

# Reduktion von Rissartefakten durch nicht-lineare Registrierung in histologischen Schnittbildern

Nicole Schubert<sup>1</sup>, Uwe Pietrzyk<sup>1,2</sup>, Martin Reißel<sup>3</sup>, Christoph Palm<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Neurowissenschaften und Biophysik 3, Forschungszentrum Jülich

<sup>2</sup>Abteilung für Physik, Universität Wuppertal

<sup>3</sup>Fachbereich Technomathematik, Fachhochschule Aachen

ch.palm@fz-juelich.de

**Kurzfassung.** In dieser Arbeit wird ein Verfahren vorgestellt, das Rissartefakte, die in histologischen Rattenhirnschnitten vorkommen können, durch nicht-lineare Registrierung reduziert. Um die Optimierung in der Rissregion zu leiten, wird der Curvature Registrierungsansatz um eine Metrik basierend auf der Segmentierung der Bilder erweitert. Dabei erzielten Registrierungen mit der ausschließlichen Segmentierung des Risses bessere Ergebnisse als Registrierungen mit einer Segmentierung des gesamten Hirnschnitts. Insgesamt zeigt sich eine deutliche Verbesserung in der Rissregion, wobei der verbleibende reduzierte Riss auf die Glattheitsbedingungen des Regularisierers zurückzuführen ist.

## 1 Einleitung

Histologische Rattenhirnschnitte sind hochaufgelöste 2D Aufnahmen einzelner Gehirnschichten. Für die gute Ortsauflösung von  $6 \times 6 \mu m$  wird jedoch der Bezug der Schichten untereinander eingebüßt. Das Ziel eines konsistenten 3D Datensatzes kann mit affiner und nicht-linearer Registrierung erreicht werden [1, 2]. Die Registrierung bringt zwei Bilder mit korrespondierenden Strukturen durch eine Transformation in räumliche Übereinstimmung. Ein Templatebild wird dabei einem Referenzbild angeglichen.

Während des Schneide- und Präparationsprozesses der Histologie können jedoch Artefakte des Schnittgewebes auftreten, die die Zuordnung der Objektstrukturen erschweren. In dieser Arbeit liegt das Augenmerk auf Rissartefakte. Das Problem hierbei ist, dass bei auftretenden Artefakten im Bild die korrespondierenden Rissstrukturen im Referenzbild fehlen, um die Optimierung des Registrierungsprozesses leiten zu können. Außerdem widersprechen die Glattheitsbedingungen an das Verschiebungsfeld im nicht-linearen Registrierungsansatz notwendigen lokalen Transformationen zum Schließen von Rissen.

Die nicht-lineare Registrierung in ihrer bekannten Form führt also nicht zur Reduktion von Rissartefakten, die in histologischen Schnitten auftreten können.

Daher wird der bekannte Curvature Registrierungsansatz [3, 4] um eine Metrik erweitert, die den Abstand zwischen den Distanzbildern der segmentierten

Bilder misst. Als Grundlage dient dazu die Arbeit von Han et al. [5], wobei wir keine Landmarken verwenden. Als Ersatz für den fehlenden Riss im Referenzbild wird eine künstliche Risslinie im Referenzbild erzeugt. Ein weiteres nicht-rigides Registrierungsverfahren mit Distanztransformationen wird in [6] vorgestellt.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Nicht-lineare Registrierung

Die zu registrierenden  $d$ -dimensionalen Bilder seien  $R, T : \Omega \rightarrow \mathfrak{R}$  mit  $\Omega \subset \mathfrak{R}^d$ . Gesucht wird ein Verschiebungsfeld  $u : \mathfrak{R}^d \rightarrow \mathfrak{R}^d$ , so dass die Distanz  $D$  zwischen  $R(x)$  und  $T(x - u(x))$  minimal wird. Für die Glattheit von  $u$  wird ein Regularisierer  $S$  eingeführt, der durch den Regularisierungsparameter  $\alpha$  gesteuert wird. Daraus ergibt sich ein Funktional, das zur Lösung des nicht-linearen Registrierungsproblems minimiert wird:

$$\mathfrak{J}[u] := D[R, T; u] + \alpha S[u]. \tag{1}$$

Für monomodale Bilder wird üblicherweise ein einfaches, grauwert-basiertes Distanzmaß wie *sum of squared differences* (SSD) verwendet:

