



# Abschlussbericht

## Verbundprojekt

Intraoperative Visualisierung von Hirntumoren in Echtzeit durch die optische Kohärenztomographie (Neuro-OCT)

## Teilvorhaben

Adaption und klinische Evaluierung eines High Speed OCT-Systems

**Förderkennzeichen:** 13GW0227C

**Projektlaufzeit:** 01.10.2017 – 30.06.2024

**Institution:** Medizinisches Laserzentrum Lübeck gGmbH  
Peter-Monnik-Weg 4, 23562 Lübeck

**Projektleitung:** Dr. Ralf Brinkmann

**Autoren:** Paul Strenge  
Dr. Ralf Brinkmann

**Verbundpartner:** Universität zu Lübeck, Institut für Biomedizinische Optik  
Klinik für Neurochirurgie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck

Medizinisches Laserzentrum Lübeck gGmbH

Peter-Monnik-Weg 4, 23562 Lübeck

**Kontakt:** Ralf Brinkmann

**Telefon:** 0451 3101 3207

ralf.brinkmann@uni-luebeck.de

Lübeck, Dezember 2024

# Inhaltsverzeichnis

1	Motivation.....	3
1.1	Erster Aufgabenstellung .....	3
1.2	Ablauf des Vorhabens .....	3
1.3	Anknüpfungen an den wissenschaftlichen und technischen Stand .....	3
1.4	Wesentliche Ergebnisse .....	4
2	Studienteil .....	4
2.1	Datenerfassung.....	5
2.2	Automatische Annotation der ex vivo OCT Daten.....	7
2.3	Oberflächenbestimmung .....	7
2.4	Ermittlung von korrespondierenden HE-Schnitten und OCT-B-Scans .....	9
2.5	Registrierung zwischen HE-Schnittbildern und OCT-B-Scans .....	11
2.6	Zusammenfassung.....	15
2.7	Datenauswertung .....	16
2.7.1	Ex-vivo-Anwendung .....	16
2.7.2	In-Vivo-Anwendung .....	29
3	Zweiter Studienteil.....	33
3.1	Adaption des Systems.....	33
3.2	Datenerfassung und Gewebeanalyse.....	35
4	Literatur.....	38

# 1 Motivation

## 1.1 Erster Aufgabenstellung

Die Detektion von Tumordinfiltrationszonen im Bereich der Neurochirurgie ist immer noch eine sehr große medizinische Herausforderung und mit aktuell genutzten Bildgebungsmethoden nicht zuverlässig durchführbar. Die optische Kohärenztomografie (OCT) bildet aufgrund ihrer Eigenschaften eine potentielle Alternative oder Ergänzung zu den konventionellen Bildgebungsmethoden in der Neurochirurgie. Bei der OCT handelt es sich um eine lichtbasierte Bildgebungsmethode zur Erstellung von Tiefenschnittbildern. Durch die Verwendung von Licht können die Tiefenschnittbilder, anders als bei dem intraoperativen Ultraschall, kontaktfrei bestimmt werden. Ein weiterer Vorteil ist die hohe Aufnahmegeschwindigkeit, wodurch bis zu 32 Volumen pro Sekunde aufgenommen werden können. Die Tiefenschnittbilder besitzen eine Auflösung im Bereich von 4-30µm und decken eine Aufnahmetiefe von bis zu 5mm ab. Somit schließt die OCT die Lücke zwischen der konfokalen Mikroskopie und dem Ultraschall und bildet einen guten Kompromiss aus beiden Bildgebungsmodalitäten.

Das Ziel des Projektes ist die Erforschung der Anwendung der OCT in der Neurochirurgie zur Identifikation von Tumorgewebe und der Infiltrationszonen. Hierzu sollen auf Basis von klinischen OCT-Daten von menschlichem Gehirngewebe die optischen Eigenschaften des Gewebes bestimmt werden. Für die Ermittlung der Gewebeeigenschaften sollen neben konventionellen Methoden auch KI-basierte Algorithmen evaluiert werden. Die erprobten Methoden sollen anschließend in Kombination mit einem echtzeitfähigen OCT-System in-vivo während einer neurochirurgischen Tumorresektion eingesetzt werden, um die Gewebeunterschiede zwischen Tumor und gesundem Gewebe zu visualisieren. Somit soll eine effizientere Tumorresektion unter Schonung des gesunden Gewebes erreicht werden.

