



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK  
INSTITUTE OF MATHEMATICS AND  
IMAGE COMPUTING

# Bildregistrierung für die Untersuchung der Lunge der Maus mit Optischer Kohärenzmikroskopie

*Image registration for the analysis of the lung of mice with  
Optical Coherence Microscopy*

## Bachelorarbeit

im Rahmen des Studiengangs  
Medizinische Informatik  
der Universität zu Lübeck

### **vorgelegt von**

Jacqueline Denise Kasper

### **ausgegeben und betreut von**

Prof. Dr. rer. nat. Jan Modersitzki  
Institute of Mathematics and Image Computing

### **in Zusammenarbeit mit**

Prof. Dr. med. Peter König, Institut für Anatomie  
PD Dr. rer. nat. Gereon Hüttmann, Institut für Biomedizinische Optik

Lübeck, 26. Mai 2016



## **Erklärung**

Ich versichere an Eides statt, die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Benutzung der angegebenen Hilfsmittel angefertigt zu haben.

---

Lübeck, 26. Mai 2016



## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei

- Prof. Dr. rer. nat. Jan Modersitzki für die Bereitstellung des MATLAB-Softwarepaketes FAIR und die Betreuung dieser Arbeit
- Prof. Dr. med. Peter König, PD Dr. rer. nat. Gereon Hüttmann und Hinnerk Schulz-Hildebrandt für die Bereitstellung der Bilddaten, die Hilfestellung und die Zusammenarbeit
- Nadine Traulsen, M. Sc. für die umfangreiche Betreuung und Hilfestellung bei der Bearbeitung dieser Arbeit
- Dr. Karsten Dierks für die Beratung und die Durchsicht meiner Arbeit

bedanken.



# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und medizinischer Hintergrund der Arbeit . . . . .	3
1.1	Mukoviszidose . . . . .	4
1.2	Biologische Fragestellung der Arbeit . . . . .	7
2	Bilddaten und Aufnahmemodul . . . . .	9
2.1	Bildsequenzen . . . . .	9
2.2	Optische Kohärenztomografie . . . . .	10
2.3	Optische Kohärenzmikroskopie . . . . .	12
3	Bildregistrierung . . . . .	15
3.1	Registrierungsansätze . . . . .	16
3.2	Registrierungsframework . . . . .	16
3.3	Grundlagen und Vorüberlegungen . . . . .	17
3.3.1	Bildgitter und Transformationen . . . . .	17
3.3.2	Transformationsmodelle . . . . .	18
3.3.3	Distanzmaße . . . . .	21
3.3.4	Discretize-then-Optimize Framework . . . . .	22
3.3.5	Interpolation . . . . .	25
4	Vorverarbeitung . . . . .	27
4.1	Histogrammdehnung . . . . .	27
4.2	Medianfilter . . . . .	30
4.3	Thresholding . . . . .	31
5	Anwendung und Evaluation des Bildverarbeitungsverfahrens . . . . .	33
5.1	Zielsetzung . . . . .	33
5.2	Experiment 1: Prüfung des Verfahrens . . . . .	33
5.3	Experiment 2: Anwendung des Verfahrens auf die OCM-Bilddaten	36
6	Diskussion und Ausblick . . . . .	39

<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>41</b>
-----------------------------	-----------



## Zusammenfassung

Diese Arbeit beschäftigt sich mit verschiedenen Bildsequenzen der Luftröhre von Mäusen, welche mittels der Optischen Kohärenzmikroskopie aufgenommen wurden. Hintergrund ist die Erforschung von Atemwegserkrankungen des Menschen. Durch Methoden der Bildregistrierung soll eine Transformation gefunden werden, die eine Reihe von Aufnahmen an eine zuvor festgelegte Referenzaufnahme angleicht. Das Ziel ist die Herstellung einer Vergleichbarkeit der verschiedenen Bilder, um, unter der Berücksichtigung von Bildartefakten und Atembewegungen der Maus, die Beurteilung und Quantifizierung des Schleimabtransportes über das Epithel der Trachealwand zu ermöglichen und auf diese Weise eine Verbesserung der Diagnostik und der Behandlung der Atemwegserkrankungen zu unterstützen. Im Rahmen einer Vorverarbeitung wurden verschiedene Methoden evaluiert und schließlich das beste Verfahren auf die Bilddaten angewendet.

Bildverarbeitung und -registrierung wurden mit der Programmiersprache MATLAB und mithilfe des Softwarepaketes *Flexible Algorithms for Image Registration*, kurz FAIR, umgesetzt.

## Abstract

This thesis analyses image sequences that show the trachea of mice and were acquired by Optical Coherence Microscopy. The background of this research is represented by respiratory diseases of the human pulmonary system and the improvement of its diagnostic investigation and medical treatment. Image registration methods are expected to find a transformation that is able to align an image sequence to a fixed reference image. The purpose is the alignment of different images in view of the possibility to evaluate and to quantify the removal of mucous via the tracheal wall in due consideration of the mouse's breathing movement and image artifacts. The images are pre-processed by different methods of which the most successful method was applied in the main registration process.

The image registration is implemented with MATLAB and the software package *Flexible Algorithms for Image Registration*, short FAIR.



# 1 Einleitung und medizinischer Hintergrund der Arbeit

Mukoviszidose ist eine häufig auftretende und lebensbedrohliche, genetisch bedingte Stoffwechselerkrankung [9, S. 27]. Sie verursacht dauerhafte Lungeninfektionen und schränkt zunehmend die Fähigkeit des Erkrankten zu atmen ein [10, S. 9]. Jedes Jahr werden im Schnitt 1000 neue Fälle diagnostiziert, wovon nur ungefähr die Hälfte der Patienten über 18 Jahre alt ist<sup>1</sup>. Weltweit sind heute ungefähr 70.000 Menschen von der Krankheit betroffen<sup>1</sup>, in Deutschland sind es rund 8000<sup>2</sup>.

Um diese und weitere Atemwegserkrankungen des Menschen zu untersuchen, beschäftigt sich die Forschung mit den Atemwegen und nimmt Bilder der Luftröhre, welche im Folgenden als Trachea bezeichnet wird, auf. Wichtig sind diese Aufnahmen vor allem für die erleichterte Stellung von Diagnosen. Durch die Erforschung der erkrankten Atemwege können neue Erkenntnisse gewonnen werden, die zu einer Verbesserung der Behandlung dieser Erkrankungen führen. Aber auch für die Behandlung von chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen, zu denen alle Erkrankungen der Lunge gezählt werden, die Husten, Auswurf und eine durch Atemwegsverengungen verursachte Atemnot hervorrufen, ist die Erforschung essenziell. Auch bei Asthma und Aussackungen in den Atemwegen können die Forschungserkenntnisse wichtig sein. Spezifisch geht es um eine Untersuchung und Quantifizierung des Schleimabtransportes in den Atemwegen, durch die eine bessere Diagnose und Behandlung der Erkrankungen ermöglicht werden soll. In dieser Arbeit ist der Schwerpunkt auf die Verbesserung der Diagnose und der Behandlung von Mukoviszidose gelegt, da die Lunge bei dieser Krankheit am stärksten betroffen ist [9, S. 40]. Mukoviszidose ist eine autosomal rezessiv vererbte Stoffwechselerkrankung [10, S. 1], was bedeutet, dass die Krankheit nur als Phänotyp ausgeprägt wird, wenn ein defektes Gen sowohl von dem Vater als auch von der Mutter vererbt wurde. Sie verursacht pathologische Gewebsveränderungen in mehreren Organen des Erkrankten [10, S. 1].

Im Folgenden wird die Mukoviszidose-Erkrankung genauer erläutert. Anschließend befasst sich Unterkapitel 1.2 mit der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten biologischen Fragestellung. Im zweiten Kapitel werden die verwendeten Bilddaten, die Optische Kohärenztomografie und die Optische Kohärenzmikroskopie vorgestellt. Anschließend werden im dritten und vierten Kapitel die Methoden und die Anwendung der Bildregistrierung und der Bildvorverarbeitung im Kontext dieser Arbeit besprochen. Daraufhin werden in Kapitel 5 die Registrierungsexperimente und deren Ergebnisse ausgewertet. Zum Abschluss befasst sich Kapitel 6 mit einem zusammenfassenden Fazit dieser Arbeit und einem Ausblick bezüglich der Verbesserung des entwickelten Registrierungsverfahrens.

---

<sup>1</sup>Entnommen von der Website der *Cystic Fibrosis Foundation*:  
<https://www.cff.org/What-is-CF/About-Cystic-Fibrosis/>  
Abgerufen am 08.05.2016, um 18:48 Uhr.

<sup>2</sup>Entnommen von der Website des *Mukoviszidose e. V. Bundesverbandes Zystische Fibrose*:  
<https://muko.info/mukoviszidose/ueber-mukoviszidose/grundlagen/was-ist-mukoviszidose.html>  
Abgerufen am 11.05.2016, um 13:48 Uhr.

## 1.1 Mukoviszidose

Die Mukoviszidose ist die häufigste tödlich verlaufende Krankheit im Kinder- und Jugendalter [10, S. 1]. 1940 starben fast 80% der Erkrankten vor dem fünften Lebensjahr [9, S. 40]. In Europa liegt die Inzidenz heute bei ungefähr 1/2500 Neugeborenen [10, S. 1]. Die Krankheit wird auch als *Zystische (Pankreas-) Fibrose* bezeichnet. Eine Fibrose ist eine Gewebsveränderung, die durch die pathologische Vermehrung von Bindegewebszellen gekennzeichnet ist. Es können einzelne Gewebe oder Organe betroffen sein, aber auch ganze Organsysteme. Die Krankheit verursacht die Produktion von sehr zähflüssigem Schleim, im Folgenden *Mukus* genannt. Der Mukus wird vor allem in den Lungen, aber auch in der Bauchspeicheldrüse, folgend Pankreas genannt, und in anderen Organen des Betroffenen produziert.

### Genetik und Entstehung des Mukus

Mukoviszidose wird durch eine Mutation des sogenannten *CFTR*-Gens hervorgerufen, wobei CFTR für *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* steht [11, S. 1]. Das Gen wurde 1985 auf dem langen Arm des Chromosoms 7 gefunden [5]. Erkrankte haben von beiden Elternteilen je eine Kopie eines defekten Gens geerbt. Menschen, die nur eine Kopie geerbt haben, prägen die Krankheit nicht aus und werden *Träger* genannt. Die Anzahl der Genträger in Europa wird auf 1/25 Neugeborenen geschätzt [5]. Besonders hervorzuheben ist, dass die Krankheit kompliziert ist, die Symptome vielfältig und bei jedem Patienten unterschiedlich ausgeprägt sind. Nach dem neuesten Stand der Forschung sind ungefähr 2000 verschiedene Mutationen des CFTR-Gens entdeckt worden<sup>3</sup>.

Das Gen verursacht eine fehlerhafte Ausprägung der Funktion von Chloridkanälen, durch die eine Veränderung der Sekrete von exokrinen Drüsen stattfindet [10, S. 2]. Zu diesen Drüsen zählen unter anderem die Schweiß- und Speicheldrüsen des Körpers, die Samenblase und die Prostata. Der CFTR ist das Proteinprodukt des CFTR-Gens und sorgt dafür, dass der Körper den *CFTR-Kanal* bildet [9, S. 30]. Dieser wiederum regelt den Stoffwechsel von Chlorid [9]. Der Kanal befindet sich in den sekretorischen Zellen des Epithels, welches die inneren und äußeren Oberflächen des Körpers auskleidet [9, S. 30], und wird in der Lunge, dem Pankreas, in allen Schweißdrüsen des Körpers, in der Leber, der Niere und den Geschlechtsorganen gebildet<sup>4</sup>.

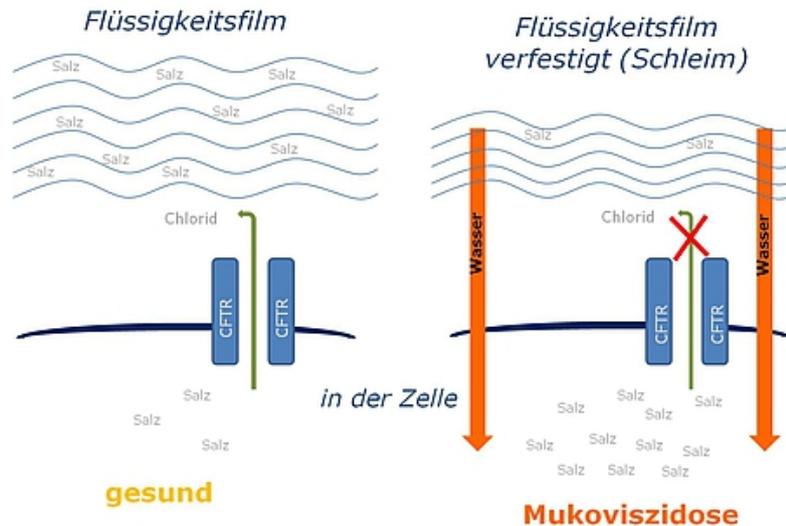
Ohne den CFTR-Kanal kann der Salzbestandteil Chlorid nicht aus der Zelle austreten, um sich mit Natrium zu Natriumchlorid zu verbinden. Dementsprechend kann sich nicht, wie bei einem gesunden Menschen, Natriumchlorid in Verbindung mit extrazellulärem Wasser zu einem salzhaltigen Flüssigkeitsfilm auf der Schleimhaut der Zelle bilden. Das Chlorid bleibt bei einem Erkrankten zu einem großen Teil in der Zelle. Dort beginnt es, in Verbindung mit Natrium, der salzarmen Schleimhaut der Zelloberfläche Wasser zu entziehen.

---

<sup>3</sup>Entnommen von der Website des *Mukoviszidose e. V. Bundesverbandes Zystische Fibrose*:  
<https://muko.info/mukoviszidose/ueber-mukoviszidose/grundlagen/was-ist-mukoviszidose.html>  
Abgerufen am 09.05.2016, um 13:37 Uhr.

<sup>4</sup>Entnommen von der Website des *Mukoviszidose e.V. Bundesverbandes Zystische Fibrose*:  
<https://muko.info/mukoviszidose/ueber-mukoviszidose/symptome.html>  
Abgerufen am 08.05.2016, um 18:20 Uhr.

Es findet also eine Osmose statt, wie in Abbildung 1 zu sehen ist<sup>5</sup>. Der Flüssigkeitsfilm wird folglich noch trockener und verfestigt sich schließlich zu zähem Mukus.



**Abbildung 1:** Schema des CFTR-Kanals der Zelle (Siehe Fußnote <sup>5</sup>). Links: Stoffwechsel von Chlorid durch den CFTR-Kanal eines gesunden Menschen. Rechts: Stoffwechsel von Chlorid eines an Mukoviszidose erkrankten Menschen.

### Folgen der Erkrankung

Der Mukus kann vom menschlichen Körper nur schwer abtransportiert werden [10, S. 2]. Dies führt dazu, dass die Atemwege verstopfen und Bakterien eingefangen werden, welche anschließend vor allem für pulmonale Infektionen sorgen [10, S. 9]. Diese Infektionen bewirken langfristig eine Insuffizienz der Lunge, was bedeutet, dass die Lungenfunktion zunehmend eingeschränkt wird. Hierdurch wird die Atmung erschwert [10, S. 11] und es kann schließlich zu einem Organversagen und somit zum Tod kommen. Häufig auftretende Folgeerkrankungen der Mukoviszidose sind außerdem Diabetes, Osteoporose und Leberkrankungen<sup>6</sup>. In den Gallengängen kann die Leitung der Galle blockiert und durch einen anschließenden Rückstau eine Lebererkrankung hervorgerufen werden<sup>7</sup>. Ist das Pankreas betroffen, verhindert der Mukus die Freisetzung verdauungsfördernder Enzyme und verhindert auf diese Weise die Zersetzung von Nahrung und die Aufnahme wichtiger Nährstoffe [8, S. 250-266]. Dies führt zu einer Unterversorgung und anschließend zu einem eingeschränkten Wachstum [10, S. 9][19, S. 89]. Bei Männern beeinträchtigt die Mukoviszidose unter anderem die Fähigkeit zur Fortpflanzung<sup>6</sup>.

<sup>5</sup>Entnommen von der Website des *Mukoviszidose e. V. Bundesverbandes Zystische Fibrose*: <https://muko.info/mukoviszidose/ueber-mukoviszidose/grundlagen/was-ist-mukoviszidose/mukoviszidose-was-funktioniert-da-eigentlich-nicht.html>  
Abgerufen am 09.05.2016, um 12:17 Uhr.

<sup>6</sup>Entnommen von der Website des *Mukoviszidose e. V. Bundesverbandes Zystische Fibrose*: <https://muko.info/mukoviszidose/ueber-mukoviszidose/symptome/folgeerkrankungen.html>  
Abgerufen am 08.05.2016, um 18:16 Uhr.

