

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİPERSPEKTRAL MİKROSKOPİ İLE KANSERLİ
DOKULARIN SPEKTRAL ÖZELLİKLERİNİN
SINIFLANDIRILMASI**

AYNUR DİDEM OKTAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OCAK 2019

**HİPERSPEKTRAL MİKROSKOPİ İLE KANSERLİ
DOKULARIN SPEKTRAL ÖZELLİKLERİNİN
SINIFLANDIRILMASI**

**CLASSIFICATION OF SPECTRAL PROPERTIES OF
CANCEROUS TISSUES USING HYPERSPECTRAL
MICROSCOPY**

AYNUR DİDEM OKTAN

Başkent Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
BİYOMEDİKAL Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

2019

“Hiperspektral Mikroskopi ile Kanserli Dokuların Spektral Özelliklerinin Sınıflandırılması” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından, 16/01/2019 tarihinde, **BIYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'** nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Göksel DURKAYA

Üye (Danışman) : Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin KURTULDU

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Orhan Erdem HABERAL

ONAY

.../ 01 / 2019

Prof. Dr. Faruk ELALDI
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 25 / 01 / 2019

Öğrencinin Adı, Soyadı : Aynur Didem OKTAN

Öğrencinin Numarası : 21610325

Anabilim Dalı : Biyomedikal Mühendisliği

Programı : Tezli Yüksek Lisans

Danışmanın Adı, Soyadı : Hüseyin KURTULDU

Tez Başlığı : Hiperspektral Mikroskopi ile Kanserli Dokuların Spektral Özelliklerinin Sınıflandırılması

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 76 sayfalık kısmına ilişkin, 25 / 01 / 2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 3' tür.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Kaynakça hariç
2. Alıntılar hariç
3. Beş (5) kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

“Başkent Üniversitesi Enstitüleri Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Usul ve Esasları”nı inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Öğrenci İmzası

Onay

25 / 01 / 2019

Öğrenci Danışmanı Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin KURTULDU

TEŐEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin ve tez çalışma sürecimde kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin KURTULDU' ya,

Tez çalışmam için gerekli materyallerin sağlanmasında yardımcı olan sevgili Doç. Dr. Arzu SAĞLAM AYHAN' a,

Bu süreçte desteklerini her zaman hissettiğim, birlikte çalışmaktan zevk aldığım ve onur duyduğum değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve hocalarıma,

Varlıklarıyla hayatıma anlam katan sevgili arkadaşlarıma,

Bu süreç boyunca desteklerini esirgemeyen, varlıklarını hep yanımda hissettiğim, en büyük şansım aileme,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZ

HİPERSPEKTRAL MİKROSKOPİ İLE KANSERLİ DOKULARIN SPEKTRAL ÖZELLİKLERİNİN SINIFLANDIRILMASI

Aynur Didem OKTAN

Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Hiperspektral görüntüleme (HSI) sistemi yüzlerce spektral bantı kullanarak görüntü içerisindeki her bir piksele ait spektral bilgiyi elde etmeyi amaçlayan yeni bir teknolojidir. Daha çok uzaktan algılama alanında kullanılan bir yöntemdir. Son yıllarda sağlık alanında hastalıkların tanısında ve cerrahi yönlendirme amaçlı medikal uygulamalarda kullanılmaya başlanmıştır.

HSI ile iki uzaysal boyuta (x, y) ve bir spektral boyuta (λ) sahip hiperküp adı verilen üç boyutlu (3D) hiperspektral veri analiz edilir. Bu analizden elde edilen sonuç, doku fizyolojisi, morfolojisi ve kompozisyonu hakkında teşhise yardımcı bilgi edinilmesine olanak sağlar. Konvansiyonel ışık mikroskobunun tersine, hiperspektral mikroskobik yöntemler dokularda meydana gelen emilim ve saçılma özelliklerini tespit edebilir. Bu tür spektral karakterizasyon kanser teşhisinde kullanılabilir. Spektrometrede yaşanan odak bulma probleminin aksine bu sistemde her bir dalga boyu için değişen odak tespit edilir ve uygun odak ayarı yapılarak görüntüler alınır.

Bu çalışma kapsamında bir HSI sistemi tasarlandı ve oluşturuldu. Farklı özelliklere sahip patolojik dokuların 440-660 nm dalga boyu aralığında görüntüleri alındı ve hiperküp verileri elde edildi. Bu verilerin analizi ile dokuların spektral imzaları oluşturuldu. Kanser türleri ve derecelerinin sınıflandırılması için 2 yöntem incelendi. Birinci yöntemde farklı özellikteki dokuların spektral imzaları kıyaslandı. Sağlıklı ve kanserli kolon dokularının spektral imzalarının 500-560 nm dalga boyu aralığında birbirlerinden farklılık gösterdiği görüldü. Düşük ve yüksek dereceli Hodgkin lenfoma kanserinin de spektral imzaları 500-660 nm' de farklı yoğunluk değerlerine sahiptir. Bir diğer yöntemde ise, dalga boylarının birbirlerine göre değişimlerinden yola çıkarak dokuların renk haritaları oluşturuldu. Elde edilen sonuçlar doku türlerine ait referans veriler kullanılarak dokular arasında ayırım yapılabileceğini gösterdi.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Medikal hiperspektral görüntüleme, kanser teşhisi, kolon kanseri, Hodgkin Lenfoma

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin KURTULDU, Başkent Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü.

ABSTRACT

CLASSIFICATION OF SPECTRAL PROPERTIES OF CANCEROUS TISSUES USING HYPERSPECTRAL MICROSCOPY

Aynur Didem OKTAN

Başkent University Institute Of Science And Engineering

The Department Of Biomedical Engineering

Hyperspectral imaging (HSI), mostly used in the field of remote sensing, is a new technology that aims to obtain the spectral information of each pixel in images using hundreds of spectral bands. In recent years, it has gained popularity in medical field for the diagnosis of diseases and surgical guidance.

Three dimensional (3D) hyperspectral data (hypercube) with two spatial dimensions (x, y) and a spectral dimension (λ) is acquired at microscopic level to obtain information to aid diagnosis on tissue physiology, morphology and composition. In contrast to the conventional light microscopy, hyperspectral microscopic methods can detect the absorption and scattering properties of tissues. Such spectral characterization can be used in cancer diagnosis. In the spectrometer there is a problem in finding the focus. Unlike spectrometric methods where finding the focus is problematic, the best focal plane can be easily determined and adjusted using two-dimensional images in the HSI.

In this study, a hyperspectral imaging system was designed and developed . Using this system, hypercube of pathological tissues with different characteristics were obtained. Spectral signatures were generated by the analysis of hypercube data. Two methods were studied for classification of cancer types and levels. In the first method, spectral signatures of different tissues were compared with each other. The spectral signatures of healthy and cancerous colon tissues differ between 500-560 nm wavelength range. Low and high-grade Hodgkin lymphoma also has spectral signatures in the range of 500-660 nm with different density values. In the second method, based on the ratio of intensities at different wavelengths, colormaps of tissues were created. The results showed that there was a clear distinction between different tissue types.

KEYWORDS: Medical hyperspectral imaging, cancer diagnosis, colon cancer, Hodgkin Lymphoma

Advisor: Asst. Prof. Dr. Hüseyin KURTULDU, Başkent University, Department Of Biomedical Engineering.

İÇİNDEKİLER LİSTESİ

ÖZ	i
ABSTRACT.....	ii
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Hiperspektral Görüntüleme	2
2.1.1 Kullanım alanları	4
2.2 Doku Optiği	4
2.2.1 Medikal uygulamaları	5
2.3 Hiperspektral Görüntüleme Sistemlerinin Bileşenleri	9
2.3.1 Edinme modu	9
2.3.2 Spektral aralık ve çözünürlük	10
2.3.3 Mekansal çözünürlük	12
2.3.4 Spektral imza	12
2.3.5 Ölçüm modu.....	13
2.3.6 Işık kaynağı.....	13
2.3.7 Dağıtıcı cihazlar	14
2.3.7.1 <u>Monokromatörler</u>	14
2.3.7.2 <u>Optik bant geçiren filtreler</u>	16
2.3.7.3 <u>Tek atımlı görüntüleyiciler</u>	18
2.3.8 Dedektörler	19
2.4 Görüntü İşleme.....	20
2.4.1 Ön işleme.....	21
2.4.2 Öznitelik çıkarımı ve seçimi.....	23
2.4.3 Sınıflandırma.....	24
2.4.3.1 <u>Destek vektör makinesi (SVM)</u>	25
2.4.3.2 <u>Spektral bilgi ayrımı (SID)</u>	25
2.4.3.3 <u>Spektral açı eşleyici (SAM)</u>	26
3. MATERYAL VE METOT	27
3.1 Sistem Tasarımı	27
3.2 Görüntü Eldesi	29

3.3 Görüntü Analizi.....	33
4. BULGULAR	35
4.1 Patolojik Dokuların İncelenmesi	35
4.1.1 Kolon dokusu üzerine yapılan çalışmalar	35
4.1.1.1 <u>Kolon dokusuna ait spektral imza</u>	35
4.1.1.2 <u>Kolon dokusuna ait renk haritası</u>	42
4.1.2 Hodgkin Lenfoma dokusu üzerine yapılan çalışmalar	48
4.1.2.1 <u>Hodgkin Lenfoma dokusuna ait spektral imza</u>	48
4.1.2.2 <u>Hodgkin Lenfoma dokusuna ait renk haritası</u>	56
5. TARTIŞMA.....	61
5.1 Spektral İmza Eldesi ve Değerlendirilmesi	61
5.2 Renk Haritasının Çıkartılması ve Değerlendirilmesi	63
6. SONUÇ	65
KAYNAKLAR LİSTESİ	66

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1	Hiperspektral (a) ve multispektral (b) görüntüleme arasındaki fark.....	3
Şekil 2.2	Monokromatör tarama yöntemi düzeneği	14
Şekil 2.3	Prizma-ızgara-prizma düzeneği.....	15
Şekil 2.4	Likit kristal filtre düzeneği	18
Şekil 2.5	Temel bileşen analizi boyut azaltma tekniği	24
Şekil 3.1	Hiperspektral görüntüleme sistemi	27
Şekil 3.2	Kullanılan ışık kaynağına ait dalga boyu-yoğunluk spektrumu	28
Şekil 3.3	Sistem bileşenlerine ait blok şema	28
Şekil 3.4	Sağlıklı kolon hücrelerinin farklı dalga boylarında monokrom kameradan alınan görüntüleri.....	29
Şekil 3.5	1/6 sn pozlama değerinde sağlıklı kolon hücrelerine ait bir bölgeden 480, 510, 530 ve 560 nm dalga boylarında alınan görüntüler.....	30
Şekil 3.6	0.425 sn pozlama değerinde sağlıklı kolon hücrelerine ait bir bölgeden 480, 510, 530 ve 560 nm dalga boylarında alınan görüntüler.....	31
Şekil 3.7	1/15 sn pozlama değerinde sağlıklı kolon hücrelerine ait bir bölgeden 480, 510, 530 ve 560 nm dalga boylarında alınan görüntüler.....	31
Şekil 3.8	1/15 sn pozlama değerinde sağlıklı kolon hücrelerine ait bir bölgeden 480, 510, 530 ve 560 nm dalga boylarında alınan görüntüler.....	32
Şekil 3.9	530 nm' de sağlıklı kolon dokusu ve arka plana ait görüntüler a) Sağlıklı kolon dokusuna ait orijinal görüntü b) arka plana ait orijinal görüntü c) normalize edilmiş görüntü.....	34
Şekil 4.1	1/15 sn pozlama değerinde sağlıklı kolon dokusuna ait herhangi bir bölgeden 440-660 nm dalga boyu aralığında alınan görüntüler.	36
Şekil 4.2	530 nm' de sağlıklı(a) ve kanserli(b) kolon dokusundan alınan görüntüler	37
Şekil 4.3	Farklı pozlama değerleri için kolon dokusuna ait kanserli (kırmızı kesikli çizgi) ve sağlıklı hücrelerin (mavi sürekli çizgi) spektral imzaları. Grafiklerdeki pozlama değerleri: a)1/6 sn b)0.425 sn c)1/15 sn d)1/30 sn	37
Şekil 4.4	1/6 sn pozlama süresinde sağlıklı(mavi sürekli çizgi) ve kanserli (kırmızı kesikli çizgi) kolon dokularından farklı bölgelerde alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar	38
Şekil 4.5	0.425 sn pozlama süresinde sağlıklı(mavi sürekli çizgi) ve kanserli (kırmızı kesikli çizgi) kolon dokularından farklı bölgelerde alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar	38

Şekil 4.6	1/15 sn pozlama süresinde sağlıklı(mavi sürekli çizgi) ve kanserli (kırmızı kesikli çizgi) kolon dokularından farklı bölgelerde alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar	39
Şekil 4.7	1/30 sn pozlama süresinde sağlıklı(mavi sürekli çizgi) ve kanserli (kırmızı kesikli çizgi) kolon dokularından farklı bölgelerde alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar.....	39
Şekil 4.8	1/6 sn pozlama süresinde Şekil 4.4' te verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi sağlıklı ve kırmızı kesikli çizgi kanserli kolon dokusuna aittir.....	40
Şekil 4.9	0.425 sn pozlama süresinde Şekil 4.5' te verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi sağlıklı ve kırmızı kesikli çizgi kanserli kolon dokusuna aittir.....	40
Şekil 4.10	1/15 sn pozlama süresinde Şekil 4.6' da verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi sağlıklı ve kırmızı kesikli çizgi kanserli kolon dokusuna aittir.....	41
Şekil 4.11	1/30 sn pozlama süresinde Şekil 4.7' de verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi sağlıklı ve kırmızı kesikli çizgi kanserli kolon dokusuna aittir.....	41
Şekil 4.12	Şekil 4.10' da verilen kanserli ve sağlıklı dokuya ait spektrumların birbirlerine oranı ve standart sapma	42
Şekil 4.13	Sağlıklı kolon dokusundan alınan 5 farklı bölgeye ait renk haritaları ..	44
Şekil 4.14	Kanserli kolon dokusundan alınan 5 farklı bölgeye ait renk haritaları .	45
Şekil 4.15	Sağlıklı kolon dokusu için Şekil 4.13' te verilen bölgelere ait verilerin ortalamasının renk haritası.	46
Şekil 4.16	Kanserli kolon dokusu için Şekil 4.14' te verilen bölgelere ait verilerin ortalamasının renk haritası.	46
Şekil 4.17	Sağlıklı ve kanserli referans verilerin 5 farklı bölgede alınan sağlıklı kolon dokusu ile korelasyon sonuçları	47
Şekil 4.18	Sağlıklı ve kanserli referans verilerin 5 farklı bölgede alınan kanserli kolon dokusu ile korelasyon sonuçları	48
Şekil 4.19	530 nm' de düşük(a) ve yüksek(b) dereceli Hodgkin lenfoma dokusundan alınan görüntüler	49
Şekil 4.20	1/15 sn pozlama değerinde yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusuna ait herhangi bir bölgeden 440-660 nm dalga boyu aralığında alınan görüntüler.....	50
Şekil 4.21	Farklı pozlama değerleri için Hodgkin Lenfoma dokusuna ait yüksek derece (kırmızı kesikli çizgi) ve düşük dereceli (mavi sürekli çizgi) kansere sahip hücrelerin spektral imzaları. Grafiklerdeki pozlama değerleri: a) 1/6 sn b) 0.425 sn c) 1/15 sn d) 1/30 sn	51

Şekil 4.22	1/6 sn pozlama süresinde yüksek derece (kırmızı kesikli çizgi) ve düşük dereceli (mavi sürekli çizgi) kansere sahip Hodgkin Lenfoma dokusuna ait farklı bölgelerden alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar.	51
Şekil 4.23	0.425 sn pozlama süresinde yüksek derece (kırmızı kesikli çizgi) ve düşük dereceli (mavi sürekli çizgi) kansere sahip Hodgkin Lenfoma dokusuna ait farklı bölgelerden alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar.	52
Şekil 4.24	1/15 sn pozlama süresinde yüksek derece (kırmızı kesikli çizgi) ve düşük dereceli (mavi sürekli çizgi) kansere sahip Hodgkin Lenfoma dokusuna ait farklı bölgelerden alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar.	52
Şekil 4.25	1/30 sn pozlama süresinde yüksek derece (kırmızı kesikli çizgi) ve düşük dereceli (mavi sürekli çizgi) kansere sahip Hodgkin Lenfoma dokusuna ait farklı bölgelerden alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar.	53
Şekil 4.26	1/6 sn pozlama süresinde Şekil 4.22' de verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi düşük dereceli ve kırmızı kesikli çizgi yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusuna aittir.	53
Şekil 4.27	0.425 sn pozlama süresinde Şekil 4.23' te verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi düşük dereceli ve kırmızı kesikli çizgi yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusuna aittir.	54
Şekil 4.28	1/15 sn pozlama süresinde Şekil 4.24' te verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi düşük dereceli ve kırmızı kesikli çizgi yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusuna aittir.	54
Şekil 4.29	1/30 sn pozlama süresinde Şekil 4.25' de verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi düşük dereceli ve kırmızı kesikli çizgi yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusuna aittir.	55
Şekil 4.30	Şekil 4.28' de verilen düşük ve yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusuna ait spektrumların birbirlerine oranı ve standart sapma	55
Şekil 4.31	Düşük dereceli Hodgkin Lenfoma dokusundan alınan 5 farklı bölgeye ait renk haritaları	57
Şekil 4.32	Yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusundan alınan 5 farklı bölgeye ait renk haritaları	58
Şekil 4.33	Düşük dereceli Hodgkin Lenfoma dokusu için Şekil 4.31' de verilen bölgelere ait verilerin ortalamasının renk haritası.	59
Şekil 4.34	Yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusu için Şekil 4.32' de verilen bölgelere ait verilerin ortalamasının renk haritası.	59
Şekil 4.35	Düşük dereceli ve yüksek dereceli referans veriler ile 5 farklı bölgeden alınan düşük dereceli Hodgkin Lenfoma dokusunun korelasyon sonuçları.....	60

Şekil 4.36 Düşük dereceli ve yüksek dereceli referans veriler ile 5 farklı bölgeden alınan yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusunun korelasyon sonuçları.....	60
--	----

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 2.1	Spektrumlar ve ilgili dalga boyu aralıkları	11
Çizelge 3.1	İncelenen dokular ve karar verilen dalga boyu-pozlama değerleri...	32

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ANN	Yapay Sinir Ağları
AOTF	Akusto-optik Ayarlanabilir Filtre
CCD	Charge Couple Device
CGH	Bilgisayarla Üretilen Hologram
CMOS	Complementary Metal Oxide Semiconductor
CTIS	Bilgisayarlı Tomografi Görüntüleme Spektrometresi
FOV	Görüş alanı
FPA	Odak Düzlem Dizisi
HSI	Hiperspektral Görüntüleme
Hb	Hemoglobin
HbO ₂	Oksi-hemoglobin
HHb	Deoksi-hemoglobin
ICA	Bağımsız Bileşen Analizi
IR	Kızılötesi
LCTF	Likit Kristal Ayarlanabilir Filtre
LED	Işık Yayan Diyot
MHSI	Medikal Hiperspektral Görüntüleme
MIR	Orta Kızıl Ötesi Işınım
MNF	Minimum Gürültü Fraksiyonu
NASA	Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi
NIR	Yakın Kızıl Ötesi Işınım
PCA	Temel Bileşen Analizi
PGP	Prizma Kırınım Prizma
PLSR	Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu
SAM	Spektral Açık Eşleyici
SID	Spektral Bilgi Ayrımı
SVM	Destek Vektör Makinesi
UV	Ultraviyole(Mor ötesi ışınım)
VIS	Görünür Işık
f	Kristaldeki akustik dalganın frekansı
λ_{θ}	θ Geliş Açısındaki Merkezi Dalga Boyu
λ_0	$\theta=0$ Geliş Açısındaki Merkezi Dalga Boyu
λ	Kırılmış ışığın dalga boyu
n	Kristalin kırılma indisi
n_0	Filtreyi Çevreleyen Ortamın Kırılma İndisi
n^*	Filtrenin Efektif Kırılma İndisi

θ	Kristal Yüzeye Gelen Işığın Açısı
v	Kristaldeki akustik dalga hızı
I_{ref}	Hesaplanmış yansıma değeri
I_{raw}	İncelenen pikselin ham veri ışınım değeri
I_{white}	İncelenen pikselin beyaz referans yoğunluk değeri
I_{dark}	İncelenen pikselin karanlık akım yoğunluk değeri
I_{abs}	Absorbans

1. GİRİŞ

Spektral görüntüleme sistemleri, nesnenin farklı spektral dalga boyu bantlarında görüntülerini alarak bir veri yığını üretir. Görüntüleme spektroskopisi olarak da adlandırılan hiperspektral görüntüleme (HSI), hem spektroskopiyi hem de görüntüleme tekniklerini kullanarak spektral (λ) ve mekansal bilgiyi (x, y) aynı anda elde etmek için kullanılır [1-3]. HSI tekniği, görüntüdeki her piksel için spektral bilgilerle birlikte diğer optik görüntüleme sistemleri gibi mekansal bilgi sağlar. Bu bilgi, ürünün fiziksel ve kimyasal özelliklerinin karakterizasyonunu sağlamak ve ürünü, görüntüleme veya spektroskopi tekniklerinden daha güvenilir şekilde karakterize etmek için üç boyutlu veri oluşturur [1, 5, 6]. Spektroskopi, numune özelliklerinin ortalama değerlerini sağladığı için homojen materyalleri karakterize etmek için kullanılabilir. Numune kimyasal olarak heterojen ise ölçümün bulunduğu yere bağlı olarak farklı değerler elde edilir [1]. Bu nedenle karakterizasyon yapılır iken sadece spektroskopi yönteminin kullanılması yanlış sonuçlar elde edilmesine neden olabilir. Ayrıca spektrometre ile görüntü alır iken odak noktası bulunmasında zorluklar yaşanmaktadır. HSI sisteminde ise en iyi odak noktasından görüntüler alınmaktadır. Konvansiyonel görüntüleme yöntemleri ise görünür dalga boyunda monokromatik veya renkli görüntüler şeklinde çalıştıkları için beyaz renkte numunelerin incelenmesinde, kimyasal bileşenlerin tahmin edilmesinde ve karmaşık hedeflerin sınıflandırılmasında yetersiz kalır [2]. HSI ile hem spektroskopinin hem de konvansiyonel görüntüleme yöntemlerinin avantajları bir araya getirilmiştir.

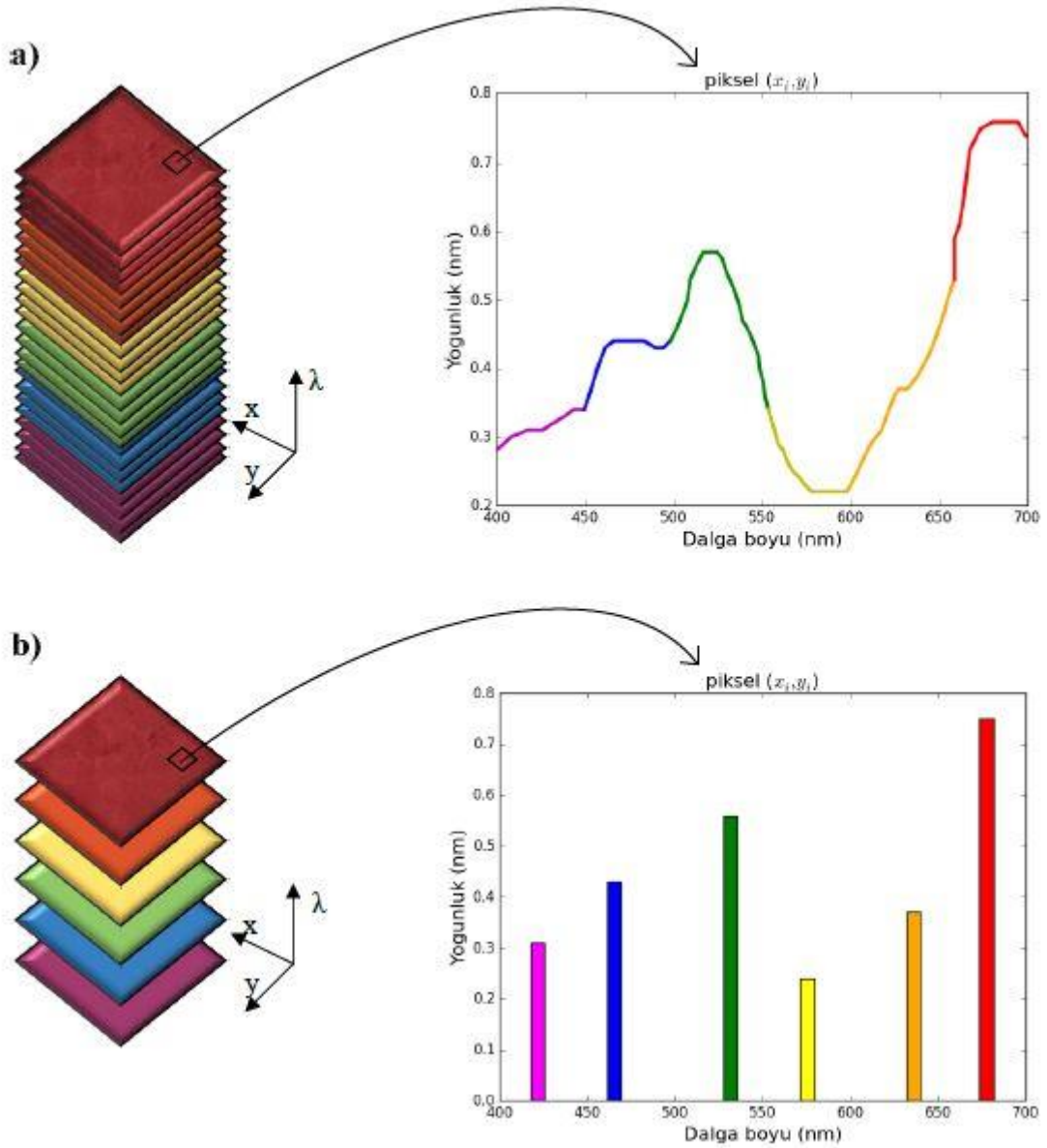
2. GENEL BİLGİLER

2.1 Hiperspektral Görüntüleme

Spektral görüntüleme alanında, multispektral, hiperspektral ve ultraspektral görüntüleme olmak üzere üç ana sınıf vardır. Bu sınıflar arasındaki ana fark, spektral küp içindeki görüntülerin sayısıdır [2].

HSI, yüzeylerden yansıyan ya da geçen ışığın birçok dalga boyu bandında ölçümünün yapılmasıdır [4, 7]. “Hiper” kavramından da anlaşılacağı üzere bu yöntemde çok sayıda dalga boyundan ve büyük bir veriden bahsedilir [7]. Bu ölçümlerin yapılmasındaki amaç her bir piksele ait spektral bilgiyi elde etmektir. HSI'nin aksine, multispektral görüntüleme sistemleri her görüntü pikseli için gerçek bir spektrum sağlayamaz. Multispektral görüntülerde genellikle on spektral banttan daha az sayıda bantta inceleme yapılır (Şekil 2.1 b). Multispektral görüntülemeye elde edilen spektral çözünürlük HSI'den daha düşüktür. Hiperspektral görüntü üç boyutlu (3D) hiperspektral bir küp olup, spektral bilgileri (λ dalga boyları) ve aynı zamanda iki boyutlu uzamsal bilgileri (x satır ve y sütunları) içeren voksellerden oluşur. Her bir alt görüntü, spektral yoğunluğun belirli bir dalga boyunda uzamsal dağılımını sağlar (Şekil 2.1 a).

Belirli bir materyal için, yansıma yüzdesi dalga boylarına göre çizilirse, oluşan eğri, söz konusu materyalin spektral imzasını verir. Yansıyan ışık (reflektans) spektrumu, nesneden yansıyan ışığın farklı dalga boylarındaki enerjilerinin ölçümü ile elde edilir. Her malzemenin kimyasal bileşimindeki farklılıklarından kaynaklı olarak spektrumları da farklılık gösterir. Buradan yola çıkılarak spektral imza, görüntünün her pikselindeki materyalin tipleri arasında ayırım yapmayı, karakterizasyonu ve tanımlamayı mümkün kılar. Hiperspektral görüntülemeye elde edilen veriler uygun şekilde işlendiğinde spektral imzaları gösteren özelliklerin yerleri tespit edilebilir ve mekansal dağılımları haritalanabilir.



Şekil 2.1 Hiperspektral (a) ve multispektral (b) görüntüleme arasındaki fark.

Tıbbi uygulamalar için ortaya çıkan bir görüntüleme yöntemi olarak, HSI noninvaziv hastalık teşhisi ve cerrahi rehberlik için büyük bir potansiyel sunmaktadır. Biyolojik dokuya iletilen ışık, biyolojik yapılar homojen olmadığı ve esas olarak hemoglobin, melanin ve su içeren dokudan yayıldığı için absorpsiyona maruz kalır. Hastalığın ilerlemesi sırasında dokunun emilimi, flüoresansı ve saçılma özelliklerinin değiştiği varsayılmaktadır. Bu nedenle, HSI sistemi tarafından yakalanan dokudan yansıyan flüoresan ve iletilen ışık, doku patolojisi hakkında niceliksel teşhis bilgisi taşır. Son yıllarda hiperspektral kameralardaki gelişmeler, görüntü analiz yöntemleri ve hesaplama gücü, tıp alanındaki birçok yeni uygulamayı mümkün kılmaktadır [4, 8].