## 1.2 Ablauf des Vorhabens

Das Vorhaben gliederte sich in verschiedene Arbeitspakete. Zunächst wurden in Rahmen einer ersten klinischen Studie erste in-vivo und ex-vivo OCT-Aufnahmen von menschlichen Gehirn während der Tumorresektion durchgeführt. Dabei wurden die in-vivo Daten mit einem nicht echtzeitfähigen OCT-System akquiriert. Die aufgenommenen Daten dienten im Kombination mit annotierten histologischen Daten dazu, eine Datengrundlage zu schaffen, mit der unterschiedliche Methoden zur Gewebeklassifikation evaluiert werden konnten. Gerade die ex-vivo Daten ermöglichten eine genaue Korrelation mit den histologischen Daten, wodurch eine genaue Evaluation der Algorithmen möglich war. Die robustesten Methoden wurden dann an den in-vivo Daten nochmals erprobt. Parallel wurde ein echtzeitfähiges OCT-System an ein OP-Mikroskop adaptiert. Da die Aufnahmeeigenschaften dieses Systems sich von den davor akquirierten Daten unterscheiden, wurde eine zweite klinische Studie genutzt, um OCT-Daten aufzunehmen. Anhand dieser Daten wurden dann die zuvor erprobten Algorithmen genutzt, um die Fähigkeit des adaptierten Systems zur Tumorerkennung zu evaluieren.

## 1.3 Anknüpfungen an den wissenschaftlichen und technischen Stand

In den letzten Jahren gab es große Bestrebungen neben der Ophthalmologie weitere Anwendungsfelder für die OCT zu finden, unter anderem auch der Einsatz in der Neurochirurgie. Ein Hindernis ist die Interpretation der Tiefenschnittbilder, insbesondere in einem Gewebe ohne starke strukturelle Eigenschaften (z. B. Schichten). Um die Interpretierbarkeit zu erhöhen, wurden Methoden eingeführt, mit denen Gewebeeigenschaften anhand von OCT-Daten extrahiert werden können. Eine etablierte Gewebeeigenschaft zur Unterscheidung verschiedener Gewebearten ist der Abschwächungskoeffizient, welcher den Signalabfall entlang der Tiefenachse quantifiziert [1]. Frühe

Messungen des Abschwächungskoeffizienten innerhalb der Neurochirurgie haben gezeigt, dass der Koeffizient von weißer Masse mit zunehmender Tumordinfiltration abnimmt [2,3]. Andere Ansätze berücksichtigten strukturelle Informationen, um strukturelle Heterogenität in Tumorgewebe zu quantifizieren. Lenz et al. beispielsweise nutzten eine Kombination von unterschiedlichen Texturmerkmalen zur Unterscheidung von Ex-vivo-Meningeom und gesundem Hirngewebe [4]. Möller et al. zeigten eine erfolgreiche Anwendung der Methode auf Hirnmetastasen [5]. Den wohl größten strukturellen Kontrast zeigten Gesperger et al., die im Gegensatz zu den anderen Publikationen ein hochauflösendes optisches Kohärenzmikroskop nutzen, um ein neuronales Netzwerk zu trainieren [6]. Die hohe Auflösung des OCT-Systems (laterale Auflösung:  $1,8\mu\text{m}$ , axiale Auflösung:  $0,88\mu\text{m}$ ) macht die strukturellen Unterschiede zwischen den verschiedenen Gewebearten deutlich sichtbar. Bisherige Arbeiten zur OCT in der Neurochirurgie fokussierten meist auf die Unterscheidung gesunder und tumoröser weißer Masse. Aspekte wie Gewebedifferenzierung, Verteilung weißer zu grauer Masse und Tumordinfiltrationszonen wurden selten untersucht. Zudem fehlen Vergleiche zwischen unterschiedlichen OCT-Systemen.

## 1.4 Wesentliche Ergebnisse

Innerhalb des Vorhabens wurde ein weltweit einzigartiger ex-vivo OCT-Datensatz erzeugt, bei dem histologische Annotationen genau den Tiefenschnittbildern zugeordnet werden konnten. Dieser Datensatz erlaubte einen Vergleich zweier OCT-Systeme mit unterschiedlichen Aufnahmeeigenschaften, sowie eine genaue Charakterisierung optischer und struktureller Gewebeeigenschaften. Es konnte gezeigt werden, dass eine Trennung zwischen weißer Masse und starker tumordinfiltrierter weißer Masse sehr gut möglich ist. Der Grund hierfür sind die Myelinscheiden, welche stark-streuende Eigenschaften besitzen und mit zunehmender Tumordinfiltration zersetzt werden. Im Gegensatz dazu zeigte gesunde graue Masse ähnliche optische Eigenschaften, wie stark tumordinfiltrierte weiße Masse und war somit schwerer von Tumorgewebe zu unterscheiden. Bei der Betrachtung von strukturellen Merkmalen konnte ein ähnlicher Zusammenhang festgestellt werden. Hier sorgen die regelmäßig und dichtgedrängten Myelinscheiden für ein homogenes Erscheinungsbild der OCT-Daten bei gesunder weißer Masse, welches mit zunehmender Tumordinfiltration immer heterogener wird.

