıkarılarak mikroskop eski haline döndürülebilir ve üretilen şaryo herhangi bir mikroskoba monte edilebilir. Bunun için

alt bağlantı tablasının, monte edilecek mikroskobun delik aralıklarına göre 3B yazıcıda basılıp şaryoya takılması yeterli olacaktır (Şekil 7.1). Böylece gerektiğinde klinikten çıkmadan alınabilecek 3B baskılar ile elle kontrol edilen mikroskoplar motorize hale getirilebilecektir. Ayrıca oluşturulan ana yazılım baştan sona özgün olarak Türkçe arayüzde oluşturulmuştur.



Şekil 7.1. Üretilen motorize şaryoyu mikroskoba bağlayan alt bağlantı tablası.

7.1.2. Maliyet

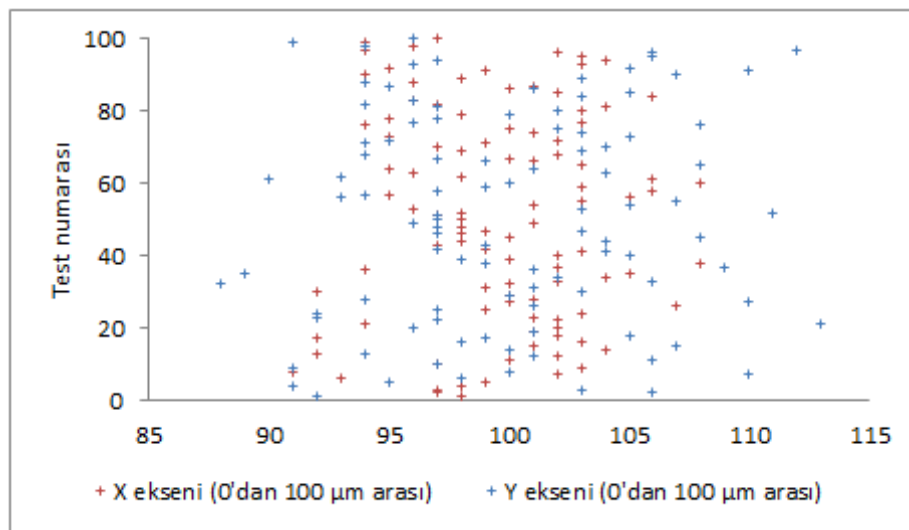
Sistemin oluşturulması için düşük maliyetli malzemeler seçilmiştir. Hesaplamalar yapılan güncel döviz kuru 1 \$/3,54 ₺ olarak alınmıştır. Mikroskop için 2124 ₺ (600 \$), kamera için 4548 ₺ (1285 \$), elektronik kutu tasarımı için 1009 ₺ (285 \$), 3B yazıcıda kullanılan PLA filament için 78 ₺ (22 \$), lazer kesimler için 251 ₺ (71\$), diğer giderler için 99 ₺ (28 \$) olmak üzere toplam vergiler dâhil 8109 ₺ (2295 \$) harcanmıştır. Harcanan birimler Çizelge 7.1’de verilmiştir.

Çizelge 7.1. Sistem üretimi maliyet çizelgesi.

	Birim fiyatlar	Tüm sistem	Kamera, mikroskop otomatik şaryo	Otomatik şaryo
Bilgisayar-İ (\$)	2478 (700)	+		
Mikroskop-İ (\$)	2124 (600)	+	+	
Kamera-İ (\$)	4548 (1285)	+	+	
Elektronik kutu ve otomatik şaryo-İ (\$)	1009 (285)	+	+	+
3B basım için filament-İ (\$)	78 (22)	+	+	+
Lazer kesim-İ (\$)	251 (71)	+	+	+
Diğer-İ (\$)	99 (28)	+	+	+
Toplam-İ (\$)		10587 (2991)	8109 (2291)	1437 (406)

7.1.3. Yeniden Konumlanma Kaybı Ve Boşluk Testi

Şaryo üretiminde kullanılan vidalı mil, somun ve raylar daha çok büyük ölçekli endüstriyel makinelerde kullanılan malzemelerdir. Dolayısıyla mikron boyutlarında yapılan ölçümlerde yeniden konumlanma kayıpları yaşandığı görülmüştür. Mikroskop mikrometresi ile yapılan ölçümlerde X ve Y eksenlerinde sürekli 100 mikronluk adımlar atılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. Testler sonucu elde edilen ilerlemeler Şekil 7.2’de verilmiştir.



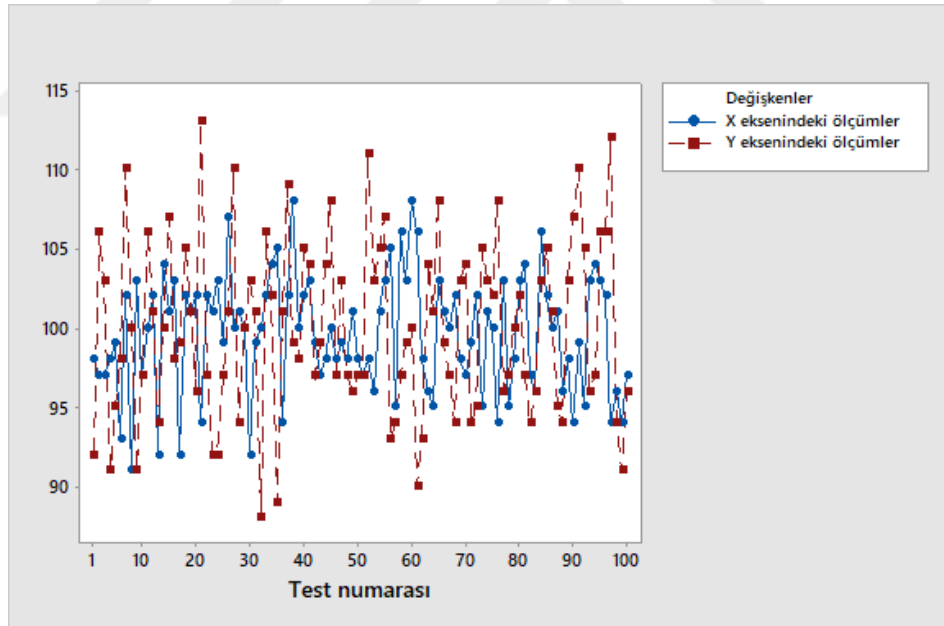
Şekil 7.2. Ölçülen yeniden konumlanma değerlerinin gösterilmesi.

Elde edilen ölçümler üzerinde Spearman, Kendall Tau ve Pearson korelasyon analizleri yapılmıştır. Yapılan analizlerde korelasyon katsayısının sıfıra yakın olduğu ve P değerlerinin bir birine benzer olduğu görülmüştür (Çizelge 7.2).

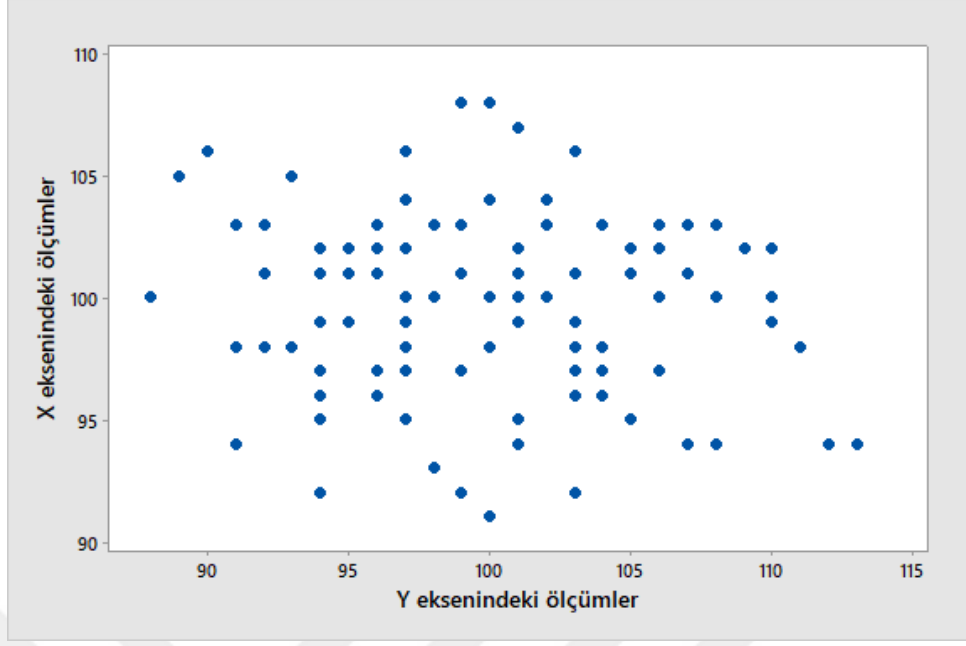
Çizelge 7.2. Yeniden konumlanma ölçümlerine ait hata analiz sonuçları.