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

Der Curvature Regularisierer lautet [4]:

$$S^{\text{curv}}[u](x) = \frac{1}{2} \sum_{l=1}^d \int_{\Omega} (\Delta u_l(x))^2 dx. \tag{3}$$

### 2.2 Erweiterte nicht-lineare Registrierung

Für die Regulierung der Optimierung in der Rissregion wird ein zusätzliches Abstandsmaß definiert. Dafür werden die Bilder segmentiert, d.h. das Bildobjekt wird vom Hintergrund separiert. Die Segmentierung erfolgt hier manuell. In Frage kommende Segmente sind der gesamte Hirnschnitt und der Riss allein. Es ist zu beachten, dass im Referenzbild kein Rissartefakt auftritt. Das Äquivalent eines geschlossenen Risses muss künstlich erzeugt werden, da die Registrierung nur ähnliche Strukturen aus Referenz- und Templatebild angleicht. Deshalb wird entlang der Skelettlinie des Risssegments des Templatebildes ein Pseudo-Riss in das segmentierte Referenzbild eingefügt.

Alle Punkte des Segments gehören zum Gebiet  $\Omega_O \subset \Omega$ , die Außenkontur des Segments ist dann  $\partial\Omega_O$ . Aus den segmentierten Bilder werden mit der *signed distance function* [5] die Distanzbilder berechnet:

$$\phi(x) = \begin{cases} -d^{\text{eucl}}(x, \Gamma) & : x \in \Omega_O \\ 0 & : x \in \partial\Omega_O = \Gamma \\ d^{\text{eucl}}(x, \Gamma) & : \text{sonst} \end{cases} \tag{4}$$

wobei  $d^{\text{eucl}}(x, \Gamma)$  der minimale euklidische Abstand eines Pixels  $x \in \Omega$  von der Objektkontur  $\Gamma$  ist.

Aus den Distanzbildern wird ein konturbasiertes Abstandsmaß definiert [5], das wie das intensitätsbasierte Distanzmaß den Unterschied der beiden Bilder misst:

$$D^{\text{con}}[\phi^R, \phi^T; u] = \frac{1}{2} \int_{\Omega} (\phi^T(x - u(x)) - \phi^R(x))^2 dx. \quad (5)$$

Das Energiefunktional (1) wird durch  $D^{\text{con}}$ , gewichtet mit einem Faktor  $\beta$ , erweitert. Somit ergibt sich ein neues zu minimierendes Energiefunktional:

$$\mathfrak{J}[u] = (1 - \beta)D^{\text{SSD}}[R, T; u] + \beta D^{\text{con}}[\phi^R, \phi^T; u] + \alpha S^{\text{curv}}[u]. \quad (6)$$

Anders als Han et al. [5] verwenden wir in unserem Ansatz keine Landmarken.

Das Minimierungsproblem wird durch die zugehörige partielle Differentialgleichung, die Euler-Lagrange Gleichung, gelöst. Damit  $u$  das Funktional minimiert, muss es die Euler-Lagrange-Gleichung erfüllen:

$$(1 - \beta)f^{\text{SSD}}(x, u(x)) + \beta f^{\text{con}}(x, u(x)) + \alpha \Delta^2 u(x) = 0 \quad (7)$$

mit

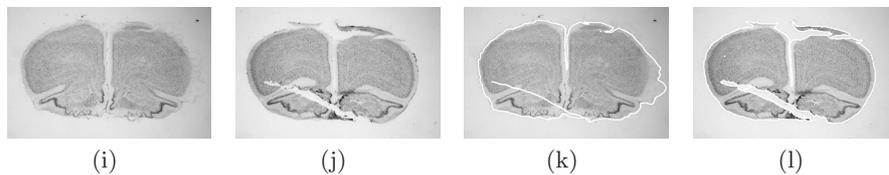
$$f^{\text{SSD}}(x, u(x)) = (R(x) - T(x - u(x)))\nabla T(x - u(x)) \quad (8)$$

$$f^{\text{con}}(x, u(x)) = (\phi^R(x) - \phi^T(x - u(x)))\nabla \phi^T(x - u(x)). \quad (9)$$

Die Implementierung dieser Registrierung basiert auf der Klassenbibliothek ITK.

