



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK
INSTITUTE OF MATHEMATICS AND
IMAGE COMPUTING

Registrierung histologischer Schnittbilder auf der Basis von Zellkerndichten

*Registration of histological slide images
based on cell nuclei densities*

Masterarbeit

im Rahmen des Studiengangs

Medizinische Ingenieurwissenschaften

der Universität zu Lübeck

vorgelegt von

Nick Weiss, B. Sc.

ausgegeben und betreut von

Prof. Dr. Jan Modersitzki

Institute of Mathematics and Image Computing

mit Unterstützung von

Johannes Lotz, M. Sc.

Fraunhofer MEVIS Projektgruppe Bildregistrierung

Lübeck, den 22. August 2014



Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und nicht anderweitig zu Prüfungszwecken vorgelegt habe. Für die Anfertigung der Masterarbeit wurden von mir nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet.

Lübeck, den 22. August 2014

Zusammenfassung

Durch die fortschreitende Digitalisierung der Pathologie stehen heutzutage in vielen Forschungseinrichtungen moderne Slidescanner zur Verfügung, die es ermöglichen, histologische Gewebeschnitte als hochauflösende, digitale Bilder zu speichern. Für die Pathologen ergeben sich dadurch neue Möglichkeiten, mithilfe computergestützter Methoden, Erkenntnisse über die Funktionsweise und den Aufbau verschiedener Gewebearten zu gewinnen. Die dreidimensionale Rekonstruktion der Schnittbilder ist eine solche Methode, die beispielsweise dazu genutzt werden kann, die Gewebestrukturen eines Tumors offenzulegen und spezifische Wachstumsmuster krankhafter Zellen zu erkennen. Der zentrale Bestandteil dieser Rekonstruktion ist eine Bildregistrierung, welche die Korrespondenzen zwischen den Strukturen benachbarter Schnittbilder, die während der Herstellung der Gewebeschnitte verloren gegangen sind, wiederherstellen soll.

Motiviert durch die dreidimensionale Rekonstruktion wird in dieser Arbeit ein Verfahren zur Registrierung histologischer Schnittbilder vorgestellt, welches, auf Basis der Zellkerndichten zweier Schnittbilder, versucht, die Veränderungen, die ein Gewebeschnitt im Vergleich zu seinem Nachbarn bei der Herstellung erfahren hat, auszugleichen. Diese Veränderungen können dabei sowohl affine Transformationen des Gewebes als auch lokale, elastische Deformationen beinhalten. Sind die Zellkernpositionen der Schnittbilder bekannt, eignet sich das Verfahren außerdem ohne Einschränkung zur Registrierung unterschiedlich gefärbter Gewebeschnitte.

Die dichtebasierte Registrierung wurde sowohl für synthetische Bilddaten als auch für echte histologische Schnittbilder erfolgreich getestet. Die Güte der Registrierung konnte dabei für beide Bilddaten nicht nur visuell evaluiert, sondern auch quantifiziert werden. Zusätzlich zeigte sich der dichtebasierte Ansatz robust bezüglich unentdeckter oder ungenau bestimmter Zellkernpositionen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Auf dem Weg zur digitalen Pathologie	1
1.2	Bildregistrierung in der Histologie	2
1.3	Reduktion auf den Kern	4
1.4	Aufbau der Arbeit	5
2	Medizinischer Hintergrund	7
2.1	Von der Gewebentnahme zum digitalen Schnittbild	7
2.2	Schnittbilder eines Lungentumors	10
2.3	Zellkerne als zentraler Bestandteil	12
3	Intensitätsbasierte Registrierung histologischer Schnittbilder	13
3.1	Digitale Repräsentation von histologischen Schnitten	13
3.2	Interpolation - Von diskreten zu kontinuierlichen Bildern	15
3.3	Intensitätsbasierte Distanzmaße	18
3.4	Parametrische Registrierung	21
3.5	Nicht-parametrische Registrierung	22
3.6	Diskretisierung und Optimierung	24
3.7	Multilevel-Bildregistrierung	30
4	Dichtebasierte Distanz	35
4.1	Dichteschätzung	35
4.2	Modellierung der Schnittbilder über ihre Zellkerndichte	40
4.3	Entwicklung eines Distanzmaßes auf der Basis von Zellkerndichten	41
4.4	Implementierung der dichtebasierten Distanz	50
5	Ergebnisse der dichtebasierten Registrierung	57
5.1	Testbilder	57
5.2	Histologische Schnittbilder	62
6	Fazit und Ausblick	67
	Literaturverzeichnis	69

1 Einleitung

1.1 Auf dem Weg zur digitalen Pathologie

Über Jahrhunderte hinweg bildete das konventionelle Mikroskop die einzige Möglichkeit, um Gewebe in einer Auflösung zu betrachten, die dem menschlichen Auge ohne Hilfsmittel vorenthalten bliebe. Eine stetige Verbesserung der Optiken führte dabei zu einer immer höheren Auflösung, sodass heute ohne Probleme einzelne Zellen im Gewebe sichtbar gemacht werden können [1].

Erst die technologischen Entwicklungen der letzten Dekaden konnten eine digitale Alternative zur konventionellen Mikroskopie hervorbringen, die Gewebebilder in vergleichbarer Auflösung auf einem Bildschirm darstellen kann. Um dies zu ermöglichen, werden Objektträger (Slides), auf denen sich dünne Schnitte des zu untersuchenden Gewebes befinden, nicht unter dem Mikroskop betrachtet, sondern von Slidescannern stückweise digitalisiert. Diese zusammengesetzten, digitalen Schnittbilder lassen sich dann mit speziellen Bildbetrachtern untersuchen. Die Steuerung der Software ist der Bedienung des Mikroskops nachempfunden, sodass der Benutzer zwischen verschiedenen Vergrößerungen wählen und frei in der Schnittebene navigieren kann [9].

Die mikroskopische Untersuchung von Gewebe, auch unter dem Fachbegriff der Histologie zusammengefasst, findet vor allem im Rahmen der Pathologie Anwendung. Pathologen sind im klinischen Alltag daran interessiert krankhaftes Gewebe zu klassifizieren und darauf aufbauend eine Diagnose zu stellen. Den Goldstandard für eine solche Untersuchung bildet auch heute noch das Lichtmikroskop, mit dem Gewebeschnitte unterschiedlicher Färbungen betrachtet werden. Die Färbungen helfen dabei unterschiedliche Strukturen im Gewebe sichtbar zu machen und erleichtern eine abschließende Beurteilung [40].

Der Einsatz digitaler Schnittbilder konzentriert sich im Moment noch weitgehend auf die Bereiche der Bildung und der Forschung. Schrittweise werden Slidescanner aber auch in der Klinik eingesetzt, wobei das Hauptaugenmerk auf der Qualitätssicherung, der Archivierung und auf dem unkomplizierten Einholen einer zweiten Meinung liegt. Der Anwendung zur primären Diagnose wird nach und nach der Weg geebnet. Die Wegbereiter sind neben kürzeren Scanzeiten, verbesserter Auflösung und einer guten IT-Infrastruktur auch eine einheitliche Regulierung und Validierung der digitalen Systeme im jeweiligen Anwendungskontext [1, 14, 28, 29].

1 Einleitung

Einen entscheidenden Vorteil der Digitalisierung, gerade im Bereich der Forschung, stellen Algorithmen der Bildverarbeitung dar, die auf die digitalen Schnittbilder angewendet werden können [9]. Den Pathologen können auf diese Weise Werkzeuge zur Verfügung gestellt werden, die ihnen nicht nur bei der Diagnose helfen, sondern auch völlig neue Erkenntnisse über den Aufbau und die Struktur von krankhaftem Gewebe ermöglichen [1].

Zwei solcher Werkzeuge sind durch die dreidimensionale Rekonstruktion aufeinanderfolgender Schnittbilder und die virtuelle Doppelfärbung gegeben. Mit Hilfe der dreidimensionalen Rekonstruktion können Pathologen zum Beispiel die räumliche Anordnung und feine Gewebestrukturen eines Tumors offenlegen und auf diese Weise neue Erkenntnisse über das spezifische Wachstumsmuster krankhafter Zellen gewinnen [30, 36]. In [26] und [27] konnten durch die 3D-Rekonstruktion eines Adenokarzinoms der Lunge vernetzte Inseln von Tumorzellen um den Haupttumor aufgespürt werden, die einen signifikanten Einfluss auf das Überleben der Patienten hatten, aber nicht Teil des aktuellen Diagnosekriteriums zur Einstufung eines Adenokarzinoms sind. Die virtuelle Doppelfärbung kombiniert zwei unterschiedlich gefärbte Schnittbilder, in denen jeweils bestimmte Strukturen sichtbar gemacht wurden, zu einem Bild. Das hat den Vorteil, dass Wechselwirkungen ausbleiben, die auftreten würden, wenn Pathologen eine Schicht mehrmals färbten [22, 36].

1.2 Bildregistrierung in der Histologie

Motiviert durch die Anwendungsmöglichkeiten der 3D-Rekonstruktion und der virtuellen Doppelfärbung digitaler Gewebeschnitte liegt der Fokus dieser Arbeit auf dem zentralen Bestandteil beider Verfahren, der Bildregistrierung. Als wichtiges Teilgebiet der medizinischen Bildverarbeitung beschreibt die Bildregistrierung im Kontext der Histologie die Suche nach einer sinnvollen Transformation eines Schnittbildes, sodass dieses dem benachbarten Schnittbild möglichst ähnlich sieht. Das heißt, gleiche Strukturen sollen aufeinander abgebildet werden. Im Idealfall modelliert diese Transformation genau die Drehungen, Verschiebungen und Deformationen, welche die Schnittbilder bei ihrer Herstellung unabhängig voneinander erfahren haben.

Ein geschichtlicher Rückblick in [31] zeigt, dass bereits Ende des 19. Jahrhunderts eine erste manuelle Lösung zur Registrierung histologischer Schnittbilder vorgestellt wurde. Bestimmte Strukturen der aufeinanderfolgenden Schnitte wurden dabei in eine Wachsplatte gezeichnet, ausgeschnitten und zu einem Stapel zusammengefügt. Beim Ausrichten der benachbarten Platten musste darauf geachtet werden, dass ihre Konturen möglichst glatt aufeinander treffen. Dadurch wurde manuell für jedes Plattenpaar die optimale rigide Transformation bestimmt.

Anfang der 1970er Jahre wurde in [20] eine Methode zur Bildregistrierung und Re-

konstruktion vorgestellt, die ohne Zeichnungen und die Erzeugung eines physikalischen Modells auskam. Ziel der Arbeit war es, Nervenbahnen in einem kleinen Bereich des Gehirns durch dünne Schichten hinweg zu verfolgen und so die gesamte Vernetzung in einem dreidimensionalen Modell beschreiben zu können. Um das zu realisieren, wurden die einzelnen Schnitte zunächst unter einem Elektronenmikroskop fotografiert. Danach wurden die Fotofilme zweier benachbarter Schnitte abwechselnd durchleuchtet (Stroboskop) und auf die gleiche Stelle projiziert, um den Unterschied zwischen den Bildern sichtbar zu machen. Eines der Bilder wurde solange bewegt, bis die Abweichung minimal war. Dieser Schritt erfolgte für alle Schnittbilder der Reihenfolge nach, wobei jeweils das Zwischenbild mit einer Filmkamera festgehalten wurde. Am Ende entstand eine Aufnahme, die langsam durch den Gewebekblock führte.

Der Blick in die frühen Anfänge zeigt, wie groß das Interesse an solchen dreidimensionalen Geweberekonstruktionen gewesen sein muss, wenn die Forscher bereit waren Tausende von dünnen Schnittbildern manuell zueinander auszurichten. Trotz dieses erheblichen Zeitaufwandes wurden manuelle Methoden noch bis in die 1990er Jahre in vielen Fällen eingesetzt. Parallel wurden allgemeine, theoretische Konzepte zur automatischen Bildregistrierung erarbeitet, die nicht nur rigide, sondern auch affine Transformationen und lokale Deformationen über elastische Modelle einbeziehen. Diese automatisierten Verfahren versprechen bei der Registrierung digitaler, histologischer Schnittbilder nicht nur genauere, sondern auch mühelos reproduzierbare Ergebnisse [31].

Darauf aufbauend wurden für die digitalen Schnittbilder, welche die beschriebenen Slidescanner seit etwa 15 Jahren immer schneller und in höherer Auflösung liefern, verschiedene, spezifische Registrierungsalgorithmen entwickelt, die sich grob in drei Kategorien einteilen lassen: marker-, merkmals- oder intensitätsbasiert. Bei den markerbasierten Methoden müssen bereits vor der Schnittherstellung Marker, meist Nadeln oder Katheter, in das Gewebe eingelassen werden. Dieser invasive Eingriff beschädigt nicht nur das Gewebe, sondern liefert zusätzlich ungenaue Ergebnisse, wenn die Marker nicht genau parallel zur Schnittachse platziert werden [3]. Außerdem lassen sich mit wenigen Markern nur schwer lokale Deformationen korrigieren. Die kürzlich veröffentlichten Verfahren sind aufgrund der benannten Nachteile, in der Regel merkmals- oder intensitätsbasiert. Marker werden nur noch gelegentlich von einigen Autoren zur Validierung herangezogen [34].

Merkmalsbasierte Methoden extrahieren vor der Bildregistrierung korrespondierende Strukturen in den Schnittbildern. Diese Strukturen können einzelne Punkte [19, 21], Konturen [34] oder auch ganze Segmentierungen unterschiedlicher Bildbestandteile [18, 32, 36] umfassen. Je spärlicher die Informationen, die bei den merkmalsbasierten Verfahren genutzt werden, desto weniger Freiheitsgrade können bei der Transformation bestimmt werden. Methoden, die nur einzelne Merkmalspunkte, zum Beispiel

1 Einleitung

mittels der skaleninvarianten Merkmalstransformation, auffinden, werden daher im Wesentlichen genutzt, um rigide oder auch affine Transformationen zu finden. In [36] werden die Bestandteile der Schnittbilder über eine Clusteranalyse klassifiziert. Die Zugehörigkeit einzelner Pixel zu einer bestimmten Klasse kann dann als Grauwert in Wahrscheinlichkeitsbildern dargestellt werden, die mittels intensitätsbasierten Verfahren affin und auch elastisch registriert werden können.

Die intensitätsbasierten Methoden weisen im Vergleich keinen solchen Grad der Abstraktion auf. Die gesamte Bildinformation der Pixel benachbarter Schichten beeinflusst die Transformation eines Bildes. Diese Verfahren ruhen auf einer fundierten Theorie und haben sich im Zusammenhang mit verschiedensten medizinischen Bildern bewährt [23, 24]. Spezielle Distanzmaße, die nicht auf die direkte Korrespondenz der Intensitätswerte angewiesen sind, ermöglichen auch die Registrierung unterschiedlich gefärbter Schnitte. In [22] wird das auf den Bildableitungen beruhende Maß Normalized Gradient Field (NGF) genutzt, um Kanten benachbarter histologischer Schnittbilder aufeinander abzubilden. Dieser Ansatz erlaubt es auf der Basis des gleichen Distanzmaßes sowohl affine Transformationsparameter als auch ein elastisches Deformationsfeld zu bestimmen.

Eine Herausforderung, der sich alle vorgestellten Methoden stellen müssen, ist die hohe Auflösung der histologischen Schnittbilder, die einen erheblichen Speicherbedarf haben. Die klinischen Bilder, welche in dieser Arbeit genutzt werden, haben eine Auflösung von über 10 Gigapixeln (115072×89344). Der Schnitt selbst misst dabei $26.2 \text{ mm} \times 20.4 \text{ mm}$, sodass ein einzelner Pixel nur einen $228 \text{ nm} \times 228 \text{ nm}$ großen Bereich darstellt. Unkomprimiert würden solche RGB-Farbbilder jeweils fast 30 Gigabyte benötigen und damit für alle intensitätsbasierten Ansätze praktisch ungeeignet sein. Abhilfe schafft etwa ein Downsampling der Bilddaten oder die Beschränkung auf einen kleinen Bildbereich [22]. Merkmalsbasierte Verfahren bilden in diesem Zusammenhang den speicherschonenderen Ansatz zur Registrierung histologischer Schnittbilder, weil diese die Bildinformationen gezielt bewerten und reduzieren.

1.3 Reduktion auf den Kern

Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher eine merkmalsbasierte Methode entwickelt, welche die gesamte Bildinformation auf die Koordinaten der in den histologischen Schnittbildern enthaltenen Zellkerne reduziert. Da sich die Zellkerne in der Regel in Formationen durch das gesamte Gewebe ziehen und bei sehr dünnen Schichten sogar über mehrere Schnittbilder hinweg sichtbar sind, stellen diese gute Merkmale dar, auf deren Basis benachbarte Schnittbilder miteinander verglichen und registriert werden können.

Ein Problem, das den direkten Vergleich der Abstände der Zellkernpositionen benachbarter Schnittbilder erschwert, ist die Tatsache, dass Zellkerne, die in einer Schicht sichtbar sind, aufgrund ihrer Lage und Größe nicht zwingend auch in der benachbarten Schicht zu erkennen sind. Das heißt, es gibt im Allgemeinen keine direkten Korrespondenzen zwischen ihnen. Zusätzlich kommt es bei der manuellen oder automatischen Positionsbestimmung der Zellkerne zu Ungenauigkeiten.

Um dem Problem der fehlenden Korrespondenzen und den Ungenauigkeiten zu begegnen, werden in dieser Arbeit auf Basis der Zellkernpositionen sogenannte Zellkerndichten modelliert. Diese Dichten sind in diesem Fall glatte, zweidimensionale Funktionen, über die bestimmt werden kann, wie wahrscheinlich es ist, in einem bestimmten Bereich auf einen Zellkern zu treffen.

Die Dichtefunktionen benachbarter Schnittbilder werden dann mit einem geeigneten Distanzmaß verglichen und wie Bilder mittels der intensitätsbasierten Registrierung zueinander ausgerichtet. Damit ähnelt die vorgestellte Methode im Ansatz dem in [36] beschriebenen Verfahren, bei dem nach einer Clusteranalyse Wahrscheinlichkeitsbilder für verschiedene Strukturen erzeugt und registriert werden. Anstatt der Segmentierung ganzer Strukturen, beschränken wir uns aber lediglich auf die Bestimmung der Zellkernpositionen.

1.4 Aufbau der Arbeit

In dieser **Einleitung** wurde bisher der zunehmende Einsatz digitaler Pathologie beschrieben und herausgestellt, welche Relevanz die computergestützte Diagnostik für diese Entwicklung hat. Exemplarisch wurde die automatische 3D-Rekonstruktion histologischer Gewebeschnitte als Anwendungsfall diskutiert und eine Übersicht der Anstrengungen gegeben, die unternommen wurden, um dieses Problem mittels Bildregistrierung zu lösen. Ein neuer Vorschlag zur Bildregistrierung auf der Basis von Zellkerndichten wurde unterbreitet und in den Kontext aktueller Methoden eingeordnet.

In den anschließenden Kapiteln soll dieser neue Ansatz auf ein sicheres, wissenschaftliches Fundament gestellt werden. Dabei leisten die einzelnen Kapitel die folgenden Beiträge:

- **Kapitel 2: Medizinischer Hintergrund** Die Herstellung histologischer Schnittbilder aus einem Gewebestück wird beschrieben. Dabei liegt der Fokus auf den Einflüssen, welche die einzelnen Verarbeitungsschritte auf die unterschiedliche Form und Beschaffenheit der Schnittbilder haben. Beispielhaft werden die Schnittbilder eines Lungentumors dargestellt, ihre Bestandteile näher erläutert und abschließend die Wahl des Zellkerns als Merkmal motiviert.

1 Einleitung

- **Kapitel 3: Intensitätsbasierte Registrierung histologischer Schnittbilder** In diesem Kapitel werden die Grundlagen der intensitätsbasierten Bildestrierung für den parametrischen und nicht-parametrischen Fall aufgezeigt. Diese umfassen zum einen die Bildinterpolation, verschiedene Distanzmaße, parametrische Transformationen und den elastischen Regularisierer, um das Problem der Bildregistrierung zu modellieren, und zum anderen die Diskretisierung und ein geeignetes Optimierungsverfahren, um das Problem zu lösen.
- **Kapitel 4: Dichtebasierte Distanz** Hier wird zunächst beschrieben, wie aus den Zellkernpositionen eines histologischen Schnittbildes die Zellkerndichte geschätzt werden kann. Als zentrales Element dieser Arbeit wird dann ein geeignetes Distanzmaß gesucht, um den Abstand zweier Zellkerndichten quantifizieren zu können. Dabei wird ein dichtebasiertes Distanzmaß auf der Basis der Sum of Squared Differences entwickelt und implementiert.
- **Kapitel 5: Ergebnisse der dichtebasierten Registrierung** Die dichtebasierte Distanz wird in das in Kapitel 3 beschriebene Registrierungsframework integriert und sowohl für synthetische Bilddaten als auch für histologische Schnittbilder evaluiert.
- **Kapitel 6: Fazit und Ausblick** Die dichtebasierte Registrierung mit ihren Bestandteilen und Ergebnissen wird rückblickend zusammengefasst und erläutert. Zusätzlich wird überlegt, wie die dichtebasierte Distanz in zukünftigen Arbeiten verbessert werden könnte und welche Experimente in diesem Zusammenhang sinnvoll sind.

2 Medizinischer Hintergrund

In der Einleitung wurde gezeigt, welche neuen Erkenntnisse sich aus dreidimensionalen Modellen des Gewebes und virtuellen Doppelfärbungen ergeben. Dabei sind neben den Techniken der Histologie auch eine Reihe medizinischer Ausdrücke genannt worden, die einer näheren Erläuterung bedürfen. In diesem Kapitel soll daher zunächst geklärt werden, wie histologische Schnittbilder entstehen und was diese darstellen. Die Beschreibung erfolgt im Kontext der seriellen Schnittbilder eines Lungentumors, welche auch zur abschließenden Evaluierung der Registrierung mittels des vorgestellten Distanzmaßes genutzt werden. Die medizinischen Hintergründe werden an dieser Stelle so ausführlich beschrieben, weil ihr gutes Verständnis sowohl für die Modellierung eines Distanzmaßes auf der Basis bestimmter Bildinformationen (Zellkerne) als auch für die finale visuelle Beurteilung der Registrierungsergebnisse das nötige Handwerk bereitstellt.

2.1 Von der Gewebentnahme zum digitalen Schnittbild

Die Histologie beschäftigt sich als Teilgebiet der Pathologie und der Anatomie gleichermaßen mit der Erforschung von krankhaftem wie gesundem Gewebe. Das Vorgehen bei der Herstellung von Präparaten lässt sich nach [40] aber unabhängig vom medizinischen Hintergrund in die folgenden methodischen Schritte unterteilen:

- **Gewebentnahme** Das zu untersuchende Gewebe, in dieser Arbeit zum Beispiel ein Lungentumor, wird während einer Operation möglichst restlos aus dem Körper entfernt. Häufig sind auch minimalinvasive, geringe Gewebentnahmen (Biopsien), die von Pathologen auf ihre Bösartigkeit untersucht werden und auf deren Grundlage der Arzt den weiteren Therapieverlauf eines Patienten planen kann.
- **Fixierung** Die Fixierung von Geweben erfolgt mit Hilfe kurzkettiger Polymere (etwa Paraformaldehyd). Hierbei wird in der Regel das zu fixierende Gewebe in einer vierprozentig gepufferten Lösung für mindestens 24 Stunden gelagert. Das Paraformaldehyd bewirkt eine zum Teil irreversible Vernetzung von Proteinen und wirkt somit autolytischen Prozessen entgegen.
- **Einbetten** Um das Gewebe in ultradünne Schichten schneiden zu können, oh-

2 Medizinischer Hintergrund

ne dass es seine gesamte Form und Struktur verliert, muss es weiter verfestigt werden. Dazu wird das fixierte Gewebe schrittweise entwässert, indem es mit einer Abfolge ansteigender Alkoholkonzentrationen behandelt und anschließend in Xylol getränkt wird. Dieser Schritt ist notwendig, weil sich das verflüssigte Paraffin, in welches das Gewebe eingebettet werden soll, wasserabstoßend verhält und sich dementsprechend nicht in das wässrige Gewebe einlagern würde. Das Xylol vermischt sich sowohl mit verflüssigtem Paraffin als auch mit Alkohol und bringt das Paraffin an die zuvor wassergefüllten Stellen. Kühlt das Paraffin nun ab, verfestigt es die gesamte Gewebeprobe.

- **Anfertigen der Schnitte** Die in den Paraffinblock eingebettete Gewebeprobe kann mit einem Mikrotom in Schnitte mit einer Schichtdicke von 1-2 μm geschnitten werden. Die fertigen Schnitte werden jeweils auf einen Objektträger aufgezogen.
- **Färben** Betrachteten Pathologen den Objektträger so unter einem Lichtmikroskop, dann würden sie die Gewebsstrukturen nur schwer erkennen können, da das ihnen gebotene Bild insgesamt sehr kontrastarm wäre. Der Grund dafür liegt in der Beschaffenheit der menschlichen Zellen, die im Prinzip aus wässrigen Lösungen von Proteinen und Zuckern bestehen und mit ihren zarten Strukturen farblos und glasklar erscheinen [10].

Um den Kontrast zu verbessern, können die histologischen Schnitte mit einer meist wässrigen Farblösung in Kontakt gebracht werden. Die verschiedenen Zell- und Gewebeelemente nehmen dann den jeweiligen Farbstoff mit unterschiedlicher Affinität auf und können danach besser unterschieden werden. Damit mit den genannten wässrigen Farblösungen gearbeitet werden kann, muss zunächst das Paraffin aus den Schnittpräparaten entfernt werden. Dazu werden die Schritte der Einbettung in umgekehrter Reihenfolge ausgeführt und das Gewebe so wieder schrittweise hydratisiert.

Eine Routinefärbung stellt die Hämatoxylin-Eosin-Färbung, kurz HE-Färbung, dar, welche in den Abbildungen 2.1 und 2.2 zu sehen ist. Diese Färbung besteht zum einen aus dem basischen Farbstoff Hämatoxylin, der von sauren Gewebekomponenten wie etwa dem Zellkern aufgenommen wird und diesen blauviolett färbt, zum anderen aus dem sauren Farbstoff Eosin, der die basischen Gewebeteile wie das proteinreiche Zytoplasma und die extrazellulären Fasern rot färbt.

Die letzten Schritte zum Dauerpräparat umfassen die Entwässerung, das Eindecken des gefärbten Gewebeschnitts mit einem Eindeckmittel und das Auflegen eines Deckglases.

- **Digitalisierung** Um die histologischen Schnitte auf den Objektträgern mit dem Computer weiterverarbeiten zu können, müssen diese zunächst digitalisiert werden. Hierzu kommen sogenannte Slidescanner zum Einsatz, die in ihrem Aufbau

2.1 Von der Gewebentnahme zum digitalen Schnittbild

im Wesentlichen einem klassischen Durchlichtmikroskop gleichen. Der zentrale Unterschied ist, dass das Abbild des histologischen Schnittes nicht auf die Netzhaut, sondern auf einen Kamerasensor projiziert wird. Bei den meisten Slidescannern können unterschiedliche Objektive mit einer bis zu 40-fachen Vergrößerung angesteuert werden [1]. Ist das passende Objektiv gewählt wird das Präparat stückweise abgerastert, sodass eine Abfolge hochauflöser Bildkacheln entsteht, die nach dem Scanvorgang zusammengesetzt werden [28].

Für das Problem der Registrierung digitalisierter, histologischer Schnittbilder sind vor allem die drei zuletzt genannten Schritte relevant, da es bei diesen zu zusätzlichen Veränderungen der einzelnen Gewebsschnitte in der Form von groben Verschiebungen, lokalen Deformationen und anderen Artefakten kommt.

Das Anfertigen der Schnitte mittels Mikrotom ist dabei für viele dieser Veränderungen verantwortlich. Während die Klinge durch den Paraffinblock schneidet, wird das Gewebe nicht nur deformiert, es können auch Artefakte wie Faltungen und Risse auftreten. Wird der Schnitt im Anschluss auf einen Objektträger aufgezogen, kommt es neben weiteren Deformationen auch zu einer gesamten Drehung und Verschiebung des Gewebes auf dem Objektträger. Durch den folgenden Färbeprozess und das Eindecken des Präparats treten zusätzliche, minimale Veränderungen auf.

Ein weiterer, schwieriger Aspekt sind die oft unterschiedlichen Färbungen benachbarter Schichten, welche die Bildregistrierung erschweren, da dort ein einfacher Helligkeits- und Farbenvergleich nicht mehr zur optimalen Ausrichtung führt.

Bei der Digitalisierung wird zwar kein direkter Einfluss mehr auf das Gewebe genommen, dennoch treten Artefakte in der Darstellung auf. Dabei ist das Problem weniger die begrenzte Auflösung des Kamerasensors als die ungenaue Fokussierung des Gewebes, das keine planare Oberfläche aufweist. Der Fokus stellt also immer einen Kompromiss über einen bestimmten Bereich dar und kann so bei einer sehr unebenen Oberfläche in vielen unscharfen Bildregionen resultieren. Des Weiteren entstehen durch das Zusammensetzen der Bildkacheln (Stitching) und die eingesetzte Bildkompression Artefakte [9].