Test adı	Korelasyon	P değeri
Spearman	-0,060	0,52
Kendall Tau	-0,046	0,51
Pearson	-0,096	0,34

X ve Y eksenlerinde elde edilen sonuçlar Şekil 7.3'teki zaman serisi grafiğinde incelendiğinde ve Şekil 7.4'teki X-Y değerleri arasındaki dağılıma bakıldığında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Böylece elde edilen konumlanma hatasının sistemli ve artan bir hata olmayıp, rasgele olarak belirli bir aralıkta gerçekleştiği görülmüştür.



Şekil 7.3. X ve Y eksenleri arasındaki zaman serisi grafiği.



Şekil 7.4. X eksenindeki ölçümlerin Y eksenine göre dağılımları.

Boşluk (backlash) bir eksenin ters hareketi sırasında oluşan hareketsizlik olarak tanımlanmaktadır. Boşluk özellikle tam dairesel hareketlerin olduğu çalışmalarda kendini belli etmektedir. Vidalı milin bir yöne hareket etmesinden sonra durup aksi yöne hareket etmesi sırasında küçükte olsa bir miktar boşluk oluşabilmektedir. Bu boşluk düzenli olduğunda yazılımsal olarak adım motorlarına daha az veya daha fazla adım attırılarak giderilebilmektedir. Ancak düzenli olmayan durumlarda telafi edilememektedir. Sistem tasarımında kullanılan vidalı mil ve somun bu konuda başarılı bir ürün olsa da mikron seviyesinde yapılan ölçümlerde boşluklar tespit edilmiştir. Yapılan hesaplamalar Çizelge 7.3'te verilmiştir.

Çizelge 7.3. Konumlanma hata sonuçları.

X ve Y eksenlerine başlangıç konumuna doğru hareket verildiğinde 0-100 µm arası yapılan ölçümlere ait konumlanma hata sonuçları.		X eksen (µm)	Y eksen (µm)
	Ortalama	2,84	4,58
	En düşük	0	0
	En yüksek	9	13
	Standart sapma	2,44	3,37
X ve Y eksenlerine başlangıç konumunun tersine doğru hareket verildiğinde 0-100 µm arası yapılan ölçümlere ait konumlanma hata sonuçları.		X eksen (µm)	Y eksen (µm)
	Ortalama	3,30	4,78
	En düşük	0	0
	En yüksek	8	12
	Standart sapma	1,87	2,73
	Boşluk (backlash)	3,07 µm	4,68 µm

7.1.4. Teknik Özellikler

Üretilen otomatik şaryoya ait hız, işleme mesafesi, ilerleme hassasiyeti gibi teknik bilgiler hesaplanarak Çizelge 7.4'te verilmiştir.

Çizelge 7.4. Otomatik şaryoya ait teknik özellikler.

Boştaki seyahat hızı	X-Y eksen	5 mm/sn
	Z eksen	0,45 mm/sn
Hareket mesafeleri	X eksen	72 mm
	Y eksen	60 mm
Hareket hassasiyeti	X-Y eksen	1,25 µm
	Z eksen	0,06 µm
Boşluk (Backlash)	X eksen	3,07 µm
	Y eksen	4,68 µm
Boyutlar	Boy (X eksen doğrultusu)	Adım motorlar ve miller dâhil: 290 mm Adım motorlar ve miller hariç: 190 mm
	En (Y eksen doğrultusu)	Adım motorlar ve miller dâhil: 290 mm Adım motorlar ve miller hariç: 200 mm
	Yükseklik	Adım motorlar ve miller dâhil: 90 mm Adım motorlar ve miller hariç: 26 mm

7.2. METAFAZ BULUCU

Metafaz bulucu sistemin tanıtıldığı bu bölümde ilgili sistem, tarama süresi ve metafaz tarama sonuçları yönünden değerlendirilmektedir. Elde edilen sonuçlar ile literatürde bulunan sonuçlar karşılaştırılarak verilmiştir.

7.2.1. Tarama Süresi

Metafazların bulunması için yapılan preparat taramalarında görüntü işleme işlemleri için kare başına geçen süre ortalama 34 ile 78 milisaniye arasındadır. Belirlenen preparat alanının tamamen taranması için geçen süre ise 384 ile 506 saniye arasındadır. Tarama sırasında ortalama 54 defa odaklama yapılarak görüntünün netleştirilmesi sağlanmaktadır. Yapılan tüm odaklama süreleri toplam tarama süresine dâhildir. Oluşturulan sistemin bir santimetre kareyi taraması için 77 saniye gereklidir ve ortalama tarama hızı $1,29 \text{ mm}^2/\text{s}$ olarak ölçülmüştür.

Literatürde bulunan tarama verileri ile çalışma kapsamında geliştirilen otomatik şaryonun tarama hızı ve tarama süresi karşılaştırılmıştır (Çizelge 7.5, Çizelge 7.6).

Çizelge 7.5. Metafaz bulucu sistemlerin tarama hızı bakımından karşılaştırması.

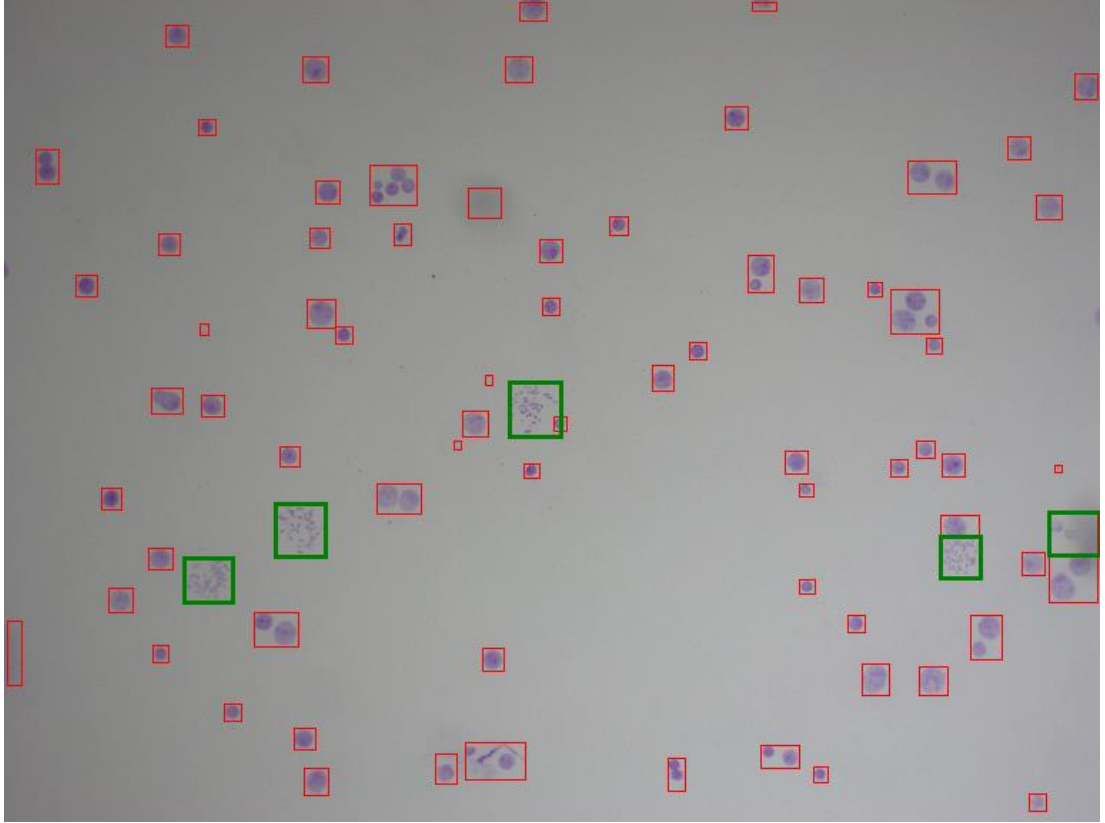
Metafaz bulucu sistem	Tarama hızı (mm^2/sn)
Piper vd. [15]	0,16
Roy vd. [29]	0,18
Furukawa [17]	0,10
Castleman [24]	1,50
Furukawa [33]	0,45
Geliştirilen sistem	1,29

Çizelge 7.6. Metafaz bulucu sistemlerin süre bakımından karşılaştırması.

