

Photorealistische Generierung histologischer und histopathologischer Schnittpräparate

Frank Weichert¹, Roland Linder², Constantin A. Landes³,
Andreas Groh⁴, Robin Wunderlich¹ und Mathias Wagner⁵

¹ Lehrstuhl Informatik VII, Universität Dortmund

² Institut für Medizinische Informatik, Universität zu Lübeck

³ Klinik und Poliklinik für Kiefer- und Plastische Chirurgie,
Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität zu Frankfurt am Main

⁴ Institut für Angewandte Mathematik, Universität des Saarlandes

⁵ Institut für Allgemeine und Spezielle Pathologie, Universität des Saarlandes
Email: frank.weichert@udo.edu

Zusammenfassung. Die diagnostische Beurteilung von Gewebe und Zellpräparationen ist ein Schwerpunkt der modernen Pathologie. Sie dient der klinischen Diagnostik und Therapieplanung. In Anbetracht der Komplexität aktueller Fragestellungen und dem zunehmenden Einfluss der Informationsverarbeitung besteht vermehrt die Notwendigkeit, histologische Schnittpräparate virtuell im Rechner zu erstellen. Diese Generierung synthetischer Schnittbilder anhand realer Muster ist der zentrale Aspekt dieser Arbeit. Ausgehend von segmentierten Schnittpräparaten wird mit Methoden der Textursynthese und des Digital-Compositing ein synthetisches histologisches Schnittpräparat im Rechner generiert. Neben dem primären Einsatz als Visualisierungsinstrument für Simulationsszenarien sind Einsatzmöglichkeiten im e-Learning Kontext oder als virtueller Histologieatlas gegeben.

1 Problemstellung

Das Fachgebiet der Pathologie und Pathologischen Anatomie gilt als Qualitätskontrolle klinischer Medizin. Der Schwerpunkt der Krankenversorgung in der Pathologie geschieht mithilfe des Mikroskops und besteht in der diagnostischen Beurteilung von Geweben (Histologie) und Zellpräparationen (Zytologie) [1]. Die Untersuchungen erfolgen in enger Zusammenarbeit mit den Einsendern der Proben und sind wichtiger Bestandteil der klinischen Diagnostik und Therapieplanung.

Die hierfür notwendige Präparation umfasst mehrere, in wechselndem Ausmaß standardisierte Teilschritte. Unmittelbar nach der Zell- oder Gewebeentnahme setzt die Autolyse beziehungsweise Heterolyse ein. Wird das Material nicht sofort bearbeitet, muss es fixiert werden, wodurch die Zersetzung aufgehalten werden kann. Ausgangsbasis für die im Folgenden vorgestellte Arbeit ist Gewebe, das in dem am weitesten verbreiteten Fixierungsmittel, einer verdünnten und gepufferten Formaldehydlösung, aufbewahrt wurde. Durch Auswaschen wird

das Gewebe von der wässrigen Fixierungsmittellösung befreit und anschließend in heißem Paraffinwachs getränkt, das bei Abkühlung erstarrt. Dies geschieht, damit anschließend 2-7 μm dicke Schnittpräparate von dem Gewebe hergestellt werden können. Zum Anfertigen dieser Präparate werden Rotations- oder Schlittenmikrotome verwendet, die aus einer Haltevorrichtung bestehen, in die das Blöckchen eingespannt und mit einem Messer entsprechend der voreingestellten Schnittdicke geschnitten wird. Nachfolgend werden die Schnittpräparate auf gläserne Objektträger aufgezogen, im Brutschrank getrocknet und anschließend in Xylol entparaffiniert. Durch eine so genannte absteigende Alkoholreihe werden sie wieder in ein wässriges Milieu überführt und schließlich in verschiedenen Lösungen gefärbt. In Abhängigkeit von den jeweiligen Färbeprotokollen lässt man die Schnitte sofort trocknen oder bringt sie durch eine so genannte aufsteigende Alkoholreihe bis ins Xylol und deckt sie dann ein. Durch Farbunterschiede werden je nach Färbung unterschiedliche Strukturen zur Darstellung gebracht. In der Hämatoxilin-Eosin Färbung (HE Färbung) zum Beispiel zeigen sich Zellkerne blau und Cytoplasmata rot.