### 3 Ergebnisse

Als Bildmaterial dienen zwei histologische Rattenhirnschnitte mit einer Dicke von  $20 \mu\text{m}$  und einer Auflösung von  $6 \times 6 \mu\text{m}$ . Zwischen den Schnitten ist eine Lücke von  $380 \mu\text{m}$ , was neben dem deutlichen Rissartefakt des Templatebildes zu erheblichen anatomischen Unterschieden führt. Vor der nicht-linearen Registrierung erfolgte eine rigide Vorregistrierung des artefaktfreien Referenzbildes (Abb.1(a)) und des rissbehafteten Templatebildes (Abb.1(b)). Die manuell erstellten Konturen sind in Abbildung 1(c) und (d) zu sehen. Für verschiedene Parameter  $\alpha$  und  $\beta$  aus (7) werden die Bilder miteinander registriert.



**Abb. 1.** (a): Referenzbild  $R$ , (b): Templatebild  $T$ , (c): Referenzbild mit Kontur (weiß), (d): Templatebild mit Kontur (weiß).

Es zeigte sich, dass Registrierungen basierend auf einer Segmentierung des gesamten Hirnschnitts ungenügende Ergebnisse liefern. Ein Deformationsfeld einer solchen Registrierung ist in Abbildung 2(a) dargestellt. Es ist zu erkennen, dass in der Rissregion kaum Verschiebungen stattfinden, sie aber am Objektrand verstärkt auftreten. Das Deformationsfeld aus Abbildung 2(b) ist das Ergebnis einer Registrierung, bei der nur der Riss segmentiert und in der Metrik berücksichtigt wurde. Die Konzentration auf die Rissregion ist deutlich zu sehen.

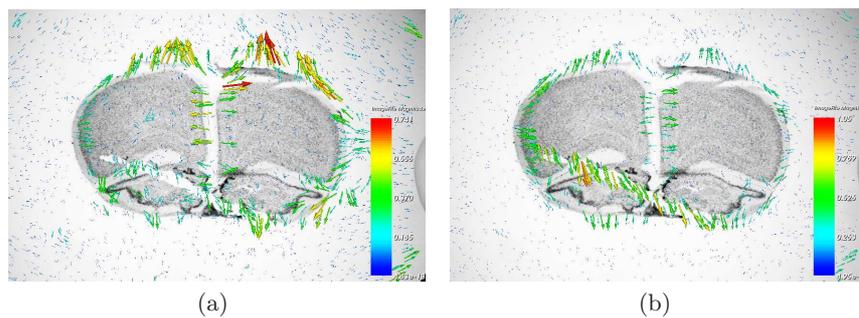
Die Abbildung 3(a) zeigt das Resultat der Registrierung ohne Einfluss der Segmentierung. Die Ergebnisse der Registrierung basierend auf der Segmentierung wurden mit dem Referenzbild verglichen, indem die summierten Abstandsquadrate der Intensitäten berechnet werden. Daraus ergab sich für die Registrierung mit der gesamten Hirnkontur das beste Ergebnis für  $\alpha = 0.03$  und  $\beta = 0.00005$  (Abb.3(b)). Mit der Registrierung basierend auf der Segmentierung des Risses kann der Riss weiter geschlossen werden. Das beste Ergebnis liefert die Registrierung für  $\alpha = 0.03$  und  $\beta = 0.0002$  (Abb.3(c)).

## 4 Diskussion

Wir haben eine Methode vorgestellt, die die Reduzierung von Geweberissen ermöglicht. Dabei zeigt die Beschränkung des konturbasierten Abstandsmaßes auf die Rissregion bessere Ergebnisse und einen nahezu vollständigen Risschluss.