Metafaz bulucu sistem	Preparat başı ortalama süre (sn)
Odawara vd. [27]	1500
Huber vd.[16]	1050
Geliştirilen sistem	445

7.2.2. Metafaz Tarama Sonuçları

Tarama sonucu elde edilen görüntülerden rasgele olarak toplamda 3018 tane nesne seçilmiş ve uzman değerlendirmesine tabi tutulmuştur. Bu görüntüler içinden yazılım 184 nesneyi metafaz olarak belirlemiş, yapılan uzman incelemesi sonucunda ise işaretlenen 29 nesnenin metafaz olmadığı (FP – Yanlış Pozitif), kalan 155 nesnenin ise metafaz olduğu (TP – Doğru Pozitif) belirlenmiştir. Sekiz nesne sistem tarafından metafaz değil olarak işaretlenmesine rağmen metafaz olduğu (FN - Yanlış Negatif) tespit edilmiştir. Kalan 2826 nesne ise uzman ve yazılım tarafından metafaz olmayan (Doğru Negatif) olarak belirlenmiştir (Şekil 7.5).



Şekil 7.5. Bulunan nesneler (kırmızı çerçeve ile işaretlenenler) ve metafaz plakları (yeşil çerçeve ile işaretlenenler).

Çalışma sonrası ortaya çıkan metafaz bulucu sistemin karışıklık matrisi Eşitlik 7.1'deki denklemler kullanılarak oluşturulmuştur. Sistemin TPR (sensitivity) değeri % 95,1 ve TNR (specificity, Gerçek Negatif Oranı) değeri ise % 99,0 olarak hesaplanmıştır. Uzman tarafından metafaz olarak nitelendirilen görüntülerde

belirtilen objelerin gerçekten metafaz olma olasılığı PPV (Pozitif Belirleyicilik Oranı) % 84,2 olarak, metafaz değil olarak işaretlenen objelerin metafaz olmama oranı NPV (Negatif Belirleyicilik Oranı) ise % 99,7 olarak hesaplanmıştır. Hem TPR'nin hem de TNR'nin yüksek olması oluşturulan yazılımın, metafazları, diğer nesnelere ayırma gücünü vurgulamıştır.

$$ACC = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN} \quad (7.1)$$

$$TPR = \frac{TP}{TP + FN}$$

$$TNR = \frac{TN}{TN + FP}$$

$$PPV = \frac{TP}{TP + FP}$$

$$NPV = \frac{TN}{TN + FN}$$

$$FNR = \frac{FN}{FN + TP}$$

$$FPR = \frac{FP}{FP + TN}$$

$$F_1 \text{ Puanı} = \frac{2TP}{2TP + FP + FN}$$

Çalışmanın doğruluğunu gösteren değer (ACC - Accuracy) % 98,8, F₁ Puanı (Score) ise 0,893 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 7.7).

Çizelge 7.7. Metafaz tarama sonuçlarına ait karışıklık matrisi.

Toplam nesne = 3018		Uzman	
		Metafaz	Metafaz olmayan
Geliştirilen sistem	Metafaz	TP = 155	FP = 29
	Metafaz olmayan	FN = 8	TN = 2826
Doğruluk (ACC) = % 98,8		TPR (Sensitivity) = % 95,1	TNR (Specificity) = % 99,0
		F ₁ Puanı = 0,893	NPV = % 99,7
PPV = % 84,2		FNR (Miss rate) = % 4,9	FPR = % 1,0

Literatürde bulunan metafaz bulucuların verileri ile çalışma kapsamında geliştirilen metafaz bulucunun doğruluk, TPR ve FPR verileri karşılaştırılmıştır ve birçok sistemden üstün olduğu görülmüştür (Çizelge 7.8, Çizelge 7.9, Çizelge 7.10).

Çizelge 7.8. Metafaz bulucu sistemlerin doğruluk bakımından karşılaştırılması.

Metafaz bulucu sistem	Doğruluk (%)
Castleman [24]	80.0
Mclean ve Johnson [26]	89.0
Geliştirilen sistem	98,8

Çizelge 7.9. Metafaz bulucu sistemlerin TPR bakımından karşılaştırılması.

Metafaz bulucu sistem	TPR (Sensitivity) (%)
Gorkidi vd. [28]	84,0
Mclean ve Johnson [26]	74,0
Cosio vd. [18]	91,8
Geliştirilen sistem	95,1

Çizelge 7.10. Metafaz bulucu sistemlerin FPR bakımından karşılaştırılması.

Metafaz bulucu sistem	FPR (%)
Castleman [24]	20.0
Gorkidi vd. [28]	17.0
Roy vd. [29]	14.0
Piper vd. [15]	9.3
Mclean ve Johnson [26]	6.0
Furukawa [33]	5.0
Weber vd. [25]	3.0
Cosio vd. [18]	2.9
Geliştirilen sistem	1,0

7.3. KROMOZOM ÖN SINIFLANDIRMA SONUÇLARI

Kromozomların bölümlenebilmesi için bulunan nesnenin kromozom, dokunan veya dokunan/çakışan kromozom sınıflarından hangisine girdiğinin belirlenmesi gerekir.

Eşikleme, artefaktların temizlenmesi gibi ön işlemlerden sonra görüntüye parça filtresi uygulanarak nesnelere elde edilmesi sağlanır. Bu işlemden sonra elde edilen her bir nesne kromozom (iki uçlu), dokunan kromozom grubu (üç uçlu) ve dokunan/çakışan kromozom grubu (dört ve daha fazla uçlu) olarak sınıflandırılır. Bu ön sınıflandırmanın başarısı sonrasında uygulanacak olan düzeltme ve benzerliğe göre eşleştirme işlemlerinin başarısını doğrudan etkilediği için önemlidir.

Geliştirilen yazılımın bulunan nesnelere ön sınıflandırma başarısı kromozom, dokunan kromozom grupları ve dokunan/çakışan kromozom grupları için ayrı ayrı analiz edilmiştir. Toplam sayısı 2244 olan kromozom ve kromozom grupları üzerinde yazılım tarafından ve uzman tarafından yapılan kromozom (iki uçlu) ön sınıflandırma sonuçları Eşitlik 7.1'e göre hesaplanarak Çizelge 7.11'de verilmiştir. Buna göre yazılım ve uzman tarafından 2088 nesnenin kromozom olduğu (TP) belirlenmiştir. Yazılım tarafından bulunan 20 nesne kromozom olarak belirlenirken uzman tarafından kromozom olmayan nesne (FP) olarak belirlenmiştir. Bu 2244 nesne görüntüsü içinde uzman ve yazılımın kromozom olmayan olarak sınıflandırdığı nesne sayısı 136 (TN) olarak bulunmuştur. Yazılım tarafından kromozom olmayan olarak işaretlenen nesnelere kromozom olması (FN) ise sıfır çıkmıştır. Bu sonuçlara göre yazılımın kullanılan örnek görüntü veri tabanı için kromozomları belirleme konusunda doğruluk oranı (ACC - accuracy) % 99,1 olarak bulunmuştur.

Çizelge 7.11. Kromozom olarak tespit edilen nesnelere ait karışıklık matrisi.

Toplam nesne = 2244		Uzman	
		Kromozom	Kromozom olmayan
Geliştirilen yazılım	Kromozom	TP = 2088	FP = 20
	Kromozom olmayan	FN = 0	TN = 136
Doğruluk (ACC) = % 99,1		TPR (Sensitivity) = % 100	TNR (Specificity) = % 87,2
		F ₁ Puanı = 0,995	NPV = % 100
PPV = % 99,1		FNR (Miss rate) = % 0	FPR = % 12,8

Dokunan kromozom gruplarının (üç uçlu) tespiti için yapılan analiz sonucunda ise 2244 nesneden 62 tanesi uzman ve yazılım tarafından dokunan kromozom (TP) olarak belirlenmiştir. Yazılımın dokunan kromozom gruplarını diğerlerinden ayırma konusunda doğruluk oranı (ACC - accuracy) % 98,2 olarak hesaplanmıştır. Dokunan kromozom gruplarının tespitine dair sonuçlar Eşitlik 7.1 kullanılarak Çizelge 7.12’de verilmiştir.

Çizelge 7.12. Dokunan kromozom grubu olarak tespit edilen nesnelere ait karışıklık matrisi.