Zusammenfassend lassen sich die Veränderungen bei der digitalen Schnittbildherstellung in zwei Kategorien einteilen. In die erste Kategorie fallen Verschiebungen, Drehungen und lokale Deformationen des Gewebes, die durch die Bildregistrierung adressiert und korrigiert werden sollen. In die zweite Kategorie fallen solche Artefakte, welche eine Bildregistrierung störend beeinflussen, falls diese nicht explizit modelliert oder zumindest deren Auswirkungen minimiert werden. Beispiele hierfür sind Faltungen, Risse, unscharfe Bildbereiche, Stitching- und Kompressionsartefakte.

2.2 Schnittbilder eines Lungentumors

Die digitalen Schnittbilder, welche in dieser Arbeit Verwendung finden, stellen Schichten eines primären Adenokarzinoms der Lunge dar. Adenokarzinome der Lunge zählen zu den nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen, treten meist in den peripheren Regionen der Lunge auf und sind mit über 25 Prozent die häufigsten aller diagnostizierten Lungenkarzinome. Histologisch zeigen sie drüsige Strukturen mit Schleimbildung und reichlich Binde- und Stützgewebe zwischen den Tumorformationen [37]. Der beschriebene Aufbau lässt sich in Abbildung 2.2 wiederfinden.

Im Vergleich zu den eher festen Strukturen des Tumorgewebes wirkt das gesunde Lungenepithel im Schnittbild eher locker und unzusammenhängend. Der Unterschied ist in der Abbildung 2.1 deutlich zu erkennen. Dort sind die Randbereiche des Adenokarzinoms dargestellt, welche noch Teile des gesunden Lungengewebes enthalten. Bei den losen Strukturen des normalen Lungengewebes handelt es sich primär um Alveolen, von denen über 300 Millionen in der Lunge eines Erwachsenen zu finden sind. Ist die Luft durch die Luftröhre und das sich immer weiter verästelnde Bronchialsystem der Lunge bis hin zu den Alveolen transportiert worden, findet in diesen luftgefüllten Kammern der Austausch der Atemgase statt. Realisiert wird dieser Gasaustausch zwischen dem Blut, das in einem dichten Kapillarnetz der Wände der Alveolen fließt, und der Luft in den Alveolen per Diffusion [40].

Neben den Alveolen sind in den histologischen Schnitten die kleinen Verästelungen des Bronchialsystems und die diese begleitenden Blutgefäße sichtbar (siehe Abbildung 2.1).

Die hier verwendeten Schnitte weisen eine Dicke von nur $2\ \mu\text{m}$ auf, wurden abwechselnd mit vier unterschiedlichen Färbungen (CD31, HE, Faktor VIII, KL-1) versehen und sind in 20-facher (HE) bzw. 40-facher Vergrößerung (CD31, Faktor VIII, KL-1) digitalisiert worden [22]. Die verschiedenen Färbungen eines überlappenden Bereichs der benachbarten Schnittbilder sind in Abbildung 2.2 zu sehen.

Die verwendeten Bilder sind im Rahmen des LungSys2 Konsortiums¹ entstanden.

¹ LungSys2 wird gefördert durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung, genauere Informationen sind auf www.lungSys.de zu finden.

2.2 Schnittbilder eines Lungentumors

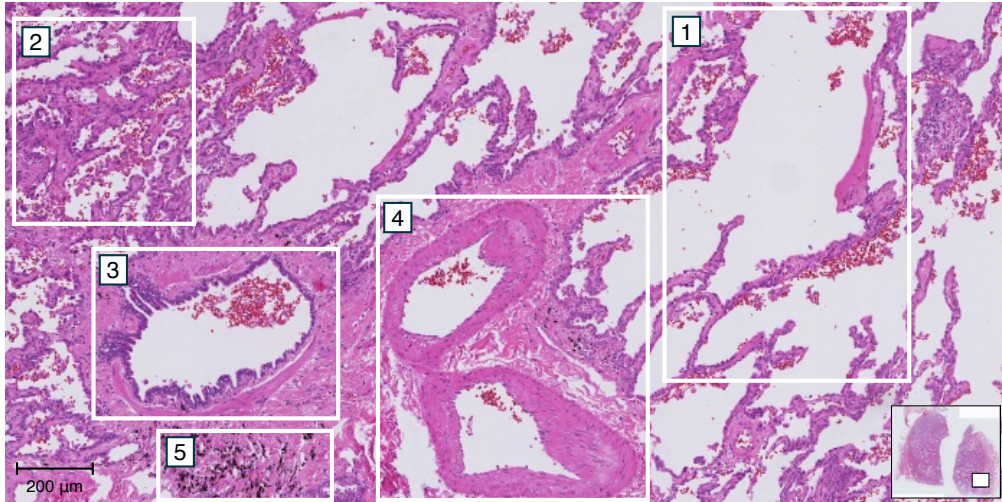


Abbildung 2.1: Randbereich eines entfernten Lungentumors mit Blutrückständen (als rote Blutkörperchen erkennbar) und vielen unterschiedlichen Strukturen: 1 Gesundes, luftgefülltes Lungengewebe (Alveolarraum). 2 Feste Karzinomverbände mit unterschiedlich großen Hohlräumen und reichlich Binde- und Stützgewebe. 3 Bronchiolus respiratoris (kleinste Struktur des Bronchialsystems vor dem Übergang in den Alveolarraum). 4 Blutgefäße. 5 Abgelagerte Staub- und Rußpartikel.

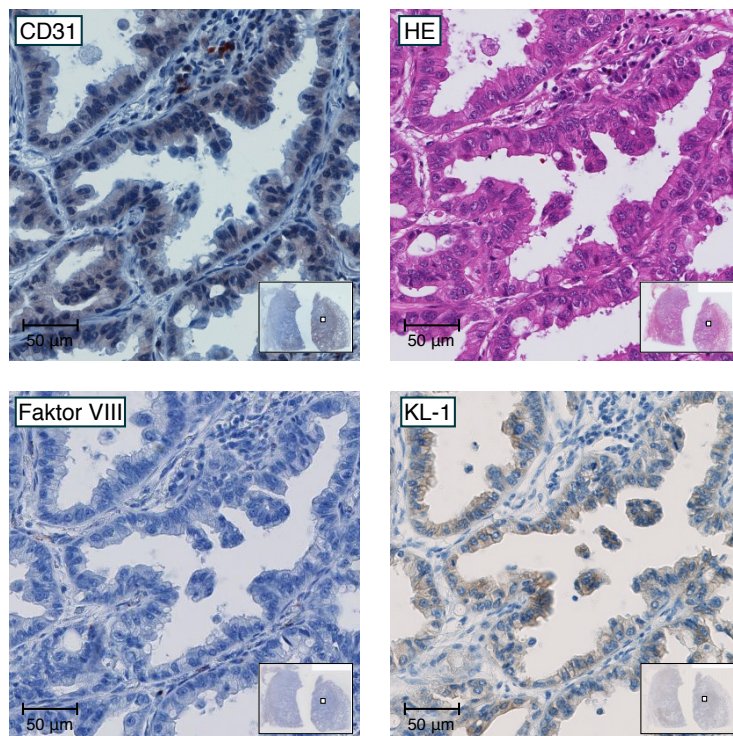


Abbildung 2.2: Unterschiedliche Färbungen aufeinanderfolgender histologischer Schnitte des entfernten Adenokarzinoms (Reihenfolge: CD31, HE, Faktor VIII, KL-1).

2.3 Zellkerne als zentraler Bestandteil

Aus histologischer Sicht ist die Zelle der Grundbaustein des menschlichen Körpers. Ein erwachsener Mensch weist etwa 10^{13} Zellen auf, die sich in über 220 Zelltypen einteilen lassen. Diese Vielfalt spiegelt sich in unterschiedlichen Größen, Formen, Strukturen und Funktionen der jeweiligen Zelltypen wider. Histologen sind dabei vor allem an der Untersuchung des Gewebes, also dem Zusammenschluss gleich differenzierter Zellen, interessiert [40].

Beim Zellkern (Nucleus) handelt es sich typischerweise um die auffälligste Struktur einer Zelle in einem Gewebsverband. Dieser nimmt in Abhängigkeit vom Zelltyp etwa 15 Prozent des Volumens einer Zelle ein und enthält als wichtigste Komponente das Erbgut. Die Desoxyribonukleinsäure (DNS) sorgt dafür, dass die Zellkerne durch basische Farblösungen, wie das beschriebene Hämatoxylin der HE-Färbung, in den histologischen Schnitten deutlich sichtbar hervortreten [40]. Das ist auch in Abbildung 2.2 zu sehen, in der die Zellkerne unabhängig von der verwendeten Färbung gut zu erkennen sind.

Die Strukturen, die sich im Gewebe abzeichnen, sind damit unmittelbar mit den Positionen der Zellen bzw. der Zellkerne verbunden. Selbst wenn Größe und Form des jeweiligen Zellkerns ausgeblendet werden, zeichnet allein die Anordnung der Mittelpunkte der Zellkerne diese Struktur nach. Dies gilt in besonderem Maße für das Tumorgewebe der Lunge in Abbildung 2.2, da dort die großen und gut sichtbaren Zellkerne in engen Formationen beieinander liegen. Aus diesem Grund fiel die Wahl eines geeigneten Merkmals zur Bildregistrierung in dieser Arbeit auf die Zellkernpositionen.

Für die Korrespondenz der Zellkernpositionen benachbarter Schichten ist zu beachten, dass es sich um Gewebeschnitte handelt und die Zellkerne natürlich eine spezifische Form und Größe aufweisen, sodass sie in benachbarten Schichten je nach ursprünglicher Lage des Zellkerns an ganz anderen Positionen vorgefunden werden oder aber gar nicht mehr sichtbar sind. Das beschriebene Problem der unmittelbaren Korrespondenz der Zellkerne zweier benachbarter Schichten wird in dieser Arbeit über die Modellierung der Zellkerndichten gelöst. Im Detail bedeutet dies, dass das Verschwinden einer Zelle in einer Zellformation nur einen geringen Einfluss auf die gesamte Dichte in diesem Bereich hat.

3 Intensitätsbasierte Registrierung histologischer Schnittbilder

Zum besseren Verständnis des dichte-basierten Distanzmaßes, welches im nächsten Kapitel entwickelt und implementiert werden soll, ist es sinnvoll, in den folgenden Abschnitten zunächst die Bestandteile einer intensitätsbasierten Methode zur Registrierung histologischer Schnitte zu beschreiben. Die Modellierung der Zellkerndichten einzelner Schnittbilder und die Bestimmung ihrer Distanz zueinander sind dabei entscheidend mit den in diesem Kapitel beschriebenen Ansätzen zur Interpolation und Distanzberechnung verknüpft. Als Grundlage für die folgenden Ausführungen zur intensitätsbasierten Registrierung wurde, wenn nicht anders vermerkt, auf die Definitionen und Erklärungen in [23] zurückgegriffen.

3.1 Digitale Repräsentation von histologischen Schnitten

Nachdem in Kapitel 2 bereits kurz erklärt wurde, wie die Gewebsschnitte hergestellt und digitalisiert werden, wollen wir jetzt den Blick auf die Repräsentation der Schnittbilder im Speicher lenken. Auch wenn die meisten Hersteller von Slidescannern jeweils ihr eigenes Bildformat entwickelt haben, teilen diese doch eine Reihe intuitiv sinnvoller Eigenschaften [5]. Davon erwähnenswert ist im Kontext der Bildregistrierung, dass die Bilddateien bereits mit mehreren Auflösungen des Bildes aufwarten und so ein schneller Zugriff auf ein bestimmtes Bildlevel ohne zusätzliches Downsampling möglich ist. Bei den Bilddaten unterschiedlicher Auflösung handelt es sich in den meisten Fällen um zweidimensionale RGB-Farbbilder (Rot, Grün, Blau), die neben drei Farbbintensitätswerten für jeden Pixel auch allgemeine Bildinformationen, wie etwa die reale Größe des dargestellten Bereichs, enthalten.

Das digitale Schnittbild stellt eine Intensitätsmessung des Lichts bestimmter Wellenlängen dar, welches durch das Gewebe transmittiert wird und auf die einzelnen Elemente des Kamerasensors trifft. Jedes Sensorelement reagiert dabei hauptsächlich auf die transmittierten Photonen eines kleinen Bereichs des Schnittes und mittelt über diesen. Die gemittelten Intensitätswerte für die verschiedenen Farben werden in drei Bildmatrizen $R, G, B \in \{v \in \mathbb{Z} \mid 0 \leq v \leq 255\}^{m^1 \times m^2}$ mit der Pixelanzahl m^1 in x^1 -Richtung und m^2 in x^2 -Richtung gespeichert. Durch die Kenntnis der Größe

3 Intensitätsbasierte Registrierung histologischer Schnittbilder

und Lage des abgebildeten Schnittbereichs $\Omega = [\omega^1, \omega^2] \times [\omega^3, \omega^4] \subset \mathbb{R}^2$ lassen sich auch die Pixelmaße des Bildes h^1 in x^1 -Richtung und h^2 in x^2 -Richtung mit

$$h^1 = \frac{\omega^2 - \omega^1}{m^1} \text{ und } h^2 = \frac{\omega^4 - \omega^3}{m^2}$$

bestimmen. Die Position x_{j_1, j_2} der Mitte eines Pixels der Bildmatrizen $R = (r_{j_1 j_2})$, $G = (g_{j_1 j_2})$, $B = (b_{j_1 j_2})$ ist über

$$x_{j_1, j_2} = \begin{pmatrix} \omega^1 + (j_1 - 0.5)h^1 \\ \omega^3 + (j_2 - 0.5)h^2 \end{pmatrix}$$

mit $j_1 = 1, \dots, m^1$, $j_2 = 1, \dots, m^2$ definiert. Der Zusammenschluss aller dieser Pixelpositionen zu der Menge $X = \{x_{j_1, j_2} \mid j_1 = 1, \dots, m^1; j_2 = 1, \dots, m^2\}$ beschreibt ein Pixel-zentriertes Gitter.

Da das in dieser Arbeit verwendete Registrierungsframework in erster Linie für radiologische Grauwertbilder mit schwarzem Hintergrund konzipiert wurde, wird auf Basis der Farbbilder eine kombinierte Bildmatrix $K = (k_{j_1 j_2}) \in \{v \in \mathbb{Z} \mid 0 \leq v < 255\}^{m^1 \times m^2}$ mit Grauwerten erstellt. Die Berechnung der Grauwerte erfolgt, wie in [32], mittels der Helligkeits-Methode und einer anschließenden Inversion des Ergebnisses. Für die Einträge in K gilt jeweils

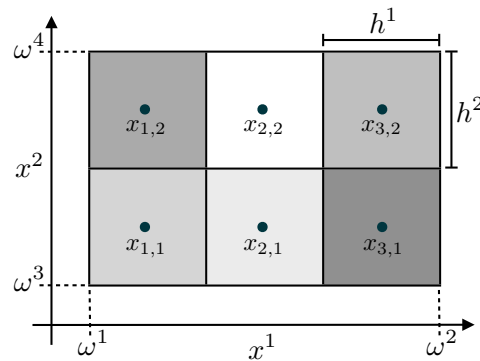
$$k_{j_1 j_2} = 255 - \frac{\max(r_{j_1 j_2}, g_{j_1 j_2}, b_{j_1 j_2}) + \min(r_{j_1 j_2}, g_{j_1 j_2}, b_{j_1 j_2})}{2}$$

mit $j_1 = 1, \dots, m^1$ und $j_2 = 1, \dots, m^2$.

In der nachfolgenden Definition 3.1 sind die beschriebenen Bestandteile und Parameter eines digitalen Grauwertbildes noch einmal zusammenfassend dargestellt.

Definition 3.1: Digitales Bild

Ein digitales Bild besteht aus einer Matrix $K \in \{v \in \mathbb{Z} \mid 0 \leq v \leq 255\}^{m^1 \times m^2}$ mit $m^1 \cdot m^2$ diskreten Grauwerten und einem festgelegten Bildbereich $\Omega = [\omega^1, \omega^2] \times [\omega^3, \omega^4] \subset \mathbb{R}^2$. Jeder Matrixeintrag k_{j_1, j_2} lässt sich einem diskreten Gitterpunkt x_{j_1, j_2} und dem diesen umgebenden, quadratischen Pixel der Größe $h^1 \cdot h^2$ zuordnen.



Wie eingangs erwähnt sind die Bilddaten in unterschiedlichen Auflösungen vorhanden, sodass mehrere Bildmatrizen K_L für die verschiedenen Detaillevel L zur

3.2 Interpolation - Von diskreten zu kontinuierlichen Bildern

Verfügung stehen. Dabei reicht das Level von einem Pixel ($L = 0$) bis zu den detailreichen Originalbildern der Auflösung $m_L^1 \times m_L^2$ mit $L = L_{\max}$. Der abgebildete Bildbereich Ω_L bleibt für alle Level gleich. Zur Berechnung der Bildmatrizen unterschiedlicher Level, angenommen es wäre zunächst nur $K \in \{v \in \mathbb{Z} \mid 0 \leq v \leq 255\}^{m^1 \times m^2}$ gegeben, erweitern wir die Matrix K mit Nullen so zu $K_L \in \{v \in \mathbb{Z} \mid 0 \leq v \leq 255\}^{m_L^1 \times m_L^2}$, dass $m_L^1 = m_L^2 = 2^L$ mit $L = L_{\max}$ der nächst größeren Zweierpotenz von $\max(m^1, m^2)$ entspricht. Für Ω_L gilt entsprechend $[\omega^1, \omega^1 + h^1 \cdot m_L^1] \times [\omega^2, \omega^2 + h^2 \cdot m_L^2]$. Das Downsampling kann dann von Level zu Level nach dem gleichen Muster erfolgen: Aus vier benachbarten Pixeln auf dem Level L entsteht ein großer Pixel des Levels $L - 1$ mit gemitteltem Grauwert. In Abbildung 3.1 ist dieses Vorgehen schematisch für das Beispielbild aus Definition 3.1 dargestellt.

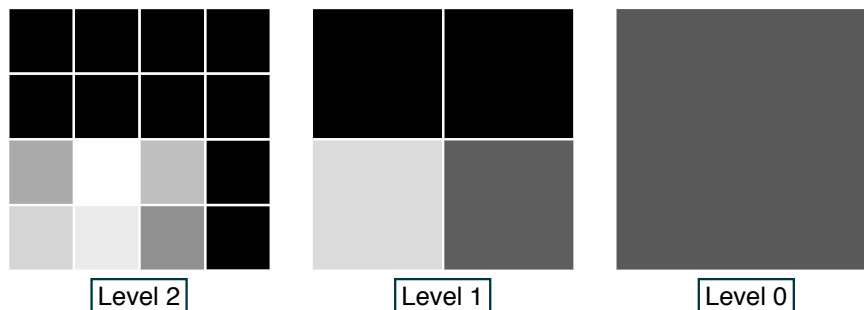


Abbildung 3.1: Digitales Bild, dargestellt auf unterschiedlichen Detailleveln von fein (Level 2) bis grob (Level 0). Im Übergang zwischen den Leveln von fein nach grob wird jeweils über die Grauwerte vier benachbarter Pixel gemittelt.

3.2 Interpolation - Von diskreten zu kontinuierlichen Bildern

Die digitalen Bilder bestehen aus diskreten Grauwerten an diskreten Positionen, stellen also nur eine Abtastung der Wirklichkeit dar, an deren Modellierung wir eigentlich interessiert sind. Ein realitätsnahes Modell ist durch ein kontinuierliches Bild gegeben, das jedem Punkt in $x \in \Omega \subset \mathbb{R}^2$ einen kontinuierlichen Intensitätswert zuweist und die Voraussetzungen in Definition 3.2 erfüllt [24].

Definition 3.2: Bild

Eine Funktion $\mathcal{I} : \Omega \rightarrow \mathbb{R}$ mit $\Omega \subset \mathbb{R}^2$ heißt Bild, wenn \mathcal{I} einen kompakten Träger hat, $0 \leq \mathcal{I}(x) < \infty$ für alle $x \in \Omega$ gilt und $\int_{\Omega} \mathcal{I}(x)^k dx$ für alle $k > 0$ endlich ist. Die Menge aller Bilder sei definiert durch $\text{Img}(\Omega)$.

Die Voraussetzungen bedeuten im Wesentlichen, dass sich ein schwarzer Hintergrund ($\mathcal{I}(x) = 0$) rund um das Objekt im Bild befindet, es nur endliche Intensitätswerte annimmt und die Energie der Intensität allgemein beschränkt ist.

3 Intensitätsbasierte Registrierung histologischer Schnittbilder

Eine Reihe von Interpolationsmethoden ermöglichen auf Basis der diskreten Bilddaten ein kontinuierliches Bild nach Definition 3.2 zu modellieren. Die diskreten Werte sollen dabei im Bild enthalten sein, indem $\mathcal{I}(x_{j_1, j_2}) = k_{j_1, j_2}$ für $j_1 = 1, \dots, m^1$ und $j_2 = 1, \dots, m^2$ erfüllt ist. Allgemein lässt sich ein Bild mit Hilfe der zweidimensionalen Interpolation als Funktion

$$\mathcal{I}(x) = \sum_{i_2=1}^{m^2} \sum_{i_1=1}^{m^1} a_{i_1, i_2} b(x - x_{i_1, i_2})$$

mit Koeffizienten a_{i_1, i_2} und einer Basisfunktion $b : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}$ mit Bildeigenschaften definieren. Die Wahl der Basisfunktion entscheidet über die Art der Interpolation und ihre Komplexität. Die meisten zweidimensionalen Basisfunktionen, die zur Interpolation genutzt werden, können auch als Multiplikation unabhängiger, eindimensionaler Basisfunktionen $b_1 : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ aufgefasst werden, sodass

$$b(x) = b_1(x^1) \cdot b_1(x^2)$$

gilt. Über die Bedingungen

$$\mathcal{I}(x_{j_1, j_2}) = \sum_{i_2=1}^{m^2} \sum_{i_1=1}^{m^1} a_{i_1, i_2} b(x_{j_1, j_2} - x_{i_1, i_2}) = k_{j_1, j_2}$$

für $j_1 = 1, \dots, m^1$ und $j_2 = 1, \dots, m^2$ lässt sich ein lineares Gleichungssystem (LGS)

$$\begin{aligned} b_{1,1}^{1,1} \cdot a_{1,1} + b_{2,1}^{1,1} \cdot a_{2,1} + \dots + b_{m^1, m^2}^{1,1} \cdot a_{m^1, m^2} &= k_{1,1} \\ b_{1,1}^{2,1} \cdot a_{1,1} + b_{2,1}^{2,1} \cdot a_{2,1} + \dots + b_{m^1, m^2}^{2,1} \cdot a_{m^1, m^2} &= k_{2,1} \\ &\vdots \\ b_{1,1}^{m^1, m^2} \cdot a_{1,1} + b_{2,1}^{m^1, m^2} \cdot a_{2,1} + \dots + b_{m^1, m^2}^{m^1, m^2} \cdot a_{m^1, m^2} &= k_{m^1, m^2} \end{aligned}$$

mit $b_{i_1, i_2}^{j_1, j_2} = b(x_{j_1, j_2} - x_{i_1, i_2})$ aufstellen und lösen, um alle Koeffizienten a_{i_1, i_2} mit $i_1 = 1, \dots, m^1$ und $i_2 = 1, \dots, m^2$ zu bestimmen. In der Matrixschreibweise lautet das LGS

$$\underbrace{\begin{pmatrix} b_{1,1}^{1,1} & b_{2,1}^{1,1} & \dots & b_{m^1, m^2}^{1,1} \\ b_{1,1}^{2,1} & b_{2,1}^{2,1} & \dots & b_{m^1, m^2}^{2,1} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ b_{1,1}^{m^1, m^2} & b_{2,1}^{m^1, m^2} & \dots & b_{m^1, m^2}^{m^1, m^2} \end{pmatrix}}_{B \in \mathbb{R}^{m^1 \cdot m^2 \times m^1 \cdot m^2}} \cdot \underbrace{\begin{pmatrix} a_{1,1} \\ a_{2,1} \\ \vdots \\ a_{m^1, m^2} \end{pmatrix}}_{A \in \mathbb{R}^{m^1 \cdot m^2 \times 1}} = \underbrace{\begin{pmatrix} k_{1,1} \\ k_{2,1} \\ \vdots \\ k_{m^1, m^2} \end{pmatrix}}_{K \in \mathbb{R}^{m^1 \cdot m^2 \times 1}}$$

mit den vektorisierten Matrizen A und K . Die Vektorisierung folgt der Sortierung $j = j_1 + m^1(j_2 - 1)$, sodass der j -te Vektoreintrag von K bzw. A dem Matrixeintrag k_{j_1, j_2} bzw. a_{j_1, j_2} entspricht. Die Koeffizienten lassen sich jetzt durch Invertierung der Matrix B mit $A = B^{-1}K$ bestimmen.

3.2 Interpolation - Von diskreten zu kontinuierlichen Bildern

Betrachten wir nun drei verschiedene Interpolationsverfahren (*NN*: Nearest Neighbor, *L*: Linear, *S*: Spline) mit den folgenden eindimensionalen Basisfunktionen:

$$b_1^{NN}(x) = \begin{cases} 1 & \text{für } |x| < 0.5 \\ 0 & \text{für } |x| \geq 0.5 \end{cases},$$

$$b_1^L(x) = \begin{cases} 1 - |x| & \text{für } |x| < 1 \\ 0 & \text{für } |x| \geq 1 \end{cases},$$

$$b_1^S(x) = \begin{cases} |x|^3 + 2(|x| - 1)^3 - 6(|x| - 1) & \text{für } 0 \leq |x| < 1 \\ (|x| - 2)^3 & \text{für } 1 \leq |x| < 2 \\ 0 & \text{sonst} \end{cases}.$$

Für den zweidimensionalen Fall ergibt sich die mit h^1, h^2 skalierte Basisfunktion

$$b(x) = b_1(x^1/h^1) \cdot b_1(x^2/h^2),$$

die sich bei der NN-Interpolation ($b_1 = b_1^{NN}$) genau über einen rechteckigen Bereich der Größe $h^1 \cdot h^2$ mit dem Mittelpunkt x erstreckt und außerhalb null ist. Für die lineare Interpolation ($b_1 = b_1^L$) ist dieser Bereich $4 \cdot h^1 \cdot h^2$ groß und für die Spline-Interpolation ($b_1 = b_1^S$) entspricht die Größe einer maximal großen Ellipse innerhalb des Rechtecks der Größe $16 \cdot h^1 \cdot h^2$. Für die Auswertung von

$$\mathcal{I}(x) = \sum_{i_2=1}^{m^2} \sum_{i_1=1}^{m^1} a_{i_1, i_2} b(x - x_{i_1, i_2})$$

ist diese Kompaktheit sehr nützlich, da wir nicht $m^1 \cdot m^2$ Basisfunktionen auswerten müssen, sondern nur maximal eine (NN), maximal vier (Linear) oder maximal 16 (Spline). Auch bei der Bestimmung der Koeffizienten a_{i_1, i_2} spiegelt sich diese Kompaktheit wider. Für die NN-Interpolation und die lineare Interpolation ist B jeweils die Einheitsmatrix, sodass $A = K$ gilt, die Bilddaten also direkt den Koeffizienten entsprechen. Für die Spline-Interpolation ist dies nicht gegeben und es muss B bestimmt und das LGS explizit gelöst werden.

Interessant für die Optimierung des Registrierungsproblems ist vor allem die Ableitung des Bildes $\nabla \mathcal{I}(x) : \Omega \rightarrow \mathbb{R}^2$. Diese erhalten wir, indem wir die Basisfunktion in der Linearkombination ableiten. Der Bildgradient an der Stelle x lautet dann

$$\nabla \mathcal{I}(x) = \sum_{i_2=1}^{m^2} \sum_{i_1=1}^{m^1} a_{i_1, i_2} \nabla b(x - x_{i_1, i_2}).$$

Bei der NN-Interpolation ist der Gradient der Basisfunktion entweder null oder nicht definiert und damit wenig geeignet für die Optimierung. Auch die Basisfunktion der linearen Interpolation ist nicht stetig differenzierbar, da ihre Ableitung auf den Gitterpunkten selbst nicht definiert ist. Lediglich die Spline-Interpolation wartet mit

3 Intensitätsbasierte Registrierung histologischer Schnittbilder

einer glatten, stetig differenzierbaren Basisfunktion auf und stellt damit die optimale Wahl für die Optimierung dar. Weil die Berechnung der Spline-Interpolation ein wenig komplexer ist als die der anderen Verfahren und sich mit der linearen Interpolation in der Regel auch gute Ergebnisse erzielen lassen, wird in der Praxis oft Letztere genutzt.

3.3 Intensitätsbasierte Distanzmaße

Das Ziel der Bildregistrierung zweier Bilder \mathcal{R} (Referenzbild) und \mathcal{T} (Templatebild) ist es, eine plausible Transformation des Templatebildes zu finden, sodass sich die beiden Bilder möglichst ähnlich sehen. Um diese Transformation bestimmen zu können, benötigen wir Ähnlichkeitsmaße bzw. Distanzmaße, welche die Ähnlichkeit bzw. die Distanz zweier Bilder quantifizieren. Im Folgenden wird die Bildregistrierung als Minimierungsproblem geeigneter Distanzmaße nach Definition 3.3 betrachtet [11].