<sup>7</sup>Entnommen von der Website des *Mukoviszidose e. V. Bundesverbandes Zystische Fibrose*: <https://muko.info/mukoviszidose/ueber-mukoviszidose/symptome/folgeerkrankungen/lebererkrankungen.html>  
Abgerufen am 08.05.2016, um 18:16 Uhr.

Es gibt außerdem einige Faktoren, die den Zustand und den Genesungsverlauf des Erkrankten beeinflussen können, so zum Beispiel das Alter<sup>6</sup>.

## Behandlungsmethoden

Verbesserte Behandlungsmöglichkeiten haben Erkrankten ein verlängertes Leben ermöglicht. Heutzutage erreichen Erkrankte ein durchschnittliches Alter von ungefähr 50 Jahren, 1950 überlebten Kinder mit diagnostizierter Mukoviszidose nicht bis zur Volljährigkeit [10, S. 13]. Auch wenn die Krankheit wesentlich effektiver behandelt werden kann als früher, gibt es nach wie vor keine Heilung [10, S. 11]. Da eine Vielzahl von unterschiedlichen Symptomen auftritt, ist kein einheitlicher Behandlungsplan vorgeschrieben. Betroffene müssen den Kontakt mit Bakterien und Keimen so weit wie möglich vermeiden, um Lungeninfektionen vorzubeugen. Sie arbeiten eng mit ihrer Familie und Ärzten zusammen, um einen individuellen Behandlungsplan zu entwickeln<sup>8</sup>.

Die Patienten werden durch die folgenden Behandlungsmethoden therapiert:

- Eine Kombination aus einer angepassten Ernährung, Sport und Physiotherapien soll helfen, den Zustand der Patienten zu verbessern und den Abtransport des Mukus zu fördern [10, S. 11][21, S. 139]. Einige Techniken zur Reinigung der Atemwege erfordern die Hilfe von Familienmitgliedern, Freunden oder Therapeuten.
- Eine Klopfmassage kann eingesetzt werden, um das Abhusten des Mukus zu erleichtern [6, S. 57]. Inzwischen wird auch häufig eine aufblasbare Weste genutzt, welche die Brust des Patienten vibrieren lässt, um den Mukus zu lösen<sup>7</sup>. Anschließend können Antibiotika [21, S. 139] und spezielle Arzneimittel, die als *Mukolytika* bezeichnet werden, genutzt werden, um den Mukus zu verdünnen und die Atemwege auf diese Weise zu klären. Es handelt sich dabei um flüssige Medizin oder Aerosole, die in Form eines Sprays eingenommen werden [10, S. 11]. Ein weiteres Ziel dieser Behandlungsmethode ist, neben der Erleichterung der Atmung, die Vorbeugung gegen Lungeninfektionen.
- Die Mukoviszidose kann mit einer Pankreasinsuffizienz einhergehen [9, S. 39]. In diesem Fall kann die Einnahme von Pankreasenzym-Präparaten in Form von hochdosierten Kapseln die Aufnahme von unverzichtbaren Nährstoffen verbessern [10, S. 12]. Sie werden zu jeder Nahrungsaufnahme und selbst zu Zwischenmahlzeiten eingenommen.
- Die mit der Zeit vermehrt auftretenden pulmonalen Infektionen verhindern eine Sauerstoffaufnahme und eine Kohlenstoffdioxidabgabe und führen so zu einer Zerstörung der Lunge<sup>9</sup>. Lungentransplantationen können beantragt werden, damit ein Lungenversagen der Patienten verhindert wird und sowohl ihre Lebensdauer als auch ihre Lebensqualität gesteigert werden [10, S. 12].

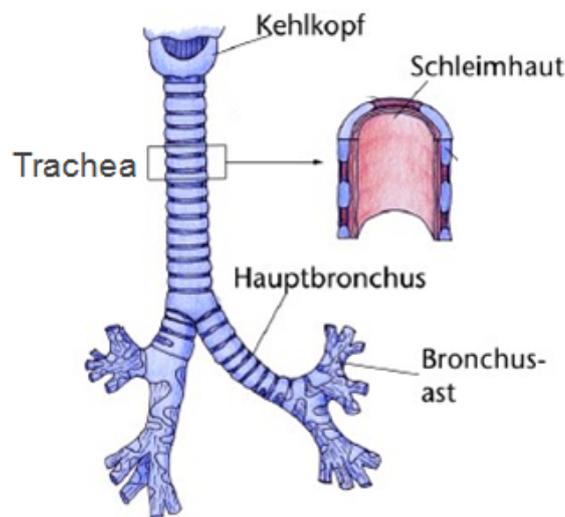
---

<sup>8</sup>Entnommen von der Website der *Cystic Fibrosis Foundation*:  
<https://www.cff.org/What-is-CF/About-Cystic-Fibrosis/>  
Abgerufen am 08.05.2016, um 18:30 Uhr.

<sup>9</sup>Entnommen von der Website des *Mukoviszidose e. V. Bundesverband für Zystische Fibrose*:  
<https://muko.info/mukoviszidose/ueber-mukoviszidose/therapie/transplantation.html>  
Abgerufen am 08.05.2016, um 18:50 Uhr.

## 1.2 Biologische Fragestellung der Arbeit

Um neue Erkenntnisse über die Entstehung und den Abtransport des Mukus zu gewinnen, eine Quantifizierung vorzunehmen und verschiedene Einflussfaktoren zu untersuchen, wurde die Trachealwand von Mäusen betrachtet. Es wurden transgen gezüchtete Mäuse untersucht, da Versuche am Menschen aufgrund des invasiven Eingriffs sehr aufwändig und riskant wären. Ein weiterer Grund für die Untersuchungen an Mäusen ist die verhältnismäßig hohe Vergleichbarkeit des Aufbaus der Lunge von Mäusen mit der Lunge des Menschen. Diese Arbeit bearbeitet ausschließlich die Bilder der Lunge von Mäusen, welche in diesem Zusammenhang aufgenommen wurden. Es wird eine Methode gesucht, die es ermöglicht, verschiedene Aufnahmen einer Bildsequenz vergleichbar zu machen. Durch die Angleichung der Bilder soll die Umsetzung der oben genannten Ziele erleichtert werden.

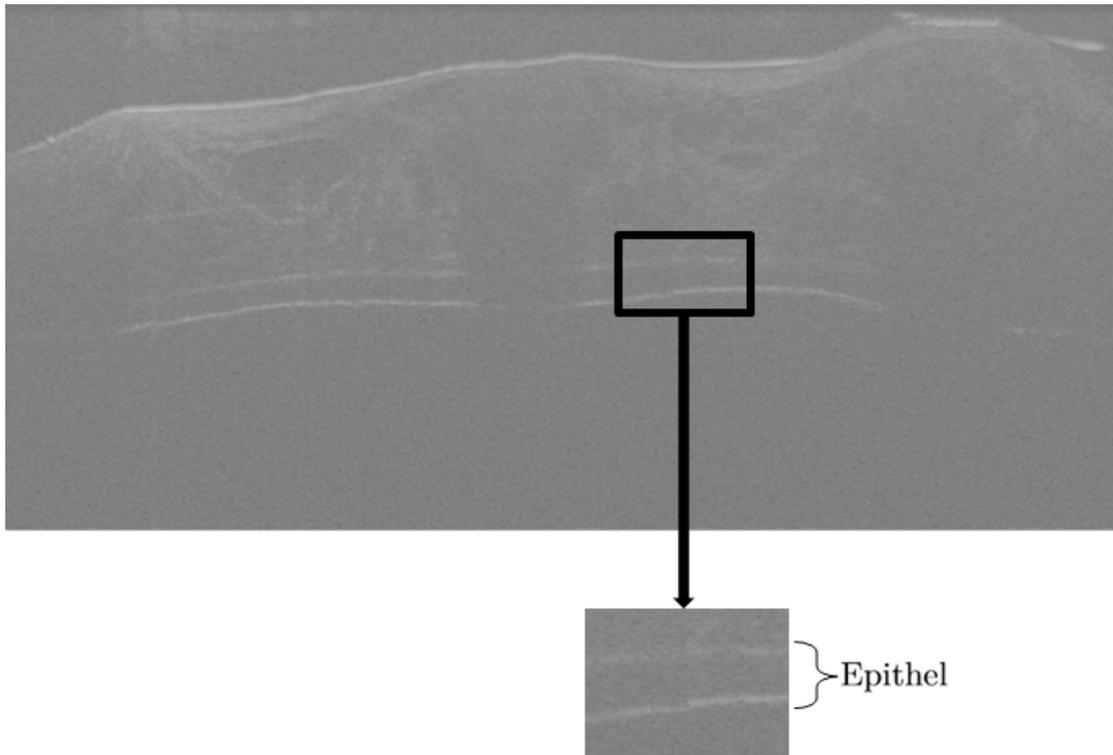


**Abbildung 2:** Schematischer Aufbau der Lunge mit vergrößertem Ausschnitt eines Querschnitts der Trachea (Siehe Fußnote <sup>10</sup>).

Abbildung 2 zeigt den schematischen Aufbau der Lunge mit einem vergrößerten Ausschnitt der Trachea<sup>10</sup>. Die untersuchten Bilder zeigen einen Querschnitt eines solchen Bereichs der Trachea der Maus. Die Trachea ist der röhrenförmige Teil der Lunge, der den Kehlkopf mit den zwei Hauptbronchien verbindet.

Der interessante Bereich für die Erforschung des Mukus ist hierbei das Epithel auf der unteren Seite des in Abbildung 3 abgebildeten Gewebes. In dem Epithel der Trachealwand findet der Abtransport des Mukus statt. Das Epithel jedes Bildes soll an das eines festgelegten Referenzbildes angeglichen werden, um die Menge des Mukus besser quantifizieren zu können. Auch um die Diagnose von Mukoviszidose zu vereinfachen, soll das Verhalten des Abtransportes besser erforscht und beurteilt werden können.

<sup>10</sup>Entnommen von der folgenden Website : <http://www.sign-lang.uni-hamburg.de/glex/illusgr/177950.jpg>  
Abgerufen am 09.05.2016, um 12:17 Uhr.



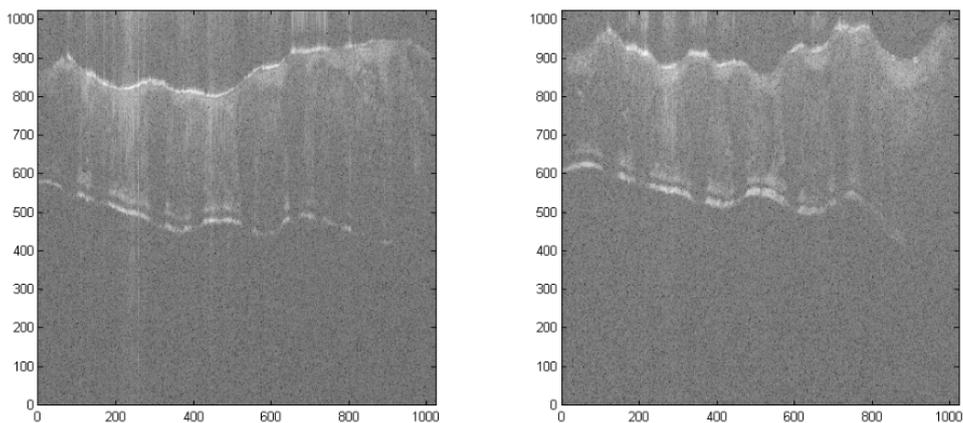
**Abbildung 3:** Eine Aufnahme der Trachea einer Maus mit vergrößertem Ausschnitt des Epithels der Trachealwand.

## 2 Bilddaten und Aufnahmemodul

In dem folgenden Abschnitt werden die Bilddaten beschrieben, welche für diese Arbeit verwendet wurden. Die Abschnitte 2.2 und 2.3 erklären den technischen Aufbau und die Funktion der Optischen Kohärenztomografie. Weiterhin wird konkret auf ihren Zusammenhang mit der Optischen Kohärenzmikroskopie eingegangen.

### 2.1 Bildsequenzen

Die Bilddaten, mit denen sich diese Arbeit beschäftigt, wurden mit der *Optischen Kohärenzmikroskopie*, kurz OCM aufgenommen und von den Instituten für Anatomie und Biomedizinische Optik der Universität zu Lübeck zur Verfügung gestellt. Es werden drei verschiedene Datensequenzen behandelt, die einen Querschnitt durch die Wand der Trachea darstellen. Auf den untersuchten Bildern sind nur kleine Ausschnitte der Trachea zu sehen, die innerhalb der Datensequenzen die gleichen Strukturen aufzeigen, wie in Abbildung 4 zu erkennen ist.

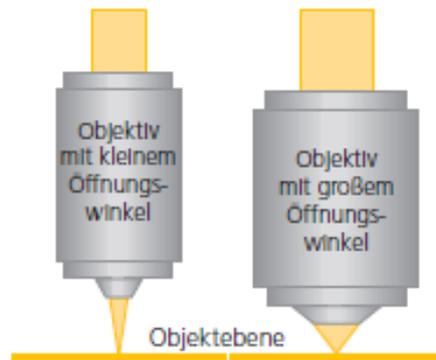


**Abbildung 4:** Links: Beispiel aus Datensatz 1. Rechts: Beispiel aus Datensatz 2.

Jede Datensequenz wurde zu verschiedenen Zeitpunkten und mit unterschiedlichen Parametern aufgenommen. Für die Aufnahme von Datensatz 1 wurde eine *Numerische Apertur*, kurz *NA*, von 0.5 verwendet, weshalb er ein kleineres laterales Bildfeld aufweist. Die Datensätze 2 und 3 wurden mit einer *NA* von 0.2 aufgenommen und haben ein größeres laterales Bildfeld. Das axiale Bildfeld hingegen ist bei allen Bilddaten identisch. Alle Bilder haben eine Größe von 1024x1024 Pixel. Die *NA* gibt Aufschluss über das Auflösungsvermögen eines Objektivs, welches davon abhängig ist, wie viel von dem Licht, das durch das Gewebe reflektiert wird, in das Objektiv gelangt. Diese Lichtmenge ist von dem Öffnungswinkel des Objektivs abhängig. Je größer der Winkel, desto besser werden die Details des Gewebes durch das Objektiv aufgelöst. Beispiele für ein Objektiv mit einem kleinen und einem großen Öffnungswinkel sind in Abbildung 5 zu sehen<sup>11</sup>.

<sup>11</sup>Entnommen von folgender Website:

[www.zeiss.de/content/dam/Corporate/pressandmedia/downloads/innovation\\_ger\\_15.pdf](http://www.zeiss.de/content/dam/Corporate/pressandmedia/downloads/innovation_ger_15.pdf)  
Abgerufen am 09.05.2016, um 12:43 Uhr.



**Abbildung 5:** Beispiele für Objektive mit einem kleinen bzw. großen Öffnungswinkel (Siehe Fußnote <sup>11</sup>).

Auf dem Objektiv wird statt des Öffnungswinkels jedoch die  $NA$  angegeben. Sie wird wie folgt berechnet:

$$NA = n \cdot \sin(\delta),$$

wobei  $n$  die Brechzahl des Mediums zwischen Deckglas und Frontlinse des Objektivs ist und  $\delta$  der halbe Öffnungswinkel des Objektivs. Aus der Formel ist ersichtlich, dass außer des Öffnungswinkels auch die Brechzahl des Mediums zwischen dem Deckglas und dem Objektiv in die Berechnung der  $NA$  mit einbezogen wird. Mit einer hohen  $NA$  ist die transversale räumliche Auflösung der OCM sehr hoch, die Tiefe der Fokussierung jedoch relativ gering [1, S. 32].

Weiterhin ist zu erwähnen, dass die Bilder ein aufnahmebedingtes *Speckle*-Rauschen aufweisen, weshalb sich eine Vorverarbeitung anbietet. Speckle sind körnige Interferenzphänomene, die bei kohärenter Beleuchtung von unebenem Gewebe auftreten. Die Vorverarbeitungsmethoden und weitere Bearbeitungsschritte werden in Kapitel 4 besprochen.