Toplam nesne = 2244		Uzman	
		Dokunan kromozom grubu (üç uçlu)	Dokunan kromozom grubu olmayan(üç uçlu değil)
Geliştirilen yazılım	Dokunan kromozom grubu (üç uçlu)	TP = 62	FP = 24
	Dokunan kromozom grubu olmayan(üç uçlu değil)	FN = 17	TN = 2141
Doğruluk (ACC) = % 98,2		TPR (Sensitivity) = % 78,5	TNR (Specificity) = % 98,8
		F ₁ Puanı = 0,752	NPV = % 99,2
PPV = % 72,1		FNR (Miss rate) = % 21,5	FPR = % 1,1

Dokunan/çakışan kromozom gruplarının (dört ve daha fazla uçlu) tespiti için yapılan analiz sonucunda ise 2244 nesneden 49 tanesi uzman ve yazılım tarafından dokunan/çakışan kromozom (TP) olarak belirlenmiştir. Yazılımın dokunan/çakışan kromozom gruplarını diğerlerinden ayırma konusunda doğruluk oranı (ACC - accuracy) % 98,7 olarak hesaplanmıştır. Dokunan/çakışan kromozom gruplarının tespitine dair sonuçlar Eşitlik 7.1 kullanılarak Çizelge 7.13’de verilmiştir.

Çizelge 7.13. Dokunan/çakışan kromozom grubu olarak tespit edilen nesnelere ait karışıklık matrisi.

Toplam nesne = 2244		Uzman	
		Dokunan/çakışan kromozom grubu (dört ve daha fazla uçlu)	Dokunan/çakışan kromozom grubu olmayan (dört ve daha fazla uçlu)
Geliştirilen yazılım	Dokunan/çakışan kromozom grubu (dört ve daha fazla uçlu)	TP = 49	FP = 2
	Dokunan/çakışan kromozom grubu olmayan (dört ve daha fazla uçlu)	FN = 27	TN = 2166
Doğruluk (ACC) = % 98,7		TPR (Sensitivity) = % 64,5	TNR (Specificity) = % 99,9
		F ₁ Puanı = 0,772	NPV = % 98,8
PPV = % 96,1		FNR (Miss rate) = % 35,5	FPR = % 0,1

BÖLÜM 8

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu bölümde “İnsan Kromozom Preparatlarının Bilgisayar Destekli Sitogenetik Analizleri Ve Düşük Maliyetli Sistem Tasarımı” isimli çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar özetlenmiş ve sonraki çalışmalarda faydalanılabilecek öneriler verilmiştir.

8.1. SONUÇLAR

Bu çalışmada, insan metafaz kromozomlarının sınıflandırılmasında kullanılabilecek genetik tanı-destek sisteminin, elektro-mekanik ve kontrol yazılımı olarak tasarlanması, düşük maliyetli olarak üretilmesi ve analiz yazılımlarının geliştirilmesi ana amaç olarak belirlenmiştir. Preparatlardan metafaz plaklarının otomatik olarak bulunmasını ve saklanmasını sağlayan otomatik metafaz bulucunun tasarlanması, farklı mikroskoplara kolayca bağlanabilen motorize şaryonun üretilmesi, metafazların yüksek başarı ile tespit edilebilmesi için metafaz tespit filtresinin oluşturulması, bulunan kromozom görüntülerinden artefaktların kaldırılması ve eşiklemenin otomatik yapılabilmesi için yeni bir eşikleme yönteminin geliştirilmesi, kromozom görüntülerinde ön sınıflandırmanın yapılması, ön sınıflandırma yapılan kromozom görüntülerinin bölümlenebilmesi, kromozomların benzerliklerine göre eşleştirilmesi ve tüm bu işlemler yapılırken oluşturulan yazılımın tamamen Türkçe olması alt amaçlar olarak belirlenen çalışma sonucunda;

1. Halojen ışık kaynağı ve LED ışık kaynağı kullanılarak alınan görüntüler incelendiğinde LED ışık kaynağında daha az titreşimler algılanmıştır. Böylece halojen olan mikroskop ışık kaynağı LED ışık kaynağı ile değiştirilerek işlemeye daha hazır görüntüler elde edilmiştir.

2. Preparatlardan alınan görüntülerde eşikleme için R-G-B, intensity (gri) renk kanalları denenmiş ve intensity kanalda yapılan eşiklemelerde daha fazla detay gözlenmiştir.
3. Preparatlar üzerinde yapılan test taramalarında preparat kenarlarında analiz edilebilir metafazların bulunmadığı veya çok az sayıda olduğu görülmüştür. Bu yüzden tarama alanı preparat iç tarafında 36x16 mm olarak belirlenmiştir. Bu alan 540 hücreli bir matrise bölünerek kareler halinde taranmıştır. Bu karelerin her birisinin taranarak görüntünün analizi için yaklaşık 30-70 milisaniye harcanmıştır.
4. Şaryo üretiminde kullanılacak parçaların bazılarının temininde sorunlar yaşanmıştır (lazer kesim, el üretiminde yaşanan hatalar vb.). Bu sorunların önüne geçebilmek için delta tipinde sabit tablalı bir 3B yazıcı üretilmiştir.
5. Kolaylıkla temin edilebilecek parçalar ve 3B yazıcı yardımıyla üretilen parçalar kullanılarak otomatik bir mikroskop şaryosu üretilmiştir. Üretilen şaryonun bağlantı parçası, bağlantı yapılmak istenen mikroskobun ölçülerine göre 3B yazıcıda üretilerek bağlantının yapılması sağlanmıştır.
6. Üretilen şaryoda yeniden konumlanma kayıpları ölçülmüştür. Elde edilen ölçümler sonrası düzenli bir hatanın yapılmadığı, hataların kullanılan malzemelerdeki boşluklardan kaynaklandığı görülmüştür.
7. Ana yazılım oluşturulurken C# programlama dilinde, WPF arayüzü ve asenkron kodlama yöntemi kullanılmıştır.
8. Elektronik kontrol ünitesini kontrol edecek yazılım C++ programlama dili kullanılarak oluşturulmuştur. Kontrol ünitesi ile bilgisayar arasında USB portu üzerinden eş zamanlı bağlantı kullanılarak haberleşme yapılmıştır. Adım motorların çalışması için gereken komutlar kontrol ünitesine gönderilmiş ve adım motorlarının çalışması durduktan sonra ana yazılıma sonuç komutları gönderilmiştir. Böylece tarama sırasında herhangi bir atlama ya da motorlar arası çakışma olmadan tüm işlemler sırayla yapılmıştır.

9. Oluşturulan yazılım ve üretilen şaryo çalışırken metrik ölçüleri kullanmaktadır. Böylece herhangi bir parça değişimi sırasında herhangi bir kayıp olmadan tarama işlemi yapılabilecektir. Bunun sağlanabilmesi için hareket amaçlı kullanılan tüm gereçlerin ilerleme ölçüleri yazılım tarafından metrik birimlere çevrilmiştir.
10. Tarama yapılırken görüntü kalitesini etkileyen etkenlerin başında odak yapılması gelmektedir. Odağın iyi yapılması metafaz bulucunun doğruluğunu direk etkilemektedir. Bunun en iyi şekilde sağlanması için temelde bir odak algoritması geliştirilmiş ve bu algoritmanın farklı türevlerini kullanan alt fonksiyonlarla gerekli odağın yapılabildiği gözlenmiştir.
11. Metafaz taraması sırasında bulunan nesnelerin metafaz ve metafaz olmayan olarak sınıflandırılabilmesi için metafiltre isimli bir filtre algoritması oluşturulmuştur.
12. Oluşturulan yazılımın metafazları bulması için otomatik ve resimden bul olmak üzere iki farklı yöntemi vardır. Otomatik metafaz bulucu, başlangıç komutları dışında kalan işlemleri otomatik olarak uygulamakta ve preparattan tarama yapmaktadır. Bunu yaparken bulduğu metafazlara olduğu görüntü parçalarına ait koordinatlar ve ölçüler veri tabanına kaydedilmektedir. Resimden bul arayüzü ise daha önce taranmış görüntüler üzerinde metafaz aramaktadır.
13. Metafazlar otomatik olarak bulunurken belirlenen preparat alanının taranması için ortalama 445 saniye harcanmaktadır ve ortalama tarama hızı $1,29 \text{ mm}^2/\text{sn}$ olarak ölçülmüştür. Bu değerler ile literatürdeki en iyi sürelerden birisi elde edilmiştir. Bulunan nesnelerin metafaz ve metafaz olmayan olarak sınıflandırılmasındaki doğruluk oranı ise % 98,8 olarak bulunmuştur. Bu konuda detaylı bilgi Bölüm 7.2 altında bulunabilir.
14. Kromozom analizinin yapılabilmesi için gerekli ön işlemlerin yapılması gerekmektedir. Bu aşamada eşikleme işlemi büyük önem taşımaktadır. Bunun için “modifiye edilmiş basamaklı binom eşikleme” isimli eşikleme yöntemi geliştirilerek görüntüler üzerinde uygulanmıştır.