Die gewonnenen Erkenntnisse aus den ex-vivo Messungen konnten ebenfalls erfolgreich auf die in-vivo OCT-Daten der zwei in-vivo OCT-Systeme übertragen werden. Auch hier konnten die Trends zwischen den unterschiedlichen Gewebearten festgestellt werden, jedoch weniger ausgeprägt. Der Grund hierfür liegt in der nicht so genauen Annotation der in-vivo Daten, welche nur volumenweise annotiert werden konnten. Die Adaption eines echtzeitfähigen OCT-Systems an ein OP-Mikroskop könnte ebenfalls gezeigt werden. Mit diesem System konnten bereits von 30 Patienten OCT-Daten aufgenommen werden. Für Etablierung der OCT in der Neurochirurgie werden jedoch weitaus mehr Daten benötigt, um eine robuste Klassifizierung der einzelnen Gewebearten zu erreichen. Dies wird in Zukunft im Rahmen neuer Forschungsprojekte angestrebt.

## 2 Studienteil

Die einhergehende Darstellung der vom Medizinischen Laserzentrum Lübeck getätigten Projektarbeiten gliedern sich in zwei Studienteile in der OCT-Bilddaten von menschlichem mit unterschiedlichen OCT-Systemen sowohl ex-vivo als auch in-vivo aufgenommen wurden. Der erste Studienteil behandelt die Datenaufnahme und –auswertung von zwei ex-vivo OCT-Systemen und einem in-vivo OCT-System. In einem zweiten Studienteil wurde die Datenaufnahme und –auswertung des adaptierten MHz-OCTs behandelt.

## 2.1 Datenerfassung

Die Datenaufnahme erfolgte unter enger Zusammenarbeit aller Projektpartner, sowie der Neuropathologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf, die für die Annotation der HE-Schnitte zuständig waren. Die Datenerfassung erfolgte innerhalb einer klinischen Studie bei der Proben des menschlichen Gehirnes während der chirurgischen Resektion entnommen wurden. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt (Studien Nr.: 18-204). Da die Entnahme solcher Proben sehr selten ist und die Probenanzahl sehr limitiert war, wurden gleich drei unterschiedliche OCT-Systeme mit in die Studie mit einbezogen. Durch diese Konstellation konnten in der späteren Datenauswertung gleich mehrere wissenschaftliche Fragestellungen erforscht werden. Insgesamt wurden im ersten Studienteil rund 140 Proben von 21 Patienten entnommen. Proben wurden hierbei nur entnommen, wenn eine Gefährdung des Patienten durch die Chirurgen ausgeschlossen werden konnte. Der standardisierte Ablauf zur Entnahme einer Gewebeprobe ist in Abbildung 1 visualisiert.

Die in-vivo Datenaufnahme erfolgte immer bevor die eigentliche Probe entnommen wurde. Für diese wurde das iOCT der Firma OPMedT verwendet. Dieses OCT-System wurde in das Mikroskop-System HS HI-R 5-1000 der Firma Haag-Streit Surgical integriert. Bei dem iOCT handelt es sich um ein Spektral-Domain (SD) OCT-System mit einer Wellenlänge von 830nm. Mit dieser Wellenlänge kann eine Eindringtiefe von bis zu 4mm erreicht werden. Das System ist in der Lage Volumen mit 35.000 A-Scans pro Sekunde zu akquirieren. Der Arbeitsabstand wurde auf 300mm mit einer Zoomstufe von 9 festgelegt. Diese Einstellung bietet einen guten Kompromiss zwischen hoher Auflösung und einem ausreichend großen Aufnahmebereich. Mit diesen Einstellungen beträgt dieser 5,7mm x 15,7mm. Die aufgenommenen Volumina besitzen eine axiale Auflösung von 8mm (FWHM) und eine laterale Auflösung von 23mm. Jedes Volumen besteht aus 100 B-Scans. Der gesamte Aufnahmeprozess dauerte im Schnitt 30 Sekunden.