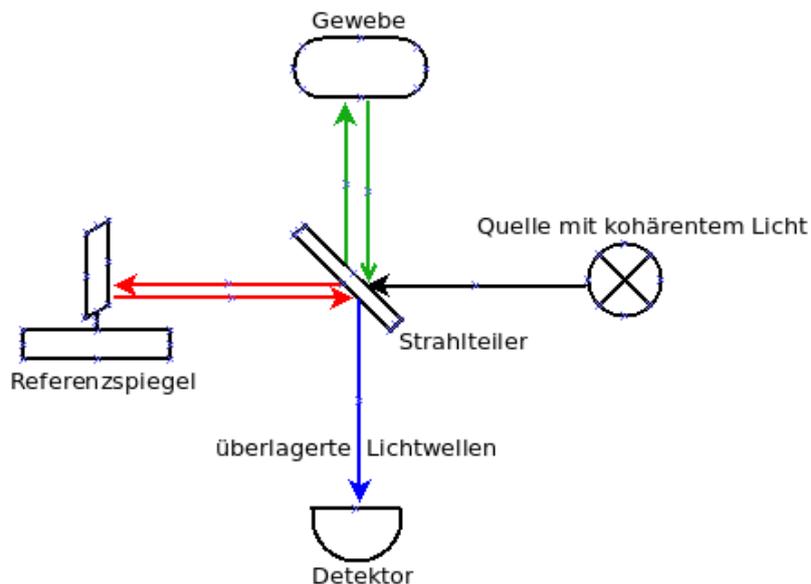
## 2.2 Optische Kohärenztomografie

*Optische Kohärenztomografie*, kurz OCT, ist eine Bildgebungstechnik, mit der, ohne invasive Eingriffe, tomografische Aufnahmen von Materialien und Geweben aufgenommen und im Mikromaßstab dargestellt werden können. OCT wurde laut [1, S. 5] 1991 im Labor von Professor James G. Fujimoto im Institut für Technologie in Massachusetts, USA, entwickelt. Durch die mikrometeregenaue Darstellung von Segmenten des Auges wurde die OCT bekannt. Insbesondere in der Augenheilkunde wurde die OCT zu einer unentbehrlichen Modalität, beispielsweise für die Diagnose und Überwachung von Glaukomen, diabetischer Retinopathie und makulären Ödemen [1, S. 7]. Auch wenn die OCT eine relativ hohe Eindringtiefe von 1-3  $mm$  und eine transversale räumliche Auflösung von 0.5-15  $\mu m$  erreicht und in vielen Bereichen der Medizin und der Biologie eingesetzt wird, hat sie zwei Nachteile, welche die Qualität ihrer Aufnahmen stark beeinträchtigen [1, S. 1]. Zum einen ist die zelluläre Auflösung des Verfahrens zu niedrig, um kleinste Vorgänge innerhalb von Zellen verfolgen zu können. Zum anderen kann in den Aufnahmen ein ausgeprägtes Speckle-Rauschen beobachtet werden, durch das die Kanten der Gewebsstrukturen verschwommen erscheinen und der Kontrast vermindert wird.

## Das Michelson-Interferometer

Die OCT nutzt als zentralen Baustein das sogenannte *Michelson-Interferometer*. Das verwendete Licht ist kohärent, was bedeutet, dass sich die Auslenkung der Lichtwellen zeitlich bis auf eine Phasenverschiebung auf dieselbe Weise ändert. Die Lichtquelle sendet Licht auf einen strahlteilenden halbdurchlässigen Spiegel, der im Folgenden als Strahlteiler bezeichnet wird. Dabei wird das Licht in zwei Teilwellen aufgespalten. Ein Teil des Lichts trifft auf einen Spiegel, der an einem verschiebbaren Tisch angebracht ist und als Referenzreflektor dient [1, S. 9]. Die Referenzreflektion ist in Abbildung 6 als roter Pfeil dargestellt. Der andere Teil des Lichts wird durch den Strahlteiler im 90°-Winkel auf das zu untersuchende Gewebe geworfen, wie der grüne Pfeil in Abbildung 6 verdeutlicht. Auch im Gewebe wird ein Teil der Lichtwelle wieder zurück reflektiert.

Die reflektierten Lichtstrahlen aus dem Gewebe und die Reflexion des Referenzspiegels werden hinter dem Strahlteiler überlagert, wie der blaue Pfeil in Abbildung 6 verdeutlicht [1, S. 12]. Wenn die Wellen in Phase sind, addieren sich ihre Amplituden und man spricht von einer *konstruktiven Interferenz*. Heben sich ihre Amplituden gegenseitig auf, weil sie gegenphasig sind, spricht man von einer *destruktiven Interferenz*. Das Licht wird an den Grenzübergängen von verschiedenen Gewebsschichten besonders stark reflektiert und gestreut, wodurch eine zeitliche Verzögerung der Reflexion durch das Gewebe auftritt. Durch eine niedrige Kohärenzlänge der Lichtquelle kommt es nur zu konstruktiven Interferenzen, wenn das reflektierte Licht aus dem Gewebe die gleiche Laufzeit hat wie der Referenzstrahl. Dadurch können Verzögerungen der Laufzeit detektiert und die Gewebsschichten mit unterschiedlichen Intensitäten dargestellt werden. Durch die Verschiebung des Referenzspiegels werden die Laufzeitverzögerungen aus unterschiedlichen Schichten des Gewebes erkannt.

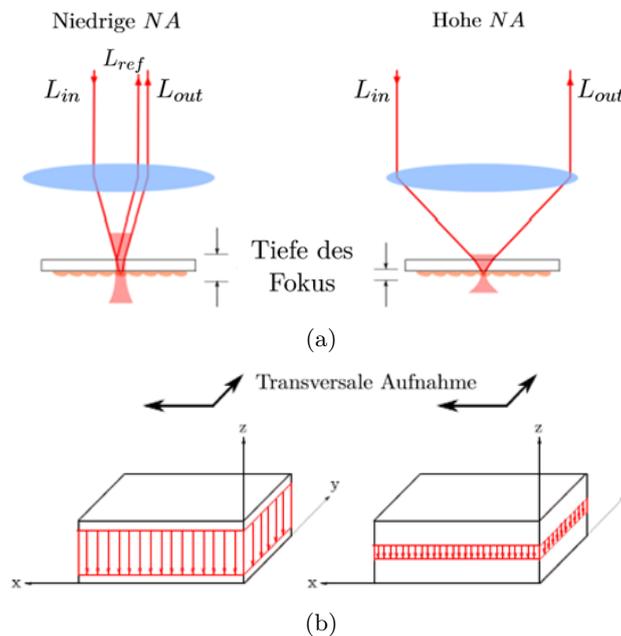


**Abbildung 6:** Vereinfachtes Schema des Aufbaus eines Michelson-Interferometers.

## 2.3 Optische Kohärenzmikroskopie

Die transversale Auflösung der OCT ist eingeschränkt und erlaubt daher zum Beispiel keine Visualisierung von einzelnen Zellen in biologischen Geweben [1, S. 1]. Um die geringe zelluläre Auflösung zu verbessern, wurden, wie in [17] beschrieben ist, die konfokale Mikroskopie und die Optische Kohärenztomografie als Optisches Kohärenzmikroskop zusammengesetzt. Das konfokale Mikroskop ist ein spezielles Lichtmikroskop, das, anders als die konventionelle Lichtmikroskopie, nicht das gesamte Präparat beleuchtet, sondern nur zu jedem Zeitpunkt einen gewissen Bruchteil davon. Der Hauptunterschied des OCM gegenüber der OCT ist eine hohe  $NA$  des Objektivs. Auf diese Weise werden scharfe optische Schnittdarstellungen von Gewebeproben ermöglicht. Da die Bildqualität jedoch zusammen mit dem Zeitaufwand der Aufnahme steigt, muss ein Kompromiss zwischen der Qualität der Aufnahmen und ihrer Geschwindigkeit gefunden werden. Die OCM ist laut [17] im Zusammenhang mit der Diagnostik von Atemwegserkrankungen ein hilfreiches Verfahren.

Abbildung 7 illustriert den Unterschied zwischen einer niedrigen und einer hohen  $NA$ . In Abbildung 7(a) kann links erkannt werden, dass mit einer niedrigeren  $NA$  eine größere Fokus-Tiefe, auch *konfokaler Parameter* genannt [1, S. 22], erreicht wird als mit einer hohen  $NA$ . Dafür wird, wie Abbildung 7(b) verdeutlicht, durch die hohe  $NA$  eine höhere transversale räumliche Auflösung erreicht.



**Abbildung 7:** Aus [1, S. 43]: (a) Schematische Darstellung einer Objektivlinse mit niedriger  $NA$  (links). Schematische Darstellung einer Objektivlinse mit hoher  $NA$  (rechts).  $L_{in}$  repräsentiert einfallendes Licht,  $L_{out}$  reflektiertes Licht und  $L_{ref}$  eine Referenzintensität des von dem Gewebe reflektierten Lichts. Aus [1, S. 32]: (b) Mit einer hohen  $NA$  (rechts) wird eine geringere Fokus-Tiefe erreicht, die transversale Auflösung hingegen ist besser als bei einer geringen  $NA$  (links).

## Einsatzgebiete der OCM

Mit dem Optischen Kohärenzmikroskop sind ex-vivo-Aufnahmen möglich, aber auch intravitale Versuche, vor denen das Tier narkotisiert wird. Für die ex-vivo-Aufnahmen der Trachea wird diese durch eine Lösung in einer beheizten Kulturschale fixiert [17].

Diese Arbeit beschäftigt sich mit Bildern, die intravital und jeweils am Ende der Inspiration der Maus aufgenommen wurden [17]. Mit der OCM ist es möglich die gesamte Trachealwand aufzunehmen und die Bilder mit zellulärer Auflösung darzustellen. Durch die Trachealwand der Lunge kann laut [17] hindurch gesehen und nachvollzogen werden, wie Partikel über das Epithel abtransportiert werden. Ebenso sind Lymph- und Blutgefäße in der Trachealwand und die Zilien von Epithelzellen zu erkennen. Zilien, die auch als Kinozilien oder Flimmerhärchen bezeichnet werden, sind bewegliche Zellfortsätze, die bis zu  $10 \mu\text{m}$  lang und bis zu  $0,25 \mu\text{m}$  breit sind. Sie helfen den Schleim abzutransportieren. Wird dieser zu zähflüssig, können sie sich nicht mehr bewegen und der Mukus wird angestaut<sup>12</sup>. Wenn die zeitliche Auflösung des Optischen Kohärenzmikroskopes gesteigert und das Bildfeld minimiert wird, ist es möglich die Schlagfrequenzen der Zilien zu messen. Durch diese Möglichkeiten wird, die OCM zu einem hilfreichen Mittel bei der Darstellung der Trachealwand mit zellulärer Auflösung [17].

---

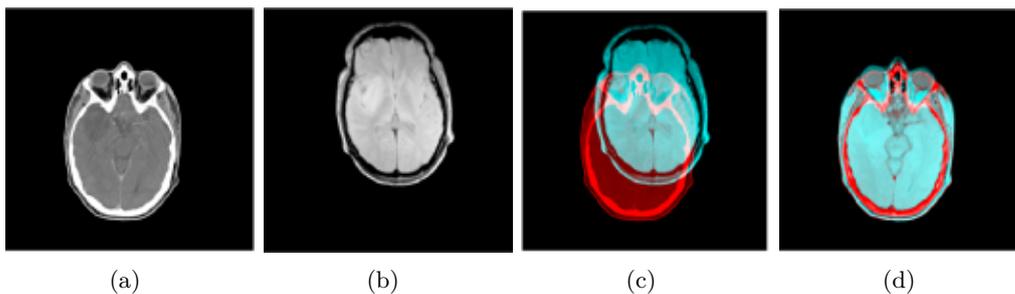
<sup>12</sup>Entnommen von der Website des *Mukoviszidose e. V. Bundesverbandes Zystische Fibrose*:  
<https://muko.info/mukoviszidose/ueber-mukoviszidose/symptome/atemwege.html>  
Abgerufen am 08.05.2016, um 18:57 Uhr.



### 3 Bildregistrierung

Die medizinische Bildregistrierung ist ein Bereich aus der Bildverarbeitung, der gebraucht wird, wenn verschiedene Aufnahmen des gleichen Gewebes verglichen werden sollen. Die Vergleichbarkeit ist unter anderem hilfreich, wenn verschiedene Bildinhalte verknüpft werden sollen, um Diagnosen zu verbessern.

Bildinformationen können sich ändern, wenn von dem untersuchten Gewebe mehrere Aufnahmen zu verschiedenen Zeitpunkten gemacht wurden. Dabei kann der Winkel der Aufnahmen verändert worden sein, weil der Patient bei den verschiedenen Aufnahmen unterschiedlich lag. Zwischen den Aufnahmen kann jedoch auch ein operativer Eingriff an dem Gewebe vorgenommen worden sein. Es ist ebenso möglich, Bildinformationen mehrerer Aufnahme-Modalitäten zu vereinen und dadurch mehr Wissen über das untersuchte Gewebe zu gewinnen. In diesem Fall wird von einer *Multimodalen Bildregistrierung* gesprochen, wie in dem veranschaulichenden Beispiel, welches in Abbildung 8 gezeigt ist. Mithilfe der Bildregistrierung können die verschiedenen Bilder aneinander angepasst werden, indem korrespondierende Punkte der Aufnahmen in einem gemeinsamen Koordinatensystem aufeinander abgebildet werden.



**Abbildung 8:** Aus [12, S. 38]: Beispiel für eine Multimodale Registrierung: (a) CT-Aufnahme eines Schädels, (b) MRT-Aufnahme eines Schädels, (c) CT- und MRT-Aufnahme werden aufeinander abgebildet, (d) Beide Aufnahmen nach der Registrierung in einem gemeinsamen Koordinatensystem.

Die Anwendung von Bildregistrierungsmethoden in dem biologischen Zusammenhang dieser Arbeit ist deshalb sinnvoll, weil die betrachteten Aufnahmen durch die Atembewegungen der Maus verschoben sind. Die Bildregistrierung bietet die Möglichkeit, dieses Problem mathematisch zu beschreiben, und stellt Methoden zur Verfügung, die diese Verschiebungen ermitteln können. In Unterkapitel 3.1.3 werden die mathematischen Grundlagen der Methoden der Bildregistrierung genauer erklärt.

### 3.1 Registrierungsansätze

Es gibt in der Medizin mittlerweile eine Vielzahl von Bildmodalitäten, die alle jeweils unterschiedliche medizinische Anforderungen aufweisen. Aus diesem Grund wurden die in [13, S. 72] beschriebenen Verfahren entwickelt, die im Folgenden erklärt werden.

#### **Dimensionen-definierte Registrierung:**

In die oben erwähnten Verfahren wird eine Registrierung nach verschiedenen Merkmalen eingeordnet, wie beispielsweise der Dimension der Bilddaten. Eine *2D-2D-Registrierung* liegt beispielsweise bei Bildern vor, die zu unterschiedlichen Zeitpunkten aufgenommen wurden. Bei einer *2D-3D-Registrierung* können CT-Bilder, die vor einer Operation aufgenommen wurden, über eine Ultraschallaufnahme gelegt werden, damit die Informationen beider Modalitäten für die Diagnose genutzt werden können. Bei einer *3D-3D-Registrierung* wurden die Bilder mit mindestens einer Modalität aufgenommen, die tomografische Schnittaufnahmen des Gewebes erstellen kann. Bei der Registrierung der untersuchten Aufnahmen handelt es sich um eine 2D-2D-Registrierung.

#### **Landmarken-, Kontur- und Intensitätsbasierte Registrierungsverfahren:**

Weitere Merkmale, nach denen eine Einteilung vorgenommen werden kann, sind die vorliegenden Bildinformationen der zu untersuchenden Daten. Hier wird zwischen dem *Landmarken-*, *Kontur-* und *Intensitätsbasierten Registrierungsverfahren* unterschieden. In dieser Arbeit wurde der Ansatz der Intensitätsbasierten Registrierung verwendet, da die Grauwerte der untersuchten Bilder in einem ähnlichen Bereich liegen. Genaueres hierzu wird in Abschnitt 3.3.3 erläutert.

#### **Nicht-parametrische und parametrische Transformationen:**

Zuletzt sei die Einordnung nach der Transformationsklasse erwähnt. Hierunter fallen die *parametrische* und die *nicht-parametrische Registrierung*. Die Unterschiede werden in Unterkapitel 3.3.2 erklärt.

### 3.2 Registrierungsframework

Die Bearbeitung und Registrierung der Daten wurde mit der kommerziellen Software *Matlab* des Unternehmens *theMathWorks* umgesetzt. Das Programm eignet sich besonders für die numerische Berechnung von Lösungen mathematischer Probleme und für die Visualisierung von Daten, weshalb es für die Problemstellung dieser Arbeit eingesetzt wurde. Das für die Versuche dieser Arbeit verwendete Softwarepaket *Flexible Algorithms for Image Registration*, kurz FAIR [15], enthält alle Hilfsmittel, die benötigt werden, um Transformationen und Bildregistrierungen durchzuführen. Die im Rahmen dieser Arbeit unternommenen Experimente wurden mit dem *Discretize-Then-Optimize-Framework* und den Methoden der *numerischen Optimierung* umgesetzt.

### 3.3 Grundlagen und Vorüberlegungen

Die Bildregistrierung hat das Ziel, durch eine Transformation  $y$  ein Templatebild  $T$  an ein zuvor ausgewähltes festes Referenzbild  $R$  anzugleichen. Dafür werden die Koordinatensysteme der Bilddaten transformiert und in einem gemeinsamen Koordinatensystem fusioniert, wie in Beispiel 8(d) gezeigt wurde. Es wird nach einer Transformation, auch Deformation genannt, gesucht, die das Templatebild an das Referenzbild angleicht. Durch das Erkennen von korrespondierenden Punkten in den Referenz- und Templatebildern können diese räumlich aufeinander abgebildet werden. Dieses Problem lässt sich mathematisch als Optimierungsproblem  $J$  bezeichnen, da die Lösung des Problems iterativ approximierbar ist:

„Finde eine sinnvolle Transformation  $y : \Omega \rightarrow \mathbb{R}$ , so dass ein transformiertes Templatebild  $T[y]$  einem Referenzbild  $R$  so ähnlich wie möglich wird.“ [4, S. 35].