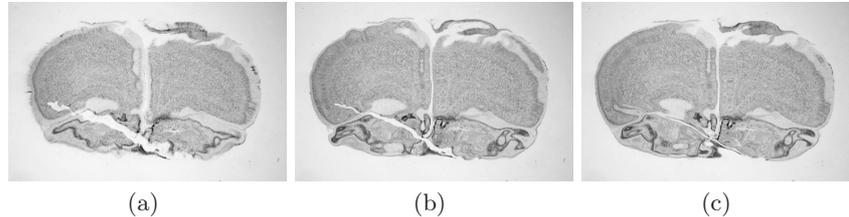
Im Ergebnis der reinen Curvature Registrierung ist deutlich erkennbar, dass in der Rissregion keine Verbesserung stattfindet und ungewünschte Verschiebungen am Objektrand entstehen (Abb.3(a)). Sie sind auf die sehr unterschiedlichen Objektränder zurückzuführen. Der Objektrand im Referenzbild ist teilweise stark ausgefranst, während der Rand des Templatebildes eine klare Struktur aufweist, jedoch an einigen Stellen unterbrochen wird.

Das Ergebnis der Registrierung mit Segmentierung des gesamten Hirns zeigt eine Rissbewegung, jedoch entlang der Außenkontur vermehrt ungewünschte Auswüchse und Verschiebungen (Abb.3(b)). Diese lassen sich aus der zusätzlichen Konturinformation aus der Segmentierung ableiten. Durch die gravierenden



**Abb. 2.** Verschiebungsfelder von Registrierung: (a): mit Segmentierung der gesamten Kontur, (b): mit Segmentierung des Risses.

**Abb. 3.** Registrierungsergebnisse für Registrierung: (a) ohne Segmentierung,  $\alpha = 0.03$ ,  $\beta = 0$  (b): mit Segmentierung der gesamten Kontur,  $\alpha = 0.03$ ,  $\beta = 0.00005$ , (c): mit Segmentierung des Risses  $\alpha = 0.03$ ,  $\beta = 0.0002$ .



Unterschiede in der Kontur werden die Verschiebungen am Objektrand zu groß, bevor sich der Riss genügend schließen kann.

Indem nur der segmentierte Riss in der Registrierung verarbeitet wird, werden diese Randbewegungen wieder vermindert. Allerdings treten gleichzeitig ungewollte Verzerrungen in der Rissregion auf (Abb.3(c)). Diese lassen sich dadurch erklären, dass in der Risszone nur das konturbasierte Abstandsmaß greift, da im Grauwert-Referenzbild keine Rissstruktur existiert und die anatomischen Unterschiede groß sind. Das steht im Gegensatz zur Arbeit von Han et al. [5], die korrespondierende Konturen in Referenz- und Templatebild betrachten.

Unser Verfahren beruht auf der Annahme, dass die Position des geschlossenen Risses in Form der Skelettlinie des Risssegments bekannt ist. Das Fehlen eines Goldstandards macht die Überprüfung dieser Annahme unmöglich. Erschwert wird die Registrierung durch erhebliche anatomische Unterschiede. Um den Interaktionsaufwand des Verfahrens zu verringern, bedarf es einer automatisierten Segmentierung, die mit Standardverfahren durchgeführt werden kann. Die künstliche Risserzeugung ist anhand des segmentierten Risses leicht erstellbar.

## Literaturverzeichnis

1. Schmitt O, Modersitzki J, Heldmann S, et al. Image registration of sectioned brains. *Int J Computer Vis.* 2007;73:5–39.
2. Wirtz S, Fischer B, Modersitzki J, et al. Vollständige Rekonstruktion eines Rattenhirns aus hochaufgelösten Bildern von histologischen Serienschnitten. *Proc BVM.* 2004; p. 204–208.
3. Fischer B, Modersitzki J. Curvature based image registration. *J Math Imaging Vis.* 2003;18:81–85.
4. Modersitzki J. *Numerical Methods for Image Registration.* Oxford University Press; 2004.
5. Han J, Hornegger J, Kuwert T, et al. Feature constrained non-rigid image registration. *Front Sim.* 2005; p. 638–643.
6. Paragios N, Rousson M, Ramesh V. Non-rigid registration using distance functions. *Computer Vis Image Underst.* 2003;18:142–165.