2.1.1 Kullanım alanları

HSI sisteminin ilk olarak, spektrumların yansıma özellikleri nedeniyle tespit ve haritalama için uzaktan algılama alanında uygulandığı görülür. Bitki örtüsü içinde saklanan askeri araçların tespit edilmesinde ve Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi'nin (NASA) bazı çalışmalarında kullanılmıştır. Ayrıca, jeologlar tarafından mineraller, bitki örtüsü, buz ve kar dahil olmak üzere 150' den fazla malzemeyi tanımlamak ve aynı anda analiz etmek için başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Hiperspektral görüntüler, Dünya yüzeyini haritalamak, incelemek ve nem, organik madde içeriği, tuzluluk dahil olmak üzere toprak özelliklerini karakterize etmek için yeterince iyi bir spektral aralık ve uzamsal çözünürlük sağlar [9]. Gıda güvenliği alanında, farmasötik süreç izleme ve kalite kontrolünde HSI yöntemi oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [10].

Tıp sektöründe ise periferik vasküler hastalıklar, oftalmoloji ve onkoloji, immünohistokimya ve adli tıpta çürüklerin yaş değerlendirmesi gibi çeşitli hastalıkları belirlemek için kullanılır [9]. Medikal uygulamalarından doku optiği bölümünde ayrıntılı olarak bahsedilecektir.

2.2 Doku Optiği

Biyolojik dokuya gelen ışık, doku boyunca yayıldığı için çoklu saçılmaya uğrar ve emilime maruz kalır. Hücresel ortamlarda önemli saçıcılar, büyüklükleri 100 nm' den 6 µm' ye kadar olan hücre altı organelleridir. Örneğin, mitokondri diğer organellere göre baskın bir saçıcıdır. Yapısındaki lipit membran ve lipit kıvrımları, mitokondriyi çevreleyen sitoplazmaya yüksek bir optik kontrast verir. Bu da mitokondrinin yüksek oranda saçılma yapmasına neden olur [4].

Işığın penetrasyon derinliği biyolojik dokular içerisine girdiğinde dokunun ne kadar kuvvetli bir ışık aldığına bağlıdır. Çoğu doku, 600 ile 1300 nm arasında değişen belirgin ışık penetrasyonuna izin verecek kadar zayıf emicilerdir [4, 6, 11]. Doku emilimi, moleküler bileşimin bir işlevidir. Moleküller, fotonların enerjisi iç enerji durumları arasındaki bir aralık ile eşleştiğinde fotonları emer ve kuantum durumları arasındaki geçiş, türler için seçim kurallarına uyar. Emilim işlemi sırasında, belirli dalga boylarında iyi tanımlanmış bir molekülün iki enerji seviyesi arasındaki geçişler, teşhis amaçlı molekülün spektral parmak izi olarak kullanılabilir [4, 6]. Örneğin,

absorbsiyon spektrumları, hemoglobinin konsantrasyonunu ve oksijen saturasyonunu karakterize eder ve bu da kanserin iki ayırt edici özelliğini ortaya çıkarır: anjiyogenez ve hipermetabolizm. Işığın emen doku bileşenleri kromofor olarak adlandırılır. Görünür dalga boyları için en önemli kromoforlardan bazıları, kan ve melanindir. Ultraviyole (UV) dalga boyları için birincil emiciler protein ve aminoasitlerdir, kızılötesi (IR) dalga boyları için önemli emici kromofor ise sudur [4]. Bu bilgilerden yola çıkarak, dokudaki kan hacmindeki değişikliklerin saçılma özelliklerini etkilerken doku veya kan konsantrasyonlarında değişiklikler meydana getireceği ve doku absorpsiyonunu etkileyeceği söylenebilir [11].

Farklı hastalık durumlarındaki hücreler genellikle farklı yapılara veya farklı floresan emisyon spektrumları ile sonuçlanan farklı metabolizma hızlarına sahiptirler. Bu nedenle, flüoresans görüntüleme, ekzojen flüoresan ajanları uygulamadan gerçek zamanlı olarak hastalıkların tanısı için dokuları araştırmayı mümkün kılar [4, 8].

2.2.1 Medikal uygulamaları

Uzaktan algılama alanında yaygın olarak kullanılan HSI, mikroskopi ile birleştiğinde özellikle medikal sektöründe geniş bir uygulama alanına sahip olur.

Spektroskopinin çeşitli dokulardaki metabolik durumu izlemek için kullanılmasından yola çıkarak yapılan bir çalışmada [5], diyabetik hastalarda ayak ülserinin öngörmek, takip etmek ve hemorajik şok tanısı koymak için HSI tekniği kullanılır. Cancio ve ark., görünür ışık (VIS) dalga boyu aralığında ölçüm yapan bir sistem geliştirdiler. Alınan ölçümler sonucunda çıplak gözle bir değişiklik gözlenmediği, fakat HSI sistemi ile alınan görüntülerde yoğunluk değişimi olduğu görüldü. Bu değişiklikler ile dokunun O₂ saturasyonundaki değişimler arasında ilişki kuruldu. HSI'nin, hemorajik şok ve resüsitasyon sırasında cilt oksijenasyonundaki değişimleri ölçmek için kullanılabileceği sonucuna varıldı.

HSI, doku perfüzyonuna yanıt olarak hemodinamik parametrelerde bölgesel varyasyonların haritalanmasını sağlar. Bu teknoloji, bir doku alanının kimyasal bileşimi ve spektral profiline dayanarak, nispi oksijen doygunluğunu, toplam hemoglobin, oksijenlenmiş hemoglobin ve oksijeni giderilmiş hemoglobinin belirlenmesini sağlar. Bu da HSI ile periferik vasküler hastalığı olan hastaların doku oksijen saturasyonları ile ilgili nicel veriler sağlanabileceğini gösterir [12].

Akbari ve ark. [13] tarafından yapılan bir çalışmada, ameliyat sırasında bağırsaktaki kan akışını tespit etmek için farklı dalga boylarına sahip hiperspektral kamera kullandılar. Görüntüleri yakalamak için görülebilen yakın kızılötesi (NIR) kamera (400-1000 nm) ve IR (900-1700 nm) olmak üzere 2 adet kamera kullanılır. Bir domuzun bağırsağını besleyen damarlar, kan akışındaki yavaşlamayı (iskemi) simüle etmek için kenetlenir. Kan akışının normal olduğu bağırsağa ait spektrumların, 765-830 nm dalga boyunda kenetlenen bağırsaktan açık bir şekilde farklılık gösterdiği görülür. Bunun nedeni, normal ve iskemik dokular arasında yüksek bir kontrasttır. Bu kontrast, 999-1182 nm dalga boyunda, 765-830 nm dalga boyu bölgesinde olduğu gibi net değildir. Yapılan çalışma iskeminin derecesinin değerlendirilmesi için bir potansiyele sahiptir.

Prostat kanserinin kesin tanısı için altın standart, patoloji incelemesi için prostattan doku örneklerinin çıkarılmasını içeren biyopsidir. Tümörü tanımlamak için genellikle birkaç güne ihtiyaç duyulur. Alternatif olarak, HSI' nin hem uzamsal hem de spektral bilgileri bir anlık görüntüde yakalayabilmesinden yola çıkılarak, özellikle ameliyat sırasında kullanılması ile kanser saptaması için gereken süre azaltılabilir. Akbari ve ark. [14] tarafından yapılan başka bir çalışmada, prostat kanserini tespit etmek amacıyla, HSI verilerinin analizi için gelişmiş bir görüntü işleme ve sınıflandırma yöntemi kullanıldı. Geliştirilen sistem kullanılarak hem kanserli hem de normal doku için 450-950 nm dalga boyu aralığında 2 nm' lik artışlarla görüntü toplandı ve bu şekilde hiperküp verisi oluşturuldu. Bu verilerin geliştirilen yazılım metodu ile işlenmesi sonucu kanserli ve normal dokulara ait spektral imzalar elde edildi. En küçük kareler destek vektör makineleri, kanser dokusunun tespit etmek, hiperspektral verileri sınıflandırmak için geliştirildi ve değerlendirildi. Bu yöntem, tümör taşıyan canlı farelerde ve patoloji slaytlarında prostat kanserini tespit etmek için kullanıldı. 11 fare ile yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlar, hiperspektral görüntü sınıflandırma yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünün sırasıyla %92,8 ile %2,0 ve %96,9 ile %1,3 olduğunu gösterdi. Patoloji slaytları ile yapılan çalışmalarda da malign doku ile normal dokunun 560-770 nm dalga boyu aralığında farklılık gösterdiği görüldü. In-vivo deney ile in-vitro deneyin tutarlı olduğu görüldü. Bu nedenle, bu görüntüleme yönteminin hekimlerin malign bölgeleri güvenli bir sınır ile kesmesinde ve rezeksiyon sonrası tümör yatağını değerlendirmelerinde yardımcı olabileceği sonucuna varıldı.

Başka bir çalışmada, gelişmiş hiperspektral görüntüleme sistemi, tümör tespiti için kızıl ötesi dalga boyu bölgesi kullanılarak değerlendirildi. 10 insan deneğe ait mide tümörlerini gözlemleyerek normal ve malign doku arasındaki yansıma farklılıkları gösterildi. Bu dokular için spektral imzalar çıkartılarak değerlendirildi. Kansere bölgelerini geliştirmek ve tespit etmek için spektral diyagramın standart sapması, destek vektör makinesi ve birinci türevler ve spektral diyagramın integrali ile işleme araçları önerildi. 1226-1251 nm ve 1288-1370 nm arasındaki spektral bölgedeki ilk türevler malign ve normal dokuları başarılı bir şekilde ayırt eden kriterler olarak önerildi [15].

Liu ve ark. [16], insan dilinin yansıma spektrumlarını ölçerek ve analiz ederek dilde tümörü tespit etmek için yüksek mekansal çözünürlüğe sahip HSI sistemi önerdiler. Dil tümörlerini tespit etmek için hızlı ve doğru performans elde etmek amacıyla, spektral akusto-optik ayarlanabilir filtreler ve spektral adaptör kullanılarak yansıtma verileri toplanmış ve verilerin analizi yapıldı. Tümör görüntü veri tabanına dayanarak, %96,5'lik bir tanıma oranı elde edildi. Deneysel sonuçlar, dil tümörü tanısı için hiperspektral görüntülemenin, spektroskopik sınıflandırma yöntemi ile birlikte, dil tümörlerinin noninvaziv bilgisayar destekli tanısında yeni bir yaklaşım sağladığını göstermektedir. Son teşhis kararı hekimin yükü olmasına rağmen, geliştirilen sistemin karar verme aşamasında hekimleri desteklediği görülmektedir.

Giannoni ve ark. [11], beyin doku metabolizmasını ve hemodinamiklerini izlemek için HSI yöntemine odaklandılar. HSI ile serebral aktivite değerlendirilmesinde, özellikle oksijen-hemoglobin (HbO_2) ve deoksi-hemoglobin (HHb) ile O_2 iletiminin haritalanması ve beyin dokusu tarafından O_2 tüketimini tahmin etmek için serebral metabolik O_2 oranının değerlendirilmesi araştırıldı. HSI yönteminin, beyin dokusu metabolizmasını ve oksijenasyonunu anlamak, beyin dokusu fizyolojik süreçleri üzerinde araştırmalara yardımcı olmak için dikkate değer bir kavrayış sağlayabileceği sonucuna varıldı.

Panasyuk ve ark. [17], tümör rezeksiyon yatağındaki küçük rezidüel tümörleri belirlemek için medikal hiperspektral görüntüleme (MHSI) yönteminin kullanılmasını önerdiler. Tümör ve normal dokular arasında ayırım yapmak için doku tiplerinin spektral özelliklerine dayanan bir algoritma geliştirildi. Tümör, kan damarları, kas ve bağ dokusu dahil olmak üzere dokular açıkça tanımlandı ve MHSI ile ayrıştırıldı.

Ameliyat yatağında kasıtlı olarak bırakılmış 0,5-1 mm boyutundaki rezidüel tümörler kolaylıkla tanımlandı. MHSI, tümör yatağının histopatolojik incelemesine benzer şekilde, rezidüel tümörün saptanması için %89' luk bir duyarlılık ve %94' lük bir özgüllük gösterdi.

Rajpoot ve ark. [18], normal ve malign kolon hücreleri arasında ayırım yapmak için HSI tekniğini kullandılar. Kolon hücrelerinin görünür ışığın bitişik dalga boyu aralıklarında mikroskobik seviye görüntülerini aldılar. Elde edilen büyük boyuttaki verileri Temel Bileşen Analizi (PCA) ve Bağımsız Bileşen Analizi (ICA) yöntemlerini kullanarak indirgediler ve hesaplamada meydana gelebilecek karmaşıklığı ortadan kaldırdılar. Normal dokularda düzenli bir yapılanma var iken malign dokuların düzensiz ve deforme olmuş hücrelerden oluşmasından yola çıkarak dokuların morfolojilerindeki farklılıkları incelediler [19]. En yakın merkez küme algoritmasını kolon hücrelerini çekirdek, sitoplazma, bağ dokusu ve lümen olmak üzere 4 bölüme ayırmak için kullandılar. Dokuların morfolojik analizini gerçekleştirerek destek vektör makinesi yöntemi (SVM) ile normal ve malign doku olarak sınıflandırdılar. Her ne kadar doğruluk, duyarlılık ve özgüllük açısından sınıflandırma performansı rakamları umut vericiyse de, bu yöntemin geniş bir veri kümesinde kapsamlı bir şekilde incelenmesi ve araştırılmaya devam edilmesi gerektiği belirtildi. Ayrıca, daha gelişmiş özellik çıkarma yöntemleri ve verimli sınıflandırıcılar için algoritmanın geliştirilmesi gerektiği vurgulandı.

Masood ve Rajpoot tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada [20], kolon dokusundan HSI sistemi ile alınan görüntülerin 3D spektral/mekansal analizi yapıldı. Kolon dokusunda bulunan çekirdek, sitoplazma ve bağ dokusunun, görünür bölgede 440-700 nm dalga boyu aralığında 2 nm aralıklarla görüntüleri alındı ve spektral imzaları çıkartıldı. Benign ve malign tümörler için yapılan inceleme sonucunda benign hücrelere ait çekirdeklerin malign hücrelerdekine göre daha yüksek peak değerine sahip olduğu görüldü. HSI' nin farklı doku bölümlerinin bulunmasında kullanılabileceği, fakat sadece çekirdeklerin karşılaştırılması ile elde edilen bu sonucun ayırt edici olmadığı sonucuna vardılar.

Johnson ve ark. [21], insan retinasının fonksiyonel haritalamasını yapmak için hiçbir hareketli parça içermeyen anlık görüntü alabilen bir HSI sistemi geliştirdiler. 450-700 nm dalga boyu aralığında toplam 50 banttan yaklaşık 3 ms aralıklarla görüntü

alındı. Bu şekilde anlık olarak görüntü alımı gözün hareketinden kaynaklı olan artefaktların etkisini azalttı. Bu yaklaşım, göz sürekli hareket ettiği ve çoğunlukla fotoğraf kamerasının çalışmasını gerektirdiği için retina uygulamalarının potansiyelini keşfetmek için idealdir. Hemoglobine (Hb) ait spektral imzaların, doku oksijen saturasyonu haritalarının çıkarılmasında kullanılabileceğini gördüler. Çalışma sonucunda elde ettikleri veriler, körlüğün önde gelen nedenlerinden retinal iskemiye izleme olanağı sunmaktadır. Sonuçlar, damarlar, arterler ve arka plan arasında net bir ayırım olduğunu gösterdi. HSI' nin uzmanlar için optik koherans tomografiden daha fonksiyonel olduğuna karar verdiler.

Hidović-Rowe ve ark. [22], normal ve anormal doku arasında ayırım yaparak kolon kanserinin erken tanısına olanak sağlayabilecek non-invaziv bir sistemi araştırdılar. Bunun için öncelikle ex-vivo kolon örneklerini incelediler ve kan hacmi fraksiyonunun parametrik haritalarının, kollajen yoğunluğunun ve mukozanın kalınlığının, normal doku ve kolon histolojisi ile uyumlu adenokarsinom arasındaki farklılıkları gösterdiğini gördüler. Bu farklılığın gözlenmesi in-vivo olarak araştırmalar yapılması için ümit vericidir.

2.3 Hiperspektral Görüntüleme Sistemlerinin Bileşenleri

Bir HSI sistemi esas olarak ışık kaynağı, dalga boyu dağılım aygıtları ve alan dedektörlerinden oluşur. Işık kaynağı tarafından aydınlatılan bir doku örneğinden geçen ışık, önce kolimatöre sonra da dağıtma cihazına gönderilir. Yarık genişliği ile spektrografa giren ışık miktarı ayarlanır. Bu şekilde, yarık tarafından tanımlanan çizgi boyunca her piksel aralığı için, ilgili bir spektrum bir dedektör dizisinin bir sütununa yansıtılır böylece iki boyutlu bir görüntü oluşur.

2.3.1 Edinme modu

Spektral olarak çözülmüş görüntü kümeleri, farklı teknikler kullanılarak elde edilebilir. HSI sistemlerinin temel sınıflandırma şeması, edinim moduna, yani, spektral ve uzamsal bilgilerin nasıl elde edildiğine dayanmaktadır. Geleneksel HSI sistemi mekansal ve spektral tarama olarak iki tarama yöntemi içerir.

Mekansal tarama yöntemlerinde, whiskbroom (nokta tarama) cihazlarda her bir piksel için veya pushbroom (çizgi tarama) aletlerde piksel çizgileri için tam bir

spektrum elde edilip daha sonra örnek üzerindeki her bir bölge için tarama yapılarak hiperspektral görüntüler üretir [4].

Whiskbroom görüntüleme teknolojisinde, x ve y yönlerindeki görüş alanını taramak için tarama aynaları kullanılır. Yansıyan ışık bir prizma tarafından dağıtılır veya bir ızgara tarafından kırılır ve bir doğrusal dizi dedektörü tarafından dalga boyu tespit edilir. Spektral görüntü veri küpleri (x, y ve λ), iki boyutlu sahnede (x, y), her bir piksel için tek tek tarama yapılması ile elde edilir. Görüntü alımını tamamlamak için genellikle iki eksenli motorlu konumlandırma aynalarına ihtiyaç duyulur. Bu da donanım yapılandırmasını daha karmaşık hale getirir ve daha fazla zaman alıcıdır [6, 23].

Pushbroom sistemlerde, gelen ışık, ışığı dar dalga boylarına ayıran konveks ızgaradan (veya prizmadan) geçer. Bu ayrışma daha sonra ışığa duyarlı bir çip üzerine kaydedilir. Çizgi tarama cihazları, iki boyutlu bir dedektör dizisini kullanarak bir kerede tek bir pikselden ziyade bir görüntünün bir satırını kaydeder. Satır üzerindeki her bir piksel için bir spektrum oluşturulur. Daha sonra kamera hareket ettirilir ve bir sonraki satır yakalanarak kamera etkili bir tarayıcı haline getirilir. Tüm pikseller tarandıktan sonra son görüntü oluşturulur [23, 24].

Spektral tarama yöntemlerinde, tek bir pozlamada, geçerli dalga boyu için 2D detektör dizileri ile tüm sahneye ait veri alınır. Daha sonra veri küpünü tamamlamak için tüm dalga boyları için tek tek veri alınır [4]. Gerekli olan bant sayısı sınırlı olduğunda ve yakalama sırasında nesnenin kameranın önünde sabit tutulabilmesi durumunda bu yaklaşım tercih edilir [23].

2.3.2 Spektral aralık ve çözünürlük

Spektral aralık, HSI sistemleri tarafından kapsanan dalga boyu bölgelerini ifade eder. Hiperspektral görüntü dedektörleri, kullanılacak uygulamaya bağlı olarak, VIS, NIR, kısa dalga kızıl ötesi bant (SWIR), orta dalga kızıl ötesi (MWIR) ve uzun dalga kızıl ötesi (LWIR) dalga boyu aralıklarında görüntü alacak şekilde tasarlanır [4, 23]. VIS ve NIR bant aralıklarında alınan görüntüler çevrecilik, tarım, gıda sektörü, şehir planlaması gibi alanlarda kullanılırken; SWIR görüntüler geri dönüşüm, arkeoloji, ilaç sanayi, nemlilik kontrolü, maden ve yeryüzü kaynaklarının aranması, tarım ve zirai alanlarda, MWIR görüntüler jeolojide petrol, gaz, jeotermal araştırmaları,

savunma sanayisinde hedef tespiti gibi alanlarda, LWIR görüntüler deniz yüzeyi sıcaklık dağılımı, kamuflaj ve gaz tespiti, gömülü hedef tespiti, volkanik araştırma çalışmaları, mineral haritalama gibi birçok uygulama alanında kullanılmaktadır.

MHSI sistemleri, farklı tıbbi uygulamalara dayanan ultraviyole (UV), VIS, NIR ve orta kızıl ötesi (MIR) spektral aralıkları kapsayabilir (Çizelge 2.1). Literatürdeki en yaygın kullanılan spektral aralık VIS ve NIR bölgelerinde bulunur [4].

Çizelge 2.1 Spektrumlar ve ilgili dalga boyu aralıkları

Spektrum adı	Spektral Aralık(nm)
UV	200 - 400 nm
VIS	400 - 780 nm
NIR	780 - 2500 nm
MIR	2500 - 25000 nm

NIR spektral görüntüleme, bu bölgedeki overtone ve kombinasyon titreşim bantlarına ve düşük enerjili elektronik geçişlere dayanırken, MIR görüntüleme, molekül içindeki atomların titreşim ve dönme frekanslarındaki ışığın absorbansını kaydeder. MIR absorbans spektrumu, bir hücrenin genomik, proteomik ve metabolomikleri hakkında zengin bilgiler içerir. MIR absorbans spektrumu, bir hücrenin genomik, proteomik ve metabolomik hakkında zengin bilgiler içerir. Görünür ışık cildin sadece 1-2 mm altına nüfuz eder ve bu nedenle alt mukozadan (subpapillerden) bilgi alırken, NIR bölgesinde ışık VIS veya MIR radyasyonuna göre dokuya daha derin nüfuz eder. NIR ışığı, dokuya derin nüfuz etmesi nedeniyle cerrahi kılavuzluk için tercih edilir. Bağ dokusunun görselleştirilmesi ile görünür olmayan ve algılanabilir spektrumlu moleküllerin cerrah tarafından tespit edilmesine ve önemli anatomik yapıların görselleştirmesine olanak sağlanabilir. Işığı görsel spektrumun ötesine genişleterek, ilgili hücreleri daha fazla karakterize etmek için ek bilgi elde edilebilir.

HSI sisteminin spektral çözünürlüğü, elektromanyetik spektrumdaki özellikleri çözme gücünün bir ölçüsü olarak spektrografi ile ilgilidir. Spektral çözünürlük, bir HSI sisteminin, görüntüdeki bir nokta tarafından yayılan iki bitişik monokromatik spektral özelliği ayırma yeteneğinin mutlak limiti olarak tanımlanır. Spektral çözünürlük, hiperspektral bir görüntüleme sistemi ile çözülebilen en dar spektral

özelliğın bir ölçüsüdür. Spektral çözünürlüğün büyüklüğü, spektrografın dalga boyu dağılımı ve giriş ve çıkış deliklerinin büyüklüğü ile belirlenir. Herhangi bir spektral görüntüleme sisteminin amacı, test edilen numunedeki tüm noktalardan yayılan ışığın gerçek spektral profilini doğru bir şekilde yeniden oluşturmak olmalıdır [23]. Yüksek spektral çözünürlük, test edilen numunedeki tüm noktalardan yayılan ışığın gerçek spektral profilinin doğru bir şekilde yeniden yapılandırılmasını sağlar. HSI sisteminin bir diğer önemli parametresi, spektral bant genişliğidir. Daha yüksek spektral çözünürlüğe ve daha dar bant genişliğine sahip HSI sistemleri, potansiyel olarak numuneden daha doğru spektral imza elde edilmesine olanak tanır [4].

2.3.3 Mekansal çözünürlük

Sensör tarafından numunenin yüzeyinde çevresinden ayrı bir nesne olarak görülebilen en küçük nesnenin boyutu, HSI sisteminin mekansal çözünürlüğü tarafından belirlenir. Mekansal çözünürlük ayrıca bir sistemin çalışılan nesnelerin ayrıntılarını kaydetme yeteneğini de belirler. Daha yüksek mekansal çözünürlük, daha fazla görüntü detayının açıklanması anlamına gelir. Başka bir deyişle, mekansal çözünürlük, bir görüntü pikseli ile temsil edilen sahnenin alanı olarak tanımlanır. Pratik amaçlar için, görüntünün netliği, bir görüntüdeki piksel sayısı değil, mekansal çözünürlüğü ile karşılaştırılır. Mekansal çözünürlüğü tanımlamak için en çok kullanılan parametre görüş alanıdır (FOV). Aslında, mekansal çözünürlük, iki boyutlu kameranın piksel büyüklüğüne göre belirlenir [23].

2.3.4 Spektral imza

HSI, tüm materyallerin, kimyasal bileşimlerinin ve doğal fiziksel yapısının farklılığından dolayı, belirli dalga boylarındaki farklı modellerde elektromanyetik enerjiyi yansıttığı, yaydığı veya emdiği gerçeğinden yararlanır. Bu özellik, spektral imza, spektral parmak izi veya sadece spektrum olarak adlandırılabilir. Hiperspektral görüntüdeki her görüntü elemanı (piksel) kendi spektral imzasını içerir. Kısaca, spektral imza, belirli dalga boylarında yansıma, absorpsiyon, geçirgenlik veya elektromanyetik enerjinin yayılımı olarak tanımlanır. Prensip olarak, spektral imza, bir görüntüdeki herhangi bir bölgeyi yeterince geniş bir dalga boyu bandı üzerinde benzersiz bir şekilde karakterize etmek, tanımlamak, ayırt etmek, sınıf/türlere ayırmak için kullanılabilir [23].

2.3.5 Ölçüm modu

Biyolojik dokunun optik özelliklerini temel alan HSI sistemler, elektromanyetik spektrumun UV, VIS ve NIR bölgelerinde yansıma, flüoresans ve transmisyona (iletim) modlarında çalışabilir. Literatürdeki HSI sistemlerinin çoğunda, örneklerin yansıma spektrumunu ölçen yansıtma modu uygulanır. Floresan ve yansıtma modları çeşitli tümörlerin biyomoleküler ve morfolojik göstergelerini belirlemek için birlikte kullanılır. İletim modunda ışık kaynağı, numune tutucusunun altına yerleştirilir. Dokudan geçen ışık, numunenin üzerine yerleştirilen bir görüntü spektrografıyla kaydedilir. İletim modu, genellikle, hiperspektral sistemler mikroskoplarla bütünleştirildiğinde örnekler yoluyla iletilen ışık yoğunluğunu ölçmek için kullanılır [4].

2.3.6 Işık kaynağı

Işık kaynakları, hedefi aydınlatan veya uyaran ışık üretir. Işık kaynaklarının seçimi ve aydınlatma kurulumunun tasarımı, herhangi bir görüntüleme sisteminin performansı ve güvenilirliği açısından kritik öneme sahiptir.

Halojen lambalar, görünür (VIS) ve yakın kızıl ötesi (NIR) spektral bölgelerinde kullanılan en yaygın geniş bant aydınlatma kaynaklarıdır. Halojen lambalar düşük voltaj ile çalışır, çok amaçlı aydınlatma kaynakları olarak kabul edilir. Halojen lambaların dezavantajları arasında büyük ısı üretimi, nispeten kısa kullanım ömrü, çalışma voltajındaki dalgalanmalara bağlı çıkış değişimleri, sıcaklık değişimlerinden kaynaklanan spektral pik kayması ve titreşime duyarlılık sayılabilir [2].

Ucuz, güçlü, sağlam ve güvenilir ışık kaynaklarına olan talep nedeniyle, ışık yayan diyot (LED) teknolojisi hızla gelişmiştir. Tungsten halojen lambaların aksine, LED'lerin akkor emisyonu için bir filamanı yoktur. Bunun yerine, bir yarı iletken elektrik uygulandığında ışık yayan katı hal kaynaklarıdır. VIS bölgesinde, LED içindeki p-n birleşimi için kullanılan malzemelere bağlı olarak farklı dalga boylarında (veya renklerde) dar bant veya geniş bant ışık üretebilirler. LED'ler, uzun ömür, düşük güç tüketimi, düşük ısı üretimi, küçük boyut, hızlı tepki, sağlamlık ve titreşime duyarlılık gibi birçok avantaja sahiptir. Tungsten halojen lambalar ve beyaz LED'ler, genellikle hiperspektral yansıma ve geçirgenlik görüntüleme uygulamalarında kullanılan aydınlatma kaynaklarıdır.

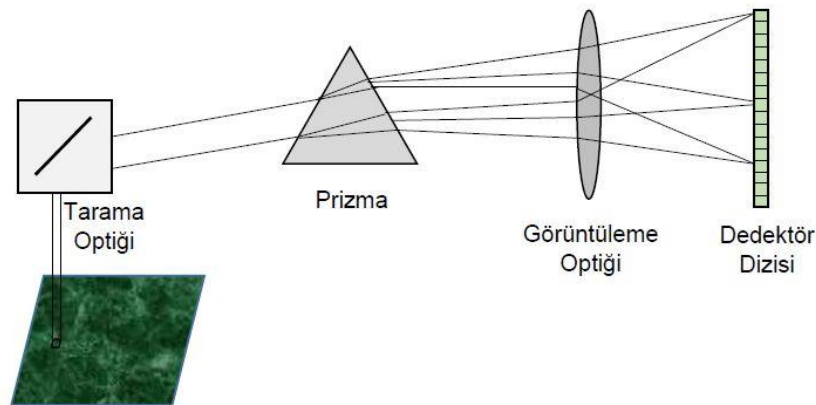
Lazerler güçlü yönlü monokromatik ışık kaynaklarıdır. Yüksek yoğunlukta enerji, mükemmel yönlülük ve gerçek monokromatik emisyon gibi benzersiz özellikleri nedeniyle floresans ve Raman ölçümleri için uyarma kaynakları olarak kullanılırlar. Tarımsal ürünlerin denetimi için hiperspektral floresan görüntüleme lazer kullanılmıştır [25].