Dabei beschreibt  $\Omega = (\omega^1, \omega^2) \times (\omega^3, \omega^4)$  den diskretisierten Urbildbereich des Templatebildes [15, S. 11], der in Abbildung 9 dargestellt ist. Für die Lösung des Optimierungsproblems wird eine Minimierung des Optimierungsframeworks  $J[y]$

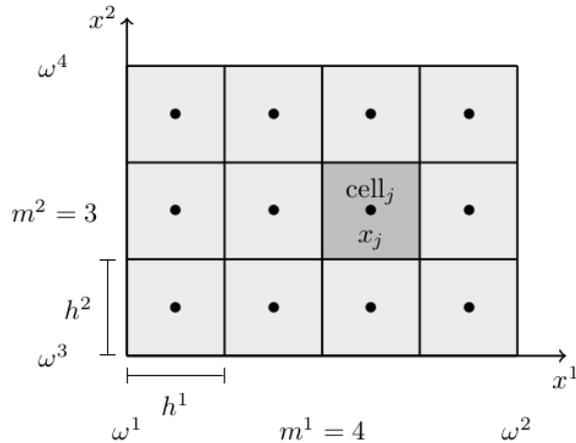
$$J[y] = D[T[y], R] \xrightarrow{y} \min \quad (1)$$

gesucht.  $D$  repräsentiert dabei das Distanzmaß, das die Bildähnlichkeit ermittelt,  $T[y]$  das transformierte Templatebild [15, S. 9]. Für die Transformation  $y$  gilt im zweidimensionalen Raum  $y : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$ . Die Minimierung von  $J$  wird mit einem Discretize-then-Optimize Ansatz umgesetzt, auf den in Unterkapitel 3.3.4 genauer eingegangen wird. Dafür müssen das Distanzmaß und die Transformation diskretisiert werden. Diese Diskretisierungen werden in den Unterkapiteln 3.3.2 und 3.3.3 ausführlich beschrieben.

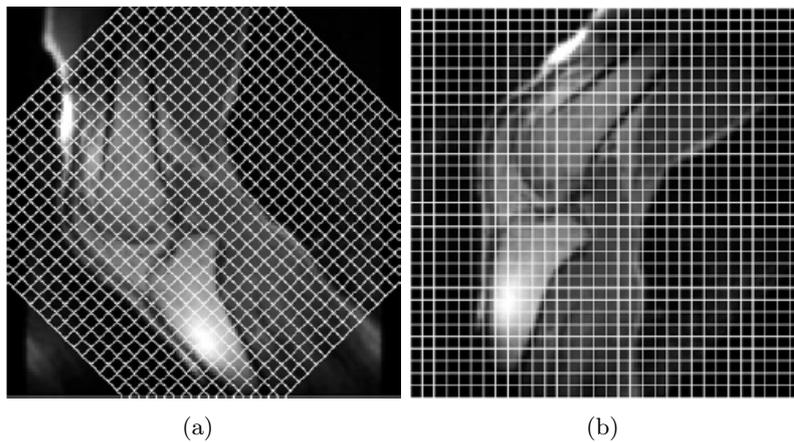
#### 3.3.1 Bildgitter und Transformationen

Die betrachteten Bilder liegen, nach ihrer Aufnahme mit einer bildgebenden Modalität, in diskreter Form vor. Für 2D-Grauwertbilder, wie die behandelten Bilddaten, bedeutet dies, dass die Bilder als Matrizen mit Grauwerteinträgen betrachtet werden können [4, S. 38]. In der Bildregistrierung werden Flächen des Bildes, deren Grauwerte homogen sind, auch *Zellen* genannt. Das Gerüst des Bildes wird *Gitter* genannt und umfasst die Begrenzungen der Zellen und deren Eckpunkte. Das *zellzentrierte Gitter* bezeichnet, wie in Abbildung 9 zu sehen ist, die Zellmittelpunkte.

Statt des Templatebildes selbst wird das Gitter transformiert und über das Templatebild gelegt. Anschließend wird das Templatebild in die entgegengesetzte Richtung der ermittelten Transformation verschoben. Diesen Ansatz nennt man den *Euler'schen Ansatz* [15, S. 11]. Es wird also nachvollzogen, woher die Transformation kommt, genauer gesagt, wo ein zellzentrierter Gitterpunkt im transformierten Templatebild vorkommt. Die Gitterpunkte des transformierten Bildes können dann direkt auf dem vorgegebenen Gitter interpoliert werden. Die Interpolation wird in Abschnitt 3.3.5 genauer besprochen. Ein Beispiel für eine Gittertransformation findet sich in Abbildung 10.



**Abbildung 9:** Aus [15, S. 21]: Beispiel für ein zweidimensionales zellzentriertes Bildgitter mit dem Urbildbereich  $\Omega = (\omega^1, \omega^2) \times (\omega^3, \omega^4)$ , der Zellbreite  $h^1$  in x-Richtung und  $h^2$  in y-Richtung und  $m^1$  und  $m^2$  für die Anzahl der Zellen in x-, bzw. y-Richtung.

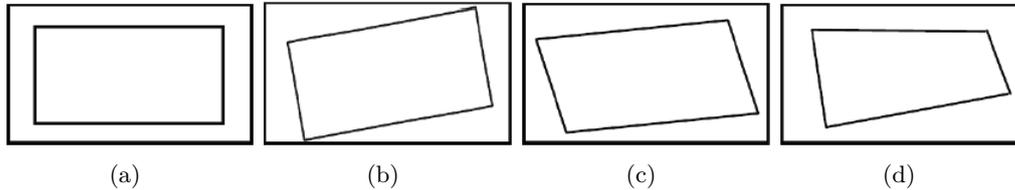


**Abbildung 10:** Aus [15, S. 11]: (a) Templatebild  $T$  mit transformiertem Gitter, (b) Transformiertes Templatebild  $T[y]$  mit Originalgitter.

### 3.3.2 Transformationsmodelle

Es gibt verschiedene *parametrische* und *nicht-parametrische* Transformationsmodelle [12, S. 45]. Eine parametrische Transformation wirkt sich global auf das Bild aus und erhält das ursprüngliche Volumen, die Längen und Winkel des Templatebildes [4, S. 52]. Sie wendet ausschließlich die so genannten *rigiden*, *affinen* und die *perspektivischen* Transformationen an [13, S.72]. Nach einer parametrischen Transformation kann die Ausrichtung des betrachteten Bildes linear angegeben werden. Das bedeutet, dass die Transformation durch eine endliche Anzahl von Parametern beschrieben werden kann [4, S. 51]. Zu den rigiden Transformationen gehören die *Translation*, also eine Verschiebung des Bildes auf der x- oder der y-Achse, und die *Rotation*. Ein affines Transformationsmodell hingegen erlaubt, zusätzlich zu den rigiden Transformationen, auch *Scherungen* und *Skalierungen*. Sie bilden stets parallele Linien auf parallele Linien ab [13, S. 72].

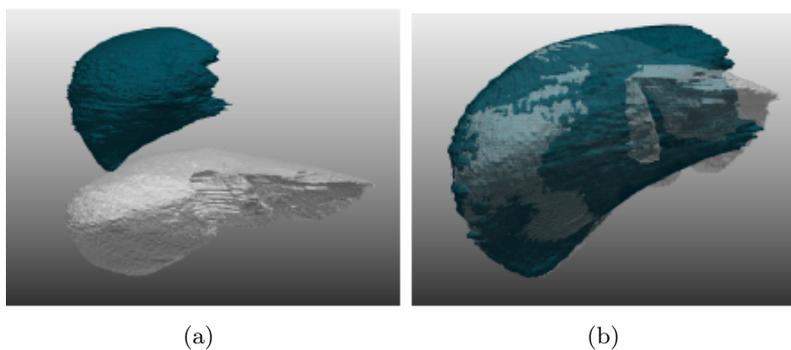
Ein perspektivisches Transformationsmodell berücksichtigt darüber hinaus auch *projektive* Transformationen. Diese stellen nur sicher, dass eine Abbildung von Linien auf Linien stattfindet [13, S. 73]. Veranschaulichende Beispiele für die parametrischen Transformationen finden sich in Abbildung 11.



**Abbildung 11:** Aus [13, S. 73]: (a) Ursprungsbild ohne Deformation, (b) Rigide Transformation: Rotation, (c) Affine Transformation: Rotation und Scherung, (d) Perspektivische Transformation: Scherung und Skalierung.

Mit einer nicht-parametrischen Transformation können Bilddaten durch lokale Deformationen angepasst werden. Zur Beschreibung einer nicht-parametrischen Transformation, werden sehr viele Parameter benötigt [4, S. 51]. Wenn Objekte ihre Form verändern, beispielsweise bei der Aufnahme der Lunge in unterschiedlichen Atemphasen oder des Herzens in verschiedenen Phasen des Schlagens, werden nicht-parametrische Transformationen benötigt. Diese sind flexibler und in der Lage, die Deformationen rückgängig zu machen.

Ein Beispiel für eine nicht-parametrische Transformation ist in Abbildung 12 zu sehen. Hier ist ein Problem der nicht-parametrischen Registrierung erkennbar. Eine präoperative Leber soll auf eine postoperative Leber ausgerichtet werden. Durch die nicht-parametrische Registrierung wird die Größe der postoperativen Leber verändert, wodurch die korrespondierenden Punkte nicht aufeinander abgebildet werden. Für eine Überprüfung des Ergebnisses der Operation ist diese Transformation daher beispielsweise nicht einsetzbar.



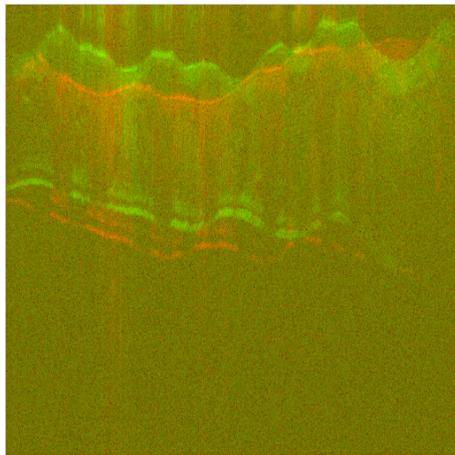
**Abbildung 12:** Aus [4, S. 2]: (a) Ursprungsbilder: Präoperative Leber (grau), postoperative Leber (blau), (b) Nach der nicht-parametrischen Transformation: Postoperative Leber wurde an die präoperative Leber angepasst.

## Wahl des Transformationsmodells

Eine Sichtung der OCM-Daten hat ergeben, dass zwischen den einzelnen Bildern der Sequenzen eine Translation die größte und am häufigsten stattfindende Bewegung ist. Aus diesem Grund wurde das Transformationsmodell des in dieser Arbeit verwendeten Registrierungsverfahrens auf eine Translation beschränkt. Abbildung 13 zeigt exemplarisch zwei überlagerte Aufnahmen aus einer Datensequenz. Die gesuchte Transformation  $y$  des Optimierungsproblems  $J$  ist eine parametrische Translation. Diese kann mit

$$\begin{pmatrix} y_1 \\ y_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} w_1 \\ w_2 \end{pmatrix}$$

beschrieben werden, wobei  $x_1, x_2$  die Koordinaten des Punktes  $x$  in  $T$  repräsentieren und  $w = [w_1, w_2] \in \mathbb{R}^2$  die Transformationsparameter darstellen [22, S. 6].



**Abbildung 13:** Differenzen werden durch eine verschieden farbige Überlagerung der Aufnahmen deutlich erkennbar.

## Diskretisierung der Transformation

Mit der parametrischen Transformation  $yc = y(wc, xc)$  kann eine diskretisierte parametrische Objektfunktion

$$J^h(w) = D^h(T(yc), R(xc)) \quad (2)$$

beschrieben werden [15, S. 67].  $h$  ist dabei die Breite der gewählten Gitterzellen.  $J^h$  und  $D^h$  bezeichnen die jeweilige zu  $h$  korrespondierende Objektfunktion, bzw. das jeweilige zu  $h$  korrespondierende Distanzmaß.  $wc$  sind die aktuellen Transformationsparameter und  $xc$  beschreibt das korrespondierende zellzentrierte Gitter für ein bestimmtes  $h$ .  $yc$  ist über die Koeffizienten an den Gitterpunkten des Transformationsgitters parametrisiert und muss an jedem zellzentrierten Gitterpunkt von  $\Omega$  ausgewertet werden [18, S. 24].

### 3.3.3 Distanzmaße

Distanzmaße ermitteln die Ähnlichkeit zwischen einem Template- und dem Referenzbild. Je besser die beiden Bilder aufeinander abgebildet werden, desto höher wird die Ähnlichkeit [4, S. 58]. Distanzmaße in ihrer kontinuierlichen Form können allgemein durch

$$D[T, R] = \int_{\Omega} \phi(T, R) dx \quad (3)$$

beschrieben werden [15, S. 67], wobei  $\phi$  die jeweilige Funktion des Distanzmaßes beschreibt. Da das Optimierungsproblem  $J$  minimiert werden soll, sollte die Distanz kleiner werden, wenn das Templatebild dem Referenzbild ähnlicher wird. Andersherum wird die Distanz größer, wenn die Differenz der Bilder größer wird [4, S. 58].

Es wird zwischen *intensitätsbasierten* und *merkmalsbasierten* Distanzmaßen unterschieden [4, S. 59]. Zu den intensitätsbasierten Distanzmaßen gehören die *Sum-of-squared Differences*, die *Normalized Cross-Correlation*, *Mutual Information* und *Normalized Gradient Fields* [4, S. 59]. Ein Beispiel für die merkmalsbasierten Distanzmaße ist die Abstandsmessung zwischen *Landmarken*. Die Anwendung der unterschiedlichen Distanzmaße ist unter verschiedenen Bedingungen sinnvoll.

In dieser Arbeit wird die Sum-of-Squared-Differences als Distanzmaß verwendet und im Folgenden detailliert besprochen. Für genauere Informationen zu den weiteren aufgezählten Distanzmaßen wird auf [13, S. 74-82] und [20, S. 14] verwiesen.

#### Wahl des Distanzmaßes

Es liegt nahe, ein Distanzmaß der Intensitätsbasierten Registrierung zu wählen, da die Aufnahmen monomodal aufgenommen wurden und die Grauwerte an korrespondierenden Punkten der beiden Bilder daher in einem ähnlichen Bereich liegen. Der Vorteil der Intensitätsbasierten Bildregistrierung ist, dass sie ohne eine Vorverarbeitung auf die Grauwerte in den Bildpixeln angewendet werden kann [13, S. 79]. Es muss allerdings beachtet werden, dass ihre Optimierung gegen ein lokales, anstatt gegen das globale Optimum konvergieren kann [15, S. 67].

Zu prüfen ist bei der Intensitätsbasierten Registrierung, ob Grauwertdifferenzen zwischen zwei Bildern existieren. Werden zwei ähnliche Aufnahmen in einem Koordinatensystem dargestellt und aufeinander abgebildet, liegen die Grauwerte der gleichen Intensität übereinander. Das Distanzmaß soll nun ermitteln, wie ähnlich die übereinanderliegenden Grauwerte sind, indem es die Differenzen der Grauwerte jedes korrespondierenden Pixels misst. Je ähnlicher sich die Bilder sind und je präziser das Template auf das Referenzbild ausgerichtet wird, desto geringer ist die gemessene Intensitätsdifferenz.

Das Distanzmaß *Sum-of-squared Differences*, kurz SSD, ist die L2-Norm des Differenzbildes von Template- und Referenzbild. Es ist geeignet für die Registrierung von Bildern, die ähnliche Intensitätswerte aufzeigen [13, S. 79], und eines der am häufigsten verwendeten Distanzkriterien.

Ziel ist die Minimierung der Grauwertdifferenzen durch die pixelweise Differenzenbildung der Intensitätswerte von Referenz- und Templatebild. Die kontinuierliche SSD  $D^{SSD}[T, R]$  wird durch

$$D^{SSD}[T, R] = 1/2 \cdot \int_{\Omega} (T(x) - R(x))^2 dx \quad (4)$$

berechnet [15, S. 71].