Zur Entnahme der Proben wurde eine Yasargil-Pinzette mit einer Größe von 5mm verwendet. Die Probenentnahme erfolgte an definierten Positionen. Zu diesen Positionen gehörte die Gehirnoberfläche. (siehe Abbildung 1). Proben aus diesem Bereich sollten gewährleisten, dass gesunde oder tumorinfiltrierte graue Masse mit in dem Probenpool aufgenommen wurde. Weitere Proben wurden aus der Haupttumormasse extrahiert. Mit diesem Proben sollte untersucht werden, ob eine Unterscheidung zwischen Tumor und gesundem Material überhaupt mit der OCT möglich ist. Die Mehrheit der Proben wurden aus der Resektionshöhle entnommen, nachdem das chirurgische Personal Tumorfreiheit auf Basis anderer intraoperativer Bildgebungsmethoden festgestellt hatte. Im Idealfall wurden fünf Proben aus der Resektionshöhle entnommen. Eine Probe vom Resektionsboden und vier weitere am Rand der Resektionshöhle. Proben aus diesen Bereichen bestanden aus gesunder weißer Masse und weißer Masse mit Tumorinfiltration. Neben den Proben für die Studie wurde immer noch eine weitere Probe für die Neuropathologie zur Sicherung der Diagnose entnommen. Proben wurden nicht entnommen, wenn zu starke Blutungen vorhanden waren, die Proben zu nah an einem funktionellen Areal lagen oder wenn das Wohlbefinden des Patienten in irgendeiner anderen Art verschlechtert worden wäre.

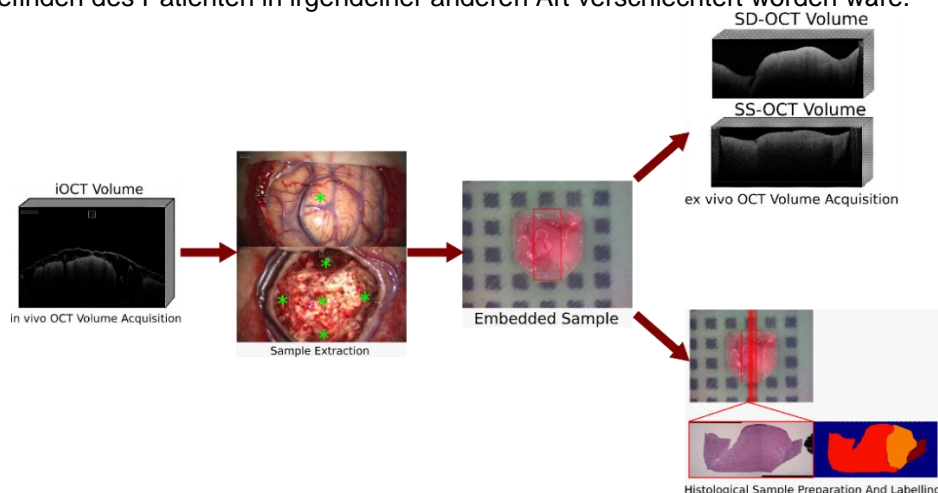


Abbildung 1 Überblick über die Datenaufnahme im Rahmen der Neuro-OCT Studie. Zu Beginn einer Probenentnahme wird zuerst ein in-vivo OCT Volumen aufgenommen. An der gescannten Stelle wurde anschließend eine Probe entnommen (\* zeigt exemplarische Positionen). Die entnommene Probe wurde danach in eine Agarose Form eingebettet und dann von zwei ex-vivo OCT Systemen vermessen. Aus jeder Probe wurden anschließend zehn histologische Schnitte extrahiert und semantische von einem Neuropathologen annotiert.

Im Anschluss an die in-vivo Datenaufnahme wurde von der betroffenen Stelle eine Probe mit einer 5mm Yasargil-Pinzette entnommen. Die entnommene Probe wurde danach für die weitere Datenaufnahme und Verarbeitung eingebettet. Im Fall des ersten Studienteils diente die Einbettung nicht nur der Probenhalterung sondern bildete die Grundlage für alle folgenden Verarbeitungsschritte.