2.3.7 Dağıtıcı cihazlar

Dağıtıcı cihazlar, uyarma dalga boyu seçimi için numune ile ışık kaynağı arasında konumlandırılırken, numunenin emisyon dalga boyu dağılımı için numune ile dedektör dizisi arasına yerleştirilir. HSI sistemlerinde spektral dispersiyon veya seçim yapabilen birçok optik ve elektro-optik dispersif cihaz vardır. Literatürde yaygın olarak kullanılan dağıtıcı cihazlar üç sınıfa ayrılabilir: (1) monokromatörler: prizma ve kırınım ızgarası, (2) optik bant geçiren filtreler: sabit filtre veya ayarlanabilir filtreler ve (3) tek atımlı görüntüleyiciler [4].

2.3.7.1 Monokromatörler

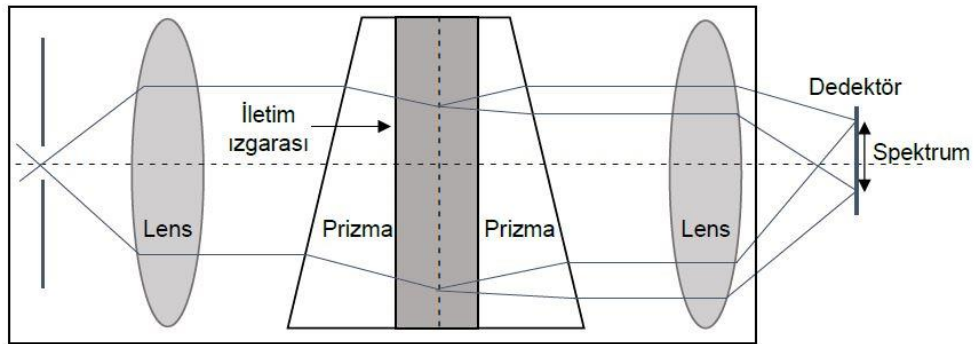
Monokromatörler, polikromatik bir kaynaktan gelen ışığı dalga boylarına ayıran ya da belirlenen bir dalga boyu bandının geçmesini sağlayan alettir. Pushbroom HSI sistemlerde ışığı dalga boylarına ayırmak için kullanılan iki tip monokromatör vardır. Bunlardan birincisi, prizmadır. Prizmaya gelen ışığın dalga boyuna bağlı olarak prizmanın da kırılma indisi değişir [4]. Bu da farklı dalga boylarındaki ışığın prizmayı farklı açılarda terk etmesine neden olur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Monokromatör tarama yöntemi düzeneği

Kırınım ızgarasında, incelenen ışığın dalga boyları ile karşılaştırılabilir bir mesafede iletilmesi ve yansıtılmasından faydalanılır. Temel fiziksel özelliği, kırılma indisinin mekansal modülasyonudur. Kırınım üzerine, bir ızgara üzerindeki elektromanyetik dalga oluşumu, ızgara yüzeyine yakın bölgede kırılma indisindeki periyodik değişime bağlı olarak, elektrik alan genliği veya fazı veya her ikisi de tahmin edilebilir bir şekilde modifiye edilir [26]. Prizma çok yüksek ışık verimine ve VIS ve NIR spektral aralığı üzerinde düşük bir dağılıma sahiptir. Kırınım ızgarasında ise spektrumlar örtüşebilmekte bu da karmaşıklığa neden olmaktadır. Bununla birlikte, prizmaya dayalı optik tasarımlar, prizmanın doğrusal olmayan tarama dağılımı nedeniyle ızgaradan daha karmaşık olma eğilimindedir [4]

Prizma-ızgara-prizma (PGP), endüstri ve araştırma uygulamaları için 320-2700 nm spektral aralığında küçük, düşük maliyetli HSI spektrograflara izin veren doğrudan görüş dağıtıcı bir bileşendir. İstenmeyen dalga boylarını engellemek ve yüzey yansımalarını önlemek için ızgaranın ve prizmanın arasına yerleştirilen kısa ve uzun geçiren filtrelerle, hemen hemen aynı olan iki prizma arasına yapıştırılan özel olarak tasarlanmış, iletim ızgarasından oluşur (Şekil 2.3) [27]. Khoobehi ve ark. [28], retinal oksijen saturasyonunu ölçmek için 2,5 nm spektral çözünürlüğe ve 410-950 nm spektral aralığa sahip PGP yapısı ile birleştirilmiş bir HSI sistemi kullanmıştır. VIS ve NIR spektral bölgelerini kapsayan PGP, yüksek difraksiyon verimliliği ve iyi spektral doğrusallık sağlamak için bir dizi ticarileşmiş hiperspektral sisteme entegre edilmiştir. PGP çok sayıda tıbbi uygulamada kullanılmıştır [4].



Şekil 2.3 Prizma-ızgara-prizma düzeneği

2.3.7.2 Optik bant geçiren filtreler

Optik bant geçiren filtreler sabit veya ayarlanabilir ve HSI sistemlerinde dalga boyunu ayırmak için yaygın olarak kullanılır. Sabit bant geçiren filtreler, ilgilenilen dalga boyunu iletmek üzere, detektör dizilerinin önünde ya da ışık kaynağının önünde dönen bir filtre tekerine yerleştirilir. Filtre tekerleri 10' dan fazla bant geçiren filtre içeremedikleri için genellikle multispektral sistemlere dahil edilir. Filtre tekerine alternatif olarak dielektrik filtre de kullanılmaktadır. Dielektrik filtreler (girişim filtreleri) bir dalga boyunu seçici olarak ileten ve yapı içerisindeki parazit etkileri temel olarak diğer dalga boylarındaki ışığı yansıtan optik fiberlerdir. Bant geçiren girişim filtreleri, hassas bir şekilde kontrol edilebilen kalınlıklardaki dielektrik ve metallerin bir dizi tabakasından oluşur. Geliş açısı değiştirildiği zaman bu katmanların görünür kalınlıklarında artış meydana gelmektedir. Bununla birlikte girişim filtreleri arasındaki faz farkı ise azalmaktadır. Açık ve dalga boyu arasındaki ilişkiyi gösteren eşitlik aşağıdaki gibidir:

$$\lambda_{\theta} = \lambda_0 \left[1 - \left(\frac{n_0}{n^*} \right)^2 \sin^2 \theta \right]^{1/2} \quad (2.1)$$

λ_{θ} : θ geliş açısındaki merkezi dalga boyu

λ_0 : $\theta=0$ geliş açısındaki merkezi dalga boyu

n_0 : Filtreyi çevreleyen ortamın kırılma indisi

n^* : Filtrenin efektif kırılma indisi

Filtre tekerleri ve dielektrik filtrelerin, kullanımları kolay ve göreceli olarak ucuzdurlar. Fakat dar spektral aralık, düşük çözünürlük, dalga boyu geçişinin yavaş olması, hareketli parçalardan gelen mekanik titreşim ve filtre hareketinden kaynaklı görüntünün yanlış kayıt edilmesi gibi dezavantajlara sahiptirler [4].

Ayarlanabilir filtreler, hareketli parçalar olmadan ve yüksek ayar hızlarında elektronik olarak kontrol edilebilen alan taramalı HSI sistemlerinde yaygın olarak kullanılır. Bir akusto-optik ayarlanabilir filtre (AOTF), elektronik olarak ayarlanabilir bant geçiren optik filtre olarak işlev gören cihazdır. AOTF, bir kristal, akustik dönüştürücü, ayarlanabilir ışık kaynağı ve ışın durdurucudan oluşur. Ayarlanabilir bir radyo frekansı kaynağı tarafından yönlendirilen bir akustik dönüştürücü kullanarak kristalin içinde bir akustik dalga indüklenir. Akustik dalga, kristalin kırılma indeksinin periyodik bir modülasyonunu yaratır (elasto-optik etki). Kristalin içindeki

akustik dalga, sadece Bragg koşulunu karşılayan ışığı kırınan bir Bragg kırınım ızgarası gibi davranır:

$$\sin\theta_i = \frac{\lambda f}{2nv} \quad (2.2)$$

θ : Kristal yüzeye gelen ışığın açısı

λ : Kırılmış ışığın dalga boyu

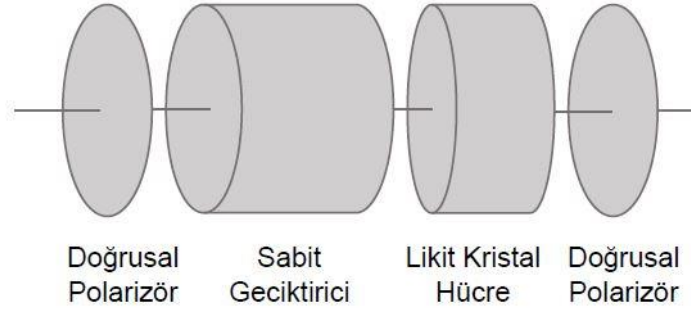
f : Kristaldeki akustik dalganın frekansı

n : Kristalin kırılma indisi

v : Kristaldeki akustik dalganın hızı

Yalnızca θ_i açısı ile gelen ışın kırılırken, bu koşulu sağlamayan ışınlar kristalden kırılmadan geçer. Kırılan ışığın dalga boyu akustik frekans tarafından kontrol edilir. Polarize edilmeden gelen ışık ışını soldaki kristale girer ve sonra kristaldeki ses dalgaları tarafından ortogonal polarize edilmiş iki adet birinci dereceden ışık huzmesine dönüştürülür [29].

Likit kristal ayarlanabilir filtre (LCTF) diğer tüm dalga boylarının ortadan kaldırılması ile belirli bir dalga boyuna ışık iletmek için elektronik kontrollü sıvı kristal hücreleri kullanan bir katı hal aracıdır. LCTF, her biri bir çift kırılmalı geciktirici ve iki paralel polarizatör arasına yerleştirilmiş bir sıvı kristal tabakanın birleşiminden oluşan bir dizi optik yığından oluşur. Çift kırılmalı kristallerdeki optik yol farkı, kristalin kalınlığına ve gelen aydınlatmanın dalga boyunda üretilen olağan (kırılmanın bilinen yasalarına uyan ışın / ordinary) ve olağanüstü (kırılmanın bilinen yasalarına uymayan ışın / extraordinary) ışık ışınları arasındaki kırılma indisi farkına bağlıdır. Işığın kristalden geçirilmesi, olağanüstü ve olağan ışınlar arasındaki yayılma hızındaki farkın yarattığı faz gecikmesine bağlıdır. Temel optik bileşenleri içeren filtre Şekil 2.4' de gösterilmiştir. Gelen ışık polarizörden doğrusal olarak polarize edilir. Daha sonra sabit geciktirici tarafından iki ışın (yani olağan ve olağanüstü) halinde ayrılır [6, 25].



Şekil 2.4 Likit kristal filtre düzeneği

Elektronik filtre edilebilirliği gerçekleştirmek için her filtre aşamasında bir sıvı kristal hücre kullanılır. Sıvı kristal tabakasında gecikmeye neden olan iki polarizatör arasına bir elektrik alan uygulanır. LCTF' nin elektronik kontrol ünitesi, dar geçiş bandı bölgesini filtre ünitesinin kapsadığı tüm dalga boyu aralığında kaydırır. Tek bir LCTF ünitesi genellikle belirli bir dalga boyu aralığını kapsar. Çünkü filtrenin oluşturulmasına yönelik bileşenler sadece belirli bir spektral bölgeyi barındırabilen farklı özelliklere sahiptir. Dalga boyu değiştirme hızı, sıvı kristalin gevşeme süresine ve filtredeki aşamaların sayısına bağlıdır [25].

LCTF' ler kırınım ile sınırlı uzaysal çözünürlük ve spektral çözünürlük sağlarlar. Ancak daha hızlıdır. Tüm bireysel filtre aşamaları seri olarak bağlanır ve tek bir dar bant iletmek için birlikte çalışırlar. VIS bölgeden NIR bölgeye kadar işlev görebilirler [6, 30]. LCTF' lerin imalat kolaylığı, düşük çalışma gerilimleri, yüksek anahtarlama hızı, kompaktlık, hareketli parça içermeme ve sahip oldukları spektral aralıkta rastgele dalga boyuna erişebilme gibi avantajları vardır [31].

2.3.7.3 Tek atımlı görüntüleyiciler

Dağıtıcı cihazlardan tek atımlı hiperspektral görüntüleyicilerin bir örneği, bilgisayarlı tomografi (CT)' nin görüntüleme spektrometresinde bir uygulaması olarak düşünülebilen bilgisayarlı tomografi görüntüleme spektrometresidir (CTIS). Bu yöntemde, bir alan detektörünün bir pozunu kullanarak tam bir hiperspektral görüntü küpünün elde edilmesi için eş zamanlı olarak çoğullanmış mekansal ve spektral veriler toplanır. Bir CTIS' nin uygulanması genellikle bilgisayar tarafından oluşturulmuş bir hologram dağıtıcısı (CGH), büyük bir 2D alan detektörü ve ışık toplanması ve görüntü oluşumu için diğer optik bileşenleri içerir. CGH elemanı, CTIS' nin merkezi bileşenidir. İşlevi, görüş alanını çoklu kırınım düzenlerine

dağıtmaktır. Dağınık görüntüler geniş alan detektöründe bir mozaik oluşturur. Her bir alt görüntü, tek bir bant görüntüsü değil, hem spektral hem de uzaysal çoğullamanın sonucudur. Orijinal görüntünün spektral bilgileri, mozaikteki alt görüntülerin konumlarında kodlanır. 3D hiperküp verisini orijinal 2D görüntü verilerinden yeniden oluşturmak için tomografik görüntüleme tekniklerinde kullanılanlara benzer yeniden yapılandırma algoritmaları kullanılır [25].

2.3.8 Dedektörler

Optik enerjinin bir elektrik sinyaline tespiti ve dönüştürülmesi, hiperspektral görüntüleme sistemlerinin temelinde yer alır [32]. Hedefle etkileştikten ve dalga boyu dağıtma cihazından geçtikten sonra, yararlı bilgileri taşıyan ışık en sonunda bir detektör tarafından elde edilecektir. Detektörün işlevi, radyasyon enerjisini elektrik sinyallerine dönüştürerek toplanan ışığın yoğunluğunu ölçmektir [4, 25].

Odak düzlemi dizisi (FPA) terimi, bir görüntüleme sisteminin odak düzleminde yer alan bireysel dedektör resim elemanlarının (piksel) bir araya getirilmesi anlamına gelir [33]. FPA, HSI' de, ışık enerjisini elektrik sinyaline dönüştürerek dağıtıcı cihazlar tarafından iletilen ışığın yoğunluğunu ölçmek üzere tasarlanmış 2D dizileri içerir. Dedektörler, spektral tepkilerine ve uygulama gereksinimlerine göre geniş bir elektromanyetik spektrum aralığında çalışabilirler. Dedektörün performansı görüntü kalitesini doğrudan belirler. Bu nedenle uygun bir FPA seçerken, sinyal-gürültü oranı, dinamik aralık, spektral kuantum verimliliği, doğrusallık vb. gibi dedektör dizilerinin performansını karakterize eden birçok parametre dikkate alınmalıdır. Literatürde çoğunlukla iki tip katı hal alan dedektörü kullanılmıştır: CCD (yük-bağlı cihaz) ve CMOS (tamamlayıcı metal-oksit-yarıiletken) kameralar [4, 25].

CCD sensörü, silikon (Si) veya indiyum galyum arsenide (InGaAs) gibi ışığa duyarlı materyallerden yapılan birçok (genellikle milyonlarca) küçük fotodiyottan (piksel) oluşur. Her bir fotodiyot, gelen fotonları elektronlara dönüştüren ve toplam ışığa maruziyet ile orantılı bir elektrik sinyali oluşturan tek bir nokta detektörü gibi davranır. Tüm elektrik sinyalleri önceden tanımlanmış bir şekilde detektörden dışarı kaydırılır ve daha sonra görüntüleri oluşturmak için dijitalleştirilir. CCD sensöründeki pikseller, tek boyutlu veya iki boyutlu diziler halinde düzenlenebilir. HSI sisteminde genellikle iki boyutlu diziler halinde düzenlenen alan dedektörleri tercih edilmektedir.

CCD kamera, görüntü sensörüne ulaşan yeterli ışık olduğunda ve yüksek pozlama gerektirmedikçe yüksek kaliteli görüntüler sağlayabilir. Görünür ışığa karşı olan doğal duyarlılığı nedeniyle, silikon, VIS' de ve kısa dalga boylu NIR bölgelerinde çalışan CCD kameraları için sensör malzemesi olarak yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Silikon tabanlı CCD kameralar, VIS ve kısa dalga boylu NIR bölgelerinde spektral bilgileri kullanarak tarımsal ürünlerin incelenmesine yönelik hiperspektral yansıma ve geçirgenlik görüntüleme sistemlerinde ve MHSI sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır [25].

CMOS sensörler, frame alma hızlarının yüksek olması ve bunu yüksek dinamik aralıklarla birleştirebildikleri için, HSI sistemlerinde ışık yoğunluklarının ölçümünde kullanılmaktadır [11]. Bu iki dedektör tipi arasındaki en büyük fark, CMOS görüntü sensörünün her bir pikselde (aktif piksel olarak adlandırılır) hem fotodetektör hem de okuma amplifikatörü içermesidir [25]. CMOS sensörler, daha düşük voltajda çalıştıkları için daha az enerji tüketir [34]. Ancak, CCD dedektörlerinden daha yüksek karanlık akıma ve gürültüye sahiptir.

2.4 Görüntü İşleme

Hiperspektral görüntüler, ilgili mekansal bölgenin spektral imzasına (veya spektrumuna) karşılık gelen spektral piksellerden oluşur. Spektral piksel, görüntülenen mekansal noktanın ölçülen tüm spektrumunu kaydeden bir pikseldir. Burada ölçülen spektrum, bir numunenin ışığı absorbe etme veya dağıtma yeteneğinin karakteristiğidir [35].

Görüntü analizi, doku, hücresel ve moleküler düzeyde büyük bir tıbbi hiperspektral veri kümesinden teşhis açısından yararlı bilginin çıkarılmasını sağlar. Bu nedenle, hastalık tarama, tanı ve tedavi için önemli bir aşamadır. Bununla birlikte, hiperspektral verilerin yüksek mekansal ve spektral boyutlara sahip olması, otomatik analiz gerçekleştirmeyi zorlaştırmaktadır. Özellikle, bitişik bantlardaki yüksek korelasyon nedeniyle yüksek veri fazlalığı, hiperspektral imzaların değişkenliği ve boyutsallık laneti nedeniyle karmaşıklıklar meydana gelmektedir. Fazla miktarda mekansal ve spektral bilgi mevcut olduğunda, ilgili spektral bilgileri ayıklamak, karıştırmak ve sınıflandırmak için hiperspektral veri kümeleri için gelişmiş görüntü sınıflandırması yöntemleri gereklidir. HSI deneylerinde üretilen çok miktarda veriden

yararlı teşhis bilgilerinin çıkarılması ve her bir pikseli kanserli veya sağlıklı doku tipine göre sınıflandırmak için makine öğrenme teknikleri uygulanabilir. Buradaki amaç sadece farklı dokular (örneğin sağlıklı ve kötü huylu doku) arasında ayırım yapmak ve tanı haritaları sağlamak değil, aynı zamanda karışımları saf moleküler bileşenlerin spektrumlarına ayırmak ve bu moleküler parmak izlerini (biyobelirteçler) hastalık durumlarıyla ilişkilendirmektir [4, 36]. Hiperspektral görüntü analizi nde uygulanan temel adımlar genellikle ön işleme, özellik çıkarımı ve özellik seçimi, sınıflandırma veya spektral ayırmayı içerir.

2.4.1 Ön işleme

Görüntü verilerinin spektral ön işlemesine ve kalibrasyonuna duyulan gereksinim, HSI sistemlerinin birçok farklı optik ve elektronik bileşenin bir entegrasyonu olmasından kaynaklanmaktadır. Bu tür sistemler, güvenilir veri analizi yapmadan önce sistematik kusurların veya istenmeyen sensör özelliklerinin düzeltilmesini gerektirir. Ayrıca, görüntü edinme işleminde rastgele hatalar ve gürültü ortaya çıkabilir. Sonuç olarak, veri analizinden önce spektral ön işlem ve kalibrasyon her zaman gereklidir [37].

HSI ön işlemesi, esas olarak veri normalleştirme ve görüntü çakıştırmayı içerir. Literatürde spektral imzaları düzeltmek ve gürültü etkisini azaltmak için gaussian ve median filtreleri kullanıldığı görülür. Veri normalizasyonu, hiperspektral radyasyon gözlemlerini yansımalara dönüştürmekte veya biyolojik numunelerin içsel özelliklerini tanımlayan absorbans değerlerini normal hale getirir. Bu tür normalizasyon, aynı zamanda hiperspektral görüntünün alt bantlarındaki düzensiz yüzey aydınlatması ve büyük gereksiz bilgiden kaynaklı olarak oluşan sistem gürültüsünü ve görüntüdeki artefaktları azaltır ve daha ileri analiz için verileri hazırlar. Bağlı reflektans kalibrasyonu ve hiperspektral iletim görüntüsünün kalibrasyonu normalizasyon için yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir.

Hiperspektral görüntüleme kullanılarak toplanan ham spektral görüntü aslında dedektör sinyal yoğunluğudur. Bu nedenle, siyah ve beyaz referans görüntüleri ile yansıma veya absorbans görüntüsüne ham yoğunluk görüntüsünü kalibre etmek için bir yansıma kalibrasyonu yapılmalıdır. HSI sistemlerinde kullanılan dedektör dizileri, genellikle üzerinde ışık olmadan bile karanlık akıma sahiptir. Karanlık akım

sıcaklığa bağlıdır ve entegrasyon süresiyle orantılıdır. Bu nedenle, ham yoğunluğu yansıtmaya dönüştürmek için, örnek görüntüleri edinmeden önce referans ve karanlık görüntüler alınır. Referans görüntü, sahneye yerleştirilmiş standart bir yansıtma yüzeyi ile çekilir. Karanlık çekim ise kamera kapağını kapalı tutularak yapılır [2] [4] [36]. Ham veriler aşağıdaki denklem kullanılarak normalize edilmiş yansıtma değerlerine dönüştürülebilir:

$$I_{ref} = \frac{I_{raw} - I_{dark}}{I_{white} - I_{dark}} \quad (2.3)$$

I_{ref} : Hesaplanmış yansıma değeri

I_{raw} : İncelenen pikselin ham veri ışınım değeri

I_{white} : İncelenen pikselin beyaz referans yoğunluk değeri

I_{dark} : İncelenen pikselin karanlık akım yoğunluk değeri

Normalizasyon için kullanılan bir diğer yöntem olan hiperspektral iletim görüntüsünün kalibrasyonunda, hedeflerin iç özelliği, dedektörün spektral aralığında ışık absorpsiyonu kullanılarak analiz edilebilir [37]. Bu yöntemde, aşağıdaki formül kullanılarak veri normalizasyonu yapılır:

$$I_{abs} = \log \frac{I_{raw}}{I_{ref}} \quad (2.4)$$

I_{abs} : Absorbans

I_{raw} : Örnek görüntü

I_{ref} : Referans görüntü

Referans materyal, cihaz tepki fonksiyonunun bir ölçüsünü sağlar ve bu nedenle, yöntem sonuçta meydana gelen optik yoğunluk görüntü setinden cihaz tepki fonksiyonunu etkin bir şekilde derecelendirir.

Görüntü çakıştırma, farklı dalga boylarında çekilen aynı sahnenin birden fazla görüntüsünün geometrik bir dönüşümünü bulur. Bir görüntü çifti doğru şekilde hizalandığında görüntüler arasındaki benzeşme en üst düzeye çıkar. Her piksel için doğru spektral bilgi elde etmek için, bir hiperküpün veya farklı hiperküplerin içindeki tüm spektral bant görüntülerini mekansal olarak hizalamak için görüntü çakıştırma gerekebilir [4].

2.4.2 Öznitelik çıkarımı ve seçimi

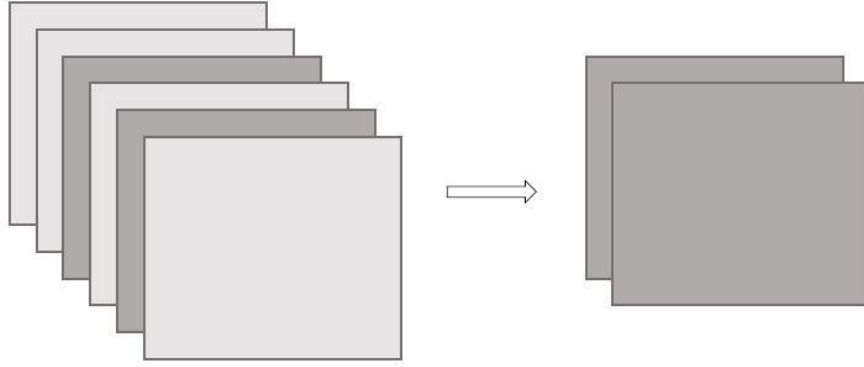
Hiperküp verilerinin büyük boyutlarda olması nedeniyle analizi zordur. Veri fazlalığının azaltılması ve bu işlemin de verimli bir şekilde yapılması gerekir. Öznitelik çıkarımı ve seçimin amacı, orijinal veriden en uygun bilgileri elde etmek ve bu bilgileri daha düşük boyutlu bir alanda temsil etmektir [4, 38]. Hiperspektral veri kümeleri için, daha geniş sayıda spektral bantlar potansiyel olarak daha ayrıntılı sınıflar arasında ayırım yapılmasını mümkün kılabilir. Fakat boyutsallık nedeniyle, sınıflamada kullanılan çok sayıda spektral bantlar sınıflandırma doğruluğunu azaltabilir. Dahası, belirli bir dalga boyunda ölçülen tüm yoğunlukların, biyolojik dokunun temel özelliklerini anlamak için önemli değildir. Çünkü biyolojik dokunun yansıtma veya floresans özellikleri dalga boyuna bağlıdır. Bu nedenle, en alakalı tanı bilgilerini ayıklamak ve veri kümesini daha verimli ve doğru bir şekilde işlemek için özellik çıkarımı ve seçimi gerçekleştirilmelidir [4].

Hiperspektral veri kümelerinde, her piksel, N boyutlu bir vektör formunda temsil edilebilir, burada N, spektrum bantlarının sayısıdır. Bu veri kümelerindeki bilgileri etkili bir şekilde kullanmak için, en yararlı bilgiyi çıkarmak, veri kümelerinin boyutsallığını azaltmak ve yüksek korelasyonlu bantları idare etmek için boyut azaltma yöntemleri gereklidir. En basit yol mevcut bantlardan birkaçını seçmektir. Ancak bantlar bir araya geldiğinde daha iyi performans elde edilebileceği açıktır. Bilgisayar programı ve algoritmalarından oluşan çeşitli veri analizi metodolojileri ile hiperspektral görüntüler analiz edilebilmekte ve daha sonra test edilen numunelerin malzeme özelliklerini tanımlayan spektral imzalarına ait veriler üretilmektedir.

Literatürde ana bileşen analizi (PCA) veya kısmi en küçük kareler regresyonu (PLSR) yöntemleri kullanılarak gereksiz bilgilerin kaldırılmış ve bu şekilde hiperspektral verilerin boyutsallığını azaltma işlemi gerçekleştirilmiştir. Spektral veri füzyonu, mekânsal veri füzyonu ve spektral ve mekânsal veri füzyonu diğer boyut küçültme yöntemleridir. Boyut azaltılması işlemi tamamlandıktan sonra elde edilen spektral verilerin sınıflandırılması işlemi yapılmaktadır.

Tıbbi hiperspektral veri kümesi analizi için en yaygın kullanılan boyut azaltma yöntemi, PCA'dır. PCA, hiperspektral görüntülerin bantlarındaki gereksiz bilgileri azaltırken, mümkün olduğunca yüksek boyutlu alanda varyansın çoğunu korur.

PCA, komşu hiperspektral görüntülerdeki komşu bantların yüksek korelasyona sahip oldukları ve nesne hakkında hemen hemen aynı bilgileri ilettikleri gerçeğine dayanmaktadır. Analiz, bantlar arasındaki korelasyonu kaldırmak için orijinal verileri dönüştürmekte kullanılır. Bu nedenle, görüntüdeki piksel değerlerinin varyasyonunu hesaplayan orijinal bantların optimum doğrusal kombinasyonu tanımlanır [39].



Şekil 2.5 Temel bileşen analizi boyut azaltma tekniği

PCA' yı bir hiperküpe uygulamak için, hiperküpü her satırın 1 piksel spektrumunu temsil ettiği iki boyutlu bir matrise 'açmak' gerekir. PCA, açılmış hiperküpü özvektörlere (veya skorlara) ve özdeğerlere ayrıştırmak için uygulanabilir. Orijinal verileri özvektörler tarafından tanımlanan yönlere dönüştürerek bir skor matrisi elde edilebilir [39].

PCA, ortalama kare hatasını en aza indirmek için optimaldir. Bununla birlikte, PCA, orijinal verileri özvektörler tarafından yayılmış bir alt uzaya dönüştürür ve bu da dönüşümden sonra biyolojik anlamı yorumlamayı zorlaştırır. Özellik çıkarma ve boyut azaltma için minimum gürültü fraksiyonu (MNF) ve bağımsız bileşen analizi (ICA) gibi birkaç PCA varyantı da kullanılır. MNF dönüşümü esas olarak spektrum boyutunun azaltılmasında ve görüntü verisinden gürültü ayrılmasında kullanılır. ICA ise spektral özellikleri mümkün olduğunca bağımsız hale getirir.

