

Trennung von Zellkernen in Fluoreszenzmikroskopien

Beziehen Sie sich auf zwei Ihnen verfügbar gemachte Sätze konfokaler Rastermikroskopien aus der neuroanatomischen Hirnforschung (Appetitseffekte bei der Maus), wobei frontale Hirnschnitte erfaßt wurden, in denen ein Fluoreszenzmarker (Hoechst) für Zellkerne angewandt wurde.

Die 3D-Bilder bestehen aus isotropen Voxeln mit einer Kantenlänge von nominell $0.1563\mu\text{m}$.

Gegeben seien also zwei Digitalbilder mit skalaren Bildwerten $g(x,y,z)$.

Erarbeiten Sie sich die Lösung zur Objekttrennung, die Sie unter <http://mathematica.stackexchange.com/questions/31997/image-segmentation-and-object-separation-in-3d-using-mathematica/33021#33021> finden, und setzen Sie den Algorithmus für die beiden verfügbar gemachten Datensätze ein.

Studieren Sie die Hilfeseite von `LaplacianGaussianFilter` (LoG), insbesondere den Anwendungsteil. Im Grunde ist der LoG eine Kombination eines Glättungsfilters (typ. als Binomialfilter ausgeführt) gefolgt von einem Laplacefilter (2. Ableitung).

Das Grundgerüst für alle Verarbeitungsschritte sieht so aus:

```
Function[{im3d},
  Image3D[
    Colorize[
      MorphologicalComponents[
        ImageMultiply[
          Binarize[
            LaplacianGaussianFilter[(* Marr-Hildreth operator *)
              EuclideanDistanceTransform3Dparallelized[
                ColorNegate[
                  Binarize[
                    ImageMultiply[
                      MaxDetect[#, #
                    ] &
                    [EuclideanDistanceTransform3D[im3d,0.5]],
                    15(* allow only maxima with distance values > 15 *)
                  ]
                ]
              ], 3(* LoG filter kernel size *)
            ]
          ], im3d
        ]
      ]
    ]
  ][img3d]
```

Überlegen Sie zunächst, ob es sinnvoll wäre, bestimmte Vorverarbeitungsschritte einzulegen?

Stellen Sie dann interaktiv mit einer Manipulate-Umgebung dar (ggf. anhand eines oder mehrerer Ausschnitte der 3D-Daten), wie sich der Einfluß der drei freien Parameter (Binarisierungsschwelle, Distanzschwelle, LoG-Radius) auswirkt.

Demonstrieren Sie Ihre Parameterwahl auf beiden Datensätzen und bewerten Sie Ihre Ergebnisse.

Sofern Ihnen *Mathematica* in einer Version ab 10 vorliegt, ersetzen Sie die Funktion `EuclideanDistanceTransform3D` mit der eingebauten `EuclideanDistanceTransform` und vergleichen Sie Performanz und Ergebnisse.

Im anzufertigenden Mathematica-Notebook sollen alle wesentlichen Schritte kommentiert sein. Soweit möglich, geben Sie bitte semiquantitative Bewertungen ab, etwa welche Parametrisierungen am geeignetsten sind, und begründen Sie diese.