### Diskretisierung des Distanzmaßes

Um das Distanzmaß an diskreten Punkten auswerten zu können, wird die SSD diskretisiert, indem das kontinuierliche Integral durch numerische Integration der Funktion  $\phi(x) = 1/2 \cdot (T(x) - R(x))^2$  approximiert wird. Dafür wird das Integral mit der einfachen und robusten Mittelpunktsregel quadriert [15, S. 68], indem das Integral in Zellen aufgeteilt und die Funktion in den Zellzentren evaluiert wird. Die Funktionswerte werden anschließend mit der Zellbreite multipliziert und aufsummiert. Die SSD kann nach der Diskretisierung mit

$$D^{SSD,h}[T^h, R^h] = 1/2 \cdot hd \cdot \|T^h - R^h\|^2 \quad (5)$$

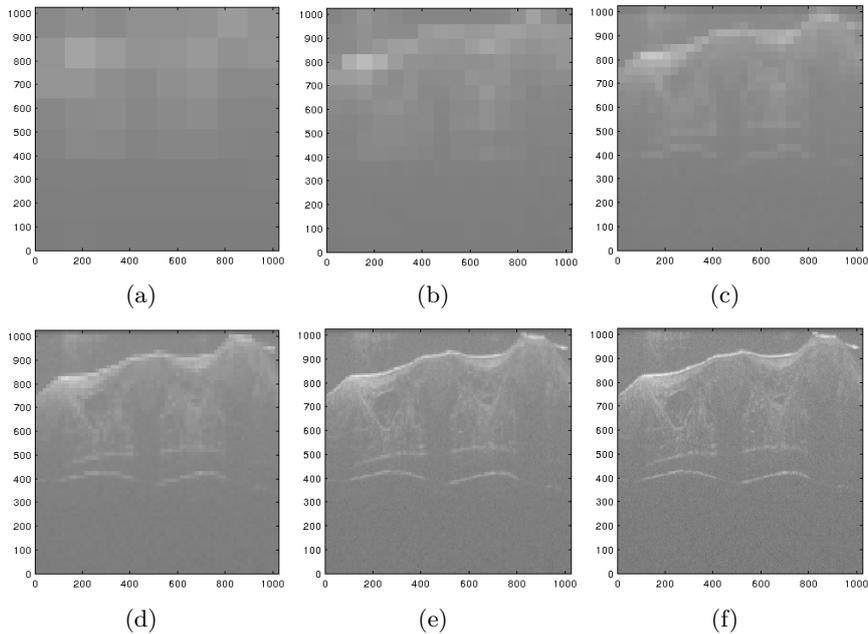
berechnet werden.  $R$  und  $T$  sind dabei die zu interpolierenden stetigen Funktionen des Referenz- und des Templatebildes.  $R^h = R(xc)$ ,  $T^h = T(xc)$  und  $hd = h_1, \dots, h_d$ .

### 3.3.4 Discretize-then-Optimize Framework

#### Multi-Level-Ansatz

Für die Registrierung in einem *Discretize-then-Optimize* Framework wird eine verschachtelte Sequenz  $J^h$  des kontinuierlichen Optimierungsproblems zuerst diskretisiert und dann optimiert [15, S. 12]. Dieses Verfahren der Intensitätsbasierten Bildregistrierung wird *Multi-Level-Ansatz* genannt. Auf die Optimierung wird im nächsten Abschnitt genauer eingegangen.

Es wird von einer groben zu einer feinen Bildauflösung diskretisiert und mit der Optimierung vorregistriert [18, S. 46]. Für die Registrierung auf dem ersten Level wird ein Wert geschätzt. Die auf den groben Auflösungsleveln ermittelten Transformationsparameter dienen dann als Startwert für das jeweils feinere Level, so dass jedes höhere Level mit dem Ergebnis der jeweils letzten Vorregistrierung und den Informationen der bereits durchlaufenen Level weiterrechnet. Für die feineren Repräsentationen werden nur die hinzugefügten Informationen benötigt. Je mehr Level durchlaufen werden, desto detailreicher fällt die Ausgabe der Registrierung aus. Die Bestimmung der Registrierungsergebnisse wurde auf den Leveln drei bis acht durchgeführt. Das heißt, gestartet wurde auf Level drei mit der größten Bildauflösung von 8x8 Pixeln, bis zu Level acht mit der feinsten Auflösung von 256x256 Pixeln. In Abbildung 14 sind alle Auflösungsstufen von Level drei bis acht abgebildet.



**Abbildung 14:** Templatebild auf: (a) Level 3: 8x8 Pixel, (b) Level 4: 16x16 Pixel, (c) Level 5: 32x32 Pixel, (d) Level 6: 64x64 Pixel, (e) Level 7: 128x128 Pixel, (f) Level 8: 256x256 Pixel.

Ein Grund für die Anwendung der Multi-Level-Diskretisierung ist ein numerischer Vorteil, der dadurch entsteht, dass ein Großteil der Berechnung auf den einfachen und gröberen Leveln durchgeführt wird, während auf den rechenaufwändigeren hohen Leveln nur wenige Iterationsschritte für die Korrektur nötig sind. Dadurch wird die Berechnung beschleunigt und es kann relativ schnell ein gutes Ergebnis erzielt werden. Da das Verhalten der Registrierung stark vom Startwert abhängt [18, S. 46], ist das Multi-Level-Verfahren von Vorteil, weil es die Gefahr reduziert, nur ein lokales Minimum zu berechnen, indem es die Robustheit der Registrierung erhöht [13, S. 79].

### Optimierung mit Gauss-Newton

Nachdem alle Registrierungsmethoden erklärt wurden, kann nun durch die numerische Optimierung ein Minimierungsschema von  $J$  berechnet werden [22, S. 12]. Das Ziel ist es, auf jedem Diskretisierungslevel der Multi-Level-Darstellung ein Optimierungsproblem zu lösen, indem automatisch die optimalen Transformationsparameter berechnet werden. Das Schema muss unterschiedliche räumliche Dimensionen verarbeiten können und mit parametrischen Transformationen und Distanzmaßen kompatibel sein. In FAIR werden für die parametrische Registrierung das *Gauss-Newton-Schema* und die *Amijo-Line-Search* verwendet. Gauß-Newton initialisiert einen randomisierten Anfangswert und verbessert diesen anschließend in Updates, um die Objektfunktion sinken zu lassen und so das quadratische Modell des SSD zu verbessern [15]. Das Verfahren wird im Folgenden anhand des Pseudocodes aus [22, S. 13] genauer erläutert.

### Pseudocode Gauss-Newton:

- 1.) get  $T_{level}, R_{level} \forall level$
- 2.) **for** level > minLevel, level < maxLevel **do**
- 3.)    $T \leftarrow T_{level}, R \leftarrow R_{level}$
- 4.)    $w \leftarrow w_0$
- 5.)   **while** stopping rules not active **do**
- 6.)      $[D, \nabla, H] \leftarrow \text{evalObjtFctn}(w, T, R)$
- 7.)     stoppingRules  $\leftarrow$  stoppingRules( $w$ )
- 8.)      $H \cdot dw = -\nabla D$
- 9.)      $v_{descent} \leftarrow \nabla D \cdot dw$
- 10.)     $w \leftarrow \text{lineSearch}(\text{ObjectFctn}, w, D, v_{descent})$
- 11.)    **end while**
- 12.)     $w_0 \leftarrow w, level \leftarrow level + 1$
- 13.) **end for**

In Schritt 1.) wird eine Multilevel-Darstellung der Bilder in unterschiedlich hohen Auflösungen generiert. In 2.) bis 4.) wird auf dem größten Level begonnen und die Transformationsparameter werden initialisiert. Die Objektfunktion  $J^h$  wurde in (2) beschrieben und definiert die Distanz zwischen dem Referenz- und dem Templatebild. Die Evaluation der Objektfunktion mit den aktuellen Transformationsparametern  $w$  in 6.) besteht aus der Berechnung des Funktionswertes, des Gradienten  $\nabla D$ , der den steilsten Anstieg der Distanz  $D$  angibt, und der Approximation der Hessematrix  $H$ , die die zweiten Ableitungen der Objektfunktion enthält. Für die Multilevel-Strategie werden kompatible Stoppkriterien benötigt, die das Ende der Berechnung veranlassen. Diese werden in Schritt 7.) überprüft. Für die aktuelle Iteration  $n$  gilt:

1. **Stoppkriterium:**  $|J_{n-1} - J_n| \leq tolJ(1 - |J_0|)$
2. **Stoppkriterium:**  $\|(w_{n-1} - w_n)\| \leq tolW(1 + \|w_n\|)$
3. **Stoppkriterium:**  $\bar{h} \cdot \|dJ_n\| \leq tolG(1 + |J_0|)$
4. **Stoppkriterium:**  $\|dJ_n\| \leq 10^{-7}$
5. **Stoppkriterium:**  $iter > maxIter$

Dabei ist  $J_0$  der initiale Funktionswert und repräsentieren  $tolJ$ ,  $tolW$  und  $tolG$  die Toleranzwerte, die abhängig vom Optimierungsproblem ausgewählt werden. Das erste Kriterium misst die relativen Variationen in den Funktionswerten von  $J$ , das zweite die Variationen in den Parametern und das dritte die Variationen der Norm des Gradienten [15]. Wenn alle drei Werte verhältnismäßig klein sind, terminiert die Iteration. Als Sicherung sind die Kriterien 4. und 5. implementiert. Der randomisierte Anfangswert  $w_0$  wird in den folgenden Iterationsschritten verbessert. Ist die Abweichung im Gradienten sehr gering, so dass sie im Bereich der maschinellen Präzision liegt, oder ist die maximale Anzahl an Iterationen  $maxIter$  erreicht, terminiert die Berechnung ebenso.

In 8.) und 9.) wird der *Quasi-Newton* gelöst, wobei  $dw$  die Ableitung der Transformationsparameter  $w$  repräsentiert und die abfallende Funktionsrichtung  $v_{descent}$  berechnet. Die von FAIR als Zeilen-Such-Verfahren verwendete *Armijo-Linesearch* wird in Schritt 10.) eingesetzt, um sicher zu gehen, dass die Objektfunktion sinkt [15, S. 79]. Sie nutzt das folgende Kriterium:  $J(y^t) < J(y) + tol \ t \ (dJ^T y)$ , wobei  $tol$  standardisiert auf  $10^{-4}$  gesetzt wird.

Der Startwert  $t$  wird auf 1 gesetzt und  $yt=y+t \cdot dy$  getestet, wobei  $dy$  die Ableitung von der Transformation  $y$  ist. Ist die Reduktion der Objektfunktion nicht hinreichend, wird mit  $1/2 \cdot t$  weiter iteriert. Nachdem die Gauß-Newton-Optimierung in 11.) beendet wurde, werden die berechneten Transformationsparameter  $w$  in 12.) für die nächste Iteration gespeichert. Die Schritte 2.) bis 12.) wiederholen sich so lange, bis das feinste Level berechnet wurde und die endgültigen Parameter berechnet sind.

Der letzte Schritt für die Registrierung ist die Auswertung des Templatebildes an jedem beliebigen Punkt in  $\Omega$ , um das transformierte Templatebild bestimmen zu können. Dafür wird die Interpolation genutzt, die im Folgenden genauer erläutert wird.

### 3.3.5 Interpolation

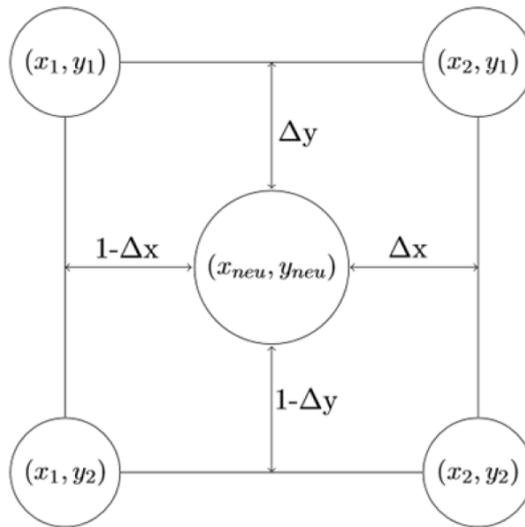
Die Interpolation ist ein notwendiger Bestandteil von Signalverarbeitungsprozessen digitaler Bilder. Sie wird beispielsweise bei der Vergrößerung von 2D-Bildern benötigt [13, S. 289]. Mathematisch wird sie auch als Zwischenwertermittlung bezeichnet, da sie Bildinhalte zwischen zwei Pixeln, die sogenannte Dichteinterpolation, und innerhalb einzelner Pixel, Farbinterpolation genannt, berechnen kann. Bei den Transformationen der Bildregistrierung wird das Templatebild an das Referenzbild angepasst. Dabei ist nicht klar, was für eine Auswirkung diese Ausrichtung auf die Bildmatrix hat, das heißt, welcher Punkt nach der Transformation auf welchen neuen Bildpunkt des zellzentrierten Gitters abgebildet wird. Wenn das Gitter auf dem Templatebild verschoben wird, müssen die korrespondierenden Bildwerte in den neuen Positionen des Gitters aus den bekannten diskreten Pixelwerten des Eingabebildes berechnet werden.

Wie in [4, S. 39] erklärt wird, ist ein lineares kontinuierliches Modell notwendig, um die unbekannt Pixelwerte zu berechnen, die an nicht repräsentierten Positionen liegen. Dieses Modell benötigt wiederum eine kontinuierliche Darstellung von  $T$ . Durch Stützstellen, also bekannte Pixelwerte, soll eine Interpolationsfunktion gefunden werden, die beliebige Bildwerte der Daten berechnen kann.

#### Wahl eines Interpolationsmodells

Es gibt verschiedene Interpolationsansätze, wie die in [15, S. 19] genannte *Nächste-Nachbar-Interpolation*, die *Lineare Interpolation* und die *Kubische Interpolation*. In dieser Arbeit wird ausschließlich die Lineare Interpolation verwendet, da ihre Berechnung einen vergleichsweise niedrigen Rechenaufwand und dafür eine hohe Qualität aufweist. Genaue Informationen über die anderen genannten Interpolationsverfahren sind in [13, S. 89, 90, 361] zu finden. Auf den zweidimensionalen Raum bezogen, wird die Lineare Interpolation als *Bilineare Interpolation* bezeichnet. Sie bezieht bei der Ermittlung von kontinuierlichen Pixelwerten alle Werte der umliegenden vier diskreten Pixel im Gitter mit ein.

Abbildung 15 stellt schematisch die Bilineare Interpolation des Bildfunktionswertes  $(x_{neu}, y_{neu})$  dar, der in der diskreten Darstellung des Bildes nicht vorkommt.  $(x_1, y_1)$ ,  $(x_2, y_1)$ ,  $(x_1, y_2)$  und  $(x_2, y_2)$  sind die diskreten Nachbarbildpunkte im nicht-interpolierten Bild.  $\Delta x$  und  $\Delta y$  sind die jeweiligen Abstände zwischen in  $x$ -, bzw.  $y$ -Richtung. Die Bildfunktionswerte werden für die Berechnung von  $f_{neu}(x_{neu}, y_{neu})$  abgerundet, wenn Integer-Werte verwendet werden.



**Abbildung 15:** Schema der Bilinearen Interpolation.

Der Bildfunktionswert  $(x_{neu}, y_{neu})$  wird folgendermaßen berechnet:

$$\begin{aligned}
 f_{neu}(x_{neu}, y_{neu}) = & f(x_1, y_1) * (1 - \Delta x) * (1 - \Delta y) \\
 & + f(x_2, y_1) * (1 - \Delta y) * \Delta x \\
 & + f(x_1, y_2) * (1 - \Delta x) * \Delta y \\
 & + f(x_2, y_2) * \Delta x * \Delta y
 \end{aligned} \tag{6}$$

## 4 Vorverarbeitung

Die Bilddaten weisen ein erhebliches Rauschen auf, welches durch ein zufälliges Auftreten von Bildsignalwerten auftritt und messtechnisch bedingt ist. Daher ist eine Vorverarbeitung ein nützlicher Schritt bei der Verbesserung des Registrierungsergebnisses. Im Folgenden werden drei unterschiedliche Vorverarbeitungsverfahren erläutert, die auf ihre Eignung untersucht wurden.