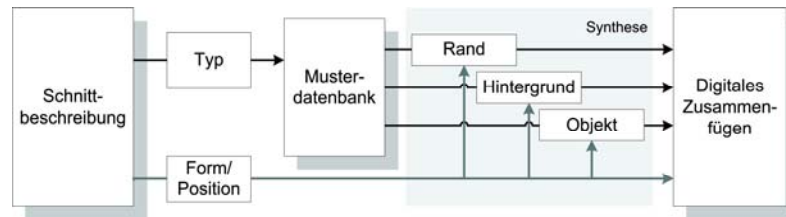
Um entsprechende Färbeergebnisse mit den Methoden der digitalen Bildverarbeitung künstlich nachstellen zu können, bedarf es einer geeigneten mathematischen Repräsentation, die in der Lage ist, Bilder entsprechend den subjektiven Anforderungen an eine fotorealistische Visualisierung zu generieren. Vergleichbare systembiologische Herangehensweisen, wie das Cell Assembly Kit [2] oder die Systems Biology Markup Language [3], verbinden die Komponenten auf funktionelle Art, wobei die Elemente ohne exakte Definition einer Geometrie des entsprechenden Kompartiments zugeordnet werden.

Da diese funktionsbezogene Ausrichtung stark von der Nutzung als Modellierungssprache für Simulationen geprägt ist, stellen diese Sprachen bislang keine fotorealistischen morphologischen Formen oder Strukturen zur Verfügung. Das für diese Arbeit entwickelte Konzept hingegen legt den Schwerpunkt auf die Geometrie der Objekte und dessen fotorealistische Visualisierung.

2 Methoden

Initialer Schritt ist die Digitalisierung realer histologischer Schnittpräparate sowie deren nachfolgende manuelle Segmentierung. Der Grundtenor des Syntheseprozesses besteht darin, die morphologischen Strukturen eines aus einer Klasse von Objekthintergründen ausgewählten Musterelements auf eine vorgegebene morphologische Form zu übertragen (s. Abb. 1). Dabei unterscheidet sich das Musterobjekt bezüglich Form, Größe und Topologie von dem zu erzeugenden Zielobjekt. Die Vorgabe, was synthetisiert werden soll, erfolgt beispielsweise über eine textuelle Beschreibung. Das Syntheseverfahren kann prinzipiell als filterbasiertes Analyse- und Syntheseverfahren beschrieben werden. Einzelne Bilddaten werden auf einer definierten Anzahl von Auflösungsstufen, die als Skalenräume oder Teilbänder (sub-bands) bezeichnet werden, deskribiert. Die Auflösung der einzelnen Stufen wird dabei durch Filterung kontinuierlich dekrementiert, sodass die Teilbänder auch als Ebenen in einer Pyramide betrachtet werden können. Die

Abb. 1. Erzeugung der Komponenten innerhalb der Bildsynthese



Zerlegung in die Teilbänder wird per Faltung mit verschiedenen Filterkernen innerhalb eines rekursiven Schemas vorgenommen. Der hier verwendete Algorithmus zur Umsetzung dieses Analyse/Synthese-Prozesses beruht auf einem an die gegebene Problematik adaptierten Ansatz von Heeger und Bergen, der steuerbare Pyramiden (steerable Pyramid) nutzt, um die Eingabetexturen in Teilbänder verschiedener Orientierung und Auflösung zu zerlegen [4].