2.4.3 Sınıflandırma

Tıbbi alanda uygulanan hiperspektral görüntü sınıflandırma yöntemleri, kullanılan piksel bilgisinin türüne göre temel olarak piksel ve alt piksel sınıflandırmasını içerir. SVM ve yapay sinir ağları (ANN) gibi parametrik olmayan yöntemler, tıbbi hiperspektral görüntü işlemede yaygın olarak kullanılmaktadır. Spektral bilgi ayrımı,

spektral aç ı eşleyici ve spektral ayırma sınıflandırma için kullanılan diğ er yöntemlerdir.

2.4.3.1 Destek vektör makinesi (SVM)

SVM, hiperspektral görüntülerin sınıflandırılmasında yaygın olarak kullanılan, çekirdek temelli bir makine öğrenme tekniğidir.

Bu teknik, sınıfını en iyi temsil eden eğitim örneklerinin programa tanımlanması sayesinde sınıflar arasındaki en uygun ayırma yüzeyini bulur. Tanımlanan örneklere destek vektörleri denmektedir. Eğitim verileri seti doğrusal olarak ayrılamıyorsa, sınıfların doğrusal olarak ayrılabilmiş olduğu daha yüksek boyutlu bir uzayda verilerin doğrusal olmayan izdüşümünü simüle etmek için bir kernel yöntemi kullanılır. Eğitim örnekleri az sayıda olsa bile sınıflandırma yapılabilir [40]. Sınıflandırma için bir düzlemde bulunan iki grup arasında bir sınır çizilerek iki grubu birbirinden ayrılır. Bu sınır iki grubun da üyelerine en uzak olan yere çizilir. SVM yöntemi sınırın nasıl çizileceğini belirleyerek malzeme tiplerinin sınıflandırılmasına olanak tanır. Güçlü kuramsal temeli, iyi genelleme kabiliyeti, boyutsallık lanetine karşı duyarlılığının düşük olması ve küresel sınıflandırma çözümlerini bulma yeteneği nedeniyle, SVM diğ er sınıflandırma paradigmalarından daha fazla tercih edilir [4].

Kong ve ark. [41], SVM için çekirdek fonksiyonu olarak Gauss radyal temel fonksiyonu çekirdeğini seçmiş ve normal ve tümör sınıflarının her birinden rastgele seçilen 100 eğitim örneğinden SVM parametrelerini öğrenmişlerdir. Test için 2036 normal piksel ve 517 tümörlü piksel örnekleri kullanıldı. Deneysel sonuçlar, mekansal filtrelemenin performansı arttırdığını göstermektedir. Orijinal verilerin kullanımında %83'lük bir doğruluğ a ulaşılrken iyileştirme sonucunda elde edilen verilerin %86 doğruluğ a sahip olduğu görülmüştür.

2.4.3.2 Spektral bilgi ayrımı (SID)

SID, olasılık dağılımı olarak bir hiperspektral görüntü pikselinin işaretini saptar. İki spektrum arasındaki muhtemel davranışların tutarsızlığını ölçer. Piksel sınıflandırmasına eşittir; bu, referans spektrumlara benzer spektral eğrilerin aynı kategoriye sınıflandırılacağı anlamına gelir. Guan ve ark. [42], beyaz kan hücrelerini

çekirdek, sitoplazma, eritrosit ve arkaplan olarak 4 bölgeye ayırmak için bu yöntemi kullanmışlardır.

2.4.3.3 Spektral açı eşleyici (SAM)

SAM, iki spektrum arasındaki spektral benzerliğin ölçümüne dayanan basit bir algoritmadır. Spektrum arasındaki açığı hesaplayarak spektral benzerliği belirler ve bunları dalga boylarının sayısına eşit boyutsallığa sahip bir alanda vektör olarak değerlendirir [4, 43]. Li ve ark. [44], sinir kesitlerinden alınan hiperspektral görüntülerden sinir liflerini tanımlamak için SMA yöntemini kullanmışlardır.

3. MATERYAL VE METOT

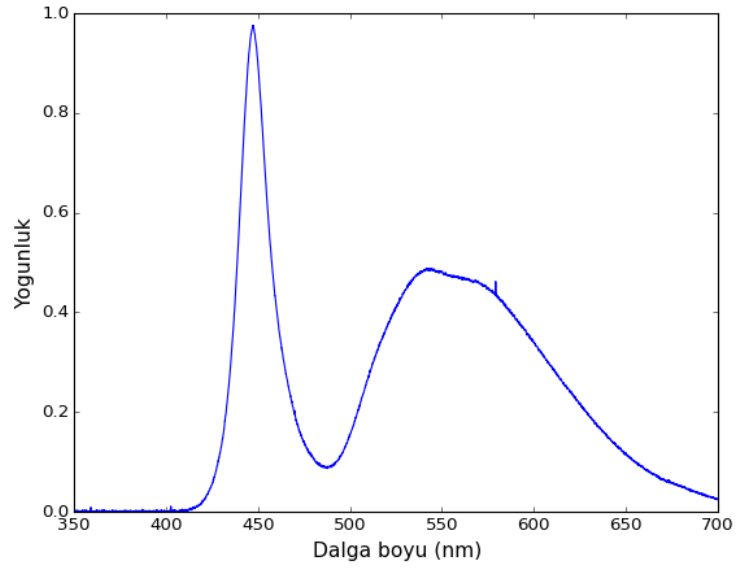
3.1 Sistem Tasarımı

Çalışma kapsamında tasarlanan HSI sisteminde iletim modunda ölçüm alındı. Olympus marka bir mikroskoba LCTF, LCTF denetleyicisi ve CMOS kamera entegresi ile örnekler incelendi (Şekil 3.1). İstenilen dalga boyunu ayarlamak için LCTF, ışığı elektronik sinyallere dönüştürüp görüntüleri elde etmek için ise CMOS kamera kullanıldı. Sistem bileşenlerine ait blok şema Şekil 3.3' de yer almaktadır.

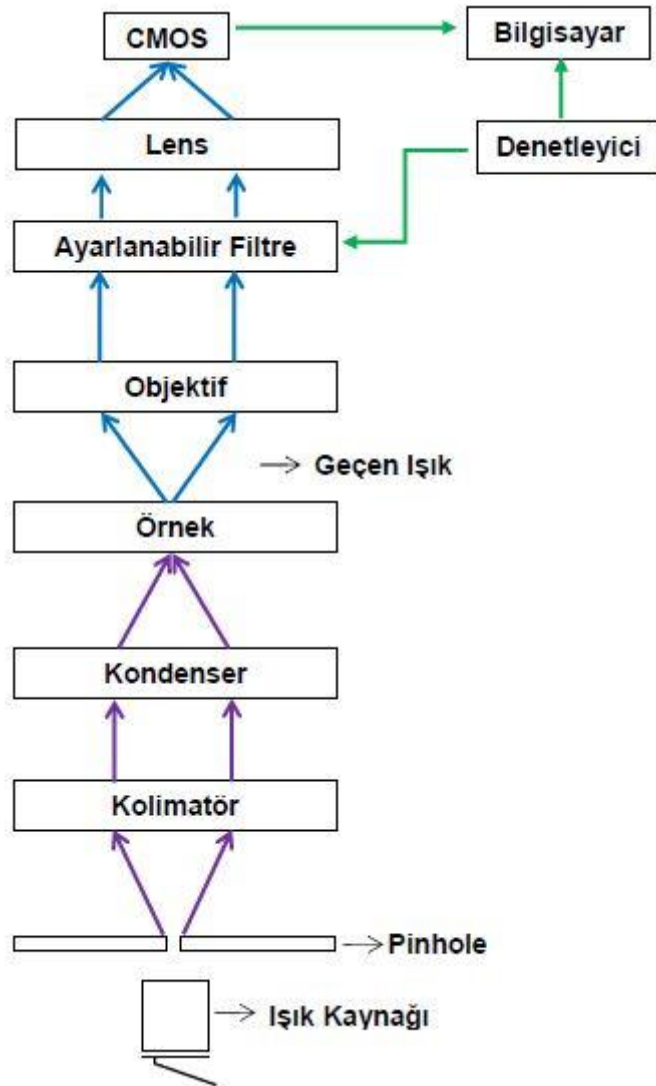


Şekil 3.1 Hiperspektral görüntüleme sistemi

Geliştirilen sistemde ışık kaynağı olarak LED ışık kullanıldı. Kullanılan ışık kaynağına ait dalga boyu-yoğunluk spektrumu Şekil 3.2 de verilmiştir. Kaynaktan gelen ışığın örnek üzerinde odaklanabilmesi için kolimatör ve kondenser kullanıldı. Örnekten geçen ışık objektife ulaşır. Objektif, örnekten gelen ışık demetlerini toplayarak büyümüş ve gerçek görüntünün oluşturulmasını sağlar. Ayrıca görüntülenen örneğin büyütme katsayısını da belirler. Standart objektif büyütme oranları 4X, 10X, 20X, 40X ve 100X' dir. Bu çalışma kapsamında sayısal açıklığı 0,25 ve çözünürlüğü 1,2 μm olan 10X objektif kullanılarak görüntüler alındı.



Şekil 3.2 Kullanılan ışık kaynağına ait dalga boyu-yoğunluk spektrumu

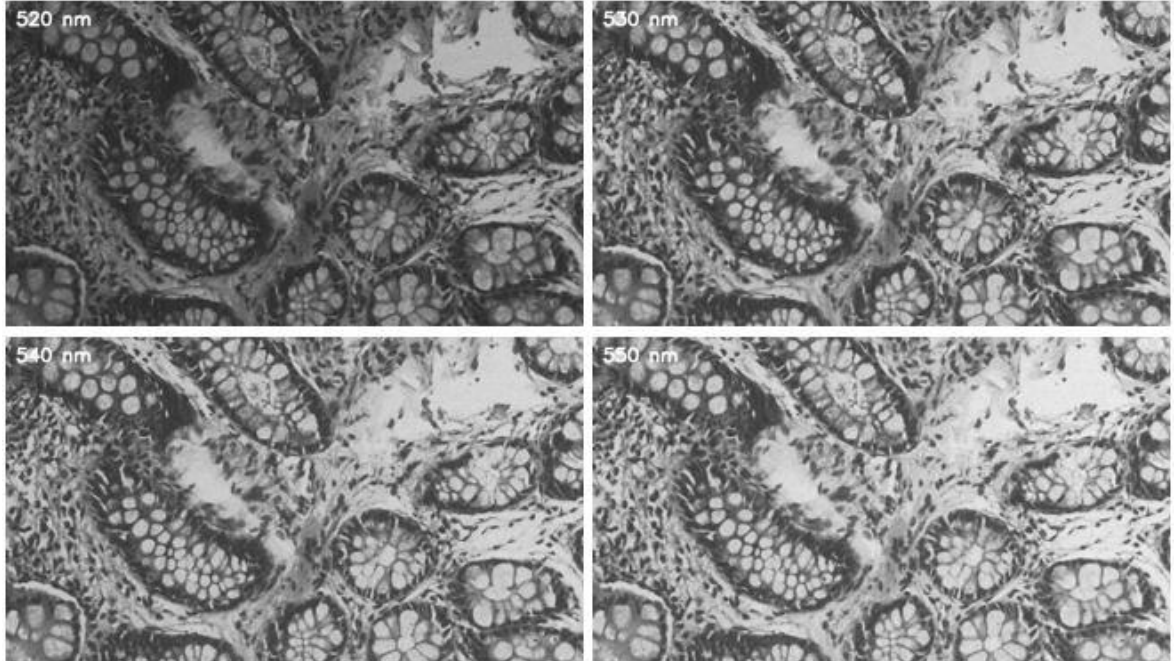


Şekil 3.3 Sistem bileşenlerine ait blok şema

Objektiften gelen ışık 0.5X büyütme bir barlow lens kullanılarak LCTF filtreye aktarılır. LCTF' nin bağlı olduğu denetleyici ile optik bağlantı yollarından geçerek LCTF' ye ulaşan ışığın dalga boyunun ayarlanır. Denetleyici, dalga boyunun 1 nm' lik artışlarla değiştirilebilmesine ve istenilen bant genişliğine göre (dar, orta ve geniş) ışığın LCTF' ye iletilmesine olanak sağlar. Denetleyicinin ön paneli sayesinde merkezi dalga boyu manuel olarak, USB girişi sayesinde de bilgisayar üzerinden kontrol edilebilir. LCTF denetleyicisi ile istenilen dalga boyu ayarlandıktan sonra elde edilen ışık demetleri monokromatik CMOS kamera üzerinde elektronik sinyallere çevrilir. CMOS kamera üzerinden alınan sinyaller bilgisayar ortamında görüntüye dönüşür.

3.2 Görüntü Eldesi

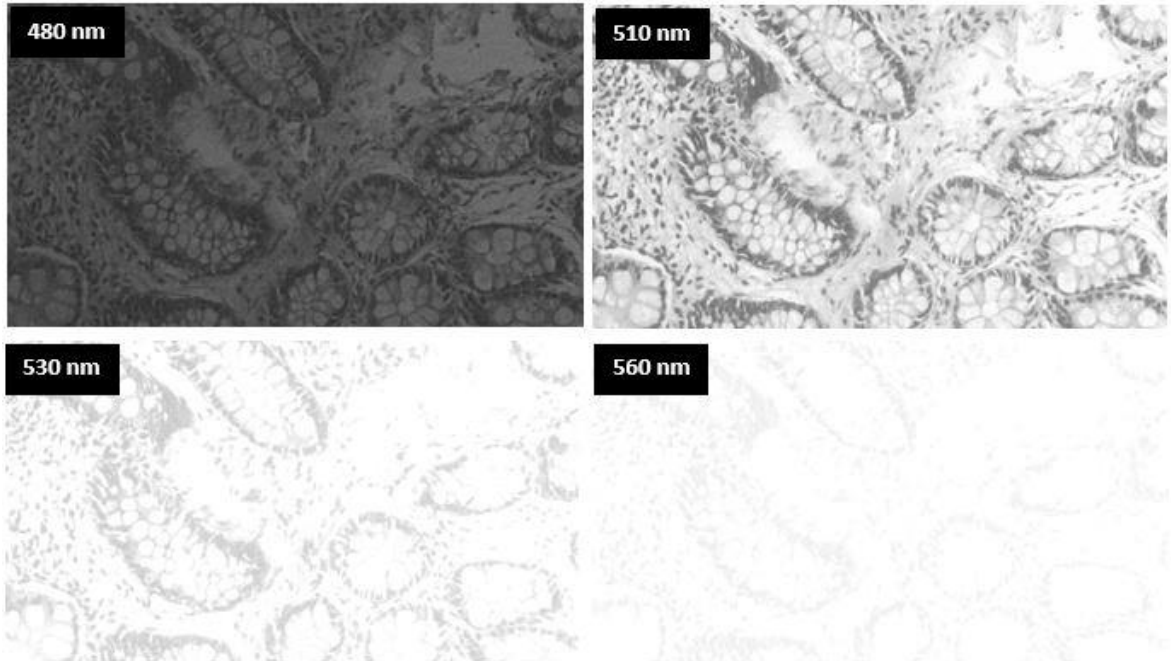
Patolojik dokuları görüntülerken 10X objektif kullanıldı. LCTF kullanılarak 440-660 nm spektral aralığında 10 nm' lik artışlarla her bir bölge için 23 adet görüntü alındı. Her bir doku örneği için 10 farklı bölgede ölçüm gerçekleştirildi. Şekil 3.4' de sağlıklı kolon hücresine ait bir bölgeden farklı dalga boylarında alınan gri skala görüntüleri yer almaktadır.



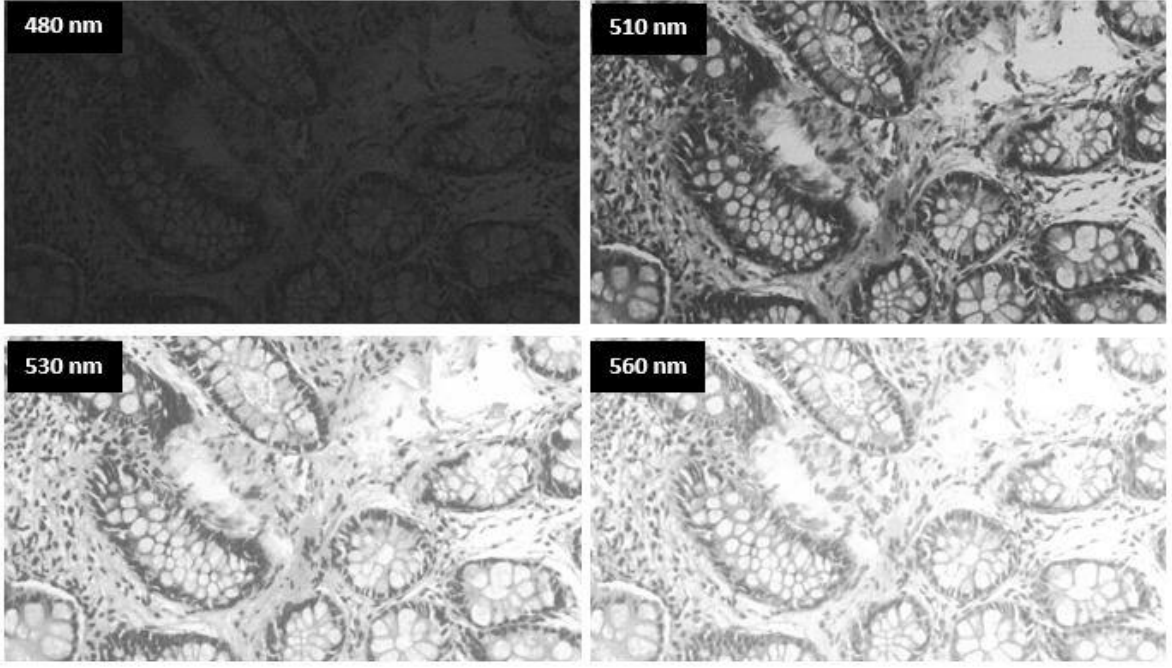
Şekil 3.4 Sağlıklı kolon hücresinin farklı dalga boylarında (520, 530, 540 ve 550 nm) monokrom kameradan alınan görüntüleri

Geliştirilen sistemde örnekler alınırken ışık seviyesini en iyi duruma getirmek için kamerada iki temel ayarın yapılması gerekir. Bu ayarlar: pozlama ve kazançtır. Pozlama, her bir piksel sensörünün ışık topladığı süreyi belirtir. Maruz kalma süresinin artırılması, sensöre daha fazla ışığın ulaşmasını sağlar. Kazanç, kameranın alınan ışık seviyelerini dijital olarak artıran bir çarpandır. Görüntü alınırken tüm ölçümlerde kazanç sabit tutuldu (11.97 dB) ve her bir dalga boyu için en iyi pozlama değerine karar verildi. Pozlama değerlerine karar verirken kontrastın en iyi olduğu ve görüntülerin doyuma ulaşmadığı değerlere bakıldı.

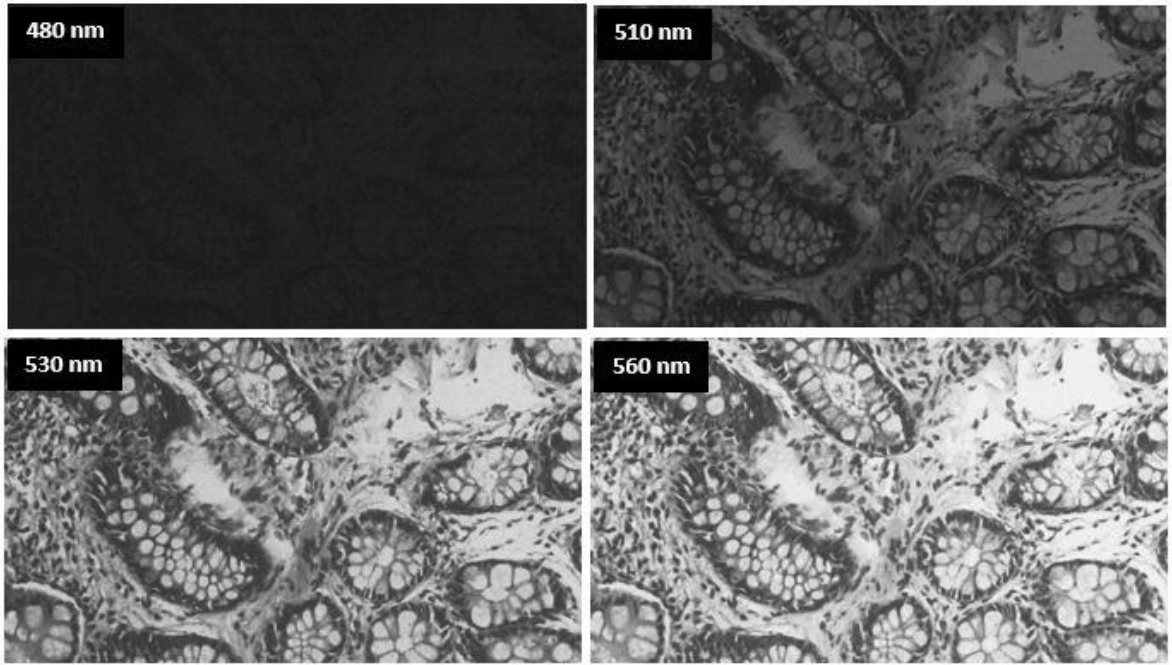
Çalışma kapsamında kanserli ve sağlıklı dokuların ayrımının yapılabildiğini gözlemek amacıyla Marmara Üniversitesinden sağlanan lamda sabitlenmiş sağlıklı ve kanserli kolon dokusu örnekleri kullanıldı. Ayrıca kanser seviyeleri arasındaki ayrımı gözlemek için Hacettepe Üniversitesi patoloji bölümünden sağlanan düşük ve yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma kanserine ait doku örnekleri incelendi. Çeşitli dalga boylarında ve farklı pozlama değerlerinde alınan görüntüler Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7 ve Şekil 3.8 de verildi.



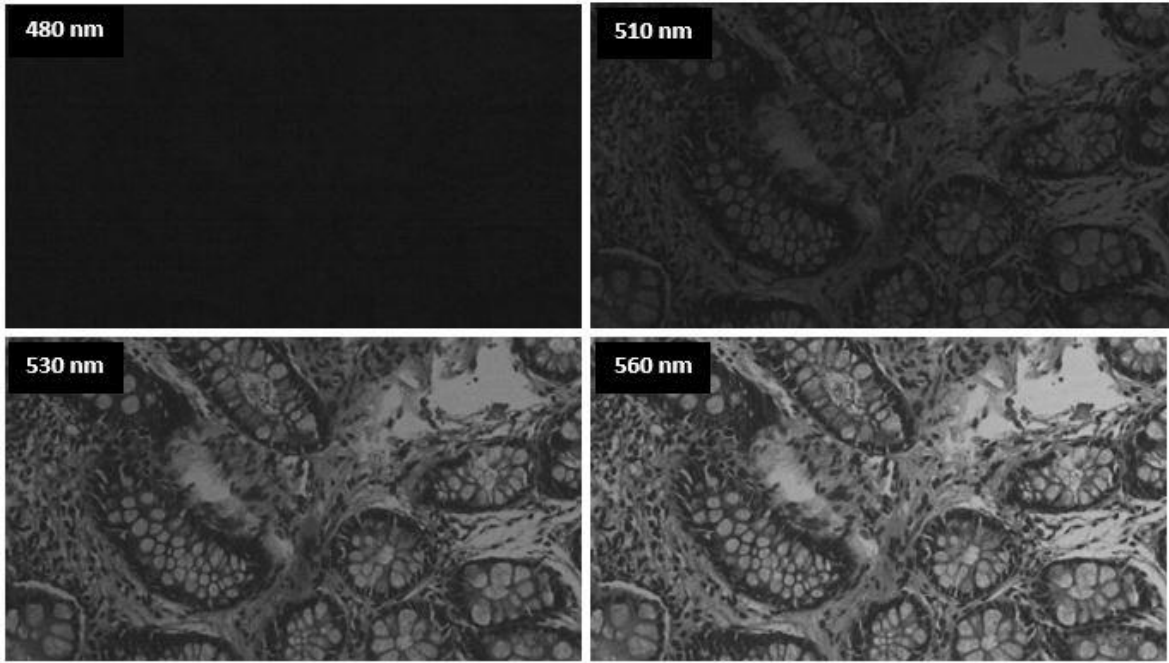
Şekil 3.5 1/6 sn pozlama değerinde sağlıklı kolon hücrelerine ait bir bölgeden 480, 510, 530 ve 560 nm dalga boylarında alınan görüntüler



Şekil 3.6 0.425 sn pozlama değerinde sağlıklı kolon hücresine ait bir bölgeden 480, 510, 530 ve 560 nm dalga boylarında alınan görüntüler



Şekil 3.7 1/15 sn pozlama değerinde sağlıklı kolon hücresine ait bir bölgeden 480, 510, 530 ve 560 nm dalga boylarında alınan görüntüler



Şekil 3.8 1/15 sn pozlama değerinde sağlıklı kolon hücresine ait bir bölgeden 480, 510, 530 ve 560 nm dalga boylarında alınan görüntüler.

440-660 nm dalga boyu aralığında alınan doku üzerinde yapılan çalışmalarda, belirtilen dalga boyu aralığı için dört farklı pozlama değerinin yeterli olduğu, fakat bu aralıkların incelenen doku türüne göre değiştiği görüldü. İncelenen dokulara ait karar verilen her bir dalga boyu için belirlenen optimal pozlama değerleri Çizelge 3.1' de verilmiştir:

Çizelge 3.1 İncelenen dokular ve karar verilen dalga boyu-pozlama değerleri

Doku Türü	Dalga Boyu Aralığı (nm)	Pozlama Değeri (sn)
Sağlıklı ve kanserli kolon dokusu	440-460 nm	1/6 sn
	470-500 nm	0.425 sn
	510-520 nm	1/6 sn
	530-550 nm	1/15 sn
	560-630 nm	1/30 sn
	640-660 nm	1/15 sn
Düşük derece ve yüksek derece Hodgkin Lenfoma kanseri dokusu	440 nm	1/6 sn
	450-500 nm	0.425 sn
	510-540 nm	1/15 sn
	550-630 nm	1/30 sn
	640-660 nm	1/15 sn

Belirlenen 4 adet pozlama değeri için her bir dalga boyunda (440-660 nm dalga boylarında 10 nm aralıklarla) ve 10 farklı bölgeden olmak üzere her bir doku örneği

için 920' şer adet görüntü alındı. Ayrıca arka plan etkisini yok etmek için boş lam üzerinden de yine yukarıda belirtilen pozlama değerlerinde 3 farklı bölgeden her bir doku örneği için 276' şar görüntü alınmıştır.

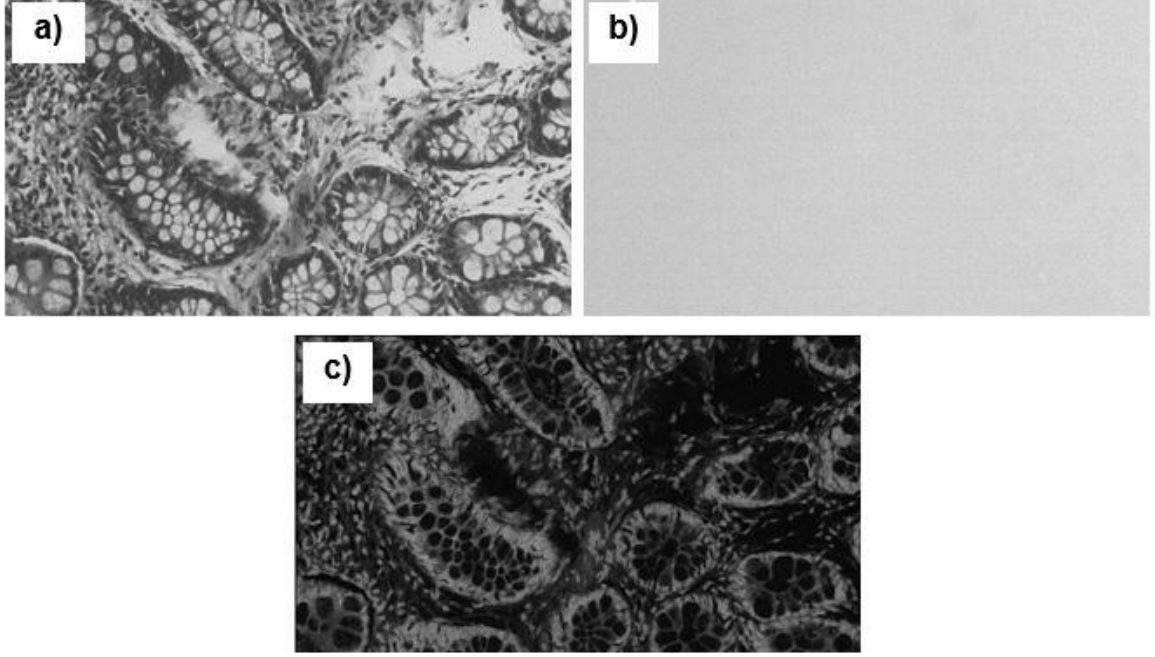
3.3 Görüntü Analizi

Dokulardan alınan görüntülerin bir yazılım programı aracılığı ile ön işleme yapıldı. Sistem tasarımında kullanılan LCTF filtre kalibre değildir. Bu durumu ortadan kaldırmak için her bir dalga boyu kedisisi için belirlenen kalibrasyon faktörü ile çarpılabilir. Ancak arka plan görüntüleri ile dokuya ait görüntülerin birbirlerine bölünmesi de kalibrasyon farklarının ortadan kaldırılmasını sağlar. Bunun için öncelikle belirlenen dalga boyu aralığında tüm dalga boyları için arka plan görüntülerinin alındı. Daha sonra her bir dalga boyundaki arka plan görüntüsü ile aynı dalga boyuna sahip doku görüntüsü birbirine bölündü. Bu işlemleri yapmadan önce göz önünde bulundurulması gereken bir diğer konu ise aydınlatmanın homojen olmamasıdır. Işık lensten yayılırken gaussian profilde yayılır. Bu etkiyi ortadan kaldırmak için gauss filtreleme araştırıldı. Gauss filtreleme aynı zamanda bir fourier dönüşümüdür. Bu filtre ile sonsuz bir transfer fonksiyonuna karşılık mekansal alanda sonlu bir pencerede (tarama penceresi) filtreleme yapılabilir. Bu da filtrelemenin temel problemini daha kolay çözülebilir hale getirir. Ön işleme aşamasında çeşitli boyutlardaki gauss filtreler denendi ve en uygun filtre boyutunun 5x5' lik tarama penceresine sahip gaussian filtre olduğuna karar verildi.