Definition 3.3: Distanzmaß

Ein Funktional $\mathcal{D} : \text{Img}(\Omega) \times \text{Img}(\Omega) \rightarrow \mathbb{R}$ wird Distanzmaß genannt, wenn folgende Voraussetzungen erfüllt sind:

- **Symmetrie** $\mathcal{D}[\mathcal{R}, \mathcal{T}] = \mathcal{D}[\mathcal{T}, \mathcal{R}]$
- **Gleichheit der Bilder** $\mathcal{D}[\mathcal{R}, \mathcal{R}] = \min_{\mathcal{T} \in \text{Img}(\Omega)} \mathcal{D}[\mathcal{R}, \mathcal{T}]$

Für die Registrierung von Schnittbildern gleicher Färbung, die mit der gleichen Kamera und unter den gleichen Bedingungen aufgenommen worden sind, ist das einfache Sum of Squared Differences (SSD) geeignet, welches die Intensitätswerte der beiden Bilder direkt miteinander vergleicht. Ähnliche Strukturen müssen daher auch ähnliche Intensitätswerte aufweisen, damit die optimale Transformation gefunden werden kann.

Definition 3.4: SSD

Das Distanzmaß Sum of Squared Differences (SSD) zweier Bilder \mathcal{R}, \mathcal{T} lautet

$$\mathcal{D}_{\text{SSD}}[\mathcal{R}, \mathcal{T}] = \frac{1}{2} \int_{\Omega} (\mathcal{R}(x) - \mathcal{T}(x))^2 dx.$$

Expandiert man das SSD-Distanzmaß zu

$$\mathcal{D}_{\text{SSD}}[\mathcal{R}, \mathcal{T}] = \frac{1}{2} \int_{\Omega} \mathcal{T}(x)^2 dx - \int_{\Omega} \mathcal{R}(x)\mathcal{T}(x) dx + \frac{1}{2} \int_{\Omega} \mathcal{R}(x)^2 dx$$

und bezieht die Transformation $y : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$ des Templatebildes mit ein, ergibt sich

$$\mathcal{D}_{\text{SSD}}[\mathcal{R}, \mathcal{T}[y]] = \frac{1}{2} \int_{\Omega} \mathcal{T}(y(x))^2 dx - \int_{\Omega} \mathcal{R}(x) \mathcal{T}(y(x)) dx + \frac{1}{2} \int_{\Omega} \mathcal{R}(x)^2 dx.$$

Um das Registrierungsproblem zu lösen, gilt es die optimale Transformation y^* zu finden, welche die Distanz minimiert. Die optimale Transformation y^* ist dabei unabhängig vom letzten Summanden der obenstehenden Gleichung, da dieser für alle y konstant ist. Ein alternatives Distanzmaß \mathcal{D}' lässt sich daher als

$$\mathcal{D}'[\mathcal{R}, \mathcal{T}[y]] = \frac{1}{2} \int_{\Omega} \mathcal{T}(y(x))^2 dx - \int_{\Omega} \mathcal{R}(x) \mathcal{T}(y(x)) dx$$

definieren. Unter der Annahme, dass $y = y^R$ eine rigide Transformation darstellt, ist auch der erste Summand von \mathcal{D}' konstant und es ergibt sich das Distanzmaß

$$\mathcal{D}_{\text{CC}}[\mathcal{R}, \mathcal{T}[y^R]] = - \int_{\Omega} \mathcal{R}(x) \mathcal{T}(y^R(x)) dx, \quad (3.3.1)$$

das wir hier als negative Kreuzkorrelation bezeichnen. In der Signalanalyse wird das Maß der Kreuzkorrelation genutzt, um die Ähnlichkeit zeitlich zueinander verschobener Signale und auch deren Zeitversatz zu bestimmen. Statt einer rigiden Transformation y^R ist dort lediglich der Translationsparameter $t \in \mathbb{R}^2$ in $y^T(t, x) = x - t$ gesucht. Für allgemeine Transformationen $y : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$, welche eine Skalierung beinhalten, wird die normalisierte Kreuzkorrelation nach Definition 3.5 genutzt.

Definition 3.5: NCC

Das Distanzmaß Normalized Cross-Correlation (NCC) zweier Bilder \mathcal{R}, \mathcal{T} ist mit \mathcal{D}_{CC} aus (3.3.1) durch

$$\mathcal{D}_{\text{NCC}}[\mathcal{R}, \mathcal{T}] = 1 - \frac{\mathcal{D}_{\text{CC}}[\mathcal{R}, \mathcal{T}]^2}{\mathcal{D}_{\text{CC}}[\mathcal{T}, \mathcal{T}] \cdot \mathcal{D}_{\text{CC}}[\mathcal{R}, \mathcal{R}]}$$

definiert. Es gilt $0 \leq \mathcal{D}_{\text{NCC}}[\mathcal{R}, \mathcal{T}] \leq 1$ für alle \mathcal{R}, \mathcal{T} .

Der Vorteil der NCC gegenüber der SSD ist es, dass diese auch dann noch in der Lage ist eine plausible Transformation zu finden, wenn eine beliebige lineare Abhängigkeit zwischen den Grauwerten der Bilder besteht.

Neben diesen einfachen Distanzmaßen sollen hier noch zwei weitere Distanzmaße vorgestellt und definiert werden, die sich auch für beliebige Zusammenhänge zwischen den Grauwerten der Bilder eignen und damit für die Registrierung unterschiedlich gefärbter histologischer Schnittbilder in Frage kommen.

Eins der bekanntesten Maße für die multimodale Bildregistrierung ist Mutual Information (MI), eigentlich ein Maß der Informationstheorie, das 1995 für den Einsatz in der Bildregistrierung vorgeschlagen wurde [39]. Die grundlegende Idee von MI ist

3 Intensitätsbasierte Registrierung histologischer Schnittbilder

es, die gemeinsame Wahrscheinlichkeitsdichte der Intensitätswerte von \mathcal{R} und \mathcal{T} zu betrachten. Diese Dichte $\rho_{\mathcal{R},\mathcal{T}}$ gibt Aufschluss über die wechselseitige Information bestimmter Grauwertbereiche beider Bilder. Angenommen wir haben zwei Bilder $\mathcal{R}, \mathcal{T} : \Omega \rightarrow [0, 1]$ gegeben und betrachten den Grauwertebereich $I_{\mathcal{R}} = [0.5, 0.6]$ im Referenzbild \mathcal{R} , der im Bild in $\Omega_{\mathcal{R}} \subset \Omega$ zu finden ist. Es gilt also $\mathcal{R} : \Omega_{\mathcal{R}} \rightarrow I_{\mathcal{R}}$. Was gilt dann für den Intensitätsbereich $I_{\mathcal{T}}$ in $\mathcal{T} : \Omega_{\mathcal{R}} \rightarrow I_{\mathcal{T}}$? Entspricht $I_{\mathcal{T}} = [0, 1]$ ist die wechselseitige Information gleich Null, da wir keine einschränkende Aussage über die Intensitätswerte von \mathcal{T} in $\Omega_{\mathcal{R}}$ treffen können. Umso kleiner das Intervall $I_{\mathcal{T}}$ wird, desto größer wird die wechselseitige Information. Im Idealfall besteht die gemeinsame Wahrscheinlichkeitsdichte $\rho_{\mathcal{R},\mathcal{T}}$ aus kleinen Peaks bzw. einer bijektiven Abbildung $r : [0, 1] \rightarrow [0, 1]$, sodass die Korrespondenzen $\mathcal{T}(x) = r(\mathcal{R}(x))$ und $\mathcal{R}(x) = r^{-1}(\mathcal{T}(x))$ gelten. Das Distanzmaß Mutual Information entspricht dem negativen Mittel der wechselseitigen Information aller Grauwertepaare und ist nach [11] wie folgt definiert.

Definition 3.6: MI

Das Distanzmaß Mutual Information (MI) zweier Bilder \mathcal{R}, \mathcal{T} ist definiert durch

$$\mathcal{D}_{\text{MI}}[\mathcal{R}, \mathcal{T}] = -\frac{1}{|\Omega|} \int_{\Omega} \text{ld} \left(\frac{\rho_{\mathcal{T},\mathcal{R}}(\mathcal{T}(x), \mathcal{R}(x))}{\rho_{\mathcal{T}}(\mathcal{T}(x))\rho_{\mathcal{R}}(\mathcal{R}(x))} \right) dx$$

mit der Größe des Bildes $|\Omega|$ und den Wahrscheinlichkeitsdichten $\rho_{\mathcal{R}}, \rho_{\mathcal{T}}$ und $\rho_{\mathcal{T},\mathcal{R}}$.

Die wesentliche Herausforderung bei der Auswertung dieses Distanzmaßes ist es, die unbekanntes Wahrscheinlichkeitsdichten der Grauwerte zu bestimmen. Dazu bedient man sich statistischer Methoden der Dichteschätzung. Ein bekanntes Verfahren zur Dichteschätzung stellt die Parzen-Fenster-Methode dar, die im nächsten Kapitel, wenn es um die Modellierung der Zellkerndichten geht, ausführlich beschrieben werden soll.

Ein weiteres Distanzmaß zur Registrierung multimodaler Bilder ist das Normalized Gradient Fields (NGF), welches 2007 von Haber und Modersitzki eingeführt worden ist [6]. Es basiert auf der Idee, dass Bilder, auch wenn sie ganz unterschiedliche Intensitätswerte für die gleichen Strukturen aufweisen, dennoch an denselben Stellen ihre Intensität ändern. Diese Änderung wird an einer bestimmten Position im Bild über den normalisierten Bildgradienten sichtbar gemacht. Die Normalisierung ist notwendig, da die Stärke des Bildgradienten zwischen den multimodalen Bildern sehr unterschiedlich ausfallen kann. Die Ähnlichkeit zweier normalisierter Bildgradienten wird dann über deren Skalarprodukt bestimmt, das gerade dann maximal ist, wenn diese parallel oder antiparallel zueinander sind, und minimal, wenn sie orthogonal aufeinander stehen. Da wir an der Distanz interessiert sind, die minimiert werden soll, wird das negative, quadrierte Skalarprodukt als Distanz verwendet. Außerdem

wird, wie in Definition 3.7 ersichtlich, eine eins addiert, um nichtnegative Werte für das Distanzmaß zu erhalten.

Definition 3.7: NGF

Das Distanzmaß Normalized Gradient Field (NGF) zweier Bilder \mathcal{R}, \mathcal{T} ist definiert durch

$$\mathcal{D}_{\text{NGF}}[\mathcal{R}, \mathcal{T}] = \int_{\Omega} 1 - \left(\frac{\nabla \mathcal{R}(x)^T \nabla \mathcal{T}(x)}{\|\nabla \mathcal{R}(x)\| \|\nabla \mathcal{T}(x)\| + \epsilon} \right)^2 dx$$

mit dem Kantenparameter $\epsilon > 0$. Es gilt $0 \leq \mathcal{D}_{\text{NGF}}[\mathcal{R}, \mathcal{T}] \leq 1$ für alle \mathcal{R}, \mathcal{T} .

Für die Norm gilt hier und im weiteren Verlauf der Arbeit $\|\cdot\| := \|\cdot\|_2$. Die Wahl des Kantenparameters $\epsilon > 0$ beeinflusst, was vom Distanzmaß noch als Kante interpretiert und was als Rauschen ignoriert werden soll. Abhängig vom Rauschlevel der Bildgradienten wird also ein geeignetes ϵ gewählt [6].

3.4 Parametrische Registrierung

Auf der Suche nach einer Transformation $y : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$, für die $\mathcal{D}[\mathcal{R}, \mathcal{T} \circ y]$ minimal wird, kann der Fall eintreten, dass viele unterschiedliche Transformationen y zu dem gleichen Templatebild $\mathcal{T} \circ y$ und damit zu dem gleichen Minimum des Distanzmaßes $\mathcal{D}[\mathcal{R}, \mathcal{T} \circ y]$ führen. Man spricht daher bei der Bildregistrierung allgemein von einem schlecht gestellten Problem, da mindestens eine der drei Eigenschaften (Existenz einer Lösung, Eindeutigkeit der Lösung, stetige Abhängigkeit der Lösung von den Eingabedaten) eines gut gestellten Problems nach Hadamard verletzt ist [7].

Aus Sicht der Optimierung ist das Registrierungsproblem

$$\min_y \mathcal{D}[\mathcal{R}, \mathcal{T} \circ y] \tag{3.4.1}$$

mit beliebiger Transformation $y : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$ nicht konvex und damit in den meisten Anwendungsfällen schwer bis gar nicht zu minimieren. Selbst wenn eine Lösung y^* gefunden wird, welche die Distanz global minimiert, kann diese immer noch beliebig sein, da keine der im vorherigen Kapitel beschriebenen Verformungen, die bei der Herstellung der Gewebeschnitte auftreten, explizit modelliert worden ist. Dieses Wissen über die möglichen Transformationen muss also in das Registrierungsproblem einfließen, damit es eindeutig lösbar wird.

Die Beobachtungen, die während der Herstellung der Gewebsschnitte gemacht wurden, lassen unterschiedliche Einschränkungen bezüglich der Transformation zu. Zum einen treten lokale Verformungen des Gewebes auf, die sich abhängig von den Gewebeeigenschaften elastisch modellieren lassen. Dies soll in Form eines Regulari-

3 Intensitätsbasierte Registrierung histologischer Schnittbilder

sierungsterms explizit erfolgen und wird im nächsten Abschnitt über die nicht-parametrische Registrierung aufgegriffen. In diesem Abschnitt wollen wir die globalen Verschiebungen und Drehungen beschreiben, die das Gewebe beim Auftragen auf den Objektträger erfährt. Eine entsprechende Transformation

$$y(x) = Ax + b$$

mit $b \in \mathbb{R}^2$, $A \in \{M \in \mathbb{R}^{2 \times 2} \mid M \cdot M^T = E\}$, wobei E die Einheitsmatrix ist, heißt rigide. Sollen zusätzlich noch globale Größenänderungen, etwa durch Schrumpfung, und Scherungen des Gewebes modelliert werden, muss die Einschränkung $M \cdot M^T = E$ wieder aufgehoben werden. Die resultierende Transformation heißt dann affin linear und die Registrierung parametrisch, weil die gesamte Transformation lediglich mit den Parametern A und b beschrieben werden kann.

3.5 Nicht-parametrische Registrierung

Bei der nicht-parametrischen Registrierung erweitern wir das Distanzmaß um einen Regularisierer \mathcal{S} zum Zielfunktional

$$\mathcal{J}[y] = \mathcal{D}[\mathcal{R}, \mathcal{T} \circ y] + \alpha \mathcal{S}[y - y^{\text{ref}}] \quad (3.5.1)$$

mit $y : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$, dem Regularisierungsparameter $\alpha > 0$ und der Referenztransformation y^{ref} , die als Startwert für die nicht-parametrische Registrierung betrachtet werden kann. Ein guter Wert für die Referenztransformation ist das Ergebnis der parametrischen Registrierung $y^{\text{ref}} = Ax + b$ oder die Identität $y^{\text{ref}} = x$. Die Transformation y ist in diesem Fall nicht länger parametrisiert, wird aber durch einen geeigneten Regularisierer auf plausible Transformationen beschränkt.

Nach der Korrektur von Verschiebung, Drehung, Skalierung und Scherung, die den ganzen Gewebsschnitt betreffen, liegt der Fokus der nicht-parametrischen Registrierung auf der zusätzlichen Modellierung der lokalen Deformationen des Gewebes. Die Grundlage dieser Modellierung ist ein physikalisch motivierter Regularisierer, der 1981 von Chaim Broit in [2] vorgestellt wurde und wie folgt definiert ist.

Definition 3.8: Elastischer Regularisierer

Der elastische Regularisierer ist definiert als

$$\mathcal{S}_{\text{E}}[u] = \frac{1}{2} \int_{\Omega} \mu \sum_{j,k=1}^2 \left(\frac{\partial}{\partial x^k} u^j \right)^2 + (\lambda + \mu) (\text{div } u)^2 dx,$$

mit Verschiebung $u = y - y^{\text{ref}}$, der Divergenz $\text{div } u = \frac{\partial}{\partial x^1} u^1 + \frac{\partial}{\partial x^2} u^2$ und den Materialkonstanten (auch Lamé-Konstanten) $\lambda, \mu \in \mathbb{R}$.

Der elastische Regularisierer beschreibt das linear-elastische Potential eines durch äußere Kräfte verformten Materials, welches in seinen Ausgangszustand zurückstrebt. Die äußere Kraft ist dabei indirekt durch das Distanzmaß gegeben, wie im folgenden Abschnitt noch genauer ausgeführt werden soll. Die innere Kraft, welche der lokalen Verformung entgegen wirkt, wird indirekt durch den Regularisierer dargestellt. Stellt sich für eine bestimmte Transformation y das Gleichgewicht beider Kräfte ein, ist auch das Minimum des Zielfunktional aus (3.5.1) gefunden.

Für den elastischen Regularisierer nach Definition 3.8 mit $\partial_i = \frac{\partial}{\partial x^i}$ gilt

$$\begin{aligned} \mathcal{S}_E[u] &= \frac{1}{2} \int_{\Omega} \mu \left\{ (\partial_1 u^1)^2 + (\partial_2 u^1)^2 + (\partial_1 u^2)^2 + (\partial_2 u^2)^2 \right\} \\ &\quad + (\lambda + \mu) (\partial_1 u^1 + \partial_2 u^2)^2 dx \\ &= \frac{1}{2} \int_{\Omega} \left\| \left(\sqrt{\mu} \partial_1 u^1, \sqrt{\mu} \partial_2 u^1, \sqrt{\mu} \partial_1 u^2, \sqrt{\mu} \partial_2 u^2, \sqrt{\lambda + \mu} (\partial_1 u^1 + \partial_2 u^2) \right)^T \right\|^2 dx \\ &= \frac{1}{2} \int_{\Omega} \|\mathcal{B}[u]\|^2 dx \end{aligned}$$

mit dem Operator

$$\mathcal{B} = \begin{pmatrix} \sqrt{\mu} \partial_1 & 0 \\ \sqrt{\mu} \partial_2 & 0 \\ 0 & \sqrt{\mu} \partial_1 \\ 0 & \sqrt{\mu} \partial_2 \\ \sqrt{\lambda + \mu} \partial_1 & \sqrt{\lambda + \mu} \partial_2 \end{pmatrix}.$$

Bei dieser übersichtlichen Schreibweise ist gut zu erkennen, wie der elastische Regularisierer in der Form des Operators \mathcal{B} auf das Deformationsfeld u wirkt und welche Art von Transformationen bevorzugt werden. Unabhängig von der Wahl der Materialparameter ist \mathcal{S}_E minimal, wenn es sich bei u um eine konstante Verschiebung handelt. Allgemein haben die partiellen Ableitungen genau dann einen geringen Wert, wenn u nur kleine, lokale Änderungen beschreibt. Wenn sich im Bild ein ganzer Bereich elastisch verändert, wie etwa bei den Bildern eines Ballons, der in \mathcal{R} und \mathcal{T} unterschiedlich viel Luft enthält, könnte der elastische Regularisierer zu restriktiv sein. Da wir in dieser Arbeit aber explizit nur kleine, lokale Änderungen nach einer affinen Vorregistrierung modellieren wollen, ist der elastische Regularisierer hier die richtige Wahl. Mit der Divergenz modelliert dieser zusätzlich Volumenänderungen, die abhängig von der Dichte des Gewebes so gering wie möglich gehalten werden sollten. Mit der Parameterwahl $\mu = 1$, $\lambda = -1$ entfällt die Divergenz und wir erhalten einen Sonderfall des elastischen Regularisierers, der auch als diffusiver Regularisierer bekannt ist. Da in der Regel keine Materialkonstanten für das Gewebe einer Lunge bzw. das Gewebe eines Lungentumors bekannt sind, stellen die genannten Parameter einen guten Startwert für eine erste Registrierung dar.

3.6 Diskretisierung und Optimierung

Wenn im vorherigen Kapitel von den äußeren Kräften eines Distanzmaßes und den inneren Kräften eines Regularisierers die Rede war, für die sich bei y^* ein Gleichgewicht einstellt, sodass das Funktional

$$\mathcal{J}[y^*] = \mathcal{D}[\mathcal{R}, \mathcal{T} \circ y^*] + \alpha \mathcal{S}[y^*]$$

minimal ist, liegt das an den mit diesem Problem verwandten Fragestellungen der Physik, welche von Euler und Lagrange im 18. Jahrhundert in eine allgemeine Theorie der Variationsrechnung eingebettet worden sind [16]. Dem Lagrange-Formalismus folgend wird das Funktional

$$\mathcal{J}[y] = \int_{\Omega} d(x, y) + \alpha s(x, y, \partial_1 y^1, \partial_2 y^1, \partial_1 y^2, \partial_2 y^2) dx$$

als Wirkung bezeichnet. Der Integrand des Distanzmaßes d soll hier die potenzielle Energie und der Integrand des Regularisierers s die kinetische Energie darstellen. Die Lagrangefunktion wird dann durch $j = d + \alpha s$ beschrieben. Nach dem Prinzip der kleinsten Wirkung [4] lassen sich die Lagrangegleichungen

$$\frac{\partial j}{\partial y^i} = \frac{\partial}{\partial x^1} \frac{\partial j}{\partial (\partial_1 y^i)} + \frac{\partial}{\partial x^2} \frac{\partial j}{\partial (\partial_2 y^i)} \quad (3.6.1)$$

mit $i = 1, 2$ herleiten. Diese können als notwendige Bedingungen für eine optimale Transformation y^* betrachtet werden, die das geforderte Gleichgewicht zwischen innerer Kraft (rechter Teil) und äußerer Kraft (linker Teil) herstellen. Dass sich das Distanzmaß für die äußere und der Regularisierer für die innere Kraft verantwortlich zeigt, ist ersichtlich, wenn wir $j = d + \alpha s$ in (3.6.1) einsetzen und auf die Abhängigkeiten von d bzw. s achten, sodass sich

$$\frac{\partial d}{\partial y^i} = \alpha \left(\frac{\partial}{\partial x^1} \frac{\partial s}{\partial (\partial_1 y^i)} + \frac{\partial}{\partial x^2} \frac{\partial s}{\partial (\partial_2 y^i)} \right)$$

mit $i = 1, 2$ ergibt. Für das SSD Distanzmaß und den elastischen Regularisierer lautet die entsprechende Differentialgleichung beispielsweise

$$(\mathcal{T} \circ y - \mathcal{R}) \nabla \mathcal{T} = \alpha (\mu \Delta y + (\lambda + \mu) \nabla \operatorname{div} y).$$

Diese Differentialgleichung könnte nun diskretisiert und gelöst werden, um die optimale Transformation y^* zu bestimmen. In dieser Arbeit soll allerdings ein anderer Ansatz verfolgt werden, der das Zielfunktional \mathcal{J} erst diskretisiert und sich dann Methoden der numerischen Optimierung bedient (Discretize-then-Optimize). Bei der Optimierung des diskreten Problems kann auf eine Vielzahl effizienter Verfahren zurückgegriffen werden. Eine gute Übersicht ist in [25] gegeben. In dieser Arbeit wird eine Line-Search-Methode, nämlich das Gauß-Newton-Verfahren genutzt, um

eine optimale Transformation $y^L \in \mathbb{R}^N$ zu finden, welche die diskrete Zielfunktion $J^L : \mathbb{R}^N \rightarrow \mathbb{R}$ minimiert. Ein weiterer Vorteil des Discretize-then-Optimize-Ansatzes ist es, dass eine Multilevel-Bildregistrierung intuitiv implementiert werden kann. Allen Zielfunktionen J^L unterschiedlicher Detaillevel L liegt dabei dasselbe kontinuierliche Modell \mathcal{J} zugrunde und so kann in einem Multilevel-Ansatz die Lösung des kontinuierlichen Problems mit zunehmender Auflösung immer genauer approximiert werden. Das beschleunigt nicht nur die Optimierung, sondern vermeidet auch, dass nur ein lokales Minimum gefunden wird. Der genaue Algorithmus zur Multilevel-Bildregistrierung wird im nächsten Abschnitt näher beschrieben. Im Folgenden soll zunächst die Zielfunktion diskretisiert und optimiert werden.

Diskretisierung des Zielfunktional \mathcal{J}

Für den nicht-parametrischen Fall ist das Zielfunktional durch

$$\mathcal{J}[y] = \mathcal{D}[\mathcal{R}, \mathcal{T} \circ y] + \alpha \mathcal{S}[y - y^{\text{ref}}]$$

gegeben. Im konkreten Fall des SSD Distanzmaßes und eines elastischen Regularisierers gilt

$$\mathcal{J}[y] = \frac{1}{2} \int_{\Omega} (\mathcal{R}(x) - \mathcal{T}(y(x)))^2 dx + \frac{\alpha}{2} \int_{\Omega} \|\mathcal{B}[y - y^{\text{ref}}]\|^2 dx \quad (3.6.2)$$

mit dem Operator

$$\mathcal{B} = \begin{pmatrix} \sqrt{\mu} \partial_1 & 0 \\ \sqrt{\mu} \partial_2 & 0 \\ 0 & \sqrt{\mu} \partial_1 \\ 0 & \sqrt{\mu} \partial_2 \\ \sqrt{\lambda + \mu} \partial_1 & \sqrt{\lambda + \mu} \partial_2 \end{pmatrix}.$$

Die Integrale in (3.6.2) lassen sich diskretisieren, indem wir sie mit einer geeigneten Quadraturformel approximieren. Zum Beispiel ergibt sich mit der Mittelpunktsregel für die diskrete SSD Distanz auf dem Detaillevel L

$$D_{\text{SSD}}^L = \frac{h_L^1 \cdot h_L^2}{2} \sum_{j_1, j_2} (\mathcal{R}(x_{j_1, j_2}^L) - \mathcal{T}(y(x_{j_1, j_2}^L)))^2 \quad (3.6.3)$$

mit den Stützstellen

$$x_{j_1, j_2}^L = \begin{pmatrix} w^1 + (j_1 - 0.5)h_L^1 \\ w^3 + (j_2 - 0.5)h_L^2 \end{pmatrix},$$

$j_1 = 1, \dots, m_L^1$, $j_2 = 1, \dots, m_L^2$ mit $m_L^1 = m_L^2 = 2^L$, den Bildern $\mathcal{R}, \mathcal{T} : \Omega_L \rightarrow \mathbb{R}$ mit $\Omega_L = [\omega^1, \omega^1 + h_L^1 \cdot m_L^1] \times [\omega^3, \omega^3 + h_L^2 \cdot m_L^2]$ und $h_L^1 = 2^{L_{\text{max}} - L} \cdot h_{L_{\text{max}}}^1$ bzw. $h_L^2 = 2^{L_{\text{max}} - L} \cdot h_{L_{\text{max}}}^2$, wobei $h_{L_{\text{max}}}^1, h_{L_{\text{max}}}^2$ den Pixelmaßen des Originalbildes entsprechen. Natürlich könnte das Distanzmaß auf kontinuierlich definierten Bildern auch über

3 Intensitätsbasierte Registrierung histologischer Schnittbilder

L_{\max} hinaus mit Subpixelgenauigkeit bestimmt werden, was aber angesichts der hochauflösenden digitalen Schnittbilder, die in dieser Arbeit behandelt werden, nicht praktikabel ist.

Das diskretisierte SSD Distanzmaß aus (3.6.3) lässt sich kompakter auch als

$$D_{\text{SSD}}^L = \frac{h_L^1 \cdot h_L^2}{2} \|R_{\cdot}^L - T_{\cdot}^{L,y}\|^2 \quad (3.6.4)$$

ausdrücken, wobei $R_{\cdot}^L, T_{\cdot}^L \in \mathbb{R}^{2^{2L}}$ den vektorisierten Bildmatrizen

$$R^L = \begin{pmatrix} \mathcal{R}(x_{1,1}^L) & \cdots & \mathcal{R}(x_{1,m_L^2}^L) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \mathcal{R}(x_{m_L^1,1}^L) & \cdots & \mathcal{R}(x_{1,m_L^2}^L) \end{pmatrix}, \quad T^{L,y} = \begin{pmatrix} \mathcal{T}(y(x_{1,1}^L)) & \cdots & \mathcal{T}(y(x_{1,m_L^2}^L)) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \mathcal{T}(y(x_{m_L^1,1}^L)) & \cdots & \mathcal{T}(y(x_{1,m_L^2}^L)) \end{pmatrix}$$

entsprechen. R_{\cdot}^L, T_{\cdot}^L folgen der Sortierung $j = j_1 + m^1(j_2 - 1)$, sodass der j -te Vektoreintrag dem Wert an der Stelle x_{j_1,j_2}^L entspricht.

Eine Approximation des elastischen Regularisierers mit der Mittelpunktsregel folgt dem gleichen Muster und führt zu

$$S_E^L = \frac{\alpha h_L^1 \cdot h_L^2}{2} \sum_{j_1,j_2} \|\mathcal{B}[u](x_{j_1,j_2}^L)\|^2 \quad (3.6.5)$$

mit $u(x_{j_1,j_2}^L) = y(x_{j_1,j_2}^L) - y^{\text{ref}}(x_{j_1,j_2}^L)$. Das Problem in (3.6.5) ist, dass wir kein kontinuierliches Deformationsfeld $u : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$ gegeben haben, auf das wir den Operator anwenden könnten, um es danach an dem Punkt x_{j_1,j_2}^L auszuwerten, sondern nur die Verschiebungen $u(x_{j_1,j_2}^L)$ an den diskreten Punkten x_{j_1,j_2}^L . Auch die Approximation der partiellen Ableitungen des Operators an diesem Punkt ist so nicht möglich.