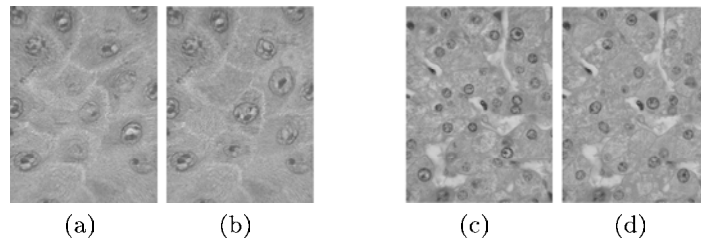
Mit dem Zerlegungsschema der steuerbaren Pyramide wird initial eine Analysepyramide der Mustertextur erzeugt. Stereotyp zu diesem Schema wird auch die Synthesepyramide der gewünschten Zielgröße generiert und zunächst mit gleichverteiltem Rauschen aufgebaut. Das Ziel ist es nun, die Synthesepyramide so zu verändern, dass sie auf allen Teilbändern dieselbe Grauwertverteilung wie die Analysepyramide aufweist. Diese Übertragung der Histogramme der einzelnen Bänder der Analysepyramide auf die korrespondierenden Bänder der Synthesepyramide erfolgt in einem iterativen Prozess. Gemäß dieser Ausführung ist es ersichtlich, dass die Anzahl der Bänder der steuerbaren Pyramide mit der Qualität des synthetisierten Histoschnitts korreliert. Die Umkehrung der Zerlegung, das Kollabieren der Pyramide, findet dabei im nachfolgenden Prozess statt und erzeugt die Zieltextur. Räumliche Abhängigkeiten der Strukturen werden dabei durch die pyramidale Zerlegung an sich induziert. In der bisher beschriebenen Form vermag der Ansatz nur Graustufenbilder zu synthetisieren. Die Behandlung von Farbtexturen wird aber durch mehrfache Anwendung des Algorithmus auf die einzelnen Farbkanäle erreicht, die aber keineswegs unabhängig voneinander sind. Sollen Fehlfarben vermieden werden, ist eine De- und Rekorrelation der Farbkanäle vorzunehmen. Es verbleibt, die Zielstruktur in seiner Gesamtheit zu erzeugen. Hierzu werden die Einzelkomponenten, unter Beachtung der hierarchischen Staffelung - Gewährleistung von Sichtbarkeit und Verdeckung - mit Methoden des Digital Composing zusammengefügt [5].

Die synthetisierten morphologischen Strukturen werden mithilfe der Multi-resolution Spline Methode nach Burt und Adelson in die vorgegebene morphologische Zielform eingepasst [5]. Das "Zuschneiden" auf die endgültige Form erfolgt durch entsprechende Blendmasken.

3 Ergebnisse

In Blindversuchen, bei denen reale gegenüber künstlichen Texturen quantitativ miteinander verglichen wurden (s. Abb. 2), zeigte sich hinsichtlich der Stati-

Abb. 2. Gegenüberstellungen zwischen einem realen histologischen Schnittpräparat und seinem synthetischen Analogon am Beispiel von suprabasalen Keratinozyten ((a) real, (b) synthetisch) und Hepatozyten ((c) real, (d) synthetisch). Die Cytoplasmata der zentral gelegenen Zellen sind synthetisch. Als interne Kontrolle wurden die Cytoplasmata randständiger Zellen im Originalzustand belassen.



stik erster und zweiter Ordnung kein nennenswerter Unterschied zwischen den jeweiligen Texturmerkmalen der virtuellen und realen morphologischen Strukturen (s. Tab. 1)[6]. Für das Rendering über steuerbare Pyramiden galt, dass sich die Texturmerkmale der Statistik zweiter Ordnung für virtuelle morphologische Strukturen bei sukzessiver Erhöhung der Iterationsschritte an die realen Texturen approximierten. Zudem kann der hohe Grad an Übereinstimmung zwischen den Histogrammverläufen, der Luminanz und der Sättigung zwischen allen Bildern einer Klasse sowie für die virtuellen histologischen Schnittpräparate und ihre realen Vorbilder dahingehend interpretiert werden, dass auch die Ergebnisse der textuellen Statistiken als zumindest vorläufige Bestätigung des visuellen Eindrucks der Plausibilität dienen können.