### 4.1 Histogrammdehnung

Zunächst wurde eine Grauwerttransformation eingesetzt, um das Grauwertspektrum aller drei Datensätze vergleichbar zu machen. Diese kann wie in [13, S. 286] allgemein als Abbildung  $T : G \rightarrow G$  beschrieben werden, wobei  $G$  den Grauwertbereich  $G = \{0, \dots, g\}$  mit  $g = 255$  beschreibt. Im Folgenden wird die Lineare Skalierung als Grauwerttransformation betrachtet und anschließend der Spezialfall der Histogrammdehnung erläutert. Die Lineare Skalierung transformiert die Grauwerte des Ausgabebildes mit der folgenden Transformationsfunktion:

$$T(g) = \begin{cases} 0, & \text{falls } (g + a) \cdot b < 0 \\ (g + a) \cdot b, & \text{falls } 0 \leq (g + a) \cdot b \leq 255 \\ 255, & \text{falls } (g + a) \cdot b > 255 \end{cases}$$

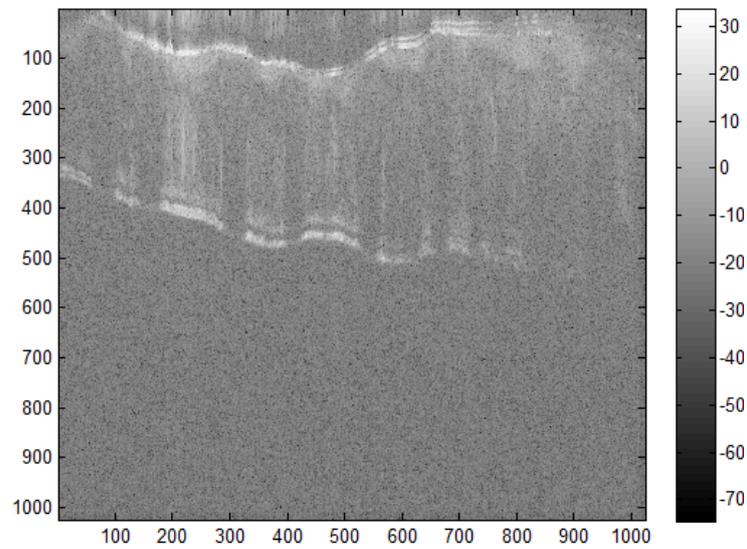
**Abbildung 16:** Aus [13, S.287]: Die Transformation der Linearen Skalierung.

Bei der Histogrammdehnung werden die Parameter  $a = -\min(G)$  und  $b = 255/(\max(G) - \min(G))$  gewählt, so dass sich die in Abbildung 17 gezeigte Fallunterscheidung ergibt.  $G$  ist das Originalbild und  $\min(G)$  und  $\max(G)$  repräsentieren den minimalen bzw. maximalen im Bild vorkommenden Grauwert.

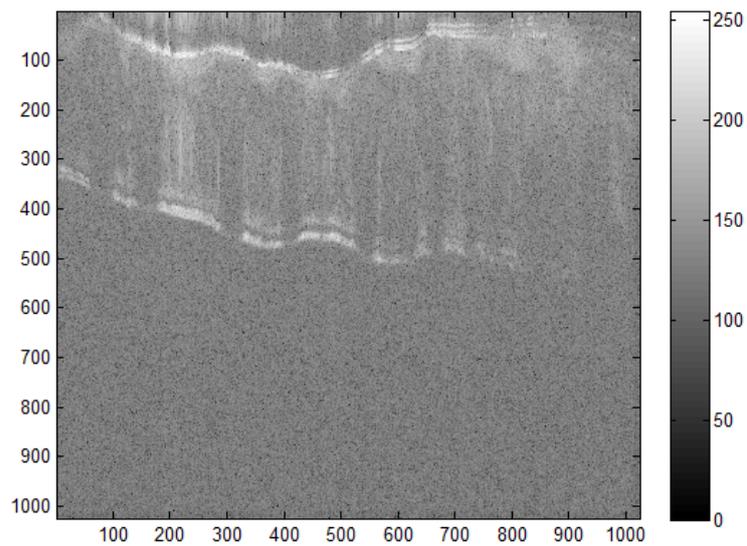
$$T(g) = \begin{cases} 0, & \text{falls } \frac{(g - \min(G)) \cdot 255}{\max(G) - \min(G)} < 0 \\ \frac{(g - \min(G)) \cdot 255}{\max(G) - \min(G)}, & \text{falls } 0 \leq \frac{(g - \min(G)) \cdot 255}{\max(G) - \min(G)} \leq 255 \\ 255, & \text{falls } \frac{(g - \min(G)) \cdot 255}{\max(G) - \min(G)} > 255 \end{cases}$$

**Abbildung 17:** Aus [13, S.287]: Die Transformation der Histogrammdehnung.

Durch diese Dehnung der Grauwerte wird in dem Intervall  $[\min(G), \max(G)]$  eine Treppenfunktion definiert, durch welche die transformierten Bildwerte auf den gesamten Grauwertbereich  $\{0, 255\}$ , also schwarz bis weiß, gespreizt werden. Dadurch wird der Grauwert 255 dem höchsten Pixelwert des betrachteten Bildes nach der Transformation zugewiesen, so dass dieser entsprechend heller erscheint. Andersherum wird der Grauwert 0 dem niedrigsten Pixelwert zugeordnet und so ein kontrastreiches Grauwertverhältnis erreicht.



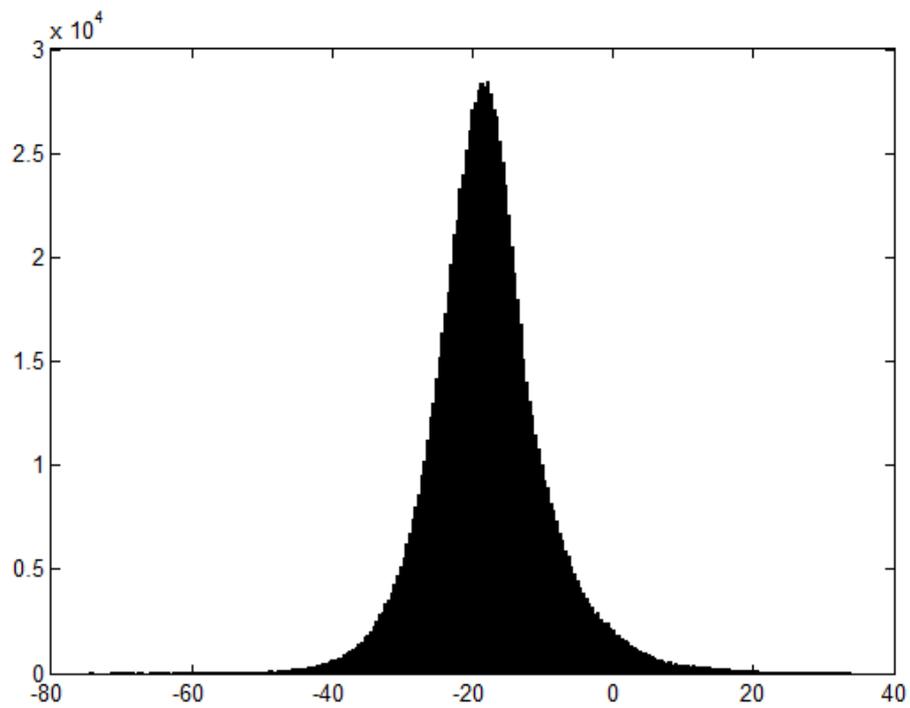
(a)



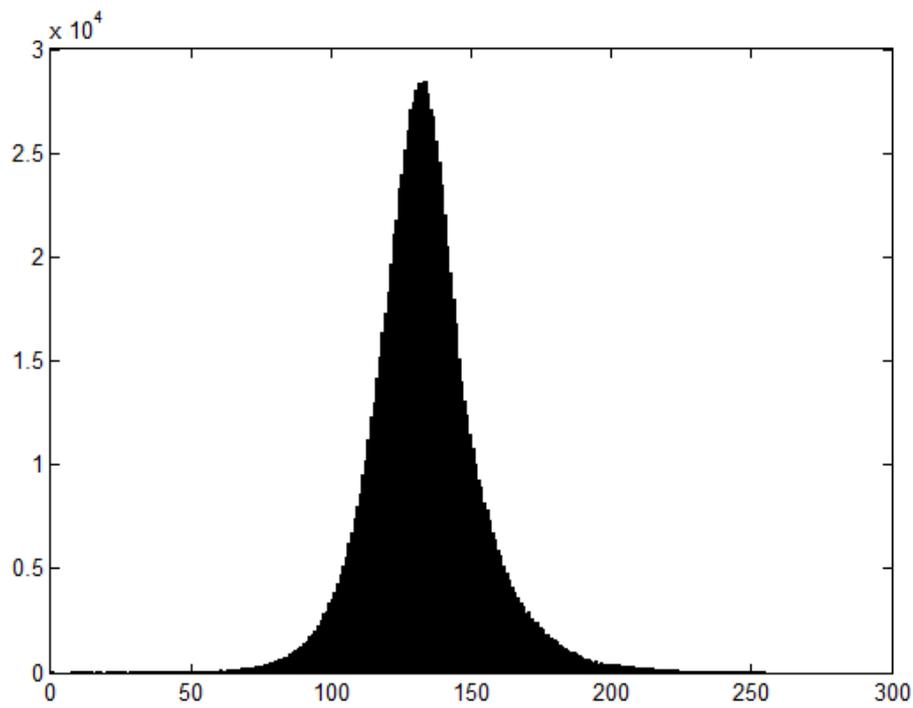
(b)

**Abbildung 18:** (a) Ursprüngliches OCM-Bild, (b) OCM-Bild nach der Histogrammdehnung auf 255 Grauwerte.

Abbildung 18(a) kann entnommen werden, dass die Grauwerte der OCM-Bilddaten alle im Bereich  $\{-75,35\}$  liegen und die Aufnahmen dadurch sehr kontrastarm erscheinen. Durch die Histogrammdehnung in Abbildung 18(b) wird das Grauwertverhältnis und damit die Bild- und Histogrammstruktur erhalten. Dennoch wird der gesamte Grauwertbereich ausgenutzt und der Abstand zwischen benachbarten Grauwerten vergrößert, wie man in Abbildung 19(b) sehen kann.



(a)



(b)

**Abbildung 19:** (a) Grauwert histogramm des ursprünglichen OCM-Bildes, (b) Histogramm nach der Histogrammdehnung des Originalbildes auf 255 Grauwerte.

## 4.2 Medianfilter

Der Medianfilter sorgt für eine Rauschverminderung und Glättung der Bilder. Er ist ein lokaler, nicht-linearer Filteroperator, was bedeutet, dass er für jeden Bildpunkt eine Transformation durchführt, die von der lokalen Nachbarschaft  $U(x, y)$  abhängt, und dass für die Transformation keine Faltung verwendet wird. Für die Berechnung des Medians werden die umgebenden Bildfunktionswerte  $(x_i, y_j)$  des betrachteten Pixels  $(x, y)$  aufwärts sortiert und dem Pixel dann der Wert zugewiesen, der an mittlerer Position steht, wie aus [13, S. 56] zu entnehmen ist:

$$f_{Median}(x, y) = \underset{(x_i, y_j) \in U(x, y)}{\text{Median}} \{ f(x_i, y_j) \}$$

Der Medianfilter wurde für die Bildglättung verwendet, weil er im Gegensatz zum Mittelwertfilter eine geringere Verwischung von Kanten aufweist. Ein weiterer Vorteil ist, dass er durch die Zuweisung des Medians aus der lokalen Umgebung Ausreißer eliminiert, also lokalen Extrema der Bildfunktion entgegenwirkt. Je mehr Bildfunktionswerte aus der Pixelumgebung in die Berechnung mit einbezogen werden, desto homogener werden die Ergebnisbildwerte. Für die Vorverarbeitung mit dem Medianfilter im Rahmen dieser Arbeit wurde daher eine 3x3-Nachbarschaft eingesetzt, um eine möglichst feine Glättung zu erreichen und Kontraste zu erhalten. Es folgt ein einfaches Beispiel der Bestimmung des Medians anhand einer 3x3-Umgebung:

$$\begin{array}{ccc} 1 & 1 & 1 \\ 1 & 3 & 2 \\ 5 & 4 & 2 \end{array} \rightarrow 1 \ 1 \ 1 \ 2 \ 2 \ 3 \ 4 \ 5 \rightarrow \text{Median} = 2$$

Die Anwendung auf den Randbereich des Bildes wird als Randproblem bezeichnet, da in diesem Teil des Bildes keine Bildinformationen zur Verfügung stehen. Deshalb wird das sogenannte *zero-padding* angewendet, bei dem das Bild mit Nullen erweitert wird. In Abbildung 20 ist der Medianfilter mit einer 3x3-Maske auf das in 20 (a) gezeigte Bild angewendet worden. Das Ergebnisbild ist in 20 (b) zu sehen.

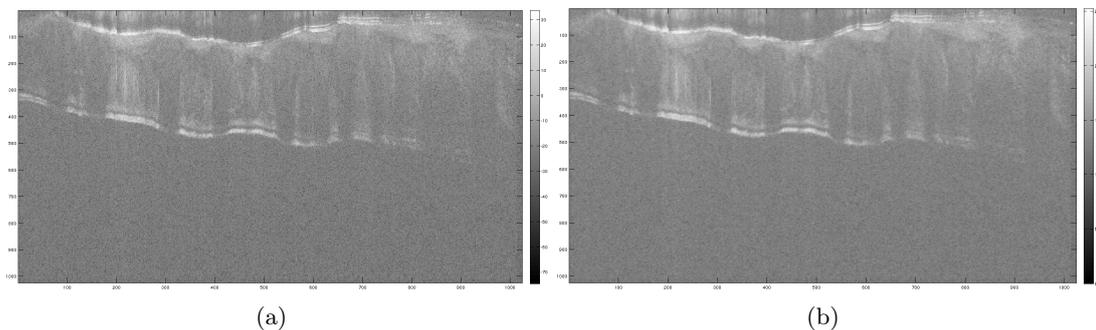


Abbildung 20: (a) Ursprüngliches Bild, (b) Bild nach der Anwendung des Medianfilters.

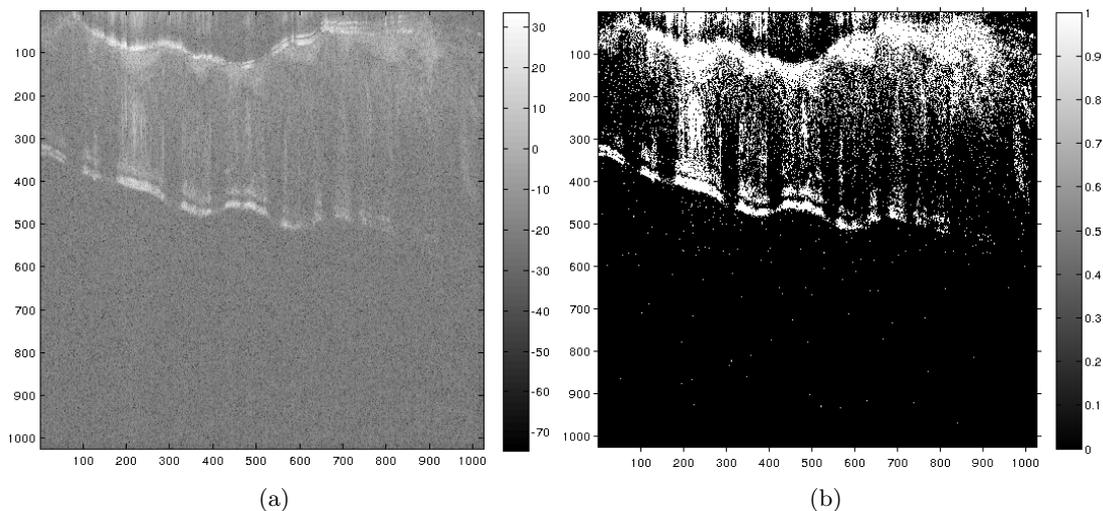
### 4.3 Thresholding

Durch eine Binärmaske, die durch Thresholding (Schwellwertsetzung) erzeugt wurde, soll eine Kontrastverstärkung bewirkt werden. Thresholding ist eine grundlegende Methode bei der Verarbeitung von 2D-Bildern und wird vor allem in der Bildsegmentierung eingesetzt.

Für die vorliegenden Bilddaten wurde experimentell ein Schwellwert  $t$  von 0.59 ermittelt, mit dem für alle Datensequenzen das beste Registrierungsergebnis erzielt wurde.  $t$  legt fest, welche Bildwerte auf 0 und welche auf 255 gesetzt werden sollen, so dass das Grauwertbild in ein Binärbild transformiert wird. Alle Grauwerte des Bildes, die über  $t$  liegen, werden auf 255 gesetzt und erscheinen daher weiß. Das Ausgabebild hat den Wert 0 (schwarz) für alle Funktionswerte von  $f$  an der Stelle  $(x, y)$  des Eingabebildes, die kleiner (dunkler) sind als 0.59 und den Wert 1 (weiß) für alle Werte, die größer (heller) sind. Diese Einordnung in die Binärbildfolge ist wie folgt definiert:

$$B(x, y) = \begin{cases} 1, & \text{if } t \cdot 255 < f(x, y) \\ 0, & \text{else.} \end{cases}$$

Ein Beispiel für eine Anwendung auf die Daten ist in Abbildung 21 zu sehen.