Ein Kompromiss bei der Approximation stellt die Diskretisierung auf einem Staggered-Gitter dar. Die einzelnen Punkte der Staggered-Gitter für u^1 bzw. u^2 sind durch

$$x_{j_1,j_2}^{s,1,L} = \begin{pmatrix} w^1 + j_1 h_L^1 \\ w^3 + (j_2 - 0.5) h_L^2 \end{pmatrix} \text{ mit } j_1 = 0, \dots, m_L^1, \quad j_2 = 1, \dots, m_L^2$$

$$x_{j_1,j_2}^{s,2,L} = \begin{pmatrix} w^1 + (j_1 - 0.5) h_L^1 \\ w^3 + j_2 h_L^2 \end{pmatrix} \text{ mit } j_1 = 1, \dots, m_L^1, \quad j_2 = 0, \dots, m_L^2$$

definiert. Die Lage der Gitterpunkte ist in einem Beispiel in Abbildung 3.2 ersichtlich und zeigt auch den Grund der Wahl: Über einen Differenzenquotienten können jetzt die partiellen Ableitungen

$$\partial_1 u^1(x_{j_1,j_2}^L) \approx \frac{u^1(x_{j_1,j_2}^{s,1}) - u^1(x_{j_1-1,j_2}^{s,1})}{h_L^1}, \quad \partial_2 u^2(x_{j_1,j_2}^L) \approx \frac{u^2(x_{j_1,j_2}^{s,2}) - u^2(x_{j_1-1,j_2}^{s,2})}{h_L^2}$$

3 Intensitätsbasierte Registrierung histologischer Schnittbilder

Für die diskrete Zielfunktion $J^L : \mathbb{R}^N \rightarrow \mathbb{R}$ mit $N = (m_L^1 + 1)m_L^2 + m_L^1(m_L^2 + 1)$ bestehend aus SSD und elastischem Regularisierer ergibt sich insgesamt

$$\begin{aligned} J^L(y^L) &= D_{\text{SSD}}^L(P^L y^L) + S_E^L(y^L) \\ &= \frac{h_L^1 \cdot h_L^2}{2} \|R_{\cdot}^L - T_{\cdot}^{L, P^L y^L}\|^2 + \frac{\alpha h_L^1 \cdot h_L^2}{2} \|B^L(y^L - y^{\text{ref}, L})\|^2, \end{aligned} \quad (3.6.7)$$

wobei beachtet werden muss, dass y^L auf einem Staggered-Gitter vorliegt und die Interpolation, die sich in $T_{\cdot}^{L, P^L y^L}$ verbirgt, ein Pixel-zentriertes Gitter benötigt. Daher ist eine zusätzliche Interpolation von einem zum anderen Gitter nötig, die hier über den Operator

$$P^L = \begin{pmatrix} E_{m_L^2} \otimes P_{m_L^1} & 0 \\ 0 & P_{m_L^2} \otimes E_{m_L^1} \end{pmatrix} \text{ mit } P_m = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} 1 & 1 & & \\ & \ddots & \ddots & \\ & & 1 & 1 \end{pmatrix} \in \mathbb{R}^{m \times m+1}$$

realisiert wird.

Optimierung der diskretisierten Zielfunktion J^L

Um die Zielfunktion $J^L : \mathbb{R}^N \rightarrow \mathbb{R}$ zu minimieren, wählen wir das iterative Gauß-Newton-Verfahren, bei dem in jedem Iterationsschritt k die quadratische Taylor-Approximation

$$\hat{J}^L(s_k) = J^L(y_k^L) + \nabla J^L(y_k^L)^T s_k + \frac{1}{2} s_k^T H(y_k^L) s_k$$

der Zielfunktion $J^L(y_k^L + s_k)$ mit $H(y_k^L) \approx \nabla^2 J^L(y_k^L)$ genutzt wird, um eine Suchrichtung s_k zu bestimmen, welche die aktuelle Transformation y_k^L so verändert, dass $J^L(y_k^L + s_k) < J^L(y_k^L)$ gilt. Die Suchrichtung s_k erhalten wir über die notwendige Bedingung

$$\nabla \hat{J}^L(s_k) = \nabla J^L(y_k^L) + H(y_k^L) s_k = 0$$

des Minimierungsproblems $\min_{s_k} \hat{J}^L(s_k)$ und dem sich daraus ergebenden Gleichungssystem

$$H(y_k^L) s_k = -\nabla J^L(y_k^L),$$

das mit einem konjugierten Gradientenverfahren (CG-Verfahren) gelöst wird, welches für große Probleme mit vielen Unbekannten (bereits $N > 10^5$ für ein Bild der Auflösung 256×256) gut geeignet ist [25].

Die zentrale Idee des Gauß-Newton-Verfahrens verbirgt sich hinter der Approximation der Hessematrix einer Zielfunktion, die in dieser Arbeit allgemein als $J^L(y_k^L) = \frac{1}{2} \|r(y_k^L)\|^2$ mit $r : \mathbb{R}^N \rightarrow \mathbb{R}^M$ beschrieben werden kann. Mit der Jacobimatrix

$$C_r(y) = \begin{pmatrix} \frac{\partial r_1(y)}{\partial y_1} & \frac{\partial r_1(y)}{\partial y_2} & \cdots & \frac{\partial r_1(y)}{\partial y_N} \\ \vdots & \ddots & & \vdots \\ \frac{\partial r_M(y)}{\partial y_1} & \frac{\partial r_M(y)}{\partial y_2} & \cdots & \frac{\partial r_M(y)}{\partial y_N} \end{pmatrix} \in \mathbb{R}^{M \times N}$$

ergibt sich für eine Zielfunktion dieser Art die exakte Hessematrix

$$\nabla^2 J^L(y_k^L) = C_r(y_k^L)^T C_r(y_k^L) + \sum_{i=1}^M r_i(y_k^L) \nabla^2 r_i(y_k^L). \quad (3.6.8)$$

Im Gauß-Newton-Verfahren wird diese Hessematrix durch

$$H(y_k^L) = C_r(y_k^L)^T C_r(y_k^L) \approx \nabla^2 J^L(y_k^L) \quad (3.6.9)$$

approximiert. Der zweite Term in (3.6.8) wird also gestrichen, sodass diese Näherung exakt ist, wenn $r_i \approx 0$ für alle $i = 1, \dots, M$ gilt. Das ist gerade dann gegeben, wenn wir uns dem Minimum von $J^L(y_k^L)$ nähern. Für die erste Ableitung von $J^L(y_k^L)$ gilt außerdem

$$\nabla J^L(y_k^L) = C_r(y_k^L)^T r(y_k^L). \quad (3.6.10)$$

Mit (3.6.9) und (3.6.10) können jetzt geschlossene Ausdrücke der ersten und zweiten Ableitung sowohl für das SSD-Distanzmaß

$$\begin{aligned} \nabla D_{\text{SSD}}^L(y_k^L) &= h_L^1 \cdot h_L^2 (P^L)^T C_{\mathcal{T}}(P^L y_k^L)^T (R_k^L - T_k^{L, P^L y_k^L}), \\ \nabla^2 D_{\text{SSD}}^L(y_k^L) &\approx H_{\text{SSD}}(y_k^L) = h_L^1 \cdot h_L^2 (P^L)^T C_{\mathcal{T}}(P^L y_k^L)^T C_{\mathcal{T}}(P^L y_k^L) P^L \end{aligned}$$

als auch für den elastischen Regularisierer

$$\begin{aligned} \nabla S_E^L(y_k^L) &= h_L^1 \cdot h_L^2 (B^L)^T B^L (y_k^L - y_k^{\text{ref}, L}), \\ \nabla^2 S_E^L(y_k^L) &= h_L^1 \cdot h_L^2 (B^L)^T B^L \end{aligned}$$

angegeben werden. Für $C_{\mathcal{T}} : \mathbb{R}^{2m_L^1 m_L^2} \rightarrow \mathbb{R}^{m_L^1 m_L^2 \times 2m_L^1 m_L^2}$ in den Ableitungen des SSD-Distanzmaßes gilt explizit

$$C_{\mathcal{T}}(x^L) = \begin{pmatrix} \frac{\partial \mathcal{T}(x_{1,1}^L)}{\partial x_1} & & & \frac{\partial \mathcal{T}(x_{1,1}^L)}{\partial x_2} & & & \\ & \ddots & & & \ddots & & \\ & & \frac{\partial \mathcal{T}(x_{m_L^1, m_L^2}^L)}{\partial x_1} & & & \frac{\partial \mathcal{T}(x_{m_L^1, m_L^2}^L)}{\partial x_2} & \\ & & & & & & \end{pmatrix}.$$

$C_{\mathcal{T}}(P^L y_k^L)$ beinhaltet somit genau die Bildableitungen beider Raumrichtungen an den Gitterpunkten $P^L y_k^L$. Damit die Optimierung insgesamt auf einem Staggered-Gitter erfolgen kann, muss bei den Ableitungen des SSD-Distanzmaßes außerdem auf den passenden Gitterwechsel geachtet werden.

Für die Kombination aus SSD und elastischem Regularisierer ergibt sich zur Bestimmung der Suchrichtung s_k in jeder Gauss-Newton-Iteration das Gleichungssystem

$$\underbrace{(H_{\text{SSD}}(y_k^L) + \alpha \nabla^2 S_E^L(y_k^L))}_{=H(y_k^L)} s_k = - \underbrace{(\nabla D_{\text{SSD}}^L(y_k^L) + \alpha \nabla S_E^L(y_k^L))}_{=\nabla J^L(y_k^L)}.$$

3 Intensitätsbasierte Registrierung histologischer Schnittbilder

Mit der Suchrichtung s_k der aktuellen Iteration kann die Transformation $y_{k+1}^L = y_k^L + as_k$ aktualisiert werden, wobei a die Schrittweite bezeichnet, die so gewählt wird, dass $J^L(y_{k+1}^L) < J^L(y_k^L) + ta(\nabla J^L(y_k^L))^T s_k$ mit der Toleranz $t = 10^{-4}$ erfüllt ist (Armijo-Bedingung). Um a zu bestimmen, wird zunächst getestet, ob die Bedingung für $a = 1$ erfüllt ist. Ist dies nicht der Fall, wird a in jeder Iteration der Schrittweitenbestimmung halbiert, bis die Bedingung erfüllt ist oder a zu klein wird. Fällt a unter einen bestimmten Schwellwert, bricht das Gauß-Newton-Verfahren ab.

Neben den Abbruchbedingungen bei der Schrittweitenbestimmung werden bei jeder Gauß-Newton-Iteration fünf Stoppkriterien geprüft. Zusätzlich zu einer maximalen Iterationszahl ($k > k_{\max}$) und einem Gradienten, der im Rahmen der Maschinengenauigkeit Null ist ($\|\nabla J^L(y_k^L)\| = 0$), wird das Verfahren durch drei Konvergenzkriterien

$$(1) \frac{|J^L(y_{k+1}^L) - J^L(y_k^L)|}{1 + |J^L(y_k^L)|} < t_1 \quad (2) \frac{\|y_{k+1}^L - y_k^L\|}{1 + \|y_k^L\|} < t_2 \quad (3) \frac{\|\nabla J^L(y_k^L)\|}{1 + |J_{\text{ref}}^L|} < t_3$$

gestoppt, sobald alle drei mit festgelegten Toleranzen t_1, t_2, t_3 erfüllt sind. J_{ref}^L bezeichnet dabei den Startwert der Zielfunktion vor der Registrierung.

3.7 Multilevel-Bildregistrierung

Mit einem Multilevel-Ansatz und dem vorgestellten Gauß-Newton-Verfahren können wir das diskretisierte Bildregistrierungsproblem und dessen Lösung nun schrittweise approximieren. Wie eingangs erwähnt, bietet die Multilevel-Registrierung den Vorteil, dass sie durch die stete Steigerung des Detaillevels lokale Minima vermeidet und so auch die Optimierung beschleunigt, da auf den hohen Detaillevels dann oft wenige Iterationen bis zur Konvergenz des Verfahrens ausreichen.

Die nicht-parametrische Registrierung mit dem vorgestellten elastischen Regularisierer benötigt eine gute Starttransformation y_{ref} , die bereits die globalen Verschiebungen und Drehungen des Gewebes ausgleicht, sodass die elastische Registrierung sich auf die Korrektur der lokalen Deformationen beschränken kann.

Um y_{ref} zu bestimmen, starten wir mit einer parametrischen Bildregistrierung, bei der nur 3 (rigide) bzw. 6 (affine) Parameter bestimmt werden müssen. Der Pseudocode in 3.1 stellt den Aufbau der parametrischen Multilevel-Registrierung schematisch dar. Anders als in Abschnitt 3.4 beschrieben, gilt für die affine Transformation hier $y_{\text{ref}}^L = (P^L)^T Q^L \omega$ mit den Parametern $\omega \in \mathbb{R}^6$ und

$$Q^L = \begin{pmatrix} x^{1,L} & x^{2,L} & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & x^{1,L} & x^{2,L} & 1 \end{pmatrix} \text{ mit } x^{i,L} = \begin{pmatrix} (x_{1,1}^L)_i \\ \vdots \\ (x_{m_1^L, m_2^L}^L)_i \end{pmatrix}.$$

Da die Zielfunktion bei der affinen Registrierung nur von w statt von y^L abhängig ist, reduziert sich die Größe des Optimierungsproblems erheblich.

Algorithmus 3.1: Parametrische Multilevel-Bildregistrierung

Data: R^L, T^L for different levels between L_{start} and L_{stop}
Result: $w = w_k$
 $w_1 = (1, 0, 0, 1, 0, 0)^T$
for $L \leftarrow L_{\text{start}}$ **to** L_{stop} **do**
 $k = 1$
 while *stopping criteria not fulfilled* **do**
 calculate $J^L(w_k), \nabla J^L(w_k), H(w_k)$
 $s_k = \text{ConjugateGradient}(\nabla J^L(w_k), H(w_k))$
 $a = \text{Armijo}(J^L, \nabla J^L, w_k, s_k)$
 $w_k = w_k + a s_k$
 $k = k + 1$
 end
end

Mit $y_{\text{ref}}^L = (P^L)^T Q^L \omega$ kann im Anschluss die nicht-parametrische Bildregistrierung nach Algorithmus 3.2 gestartet werden. Dabei wird eine zusätzliche Interpolation des Deformationsfeldes $u^L = y_k^L - y_{\text{ref}}^L$ an den Stellen y_{ref}^{L+1} beim Übergang zum feineren Gitter nötig.

Algorithmus 3.2: Nicht-parametrische Multilevel-Bildregistrierung

Data: $R^L, T^L, y_{\text{ref}}^L = (P^L)^T Q^L \omega$ for different levels between L_{start} and L_{stop}
Result: $y_{\text{ref}}^{L_{\text{stop}}} = u_k^{L_{\text{stop}}} + y_{\text{ref}}^{L_{\text{stop}}}$
 $u_k^0 = 0 \cdot y_{\text{ref}}^{L_{\text{start}}}$
for $L \leftarrow L_{\text{start}}$ **to** L_{stop} **do**
 $u_1^L = \text{Interpolation}(u_k^{L-1}, y_{\text{ref}}^L)$
 $k = 1$
 while *stopping criteria not fulfilled* **do**
 calculate $J^L(y_k^L) = D^L(P^L(u_k^L + y_{\text{ref}}^L) + S^L(u_k^L), \nabla J^L(u_k^L), H(u_k^L))$
 $s_k = \text{ConjugateGradient}(\nabla J^L(u_k^L), H(u_k^L))$
 $a = \text{Armijo}(J^L, \nabla J^L, u_k^L, s_k)$
 $u_{k+1}^L = u_k^L + a s_k$
 $k = k + 1$
 end
end

Beschlossen werden soll dieses Kapitel zu den Grundlagen der Bildregistrierung histologischer Schnittbilder mit der Anwendung der Algorithmen aus 3.1 und 3.2 auf die

3 Intensitätsbasierte Registrierung histologischer Schnittbilder

Testbilddaten R und T aus Abbildung 3.3. Das Referenzbild R setzt sich aus zufällig angeordneten, grauen Kreisen zusammen, die in einem gewissen Abstand zum Rand und zur Mitte des Bildes gezeichnet wurden. Innerhalb dieser Kreise wird wieder zufällig ein kleiner, weißer Kreis gesetzt, der jeweils einen Zellkern darstellen soll, während die überlappenden, grauen Kreise Zellen bzw. das zusammengesetzte Gewebe ergeben. Das Templatebild T ist direkt aus R entstanden, indem eine affine Transformation und eine sinusartige Deformation auf R angewendet worden sind.

Wie in Abbildung 3.3 zu erkennen, kann die Veränderung, welche T gegenüber R erfahren hat, mit Hilfe des SDD Distanzmaßes und einem elastischen Regularisierer sehr gut bestimmt werden, indem wir die Zielfunktion J^L zunächst parametrisch und dann nicht-parametrisch auf unterschiedlichen Leveln L minimieren. In Abbildung 3.4 ist der Verlauf der Zielfunktion J^L und ihrer Bestandteile D^L und S^L aufgetragen.

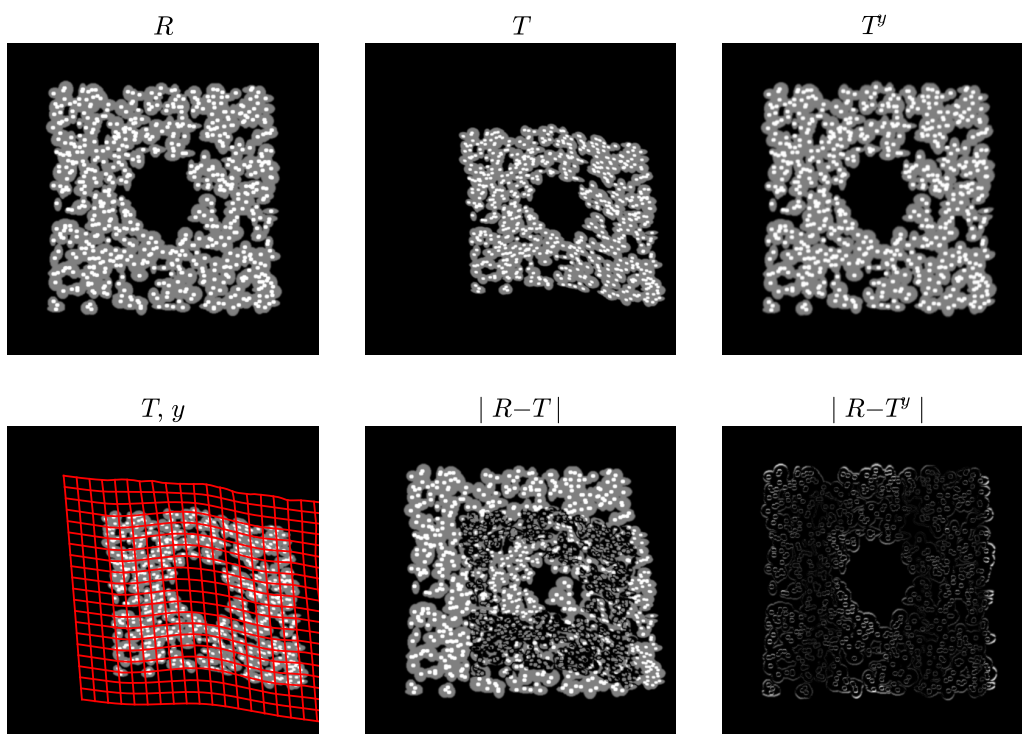


Abbildung 3.3: Ergebnis der affinen und elastischen Multilevel-Registrierung. Folgende Parameter wurden für die Registrierung gewählt: $L_{\text{start}} = 4$, $L_{\text{stop}} = 7$. Der Regularisierer geht mit $\alpha = 1$ in das Zielfunktional ein. Die finale Transformation wurde in dieser Abbildung auf die Originalbilddaten der Auflösung 512×512 angewendet. Der Verlauf der Zielfunktion ist in Abbildung 3.4 beschrieben.

3.7 Multilevel-Bildregistrierung

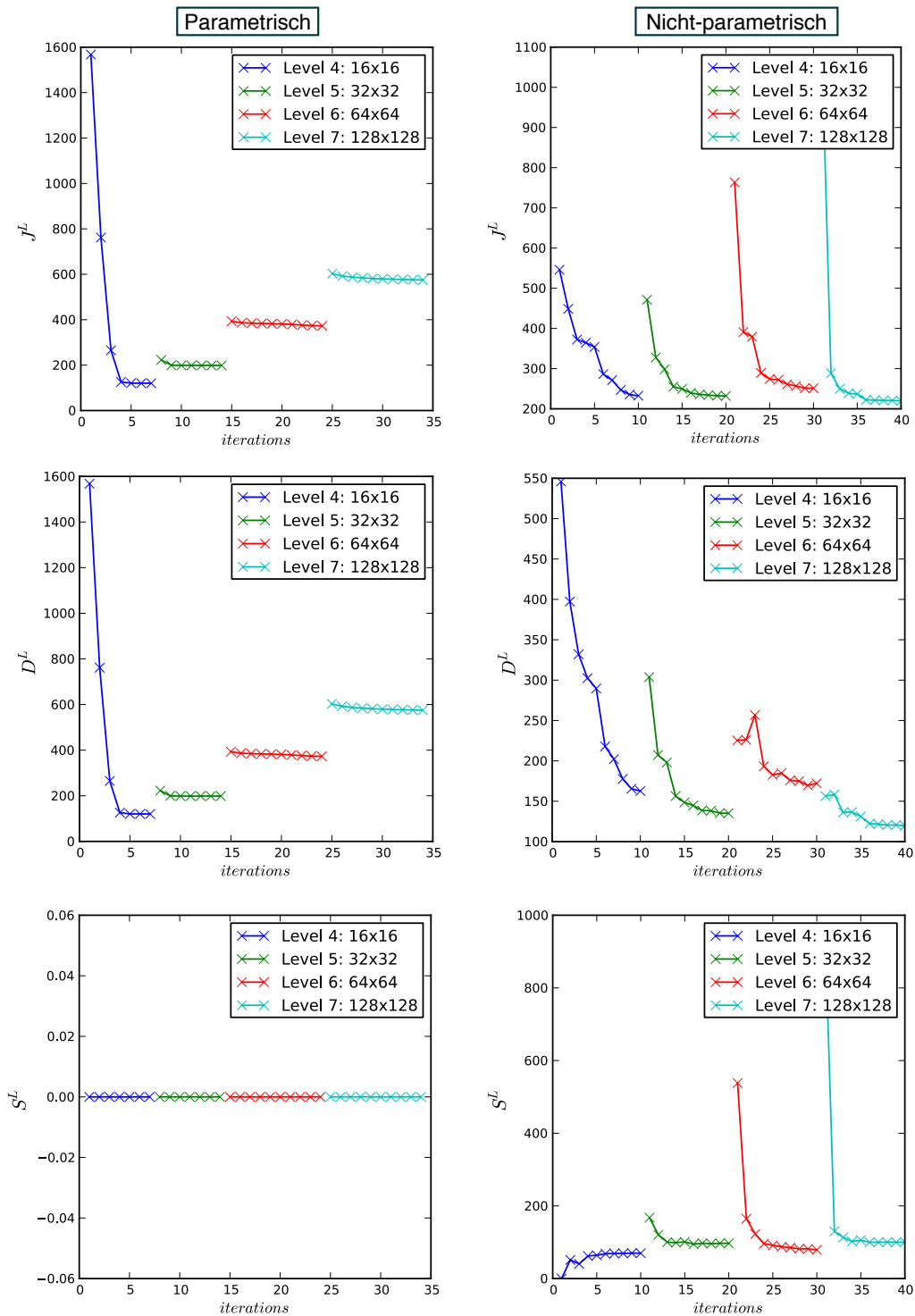


Abbildung 3.4: Verlauf der Zielfunktion J^L , des SSD Distanzmaßes D^L und des elastischen Regularisierers S^L auf unterschiedlichen Leveln L der Bilddaten aus Abbildung 3.3. Die linke Seite stellt die Verläufe der parametrischen Vorregistrierung dar, mit dessen Ergebnis die nicht-parametrische Registrierung auf der rechten Seite gestartet wird. Im Fall der parametrischen Registrierung ist kein Regularisierer aktiv, weshalb sich $S^L = 0$ und $J^L = D^L$ ergibt.

4 Dichtebasierte Distanz

Im vorherigen Kapitel wurden Distanzmaße vorgestellt, die über verschiedene von der Bildintensität abgeleitete Eigenschaften die Ähnlichkeit zweier Bilder messen. Außer der Bildinformation wurde kein zusätzliches Wissen in die Distanzbestimmung integriert. Das soll sich in diesem Kapitel ändern, indem die Positionen der Zellkerne von Referenz- und Templatebild als zentrales Merkmal in ein Distanzmaß eingebunden werden. Da zwischen den Zellkernpositionen benachbarter, histologischer Schnitte keine direkte Korrespondenz besteht und diese auch nicht in beiden Bildern vorhanden sein müssen, können wir nicht direkt mit ihnen als Landmarken arbeiten, sondern müssen ein Verfahren verwenden, das dies berücksichtigt. Eine Möglichkeit, diesem Problem zu begegnen, stellt die Modellierung einer Dichte dar, über die bestimmt wird, wie wahrscheinlich es ist, in einem bestimmten Bereich auf Zellkerne zu treffen. Die Unterschiedlichkeit der Dichten für Referenz- und Templatebild wird dann über eine dichtebasierte Distanz bestimmt.

4.1 Dichteschätzung

Zunächst sollte der Begriff der Dichte bzw. Wahrscheinlichkeitsdichte, die es zu schätzen gilt, genauer definiert werden. In der Definition 4.1 nähern wir uns diesem Begriff aus statistischer Sicht zunächst für den eindimensionalen Fall [35].

Definition 4.1: Dichte

Die Dichte $\rho : \mathbb{R} \rightarrow [0, \infty)$ einer Zufallsvariablen X ist über den Zusammenhang der Wahrscheinlichkeit ihres Auftretens im Intervall (a, b) und dem Integral über die Dichte in diesem Intervall gegeben. Es gilt

$$P(a < X < b) = \int_a^b \rho(x) dx$$

mit $a < b$. Aus der Eigenschaft, dass für die Wahrscheinlichkeit immer $P \leq 1$ gilt, folgt unmittelbar die Normierung

$$\int_{\mathbb{R}} \rho(x) dx = 1.$$

4 Dichtebasierte Distanz

Im Umkehrschluss lässt sich aus Definition 4.1 jede normierte Funktion $\rho : \mathbb{R} \rightarrow [0, \infty)$ als Dichte bezeichnen, da diese eine bestimmte Zufallsvariable X vollständig beschreibt [17].

Im Allgemeinen ist in der Statistik die Dichtefunktion zunächst unbekannt und es liegen nur eine Reihe von Datenpunkten als Stichprobe vor. Über eine geeignete Schätzung auf Basis der gegebenen Daten lässt sich aber eine Dichte modellieren, über die dann die Wahrscheinlichkeit nach Definition 4.1 berechnet werden kann.

Bei der Dichteschätzung unterscheidet man, genau wie bei der Registrierung, parametrische und nicht-parametrische Ansätze. Während bei der parametrischen Dichteschätzung eine bekannte Wahrscheinlichkeitsverteilung mit zugehöriger Dichtefunktion über Parameter, wie Mittelwert und Standardabweichung bei der Normalverteilung, an die Daten angepasst wird, sprechen die Daten bei der nicht-parametrischen Dichteschätzung für sich selbst [35]. Wie bei der Modellierung der kontinuierlichen Bilder durch Interpolation der an diskreten Punkten vorhandenen Intensitätswerte, gilt es auch bei der nicht-parametrischen Dichteschätzung die diskreten Datenpunkte mit einer geeigneten Basisfunktion zu überlagern. Das äquivalente Verfahren aus der Statistik zur nicht-linearen Dichteschätzung ist die Parzen-Fenster-Methode [17, 35].

Definition 4.2: Parzen-Fenster-Methode

Die unbekannte Wahrscheinlichkeitsdichte ρ einer Zufallsvariablen X lässt sich aus n Stichproben X_1, \dots, X_n durch

$$\hat{\rho}(x) = \frac{1}{nh} \sum_{i=1}^n b\left(\frac{x - X_i}{h}\right)$$

mit einer Basisfunktion b , welche die Eigenschaften einer Dichtefunktion erfüllt, approximieren. h skaliert die Basisfunktion und wird auch als Glättungsparameter bezeichnet.

Für die Parzen-Fenster-Methode wurden eine Reihe meist symmetrischer Basisfunktionen vorgeschlagen, die übersichtlich in [35] dargestellt und mit dem Vermerk versehen sind, dass sie sich bezüglich der Minimierung von $\int (\rho(x) - \hat{\rho}(x))^2 dx$, also der Näherung der unbekanntes Wahrscheinlichkeitsdichte $\rho(x)$ durch $\hat{\rho}(x)$, alle gut eignen. Die Wahl der Basisfunktion sollte daher von anderen Eigenschaften, wie etwa ihrer Differenzierbarkeit, abhängig gemacht werden. Das ist in dieser Arbeit mit Blick auf die Optimierung geschehen, sodass die zwei folgenden Basisfunktionen zur Dichteschätzung genutzt werden sollen:

- **Gauss**

$$b_g(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{x^2}{2}},$$

- Biweight

$$b_b(x) = \begin{cases} \frac{15}{16}(1-x^2)^2 & \text{für } |x| < 1 \\ 0 & \text{sonst} \end{cases}.$$

In Abbildung 4.1 sind die beiden Basisfunktionen zusammen dargestellt. Der Vorteil der Biweight-Funktion ist ihr endlicher Support, sodass bei der Auswertung der Parzen-Fenster-Methode nur die Stichproben X_i in unmittelbarer Nähe von x einbezogen werden müssen.