4 Diskussion

Obwohl die Synthesergebnisse augenscheinlich tatsächlich fotorealistisch wirkten, gestaltete sich eine objektive Bewertung anhand von Kenngrößen schwierig, da im Rahmen der Herstellung künstlicher Texturen kein bereits existierendes identisches Originalbild zur Verfügung steht, sondern neue Repräsentanten einer Klasse erzeugt wurden. Durch statistische Texturanalyseverfahren konnten die variierenden Texturmuster zwar analysiert und Texturmerkmale beschrieben werden, doch war ein Vergleich der numerisch abgefassten Messergebnisse zwischen den virtuellen Texturen und ihren realen Vorbildern aufgrund der subjektiven Komponente einer jeden Bildbeurteilung nur bedingt aussagekräftig.

Für regionale, zelluläre Strukturen, wie z.B. das Cytoplasma erwies sich der aufgezeigte Ansatz als tragbar. Hingegen waren die Ergebnisse beim Rendering von Zell- oder Kernmembranen nur bedingt zufriedenstellend. Diese aber spielen eine exponierte Rolle in zahlreichen Fragestellungen, die unter anderem mit dem Immunsystem assoziiert sind. Somit ist der hier beschriebene Ansatz für eine morphologiebetonte Implementierung, beispielsweise eines virtuellen Immunsystems, nur ansatzweise geeignet. Das oben beschriebene Syntheseverfahren wird für jede Zelle unabhängig von ihren Nachbarzellen eingesetzt. So kann es lokal zu

Tabelle 1. Statistische Texturmerkmale (normiert nach dem Merkmalsmaximum).

	Keratinozyt		Hepatozyt	
	real	synthetisch	real	synthetisch
Entropy	0,994	1,0	0,995	1,0
Kontrast	0,921	1,0	0,854	1,0
Durchschnitt	1,0	0,994	0,986	1,0
Standard-Abweichung	0,977	1,0	1,0	0,93
Homogenität	1,0	0,996	0,983	1,0
Energie	1,0	0,993	0,934	1,0

unrealistischen Kontrastunterschieden bei angrenzenden Membranen kommen. Da aber gerade der subjektive visuelle Eindruck für eine photorealistische Darstellung unabdinglich ist, muss hier weitere Arbeit geleistet werden. Eine denkbare Lösung des Problems wäre, bei der Konstruktion der Objekte, die künftigen Zellnachbarschaften miteinzubeziehen. Auch eine nachträgliche Identifizierung stark divergierender Randbereiche und deren erneute Überblendung kann eine Qualitätssteigerung bewirken. Um den Einfluß unterschiedlicher Färbungen, Zell- und Gewebetypen auf intra- und interindividuelle Schwankungen in der Visualisierung zu untersuchen, besteht ein weiter Ansatz im Einsatz multivariater Analysemethoden, bevorzugt künstliche neuronale Netzwerke, welche auf einfache Art auch nicht-lineare Abhängigkeiten berücksichtigen [7].

Literaturverzeichnis

1. Riede UE, Schaefer HE. Allgemeine und spezielle Pathologie, 4. Aufl. Georg Thieme-Verlag, Stuttgart; 1995.
2. Webb K, White T. UML as a Cell and Biochemistry Modeling Language. Carleton University Cognitive Science Technical Report 2003-05 2003.
3. et al MHucka. The systems biology markup language (SBML): a medium for representation and exchange of biochemical network models. *Bioinformatics* 2003;19:524–531.
4. Heeger D, Bergen J. Pyramid-based Texture Analysis/Synthesis. In Proc ACM SIGGRAPH 1995;p. 229–238.
5. Burt PJ, Adelson EH. A Multiresolution Spline with Application to Image Mosaics. *ACM Transactions on Graphics* 1983;2:217–236.
6. Unser M. Sum and Difference Histograms for Texture Classification. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Maschine Intelligence* 1986;PAMI 8:118–125.
7. Linder R, Mohamed EI, Lorenzo ADe, Pöpl SJ. About the Capabilities of Artificial Neural Networks in Body-Composition Research. *Acta Diabetol* 2003;40:9–14.