**Abbildung 21:** (a) Ursprüngliches Referenzbild (b) Referenzbild durch Thresholding in Binärbild transformiert.



## 5 Anwendung und Evaluation des Bildverarbeitungsverfahrens

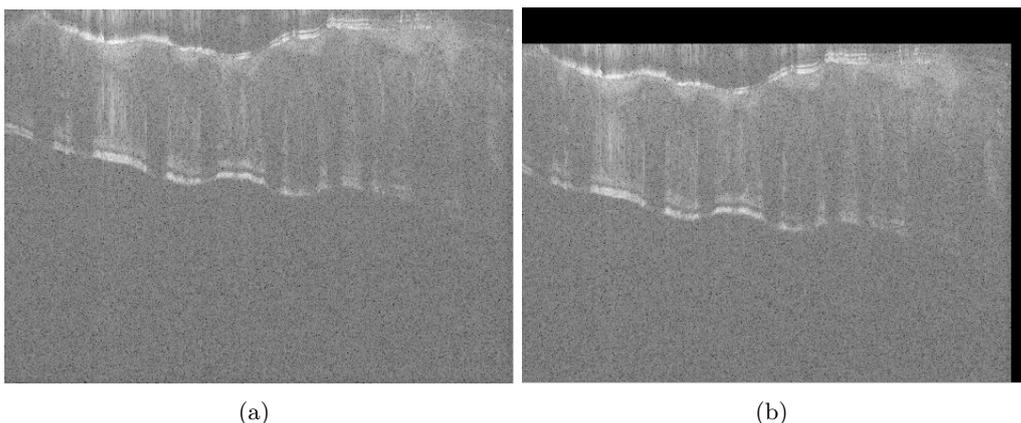
In Kapitel 3 und 4 wurden die Methoden der Bildregistrierung zur Bewegungskorrektur aufgezeigt und erläutert. In diesem Kapitel werden sie auf die zu untersuchenden Bildsequenzen angewendet und die Ergebnisse der Experimente evaluiert. In Unterkapitel 5.1 findet sich eine Erklärung der Zielsetzung des Registrierungsverfahrens und 5.2 beschäftigt sich mit Vorüberlegungen zu der Eignung von Methoden und Vorverarbeitungsschritten. In 5.3 wird das erstellte Registrierungsverfahren getestet und die Ergebnisse der Registrierung nach verschiedenen Vorverarbeitungsschritten untersucht.

### 5.1 Zielsetzung

Das Ziel des Registrierungsverfahrens ist die Ermittlung von Translationsparametern der OCM-Datensequenzen. Mit den registrierten Bildern soll es möglich werden, die in Unterkapitel 1.2 erläuterte Fragestellung zu verfolgen.

### 5.2 Experiment 1: Prüfung des Verfahrens

Es wurden 58 Bilder aus drei verschiedenen Datensätzen jeweils um zufällige Translationsparameter  $[w_1; w_2]$  zwischen 1 und 100 Pixel verschoben, wobei  $w_1$  und  $w_2$  die Transformation in  $x$ -, bzw.  $y$ -Richtung beschreiben. Da das für die Untersuchung interessante Gewebe im mittleren Bereich der Aufnahmen liegt, werden diese ausschließlich nach unten links verschoben, wie in Abbildung 22. Für die OCM-Aufnahmen ist keine größere Translation als um 100 Pixel zu erwarten, daher wurden Translationsparameter von maximal 100 Pixeln in  $x$ - und in  $y$ -Richtung verwendet.



**Abbildung 22:** (a) Ursprüngliches Referenzbild, (b) Beispiel für eine Translation: Das Templatebild wurde um 40 Pixel auf der  $x$ -Achse und um 100 Pixel auf der  $y$ -Achse verschoben.

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse des ersten Registrierungs-experiments. Wie bereits erwähnt, wurden verschiedene Vorverarbeitungsschritte auf die Daten angewendet und anschließend eine Registrierung durchgeführt, um die optimale Vorverarbeitung zu ermitteln.

Die erste Spalte der Tabelle nummeriert den  $n$ -ten Vorverarbeitungsversuch, die zweite Spalte gibt die Vorverarbeitungsmethoden und die Reihenfolge ihrer Anwendung an. In der dritten Spalte sind die Differenzen der Eingabeparameter  $[w_{x\_input}; w_{y\_input}]$  zu den Ausgabeparametern  $[w_{x\_output}; w_{y\_output}]$  des Registrierers angegeben, wobei sich  $x$  bzw.  $y$  auf die Transformation in  $x$ -, bzw.  $y$ -Richtung beziehen. Die vierte Spalte der Tabelle gibt die  $L_2$ -Norm, auch euklidische Norm genannt, der Gesamtdifferenzen zu jedem Versuch an. Sie ist eine Vektornorm und berechnet in diesem Fall die gemeinsamen Differenzen  $w_1$  und  $w_2$  in  $x$ - und  $y$ -Richtung. Diese können als Vektor  $w = (w_1, w_2)$  beschrieben werden. Das heißt,  $\|w\|_2 = (\sum_{i=1}^2 |w_i|^2)^{1/2} = \sqrt{(w_1^2 + w_2^2)}$ . In der letzten Spalte kann zu jedem Verfahren die durchschnittliche Zeit pro Registrierung von zwei Bildern in Sekunden abgelesen werden.

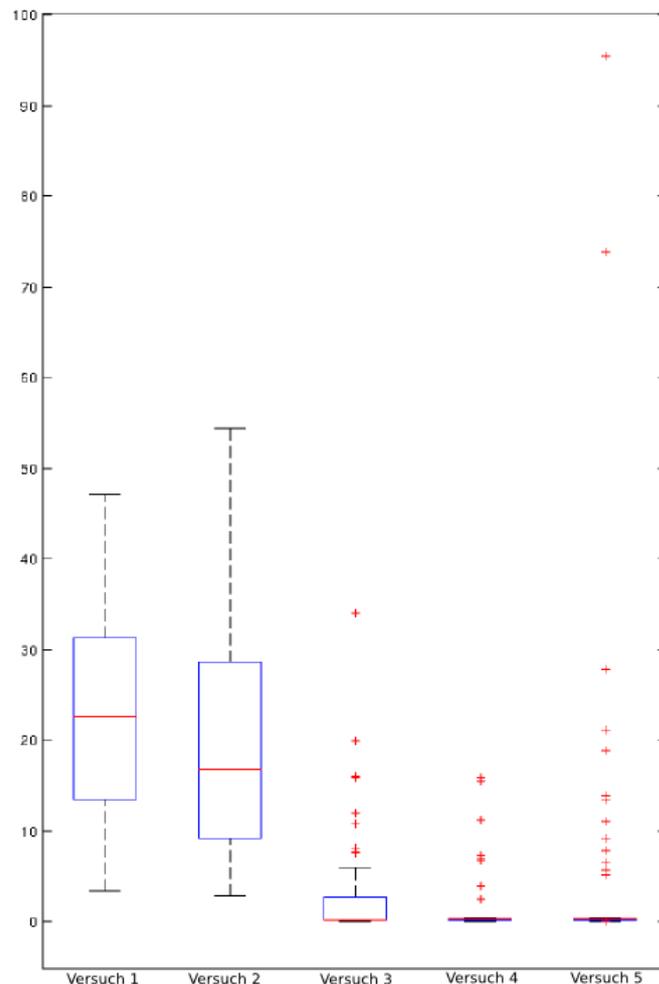
<i>Versuch</i>	<i>Vorverarbeitung</i>	<i>Differenzen <math>w=[w_x;w_y]</math></i>	<i><math>L_2</math>-Norm <math>\ w\ _2</math></i>	<i>Laufzeit [s]</i>
1	keine	[15.6 ; 14.0]	30.0	1.5
2	Medianfilter	[15.4 ; 9.6]	18.1	1.7
3	Threshold	[3.0 ; 0.4]	3.0	1.3
4	Median→Threshold	[1.4 ; 0.3]	1.5	1.4
5	Threshold→Median	[2.7 ; 3.0]	4.0	1.4

**Tabelle 1:** Zeigt die Ergebnisse aus Experiment 1. Die Differenzen  $w$  und die  $L_2$ -Norm  $\|w\|_2$  werden in Pixeln angegeben und die Laufzeit der Registrierung pro Bild in Sekunden.

Versuch 2 zeigt mit der Anwendung des Medians eine geringe Verbesserung des Ergebnisses aus Versuch 1 auf. Die Registrierung mit dem Threshold-Verfahren in Versuch 3 mit den Grauwertdifferenzen  $[w_x; w_y] = [3.0 ; 0.4]$  erreicht eine deutliche Verbesserung. Daher wurde als nächstes in den Versuchen 4 und 5 sowohl das Schwellwertverfahren als auch die Glättung durch den Medianfilter angewendet. Das beste Registrierungsergebnis ist, mit einer  $L_2$ -Norm von 1.5 Pixeln, Versuch 4, die Registrierung mit dem Medianfilter und anschließendem Schwellwertverfahren. Die Reihenfolge der Vorverarbeitungsschritte spielt den Ergebnissen der Versuche 4 und 5 zufolge also eine Rolle. Die Registrierungszeit hat sich durch die Vorverarbeitung ebenfalls verbessert. Um die Zeit der Berechnung zu minimieren, wurde auf die Ausgabe in Form von Visualisierungen verzichtet. Ohne eine Vorverarbeitung dauert die Registrierung von zwei Bildern jeweils 1.5 Sekunden. Versuche 3 bis 5 registrieren in einer Zeit von etwas über einer Sekunde.

Abbildung 23 stellt die Ergebnisse, also die ermittelten Grauwertdifferenzen aus Tabelle 1, in einem Boxplot dar. Es ist ersichtlich, dass der Median der Grauwertdifferenzen von Versuch 1 und 2 mit ungefähr 20 und 17 Pixeln wesentlich höher liegt als bei den restlichen drei Versuchen. Wenn das untere Quartil des ersten Versuchs betrachtet wird, kann beobachtet werden, dass ohne den Einsatz des Medians 25% der Grauwertdifferenzen bei ungefähr 12 Pixeln liegen. Nach Einsatz des Medianfilters liegen sie knapp unter 10 Pixeln. An den oberen Quartilen kann ebenso eine Minimierung der Differenzen abgelesen werden. In Versuch 1 liegen 75% der Differenzen über 30 Pixeln, nach der Anwendung des Medians nur noch ungefähr 28. Der obere Whisker, das heißt, die maximale vorkommende Grauwertdifferenz, ist jedoch von ca. 47 Pixeln in Versuch 1 auf ungefähr 55 in Versuch 2 angestiegen. Der untere Whisker hingegen liegt in beiden Versuchen in einem ähnlichen Bereich. Außerdem ist ersichtlich, dass Versuch 3 mit Ausreißern bis zu 35 Pixeln deutlich höhere Grauwertdifferenzen aufweist als Versuch 4.

Es ist erkennbar, dass die Quartile, die Mediane und auch die Maxima und Minima sowohl von Versuch 4 als auch von Versuch 5 in dem Bereich von null bis zwei Pixeln liegen, aber dennoch einige Ausreißer aufweisen. Versuch 5 hat die größte Streuung der Differenzen mit Ausreißern bis zu ungefähr 96 Pixeln.



**Abbildung 23:** Boxplot der Versuche 1 bis 5.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Translation erfolgreich registriert und korrigiert werden konnte. Das Verfahren ist dementsprechend als erfolgreich eingestuft und kann nun auf die OCM-Daten angewendet werden. Ebenso wurde gezeigt, dass die Vorverarbeitungsmethoden der Bilder eine Verbesserung des Registrierungsergebnisses bewirkt. Für das in Unterkapitel 4.3 beschriebene Registrierungsexperiment 2 werden für alle Versuche die Vorverarbeitungsschritte von Versuch 4 gewählt, da diese sowohl mit der  $L_2$ -Norm von 1.5 als auch mit den Differenzen  $[w_x, w_y] = [1.4; 0.3]$  in beide Achsenrichtungen die besten Ergebnisse erzielen konnten.

### 5.3 Experiment 2: Anwendung des Verfahrens auf die OCM-Bilddaten

Es wurde wieder eine Reihe von 60 Bildern mit je 20 Bildern aus jedem Datensatz betrachtet. Aufgrund der Auswertung der Registrierungsversuche in Experiment 1, wurde als Vorverarbeitung Versuch 4 angewendet. Jedes Bild wurde als das jeweilige Referenzbild für das nächste Bild aus der Reihe verwendet. Diesmal wurde keine zusätzliche Transformation angewendet. Die Ergebnisse wurden anhand der berechneten Differenzbilder evaluiert und in drei verschiedene Klassen eingeteilt, wie Tabelle 2 zeigt.

schlechtes Ergebnis	gutes Ergebnis	sehr gutes Ergebnis
3	8	46

Tabelle 2: Ergebnisse Experiment 2

Es wurden 57 Berechnungen durchgeführt, da die Aufnahmen innerhalb der Sequenzen registriert wurden. Von den 57 Registrierungen wurden 46 Registrierungsergebnisse in die Klasse *sehr gutes* Ergebnis eingeteilt, 8 in *gutes* Ergebnis und 3 in *schlechtes* Ergebnis. Eingeteilt wurde nach den folgenden Kriterien:

- schlechtes Ergebnis: Das Templatebild wurde nicht oder in die falsche Richtung verschoben.
- gutes Ergebnis: Die Translation war erfolgreich und die oberen Strukturen der Trachea liegen übereinander. Im Differenzbild sind leichte Intensitätsdifferenzen erkennbar.
- sehr gutes Ergebnis: Die oberen und die unteren Strukturen der Trachea liegen übereinander. Im Differenzbild sind nahezu keine Intensitätsdifferenzen erkennbar.

In Abbildung 24 ist das Layout der Ergebnisse abgebildet. Von oben links nach unten rechts: Oben links ist das Referenzbild  $R$  mit seinem zellzentriertem Gitter  $xc$  der aktuellen Breite  $h$  zu sehen.  $T(y_0)$  zeigt das Templatebild  $T$  mit transformiertem Gitter in der Iteration 0 der Optimierung auf dem aktuellen Level und  $T(y_c)$  repräsentiert das Templatebild mit dem transformierten Gitter der letzten berechneten Iteration des Levels.  $T(x_c) \& \text{grid}$  zeigt das unveränderte  $T$  mit dem überlagerten transformierten Gitter  $xc$ .  $T(y_0) - R(x_c)$  zeigt die Differenz zwischen  $T$  mit dem transformierten Gitter der ersten Iteration  $y_0$  und  $R$  mit seinem Originalgitter  $xc$ . In der unteren rechten Spalte kann die Differenz zwischen dem transformierten Templatebild  $T(y_c)$  und dem Referenzbild  $R(x_c)$  betrachtet werden.

$R(x_c)$	$T(y_0)$	$T(y_c)$
$T(x_c) \& \text{grid}$	$T(y_0) - R(x_c)$	$T(y_c) - R(x_c)$

Abbildung 24: Aus [15, S. 80]: Layout der Multilevel-Registrierung.

Eine Beispielregistrierung für die Ergebnisklasse *schlecht* ist in Abbildung 25 zu finden, Beispiele für eine *gute* und eine *sehr gute* Registrierung sind in den Abbildungen 26 und 27 zu sehen. Alle Abbildungen zeigen das achte und letzte Level der Multilevel-Registrierung und haben ein  $xc$  von 256x256 Pixel.

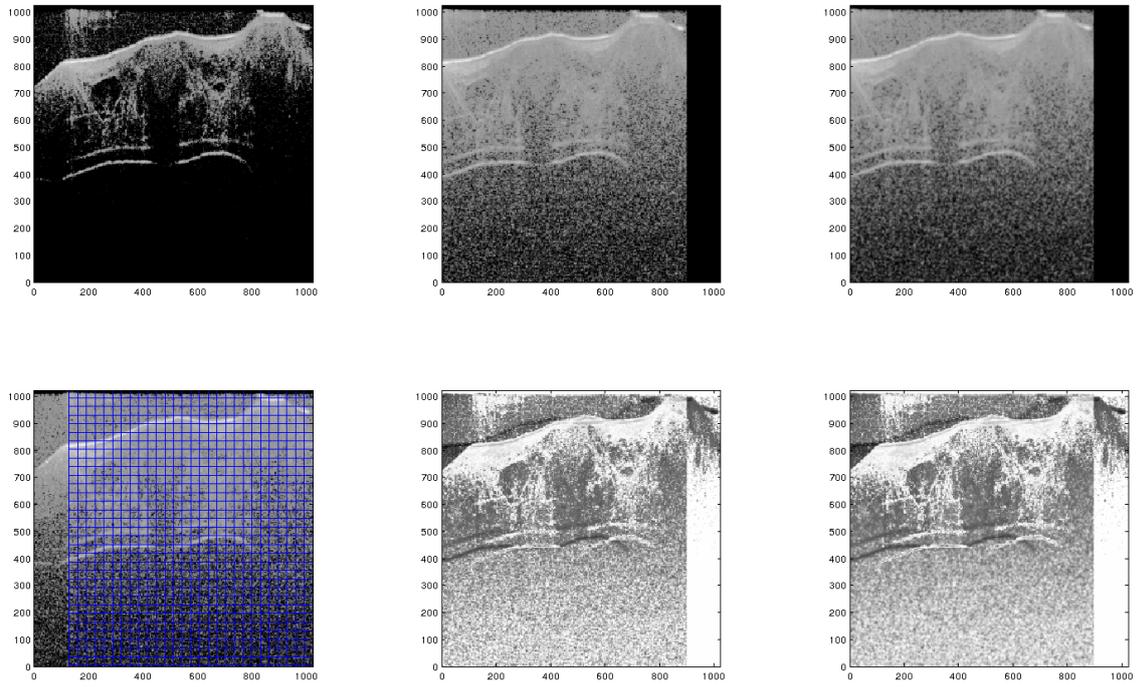


Abbildung 25: Beispiel für ein schlechtes Registrierungsergebnis.