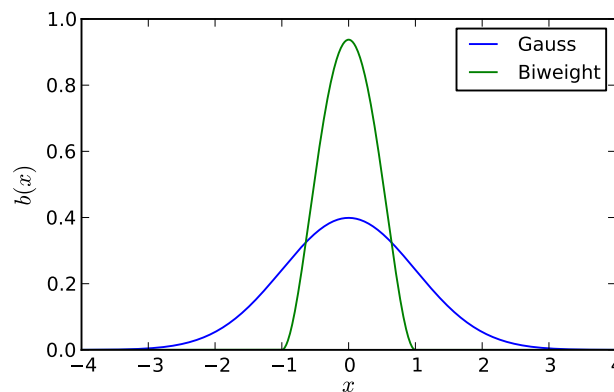


Abbildung 4.1: Zwei unterschiedliche Basisfunktionen für die Parzen-Fenster-Methode aus Definition 4.2. Beide Basisfunktionen sind symmetrisch, differenzierbar und erfüllen die Eigenschaften einer Dichte.

Angenommen es sind sechs Stichproben $X_1 = 4$, $X_2 = 10$, $X_3 = 13.5$, $X_4 = 14$, $X_5 = 14.5$, $X_6 = 15$ gegeben. Die unbekannte Dichte $\rho(x)$ lässt sich dann mit Hilfe der Parzen-Fenster-Methode, den vorgestellten Basisfunktionen und einem geeigneten Glättungsparameter h abschätzen (siehe Abbildung 4.2).

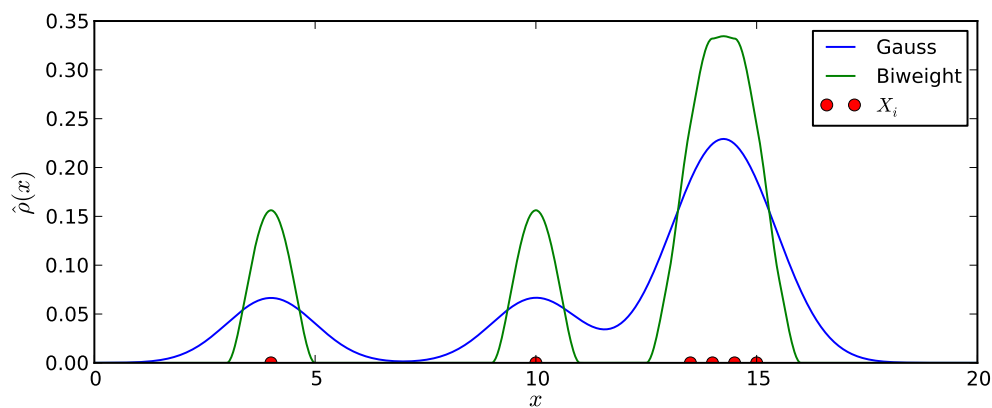


Abbildung 4.2: Dichteschätzung mit Hilfe der Parzen-Fenster-Methode, den vorgestellten Basisfunktionen, dem Glättungsparameter $h = 1$ und den Stichproben X_i mit $i = 1, \dots, 6$.

4 Dichtebasierte Distanz

Die Wahl eines geeigneten Glättungsparameters h ist sehr viel kritischer als die Wahl der Basisfunktion zur Schätzung der wahren Dichte $\rho(x)$ [35]. Neben der subjektiven Wahl auf Grundlage von Plots der Dichteschätzungen mit unterschiedlichem h , gibt es verschiedene, automatische Ansätze, die versuchen ein optimales h zu finden. Unter der Annahme, dass es sich um eine Normalverteilung handelt, lässt sich das optimale h beispielsweise direkt über die Anzahl der Punkte und ihre Standardabweichung berechnen. Eine allgemeinere Methode stellt die Kreuzvalidierung dar, welche im Wesentlichen darauf beruht, nur über einen Teil der Daten den Fehler $\int (\rho(x) - \hat{\rho}(x))^2 dx$ zu approximieren und dann bezüglich h zu minimieren [35].

Allgemein ist $\rho(x)$ aber unbekannt und jedes Verfahren zur Parameterbestimmung trifft bestimmte Annahmen bezüglich der wahren Dichte. Dieses Dilemma der Statistik ist im Fall der Zellkernpositionen so nicht gegeben, da die Dichtefunktion bekannt ist. Die Positionen der Zellkerne stellen keine Stichprobe einer unbekanntes Zufallsgröße dar, sondern liegen genau an den n diskreten Stellen X_1, \dots, X_n . Durch den Dirac-Impuls $\delta(x)$ mit den definierenden Eigenschaften

$$\int_{\mathbb{R}} b(x)\delta(x) = b(0) , \quad \int_{\mathbb{R}} \delta(x) = 1$$

wird die wahre Zellkerndichte definiert durch

$$\rho_z(x) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \delta(x - X_i) .$$

Das Problem mit der Dichte $\rho_z(x)$ ist, dass sie die Unsicherheiten bei der Positionsbestimmung der Zellkerne ignoriert. Sowohl bei der manuellen wie der automatischen Bestimmung werden Zellkerne übersehen oder ihre Mitte nicht genau markiert. Außerdem sind die Dichten der Zellkerne zweier Bilder nicht vergleichbar, da, neben den genannten Ungenauigkeiten, erschwerend hinzukommt, dass die gleichen Zellkerne nicht unbedingt in beiden Schnittbildern zu sehen sind.

Daher wird an dieser Stelle die Annahme getroffen, dass es sich bei den Zellkernpositionen beider Bilder um Stichproben derselben Zellkerndichte handelt, wobei die Zellkernpositionen des Templatebildes relativ zum transformierten Gitter liegen. Der Glättungsparameter sollte einen minimalen Wert h_{\min} haben, der so gewählt wird, dass er die im vorherigen Absatz genannten Unsicherheiten ausblendet und die naive Distanz zweier Dichten $|\hat{\rho}^T(x) - \hat{\rho}^R(x)|$ für alle x möglichst minimal wird. Auf der anderen Seite sollte ein h_{\max} die Wahl von h nach oben begrenzen, damit wir uns nicht zu weit von den wahren Dichten $\rho_z^R(x)$, $\rho_z^T(x)$ entfernen. In Abbildung 4.3 wird die Wahl eines geeigneten Glättungsparameters h für die Zellkerndichten im eindimensionalen Beispiel veranschaulicht.

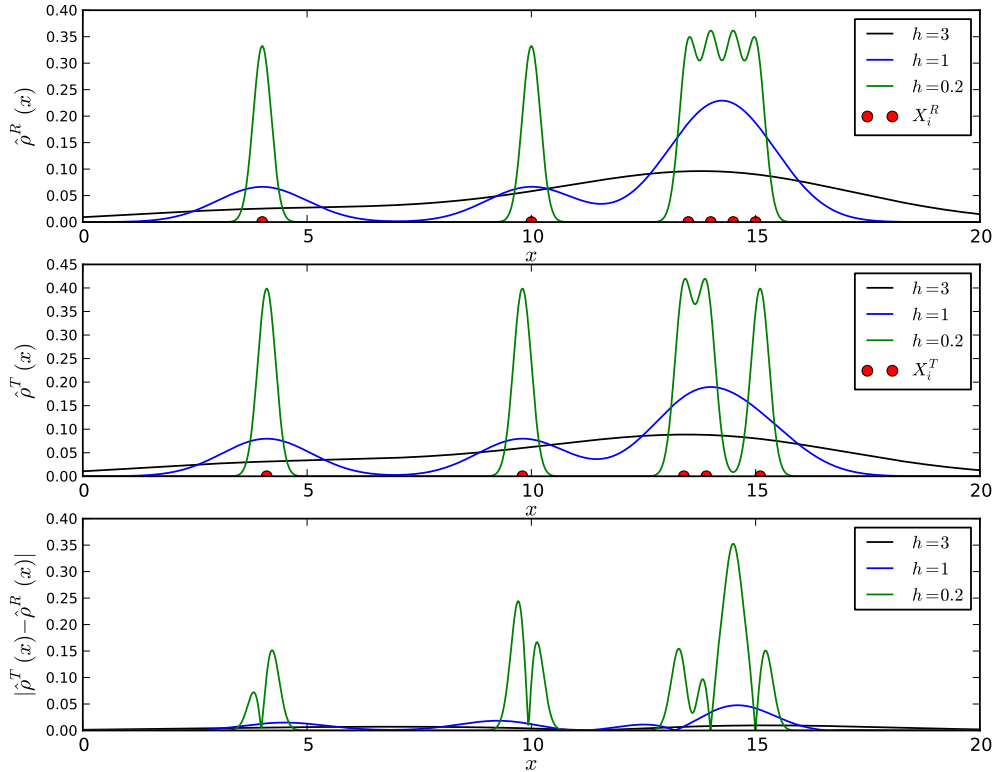


Abbildung 4.3: Eindimensionale Dichteschätzung mit der Gauss-Basisfunktion und verschiedenen Glättungsparametern h für die Zellkernpositionen $X^R = (4, 10, 13.5, 14, 14.5, 15)$ und $X^T = (4.1, 9.8, 13.4, 13.9, 15.1)$. Die Distanz der geschätzten Dichten im untersten Plot zeigt, wie empfindlich die Dichteschätzung mit einem kleinen h auf Messungenauigkeiten und fehlende bzw. undetektierte Zellkerne reagiert. Ist der Glättungsparameter zu groß ($h = 3$) ist die Distanz zwar gering, aber die Struktur, welche sich durch die ursprünglichen Zellkernpositionen abzeichnet, geht verloren. Ein guter Kompromiss für die Wahl des Glättungsparameters in diesem Beispiel stellt $h = 1$ dar.

Die Dichteschätzung nach der Parzen-Fenster-Methode kann für den Fall der Zellkernpositionen auch als Faltung der wahren Dichte $\rho_z(x)$ mit einer Basisfunktion $b_h(x) = b(x/h)/h$ angegeben werden, da

$$\begin{aligned}
 \hat{\rho}(x) &= \frac{1}{nh} \sum_{i=1}^n b\left(\frac{x - X_i}{h}\right) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n b_h(x - X_i) \\
 &= \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \int_{\mathbb{R}} \delta(z) b_h(x - X_i - z) dz = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \int_{\mathbb{R}} \delta(z - X_i) b_h(x - z) dz \\
 &= \int_{\mathbb{R}} \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \delta(z - X_i) b_h(x - z) dz = \int_{\mathbb{R}} \rho_z(z) b_h(x - z) dz = (\rho_z * b_h)(x)
 \end{aligned}$$

gilt.

4.2 Modellierung der Schnittbilder über ihre Zellkerndichte

Um die Zellkerndichte der histologischen Schnittbilder modellieren zu können, muss zunächst die Parzen-Fenster-Methode mit geeigneten Basisfunktionen $B : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}$ für den zweidimensionalen Fall zu $\hat{\rho} : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}$ mit

$$\hat{\rho}(x) = \frac{1}{nh^2} \sum_{i=1}^n B\left(\frac{x - X_i}{h}\right)$$

erweitert werden, wobei $X_1, \dots, X_n \in \mathbb{R}^2$ die Zellkernpositionen bezeichnen. Genau wie bei der Interpolation ergibt sich die zweidimensionale Gauss-Basisfunktion durch Multiplikation der eindimensionalen Basisfunktionen zu

$$B_g(x) = b_g(x_1)b_g(x_2) = \frac{1}{2\pi} e^{-\frac{x^T x}{2}}.$$

Für die Biweight-Basisfunktion im zweidimensionalen Raum soll

$$B_b(x) = \begin{cases} \frac{3}{\pi}(1 - x^T x)^2 & \text{für } x^T x < 1 \\ 0 & \text{sonst} \end{cases}$$

gelten. Beide Basisfunktionen sind normiert ($\int_{\mathbb{R}^2} B(x)dx = 1$) und auch im zweidimensionalen Fall kann die Dichteschätzung als Faltung

$$\hat{\rho}(x) = (\rho_z * B_h)(x)$$

dargestellt werden, wobei $B_h = B(x/h)/h^2$ und $p_z : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}$ jetzt über den zweidimensionalen Dirac-Impuls definiert ist. Ein Beispiel für die zweidimensionale Zellkerndichteschätzung befindet sich in Abbildung 4.4.

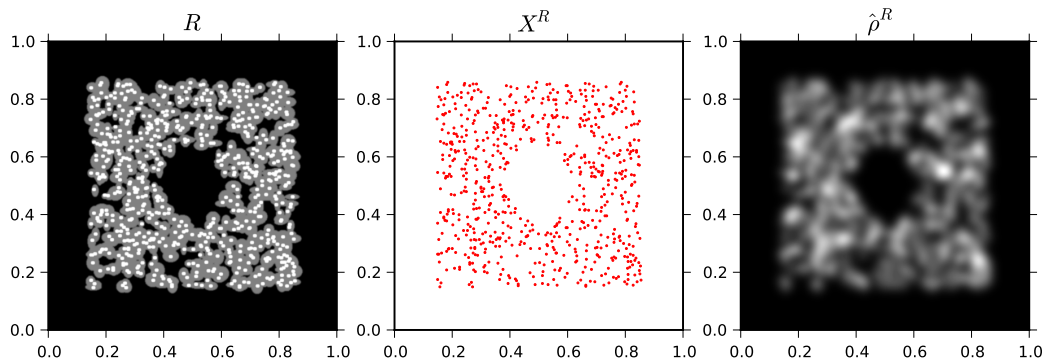


Abbildung 4.4: Für das Testbild R , das bereits im letzten Kapitel eingeführt worden ist, liegen auch die Positionen aller 699 simulierten Zellkerne vor (siehe X^R). Auf Basis der Zellkernpositionen wurde die zweidimensionale Dichte $\hat{\rho}^T$ mit der Parzen-Fenster-Methode und der Basisfunktion $B_g(x)$ geschätzt. Der Glättungsparameter wurde in diesem Beispiel auf $h = 0.02$ gesetzt.

4.3 Entwicklung eines Distanzmaßes auf der Basis von Zellkerndichten

Angenommen wir haben die Zellkerndichten $\hat{\rho}^R(x)$, $\hat{\rho}^T(x)$ für ein Referenz- und Templatebild geschätzt, dann kann die Differenz beider Dichten mit $|\hat{\rho}^T(x) - \hat{\rho}^R(x)|$ an jedem Punkt x sichtbar gemacht werden (siehe Abbildung 4.5). Ein sinnvoller Ausgangspunkt für ein Distanzmaß, das einen Wert für den Abstand beider Zellkerndichten zurückgibt, ist das SSD Distanzmaß, welches bereits im vorherigen Kapitel eingeführt wurde, um die Distanz zweier Bilder zu bestimmen, wenn diese ähnliche Intensitätswerte für korrespondierende Strukturen aufweisen. Diese Korrespondenz ist für die geschätzten Dichten gegeben und so ergibt sich für die Dichtefunktionen analog

$$\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho[\hat{\rho}^R, \hat{\rho}^T] = \frac{1}{2} \int_{\mathbb{R}^2} (\hat{\rho}^R(x) - \hat{\rho}^T(x))^2 dx.$$

Da es sich bei den geschätzten Dichten um kontinuierliche Funktionen handelt, die in ganz \mathbb{R}^2 definiert sind, wollen wir versuchen, eine analytische Lösung für das Integral im Distanzmaß zu finden. Für das Distanzmaß lässt sich auch

$$\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho[\hat{\rho}^R, \hat{\rho}^T] = \frac{1}{2} \int_{\mathbb{R}^2} \hat{\rho}^R(x) \hat{\rho}^R(x) dx - \int_{\mathbb{R}^2} \hat{\rho}^R(x) \hat{\rho}^T(x) dx + \frac{1}{2} \int_{\mathbb{R}^2} \hat{\rho}^T(x) \hat{\rho}^T(x) dx$$

schreiben. Im Wesentlichen ist also die Frage, wie die Kreuzkorrelation zweier Dichten

$$\mathcal{D}_{\text{CC}}^\rho[\hat{\rho}^R, \hat{\rho}^T] = \int_{\mathbb{R}^2} \hat{\rho}^R(x) \hat{\rho}^T(x) dx$$

analytisch bestimmt werden kann. Um diese zu beantworten, setzen wir die Parzen-

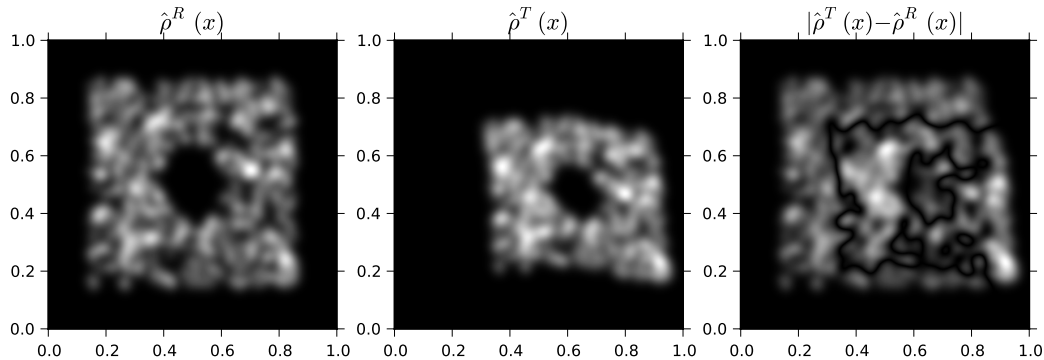


Abbildung 4.5: Geschätzte Dichten $\hat{\rho}^R(x)$, $\hat{\rho}^T(x)$ und ihre Differenz $|\hat{\rho}^T(x) - \hat{\rho}^R(x)|$. $h = 0.02$.

4 Dichtebasierte Distanz

Fenster-Methode für die geschätzten Dichten ein und erhalten

$$\begin{aligned}
 \int_{\mathbb{R}^2} \hat{\rho}^R(x) \hat{\rho}^T(x) dx &= \frac{1}{nmh^4} \int_{\mathbb{R}^2} \sum_{i=1}^n B\left(\frac{x - X_i^R}{h}\right) \sum_{j=1}^m B\left(\frac{x - X_j^T}{h}\right) dx \\
 &= \frac{1}{nmh^4} \int_{\mathbb{R}^2} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m B\left(\frac{x - X_i^R}{h}\right) B\left(\frac{x - X_j^T}{h}\right) dx \\
 &= \frac{1}{nmh^4} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m \underbrace{\int_{\mathbb{R}^2} B\left(\frac{x - X_i^R}{h}\right) B\left(\frac{x - X_j^T}{h}\right) dx}_{=KC(X_i^R, X_j^T)},
 \end{aligned}$$

wobei $KC(X_i^R, X_j^T)$ nach [38] auch Kernel Correlation zweier Punkte X_i^R und X_j^T genannt wird. Für den Fall, dass $B(x) = B_g(x)$, kann für $KC(X_i^R, X_j^T)$ eine analytische Lösung hergeleitet werden [38]. Für die Kernel Correlation gilt mit $B = B_g$

$$\begin{aligned}
 KC(X_i^R, X_j^T) &= \int_{\mathbb{R}^2} B_g\left(\frac{x - X_i^R}{h}\right) B_g\left(\frac{x - X_j^T}{h}\right) dx \\
 &= \frac{1}{4\pi^2} \int_{\mathbb{R}^2} e^{-\frac{\|x - X_i^R\|^2}{2h^2}} e^{-\frac{\|x - X_j^T\|^2}{2h^2}} dx \\
 &= \frac{1}{4\pi^2} \int_{\mathbb{R}^2} e^{-\frac{\|x - X_i^R\|^2 + \|x - X_j^T\|^2}{2h^2}} dx.
 \end{aligned}$$

Substituieren wir x mit $y + \frac{X_i^R + X_j^T}{2}$ ergibt sich

$$KC(X_i^R, X_j^T) = \frac{1}{4\pi^2} \int_{\mathbb{R}^2} e^{-\frac{\|y + (X_j^T - X_i^R)/2\|^2 + \|y - (X_j^T - X_i^R)/2\|^2}{2h^2}} dy.$$

Mit Hilfe der Parallelogrammgleichung $\|v + w\|^2 + \|v - w\|^2 = 2(\|v\|^2 + \|w\|^2)$ gilt

$$\begin{aligned}
 KC(X_i^R, X_j^T) &= \frac{1}{4\pi^2} \int_{\mathbb{R}^2} e^{-\frac{\|y + (X_j^T - X_i^R)/2\|^2 + \|y - (X_j^T - X_i^R)/2\|^2}{2h^2}} dy \\
 &= \frac{1}{4\pi^2} \int_{\mathbb{R}^2} e^{-\frac{2\|y\|^2 + \frac{1}{2}\|X_j^T - X_i^R\|^2}{2h^2}} dy \\
 &= \frac{1}{4\pi^2} e^{-\frac{\|X_j^T - X_i^R\|^2}{4h^2}} \underbrace{\int_{\mathbb{R}^2} e^{-\frac{\|y\|^2}{h^2}} dy}_{=\pi h^2} \\
 &= \frac{h^2}{4\pi} e^{-\frac{\|X_j^T - X_i^R\|^2}{4h^2}}.
 \end{aligned}$$

Für die Kreuzkorrelation zweier Dichten ergibt sich somit

$$\mathcal{D}_{CC}^\rho[\hat{\rho}^R, \hat{\rho}^T] = \int_{\mathbb{R}^2} \hat{\rho}^R(x) \hat{\rho}^T(x) dx = \frac{1}{4\pi nmh^2} \sum_{i,j} e^{-\frac{\|X_j^T - X_i^R\|^2}{4h^2}} \quad (4.3.1)$$

4.3 Entwicklung eines Distanzmaßes auf der Basis von Zellkerndichten

und für das SSD Distanzmaß entsprechend

$$\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho[\hat{\rho}^R, \hat{\rho}^T] = \frac{1}{2} \mathcal{D}_{\text{CC}}^\rho[\hat{\rho}^R, \hat{\rho}^R] - \mathcal{D}_{\text{CC}}^\rho[\hat{\rho}^T, \hat{\rho}^R] + \frac{1}{2} \mathcal{D}_{\text{CC}}^\rho[\hat{\rho}^T, \hat{\rho}^T].$$

Mit $\mathcal{D}_{\text{CC}}^\rho$ kann analog das NCC Distanzmaß zweier Dichten $\hat{\rho}^R, \hat{\rho}^T$

$$\mathcal{D}_{\text{NCC}}^\rho[\hat{\rho}^R, \hat{\rho}^T] = 1 - \frac{\mathcal{D}_{\text{CC}}^\rho[\hat{\rho}^R, \hat{\rho}^T]^2}{\mathcal{D}_{\text{CC}}^\rho[\hat{\rho}^T, \hat{\rho}^T] \cdot \mathcal{D}_{\text{CC}}^\rho[\hat{\rho}^R, \hat{\rho}^R]}$$

definiert und genau berechnet werden.

In Abbildung 4.6 sind die Distanzmaße $\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho$ und $\mathcal{D}_{\text{NCC}}^\rho$ auf Basis von (4.3.1) für die Zellkernpositionen $X^R = (X_1^R, \dots, X_n^R) \in \mathbb{R}^{2 \times n}$ und $X_y^T = (y(X_1^T), \dots, y(X_m^T)) \in \mathbb{R}^{2 \times m}$ der Testbilder berechnet worden, die schon in Abbildung 4.5 zum Einsatz kamen. Die Zellkernpositionen des Templatebildes wurden dabei mit der Transformation $y(x) = x + (t, 0)^T$ entlang der x_1 -Achse verschoben. Das globale Minimum liegt, unabhängig vom Glättungsparameter h , für beide Distanzmaße im Ursprung bei $t = 0$ und entspricht der optimalen Lösung.

Außerdem ist in Abbildung 4.6 zu erkennen, wie durch die Wahl des Glättungsparameters h die Konvexität des Distanzmaßes beeinflusst werden kann. Ähnlich wie beim Multilevel-Ansatz durch unterschiedliche Auflösungslevel lokale Minima vermieden werden, können diese hier durch eine sukzessive Verkleinerung des Glättungsparameters bei der Minimierung des Distanzmaßes umgangen werden. Dabei spricht man auch von einem Multiskalen-Ansatz [23].

Sowohl $\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho$ als auch $\mathcal{D}_{\text{NCC}}^\rho$ eignen sich also als Maße, um die Distanz zweier Dichten zu bestimmen, und können mit der Kreuzkorrelation nach (4.3.1), falls die Dichteschätzung mit einer Gauss-Basisfunktion erfolgt, sogar exakt berechnet werden.

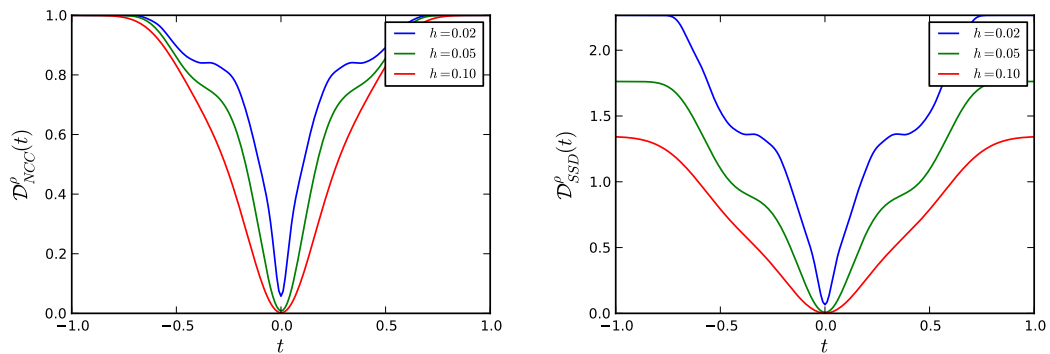


Abbildung 4.6: Verlauf der Distanzmaße für die Zellkernpositionen der Testbilder aus Abbildung 4.5. Dabei sind die Zellkernpositionen des Templatebildes entlang der x_1 -Achse jeweils um t verschoben worden. Zur Dichteschätzung kamen unterschiedliche Glättungsparameter h zum Einsatz, welche die Konvexität der Distanzmaße direkt beeinflussen.

4 Dichtebasierte Distanz

Da $\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho$ gegenüber $\mathcal{D}_{\text{NCC}}^\rho$ das einfachere, intuitivere Distanzmaß darstellt und es, wie gezeigt, gut geeignet ist, um die Distanz zweier Dichten abzubilden, soll es im Folgenden als Basis des dichtebasierten Distanzmaßes genutzt und in Form eines diskreten und eines analytischen Ansatzes näher untersucht werden.

Diskreter Ansatz

Eine Alternative zur exakten Auswertung von $\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho$ mittels (4.3.1) im Rahmen der Maschinengenauigkeit stellt die Auswertung des diskreten SSD Distanzmaßes

$$D_{\text{SSD}}^{\rho,L} = \frac{h_L^1 \cdot h_L^2}{2} \sum_{j_1, j_2} (\hat{\rho}^R(x_{j_1, j_2}^L) - \hat{\rho}^T(x_{j_1, j_2}^L))^2$$

auf einem regelmäßigen Gitter dar. Für die Stützstellen gilt wie im vorherigen Kapitel

$$x_{j_1, j_2}^L = \begin{pmatrix} w^1 + (j_1 - 0.5)h_L^1 \\ w^3 + (j_2 - 0.5)h_L^2 \end{pmatrix},$$

wobei $j_1 = 1, \dots, m_L^1$, $j_2 = 1, \dots, m_L^2$ mit $m_L^1 = m_L^2 = 2^L$. Für die der Dichte zugrunde liegenden Bilder gilt $\mathcal{R}, \mathcal{T} : \Omega_L \rightarrow \mathbb{R}$ mit $\Omega_L = [\omega^1, \omega^1 + h_L^1 \cdot m_L^1] \times [\omega^3, \omega^3 + h_L^2 \cdot m_L^2]$ und $h_L^1 = 2^{L_{\text{max}} - L} \cdot h_{L_{\text{max}}}^1$ bzw. $h_L^2 = 2^{L_{\text{max}} - L} \cdot h_{L_{\text{max}}}^2$, wobei $h_{L_{\text{max}}}^1, h_{L_{\text{max}}}^2$ den Pixelmaßen des Originalbildes entsprechen.

Abhängig vom Diskretisierungslevel L , dem Glättungsparameter h und dem Definitionsbereich Ω_L der Bilder approximiert $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ die Distanz $\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho$ mit unterschiedlicher Genauigkeit. Für die geschätzten Dichten $\hat{\rho}^R$ und $\hat{\rho}^T$ mit $X^R = (0.5, 0.5)^T$ und $X^T = (0.4, 0.5)^T$ in Abbildung 4.7 ergibt sich für $\Omega_L = [0, 1] \times [0, 1]$ abhängig von h und L der relative Fehler

$$\frac{|\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho - D_{\text{SSD}}^{\rho,L}|}{\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho}.$$

Dieser ist in Abbildung 4.8 in Abhängigkeit vom Diskretisierungslevel L für unterschiedliche Glättungsparameter h dargestellt.