Arka plan etkisinin ortadan kaldırılmasındaki avantajlar şu şekilde özetlenebilir: (1) Optik sistemin ulaşılabilen bölümlerinde toz vs. olabilir. Bundan kaynaklı hatalı sonuçları ortadan kaldırmak için arka plan etkisini ortadan kaldırmak önem arz etmektedir. (2) Aydınlatma her yerde homojen değildir. Gaussian profil şeklinde yayılır. (3) Kullanılan LCTF filtre her dalga boyu için kalibre değildir. Belirlenen dalga boyu aralığında alınan her bir arka plan görüntüsünü yine aynı dalga boyundaki dokuya ait görüntüye böldüğümüz zaman bu problem ortadan kalkmış olur.

Şekil 3.9 a ve b' de aynı dalga boyunda sağlıklı kolon dokusu bulunan örnek ile aynı lam üzerinde boş bir bölgeden alınan arka plan görüntüleri görülmektedir. Arka plan etkisini ortadan kaldırmak için filtrelenen doku ve arka plan görüntüleri kullanılarak normalizasyon işlemi yapıldı. Normalizasyon işlemi sonucu oluşan görüntü Şekil 3.9

c' de görülmektedir. Daha sonra her bir doku örneğine ait spektral imzalar çıkartıldı ve gerekli incelemeler yapıldı. Dokular üzerinde yapılan çalışmalar Patolojik Dokuların İncelenmesi başlığı altında ayrıntılı olarak anlatıldı.



Şekil 3.9 530 nm' de sağlıklı kolon dokusu ve arka plana ait görüntüler a) Sağlıklı kolon dokusuna ait orijinal görüntü b) arka plana ait orijinal görüntü c) normalize edilmiş görüntü

4. BULGULAR

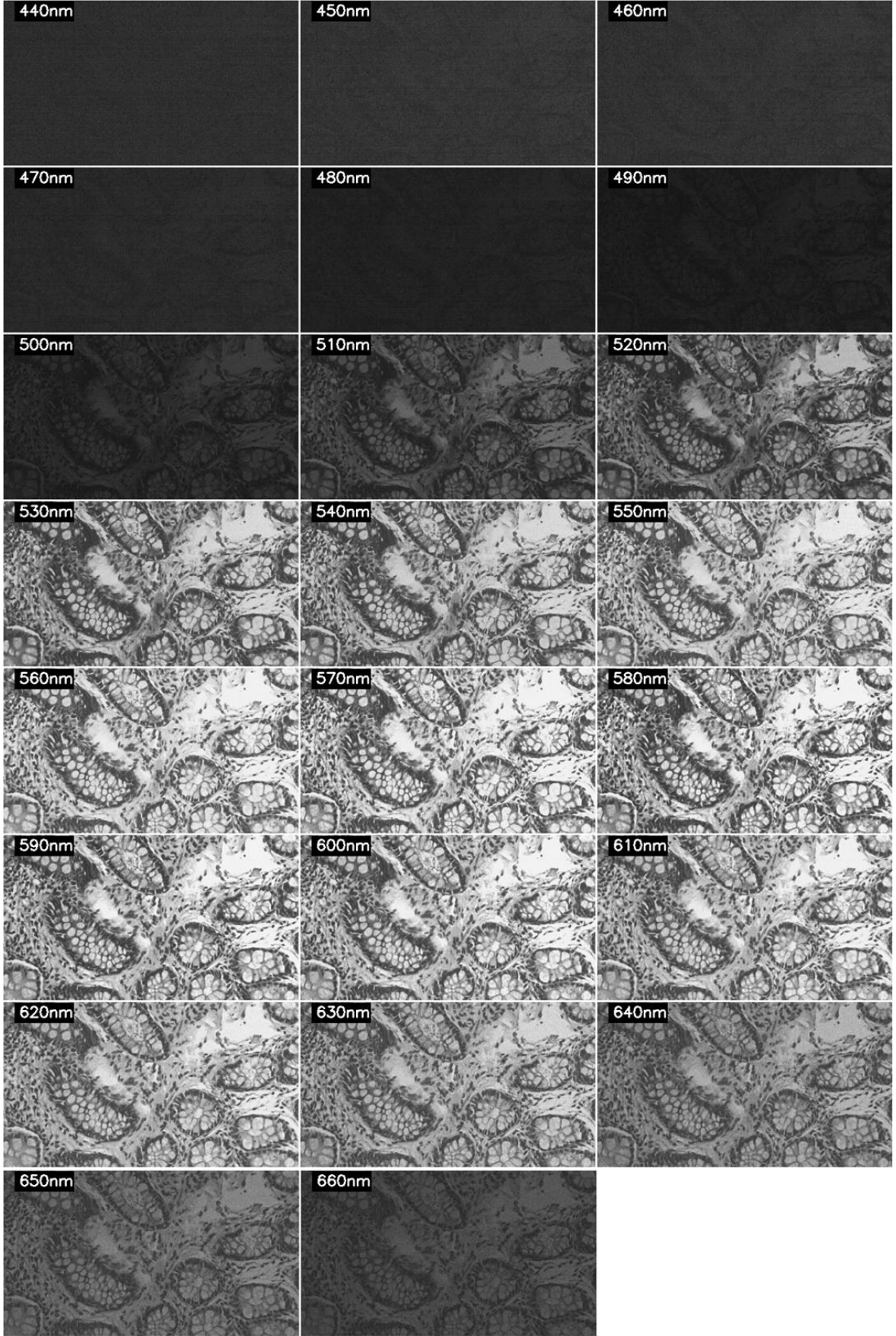
4.1 Patolojik Dokuların İncelenmesi

4.1.1 Kolon dokusu üzerine yapılan çalışmalar

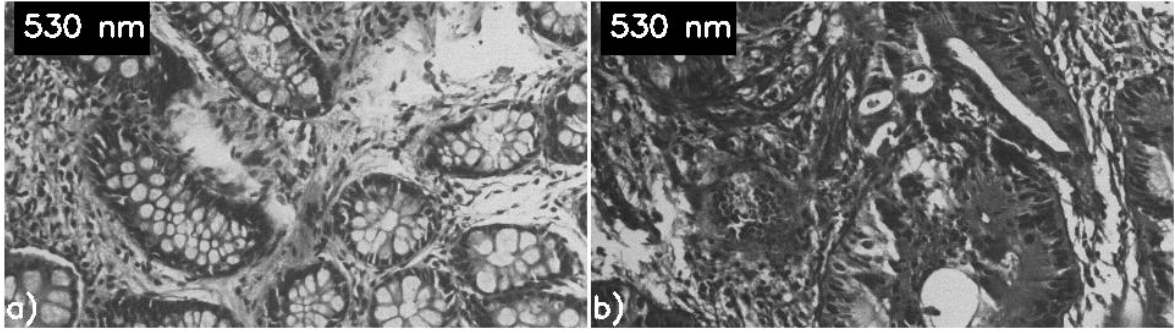
2015 yılında yayınlanan Türkiye Kanser İstatistikleri [45] verilerine göre en sık görülen kanser türleri arasında kolorektal kanserler (kolon ve rektum kanserleri) kadınlarda ve erkeklerde üçüncü sırada yer alır. Erken tanı koyulması bu hastalıktan kaynaklanan ölümlerin önüne geçecektir. Bu amaçla insan kolon dokusu hücrelerinin mikroskopik seviye görüntüleri, görünür ışığın bitişik dalga boyu aralıklarında HSI teknolojisi kullanılarak elde edildi. Kolon kanserinin teşhisinde kullanılacak veriler elde edebilmek için kolon dokusuna ait spektral imzalar oluşturuldu ve incelendi. Alınan görüntülerin spektral imzalarının çıkartılması ile sağlıklı ve kanserli kolon dokusunun bir dalga boyu aralığında birbirlerinden ayrıldıkları görüldü. Ayrıca farklı dalga boylarındaki yoğunluklar arasındaki ilişki incelendi.

4.1.1.1 Kolon dokusuna ait spektral imza

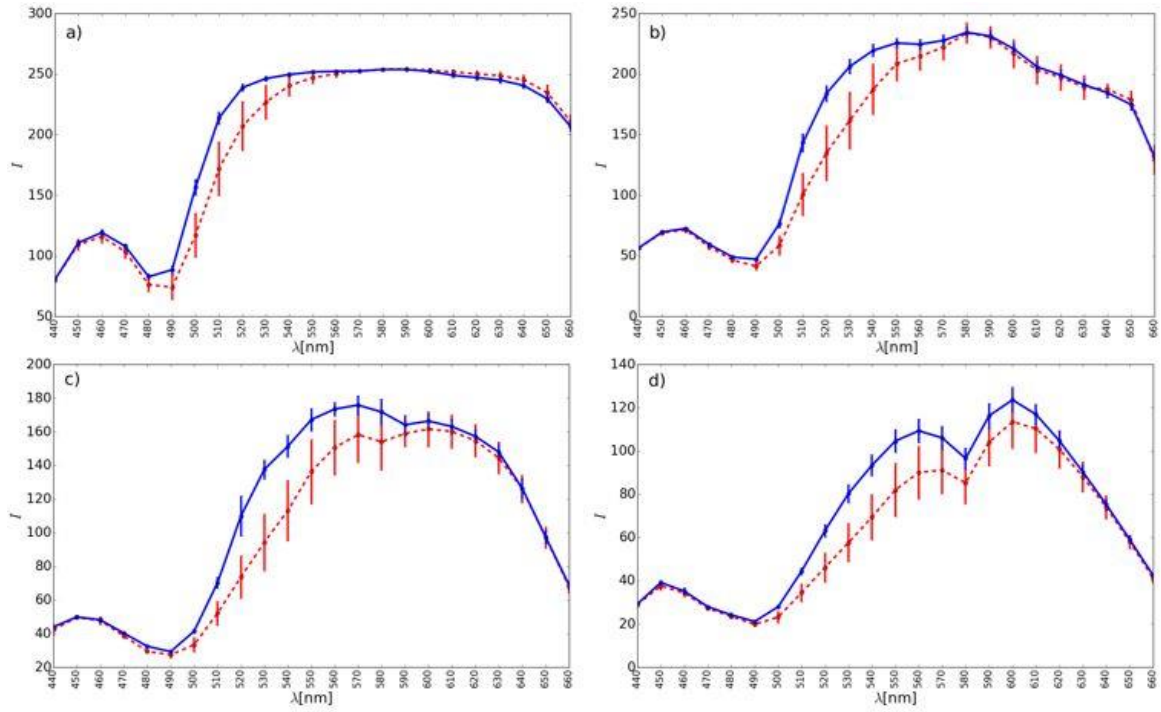
Lam üzerinde sabitlenmiş sağlıklı ve kanserli kolon dokularının her biri için 10' ar farklı bölgeden 440-660 nm dalga boyu aralığında 10' ar nm' lik artışlarla Çizelge 3.1' de verilen pozlama değerlerinde ölçümler alındı. 1/15 pozlama değerinde tüm dalga boylarında alınan görüntüler Şekil 4.1' de verilmiştir. Şekil 4.2' de sağlıklı ve kanserli kolon dokusuna ait 530 nm dalga boyundaki görüntüler yer almaktadır. Her bir pozlama değeri için 440-660 nm aralığındaki tüm dalga boylarında alınan görüntülere ait piksellerin ortalaması alındı ve Şekil 4.3' de görülen spektral imzalar elde edildi. Burada kırmızı kesikli çizgiler kanserli dokuya ait 10 farklı bölgedeki spektrumların ortalamasını gösterir. Mavi sürekli çizgiler ise sağlıklı dokuya ait 10 farklı bölgeden elde edilen spektrumların ortalamasını gösterir. 1/6 ve 0.425 sn pozlama değerlerinde alınan görüntülerden elde edilen spektral imzalar Şekil 4.3 a ve b' de de görülebileceği gibi 560 nm dalga boyundan sonra doyuma gider.



Şekil 4.1 1/15 sn pozlama değeriinde sağlıklı kolon dokusuna ait herhangi bir bölgeden 440-660 nm dalga boyu aralığında alınan görüntüler.

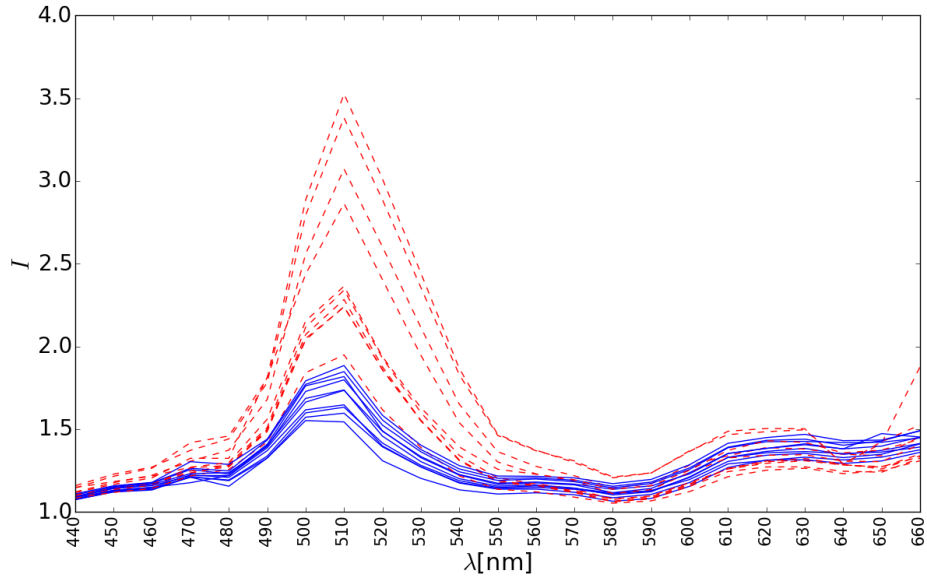


Şekil 4.2 530 nm' de sağlıklı(a) ve kanserli(b) kolon dokusundan alınan görüntüler

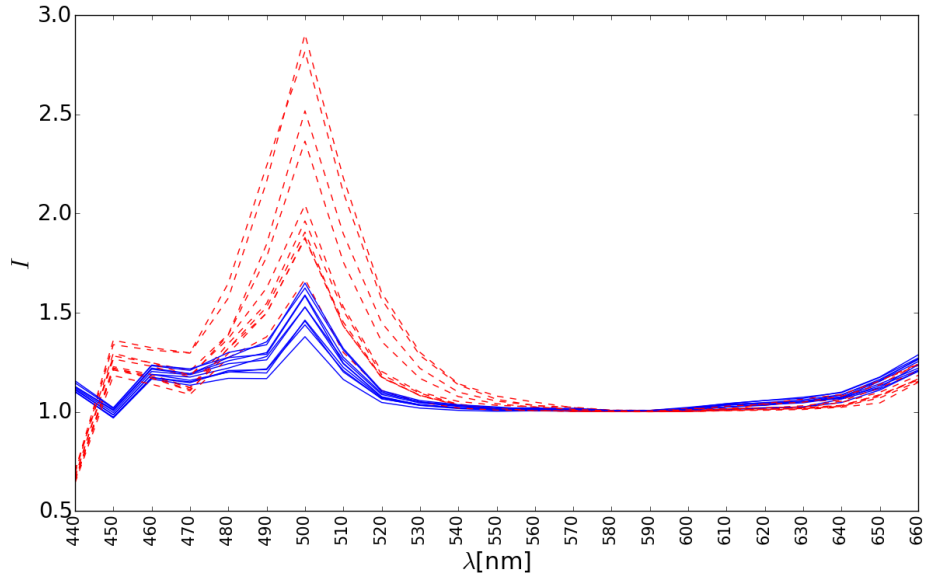


Şekil 4.3 Farklı pozlama değerleri için kolon dokusuna ait kanserli (kırmızı kesikli çizgi) ve sağlıklı hücrelerin (mavi sürekli çizgi) spektral imzaları. Grafiklerdeki pozlama değerleri: a) 1/6 sn b) 0.425 sn c) 1/15 sn d) 1/30 sn

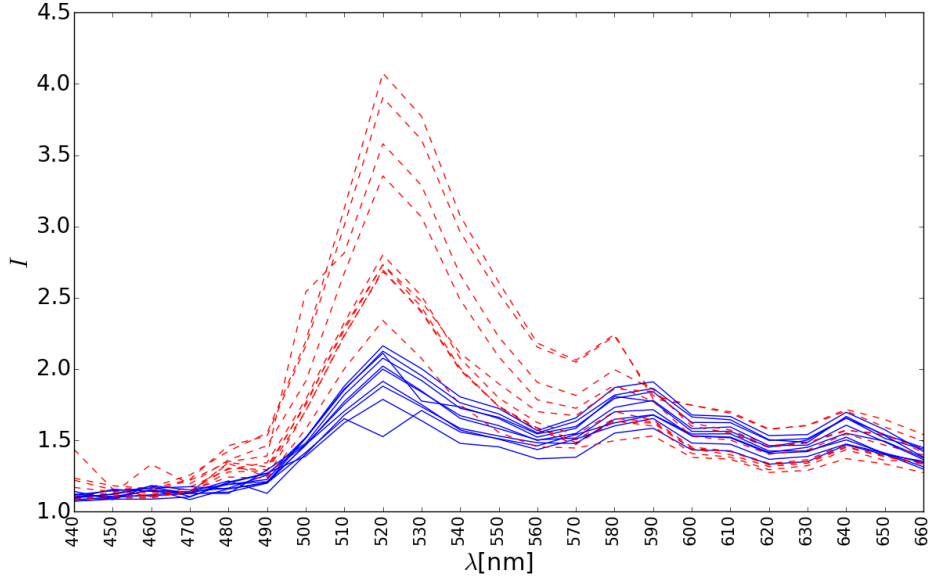
Hangi pozlama değerinde çalışılacağına daha doğru karar vermek için arka plan etkisi ortadan kaldırılıp normalizasyon yapıldıktan sonra elde edilen spektral imzalar incelendi. Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7' de 4 pozlama değeri için tüm bölgelere ait spektrumlar verildi.



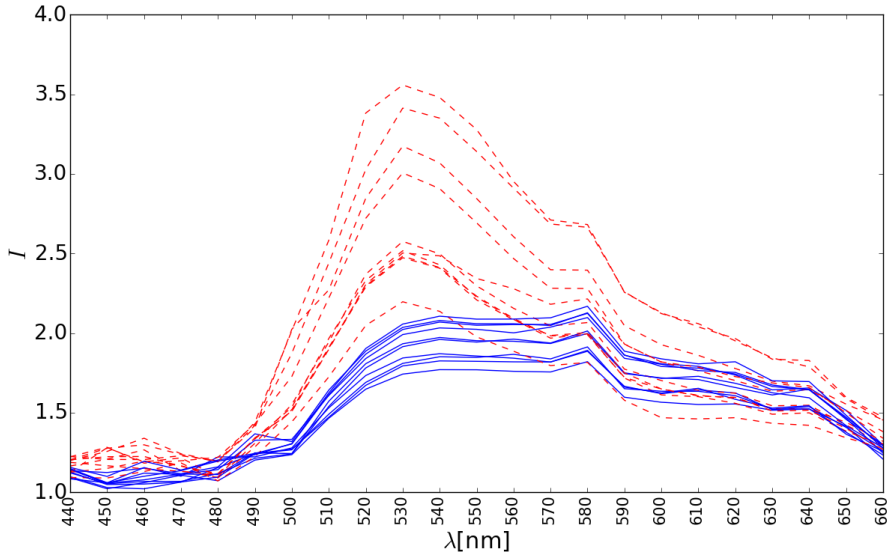
Şekil 4.4 1/6 sn pozlama süresinde sağlıklı(mavi sürekli çizgi) ve kanserli (kırmızı kesikli çizgi) kolon dokularından farklı bölgelerden alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar



Şekil 4.5 0.425 sn pozlama süresinde sağlıklı(mavi sürekli çizgi) ve kanserli (kırmızı kesikli çizgi) kolon dokularından farklı bölgelerden alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar

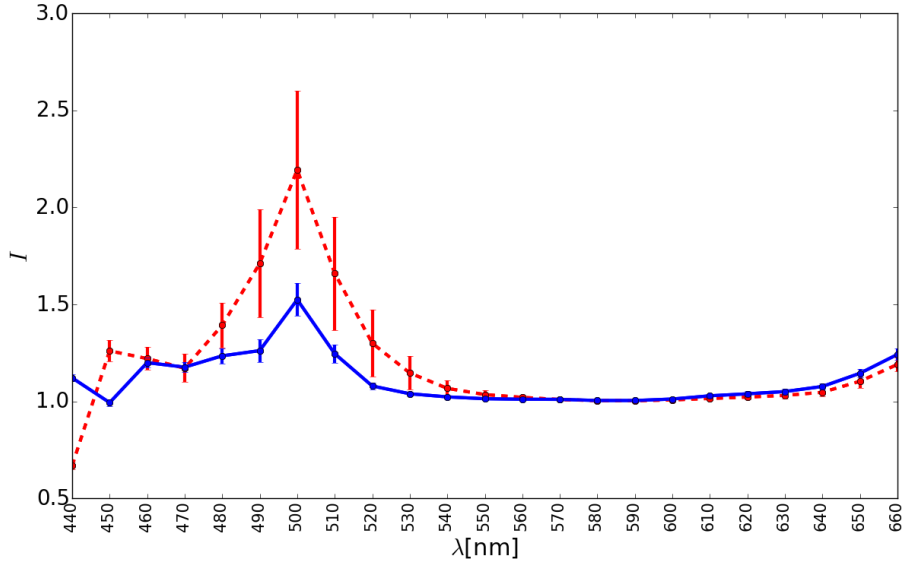


Şekil 4.6 1/15 sn pozlama süresinde sağlıklı(mavi sürekli çizgi) ve kanserli (kırmızı kesikli çizgi) kolon dokularından farklı bölgelerde alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar

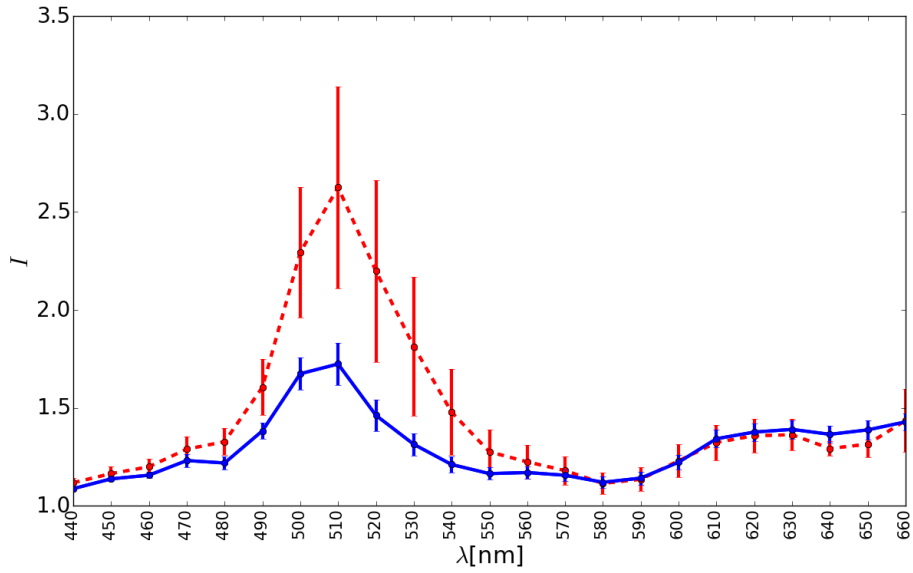


Şekil 4.7 1/30 sn pozlama süresinde sağlıklı(mavi sürekli çizgi) ve kanserli (kırmızı kesikli çizgi) kolon dokularından farklı bölgelerde alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar.

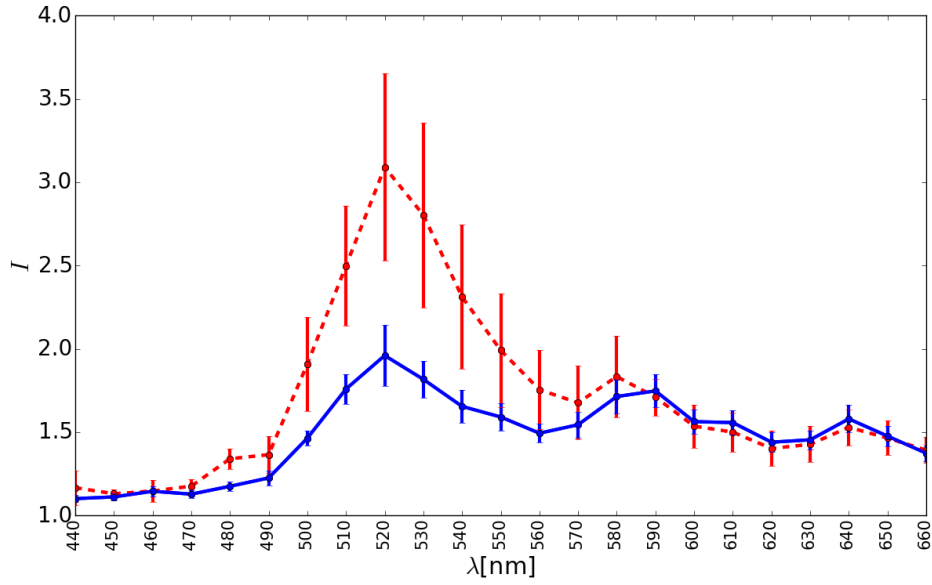
Sağlıklı ve kanserli kolon dokularından farklı bölgelerde alınan görüntülerden elde edilen spektrumların ortalaması alındı ve standart sapma hesaplandı. Daha sonra elde edilen ortalamaya ait veriler ile kolon dokusuna ait spektral imzalar çıkartıldı. 4 farklı pozlama değerine ait spektrumlar Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11' de verilmiştir. Standart sapmalar 10 farklı bölgeden alınan ölçümlerden elde edilmiştir.



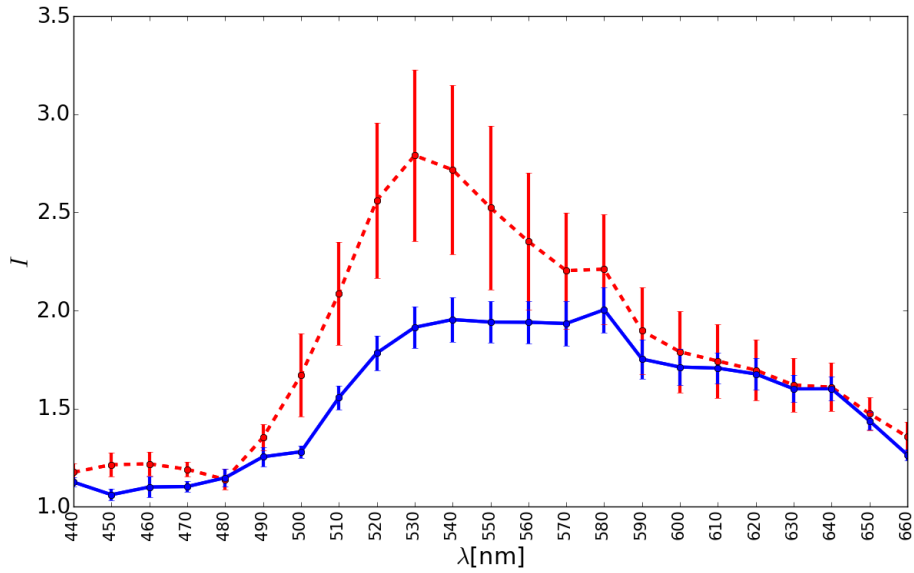
Şekil 4.8 1/6 sn pozlama süresinde Şekil 4.4' te verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi sağlıklı ve kırmızı kesikli çizgi kanserli kolon dokusuna aittir.



Şekil 4.9 0.425 sn pozlama süresinde Şekil 4.5' te verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi sağlıklı ve kırmızı kesikli çizgi kanserli kolon dokusuna aittir.