15. Ön işlem yapılmış görüntüler üzerinde parça filtresi uygulanarak kromozom görüntüleri elde edilmiştir. Bu görüntüler içerisinde tekil kromozomlar ve dokunan/çakışan kromozom grupları bulunmaktadır. Bu görüntülerin tekil kromozom, dokunan kromozom grubu ve dokunan/çakışan kromozom grubu olarak sınıflandırılabilmesi için kromozomların iskeleti çıkarılarak uç analizi yapılmıştır. Bu analize göre görüntüler sınıflandırılmıştır. Bulunan nesne görüntüleri içerisinde tekil kromozomların tespit edilmesindeki doğruluk oranı % 99,1, dokunan kromozomların tespit edilmesindeki doğruluk oranı % 98,2 ve dokunan/çakışan kromozomların tespit edilmesindeki doğruluk oranı % 98,7 olarak bulunmuştur. Bu konuda detaylı bilgi Bölüm 7.3 altında bulunabilir.
16. Dokunan ve dokunan/çakışan kromozomların bölütlenebilmesi için görüntü iskeletleri kullanılarak analizler yapılmış ve kesim yerleri belirlenmiştir.
17. Kromozomların düzleştirilmesi için üç farklı yöntem kullanılmıştır. Yazılım görüntü üzerinde hangi yöntemi uygulayacağına otomatik olarak karar vermektedir. Belirlenen yönteme göre düzeltme yapılarak kromozomların listelenmesi sağlanmaktadır.
18. Kromozomların eşleştirilmesi için her bir görüntünün öznitelikleri çıkarılmıştır. Bunun için 64-bin histogram yöntemi kullanılmış ve görüntüler benzerliklerine göre eşleştirilmiştir.
19. Bu çalışma sırasında aşağıdaki proje ve yayınlar yapılmıştır.
- Yükseköğretim kurumları tarafından desteklenmiş bilimsel araştırma projesi: Karabük Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Proje No: KBÜ-BAP-15/2-DR-024
 - ESCI kapsamındaki dergilerde yayımlanan tam makale: Yılmaz, H., Turan, M. K., “FahamecV1:A Low Cost Automated Metaphase Detection System”, *Engineering, Technology & Applied Science Research*, 6(7): 2160-2166 (2017).

- Uluslararası kongre ve sempozyumlarda sözlü olarak sunulan ve özet metin olarak yayımlanan tebliğ: Yılmaz, H. Turan, M. K., “3D Printer Assisted Automatic Motorized Microscope Stage Design”, *International Advanced Researches And Engineering Congress-IAREC 2017*, Osmaniye.

8.2. ÖNERİLER

Bu başlık altında çalışmanın devamı niteliğindeki araştırmalara ve geliştirmelere ışık tutabilmesi için önerilerde bulunulmuştur. Bu öneriler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

1. Test için kullanılan preparatlar atıl durumdaki preparatlardan oluşmaktadır. Analiz edilebilir, iyi durumdaki preparatlardan alınan görüntülerde doğruluk oranları daha da arttırılabilir.
2. Lazer kesim ile elde edilen malzemeler yerine tüm sabit parçalar 3B yazıcı ile üretilebilir. Böylece maliyetin daha da düşmesi ve parçaların istenildiğinde klinikten çıkmadan üretilmesi sağlanabilir.
3. Vidalı miller daha ince seçilerek şaryo ağırlığı ve toplam yükseklik düşürülebilir. Adım motorları daha küçükleri ile değiştirilerek toplam ağırlık ve güç tüketimi azaltılabilir. Sistemde kullanılan vidalı miller, somunlar ve minyatür raylar sanayi tipi çözümler için kullanılan ürünlerden seçilmiştir. Bu ürünler daha hassas seçilerek yeniden konumlanma kayıpları en aza indirgenebilir.
4. 3B yazıcıda üretilen parçalar PLA tabanlı malzeme seçilerek üretilmiştir. Sonraki üretimlerde daha dayanıklı hammadde seçilerek parçaların daha sağlam ve uzun ömürlü olması sağlanabilir.
5. Üretilen prototip, seyahat mesafeleri daha fazla olmasına rağmen tek preparat tarayacak şekilde yapılandırılmıştır. Sonraki çalışmalarda birden fazla preparat taraması yapılabilir.

6. Yazılım oluşturulurken tamamen Türkçe dil kullanılmıştır. Farklı dil destekleri yazılımın içerisine eklenebilir.
7. Kullanılan kontrol ve genişleme kartı piyasadan rahatlıkla elde edilebilecek özelliktedir. Sonraki çalışmalarda daha küçük kontrol kartı tasarımları kullanılabilir.
8. Otomatik tarama sırasında yapılan odak sayısının azaltılması tarama süresini doğrudan etkilemektedir. Bu yüzden odak sayısını azaltabilecek önlemler (üç noktalı veya beş noktalı odak gibi) alınabilir.



KAYNAKLAR

1. Klug, W. S., Cummings, M. R., and Spencer, C. A., "Genetik kavramlar", *Palme Yayıncılık*, Ankara, 171-208 (2011).
2. Nussbaum, R. L., McInnes, R. R., and Willard, H. F., "Thompson & Thompson Genetics in Medicine", Eighth edition. Ed., *Elsevier*, Philadelphia, 4-97 (2016).
3. Yücel, İ., "Tamiflu'nun insan periferal lenfositlerinde kromozomal düzensizliklere etkisi", Yüksek Lisans Tezi, *Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Diyarbakır, 8-16 (2011).
4. Wood, M. C., "A Microscopy Scanning System For Clinical Chromosome Diagnostics", Ph. D. Thesis, *University of Oklahoma*, Oklahoma, 3-44 (2007).
5. Azgın, E., "Bazı yer örümceklerinin (Arachnida: Araneae) karyotip analizlerinin araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğde, 16-24 (2015).
6. Alp, M. N., "Malignite ile tek gen mutasyonları ve kromozom düzensizliklerinin ilişkisi üzerine araştırmalar", Doktora Tezi, *Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Diyarbakır, 4-8 (1983).
7. Yıldırım, A., Kandemir, N., Karadağ, Y., and Sakin, M. A., "Genetik", *Nobel Yayın Dağıtım*, Ankara, 38-42 (2008).
8. Yakut, S., "Tekrarlayan düşükleri olan ve sitogenetik olarak karyotipleri normal bulunan çiftlerde kriptomik translokasyonların Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) ile araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Antalya, 3-23 (2001).
9. Bozcuk, A. N., "Genetik", *Palme*, Ankara, 222-226 (2011).
10. Giray Bozkaya, Ö., "Pediyatrik Genetik", *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 22 (3): 171-179 (2008).
11. Bickmore, W. A., "Karyotype Analysis and Chromosome Banding", Encyclopedia of Life Sciences, *John Wiley & Sons, Ltd*, Chichester, 1-6 (2001).

12. Kayhan, G., "Kromozomal yeniden düzenlenmelerde moleküler karyotiplleme ile genotip-fenotip ilişkisinin belirlenmesi", Tıpta Uzmanlık Tezi, **Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi**, Ankara, 16-25 (2014).
13. "ISCN 2009: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2009)", **Karger**, Basel ; Unionville, 60-78 (2009).
14. Atalay, F., "Gebelerden alınan amniyon sıvılarının karyotip analizinde normal, down sendromu ve nöral tüp defekti olduğu tespit edilen olguların amniyon sıvılarında oksidatif stres (MDA) parametrelerinin, antioksidan (SOD, CAT, GSH-Px) ve eser element (Se, Zn, Cu) düzeylerinin araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, **Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Kahramanmaraş, 4-7 (2012).
15. Piper, J., Poggensee, M., Hill, W., Jensen, R., Ji, L., Poole, I., Stark, M., and Sudar, D., "Automatic fluorescence metaphase finder speeds translocation scoring in FISH painted chromosomes", **Cytometry**, 16 (1): 7–16 (1994).
16. Huber, R., Kulka, U., Lörch, T., Braselmann, H., and Bauchinger, M., "Automated metaphase finding: an assessment of the efficiency of the METAFER2 system in a routine mutagenicity assay", **Mutation Research/Environmental Mutagenesis And Related Subjects**, 334 (1): 97–102 (1995).
17. Furukawa, A., Minamihisamatsu, M., and Hayata, I., "LOW-COST METAPHASE FINDER SYSTEM:", **Health Physics**, 98 (2): 269–275 (2010).
18. Arámbula Cosío, F., Vega, L., Herrera Becerra, A., Prieto Meléndez, C., and Corkidi, G., "Automatic identification of metaphase spreads and nuclei using neural networks", **Medical & Biological Engineering & Computing**, 39 (3): 391–396 (2001).
19. Blakely, W. F., Prasanna, P. G., Kolanko, C. J., Pyle, M. D., Mosbrook, D. M., Loats, A. S., Rippeon, T. L., and Loats, H., "Application of the premature chromosome condensation assay in simulated partial-body radiation exposures: evaluation of the use of an automated metaphase-finder", **Stem Cells**, 1 (13): 223–230 (1995).
20. Prasanna, P. G. S., Loats, H., Gerstenberg, H. M., Torres, B. N., Shehata, C. W., Duffy, K. ., Floura, R. ., Khusen, A. W., Jackson, W. E., and Blakely, W. F., "AFRRI's Gamma-Ray, X-Ray, and Fission-Neutron Calibration Curves for the Lymphocyte Dicentric Assay: Application of a Metaphase Finder System", **Armed Forces Radiobiology Research Institute**, Maryland, 1-6 (2002).
21. Martin, P. R., Berdychevski, R. E., Subramanian, U., Blakely, W. F., and Prasanna, P. G. S., "Sample tracking in an automated cytogenetic biodosimetry