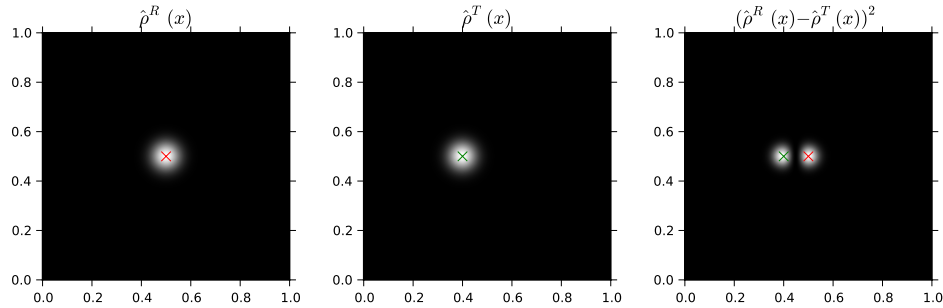


Abbildung 4.7: Geschätzte Dichten $\hat{\rho}^R(x)$ und $\hat{\rho}^T(x)$ mit $X^R = (0.5, 0.5)^T$, $X^T = (0.4, 0.5)^T$ und $h = 0.04$. Zusätzlich ist die punktweise Distanz $(\hat{\rho}^R(x) - \hat{\rho}^T(x))^2$ abgebildet.

4.3 Entwicklung eines Distanzmaßes auf der Basis von Zellkerndichten

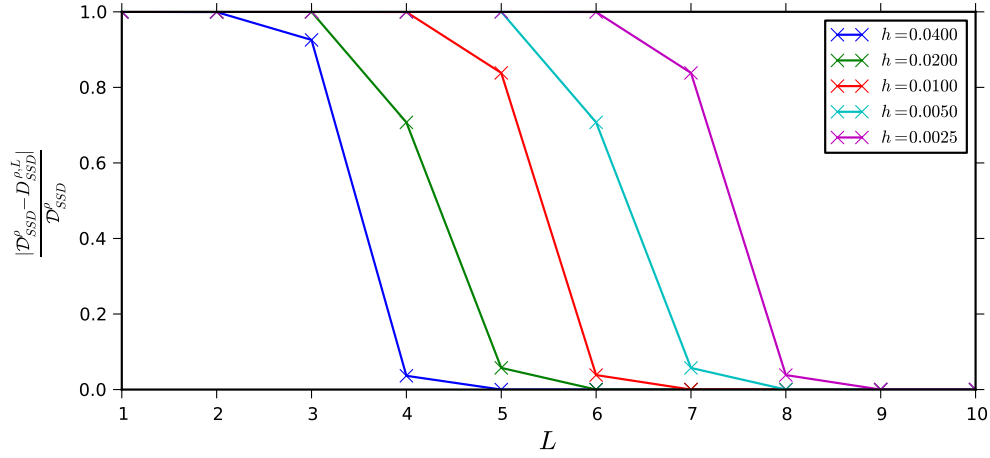


Abbildung 4.8: Relativer Fehler von $D_{SSD}^{\rho, L}$ gegenüber D_{SSD}^{ρ} in Abhängigkeit vom Diskretisierungslevel L für unterschiedliche Glättungsparameter h . Mit wachsendem L wird die Diskretisierung feiner und der Fehler nähert sich der Maschinengenauigkeit bzw. konvergiert für große h gegen einen konstanten Fehler, der dadurch zu erklären ist, dass bei $D_{SSD}^{\rho, L}$ über Ω_L und bei D_{SSD}^{ρ} über ganz \mathbb{R}^2 integriert wird. Je größer h und umso näher die Zellkerne in Randnähe von Ω_L liegen, desto größer ist dieser konstante Fehler.

Wie zu erwarten ist für einen größeren Glättungsparameter h bereits ein kleineres Diskretisierungslevel L ausreichend, um D_{SSD}^{ρ} durch $D_{SSD}^{\rho, L}$ mit Maschinengenauigkeit zu approximieren. Um das zu h und Ω_L passende Diskretisierungslevel L zur exakten Bestimmung der Distanz wählen zu können, ist der Zusammenhang

$$L = \lceil |\log_2 \left(\frac{h}{\sqrt{|\Omega_L|}} \right)| + 1 \rceil \quad (4.3.2)$$

auf Basis der gezeigten Beispiele empirisch bestimmt worden. Damit gilt für $h = 0.02$ und $|\Omega_L| = 1$, dass $L = 7$ ist. Die Dichten $\hat{\rho}^R$ und $\hat{\rho}^T$ müssen damit an $2^{2L} = 16384$ Stellen geschätzt werden, um die Distanz bis auf die Maschinengenauigkeit exakt bestimmen zu können. An jeder Stelle ist eine Auswertung der Parzen-Fenster-Methode notwendig, die ihrerseits die Gauss-Basisfunktion an n bzw. m Zellkernpositionen auswertet. Angenommen es gilt $n = m$, dann muss die Basisfunktion zur Bestimmung der diskreten Distanz $2^{2L+1}n$ mal ausgewertet werden. Für das Beispiel in Abbildung 4.7 ist $n = 1$ und es sind für den genannten Glättungsparameter 32768 Auswertungen nötig. Für die analytische Lösung benötigen wir entsprechend $3n^2$ Auswertungen der Exponentialfunktion in (4.3.1). Im Beispiel also nur 3 und das unabhängig von h bzw. L . Angenommen wir haben $n = 50000$ Zellkerne in einem Bild detektiert und es gilt weiterhin $h = 0.02$, dann lohnt es sich die Dichte mit dem diskretisierten Distanzmaß auszuwerten, welches $1,6 \cdot 10^8$ statt $7,5 \cdot 10^8$ Auswertungen benötigt.

Wichtiger als die sehr exakt bestimmte Distanz ist ihr glatter, konvexer Verlauf bezüglich verschiedener Transformationen, um zu vermeiden, dass der Optimierer

4 Dichtebasierte Distanz

in einem lokalen Minimum konvergiert. In Abbildung 4.9 sind $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ und $\mathcal{D}_{\text{SSD}}^{\rho}$ von $\hat{\rho}^R$ und $\hat{\rho}^T$ mit $X^R = (0.5, 0.5)^T$ und $X^T = (t, 0.5)^T$ bezüglich einer Translation $t \in [0.4, 0.6]$ mit unterschiedlichen Diskretisierungsleveln L bestimmt worden. Für den Glättungsparameter gilt $h = 0.02$ in allen Versuchen. Für $h = 0.02$ und $|\Omega_L| = 1$ ist nach (4.3.2) das Diskretisierungslevel $L = 7$ zu wählen, um die Distanz $\mathcal{D}_{\text{SSD}}^{\rho}$ mittels $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ im Rahmen der Maschinengenauigkeit exakt bestimmen zu können. Der Verlauf von $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ in Abhängigkeit von t für die verschiedenen Diskretisierungslevel legt nahe, dass auch eine gröbere Diskretisierung als $L = 7$ sich eignet, um den richtigen Minimierer $t = 0.5$ zu finden. Zu klein sollte L aber nicht gewählt werden, da sonst verstärkt lokale Minima auftreten. Nahe der optimalen Translation nähert sich $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ aber selbst für sehr grobe Diskretisierungen ($L = 4$) der analytisch bestimmten Distanz.

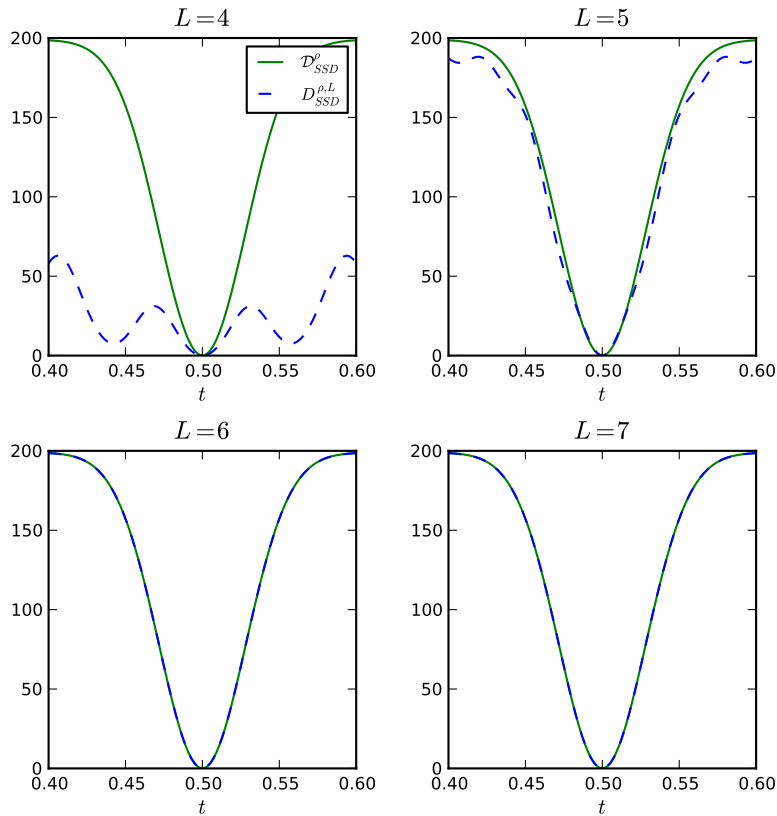


Abbildung 4.9: Vergleich des Distanzmaßes $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ auf verschiedenen Diskretisierungsleveln L mit der genauen Distanz $\mathcal{D}_{\text{SSD}}^{\rho}$ für die geschätzten Dichten $\hat{\rho}^R(x)$ und $\hat{\rho}^T(x)$ mit $X^R = (0.5, 0.5)^T$, $X^T = (t, 0.5)^T$ mit $t \in [0.4, 0.6]$ und $h = 0.02$.

Insgesamt eignet sich das diskrete SSD Distanzmaß $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ mit passendem L gut, um auf Basis des im letzten Kapitel vorgestellten Optimierungsverfahrens die passenden

4.3 Entwicklung eines Distanzmaßes auf der Basis von Zellkerndichten

Verschiebungen u_{j_1, j_2}^L jedes Gitterpunktes x_{j_1, j_2}^L zu berechnen, sodass

$$D_{\text{SSD}}^{\rho, L} = \frac{h_L^1 \cdot h_L^2}{2} \sum_{j_1, j_2} (\hat{\rho}^R(x_{j_1, j_2}^L) - \hat{\rho}^T(y_{j_1, j_2}^L))^2$$

mit $y_{j_1, j_2}^L = x_{j_1, j_2}^L + u_{j_1, j_2}^L$ minimal ist. Da es sich bei $D_{\text{SSD}}^{\rho, L}$ genau um das für die Bilder definierte, diskrete Distanzmaß D_{SSD}^L handelt, in das nun statt der Bilder Dichtefunktionen eingesetzt werden, stimmen auch die Ableitungen von $D_{\text{SSD}}^{\rho, L}$ bezüglich der Verschiebungen y^L mit denen von D_{SSD}^L überein. Die histologischen Bilder werden im intensitätsbasierten Registrierungsverfahren also lediglich durch ihre Zellkerndichten ersetzt. Im Detail tritt die Parzen-Fenster-Methode an die Stelle der Interpolation. In jeder Iteration des Gauß-Newton-Verfahrens wird nicht die eingangs geschätzte Dichte an den verschobenen Gitterpunkten interpoliert, sondern eine Dichte für die passend zum Gitter verschobenen Zellkernpositionen neu geschätzt.

Analytischer Ansatz

Auf Basis des exakt bestimmten Distanzmaßes $\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho$ soll in diesem Abschnitt noch ein zweiter Ansatz hergeleitet werden. Die Herleitung bezieht sich in diesem Zusammenhang vor allem auf die Bestimmung der Ableitungen von $\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho$, da das Distanzmaß ja bekannt ist.

Wie bereits gezeigt gilt für das SSD Distanzmaß

$$\mathcal{D}_{\text{SSD}}^\rho[y] = \frac{1}{2} D_{\text{CC}}^\rho(X_y^T, X_y^T) - D_{\text{CC}}^\rho(X^R, X_y^T) + \frac{1}{2} D_{\text{CC}}^\rho(X^R, X^R)$$

mit der Transformation $y : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}$, der Kreuzkorrelation

$$D_{\text{CC}}^\rho(X^R, X^T) = \frac{1}{4\pi n m h^2} \sum_{i, j} e^{-\frac{\|X_j^T - X_i^R\|^2}{4h^2}}$$

und den Zellkernpositionen $X^R = (X_1^R, \dots, X_n^R) \in \mathbb{R}^{2 \times n}$, $X_y^T = (y(X_1^T), \dots, y(X_m^T)) \in \mathbb{R}^{2 \times m}$.

Betrachten wir zunächst den parametrischen Fall, für den die Transformation über $y(X_j^T) = Q_j \omega$ mit den affinen Parametern $\omega \in \mathbb{R}^6$ und

$$Q_j = \begin{pmatrix} (X_j^T)_1 & (X_j^T)_2 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & (X_j^T)_1 & (X_j^T)_2 & 1 \end{pmatrix}$$

definiert ist. Damit ergibt sich für das SSD Distanzmaß im parametrischen Fall insgesamt

$$D_{\text{SSD}}^\rho(\omega) = \frac{k}{2m^2} \sum_{i, j} e^{-\frac{\|Q_j \omega - Q_i \omega\|^2}{4h^2}} - \frac{k}{nm} \sum_{i, j} e^{-\frac{\|Q_j \omega - X_i^R\|^2}{4h^2}} + \frac{k}{2n^2} \sum_{i, j} e^{-\frac{\|X_j^R - X_i^R\|^2}{4h^2}}$$

4 Dichtebasierte Distanz

mit $k = \frac{1}{4\pi h^2}$. Hier ist zu beachten, dass i und j in den Summen jeweils über die Anzahl von Zellkernpositionen in Referenz- bzw. Templatebild iterieren. Für die Ableitung von $D_{\text{SSD}}^\rho(\omega)$ ergibt sich

$$\begin{aligned}\nabla D_{\text{SSD}}^\rho(\omega) &= \frac{k}{2m^2} \sum_{i,j} \nabla e^{-\frac{\|Q_j\omega - Q_i\omega\|^2}{4h^2}} - \frac{k}{nm} \sum_{i,j} \nabla e^{-\frac{\|Q_j\omega - X_i^R\|^2}{4h^2}} \\ &= -\frac{k}{4m^2h^2} \sum_{i,j} e^{-\frac{\|Q_j\omega - Q_i\omega\|^2}{4h^2}} \underbrace{(Q_j - Q_i)^T (Q_j - Q_i)}_{=v_1} \omega \\ &\quad + \frac{k}{2mnh^2} \sum_{i,j} e^{-\frac{\|Q_j\omega - X_i^R\|^2}{4h^2}} \underbrace{(Q_j)^T (Q_j\omega - X_i^R)}_{=v_2}\end{aligned}$$

und für die Hessematrix entsprechend

$$\begin{aligned}\nabla^2 D_{\text{SSD}}^\rho(\omega) &= \frac{k}{4m^2h^2} \sum_{i,j} e^{-\frac{\|Q_j\omega - Q_i\omega\|^2}{4h^2}} \left(\frac{1}{2h^2} v_1 v_1^T - (Q_j - Q_i)^T (Q_j - Q_i) \right) \\ &\quad - \frac{k}{2mnh^2} \sum_{i,j} e^{-\frac{\|Q_j\omega - X_i^R\|^2}{4h^2}} \left(\frac{1}{2h^2} v_2 v_2^T - (Q_j)^T Q_j \right).\end{aligned}$$

Um die Parameter ω zu bestimmen, kann in diesem Fall statt des Gauss-Newton-Verfahrens auch das Newton-Verfahren zur Bestimmung der Suchrichtung s_k genutzt werden, da die Hessematrix explizit bekannt ist. Für eine Newton-Iteration gilt

$$\nabla^2 D_{\text{SSD}}^\rho(\omega_k) s_k = -\nabla D_{\text{SSD}}^\rho(\omega_k).$$

Im nicht-parametrischen Fall suchen wir mit Blick auf das Distanzmaß zunächst die Verschiebungen U_j jeder Zellkernposition X_j^T des Templatebildes, sodass

$$D_{\text{SSD}}^\rho(Y) = \frac{k}{2m^2} \sum_{i,j} e^{-\frac{\|Y_j - Y_i\|^2}{4h^2}} - \frac{k}{nm} \sum_{i,j} e^{-\frac{\|Y_j - X_i^R\|^2}{4h^2}} + \frac{k}{2n^2} \sum_{i,j} e^{-\frac{\|X_j^R - X_i^R\|^2}{4h^2}}$$

mit $Y_k = X_k^T + U_k$ minimal wird. Es gilt $Y = (Y_1^1, \dots, Y_m^1, Y_1^2, \dots, Y_m^2)^T$ und $Y_j = (Y_j^1, Y_j^2)^T$. Für die Ableitung der Distanz ergibt sich

$$\nabla D_{\text{SSD}}^\rho(Y) = \left(\frac{\partial D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial Y_1^1}, \dots, \frac{\partial D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial Y_m^1}, \frac{\partial D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial Y_1^2}, \dots, \frac{\partial D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial Y_m^2} \right)^T,$$

4.3 Entwicklung eines Distanzmaßes auf der Basis von Zellkerndichten

wobei die einzelnen partiellen Ableitungen für jede Zellkernposition über

$$\begin{aligned}
 \nabla_{Y_k} D_{\text{SSD}}^\rho(Y) &= \begin{pmatrix} \frac{\partial D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial Y_k^1} \\ \frac{\partial D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial Y_k^2} \end{pmatrix} \\
 &= \frac{k}{2m^2} \sum_{i,j} \nabla_{Y_k} e^{-\frac{\|Y_j - Y_i\|^2}{4h^2}} - \frac{k}{nm} \sum_{i,j} \nabla_{Y_k} e^{-\frac{\|Y_j - X_i^R\|^2}{4h^2}} \\
 &= -\frac{k}{2m^2 h^2} \sum_{i \neq k} e^{-\frac{\|Y_k - Y_i\|^2}{4h^2}} \underbrace{(Y_k - Y_i)}_{=v_3} \\
 &\quad + \frac{k}{2mnh^2} \sum_i e^{-\frac{\|Y_k - X_i^R\|^2}{4h^2}} \underbrace{(Y_k - X_i^R)}_{=v_4}
 \end{aligned}$$

bestimmt werden können. Für die Hessematrix bezüglich Y_k gilt

$$\begin{aligned}
 \nabla_{Y_k}^2 D_{\text{SSD}}^\rho(Y) &= \begin{pmatrix} \frac{\partial^2 D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial^2 Y_k^1} & \frac{\partial^2 D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial Y_k^1 \partial Y_k^2} \\ \frac{\partial^2 D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial Y_k^2 \partial Y_k^1} & \frac{\partial^2 D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial^2 Y_k^2} \end{pmatrix} \\
 &= \frac{k}{2m^2 h^2} \sum_{i \neq k} e^{-\frac{\|Y_k - Y_i\|^2}{4h^2}} \left(\frac{1}{2h^2} v_3 v_3^T - \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \right) \\
 &\quad - \frac{k}{2mnh^2} \sum_i e^{-\frac{\|Y_k - X_i^R\|^2}{4h^2}} \left(\frac{1}{2h^2} v_4 v_4^T - \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \right).
 \end{aligned}$$

Damit ergibt sich für die Hessematrix insgesamt

$$\nabla^2 D_{\text{SSD}}^\rho(Y) = \begin{pmatrix} \frac{\partial^2 D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial^2 Y_1^1} & & & \frac{\partial^2 D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial Y_1^1 \partial Y_1^2} & & \\ & \ddots & & & \ddots & \\ & & \frac{\partial^2 D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial^2 Y_m^1} & & & \frac{\partial^2 D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial Y_m^1 \partial Y_m^2} \\ \frac{\partial^2 D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial Y_1^2 \partial Y_1^1} & & & \frac{\partial^2 D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial^2 Y_1^2} & & \\ & \ddots & & & \ddots & \\ & & \frac{\partial^2 D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial Y_m^2 \partial Y_m^1} & & & \frac{\partial^2 D_{\text{SSD}}^\rho}{\partial^2 Y_m^2} \end{pmatrix}.$$

Das Problem der hergeleiteten Ableitungen für das Distanzmaß ist, dass sie so nicht mit dem elastischen Regularisierer kombinierbar sind, da dieser auf einem regelmäßig diskretisierten Gitter definiert worden ist. Um die erste und zweite Ableitung an den Gitterpunkten bestimmen zu können, müssen wir uns der Interpolation aus dem letzten Kapitel bedienen, um auf Basis der Ableitungen an den Zellkernpositionen die Ableitungen an den Gitterpunkten zu schätzen. Wie im Abschnitt zur Interpolation beschrieben lässt sich über

$$\nabla_{Y_k} D_{\text{SSD}}^\rho = \sum_{i=1}^m a_i b(X_k - X_i)$$

4 Dichtebasierte Distanz

mit den bekannten Ableitungen $\nabla_{Y_k} D_{\text{SSD}}^\rho$ und einer geeigneten Basisfunktion b für $j = 1, \dots, m$ ein Gleichungssystem aufstellen, mit dem zunächst die Koeffizienten $a_j \in \mathbb{R}^2$ bestimmt werden können. Die Ableitung an einer beliebigen Stelle $x \in \mathbb{R}^2$ ist dann definiert durch

$$\nabla_{y_x} D_{\text{SSD}}^\rho = \sum_{i=1}^m a_i b(x - X_i).$$

Die zweite Ableitung kann an den gewünschten Gitterpunkten analog bestimmt werden. Es ist allerdings zu beachten, dass für die Koeffizienten in diesem Fall $a_i \in \mathbb{R}^{2 \times 2}$ gilt.

Zusammengefasst folgen aus den Ergebnissen dieses Abschnitts zwei Ansätze, mit denen sich die SSD Distanz zweier Zellkerndichten bestimmen lässt. Mit $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ haben wir den diskreten Ansatz bezeichnet, bei dem auf Basis der Zellkernpositionen die Dichten $\hat{\rho}^R, \hat{\rho}^T$ für ein Referenz- und Templatebild an regelmäßigen Gitterpunkten geschätzt werden. Die Distanz mit ihren Ableitungen wird dann genau wie bei der intensitätsbasierten Registrierung berechnet, indem die Dichten an die Stelle der Bilder treten. Der zweite Ansatz verzichtet auf die Diskretisierung des Integrals im SSD Distanzmaß und es kann eine analytische Lösung für die Distanz D_{SSD}^ρ der geschätzten Dichten bestimmt werden. Im nicht-parametrischen Fall lassen sich damit allerdings nur die Ableitungen der Distanz an den verschobenen Zellkernpositionen des Templatebildes berechnen. Abgesehen von der Tatsache, dass der vorgestellte elastische Regularisierer nicht mit den Verschiebungen an unregelmäßigen Punkten kompatibel ist, wäre am Ende eine Interpolation der Verschiebungen auf einem regelmäßigen Gitter erforderlich, damit wir das dem Bild zugrunde liegende, diskrete Gitter deformieren können. Da in den ersten Beispielen und Tests dieses Abschnitts bereits gezeigt werden konnte, dass D_{SSD}^ρ und $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ mit ausreichend feiner Diskretisierung gleichwertig sind, soll für den nicht-parametrischen Fall im Folgenden $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ zum Einsatz kommen, um während der Registrierung nicht, wie im letzten Absatz beschrieben, die Ableitungen des Distanzmaßes an regelmäßigen Gitterpunkten interpolieren zu müssen.

4.4 Implementierung der dichtebasierten Distanz

Sowohl die intensitätsbasierte Bildregistrierung, welche im vorherigen Kapitel vorgestellt wurde, als auch die ergänzenden, dichtebasierten Distanzmaße wurden im Rahmen dieser Arbeit in der noch jungen Programmiersprache Julia implementiert. Julia ist eine quelloffene, dynamische Programmiersprache, die am Massachusetts Institute of Technology (MIT) entwickelt wurde und im Jahre 2012 veröffentlicht worden ist [15]. Ähnlich wie andere High-Level-Programmiersprachen (MATLAB, Python, R etc.) bietet Julia eine übersichtliche Syntax, die eine schnelle Umsetzung

4.4 Implementierung der dichte-basierten Distanz

entworfenen Algorithmen ermöglicht. Das Design einer Sprache hinsichtlich großer Produktivität führt bei den meisten höheren Programmiersprachen dazu, dass diese nicht besonders schnell arbeiten, sodass für rechenintensive Probleme auf Sprachen wie C/C++ oder Fortran zurückgegriffen werden muss. Julia hingegen nutzt einen Just-In-Time-Compiler, um den Programmcode auszuführen und erreicht damit in einigen Fällen fast die Performance von statischen Programmiersprachen wie C [15].

Kleine Benchmarks von Julia in [15] belegen die gute Geschwindigkeit im Vergleich zu anderen Programmiersprachen wie etwa MATLAB, Python oder C. Im Rahmen der Implementierung der Dichteschätzung wird im Folgenden auch ein kurzer Vergleich der Performance gegenüber C, MATLAB und einer parallelen Implementierung in OpenCL gegeben.

Dichteschätzung

Zur Berechnung der diskreten Distanz $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ ist eine Dichteschätzung

$$\hat{\rho}(x_{j_1,j_2}^L) = \frac{1}{nh^2} \sum_{i=1}^n B\left(\frac{x_{j_1,j_2}^L - X_i}{h}\right)$$

an 2^{2L} Stützstellen $x_{j_1,j_2}^L \in \mathbb{R}^2$ mit $j_1 = 1, \dots, 2^L$, $j_2 = 1, \dots, 2^L$ erforderlich. An jeder Stützstelle muss über alle n Zellkernpositionen X_1, \dots, X_n iteriert werden. Die Basisfunktion muss also insgesamt $2^{L+1}n$ mal ausgewertet werden. Wählen wir für B die Gauss-Basisfunktion ergibt sich

$$\hat{\rho}(x_{j_1,j_2}^L) = \frac{1}{2\pi nh^2} \sum_{i=1}^n e^{-\frac{\|x_{j_1,j_2}^L - X_i\|^2}{2h^2}}$$

und für die Ableitung, welche ebenfalls benötigt wird,

$$\nabla \hat{\rho}(x_{j_1,j_2}^L) = -\frac{1}{4\pi nh^4} \sum_{i=1}^n e^{-\frac{\|x_{j_1,j_2}^L - X_i\|^2}{2h^2}} (x_{j_1,j_2}^L - X_i).$$

Offensichtlich kann die Ableitung mit nur wenig Mehraufwand berechnet werden, wenn diese gleichzeitig mit der Dichte ausgewertet wird. Die Berechnung der Exponentialfunktion sowie der Differenz muss hier lediglich einmal erfolgen.

Eine Möglichkeit, um die Exponentialfunktion nicht an allen n Zellkernpositionen auswerten zu müssen, bietet sich, wenn vorher geprüft wird, ob die Distanz zwischen den Punkten $\|x_{j_1,j_2}^L - X_i\|$ größer als ein Schwellwert r ist. Wenn dies der Fall ist, wird für die zu weit entfernte Zellkernposition die Exponentialfunktion nicht berechnet und ihr Einfluss auf die Dichte an dieser Stelle ignoriert. Bei ausreichend großem r (abhängig von h) ist das Ergebnis der Dichteschätzung im Rahmen der Maschinengenauigkeit unverändert. In Abbildung 4.10 wird dieser Zusammenhang

4 Dichtebasierte Distanz

veranschaulicht, in dem der Fehler der Dichteschätzung in Abhängigkeit von r für unterschiedliche h dargestellt wird.

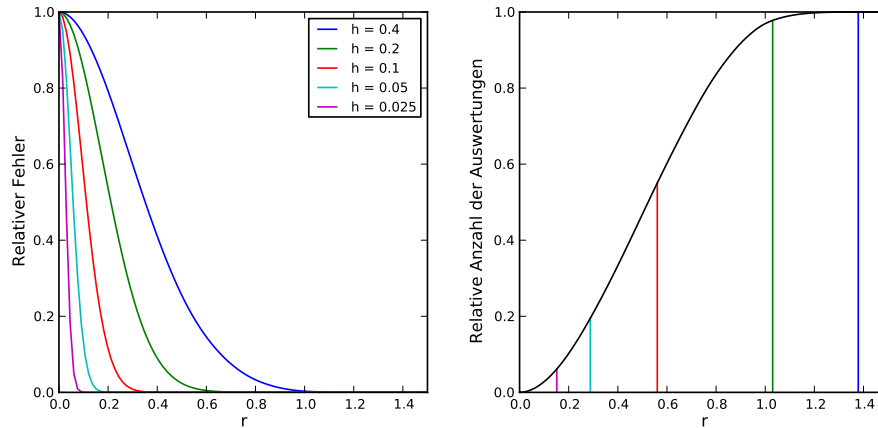


Abbildung 4.10: Auf der linken Seite ist der relative Fehler der Dichteschätzung bezüglich des Schwellwerts r für unterschiedliche Glättungsparameter h gegenüber der exakten Dichteschätzung dargestellt. Auf der rechten Seite sind die farblich korrespondierenden Schwellwerte eingezeichnet, für welche die Dichte im Rahmen der Maschinengenauigkeit exakt bestimmt werden kann. Für jedes r lässt sich dort auch ablesen, wie viele aller Zellkernpositionen im Schnitt ausgewertet werden müssen, um die Dichte an einem Punkt exakt zu bestimmen. Ist der Glättungsparameter h relativ klein, reicht es bereits nur einen Bruchteil der Zellkernpositionen in unmittelbarer Nachbarschaft einzubeziehen. Für dieses Experiment wurde an 128×128 Gitterpunkten in $\Omega_L = [0, 1] \times [0, 1]$ die Dichte über $n = 200$ zufällig angeordnete Zellkernpositionen geschätzt.