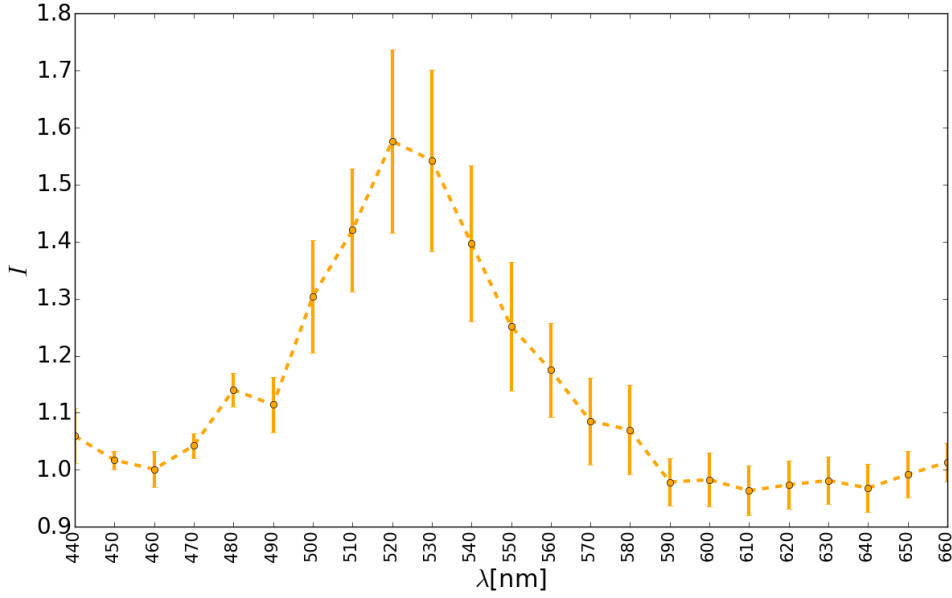


Şekil 4.10 1/15 sn pozlama süresinde Şekil 4.6' da verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi sağlıklı ve kırmızı kesikli çizgi kanserli kolon dokusuna aittir.



Şekil 4.11 1/30 sn pozlama süresinde Şekil 4.7' de verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi sağlıklı ve kırmızı kesikli çizgi kanserli kolon dokusuna aittir.

Kanserli ve sağlıklı dokudan 1/15 sn pozlama değerinde elde edilen spektrumların arasındaki ilişkiyi gözlemleyebilmek için bu iki spektrumun birbirine oranı bulundu. Standart sapma hesaplandı. Elde edilen sonuç Şekil 4.12' de görülmektedir.



Şekil 4.12 Şekil 4.10' da verilen kanserli ve sağlıklı dokuya ait spektrumların birbirlerine oranı ve standart sapma

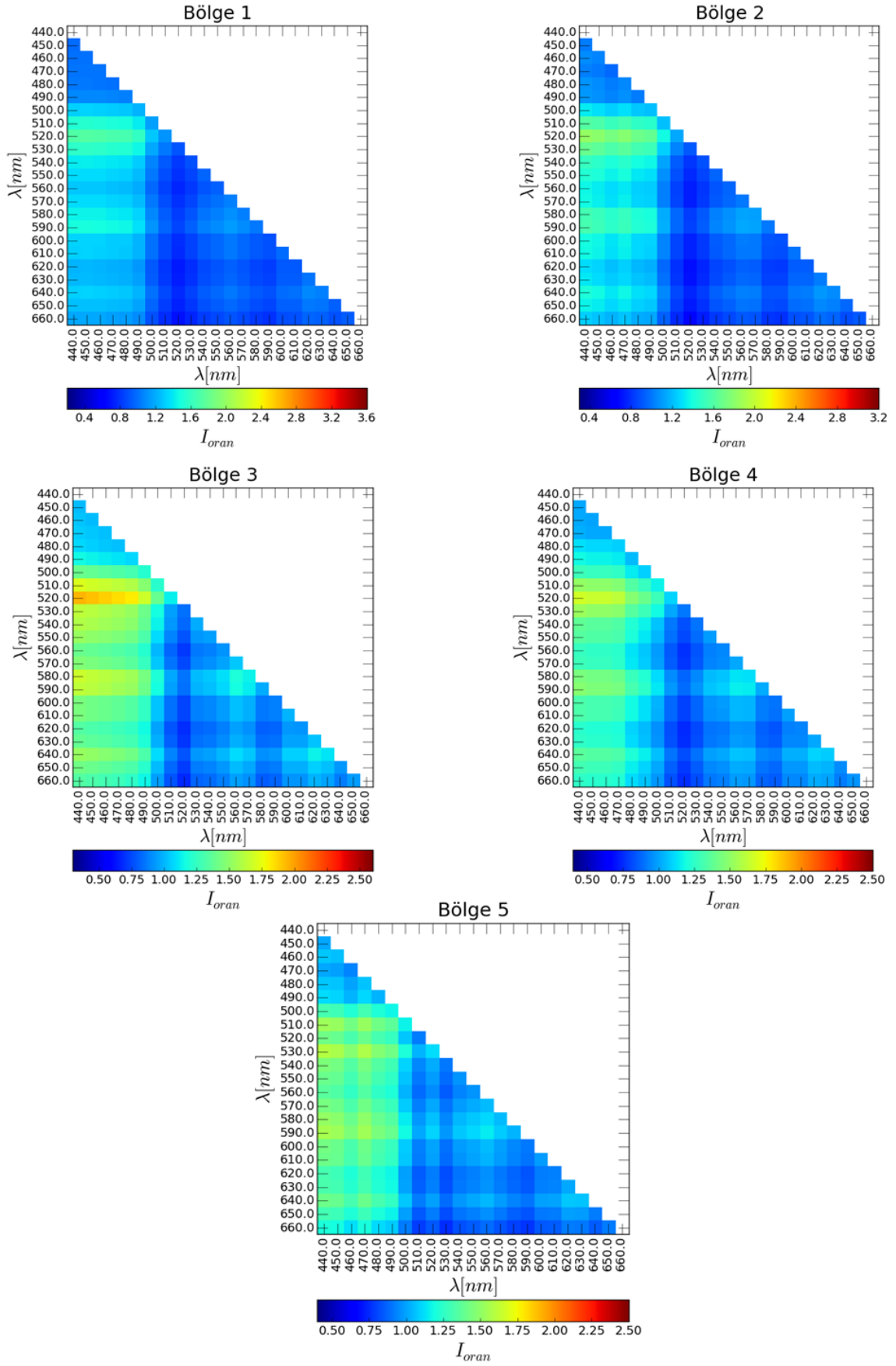
Daha önce de belirtildiği gibi pozlama değeri 1/6 ve 0.425 sn' de alınan görüntülerden elde edilen imzalar sağlıklı ve kanserli dokuya karar verir iken yanlış sonuçlar doğurabilir. Tüm dalga boylarında doyuma ulaşmayan, analizler için yeterli yoğunluğa sahip pozlama değerinin 1/15 sn olduğuna karar verildi. Özellikle 500-560 nm dalga boyu aralığında sağlıklı ve kanserli kolon dokusunun birbirlerinden net bir şekilde ayrılabilirdikleri görüldü. Bu sonuç HSI yönteminin kanserli ve sağlıklı kolon dokularını ayırt etmede kullanılabilmesi için umut vericidir.

4.1.1.2 Kolon dokusuna ait renk haritası

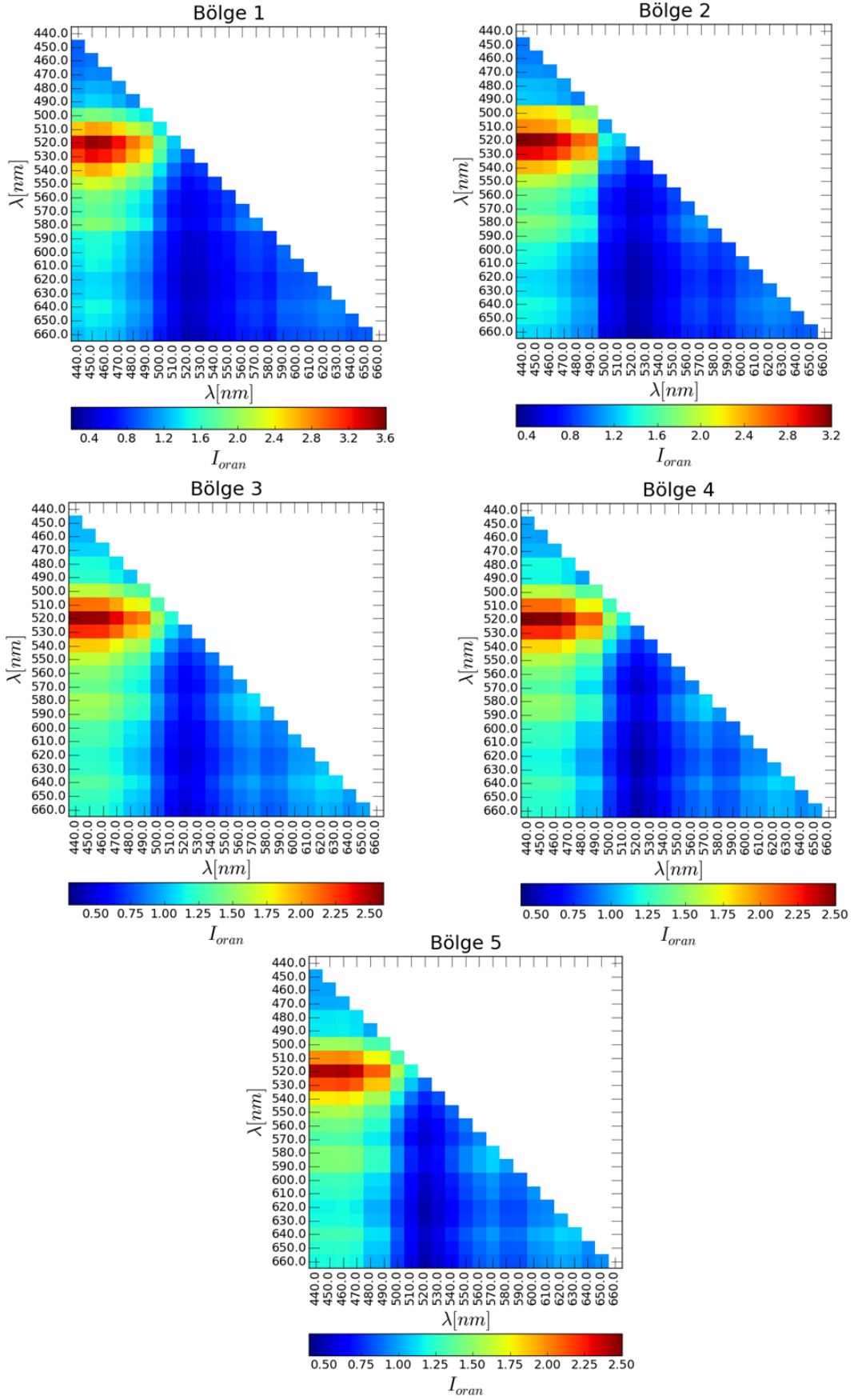
Sağlıklı ve kanserli dokuya ait spektral imzalar kıyaslandığı zaman 500-560 nm dalga boyu aralığında dokuların birbirlerinden farklı yoğunluklara sahip olduğu görüldü. Burada kıyaslanan dokuların aynı dalga boylarında sahip oldukları yoğunluk değerleridir. Bu başlık altında yapılan çalışmalarda ise farklı dalga boylarındaki yoğunlukların birbirleri ile karşılaştırılmasının dokuların ayırt edilmesinde belirleyici bir faktör olup olmayacağı araştırıldı. Bunun için Şekil 4.6' da mavi çizgi ile gösterilen sağlıklı kolon dokusuna ait 10 farklı bölgeden herhangi 5 tanesi seçildi. Renk haritası oluşturulurken bölgeler kendi içerisinde değerlendirildi. Her bir dalga boyuna karşılık gelen yoğunluk değerleri birbirine bölündü. 440-660 nm dalga boyu aralığı için 23 adet dalga boyunda görüntü alındığı düşünülürse bu 529 farklı olasılığı beraberinde getirmektedir. Bu kadar çok olasılık için elde edilen

sonuçlar renk haritasında gösterildi. Seçilen 5 adet bölgeye ait renk haritaları Şekil 4.13' de görülmektedir. Aynı işlemler kanserli kolon dokusu için de gerçekleştirildi (Şekil 4.14). Sağlıklı ve kanserli kolon dokusuna ait renk haritaları karşılaştırıldığı zaman birbirlerinden bariz bir Şekilde farklı oldukları görülmektedir. Bu Şekilde bir sonuç alınması doku türlerinin ayırımında bu yöntemin kullanılabileceğini gösterir.

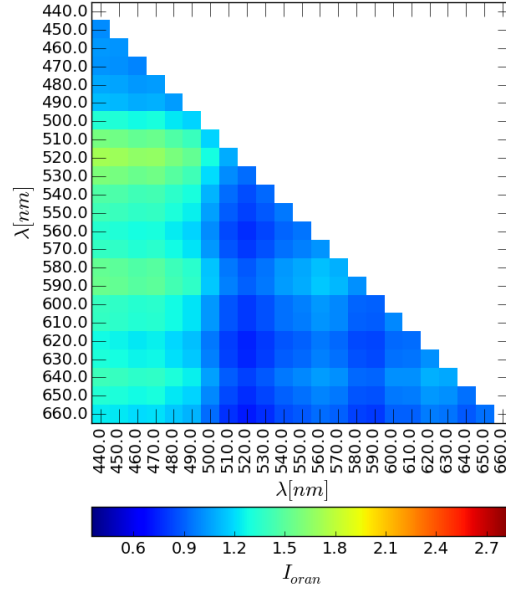
Sağlıklı ve kanserli hücrelerin renk haritalarını kullanarak birbirinden ayırt edilmesini ve dolayısıyla sınıflandırılabilmesine olanak sağlamak için bahsi geçen 5 farklı bölgeye ait renk haritası verilerinin ortalaması alındı. Bu işlem sonrasında elde edilen renk haritaları Şekil 4.15 ve Şekil 4.16' te görülmektedir. Bu görüntülere ait veriler sağlıklı ve kanserli referans olarak kabul edildi. Referanslar kullanılarak doku türünün belirlenip belirlenemeyeceği araştırıldı. Bu aşamada 5 farklı bölgeden daha görüntü alındı. Alınan bu görüntüler ile referans görüntülerin arasındaki ilişkiyi görmek için korelasyon katsayısı hesaplandı.



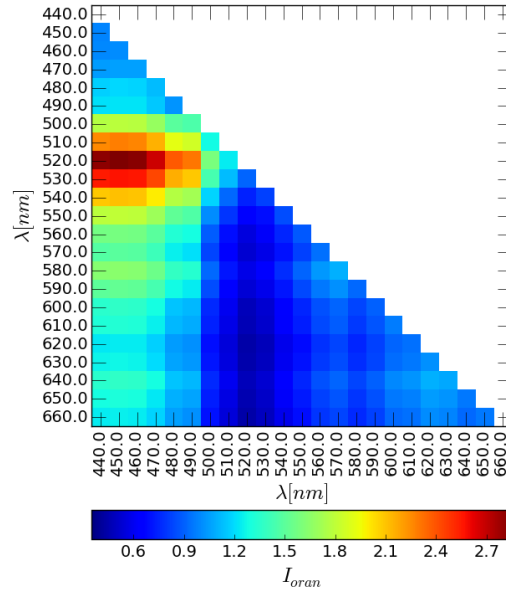
Şekil 4.13 Sağlıklı kolon dokusundan alınan 5 farklı bölgeye ait renk haritaları



Şekil 4.14 Kanserli kolon dokusundan alınan 5 farklı bölgeye ait renk haritaları



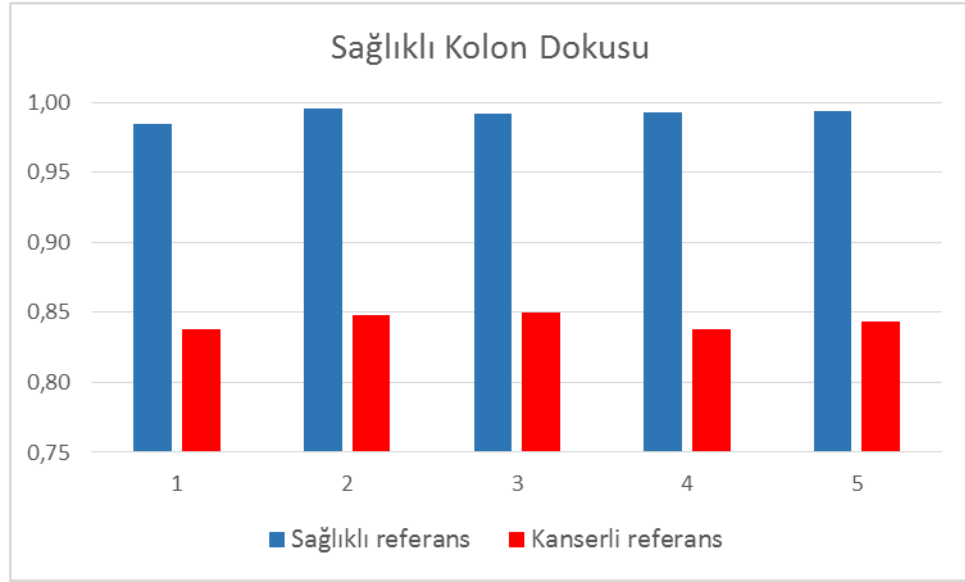
Şekil 4.15 Sağlıklı kolon dokusu için Şekil 4.13' te verilen bölgelere ait verilerin ortalamasının renk haritası.



Şekil 4.16 Kanserli kolon dokusu için Şekil 4.14' te verilen bölgelere ait verilerin ortalamasının renk haritası.

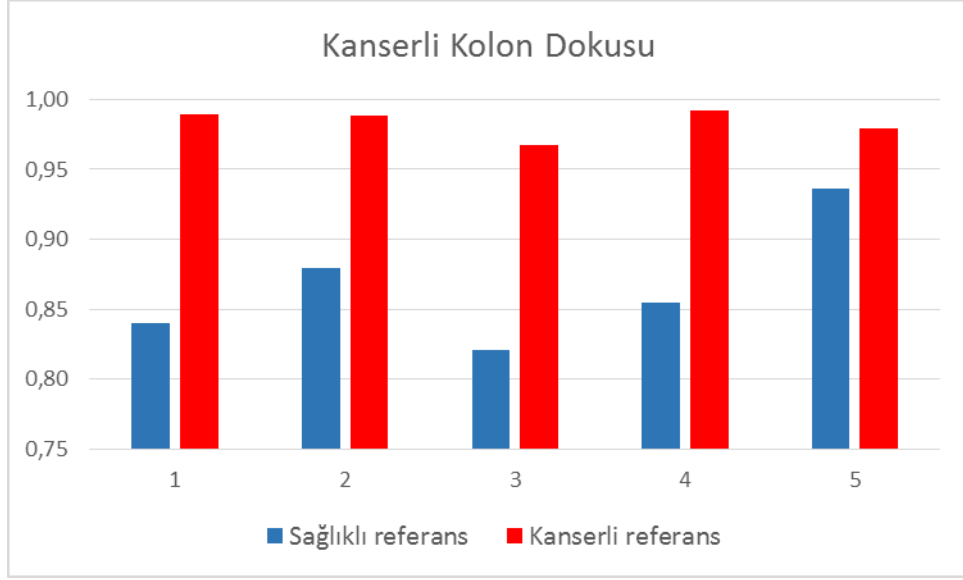
Korelasyon, iki sürekli değişken arasındaki olası bir doğrusal ilişkiyi değerlendirmek için kullanılan istatistiksel bir yöntemdir. Söz konusu değişkenler arasındaki varsayılan doğrusal ilişkinin gücünü temsil eden, -1 ile +1 arasında bir değer alan, korelasyon katsayısı adı verilen bir istatistikle ölçülür. Sıfır korelasyon katsayısı, iki sürekli değişken arasında doğrusal bir ilişki olmadığını gösterir. -1 veya +1 korelasyon katsayısı, mükemmel bir doğrusal ilişki olduğunu gösterir. İlişkinin gücü -1 ile +1 arasında herhangi bir yerde olabilir. Korelasyon ne kadar güçlüyse

korelasyon katsayısı ± 1 'e yaklaşıır. Katsayı pozitif bir sayı ise, değişkenler doğrudan ilişkilidir (yani, bir değişkenin değeri arttıkça, diğerinin değeri de aynı şekilde eğilimindedir). Öte yandan, katsayı negatif bir sayı ise, değişkenler ters ilişkilidir (yani, bir değişkenin değeri arttıkça, diğerinin değeri düşme eğilimindedir) [46]. Sağlıklı kolon dokusu için sağlıklı ve kanserli referansları kullanarak elde edilen korelasyon katsayıları grafiği Şekil 4.17' de verildi. Sağlıklı referansla elde edilen korelasyon katsayısının %98' in üzerinde olduğu görüldü.



Şekil 4.17 Sağlıklı ve kanserli referans verilerin 5 farklı bölgede alınan sağlıklı kolon dokusu ile korelasyon sonuçları

Kanserli kolon dokusu için yeni alınan 5 farklı bölgeye ait renk haritası verileri ile sağlıklı ve kanserli referansların korelasyonu sonucunda elde edilen korelasyon katsayıları Şekil 4.18' de verildi. Kanserli referansla elde edilen korelasyon katsayısının %96' nın üzerinde olduğu görüldü.



Şekil 4.18 Sağlıklı ve kanserli referans verilerin 5 farklı bölgede alınan kanserli kolon dokusu ile korelasyon sonuçları

4.1.2 Hodgkin Lenfoma dokusu üzerine yapılan çalışmalar

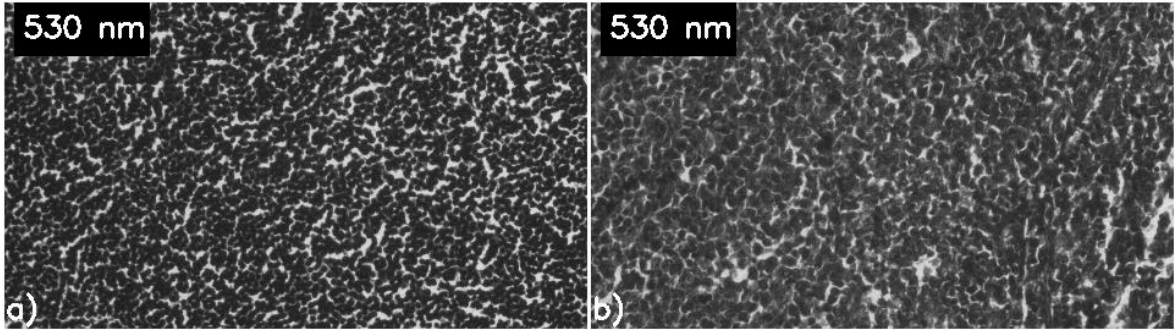
Hodgkin Lenfoma hastalığı, vücudun lenfatik sisteminde rastlanan kötü huylu bir hastalıktır. Lenf bezi kanseri olarak da isimlendirilir. Bu hastalıkta tanı koymak zor olmakla birlikte, deneyimli bir patoloğun biyopsi örneklerini incelemesini gerektirir. Hodgkin Lenfoma sınıflandırmasında birkaç yöntem kullanılır. Bu formüllerden biri de Working formülüdür. Bu yöntemde lenfomaların mikroskopik görüntülerine dayanarak düşük, orta ve yüksek olmak üzere 3 grupta sınıflandırma yapılır. Seçilecek tedavi yönteminin belirlenmesinde tümörün derecesinin tespiti önem arz ederr. Düşük dereceli lenfomada hastalık yavaş ilerler ve acil tedavi gerekmez. Orta ve yüksek dereceli lenfomalar hızla büyüebilir. Bu nedenle tanıdan hemen sonra tedavi gerektirirler [47].

Temin edilen Hodgkin Lenfoma örnekleri Working formülüne göre düşük ve yüksek dereceli lenfoma kategorisindedir. Bu örnekler kullanılarak HSI yöntemi ile tümör derecelerinin belirlenip belirlenemeyeceği araştırıldı.

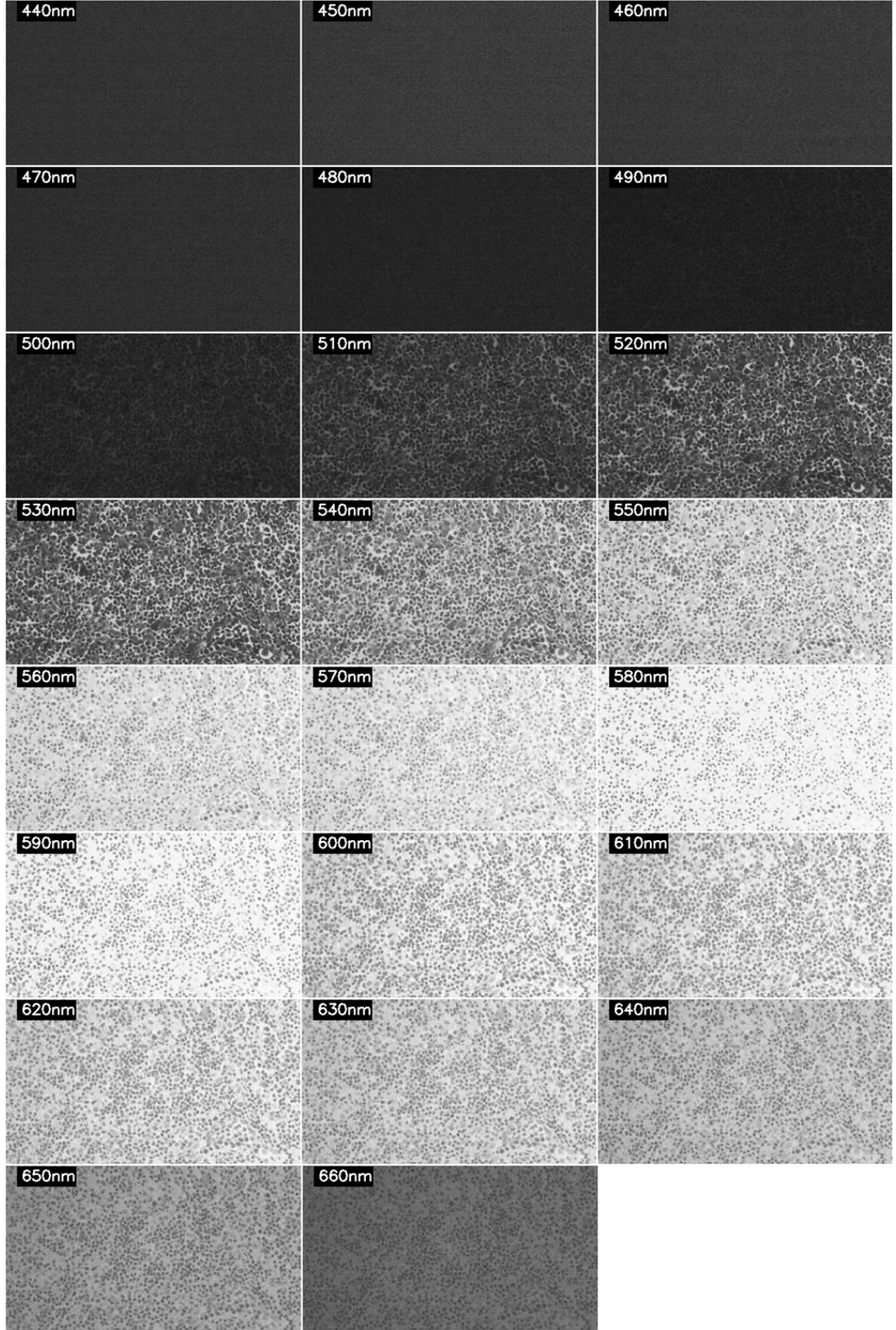
4.1.2.1 Hodgkin Lenfoma dokusuna ait spektral imza

Lam üzerinde sabitlenmiş düşük ve yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokularının her biri için 10' ar farklı bölgeden 440-660 nm dalga boyu aralığında 10' ar nm' lik artışlarla Çizelge 3.1' de verilen pozlama değerlerinde ölçümler alındı. Şekil 4.19'

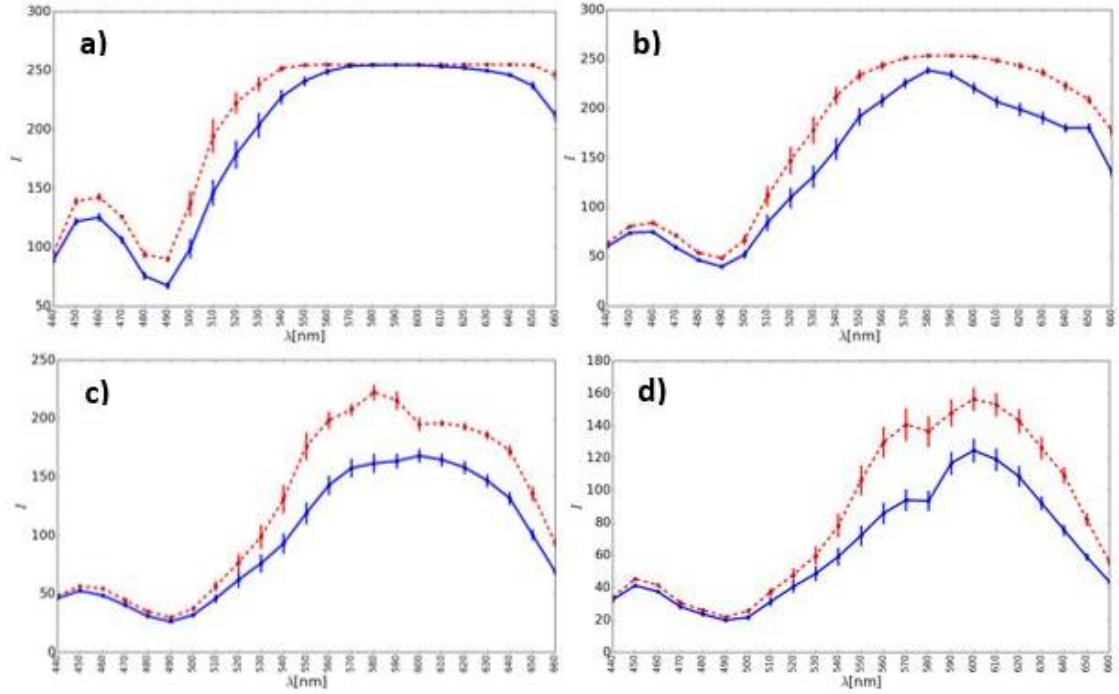
de düşük ve yüksek dereceli Hodgkin lenfoma dokusuna ait 530 nm dalga boyundaki görüntüler yer almaktadır. 1/15 sn pozlama değerinde yüksek dereceli lenfoma dokusundan alınan görüntüler Şekil 4.20' de görülmektedir. Her bir pozlama değeri için belirtilen dalga boyu aralığındaki görüntülere ait piksellerin ortalaması alındı ve Şekil 4.21' de görülen spektral imzalar elde edildi. Burada kırmızı kesikli çizgiler yüksek derece kansere sahip dokunun 10 farklı bölgedeki spektrumlarının ortalamasını gösterir. Mavi sürekli çizgiler ise düşük derece kansere sahip dokudan farklı bölgelerden elde edilen spektrumların ortalamasını gösterir. Şekil 4.21 a' da görülebileceği gibi: 1/6 sn pozlama değerinde alınan görüntülerden elde edilen spektral imza 560 nm dalga boyundan sonra doyuma gider. Bu durum 560-660 nm' de alınan doku örneklerinde 1/6 sn pozlama değerinde elde edilen verilerle değerlendirme yapılamayacağını gösterir.