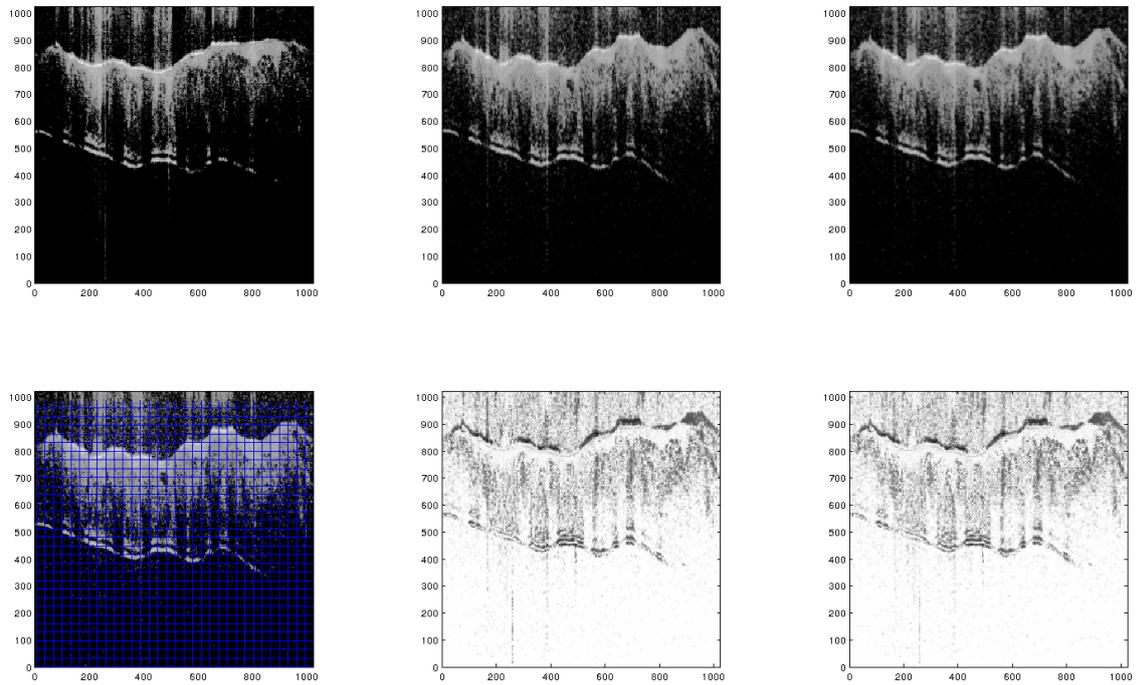


Abbildung 26: Beispiel für ein gutes Registrierungsergebnis.

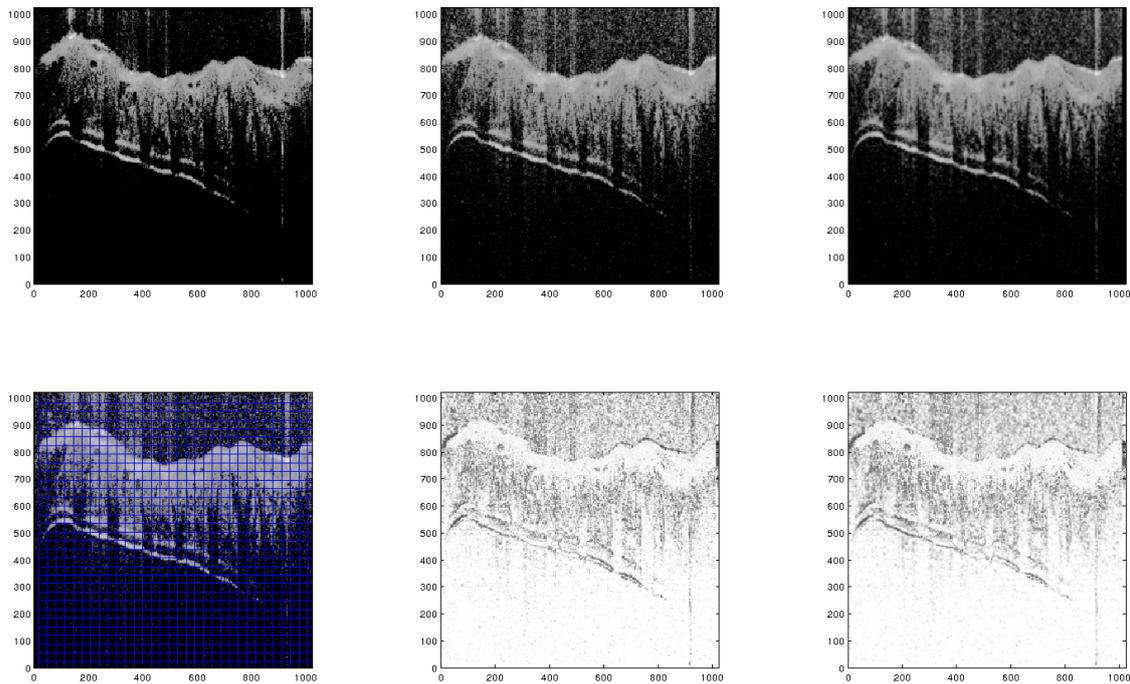


Abbildung 27: Beispiel für ein sehr gutes Registrierungsergebnis.

In Abbildung 25 kann im Feld  $T(xc)\&grid$  beobachtet werden, dass das Gitter  $yc$  bereits fälschlicherweise nach rechts transformiert wurde. Dadurch wurde das Templatebild bereits in  $T(y0)$  nach links, statt nach unten verschoben. Die Grauwertdifferenzen der Bilder sind, wie man in  $T(y_c) - R(xc)$  sehen kann, dennoch nicht sehr hoch, da sehr homogene Grauwerte aufeinander abgebildet sind. In Abbildung 26 wurde das Templatebild in  $T(xc)\&grid$  angepasst und die Strukturen wurden in  $T(y_c) - R(xc)$  im Wesentlichen aufeinander abgebildet. Der dunkle, obere Randbereich im Differenzbild zeigt, dass die Bilder nicht genau übereinander liegen. In Abbildung 27 liegen alle Strukturen übereinander und im Differenzbild  $T(y_c) - R(xc)$  sind kaum Differenzen zu erkennen. Die Abstände der Epithelien sind gut vermessbar.

Die Ergebnisse zeigen, dass das entwickelte Verfahren bei 80.7% der Registrierungen zu einem sehr guten Ergebnis geführt hat. In 14% der Registrierungen konnte ein gutes Registrierungsergebnis erreicht werden. Die schlechten Ergebnisse machen 5.3% der 57 Registrierungen aus. Das heißt, es konnte in 94.7% der getesteten Fälle erfolgreich registriert werden. Eine Diskussion über die Erfolge, die in dieser Arbeit erreicht wurden, und über Möglichkeiten einer Verbesserung der Registrierungsergebnisse folgt in Kapitel 6.

## 6 Diskussion und Ausblick

In diesem Kapitel wird zusammengefasst, was in dieser Arbeit erreicht wurde. Weiterhin wird diskutiert, ob das in Abschnitt 5.1 beschriebene Ziel der Arbeit hinreichend erreicht wurde und ob die Ergebnisse für die in Unterkapitel 1.2 erläuterte medizinische Fragestellung genutzt werden können. Außerdem werden weitere Lösungsmöglichkeiten und Erweiterungen des entwickelten Verfahrens besprochen.

Einleitend wurden im ersten Kapitel dieser Arbeit die medizinischen und biologischen Hintergründe des behandelten Themas erläutert. Im zweiten Kapitel wurde die bildgebende Modalität, mit der die Bilder aufgenommen wurden, die OCM, besprochen. Anschließend wurden in Kapitel 3 und 4 die Grundlagen der Bildregistrierung und die Vorverarbeitungsschritte erklärt, die für das entwickelte Verfahren genutzt wurden. In Kapitel 5 wurde die Zielsetzung dieser Arbeit hinsichtlich einer Anpassung der Bilddaten mithilfe einer Translation erläutert. Abschließend wurde eine Testregistrierung beschrieben, durch die das Verfahren evaluiert wurde, und für die Registrierung der OCM-Bilder die Vorverarbeitung gewählt, die zu den besten Ergebnissen geführt hat.

In Experiment 1 konnten die entwickelten Registrierungsversuche erfolgreich getestet werden, indem das Referenzbild auch als Templatebild genutzt, verschoben und anschließend registriert wurde. In Kapitel 4 konnte gezeigt werden, dass eine Vorverarbeitung der Bilddaten zu einem verbesserten Registrierungsergebnis führt. Durch den Vergleich der verschiedenen Vorverarbeitungsschritte konnte ein wirksames Verfahren ermittelt werden. In Experiment 2 wurde mit dem Medianfilter und dem anschließenden Threshold-Verfahren erfolgreich eine Registrierung der Bilder durch eine Translation bewirkt. Das Verfahren ist so konzipiert, dass die Anwesenheit eines Informatikers nicht notwendig ist, um eine Registrierung durchzuführen. Für die Registrierung weiterer Datensätze muss nur die Liste der Bilddaten ergänzt oder verändert werden.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass das entwickelte Verfahren gute Ergebnisse aufweist und die Forschung in der Zukunft unterstützen kann. Da es nicht möglich war, alle möglichen Registrierungs- und Vorverarbeitungsmethoden in dem zeitlichen Rahmen dieser Arbeit zu implementieren und zu vergleichen, werden folgend einige Erweiterungen und alternative Algorithmen vorgeschlagen, die in fortführenden Arbeiten umgesetzt werden könnten.

Die Vorverarbeitung mit dem Threshold-Verfahren wird im Moment manuell eingesetzt, das heißt, es wurde ein Schwellwert festgesetzt, der für alle Datensätze zu guten, aber eventuell nicht zu idealen Registrierungsergebnissen führt. Wenn das verwendete Verfahren nun für weitere Datensätze verwendet werden soll, die mit anderen Parametern aufgenommen wurden, könnte sich der Schwellwert neutral auf das Ergebnis auswirken oder sogar zu einem schlechteren Ergebnis führen. Das Verfahren könnte daher zum Beispiel durch eine automatische Schwellwertsetzung verbessert werden. Eine weitere mögliche Ergänzung des entwickelten Verfahrens könnte der Einsatz weiterer Vorverarbeitungsschritte zur Verbesserung der Bildqualität sein. Für eine Verstärkung der Bildkontraste und der Kantendetektion bei gleichzeitiger Rauschunterdrückung wäre die Bearbeitung mit einem Sobel- oder Laplace-Filter eine Möglichkeit.

Die Registrierung von Bildern, deren Struktur sich unterscheidet, funktioniert nicht ideal. Das heißt, dass sich in den Aufnahmen nicht nur eine globale Deformation der Bilder findet, sondern auch lokale Deformationen der Trachea. Diese können durch die Atembewegung der Maus entstanden oder durch die Aufnahme anderer Bereiche der Trachea bedingt sein. Daher könnte in einem erweiterten Registrierungsmodell eine nicht-parametrische Transformation gewählt werden, je nachdem welche weitere Fragestellung verfolgt werden soll und welche Gewebsschichten angepasst werden sollen.

Mit dem entwickelten Verfahren werden die Grauwertintensitäten angepasst. Dadurch kann es bei der Registrierung dazu kommen, dass die Objektfunktion zwar minimiert wird und die Grauwertdifferenzen minimal werden, das Epithel der Trachea aber dennoch nicht angepasst wird, wie in dem Beispiel in Abbildung 25. Um sicherzugehen, dass die für die Fragestellung wichtigen Strukturen angepasst werden, könnte als alternatives Verfahren eine Landmarkenbasierte Registrierung durchgeführt werden. Durch die manuelle Setzung von Landmarken könnten, je nach der aktuellen medizinischen Fragestellung, bestimmte Bereiche der Trachea exakt aufeinander abgebildet werden. So würden eventuell die oberen Schichten der Trachea nicht übereinanderliegen, wenn eine Anpassung des unteren Epithels angestrebt wird.

# Literaturverzeichnis

- [1] R. A. M. Abdul. *Quantitative Measurement of Cellular Dynamics using Spectral Domain Optical Coherence Phase Microscopy*. PhD thesis, Universität zu Lübeck, 2013.
- [2] M. A. Bauer. *Optische Kohärenztomographie im Ureter: Intraluminale Anwendung einer hochauflösenden Bildgebungsmethode im ex vivo Modell*. PhD thesis, Universität München, 2010.
- [3] S. Bermbach, K. Weinhold, T. Roeder, F. Petersen, C. Kugler, T. Goldmann, J. Rupp, and Peter König. Mechanisms of cilia-driven transport in the airways in the absence of mucus. *Veröffentlicht in: American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology Volume 51 Number 1*, 2014.
- [4] B. Beuthien. *Restringierte Medizinische Bildregistrierung*. PhD thesis, Universität zu Lübeck, 2012.
- [5] Redaktionskomitee der Annales Nestlé. *Leitartikel. Veröffentlicht in: Zystische Fibrose, 49. Jahrgang, S. v-vi*, 1991.
- [6] Redaktionskomitee der Annales Nestlé. *Zusammenfassende Darstellung aus der Literatur zum Thema Zystische Fibrose. Veröffentlicht in: Zystische Fibrose, 49. Jahrgang, S. 55-66*, 1991.
- [7] P. A. di Saint'Agnese and V. S. Hubbard. *The Hepatobiliary System. Veröffentlicht in: Cystic Fibrosis, S. 296-322*, 1984.
- [8] P. A. di Saint'Agnese and V. S. Hubbard. *The Pankreas. Veröffentlicht in: Cystic Fibrosis, S. 230-295*, 1984.
- [9] X. Estivill. *Die molekulare Genetik der Zystischen Fibrose. Veröffentlicht in: Zystische Fibrose, 49. Jahrgang, S. 27-43*, 1991.
- [10] S. Falahkohan. *Zystische Fibrose - szientometrische Analyse einer genetischen Erkrankung*. PhD thesis, Universität Berlin, 2011.
- [11] J. Frézal, J.-P. Farriaux, and M.-L. Briard. *Leitartikel. Veröffentlicht in: Zystische Fibrose, 49. Jahrgang, S. 1-26*, 1991.
- [12] B. M. Glocker. *Random Fields for Image Registration*. PhD thesis, Technische Universität München, 2011.
- [13] H. Handels. *Medizinische Bildverarbeitung (Bildanalyse, Mustererkennung und Visualisierung für die computergestützte ärztliche Diagnostik und Therapie)*. Vieweg+Teubner, 2009.
- [14] J. Modersitzki. *Numerical Methods for Image Registration*. Oxford Science Publications, 2004.
- [15] J. Modersitzki. *FAIR (Flexible Algorithms for Image Registration)*. siam, 2009.
- [16] J. Olesch. *Bildregistrierung für die navigierte Chirurgie (Spezialisierte Ansätze zur Anwendung in der navigierten Leberchirurgie)*. Springer Vieweg, 2014.
- [17] M. Pieper, H. Schulz-Hildebrandt, C. Myrtus, R. A. M. Abdul, G. Hüttmann, and P. König. *Untersuchung der Atemwege der Maus mit zellulärer Auflösung durch Optische Kohärenz-Mikroskopie*. Thieme, 2014.
- [18] M. Pohl. *Bildregistrierung mit linearer und nicht-linearer Elastizität*. Masterarbeit, 2011.
- [19] B. J. Rosenstein and T. S. Langbaum. *Diagnosis. Veröffentlicht in: Cystic Fibrosis, S. 85-114*, 1984.
- [20] A. Schmidt-Richberg. *Registration Methods for Pulmonary Image Analysis (Integration of Morphological and Physiological Knowledge)*. Springer Vieweg, 2009.

- [21] L. M. Taussig, L. I. Landau, and M. I. Marks. *Respiratory System*. Veröffentlicht in: *Cystic Fibrosis*, S. 296-322, 1984.
- [22] F. Tramnitzke. *GPU basierte affin-lineare Bildregistrierung*. Masterarbeit, 2004.
- [23] L. Turk. *Die optische Kohärenztomographie - ein nicht invasives Untersuchungsverfahren zur Beurteilung von zervikalem Gewebe*. PhD thesis, Technische Universität München, 2012.
- [24] N. Weiss. *Registrierung histologischer Schnittbilder auf der Basis von Zellkerndichten*. Masterarbeit, 2014.
- [25] H. Wisweh. *Optische Kohärenztomographie der Stimmlippe zur Diagnostik und bildgestützten Laserchirurgie*. PhD thesis, Universität Hannover, 2010.
- [26] V. Zimmer. *Bildregistrierung unter Verwendung von Lie-Gruppen*. Masterarbeit, 2011.