Die vorgestellte Dichteschätzung mit Ableitung ist nach dem gleichen Muster in vier unterschiedlichen Programmiersprachen implementiert worden. In einer äußeren for-Schleife wird über die 2^{2L} Stützstellen iteriert, während in der inneren über die n Zellkernpositionen iteriert wird, um die Dichte an der jeweiligen Stützstelle zu bestimmen. Insgesamt sind $2^{2L}n$ Auswertungen der Exponentialfunktionen nötig. Das heißt, die Anzahl der Zellkernpositionen skaliert das Problem linear, ebenso wie die Anzahl der Stützstellen. In Tabelle 4.1 ist die Geschwindigkeit von MATLAB, Julia und OpenCL relativ zur Laufzeit in C für verschiedene n und das Level $L = 8$ dargestellt. Der Tabelle ist zu entnehmen, dass Julia für dieses Beispiel in der Tat im Performancebereich von C liegt. MATLAB hingegen ist etwa ein Drittel langsamer. Da sich die Dichtewerte für die jeweiligen Stützstellen unabhängig voneinander berechnen lassen, haben wir 2^{2L} Teilprobleme, die sich sehr gut parallel berechnen lassen. Diese Tatsache macht sich der OpenCL Code zunutze, welcher die Teilprobleme auf die vielen Prozessorkerne einer Grafikkarte verteilt und parallel löst. Für sehr viele Zellkerne kommt so ein eindrucksvoller Speedup zustande. Allerdings ist anzumerken, dass die Berechnungen auf der Grafikkarte nur mit einfacher Genauigkeit ausgeführt wurden (float statt double) und der Code in den anderen Sprachen nicht parallelisiert worden ist.

4.4 Implementierung der dichte-basierten Distanz

Tabelle 4.1: Speedup der Programmiersprachen MATLAB, Julia und OpenCL im Vergleich zur Referenzimplementierung der Dichteschätzung in C. Die Dichte ist für n Zellkernpositionen an 256×256 Gitterpunkten geschätzt worden. Testsystem: Intel Core i7 Prozessor mit 3.4 GHz, 16 GB Arbeitsspeicher, GeForce GTX 770 Grafikkarte.

	n=1000	n=10000	n=100000
MATLAB	0.3	0.3	0.3
Julia	1.2	1.4	1.4
OpenCL	5.6	58.1	206.4
C (Referenz)	1.0 (0.39s)	1.0 (4.65s)	1.0 (47.48s)

Ableitungstest

Bei der Implementierung eines Distanzmaßes für die Bildregistrierung sind die Ableitungen von zentraler Bedeutung, da diese wichtige Informationen zur effizienten Lösung des Registrierungsproblems bereitstellen. Es ist daher wichtig, sicher zu gehen, dass gerade diese Ableitungen richtig implementiert wurden. Ein einfacher Ableitungstest auf Basis der Taylorapproximation einer Funktion wird in [23] vorgeschlagen und soll an dieser Stelle genutzt und erweitert werden. Für eine Funktion $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}$, einen beliebigen Vektor $v \in \mathbb{R}^n$ und ein $h \in \mathbb{R}$ gilt

$$f(x + hv) = f(x) + h\nabla f(x)v + \mathcal{O}(h^2)$$

$$\text{bzw. } f(x + hv) = f(x) + h\nabla f(x)v + \frac{h^2}{2}v^T \nabla^2 f(x)v + \mathcal{O}(h^3),$$

wenn $\nabla f(x)$ bzw. $\nabla f(x)$ und $\nabla^2 f(x)$ richtig bestimmt worden sind, sollte der Fehler der Näherung von $f(x+ hv)$ durch die Taylorapproximation quadratisch bzw. kubisch mit h fallen. Der Test der Ableitungen des analytisch bestimmten Distanzmaßes $D_{\text{SSD}}^\rho(w)$ für den parametrischen Fall ist in Abbildung 4.11 dargestellt.

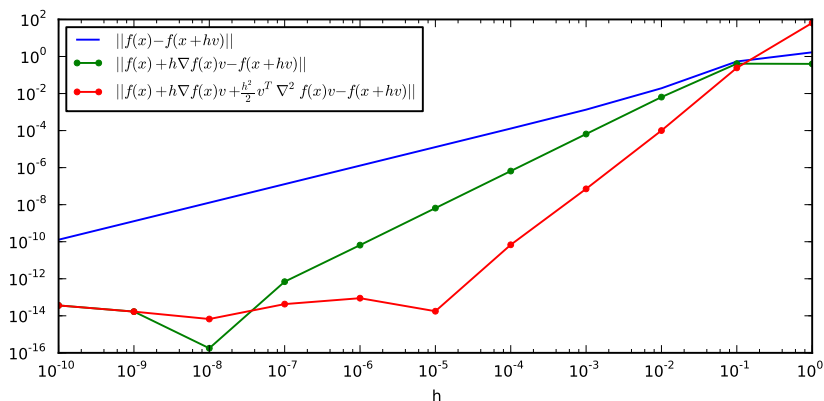


Abbildung 4.11: Erfolgreicher Test der Ableitungen für das Distanzmaß $D_{\text{SSD}}^\rho(w)$.

Multiskalen-Ansatz

Bevor im nächsten Abschnitt die Ergebnisse präsentiert werden, wird an dieser Stelle noch kurz der Einfluss des Glättungsparameters h diskutiert. Anders als die Wahl des Levels L bei der intensitätsbasierten Registrierung hat der Glättungsparameter h zur Dichteschätzung zunächst keinen Einfluss auf die Diskretisierung des Registrierungsproblems. Statt eines Multilevel-Ansatzes wird in diesem Zusammenhang ein Multiskalen-Ansatz genutzt. Dazu wählen wir eine Reihe absteigender Glättungsparameter, für die wir die Bilder jeweils, mit dem Ergebnis der vorangegangenen Registrierung als Startwert, registrieren. Die Motivation dieses Verfahrens ist auch hier die Vermeidung lokaler Minima bei der Optimierung. Das kleinste h der Reihe sollte so gewählt werden, dass die Dichteschätzung unempfindlich auf die fehlenden Korrespondenzen der Zellkerne beider Schnittbilder reagiert, die im vorherigen Kapitel beschrieben worden sind.

Während die Diskretisierung bei der analytischen Lösung des Distanzmaßes D_{SSD}^ρ keine Rolle spielt, sollte für das diskrete Distanzmaß $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ ein zu h passendes Diskretisierungslevel L nach (4.3.2) gewählt werden. In Abbildung 4.12 sind die Testbilddaten für verschiedene Glättungsparameter h mit passendem L dargestellt.

4.4 Implementierung der dichte-basierten Distanz

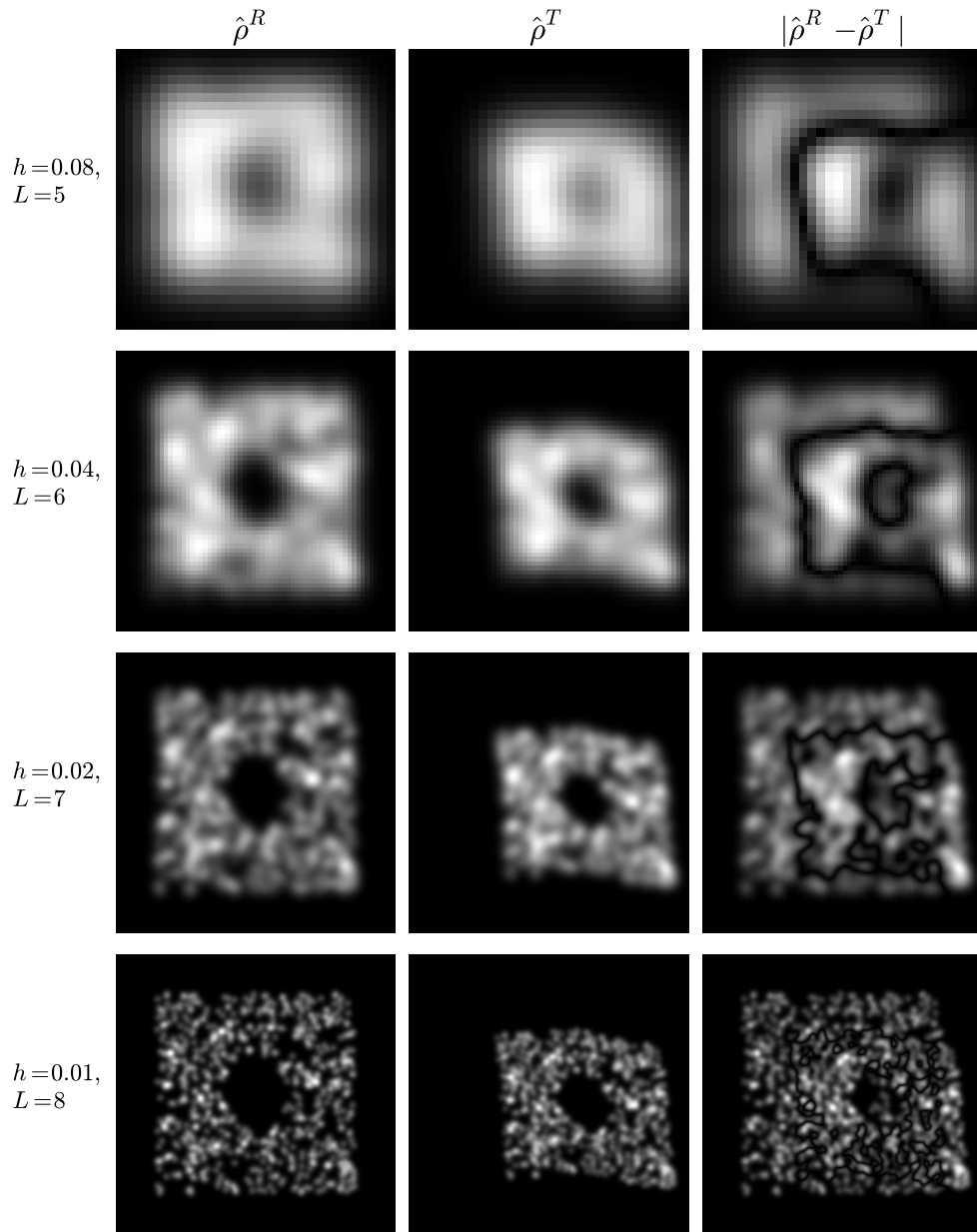


Abbildung 4.12: Dichteschätzung auf Basis der Zellkernpositionen der Testbilder mit unterschiedlichen Glättungsparametern h und dazu passenden Diskretisierungsleveln L nach (4.3.2).

5 Ergebnisse der dichte-basierten Registrierung

In diesem Kapitel wird der Einsatz der vorgestellten, dichte-basierten Distanzmaße zur Registrierung verschiedener Bilddatensätze evaluiert. Zunächst beschränken wir uns dabei auf die bereits vielfach in den Abbildungen dieser Arbeit gezeigten Testbilder. Diese werden in einem ersten Schritt parametrisch und in einem weiteren nicht-parametrisch registriert. Im zweiten Abschnitt wird die dichte-basierte Registrierung für zwei unterschiedlich gefärbte, histologische Schnittbilder eines Lungentumors getestet. Als Gütemaß für die Registrierung ist, neben dem visuellen Vergleich von Referenz- und dem deformierten Templatebild, die Glattheit und Plausibilität des Deformationsfeldes von entscheidender Bedeutung. Für die Testbilder ist zusätzlich die optimale Transformation bekannt und kann verglichen werden. Um auch das Ergebnis für die histologischen Bilddaten quantifizieren zu können, werden in den benachbarten Schichtbildern zwei korrespondierende Hohlräume segmentiert und ihr Abstand zueinander gemessen.

5.1 Testbilder

Für die Testbilddaten, welche in Abschnitt 3.7 eingeführt und beschrieben worden sind, kennen wir sowohl die genauen Zellkernpositionen X^R und X^T als auch die Transformation, mit der das Referenzbild künstlich zum Templatebild verformt wurde. Damit sind die optimalen Parameter ω_{ref} und das optimale Deformationsfeld u_{ref} bekannt und können im Folgenden genutzt werden, um das Registrierungsergebnis zu bewerten.

Zunächst sollen die affinen Transformationsparameter ω bestimmt werden, welche die Distanz D_{SSD}^ρ bzw. $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ der Testbilder mit ihren jeweiligen Zellkernpositionen minimieren. Nach dem beschriebenen Multiskalen-Ansatz ist die Registrierung im parametrischen Fall für die absteigenden Glättungsparameter 0.08, 0.04 und 0.02 erfolgt. Das Ergebnis der parametrischen Registrierung auf Basis von D_{SSD}^ρ ist in Abbildung 5.1 für die Zellkerndichten mit $h = 0.02$ dargestellt. Der Abbildung ist zu entnehmen, dass die Registrierung erfolgreich gewesen ist und zumindest der Anteil der globalen Verschiebungen, Verdrehungen und Verzerrungen ausgeglichen

5 Ergebnisse der dichte-basierten Registrierung

werden konnte. Beim Vergleich der Lösung ω mit den Referenzparametern ω_{ref} ist zu beachten, dass im Bild eine zusätzliche Deformation enthalten ist, welche die Lösung ω beeinflusst. Für die gesamte parametrische und nicht-parametrische Registrierung führen unterschiedliche Kombinationen aus ω und u zu dem richtigen Ergebnis und ω_{ref} und u_{ref} stellen nur eine Möglichkeit dar. Um ω_{ref} dennoch vergleichbar zu machen, entfernen wir für den parametrischen Fall die sinusartige Deformation aus dem Templatebild. Damit konvergiert der relative Fehler von ω gegenüber ω_{ref} gegen die Maschinengenauigkeit.

Das Ergebnis des diskreten Distanzmaßes $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ erreicht dieselbe Genauigkeit für die Transformationsparameter wie D_{SSD}^{ρ} . D_{SSD}^{ρ} konvergiert aber, wie die Verläufe der Distanzmaße bei der Multiskalen-Registrierung in Abbildung 5.4 zeigen, schneller. Der Grund dafür ist die quadratische Konvergenz des Newton-Verfahrens, welches bei der Minimierung von D_{SSD}^{ρ} eingesetzt wird [25].

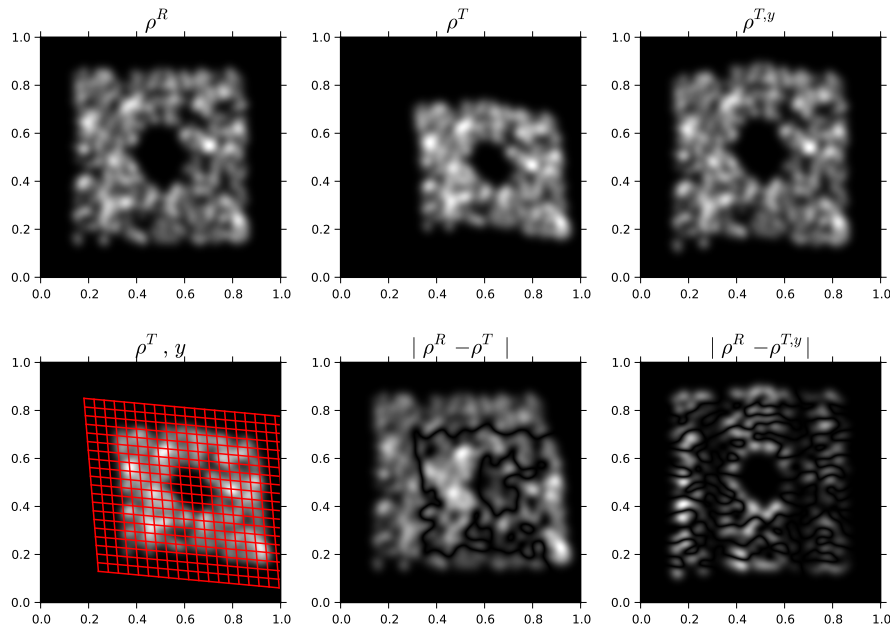


Abbildung 5.1: Ergebnis der parametrischen, dichte-basierten Registrierung mit dem Distanzmaß D_{SSD}^{ρ} und den Glättungsparametern 0.08, 0.04 und 0.02 für den Multiskalen-Ansatz. Dargestellt sind die geschätzten Dichten mit dem kleinsten Glättungsparameter $h = 0.02$.

Auch die zusätzliche nicht-parametrische Registrierung mit elastischem Regularisierer und $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ zeigt ein gutes Ergebnis. In Abbildung 5.2 ist das Resultat der gesamten Registrierung auf den ursprünglichen Bilddaten dargestellt. Der Differenzbetrag von Referenz- und deformierten Templatebild zeigt fast durchgehend eine gute Übereinstimmung der Strukturen. Nur in den Randbereichen kommt es zu kleineren Abweichungen.

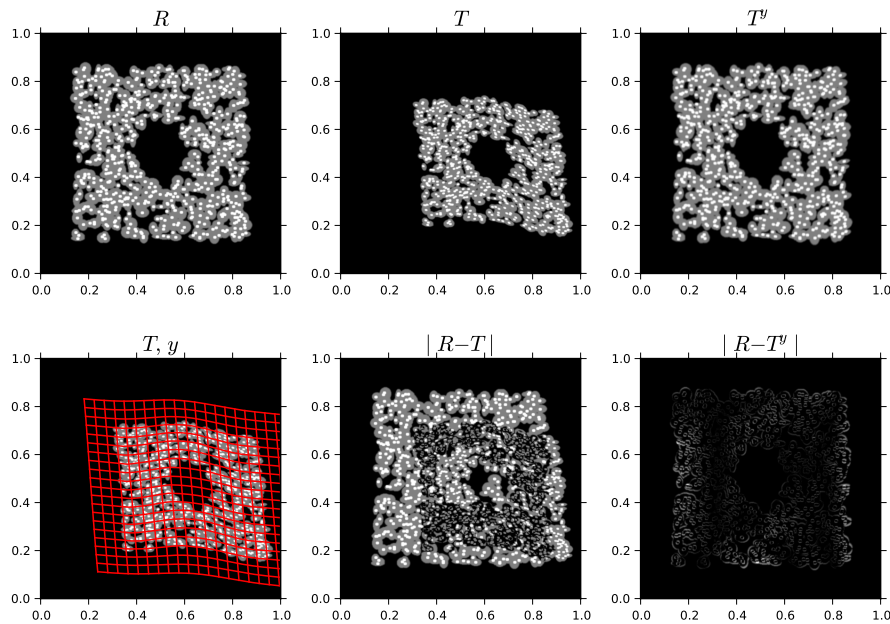


Abbildung 5.2: Ergebnis der parametrischen und nicht-parametrischen, dichte-basierten Registrierung mit der Distanz $D_{SSD}^{\rho, L}$ und dem elastischen Regularisierer ($\alpha = 0.0001$, $\mu = 1$, $\lambda = 0$). Der Verlauf der Zielfunktion während der Registrierung ist für verschiedene Glättungsparameter in Abbildung 5.4 einzusehen.

Auch für den nicht-parametrischen Fall lässt sich die berechnete Deformation u nicht ohne Weiteres mit dem Referenzdeformationfeld u_{ref} vergleichen. Wenn wir mit dem Ergebnis der parametrischen Registrierung $\omega \approx \omega_{\text{ref}}$ starten, sorgen Interpolationsartefakte dafür, dass u_{ref} nicht der optimalen Deformation entspricht. Um die nicht-parametrische Registrierung dennoch quantifizieren zu können, haben wir eine separate Registrierung durchgeführt, bei der das Templatebild lediglich sinusartig deformiert worden ist. Das Ergebnis ist in Abbildung 5.3 dargestellt und zeigt eine gute Übereinstimmung $u \approx u_{\text{ref}}$ im Bereich des künstlichen Gewebes.

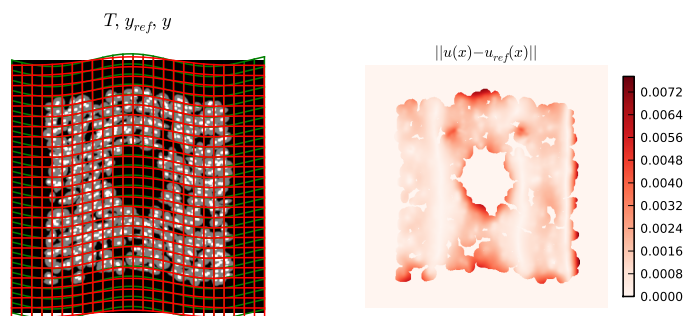


Abbildung 5.3: Links: Vergleich des deformierten Gitters y (rot) mit dem Referenzgitter y_{ref} (grün) auf dem lediglich sinusartig verformten Templatebild T . Rechts: Fehler des Deformationsfeldes u gegenüber u_{ref} auf dem künstlichen Gewebe in T .

5 Ergebnisse der dichte-basierten Registrierung

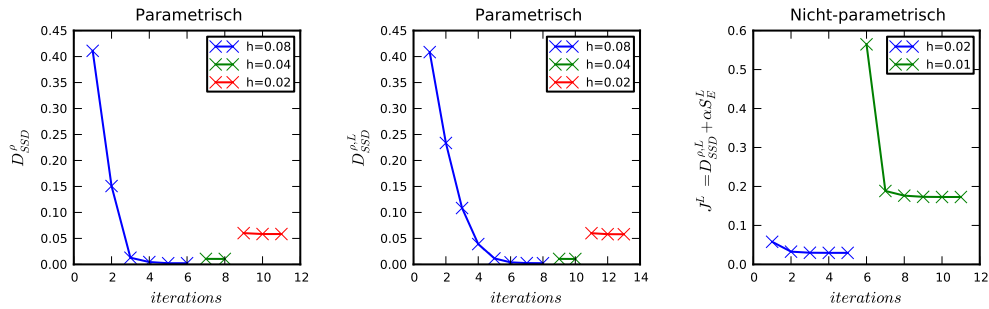


Abbildung 5.4: Iterationsverlauf der Zielfunktionen für die parametrische und nicht-parametrische, dichte-basierte Registrierung mit Multiskalen-Ansatz. Die Ergebnisse der Registrierung sind in den Abbildungen 5.1 und 5.2 dargestellt. Die Laufzeiten auf dem in Kapitel 4 genannten Testsystem sind v.l.n.r.: 8 s, 4 s, 1 min.

Bisher sind bei der Dichteschätzung für die Testbilder alle 699 Zellkernpositionen, die sowohl für das Referenz- wie das Templatebild vorliegen, miteinbezogen worden. Außerdem entsprechen die Zellkernpositionen des Templatebildes exakt den transformierten Zellkernpositionen des Referenzbildes. Das sind aus mehreren Gründen keine realistischen Annahmen: Erstens haben die Zellkerne eine beschränkte Größe und sind unter Umständen nur in einer Schicht zu sehen. Zweitens erreichen weder die manuelle noch die automatische Zellkernerkennung einen solchen Grad an Genauigkeit. Die Positionsbestimmung ist immer mit Ungenauigkeiten behaftet bzw. liegen die individuell geformten Zellkerne in den beiden Schnittbildern wirklich an anderen Stellen vor.

Aus den genannten Gründen soll im Folgenden die dichte-basierte Registrierung mit einem realistischeren Modell der Testbilder evaluiert werden. Dazu reduzieren wir in einem Versuch schrittweise die Anzahl der detektierten Zellkernpositionen und vergleichen das Ergebnis der neuen Registrierung mit der Referenztransformation aus den bisherigen Ergebnissen. Zusätzlich wird die Position der Zellkerne um eine bestimmte Länge β in eine zufällige Richtung verschoben, um auch die Ungenauigkeiten bei der Positionsbestimmung simulieren zu können. In den Testbildern hat ein Zellkern, angenommen die Einheit wäre Millimeter, etwa einen Durchmesser von 0.01 mm. Eine sinnvolle Störung bei der Positionsbestimmung sollte daher etwa $\beta = 0.005$ mm nicht überschreiten, da wir an dieser Stelle keine falsch positive Detektion eines Zellkerns simulieren wollen. Weiterhin möchten wir an ein Verfahren zur Zellkernbestimmung die Prämisse richten, dass mindestens die Hälfte der Zellkerne erkannt werden.

In Abbildung 5.5 ist das Ergebnis des Versuchs für den parametrischen und nicht-parametrischen Fall dargestellt. Der Abbildung ist zu entnehmen, wie sich der über das Bild gemittelte relative Fehler $\|u(x) - u_{\text{ref}}(x)\|/\|u(x)\|$ des Deformationsfeldes abhängig von dem Anteil der gewählten Zellkerne und der Verschiebung jedes Zellkerns um β in eine beliebige Richtung verändert. An dieser Stelle wird auch das

Ergebnis der parametrischen Registrierung als Deformation aufgefasst, um den beschriebenen Fehler bestimmen zu können. Dabei verhält sich die affine, dichte-basierte Registrierung diesen Störungen gegenüber sehr robust. Selbst für grobe Verschiebungen der Zellkerne und beim Verzicht auf die Hälfte der Kerne ist die relative Abweichung nicht größer als 5 Prozent. Bezogen auf die durchschnittliche, parametrische Verschiebung im Bild von etwa 0.16 mm entspricht das einem absoluten Fehler von weniger als 0.008 mm. Bei der nicht-parametrischen Registrierung liegt der absolute Fehler etwa im gleichen Bereich, fällt aber beim relativen Fehler sehr viel mehr ins Gewicht, da die nicht-parametrische Deformation mit einer durchschnittlichen Verschiebung um etwa 0.01 mm sehr viel kleiner ist. In Abbildung 5.6 ist das gesamte Ergebnis der Registrierung für den schwierigsten Testfall dargestellt.

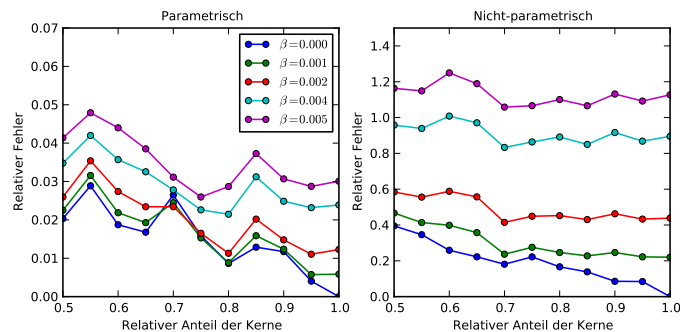


Abbildung 5.5: Durchschnittlicher relativer Fehler der Verschiebung jedes Gitterpunktes für die parametrische und nicht-parametrische Registrierung in Abhängigkeit von der Anzahl der genutzten Zellkerne und der Variation der Zellkernposition um β in eine beliebige Richtung.

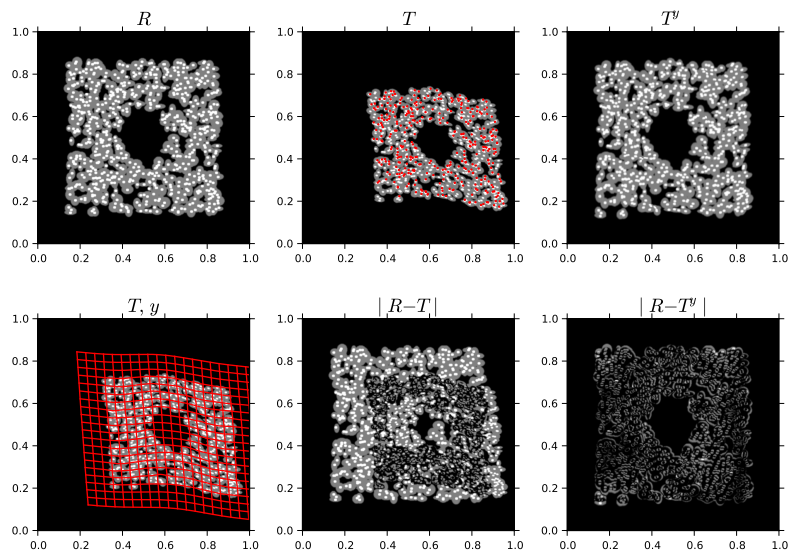


Abbildung 5.6: Robustes Ergebnis der dichte-basierten Registrierung für das gestörte Templabild, bei dem 50% der Zellkerne unerkannt bleiben und die Zellkernpositionen um 0.005 mm variieren. In T sind die gestörten X^T rot eingezeichnet. Die Registrierungsparameter entsprechen denen aus Abbildung 5.2.

5.2 Histologische Schnittbilder

Die Aussagekraft der Ergebnisse für die Testbilder bleibt trotz der Versuche unter realistischeren Annahmen begrenzt. Daher wird im Folgenden die dichte-basierte Registrierung auf die im Kapitel zum medizinischen Hintergrund beschriebenen Bilddaten angewendet. Im Detail werden die ersten beiden histologischen Schnittbilder des Lungentumors, welche zwei unterschiedliche Färbungen (CD31, HE) aufweisen, verwendet. In Abbildung 5.7 sind die beiden Schnitte als Grauwertbilder (Helligkeits-Methode, Inversion nach Abschnitt 2.1) dargestellt. Das Referenzbild weist eine CD31-Färbung auf, das Templatebild eine HE-Färbung.

Zur Bestimmung der Zellkerne wurde die Software HistoCAD verwendet, welche von André Homeyer vom Fraunhofer MEVIS entwickelt worden ist und dazu dient, histologische Schnittbilder zu analysieren und auf Basis bestimmter Gewebeeigenschaften zu klassifizieren [33]. Die Gewebeklassifikation ist in HistoCAD über eine überwachte Lernmethode realisiert worden, sodass der Nutzer zunächst Gewebe und Gewebsbestandteile wie Zellkerne markieren muss, bevor eine automatische Klassifikation des restlichen Gewebes erfolgen kann. Die Merkmale, die zur Klassifikation genutzt werden, umfassen in erster Linie Intensitätswerte der markierten Pixel und die Eigenschaften ihrer Nachbarschaft (Local Binary Patterns). Für weitere Details des Lernverfahrens sei an dieser Stelle auf [33] verwiesen. Nachdem die Zellkerne segmentiert worden sind, werden diese in der Regel als Ellipsen modelliert und ihr Mittelpunkt als Zellkernposition gesichert [12].