Şekil 4.19 530 nm' de düşük(a) ve yüksek(b) dereceli Hodgkin lenfoma dokusundan alınan görüntüler

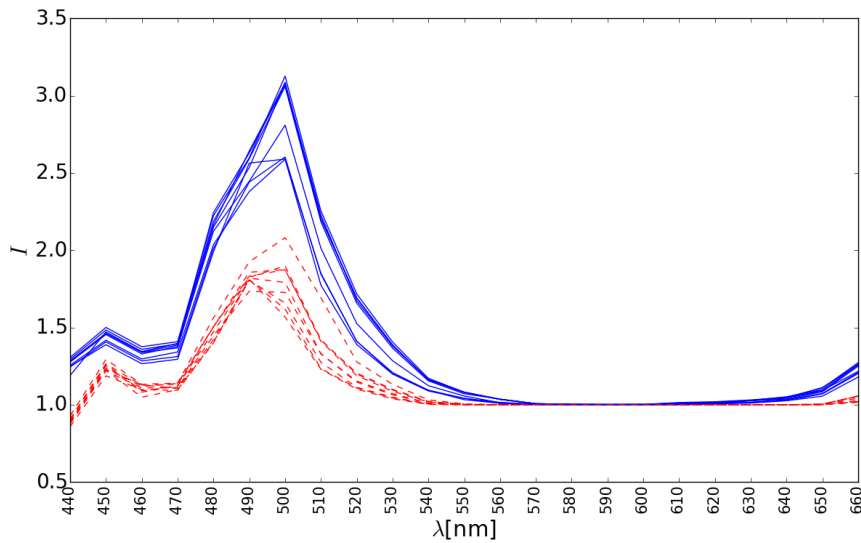


Şekil 4.20 1/15 sn pozlama değeriinde yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusuna ait herhangi bir bölgeden 440-660 nm dalga boyu aralığında alınan görüntüler.

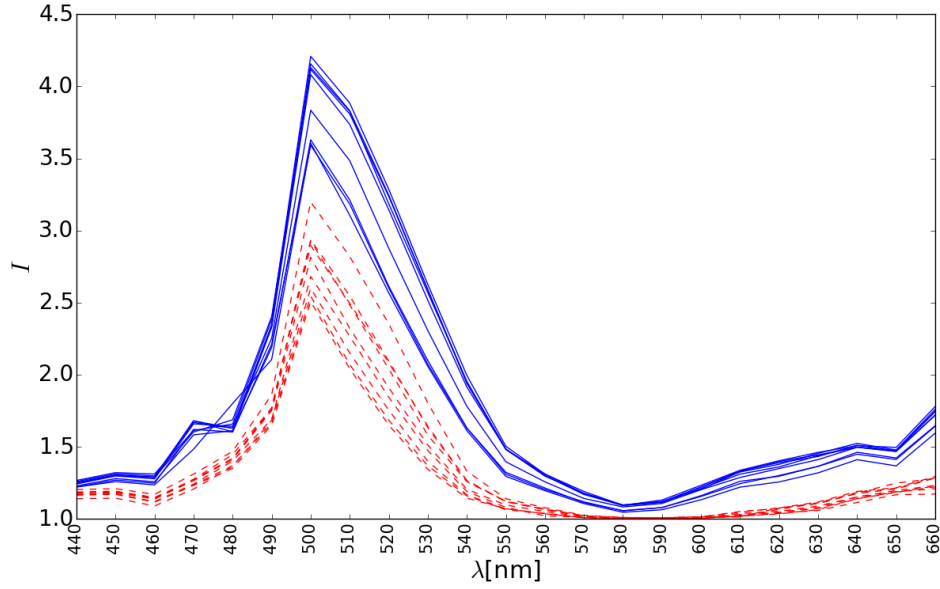


Şekil 4.21 Farklı pozlama değerleri için Hodgkin Lenfoma dokusuna ait yüksek derece (kırmızı kesikli çizgi) ve düşük dereceli (mavi sürekli çizgi) kansere sahip hücrelerin spektral imzaları. Grafiklerdeki pozlama değerleri: a) 1/6 sn b) 0.425 sn c) 1/15 sn d) 1/30 sn

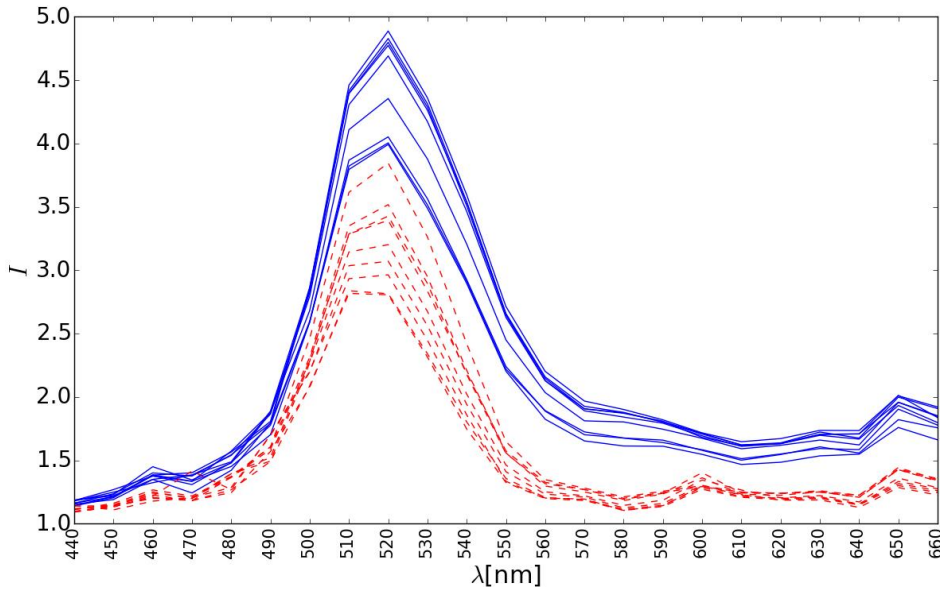
Hangi pozlama değerinde çalışılacağına daha doğru karar vermek için arka plan etkisi ortadan kaldırılıp normalizasyondan sonra elde edilen spektral imzalar incelendi. Şekil 4.22, Şekil 4.23, Şekil 4.24 ve Şekil 4.25' de 4 pozlama değeri için tüm bölgelere ait spektrumlar verildi.



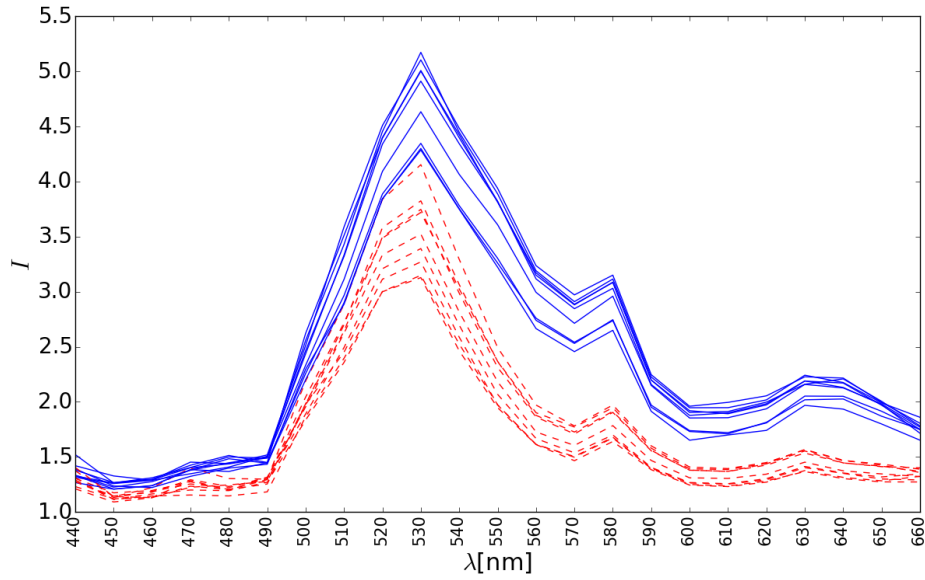
Şekil 4.22 1/6 sn pozlama süresinde yüksek derece (kırmızı kesikli çizgi) ve düşük dereceli (mavi sürekli çizgi) kansere sahip Hodgkin Lenfoma dokusuna ait farklı bölgelerden alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar.



Şekil 4.23 0.425 sn pozlama süresinde yüksek derece (kırmızı kesikli çizgi) ve düşük dereceli (mavi sürekli çizgi) kansere sahip Hodgkin Lenfoma dokusuna ait farklı bölgelerden alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar.

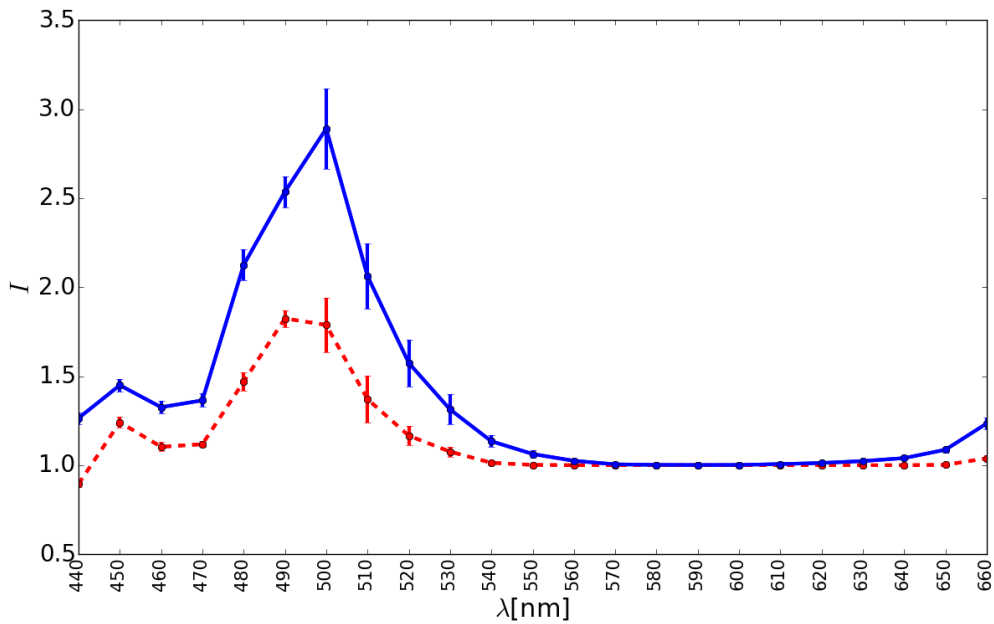


Şekil 4.24 1/15 sn pozlama süresinde yüksek derece (kırmızı kesikli çizgi) ve düşük dereceli (mavi sürekli çizgi) kansere sahip Hodgkin Lenfoma dokusuna ait farklı bölgelerden alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar.

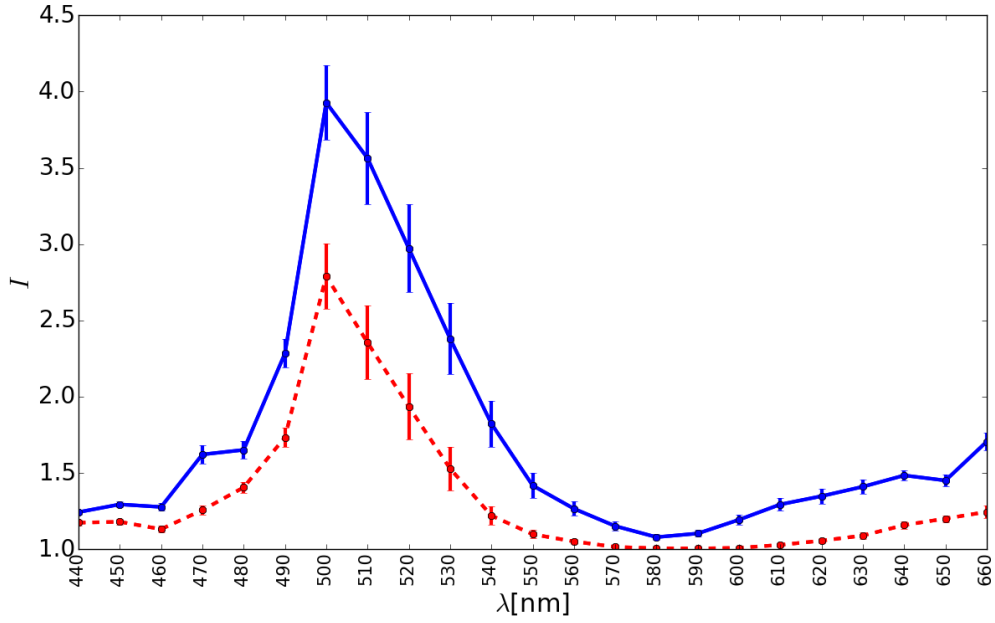


Şekil 4.25 1/30 sn pozlama süresinde yüksek derece (kırmızı kesikli çizgi) ve düşük dereceli (mavi sürekli çizgi) kansere sahip Hodgkin Lenfoma dokusuna ait farklı bölgelerden alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektral imzalar.

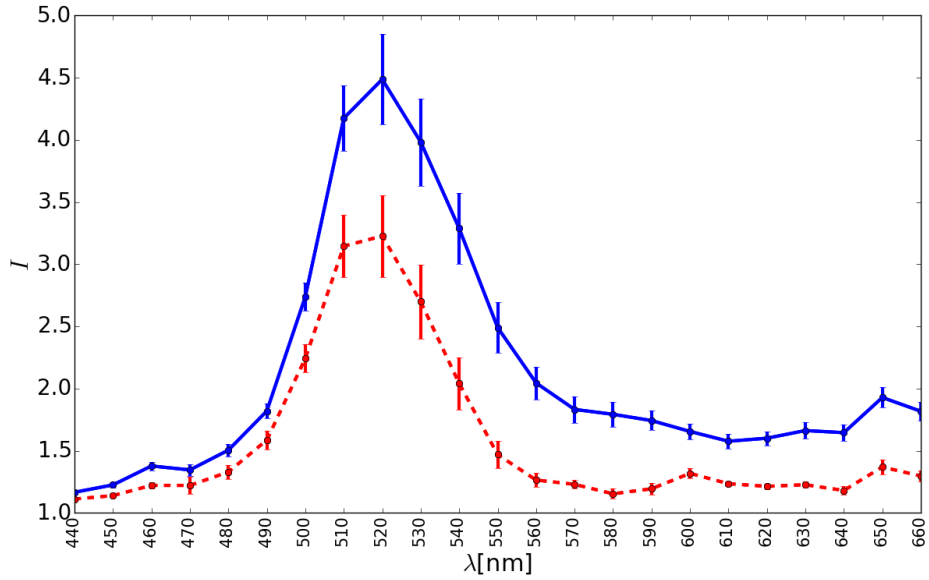
Düşük ve yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokularından farklı bölgelerde alınan görüntülerden normalizasyon işlemi sonrasında elde edilen spektrumların ortalamasının alınması sonucunda Şekil 4.26, Şekil 4.27, Şekil 4.28 ve Şekil 4.29' da verilen spektral imzalar elde edildi. Standart sapmalar 10 farklı bölgeden alınan ölçümlerden elde edilmiştir.



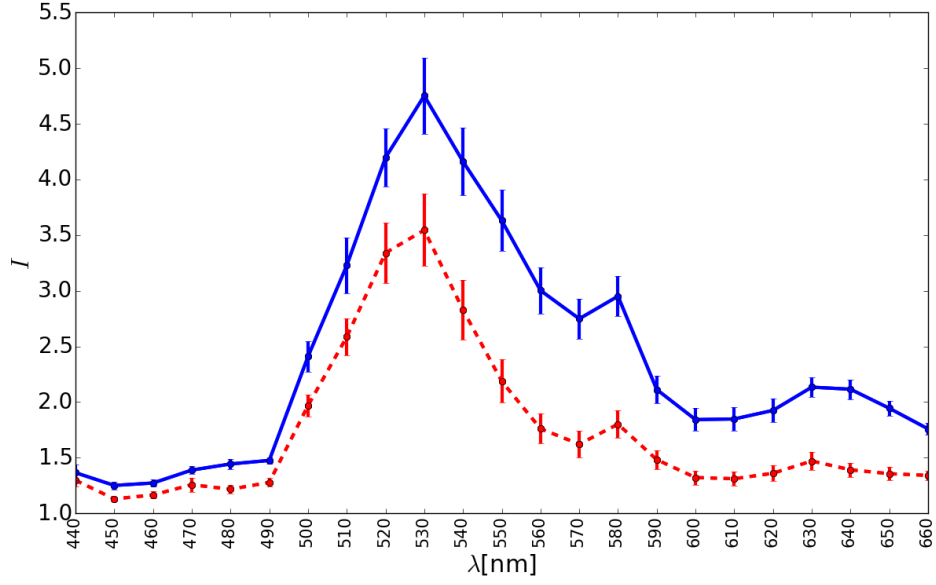
Şekil 4.26 1/6 sn pozlama süresinde Şekil 4.22' de verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi düşük dereceli ve kırmızı kesikli çizgi yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusuna aittir.



Şekil 4.27 0.425 sn pozlama süresinde Şekil 4.23' te verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi düşük dereceli ve kırmızı kesikli çizgi yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusuna aittir.

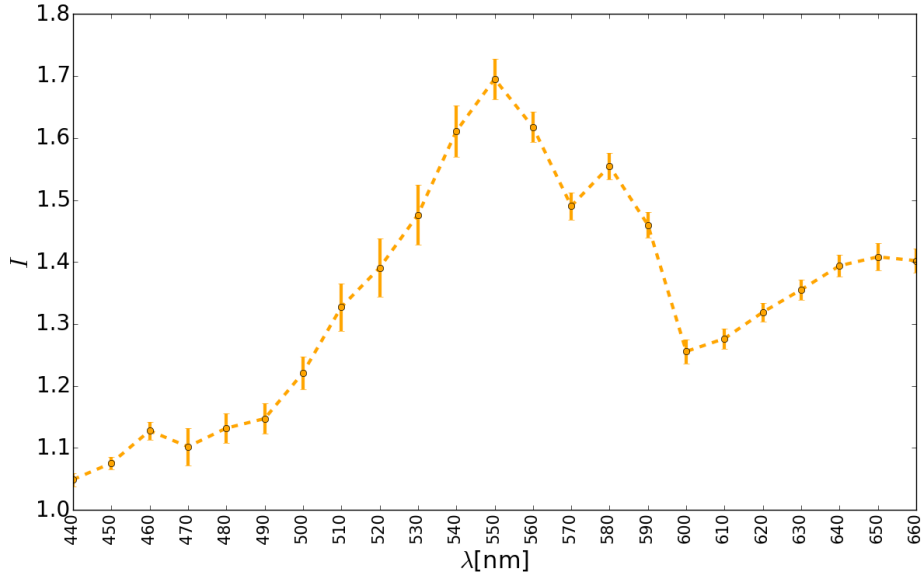


Şekil 4.28 1/15 sn pozlama süresinde Şekil 4.24' te verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi düşük dereceli ve kırmızı kesikli çizgi yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusuna aittir.



Şekil 4.29 1/30 sn pozlama süresinde Şekil 4.25' de verilen bölgelere ait spektrumların ortalaması ve standart sapması. Mavi sürekli çizgi düşük dereceli ve kırmızı kesikli çizgi yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusuna aittir.

Düşük ve yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusundan 1/15 sn pozlama değerinde elde edilen spektrumların arasındaki ilişkiyi gözlemleyebilmek için bu iki spektrumun birbirine oranı bulundu. Standart sapma değeri hesaplandı Elde edilen sonuç Şekil 4.30' da görülmektedir.



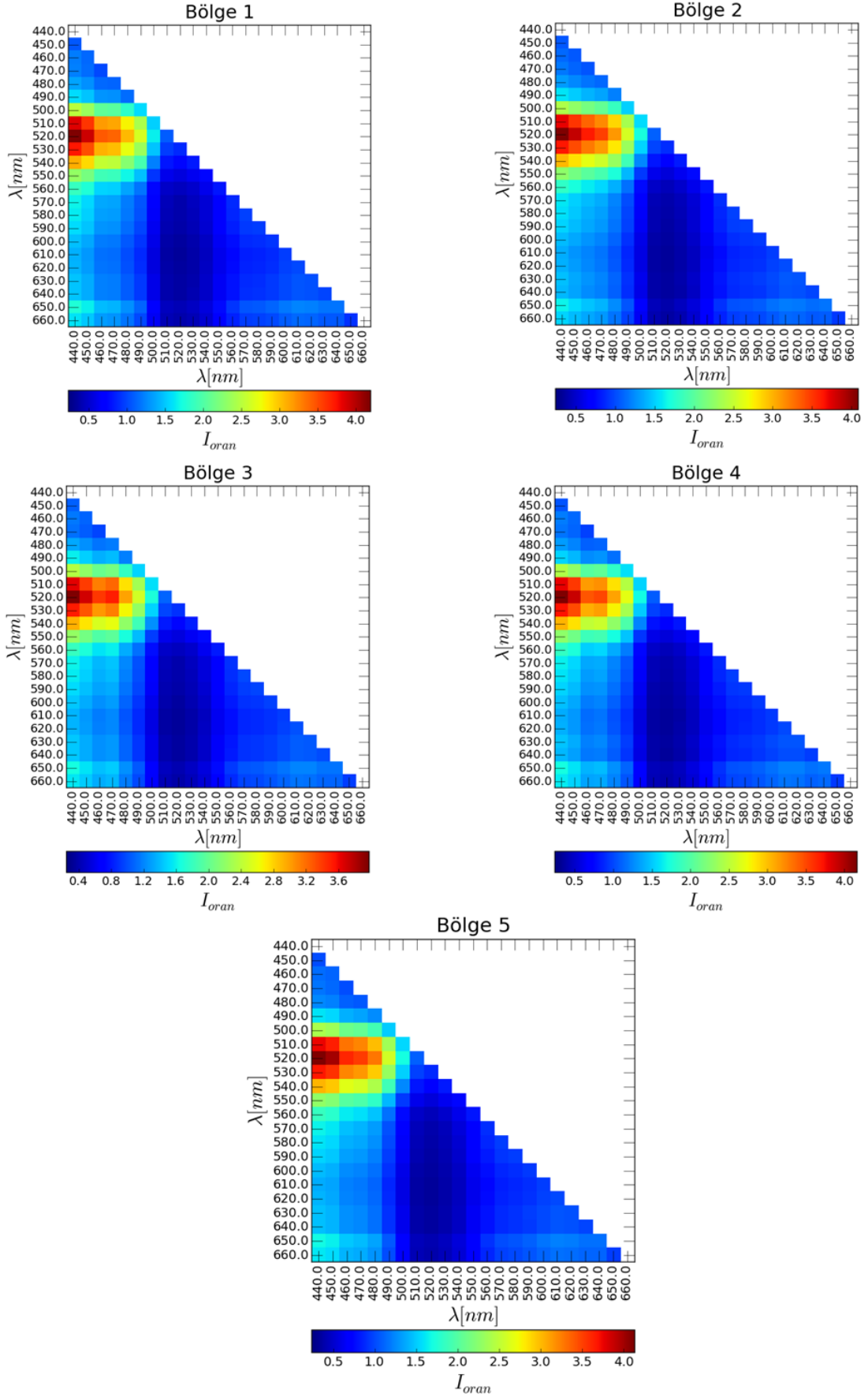
Şekil 4.30 Şekil 4.28' de verilen düşük ve yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusuna ait spektrumların birbirlerine oranı ve standart sapma

Pozlama değeri 1/6 sn' de alınan görüntülerden elde edilen spektral imzanın 560 nm sonrasında doyuma gittiği görüldü. Bu nedenle kanser derecesine karar verirken

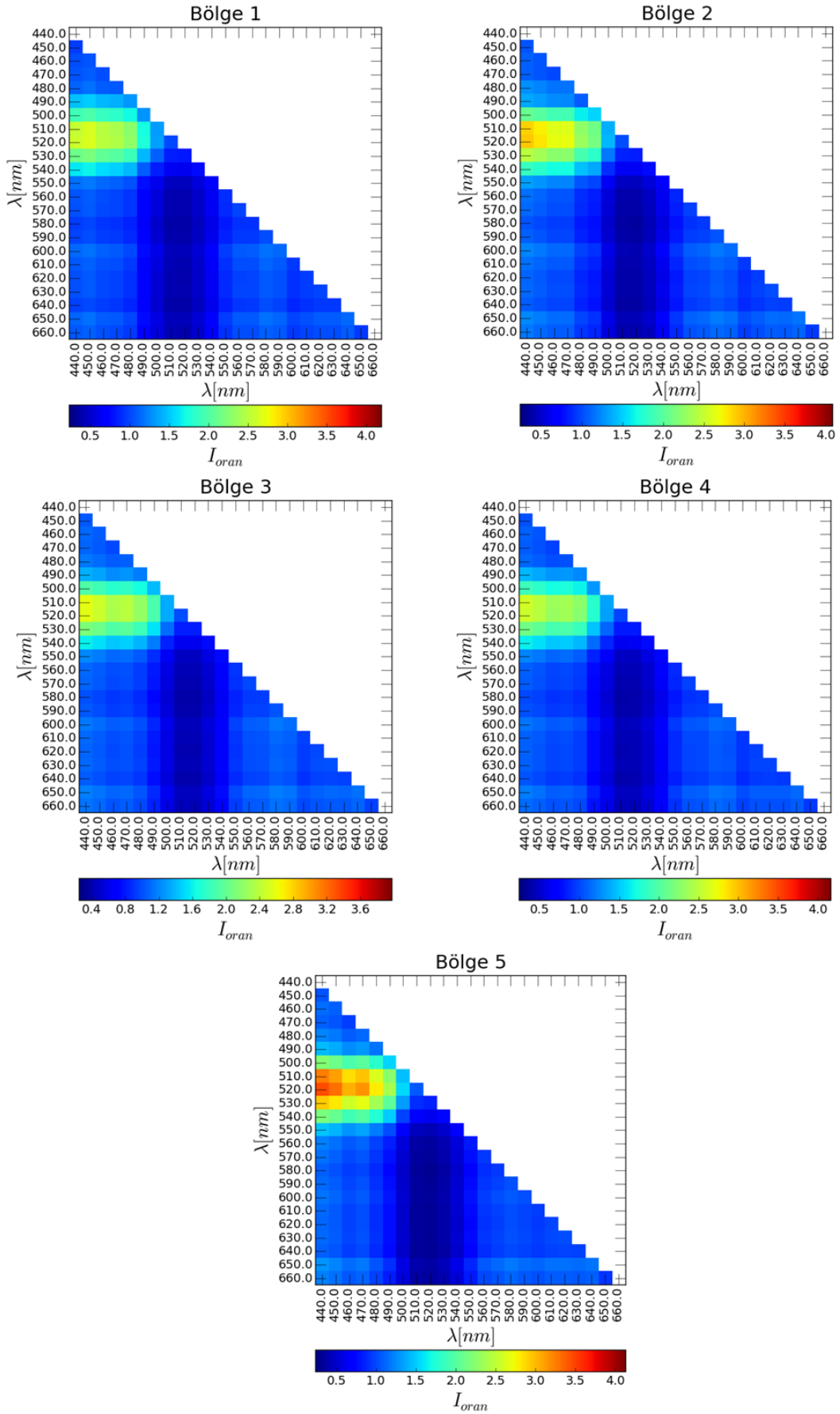
1/6 sn pozlama değerinin kullanılması doğru olmayacaktır. 1/15 sn de alınan görüntülerin ve elde edilen spektrumun kontrast ve yoğunluk değeri analizler için uygun ve yeterlidir. Spektrumlarda gözlenen bu yoğunluk farklılıkları kanserli dokunun derecelerine göre birbirlerinden ayrılabilceğinin kanıtıdır.

4.1.2.2 Hodgkin Lenfoma dokusuna ait renk haritası

Bu başlık altında yapılan çalışmalarda farklı dalga boylarındaki yoğunlukların birbirleri ile karşılaştırılmasının kanser derecesinin ayırt edilmesinde belirleyici faktör olup olmayacağı araştırıldı. Bunun için Şekil 4.24' te mavi çizgi ile gösterilen düşük dereceli lenfoma dokusuna ait 10 farklı bölgeden herhangi 5 tanesi seçildi. Renk haritası oluşturulurken bölgeler kendi içerisinde değerlendirildi. Her bir dalga boyuna karşılık gelen yoğunluk değerleri birbirine bölündü. 440-660 nm dalga boyu aralığı için elde edilen sonuçlar renk haritasında gösterildi. Seçilen 5 adet bölgeye ait renk haritaları Şekil 4.31' de görülmektedir. Aynı işlemler yüksek dereceli lenfoma dokusu için de gerçekleştirildi (Şekil 4.32). Düşük ve yüksek dereceli lenfoma dokularına ait renk haritaları karşılaştırıldığı zaman birbirlerinden bariz bir Şekilde farklı oldukları görülmektedir. Elde edilen bu sonuç, doku türlerinin ayırımında bu yöntemin kullanılabileceğini gösterir.