- laboratory for radiation mass casualties", *Radiation Measurements*, 42 (6–7): 1119–1124 (2007).
22. van Vliet, L. J., Young, I. T., and Mayall, B. H., "The athena semi-automated karyotyping system", *Cytometry*, 11 (1): 51–58 (1990).
 23. Korthof, G. and Carothers, A. D., "Tests of performance of four semiautomatic metaphase-finding and karyotyping systems", *Clinical Genetics*, 40 (6): 441–451 (1991).
 24. Castleman, K. R., "The PSI Automatic Metaphase Finder", *Journal Of Radiation Research*, (33): 124–128 (1992).
 25. Weber, J., Scheid, W., and Traut, H., "Time-saving in biological dosimetry by using the automatic metaphase finder Metafer2", *Mutation Research/Environmental Mutagenesis And Related Subjects*, 272 (1): 31–34 (1992).
 26. McLean, J. R. N. and Johnson, F., "Evaluation of a metaphase chromosome finder: Potential application to chromosome-based radiation dosimetry", *Micron*, 26 (6): 489–492 (1995).
 27. Odawara, K., Yamamoto, K., Kato, H., Hara, M., Shigefumi Kogiso, Kishida, F., Yoshitake, A., and Nakatsuka, I., "A new semi-automated chromosome analysis system for in vitro chromosomal aberration tests", *Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*, 389 (2–3): 207–212 (1997).
 28. Corkidi, G., Vega, L., Márquez, J., Rojas, E., and Ostrosky-Wegman, P., "Roughness feature of metaphase chromosome spreads and nuclei for automated cell proliferation analysis", *Medical & Biological Engineering & Computing*, 36 (6): 679–685 (1998).
 29. Roy, L., Durand, V., Delbos, M., Sorokine-Durm, I., Soussaline, F., and Voisin, P., "A New Image Analysis System for Biological Dosimetry by Fluorescent in situ Hybridization. Step 1: Metaphase Finder and Automatic Metaphase Acquisition Validation", *Journal Of Radiation Research*, 42 (2): 165–177 (2001).
 30. Vega-Alvarado, L., Marquez, J., and Corkidi, G., "Automatic metaphase finding by inter-chromosome extrema profile analysis", *323rd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, İstanbul, 2560–2562 (2001).
 31. Uttamatin, R., Yuvapoositanon, P., Intarapanich, A., Kaewkamnerd, S., Phuksaritanon, R., Assawamakin, A., and Tongshima, S., "MetaSel: a metaphase

- selection tool using a Gaussian-based classification technique", *BMC Bioinformatics*, 16 (14): 1–13 (2013).
32. Qiu, Y., Song, J., Lu, X., Li, Y., Zheng, B., Li, S., and Liu, H., "Feature Selection for the Automated Detection of Metaphase Chromosomes: Performance Comparison Using a Receiver Operating Characteristic Method", *Analytical Cellular Pathology*, 20141–9 (2014).
 33. Furukawa, A., "The Project Of Another Low-Cost Metaphase Finder", *Radiation Protection Dosimetry*, 172 (1–3): 238–243 (2016).
 34. Minaee, S., Fotouhi, M., and Khalaj, B. H., "A geometric approach to fully automatic chromosome segmentation", *2014 IEEE Signal Processing in Medicine and Biology Symposium*, Philadelphia, 1–6 (2014).
 35. Zack, G. W., Rogers, W. E., and Latt, S. A., "Automatic measurement of sister chromatid exchange frequency.", *Journal Of Histochemistry & Cytochemistry*, 25 (7): 741–753 (1977).
 36. Groen, F. C. A., ten Kate, T. K., W.M. Smeulders, A., and Young, I. T., "Human chromosome classification based on local band descriptors", *Pattern Recognition Letters*, 9 (3): 211–222 (1989).
 37. Piper, J. and Granum, E., "On fully automatic feature measurement for banded chromosome classification", *Cytometry*, 10 (3): 242–255 (1989).
 38. Errington, P. A. and Graham, J., "Application of artificial neural networks to chromosome classification", *Cytometry*, 14 (6): 627–639 (1993).
 39. Carothers, A. and Piper, J., "Computer-aided classification of human chromosomes: a review", *Statistics And Computing*, 4 (3): 161–171 (1994).
 40. Ji, L., "Fully automatic chromosome segmentation", *Cytometry*, 17 (3): 196–208 (1994).
 41. Cho, J. and Hong, S., "Classification of Giemsa-stained human chromosomes using multi-layer neural network", *16th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, Maryland, 1115–1116 (1994).
 42. Musavi, M. T., Qiao, M., Davisson, M. T., and Akeson, E. C., "Classification of mouse chromosomes using artificial neural networks", *The 1996 IEEE International Conference on Neural Networks*, Washington, 852–857 (1996).
 43. Charters, G. C. and Graham, J., "Trainable grey-level models for disentangling overlapping chromosomes", *Pattern Recognition*, 32 (8): 1335–1349 (1999).

44. Popescu, M., Gader, P., Keller, J., Klein, C., Stanley, J., and Caldwell, C., "Automatic karyotyping of metaphase cells with overlapping chromosomes", *Computers In Biology And Medicine*, 29 (1): 61–82 (1999).
45. Mousavi, P., Ward, R. K., Lansdorp, P. M., and Fels, S. S., "Multi-feature analysis and classification of human chromosome images using centromere segmentation algorithms", *International Conference on Image Processing*, Vancouver, 152–155 (2000).
46. Ritter, G. and Pesch, C., "Polarity-free automatic classification of chromosomes", *Computational Statistics & Data Analysis*, 35 (3): 351–372 (2001).
47. Bingham, L., Xiuduan, F., Weizhi, W., and Zhiyong, Z., "Automatic separation of overlapping objects", *4th World Congress on Intelligent Control and Automation*, Shanghai, 2901–2905 (2002).
48. Cai, N., Hu, K., Xiong, H., Li, S., Su, W., and Zhu, F., "Image segmentation of G bands of Triticum monococcum chromosomes based on the model-based neural network", *Pattern Recognition Letters*, 25 (3): 319–329 (2004).
49. Choi, H., Bovik, A. C., and Castleman, K. R., "Maximum-Likelihood Decomposition of Overlapping and Touching M-Fish Chromosomes Using Geometry, Size and Color Information", *2006 International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, New York, 3130–3133 (2006).
50. Moradi, M. and Setarehdan, S. K., "New features for automatic classification of human chromosomes: A feasibility study", *Pattern Recognition Letters*, 27 (1): 19–28 (2006).
51. Nanni, L., "A reliable method for designing an automatic karyotyping system", *Neurocomputing*, 69 (13–15): 1739–1742 (2006).
52. Kao, J., Chuang, J., and Wang, T., "Chromosome classification based on the band profile similarity along approximate medial axis", *Pattern Recognition*, 41 (1): 77–89 (2008).
53. Ritter, G. and Gao, L., "Automatic segmentation of metaphase cells based on global context and variant analysis", *Pattern Recognition*, 41 (1): 38–55 (2008).
54. Wang, X., Li, S., Liu, H., Wood, M., Chen, W. R., and Zheng, B., "Automated identification of analyzable metaphase chromosomes depicted on microscopic digital images", *Journal Of Biomedical Informatics*, 41 (2): 264–271 (2008).