Auf diese Weise sind für das Referenzbild 744128 Zellkernpositionen und für das Templatebild entsprechend 620875 Zellkernpositionen bestimmt worden. In Abbildung 5.7 sind die zu den Bildern geschätzten Zellkerndichten ρ^R und ρ^T mit einem Glättungsparameter von $h = 0.25$ dargestellt. Diese zeigen trotz der relativ großen Abweichung bei der Anzahl der Zellkerne eine vergleichbare Struktur.

Das Ergebnis der parametrischen, dichte-basierten Registrierung der beiden histologischen Schnittbilder ist in Abbildung 5.8 zu sehen. Obwohl die Intensitätswerte nicht direkt vergleichbar sind, liefert die Betragsdifferenz der beiden Bilder in dieser groben Auflösung eine gute, erste Vergleichsmöglichkeit, bei der zumindest zu sehen ist, ob die Strukturen mit Intensitätswerten größer als Null übereinander liegen. Das ist nach der Transformation des Templatebildes eindeutig gegeben. Die Registrierung wurde schrittweise für die Glättungsparameter 2, 1, 0.5, 0.25, 0.1 und 0.05 ausgeführt. Der dazugehörige Verlauf der Zielfunktion ist in Abbildung 5.9 dargestellt.

5.2 Histologische Schnittbilder

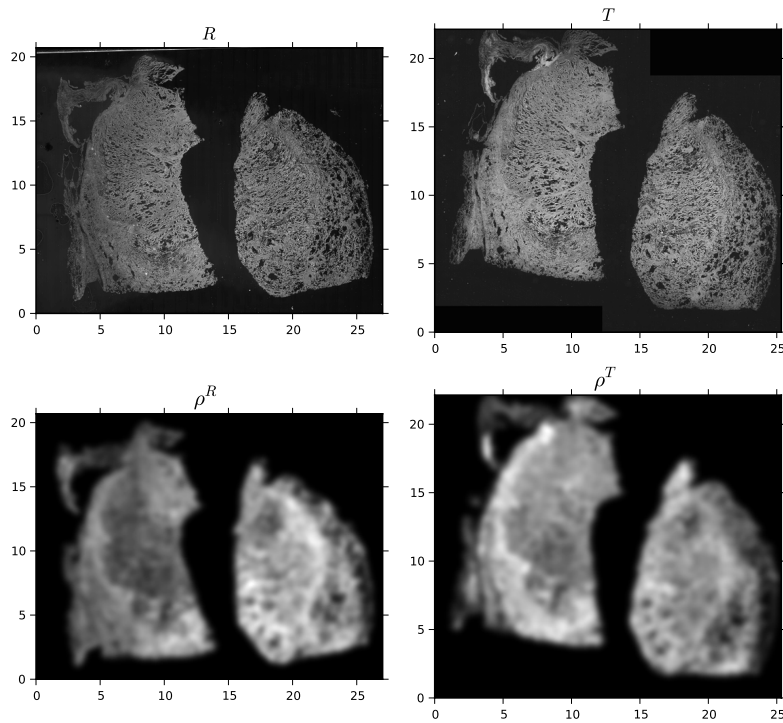


Abbildung 5.7: Benachbarte histologische Schnittbilder R und T eines Lungentumors mit den ihren geschätzten Zellkerndichten ρ^R und ρ^T ($h = 0.25$). Einheit der Achsen: mm.

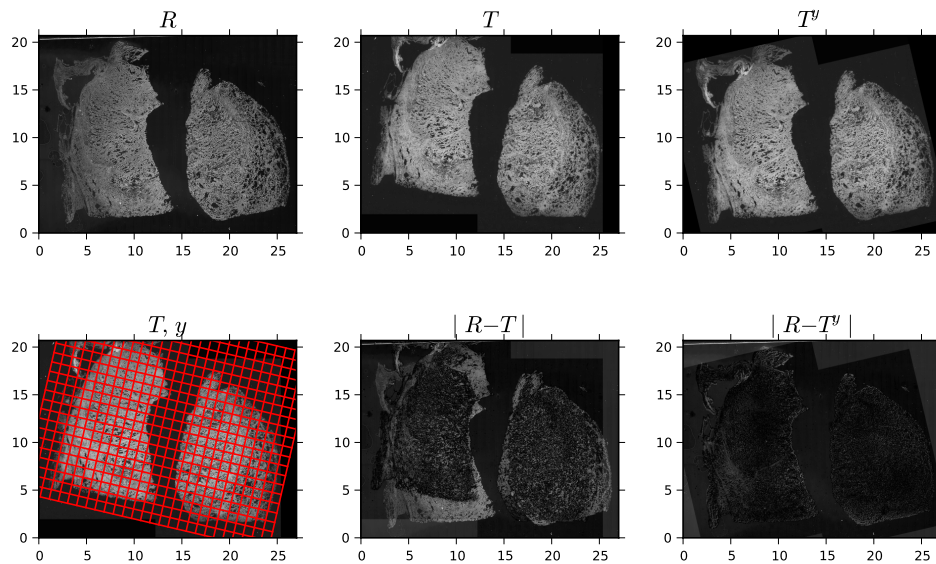


Abbildung 5.8: Ergebnis der parametrischen, dichtebasierten Registrierung mit dem Distanzmaß $D_{SSD}^{\rho, L}$ und den Glättungsparametern 2, 1, 0.5, 0.25, 0.1 und 0.05 für den Multiskalen-Ansatz. Einheit der Achsen: mm.

5 Ergebnisse der dichte-basierten Registrierung

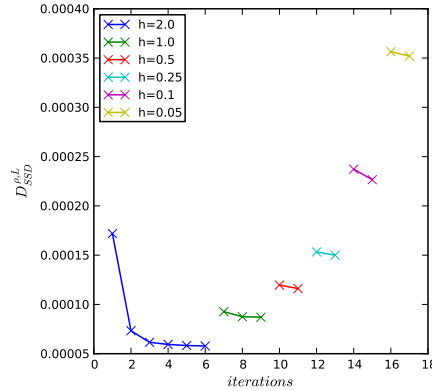


Abbildung 5.9: Iterationsverlauf der Zielfunktionen für die parametrische, dichte-basierte Registrierung mit Multiskalen-Ansatz. Das Ergebnis der Registrierung ist in Abbildung 5.8 dargestellt. Die Laufzeit auf dem in Kapitel 4 genannten Testsystem beträgt etwa 2 Minuten.

Um genauere Aussagen über die Qualität des Ergebnisses treffen zu können, soll im Folgenden die Hausdorff-Distanz eines in beiden Bildern korrespondierenden Hohlräume, der manuell durch das Setzen diskreter Punkte entlang des Randes segmentiert worden ist, gemessen werden. Die Hausdorff-Distanz zweier Punktemengen $A = \{a_1, \dots, a_N\}$ und $B = \{b_1, \dots, b_N\}$ ist nach [13] definiert als

$$h_d(A, B) = \max\left\{\max_{a \in A} \min_{b \in B} \|a - b\|, \max_{b \in B} \min_{a \in A} \|b - a\|\right\}.$$

Die Hausdorff-Distanz stellt eine Näherung des maximalen Abstands der markierten Konturen dar und kann als maximaler Fehler des Registrierungsergebnisses in Bezug auf die markierte Struktur interpretiert werden [22]. Zusätzlich wird der symmetrische mittlere Konturabstand

$$m_d(A, B) = \frac{1}{2N} \sum_{i=1}^N \min_{b \in B} \|a_i - b\| + \frac{1}{2M} \sum_{i=1}^M \min_{a \in A} \|b_i - a\|$$

nach [8] angegeben, da dieser nicht so anfällig auf Fehler bei der Konturbestimmung reagiert und dem gesamten Registrierungsergebnis auch gerecht wird, wenn Bildartefakte auftreten, welche die Registrierung stark lokal beeinflussen. Insgesamt ergibt sich durch die Kombination beider Maße eine gute Quantifizierung des visuellen Konturvergleichs.

In Abbildung 5.10 wird das Referenzbild dem affin transformierten Templatebild gegenübergestellt. Von beiden Bildern ist jeweils der Bereich $\Omega_p = [7.78, 8.72] \times [8.22, 9.16]$ im Detail extrahiert worden. Dieser enthält die Kontur des segmentierten Hohlräume und alle erkannten Zellkerne, aus denen die nebenstehende Dichte geschätzt worden ist ($h = 0.05$). Die Ähnlichkeit der beiden Detailansichten lässt bereits auf ein gutes Registrierungsergebnis schließen. Genauer kann das Ergebnis der Registrierung in Abbildung 5.11 beurteilt werden, denn dort sind die transformierten Hohlräumekonturen des Templatebildes dem Referenzbild R mit der entsprechenden

Referenzkontur überlagert. Der Abstand der Konturen ist nebenstehend mit der Hausdorff-Distanz und dem symmetrischen mittleren Konturabstand für die einzelnen Stufen des Multiskalen-Ansatzes quantifiziert worden. Vor der Registrierung hatten die Konturen die Abstände $m_d = 2555 \mu\text{m}$ und $h_d = 2734 \mu\text{m}$, nach der Registrierung lediglich noch $m_d = 7 \mu\text{m}$ bzw. $h_d = 21 \mu\text{m}$.

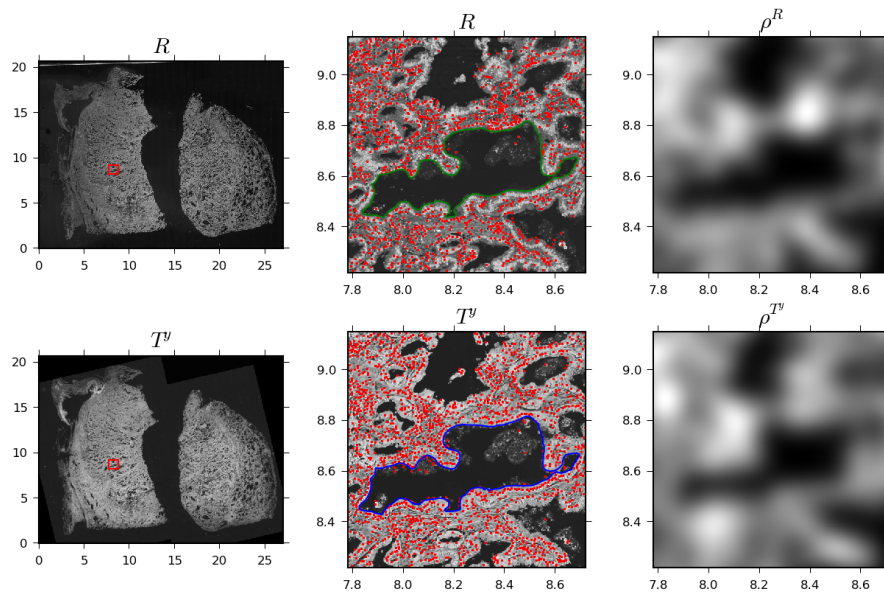


Abbildung 5.10: Referenzbild R und affin transformiertes Templatebild T mit Detailansicht des Bereichs $\Omega_p = [7.78, 8.72] \times [8.22, 9.16]$. In beiden Bildern sind der markierte Hohlraum und die detektierten Zellkernpositionen zu sehen. Für die Detailansicht beider Bilder ist zusätzlich jeweils die Dichte mit $h = 0.05$ geschätzt worden. Einheit der Achsen: mm.

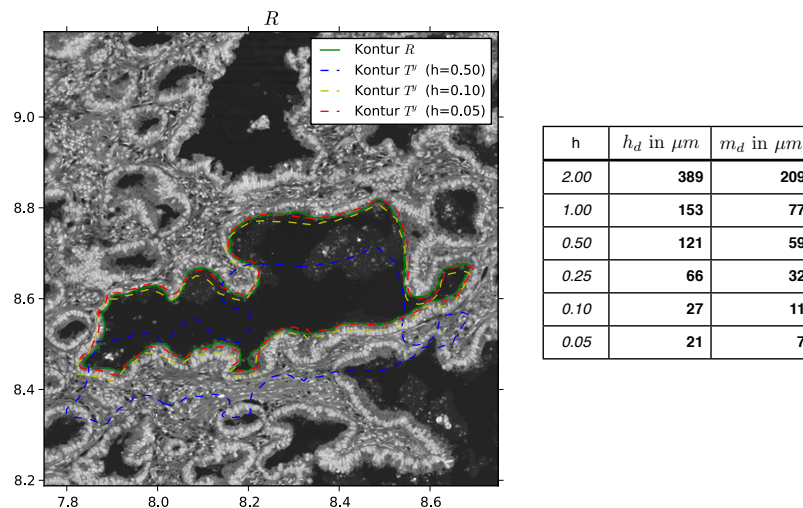


Abbildung 5.11: Referenzbild R mit der Referenzkontur des Hohlraums (grün). Zusätzlich sind die Konturen des transformierten Templatebildes für unterschiedliche Stufen des Multiskalen-Ansatzes eingezeichnet. In der nebenstehenden Tabelle kann die Hausdorff-Distanz h_d und der symmetrische mittlere Konturabstand m_d passend zum jeweiligen h abgelesen werden. Einheit der Achsen: mm.

5 Ergebnisse der dichtebasierten Registrierung

Ausgehend vom guten Ergebnis der parametrischen Registrierung ist in einem finalen Schritt eine elastische, dichtebasierte Registrierung auf die Detailansicht des Referenz- und Templatebildes angewendet worden. Das Ergebnis ist in Abbildung 5.12 in der Schachbrettdarstellung von R und dem deformierten T^y mit den entsprechenden Konturen zu sehen. Sowohl die Übergänge zwischen den Kacheln der beiden Bilder als auch die Konturen zeigen insgesamt ein gutes Ergebnis. Allerdings konnte der Abstand von der Kontur des Templates zur Referenzkontur mit der nicht-parametrischen Registrierung nur unwesentlich verbessert werden ($m_d = 7.1 \mu\text{m}$ statt $m_d = 7.2 \mu\text{m}$, h_d konstant). Das liegt auf der einen Seite an der guten Übereinstimmung, die sich bereits nach der parametrischen Registrierung eingestellt hat, auf der anderen Seite an der teils ungenauen Zellkernbestimmung, bei der eine Reihe von Zellkernen am Rand des Hohlraums ungenau oder gar nicht detektiert worden sind (siehe Abbildung 5.10). Aber selbst bei exakter Bestimmung der Zellkernpositionen gibt es Bereiche im Bild, in denen sich keine oder nur sehr wenige Zellkerne befinden. Das heißt, dass sich gerade bei der nicht-linearen Registrierung, mit der die lokalen Deformationen bestimmt werden sollen, Bildbereiche ohne Zellkerne dem Einfluss der dichtebasierten Distanz entziehen.

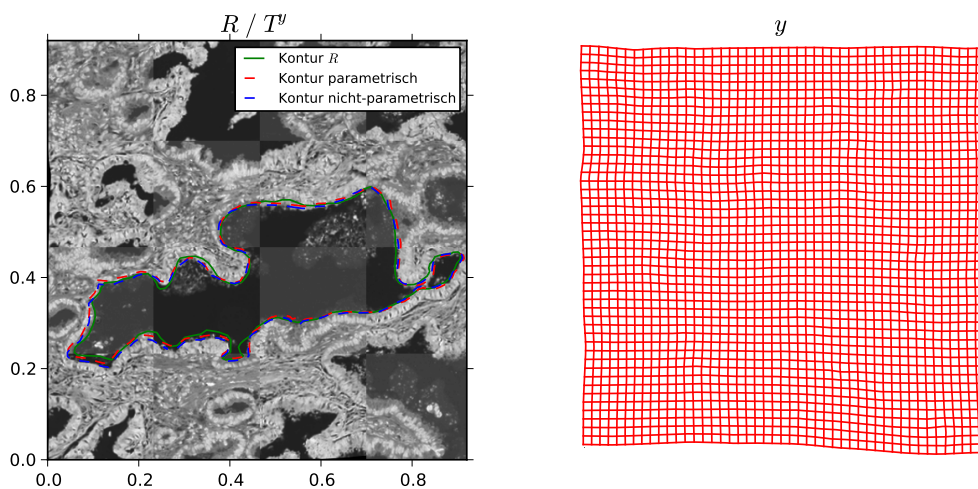


Abbildung 5.12: Schachbrettdarstellung des Referenzbildes R und des deformierten Templatebildes T^y nach der nicht-parametrischen Registrierung (Glättungsparameter: 0.02, 0.01, Regularisierungsparameter: 0.00005). Überlagert sind den Bildern die Konturen des Hohlraums für R und T^y nach parametrischer bzw. nicht-parametrischer Registrierung. Zusätzlich ist das deformierte Gitter y der nicht-parametrischen Registrierung dargestellt. Einheit der Achsen: mm.

6 Fazit und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit ist die anfängliche Idee, zwei benachbarte, histologische Schnittbilder auf Grundlage ihrer Zellkerndichten miteinander zu registrieren, umgesetzt worden. Dazu wurden zunächst die Zellkerndichten mit Hilfe der Parzen-Fenster-Methode aus den Zellkernpositionen von Referenz- und Templatebild modelliert. Die Distanz der Dichten wurde über die Sum of Squared Differences bestimmt, indem die Dichteschätzung des jeweiligen Bildes an die Stelle der kontinuierlichen Bilder getreten ist. Um die dichte-basierte Registrierung zu ermöglichen, wurde dann das SSD Distanzmaß zweier Dichten mit seinen Ableitungen in das in Kapitel 3 vorgestellte Verfahren zur intensitätsbasierten Bildregistrierung integriert.

Zur Bestimmung des dichte-basierten SSD Distanzmaßes wurden in Kapitel 4 zwei unterschiedliche Ansätze vorgestellt. Ein Ansatz beschreibt die diskrete Distanz $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$, welche genau der diskreten Distanz D_{SSD}^L der Grauwertbilder entspricht. Statt der Grauwertbilder werden lediglich die an den Gitterpunkten geschätzten Dichten für das Referenz- und das Templatebild in das Distanzmaß eingesetzt. Für einen weiteren Ansatz konnte gezeigt werden, dass die SSD Distanz D_{SSD}^{ρ} , wenn die Gauss-Basisfunktion zur Dichteschätzung genutzt wird, auch analytisch bestimmt werden kann. Für diesen Ansatz wurden außerdem die erste und zweite Ableitung für den parametrischen und nicht-parametrischen Fall hergeleitet.

Von den vorgestellten Ansätzen wurde bisher $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ sowohl für die parametrische als auch die nicht-parametrische Registrierung implementiert. Dabei wurde die Dichteschätzung für diesen Ansatz in OpenCL programmiert, sodass $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ auf der Grafikkarte berechnet werden kann und sich auch eignet, um die echten histologischen Schnittbilder mit weit mehr als einer halben Million Zellkernen in einer angemessenen Zeit zu registrieren. Bei dem analytischen Ansatz wurden die Ableitungen für den parametrischen Fall in Julia implementiert und im Rahmen der Experimente in Kapitel 5 für die Testbilder evaluiert. Dort zeigte die Registrierung mittels D_{SSD}^{ρ} statt $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ das bessere Konvergenzverhalten, benötigte aber insgesamt dennoch etwa doppelt so viel Zeit.

Da sich die Ergebnisse der beiden Ansätze nicht weiter unterscheiden, wurde in dieser Arbeit zunächst das effizientere $D_{\text{SSD}}^{\rho,L}$ genauer evaluiert. Dieses kommt im nicht-parametrischen Fall außerdem ohne zusätzliche Interpolation der Ableitungen an den Gitterpunkten aus, die für D_{SSD}^{ρ} in jedem Schritt des Gauss-Newton-Verfahrens

nötig ist, um die Ableitungen, die dort zunächst nur an den Zellkernpositionen bekannt sind, auf einem Gitter zu erhalten, das mit dem elastischen Regularisierer kompatibel ist.

Den Ergebnissen der dichte-basierten Registrierung aus Kapitel 5 ist zu entnehmen, dass $D_{SSD}^{\rho,L}$ sich insgesamt gut zur Registrierung histologischer Schnittbilder eignet. Sowohl die Testbilder als auch die histologischen Schnittbilder konnten erfolgreich zueinander ausgerichtet werden. Die Güte der Registrierung konnte für beide Bilddaten nicht nur visuell überprüft, sondern auch quantifiziert werden. Zudem zeigt sich der dichte-basierte Ansatz robust bezüglich unentdeckter oder ungenau bestimmter Zellkernpositionen.

Die Robustheit ist dabei direkt mit der geeigneten Wahl des Glättungsparameters h zur Dichteschätzung verknüpft. Innerhalb des Multiskalen-Ansatzes muss eine Reihe geeigneter Glättungsparameter von groß nach klein gewählt werden, damit die dichte-basierte Registrierung ein gutes, robustes Ergebnis ausgibt. Besonders kritisch ist dabei die Wahl des kleinsten Glättungsparameters, der möglichst so gesetzt werden sollte, dass die Unsicherheiten bei der Positionsbestimmung der Zellkerne, oder fehlende Zellkerne bei der Distanzbestimmung, nicht zu sehr ins Gewicht fallen. Auf der anderen Seite sollte dieser Parameter auch nicht zu groß gewählt werden, weil dadurch die Genauigkeit des Registrierungsergebnisses abnimmt.

Auch wenn an dieser Stelle von der Robustheit des Verfahrens gegenüber Ungenauigkeiten bei der Positionsbestimmung der Zellkerne gesprochen wird, ist eine exakte, automatische Zellkernbestimmung natürlich wünschenswert. Im Rahmen der dichte-basierten Registrierung ist es daher sinnvoll sich bei zukünftigen Überlegungen auch mit unterschiedlichen Verfahren zur effektiven und genauen Zellkernerkennung zu befassen.

Eine sinnvolle Erweiterung der dichte-basierten Registrierung umfasst die effiziente Implementierung des analytischen Distanzmaßes D_{SSD}^{ρ} für den parametrischen und nicht-parametrischen Fall. Mit D_{SSD}^{ρ} kann losgelöst von der Diskretisierung die Distanz allein auf Basis der Zellkernpositionen speicherschonend und analytisch genau berechnet werden. Gegenüber $D_{SSD}^{\rho,L}$ ergibt sich der Vorteil, dass der Rechenaufwand und der Speicherbedarf unabhängig vom Glättungsparameter h sind und dieser dementsprechend auch sehr klein gewählt werden kann, ohne dass die Dichte an den vielen Punkten eines sehr feinen Gitters geschätzt werden muss.

Zur Evaluierung der dichte-basierten Distanz, gerade im Hinblick auf die maximal zu erwartende Genauigkeit, sollten zukünftige Experimente auch einen Vergleich mit intensitätsbasierten Registrierungsverfahren enthalten.

Literatur

- [1] Shaimaa Al-Janabi, André Huisman und Paul J. Van Diest. „Digital pathology: current status and future perspectives“. In: *Histopathology* 61.1 (2011), S. 1–9.
- [2] Chaim Broit. „Optimal registration of deformed images“. Diss. University of Pennsylvania, 1981.
- [3] Amalia Cifor, Li Bai und Alain Pitiot. „Smoothness-guided 3-D reconstruction of 2-D histological images“. In: *NeuroImage* 56.1 (2011), S. 197–211.
- [4] Wolfgang Demtröder. *Experimentalphysik 1. Mechanik und Wärme*. Springer Verlag, 2012.
- [5] Adam Goode u. a. „OpenSlide: A vendor-neutral software foundation for digital pathology.“ In: *Journal of Pathology Informatics* (2013).
- [6] Eldad Haber und Jan Modersitzki. „Intensity gradient based registration and fusion of multi-modal images.“ In: *Methods of Information in Medicine* 46.3 (2007), S. 292–299.
- [7] Jacques Hadamard. „Sur les problèmes aux dérivées partielles et leur signification physique“. In: *Princeton University Bulletin* 13 (1902), S. 49–52.
- [8] Heinz Handels. *Medizinische Bildverarbeitung*. Vieweg und Teubner. 2009.
- [9] Cyrus V. Hedvat. „Digital Microscopy: Past, Present, and Future“. In: *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* (2010).
- [10] Thomas Heinzeller und Carl M. Büsing. *Histologie, Histopathologie und Zytologie für den Einstieg*. Georg Thieme Verlag, 2001.
- [11] Stefan Heldmann. *Non-Linear Registration Based on Mutual Information*. Logos Verlag, 2007.
- [12] Jenni Hukkanen. „Segmentation of cell nuclei from histological images by ellipse fitting“. In: *Proceedings of European Signal Processing Conference* (2010).
- [13] Daniel P. Huttenlocher. „Comparing images using the Hausdorff distance“. In: *Pattern Analysis and Machine Intelligence* 15.9 (1993), S. 850–863.
- [14] Kumiko Isse u. a. „Digital transplantation pathology: combining whole slide imaging, multiplex staining and automated image analysis.“ In: *American Journal of Transplantation* 12.1 (2012), S. 27–37.

- [15] Stefan Karpinski u. a. „Julia: A Fast Dynamic Language for Technical Computing“. In: *Computing Research Repository* (2012).
- [16] Hansjorg Kielhofer. *Variationsrechnung*. Eine Einführung in die Theorie einer unabhängigen Variablen mit Beispielen und Aufgaben. Wiesbaden: Springer Verlag, 2010.
- [17] Kristian Kroschel, Gerhard Rigoll und Björn Schuller. *Statistische Informationstechnik*. Springer Science & Business Media, 2011.
- [18] Jens-Peer Kuska, Ulf-Dietrich Braumann und Nico Scherf. „Image registration of differently stained histological sections“. In: *Proceedings of the IEEE International Conference on Image Processing* (2006), S. 333–336.
- [19] Peter Leskowsky. „Point-based registration of high-resolution histological slices for navigation purposes in virtual microscopy“. In: *Annals of the BMVA* 2012.10 (2012), S. 1–18.
- [20] Cyrus Levinthal und Randle Ware. „Three dimensional reconstruction from serial sections“. In: *Nature* 236 (1972), S. 207–210.
- [21] Giuseppe Lippolis u. a. „Automatic registration of multi-modal microscopy images for integrative analysis of prostate tissue sections.“ In: *BMC Cancer* 13.1 (2013), S. 408.
- [22] Johannes Lotz u. a. „Zooming in: High Resolution 3D Reconstruction of Differently Stained Histological Whole Slide Images“. In: *SPIE Medical Imaging* (2014).
- [23] Jan Modersitzki. *FAIR*. Flexible Algorithms for Image Registration. SIAM, 2009.
- [24] Jan Modersitzki. *Numerical Methods for Image Registration*. Oxford University Press, 2004.
- [25] Jorge Nocedal und Stephen J. Wright. *Numerical Optimization*. Second Edition. Springer Verlag, 2006.
- [26] Maristela L. Onozato, Veronica E. Klepeis und Yukako Yagi. „A role of three-dimensional (3D)-reconstruction in the classification of lung adenocarcinoma“. In: *Analytical Cellular Pathology* 35.2 (2012), S. 79–84.
- [27] Maristela L. Onozato und Alexandra E. Kovach. „Tumor Islands in Resected Early Stage Lung Adenocarcinomas Are Associated with Unique Clinicopathological and Molecular Characteristics and Worse Prognosis“. In: *The American Journal of Surgical Pathology* 37.2 (2013), S. 287–294.
- [28] Liron Pantanowitz und Paul N. Valenstein. „Review of the current state of whole slide imaging in pathology.“ In: *Journal of Pathology Informatics* (2011).

-
- [29] Liron Pantanowitz u. a. „Validating Whole Slide Imaging for Diagnostic Purposes in Pathology: Guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center.“ In: *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* (2013).
- [30] Nicholas Roberts u. a. „Toward routine use of 3D histopathology as a research tool.“ In: *The American Journal of Pathology* 180.5 (2012), S. 1835–1842.
- [31] Oliver Schmitt u. a. „Image Registration of Sectioned Brains“. In: *International Journal of Computer Vision* 73.1 (2007), S. 5–39.
- [32] Michael Schwier u. a. „Registration of histological whole slide images guided by vessel structures.“ In: *Journal of Pathology Informatics* (2013).
- [33] Lisa Senger. „Automatic Classification of Morphological Patterns in Lung Tumor Tissue“. Magisterarb. 2011.
- [34] Rushin Shojaii und Tigran Karavardanyan. „Validation of histology image registration“. In: *SPIE Medical Imaging* 7962 (2011).
- [35] Bernard W. Silverman. *Density Estimation for Statistics and Data Analysis*. CRC Press, 1986.
- [36] Yi Song u. a. „3D reconstruction of multiple stained histology images.“ In: *Journal of Pathology Informatics* (2013).
- [37] Carlos Thomas. *Histopathologie: Lehrbuch und Atlas zur Befunderhebung und Differenzialdiagnostik*. Schattauer Verlag, 2006.
- [38] Yanghai Tsin und Takeo Kanade. „A correlation-based approach to robust point set registration“. In: *European Conference on Computer Vision* (2004).
- [39] Paul Alfred Viola. *Alignment by Maximization of Mutual Information*. Massachusetts Institute of Technology, 1995.
- [40] Ulrich Welsch und Thomas Deller. *Lehrbuch Histologie*. Elsevier, Urban & Fischer Verlag, 2011.