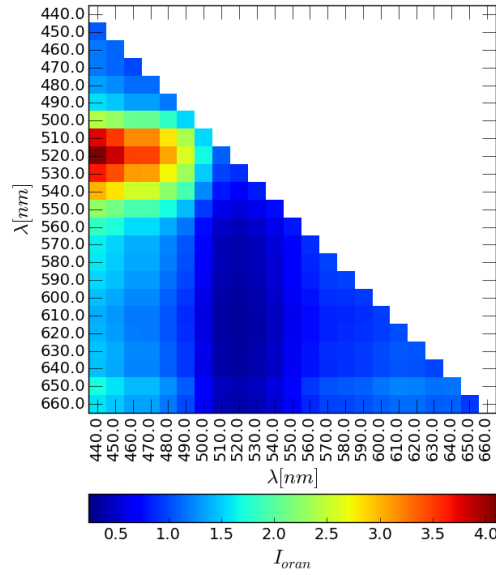


Şekil 4.31 Düşük dereceli Hodgkin Lenfoma dokusundan alınan 5 farklı bölgeye ait renk haritaları

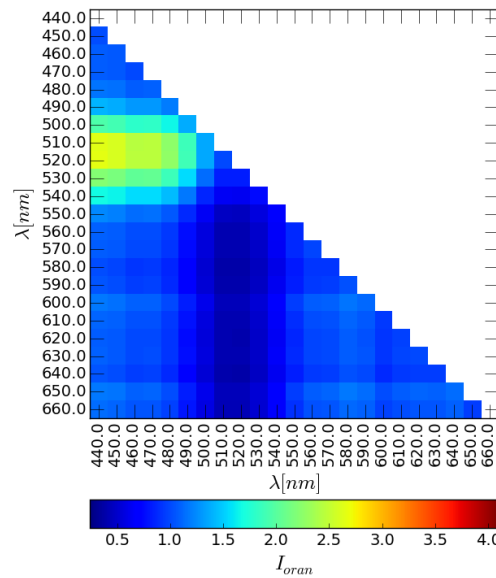


Şekil 4.32 Yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusundan alınan 5 farklı bölgeye ait renk haritaları

Düşük ve yüksek dereceli lenfoma dokularının renk haritalarını kullanarak sınıflandırılabilmesine olanak sağlamak için bahsi geçen 5 farklı bölgeye ait renk haritası verilerinin ortalaması alındı. Bu işlem sonrasında elde edilen renk haritaları Şekil 4.33 ve Şekil 4.34' te görülmektedir. Bu görüntülere ait veriler düşük dereceli ve yüksek dereceli referans olarak kabul edildi. Referanslar kullanılarak doku türünün belirlenip belirlenemeyeceği araştırıldı. Bu aşamada 5 farklı bölgeden daha görüntü alındı. Alınan bu görüntüler ile referans görüntülerin arasındaki ilişkiyi görmek için korelasyon katsayısı hesaplandı.

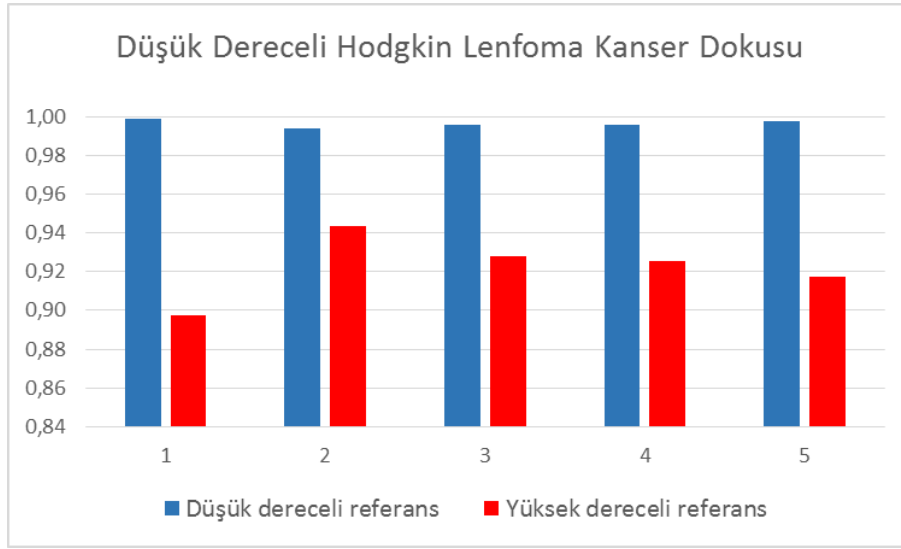


Şekil 4.33 Düşük dereceli Hodgkin Lenfoma dokusu için Şekil 4.31' de verilen bölgelere ait verilerin ortalamasının renk haritası.

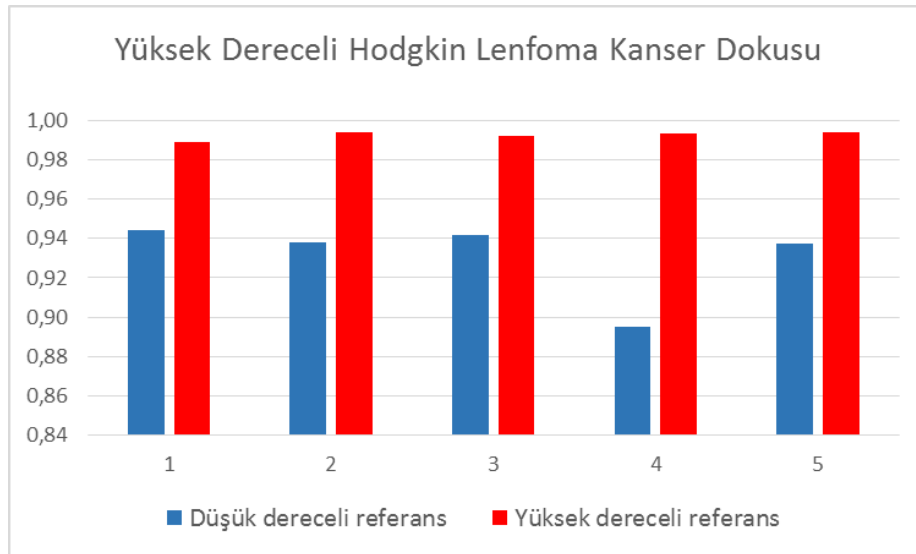


Şekil 4.34 Yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusu için Şekil 4.32' de verilen bölgelere ait verilerin ortalamasının renk haritası.

Düşük dereceli ve yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma kanserinin ayırt edilebilirliğini gözlemek için düşük dereceli ve yüksek dereceli referanslar ile farklı 5 bölgeden alınan görüntülere ait renk haritası verileri korelasyona tabi tutuldu. Elde edilen korelasyon katsayıları kıyaslandı. Düşük dereceli Hodgkin Lenfoma dokusu için düşük dereceli referansla elde edilen korelasyon katsayısının %99' un üzerinde olduğu görüldü (Şekil 4.35). Yüksek dereceli lenfoma için de aynı şekilde yüksek dereceli referansla elde edilen korelasyon katsayısının %98' in üzerinde olduğu Şekil 4.36' da görülür.



Şekil 4.35 Düşük dereceli ve yüksek dereceli referans verileri ile 5 farklı bölgeden alınan düşük dereceli Hodgkin Lenfoma dokusunun korelasyon sonuçları



Şekil 4.36 Düşük dereceli ve yüksek dereceli referans verileri ile 5 farklı bölgeden alınan yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusunun korelasyon sonuçları

5. TARTIŞMA

5.1 Spektral İmza Eldesi ve Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, sağlıklı ve kanserli dokuların tespit edilmesini sağlayacak bir sistem geliştirildi. Marmara Üniversitesi tarafından sağlanan sağlıklı ve kanserli kolon dokusu hücrelerinin mikroskopik seviye görüntüleri, görünür ışığın bitişik dalga boyu aralıklarında HSI teknolojisi kullanılarak elde edildi. Ayrıca kanser seviyesinin ayırt edilmesinde HSI yönteminin kullanılıp kullanılmayacağı araştırıldı. Bunun için Hacettepe Üniversitesi Patoloji bölümünden sağlanan düşük ve yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokusu örnekleri kullanıldı.

440-660 nm dalga boyu aralığında 10' ar nm artışlarla her bir dokunun görüntüsü alındı. Ancak kullanılan ışık kaynağının spektrumu nedeniyle dalga boyu değiştikçe kontrastın da değiştiği görüldü. Bu nedenle her bir dalga boyu için kontrastın en iyi olduğu pozlama değerlerine karar verildi (Çizelge 3.1). Belirlenen 4 adet pozlama değeri için 10 farklı bölgeden 23 adet dalga boyunda görüntü alındı. Bu işlem hem sağlıklı hem de kanserli doku için tekrarlandı. Ayrıca arka plan görüntüleri de alındı. Alınan görüntülerdeki gürültüyü kaldırmak için gaussian filtre kullanıldı. Daha sonra her bir dalga boyu için arka plan ve dokuya ait görüntüler birbirlerine bölündü. Bunu yapmaktaki amaç lamda ve optik sistemin görünmeyen bölgelerinde tozdan kaynaklı olarak analizlerde meydana gelebilecek hataların önüne geçmektir. Normalizasyon işlemi tamamlanan görüntülerin piksel değerlerinin ortalaması alındı ve tüm bölgelerdeki dalga boyu-yoğunluk grafikleri her bir pozlama değeri için çizdirildi.

Kolon dokusuna ait dalga boyu-yoğunluk grafikleri Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7' de görülmektedir. Bu grafiklerdeki her bir bölge için ortalama spektrum çıkartıldı ve standart sapma hesaplanarak çizdirildi (Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11). Grafiklere bakarak 1/6 ve 0.425 sn pozlama değerlerinde 560 nm sonrasında görüntülerin doyuma gittiği görülür. Geri kalan dalga boylarında görüntüler yeterli yoğunluğa sahip olmadıkları için bu pozlama değerlerinin doku türünü tespit etmede kullanılmaması gerektiğine karar verildi. 1/15 ve 1/30 sn pozlama değerlerindeki spektral imzalar ve alınan görüntüler incelendi. 1/15 sn de alınan görüntüler tüm dalga boyları için yeterli yoğunluğa sahiptir ve doyuma

gitmemiştir. Bu nedenle analizler için 1/15 sn de alınan görüntülere ait verilerin kullanılmasına karar verildi.

Literatürde Masood ve Rajpoot [20] kolon dokusunu HSI yöntemi ile incelediler. Dokuyu çekirdek, sitoplazma ve bağ dokusu olarak 3 farklı bölüme ayırarak incelemişlerdir. HSI yönteminin benign ve malign dokuları ayırt etmek için kullanılabilirliğini; ancak 588 nm' de daha iyi sınıflandırma sonucu elde edildiği görüldüğü için tek bir bant üzerinde dokusal analiz yaparak, karşılaştırılabilir sınıflandırma sonuçlarına ulaşılabileceğini iddia etmişlerdir. Bu çalışma kapsamında ise 500-560 nm dalga boyu aralığında dokuların birbirlerinden net bir şekilde ayrıldıkları görülmüştür. Kullanılan ışık kaynağı ve onun spektrumuna bağlı olarak dalga boyları ve yoğunluk değerlerinde farklılık gözlenebilir.

Hodgkin Lenfoma dokusuna ait dalga boyu-yoğunluk grafikleri Şekil 4.22, Şekil 4.23, Şekil 4.24 ve Şekil 4.25' te görülmektedir. Bu grafiklerdeki her bir bölge için ortalama spektrum çıkartıldı ve standart sapma hesaplanarak çizdirildi (Şekil 4.26, Şekil 4.27, Şekil 4.28, Şekil 4.29). Grafiklere bakarak 1/6 pozlama değerlerinde 560 nm sonrasında görüntülerin doyuma gittiği görülür. 1/15 sn de alınan görüntüler tüm dalga boyları için doyuma gitmemiştir. Ayrıca yeterli yoğunluğa ve kontrasta sahiptir olması nedeniyle, analizler de 1/15 sn pozlama değerinde elde edilen görüntülerin kullanılmasına karar verildi. Spektrumlarda gözlenen yoğunluk farklılıkları kanserli dokunun derecelerine göre birbirlerinden ayrılabilirliğinin kanıtıdır.

Siddiqi ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada [48] prekanseröz ve kanserli servikal sitolojik preparatlar HSI yöntemi ile değerlendirilmişlerdir. Ayrıca düşük ve yüksek dereceli rahim ağzı kanserine sahip pap testlerini değerlendirmişlerdir. Düşük derece ve yüksek derece kanseri ayırt edebilmişlerdir. Özellikle, klasik mikroskopik incelemelerde yüksek dereceli serviks kanserinin teşhisinin zor olduğunu ancak bu yöntemde hücrelerin saptanma duyarlılığının yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Literatürde lenfoma kanserine ilişkin bu tarz çalışma bulunmamakla birlikte elde edilen sonuçlar düşük ve yüksek derece Hodgkin Lenfoma dokusuna ait spektrumların birbirlerinden farklı olduklarını ve HSI yöntemi ile incelenmesinin teşhis için yardımcı olabileceğini gösterir.

5.2 Renk Haritasının Çıkarılması ve Değerlendirilmesi

Dokuların aynı dalga boylarında sahip oldukları yoğunluk değerleri kıyaslandı ve birbirlerinden ayrılabilirlikleri görüldü. Buna alternatif bir yöntem olarak elde edilen spektral imzalardan farklı dalga boylarındaki yoğunlukların birbirleri ile karşılaştırılmasının dokuların ayırt edilmesinde belirleyici bir faktör olup olmayacağı araştırıldı. Öncelikle 5 farklı bölgeden görüntü alındı. Tüm bölgeler ve tüm doku türleri için tek tek dalga boyları arasındaki oran hesaplandı. Bunun için sağlıklı kolon dokusuna ait spektral imzalardan her bir dalga boyundaki yoğunlukların birbirine oranı hesaplandı. Bu işlem diğer doku örnekleri için de yapıldı. Her bir dalga boyuna karşılık gelen yoğunluk değerleri birbirine bölündü. 23 adet dalga boyun için 529 farklı olasılık için bu işlemin yapılması gerekir. Bu kadar çok olasılık için elde edilen sonuçlar renk haritasında gösterildi.

Sağlıklı kolon dokusundan seçilen 5 adet bölgeye ait renk haritaları Şekil 4.13' de görülmektedir. Aynı işlemler kanserli kolon dokusu için de gerçekleştirildi (Şekil 4.14). Sağlıklı ve kanserli kolon dokusuna ait renk haritaları karşılaştırıldığı zaman birbirlerinden bariz bir şekilde farklı oldukları görülmektedir. Bu şekilde bir sonuç alınması doku türlerinin ayırımında bu yöntemin kullanılabileceğini gösterir. Elde edilen bu sonuçlardan doku türünü tespit etmek için bahsi geçen bölgelere ait verilerin ortalaması alındı ve renk haritasında gösterildi. Şekil 4.15 ve Şekil 4.16' te verilen bu haritalar doku türünün tespitinde kullanılabilecek referans verilerimizi içerir. 5 farklı bölgeden daha görüntüler alınarak bu görüntüler ile referans görüntülerin arasındaki ilişkiyi görmek için korelasyon katsayısı hesaplandı. Sağlıklı kolon dokusu için sağlıklı ve kanserli referansları kullanarak elde edilen korelasyon katsayıları grafiği Şekil 4.17' de, kanserli kolon dokusu için ise Şekil 4.18' de görülmektedir. Sağlıklı dokunun sağlıklı referansla korelasyonu sonucu elde edilen katsayının kanserli referanstan elde edilen katsayıdan büyük olduğu ve %90' ın üzerinde olduğu görülür. %90-%99 aralığındaki korelasyon katsayısı iki değişkenin birbiri ile yüksek ilişkili olduğunu gösterir. Aynı şekilde kanserli doku için de korelasyon katsayılarının birbirinden oldukça farklı olduğu görülür. Kanserli referansla korelasyonu sonucu elde edilen katsayısının oldukça yüksek olduğu görülür. Bu da dalga boylarının birbirlerine göre değişimlerinin sağlıklı ve kanserli dokuyu belirlemede kullanılabileceğini gösterir.

Yukarıdaki işlemlere benzer şekilde, düşük ve yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma kanseri dokusu için de 5 farklı bölgeden görüntü alındı ve renk haritaları oluşturuldu (Şekil 4.31, Şekil 4.32). Bu bölgelerdeki verilerin ortalaması alındı ve Şekil 4.33 ve Şekil 4.34' de verilen referans haritaları elde edildi. Referanslar ile düşük ve yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokularının birbirleri ile ilişkilerini incelemek için korelasyona tabi tutuldular. Düşük dereceli lenfoma dokusu düşük dereceli ve yüksek referansla korelasyonu sonucu elde edilen bölgelere göre korelasyon katsayısı grafiği Şekil 4.35' te, yüksek dereceli lenfoma için ise Şekil 4.36' te verildi. Düşük ve yüksek dereceli referanslarla dokuların korelasyonu sonucunda elde edilen katsayıların birbirlerinden farklı olduğu ve doku türü ve referans aynı ise korelasyon katsayısının daha fazla olduğu görüldü.

Literatürde HSI' nin medikal uygulamalarında benzeri bir yöntemle rastlanmadı.

6. SONUÇ

Patolojik dokuların incelenmesi ve analizi genellikle bir patolog tarafından yapılmaktadır. Bu analizler için herhangi bir cihaz kullanılmamaktadır. Analiz sonucu patoloğun tecrübe ve kabiliyetine bağlıdır. Gün içinde patoloğun gözlem verimi değişiklik gösterebilir. Bu değişiklikler ruhsal durumuna, gözünün aşinalığına, çalışma saatlerine, iş yükü gibi sebeplere bağlıdır. Elde edilen sonuçlar ışığında patolog için, kanserli dokular üzerinde çalışmalarını kolaylaştırabileceği bir karar destek sistemi için HSI sistemi geliştirildi. Bunun için 2 yöntem önerildi. 1. Yöntem spektral imzaların çıkartılarak dokuların her bir dalga boyunda karşılaştırılmasını içerir. Elde edilen spektral imzalar sağlıklı ve kanserli kolon dokusunun 500-560 nm dalga boyu aralığında birbirlerinden ayrılabilirliklerini gösterir. Düşük ve yüksek dereceli Hodgkin Lenfoma dokularına ait spektral imzaların da 500 nm sonrasında farklı yoğunluklarda oldukları görülür. Bu sonuç, HSI yönteminin kanserlerin derecelendirilmesinde kullanılabileceğini gösterir. 2. yöntemde ise dokular için renk haritası elde edildi ve birbirlerinden farklı oldukları gözlemlendi. Her bir doku türü için referans görüntüler oluşturuldu. Bu referans görüntülerin dokular ile korele edildi ve korelasyon katsayısı belirlendi. Sağlıklı kolon dokusunun sağlıklı referans ile korelasyon sonucu elde edilen katsayı %99' un üzerindedir. Kanserli kolon dokusunun kanserli referans ile korelasyon sonucu ise %98 in üzerindedir. Düşük dereceli Hodgkin Lenfoma dokusu için düşük dereceli referansla elde edilen korelasyon katsayısının %99' un üzerindedir. Yüksek dereceli lenfoma için de aynı şekilde yüksek dereceli referansla elde edilen korelasyon katsayısının %98' in üzerindedir. Ancak daha doğru bir şekilde ayırım yapılabilmesi ve yöntemin geçerliliğinin kesinleştirilebilmesi için daha fazla örnekten görüntü alınmalı ve analizler tekrarlanmalıdır.

Elde edilen tüm bu sonuçlar HSI yöntemi ile insan etkisinden bağımsız bir teşhis sistemi geliştirilmesi için umut vericidir. Ancak daha fazla doku örneği kullanılarak analizler tekrarlanmalıdır.

KAYNAKLAR LİSTESİ

- [1] G. Elmasry, M. Kamruzzaman, D.-W. Sun ve P. Allen, *Principles and Applications of Hyperspectral Imaging in Quality Evaluation of Agro-Food Products: A Review*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2012, pp. 999-1023.
- [2] D. Wu ve D.-W. Sun, *Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment: A review — Part I: Fundamentals*, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2013, pp. 1-14.
- [3] D. S. Moshe, *Real Time High Speed High Resolution Hyper-spectral Imaging*, U.S. Patent No. 7,411,682, 2008.
- [4] G. Lu ve B. Fei, *Medical hyperspectral imaging: a review*, Journal of Biomedical Optics, 2014.
- [5] L. C. Cancio, A. I. Batchinsky, J. R. Mansfield, S. Panasyuk, K. Hetz, D. Martini, B. S. Jordan, . B. Tracey ve J. E. Freeman, *Hyperspectral imaging: a new approach to the diagnosis of hemorrhagic shock*, Journal of Trauma and Acute Care Surgery, 2006.
- [6] F. Vasefi, N. MacKinnon ve D. L. Farkas, *Hyperspectral and Multispectral Imaging in Dermatology*, Academic Press, 2016, pp. 187-201.
- [7] P. Shippert, *Introduction to Hyperspectral Image Analysis*, Online Journal of Space Communication, 2003.
- [8] O. Carrasco, . R. Gomez, A. Chainani ve W. Roper, *Hyperspectral imaging applied to medical diagnoses and food safety*, International Society for Optics and Photonics, 2003, pp. 215-222.
- [9] L. M. Dale, A. Thewis, C. Boudry, I. Rotar, P. Dardenne, V. Baeten ve J. A. F. Pierna, *Hyperspectral Imaging Applications in Agriculture and Agro-Food Product Quality and Safety Control: A Review*, Applied Spectroscopy Reviews, 2013, pp. 142-159.
- [10] J. M. Bioucas-Dias, A. Plaza, G. Camps-Valls, P. Scheunders, N. . M. Nasrabadi ve J. Chanussot, *Hyperspectral remote sensing data analysis and future challenges*, 1.2 dü., IEEE Geoscience and remote sensing magazine, 2013, pp. 6-36.
- [11] L. Giannoni, F. Lange ve I. Tachtsidis, *Hyperspectral imaging solutions for brain tissue metabolic and hemodynamic monitoring: past, current and future developments*, Journal of Optics, 2018.
- [12] D. C. Kellicut, J. M. Weiswasser, S. Arora, J. E. Freeman, R. A. Lew, C. Shuman, J. R. Mansfield ve A. N. Sidawy, «Emerging technology: hyperspectral imaging,» *Perspectives in vascular surgery and endovascular therapy*, no. 16/1, pp. 53-57, 2004.

- [13] H. Akbari, Y. Kosugi, K. Kojima ve N. Tanaka, «Detection and analysis of the intestinal ischemia using visible and invisible hyperspectral imaging,» cilt 57, no. 8, pp. 2011-2017, 2010.
- [14] H. Akbari, L. V. Halig, D. M. Schuster, A. Osunkoya, V. Master, P. T. Nieh, G. Z. Chen ve B. Fei, *Hyperspectral imaging and quantitative analysis for prostate cancer detection*, Journal of biomedical optics, 2012.
- [15] H. Akbari, K. Uto, Y. Kosugi, K. Kojima ve N. Tanaka, *Cancer detection using infrared hyperspectral*, Cancer science, 2011, pp. 852-857.
- [16] Z. Liu, H. Wang ve Q. Li, *Tongue tumor detection in medical hyperspectral images*, Sensors, 2011, pp. 162-174.
- [17] S. Panasyuk, S. Yang, . D. V. Faller, D. Ngo, R. A. Lew, J. E. Freeman ve . A. E. Rogers, *Medical hyperspectral imaging to facilitate residual tumor identification during surgery*, Cancer biology & therapy, 2007, pp. 439-446.
- [18] K. Rajpoot, N. M. Rajpoot ve M. J. Turner, *Hyperspectral colon tissue cell classification*, 2004.
- [19] K. Masood, N. Rajpoot, K. Rajpoot ve H. Qureshi, *Hyperspectral colon tissue classification using morphological analysis*, IEEE, 2006.
- [20] K. Masood ve N. Rajpoot, *Spatial analysis for colon biopsy classification from hyperspectral imagery*, 2008.
- [21] W. R. Johnson, D. W. Wilson, W. Fink, M. Humayun ve G. Bearman, *Snapshot hyperspectral imaging in ophthalmology*, Journal of biomedical optics, 2007.
- [22] D. Hidović-Rowe, E. Claridge, . T. Ismail ve P. Taniere, *Analysis of multispectral images of the colon to reveal histological changes characteristic of cancer*, Medical Image Understanding Analysis MIUA, 2006, pp. 66-70.
- [23] G. Elmasry ve D.-W. Sun, Principles of hyperspectral imaging technology, In: *Hyperspectral imaging for food quality analysis and control*, 2010, pp. 3-43.
- [24] A. Lowe, N. Harrison ve A. P. French, *Hyperspectral image analysis techniques for the detection and classification of the early onset of plant disease and stress*, Plant Methods, 2017.
- [25] J. Qin, *Hyperspectral imaging instruments*, In: *Hyperspectral imaging for food quality analysis and control*, 2010, pp. 129-172.
- [26] C. Palmer ve E. Loewen, *Diffraction grating handbook*, New York: Newport Corporation, 2005.
- [27] Z. Shanbing, T. Minxue, J. Yiqun, G. Guangbiao, Z. Ruirui ve S. Weimin, *Optical Design of Prism-Grating-Prism Imaging Spectrometers*, Acta Photonica Sinica, 2009, pp. 2270-2273.
- [28] B. Khoobehi, J. M. Beach ve H. Kawano, *Hyperspectral imaging for measurement of oxygen saturation in the optic nerve head*, Investigative ophthalmology & visual science, 2004.

- [29] J. Kutrašnik, F. Pernuš ve B. Likar, *Deconvolution in acousto-optical tunable filter spectrometry*, Applied spectroscopy, 2010.
- [30] H. R. Morris, C. C. Hoyt, P. Miller ve P. J. Treado, *Liquid crystal tunable filter Raman chemical imaging*, Applied Spectroscopy, 1996.
- [31] O. Aharon ve . I. Abdulhalim, *Liquid crystal Lyot tunable filter with extended free spectral range*, Optics Express, 2009.
- [32] J. P. Kerekes ve J. R. Schott, *Hyperspectral imaging systems*, Hyperspectral data exploitation: Theory and applications, 2007.
- [33] A. Rogalski, *Optical detectors for focal plane arrays*, Optoelectronics review, 2004.
- [34] P. Magnan, *Detection of visible photons in CCD and CMOS: A comparative view*, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment, 2003.
- [35] M. Ngadi ve L. Liu, *Hyperspectral image processing techniques*, In: Hyperspectral imaging for food quality analysis and control, 2010, pp. 99-127.
- [36] G. Lu, L. Halig, D. Wang, X. Qin, Z. G. Chen ve B. Fei, *Spectral-spatial classification for noninvasive cancer detection using hyperspectral imaging*, Journal of biomedical optics, 2014.
- [37] H. Yao ve D. Lewis, *Spectral preprocessing and calibration techniques*, In: Hyperspectral imaging for food quality analysis and control, 2010.
- [38] L. Jiang, B. Zhu ve Y. Tao, *Hyperspectral image classification methods*, In: Hyperspectral imaging for food quality analysis and control, 2010.
- [39] A. A. Gowen, C. P. O'donnell, M. Taghizadeh, P. J. Cullen, . J. M. Frias ve G. Downey, *Hyperspectral imaging combined with principal component analysis for bruise damage detection on white mushrooms (Agaricus bisporus)*, Journal of Chemometrics: A Journal of the Chemometrics Society, 2008.
- [40] G. Mercier ve M. Lennon, *Support vector machines for hyperspectral image classification with spectral-based kernels*, In: Geoscience and Remote Sensing Symposium, 2003.
- [41] S. G. Kong, . Z. Du, M. Martin ve T. Vo-Dinh, *Hyperspectral fluorescence image analysis for use in medical diagnostics*, In: Advanced Biomedical and Clinical Diagnostic Systems III. International Society for Optics and Photonics, 2005.
- [42] Y. Guan, Q. Li, Y. Wang, H. Liu ve Z. Zhu, *Pathological leucocyte segmentation algorithm based on hyperspectral imaging technique*, Optical Engineering, 2012.
- [43] P. Garcia-Allende, . O. Conde, J. Mirapeix, A. Cubillas ve . J. Lopez-Higuera, *Data processing method applying principal component analysis and spectral angle mapper for imaging spectroscopic sensors*, IEEE Sensors Journal, 2008.

- [44] Q. Li, Y. Wang, H. Liu ve Z. Chen, *Nerve fibers identification based on molecular hyperspectral imaging technology*, In: Computer Science and Automation Engineering (CSAE), 2012.
- [45] *Türkiye Kanser İstatistikleri*, TC. Halk Sağlığı Kurumu, 2015.
- [46] M. M. MUKAKA, *A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research*, Malawi Medical Journal, 2012.
- [47] «Türk Hematoloji Derneği,» [Çevrimiçi]. Available: http://thd.org.tr/THD_Halk/?sayfa=lenfoma. [Erişildi: 06 01 2019].
- [48] A. M. Siddiqi, H. Li, F. Faruque, W. Williams, K. Lai, M. Hughson, S. Bigler, J. Beach ve W. Johnson, *Use of Hyperspectral Imaging to Distinguish Normal, Precancerous, and Cancerous Cells*, Cancer Cytopathology: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society, 2008.