55. Wang, X., Zheng, B., Li, S., Mulvihill, J. J., and Liu, H., "A rule-based computer scheme for centromere identification and polarity assignment of metaphase chromosomes", *Computer Methods And Programs In Biomedicine*, 89 (1): 33–42 (2008).
56. Zhou, X., Lu, Y., and Yan, Z., "Image Completion for Overlapping Chromosomes", *IEEE Pacific-Asia Workshop on Computational Intelligence and Industrial Application*, Los Alamitos, 413–417 (2008).
57. Grisan, E., Poletti, E., and Ruggeri, A., "Automatic Segmentation and Disentangling of Chromosomes in Q-Band Prometaphase Images", *IEEE Transactions On Information Technology In Biomedicine*, 13 (4): 575–581 (2009).
58. Wang, X., Zheng, B., Li, S., Mulvihill, J. J., Wood, M. C., and Liu, H., "Automated classification of metaphase chromosomes: Optimization of an adaptive computerized scheme", *Journal Of Biomedical Informatics*, 42 (1): 22–31 (2009).
59. Yan, W., "A Counting Algorithm for Overlapped Chromosomes", *3rd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering*, Beijing, 1–3 (2009).
60. Karvelis, P., Likas, A., and Fotiadis, D. I., "Identifying touching and overlapping chromosomes using the watershed transform and gradient paths", *Pattern Recognition Letters*, 31 (16): 2474–2488 (2010).
61. Subasinghe Arachchige, A., Samarabandu, J., Knoll, J., Khan, W., and Rogan, P., "An image processing algorithm for accurate extraction of the centerline from human metaphase chromosomes", *IEEE International Conference on Image Processing*, Hong Kong, 3613–3616 (2010).
62. Wenzhong, Y. and Xiaohui, F., "A Watershed Based Segmentation Method for Overlapping Chromosome Images", *2010 Second International Workshop on Education Technology and Computer Science*, Los Alamitos, 571–573 (2010).
63. Arezoo, K., Payman, M., and Mohammadreza, Y., "Automatic recognition and separation of touching and overlapping chromosomes", *18th Iranian Conference of Biomedical Engineering*, Tehran, 264–267 (2011).
64. Yan, W., "Artificial neural networks used for chromosome classification", *International Conference on Electrical and Control Engineering*, Yichang, 2907–2909 (2011).

65. Feng, X., Cong, P., Zhu, Z., and Du, X., "Automated pairing of human chromosomes applying gradient profile and similarity matching algorithm", *Chemometrics And Intelligent Laboratory Systems*, 111 (1): 46–52 (2012).
66. Joshi, M. A., Munot, M. V., Joshi, M. A., Shah, K. R., and Soni, K., "Automated detection of the cut-points for the separation of overlapping chromosomes", *IEEE-EMBS Conference on Biomedical Engineering and Sciences*, Langkawi, 820–825 (2012).
67. Loganathan, E., Anuja, M. ., and Madian, N., "Automated identification of centromere position and centromere index(CI) of human chromosome images", *International Conference on Machine Vision and Image Processing*, Tamil Nadu, 13–16 (2012).
68. Madian, N. and Jayanthi, K. B., "Overlapped chromosome segmentation and separation of touching chromosome for automated chromosome classification", *34th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, San Diego, 5392–5395 (2012).
69. Mohammadi, M. R., "Accurate localization of chromosome centromere based on concave points", *Journal Of Medical Signals And Sensors*, 2 (2): 88–94 (2012).
70. Munot, M. V., Joshi, P. M., Kulkarni, P., and Joshi, M. A., "Efficient pairing of chromosomes in metaphase image for Automated Karyotyping", *IEEE-EMBS Conference on Biomedical Engineering and Sciences*, Kuala Lumpur, 916–921 (2012).
71. Nithya, P. and Nirmala, M., "Automatic segmentation of overlapped images.", *International Journal Of Modern Engineering Research*, 2 (3): 618–623 (2012).
72. Poletti, E., Grisan, E., and Ruggeri, A., "A modular framework for the automatic classification of chromosomes in Q-band images", *Computer Methods And Programs In Biomedicine*, 105 (2): 120–130 (2012).
73. Munot, M. V., Joshi, M., Sharma, N., and Ahuja, G., "Automated detection of cut-points for disentangling overlapping chromosomes", *IEEE Point-of-Care Healthcare Technologies*, Sheraton Bangalore, 120–123 (2013).
74. Munot, M. V., Mukherjee, J., and Joshi, M., "A novel approach for efficient extrication of overlapping chromosomes in automated karyotyping", *Medical & Biological Engineering & Computing*, 51 (12): 1325–1338 (2013).
75. Siddharth and Tripathi, R. C., "Separation of overlapped chromosome images from single chromosome images and detecting possibility of various diseases by

- karyotype", *International Conference on Communication and Signal Processing*, Tamil Nadu, 951–955 (2013).
76. Sri Balaji, V., Pragasam, G., Sowmiya, R., Vijayalakshmi, H., and Nirmala, M., "Segmentation of Overlapped and Touching Human Chromosome images", *Journal Of VLSI And Signal Processing*, 1 (5): 01–06 (2013).
 77. Yan, W. and Bai, L., "Research of Segmentation Algorithms for Overlapping Chromosomes", *Engineering*, 05 (10): 404–408 (2013).
 78. Jensa, K. ., Saranya, S., and Nirmala, M., "Automated Segmentation and Separation of Overlapped and Touching Human Chromosome Images", *International Conference on Advanced Trends in Engineering and Technology*, Kerala, (2014).
 79. Madian, N. and Jayanthi, K. B., "Analysis of human chromosome classification using centromere position", *Measurement*, (47): 287–295 (2014).
 80. Saiyod, S. and Wayalun, P., "A hybrid technique for overlapped chromosome segmentation of G-band mataspread images automatic", *Fourth International Conference on Digital Information and Communication Technology and Its Applications*, Bangkok, 400–404 (2014).
 81. Somasundaram, D. and Vijay Kumar, V. R., "Separation of overlapped chromosomes and pairing of similar chromosomes for karyotyping analysis", *Measurement*, 48274–281 (2014).
 82. Tanvi, T. and Dhir, R., "An Efficient Segmentation Method for Overlapping Chromosome Images", *International Journal Of Computer Applications*, 95 (1): 29–32 (2014).
 83. Sri Balaji, V. and Vidyha, S., "A Novel And Maximum-Likelihood Segmentation Algorithm For Touching And Overlapping Human Chromosome Images", *Journal Of Engineering And Applied Sciences*, 10 (7): 2777–2781 (2015).
 84. Arora, T. and Dhir, R., "A review of metaphase chromosome image selection techniques for automatic karyotype generation", *Medical & Biological Engineering & Computing*, 54 (8): 1147–1157 (2016).
 85. Baykan, N., "Robotik bir mikroskop sisteminden elde edilen görüntülerin görüntü işleme ve yapay zeka yöntemleri ile analizi", Doktora Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 9-35 (2010).
 86. Internet: Ocak, M. E., "Işık Tayfi Nedir?", <http://www.bilimgenc.tubitak.gov.tr/makale/isik-tayfi-nedir> (2017).

87. Şakar, S., " Çevre Mikrobiyolojisi Laboratuvarı I-II Uygulama Notları ", *Yıldız Teknik Üniversitesi*, İstanbul (2004).
88. İnternet: Arda, M., "Mikroskoplar - Mikrobiyoloji", <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFAAF6AA849816B2EF50E54D47BA0F0A73> (2017).
89. İnternet: Şen, S., "Mikroskop Ansiklopedisi", http://www.turkpath.org.tr/files/11_mikroskop_ansiklopedisi_SS_metin.pdf (2017).
90. Campbell, R. A. A., Eifert, R. W., and Turner, G. C., "Openstage: A Low-Cost Motorized Microscope Stage with Sub-Micron Positioning Accuracy", *PLoS ONE*, 9 (2): 1–18 (2014).
91. Rojo, M. G., García, G. B., Mateos, C. P., García, J. G., and Vicente, M. C., "Critical Comparison of 31 Commercially Available Digital Slide Systems in Pathology", *International Journal Of Surgical Pathology*, 14 (4): 285–305 (2006).
92. Fan, Y., Gal, Y., and Bradley, A. P., "Performance Analysis of Three Microscope Slide Scanning Techniques", *International Conference on Digital Image Computing: Techniques and Applications*, Hobart, 1–6 (2013).
93. İlhan, A. H., "Design and implementation of a digital holographic microscope with fast autofocusing", M. Sc. Thesis, *Sabancı Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, 36-37 (2014).
94. Erdöl, M., "Bilyalı vidalı mil hareket sisteminin matematiksel modellenmesi ve titreşim analizi", Yüksek Lisans Tezi, *Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kocaeli, 1-7 (2014).
95. Temiz, V., "Lineer Yataklar", *İstanbul Teknik Üniversitesi Makine Fakültesi Ders Notları*, İstanbul (2017) .
96. Ateş, E. H., "Design and realization of a step motor driver with micro-stepping capability", M. Sc. Thesis, *Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 6-11 (2011).
97. Yılmaz, S., "Bir robot kolu mekanizmasında adım motorları vasıtasıyla, verilen koordinatlara hareketin gerçekleştirilmesi", Yüksek Lisans Tezi, *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sakarya, 41-49 (2006).
98. Karaçam, S., "Adım motor kontrollü hızlı CNC freze tasarımı", Yüksek Lisans Tezi, *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kütahya, 4-28 (2009).

99. Uçan, O. N., Osman, O., and Albora, M., "Görüntü işleme teknikleri ve mühendislik uygulamaları", *Nobel Yayın Dağıtım*, Ankara, 1-6 (2006).
100. Internet: Cook, J. D., "Three Algorithms for Converting Color to Grayscale", <https://www.johndcook.com/blog/2009/08/24/algorithms-convert-color-grayscale/> (2017).
101. Kamanlı, A. F., "Mikroskop görüntüsünde otomatik hücre sayımı", Yüksek Lisans Tezi, *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sakarya, 29-33 (2015).
102. Suhre, A., "Novel methods for microscopic image processing, analysis, classification and compression", Ph. D. Thesis, *İhsan Doğramacı Bilkent Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 1-8 (2013).
103. Arslan, S., "Perceptual watersheds for cell segmentation in fluorescence microscopy images", M. Sc. Thesis, *İhsan Doğramacı Bilkent Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 13-17 (2012).
104. Internet: Bayram, B., "Sayısal Görüntü İşleme", <http://www.yildiz.edu.tr/~bayram/cgi/saygi.htm> (2017).
105. Jähne, B., "Digital image processing", 5., And extended ed. Ed., *Springer*, Berlin, 486-497 (2002).
106. Sezgin, M. and Sankur, B., "Survey over image thresholding techniques and quantitative performance evaluation", *Journal Of Electronic Imaging*, 1 (13): 146–165 (2004).
107. Demirpolat, A., "Bilgisayarlı tomografi (BT) görüntüleri üzerinde akciğer nodüllerinin otomatik teşhisi ve üç boyutlu modellenmesi", Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 15-17 (2014).
108. Bradley, D. and Roth, G., "Adaptive Thresholding using the Integral Image", *Journal Of Graphics Tools*, 12 (2): 13–21 (2007).
109. Internet: Kirillov, A., "AForge.NET Framework Documentation", <http://www.aforgenet.com/framework/docs/> (2017).
110. Otsu, N., "A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms", *IEEE Transactions On Systems, Man, And Cybernetics*, 9 (1): 62–66 (1979).
111. Stathis, P., Kavallieratou, E., and Papamarkos, N., "An Evaluation Technique for Binarization Algorithms", *Journal Of Universal Computer Science*, 14 (18): 3011–3030 (2008).

112. Gonzalez, R. C. and Woods, R. E., "Digital Image Processing", 3rd ed. Ed., *Prentice Hall*, Upper Saddle River, N.J, 627-766 (2008).
113. Poletti, E., Zappelli, F., Ruggeri, A., and Grisan, E., "A review of thresholding strategies applied to human chromosome segmentation", *Computer Methods And Programs In Biomedicine*, 108 (2): 679–688 (2012).
114. Prewitt, J. M. S. and Mendelsohn, M. L., "The Analysis Of Cell Images", *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 128 (3): 1035–1053 (2006).
115. Sung, J.-M., Kim, D.-C., Choi, B.-Y., and Ha, Y.-H., "Image thresholding using standard deviation", *Image Processing: Machine Vision Applications VII*, San Francisco, 90240R (2014).
116. Pratt, W. K., "Digital Image Processing", *Wiley-Liss*, Hoboken, N.J., 433-442 (2002).
117. Karhan, M., Oktay, M. O., Karhan, Z., and Demir, H., "Morfolojik Görüntü İşleme Yöntemleri ile Kayıslarda Yaprak Delen (Çil) Hastalığı Sonucu Oluşan Lekelerin Tespiti", *6 Th International Advanced Technologies Symposium*, Elazığ, 172–176 (2011).
118. Bai, X., Latecki, L., and Liu, W., "Skeleton Pruning by Contour Partitioning with Discrete Curve Evolution", *IEEE Transactions On Pattern Analysis And Machine Intelligence*, 29 (3): 449–462 (2007).
119. Aybar, E., "Sobel İşleci Kullanılarak Renkli Görüntülerde Kenar Bulma", *AKÜ-Fen Bilimleri Dergisi*, 8 (1): 205–218 (2009).
120. Setayesh, M., Zhang, M., and Johnston, M., "A new homogeneity-based approach to edge detection using PSO", *24th International Conference Image and Vision Computing*, Wellington, 231–236 (2009).
121. Wu, K., Otoo, E., and Suzuki, K., "Optimizing two-pass connected-component labeling algorithms", *Pattern Analysis And Applications*, 12 (2): 117–135 (2009).
122. Buruş, M. E., Kuzu, R. S., Beyazıt, S., and Varol, G., "Market Raflarında Dönüşüm ve Ölçeklendirmeye Dayanıklı Nesne Tanıma", *XVI. Akademik Bilişim*, Mersin, (2014).
123. Heckbert, P., "Projective mappings for image warping", *Image-Based Modeling And Rendering*, 15–869 (1999).
124. Watson, G. A., "Computing Helmert transformations", *Journal Of Computational And Applied Mathematics*, 197 (2): 387–394 (2006).

125. Ünsal, F. B., "İki Boyutlu Doğrusal Koordinat Dönüşümleri", *12. Türkiye Harita Bilimsel ve Teknik Kurultayı*, Ankara, (2009).
126. Başçiftçi, F. and İnal, C., "JEODEZİDE KULLANILAN BAZI KOORDİNAT DÖNÜŞÜMLERİNİN PROGRAMLANMASI", *Selçuk Üniversitesi Mühendislik, Bilim Ve Teknoloji Dergisi*, 2327–40 (2008).
127. Doğan, T., Sert, E., and Taşkın, D., "Araç Destek Sistemleri İçin Kuş Bakışı Görüntü Dönüşümü", *XV. Akademik Bilişim Konferansı Bildirileri, Akademik Bilişim 2013*, Antalya, 235–240 (2013).
128. Rui, Y., Huang, T. S., and Chang, S.-F., "Image Retrieval: Current Techniques, Promising Directions, and Open Issues", *Journal Of Visual Communication And Image Representation*, 10 (1): 39–62 (1999).
129. Karâa, W. B. A., Dey, N., and Azar, A. T., "Biomedical Image Analysis and Mining Techniques for Improved Health Outcomes", *IGI Global*, Hershey, (2016).
130. Furht, B. and Marques, O., "Handbook of Video Databases: Design and Applications", *CRC Press*, Boca Raton, (2004).
131. "DigiRetina 16", <http://www.tucsen.com/Home/Product/parameter/dataid/4/id/10.html> (2017).
132. "WPF Giriş", [https://msdn.microsoft.com/tr-tr/library/mt149842\(v=vs.110\).aspx](https://msdn.microsoft.com/tr-tr/library/mt149842(v=vs.110).aspx) (2017).
133. Zhang, T. Y. and Suen, C. Y., "A fast parallel algorithm for thinning digital patterns", *Communications Of The ACM*, 27 (3): 236–239 (1984).

ÖZGEÇMİŞ

Hakan YILMAZ 1986 yılında Konya’da doğdu; ilköğrenimini aynı şehirde tamamladı. 1997 yılında Cihanbeyli Anadolu Lisesi’nde başladığı orta öğrenimini 2004 yılında tamamladı. Aynı yıl Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Bilgisayar ve Öğretim Teknolojileri Öğretmenliği Bölümü’nde lisans öğrenimine başladı ve 2008 yılında mezun oldu. 2008 yılında başladığı yüksek lisans eğitimi 2010 yılında Karabük Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bilgisayar Mühendisliği programından mezun olarak son buldu. 2007-2009 yılları arasında Gazi Üniversitesi Öğrenci İşleri Daire Başkanlığı bünyesinde kısmi zamanlı olarak görev yaptı. 2009 yılında Karabük Üniversitesi TOBB Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu’nda öğretim görevlisi olarak göreve başladı ve aynı yerde görev yapmaya devam etmektedir. 2011 yılında Karabük Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı. Doktora eğitimini 2017 yılında tamamlayan Hakan YILMAZ evli ve iki erkek çocuk babasıdır.

ADRES BİLGİLERİ

Adres : Karabük Üniversitesi,
TOBB Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu,
Demir Çelik Kampüsü, KARABÜK

Tel : +90 (505) 695 85 30

E-posta : hakanyilmaz@karabuk.edu.tr