Für die Probeneinbettung wurden handelsübliche Gewebekassetten verwendet, welche mit Agarose gefüllt wurden. Zur Halterung der Probe wurden mit einer Form definierte Vertiefungen in die Agarose gebracht. Um während der Probenentnahme flexibel zu sein, gab es vier Vertiefungen in der Agarose pro Gewebekassette. Die Größen dieser Vertiefungen waren  $3 \times 3 \times 2 \text{ mm}^3$ ,  $4 \times 4 \times 2 \text{ mm}^3$ ,  $5 \times 5 \times 3 \text{ mm}^3$  und  $6 \times 6 \times 3 \text{ mm}^3$ . Neben der Halterung hatten die Vertiefungen formgebende Eigenschaften, welche im Laufe der klinischen Studie weiterentwickelt wurden (siehe Abbildung 2). Die weichen homogenen Hirnproben übernahmen die vorgegebene Form, wodurch künstliche Merkmale im Gewebe erzeugt wurden. Auf Grundlage dieser Merkmale können zwei Ziele erreicht werden: 1. Die Form erlaubte eine Kontrolle der nachfolgenden Verarbeitungsprozesse und 2. Ermöglicht eine genaue Übertragung der histologischen Information der HE-Schnitte auf die ex-vivo OCT-Daten. Eine Kontrolle der nachfolgenden Verarbeitungsprozesse ist essentiell. Einige Prozesse, wie zum Beispiel die histologische Verarbeitung, sind eine Blackbox, wo Fehler ohne weitere Vorbereitung schwer nachvollziehbar sind. Durch die Formgebung sind die Ausmaße und Orientierung der Proben bekannt. Gerade die Tiefe einer Probe ist in OCT-Systemen aufgrund der limitierten Eindringtiefe der Systeme meist nicht messbar. Aus diesem Grund ist eine bekannte Tiefe eine große Hilfe für Bestimmung des gesamten Probenausmaßes innerhalb eines OCT-B-Scans und diesen mit einem HE-Schnitt in Übereinstimmung zu bringen.

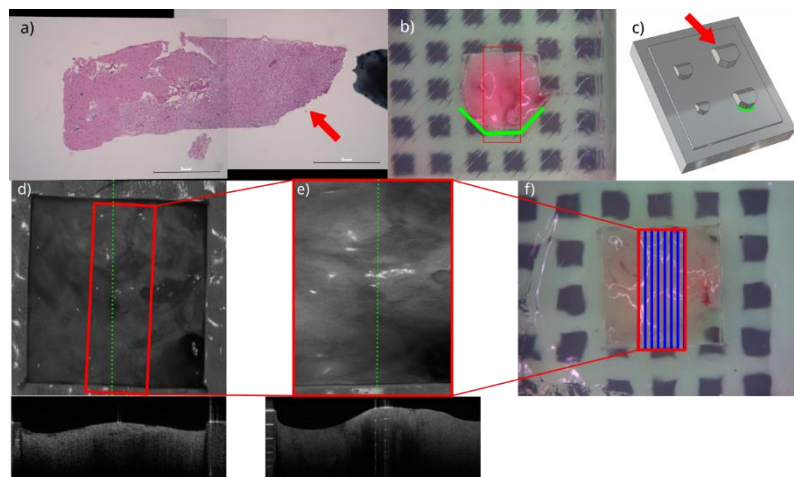


Abbildung 2 Übersicht über für die Formgebung des Gewebes durch die Agaroseform: (a) HE-Schnitt, (b) Weißlichtbild nach der Einbettung und (c) Form zur Erstellung der Einbuchtungen. Der rote Pfeil markiert die Kante in (c), welche die Kante in (a) erzeugt. Die grüne Umrandung zeigt die Kanten in (c), die die Kanten in (b) erzeugen. Übersicht über die ex-vivo Datenaufnahme. (d) zeigt exemplarisch eine en-face Projektion eines OCT Volumens, welches mit dem Omes-System aufgenommen wurde. Die grüne Linie zeigt einen exemplarischen OCT B-Scan des Volumens. (e) zeigt analog die gleichen Informationen wie (d) nur für das Callisto-System. (f) zeigt, dass Weißlichtbild der aufgenommenen Probe. Die roten Linien zeigen den Zusammenhang der verschiedenen FOVs der unterschiedlichen Modalitäten. Die blauen Linien zeigen die Positionierung der Schnittlinien zur Erstellung der HE-Schnitte.

Nach der Einbettung erfolgte die ex-vivo Datenaufnahme. Für die ex-vivo Datenaufnahme wurden zwei unterschiedliche OCT-Systeme verwendet. Zum einen das SD-OCT Callisto der Firma Thorlabs und das Swept-Source (SS) OCT-System OMES von der Optores GmbH. Die beiden Systeme unterscheiden sich stark in ihren Geräteeigenschaften, was später einen Vergleich zwischen den beiden OCT-Systemen hinsichtlich ihrer Fähigkeit Hirntumor und gesundes Hirngewebe zu klassifizieren ermöglicht. Das Callisto-System besitzt eine Laserquelle mit einer Wellenlänge von 930nm. Als Aufnahmeobjektiv wurde das LSM03-BB Objektiv von Thorlabs verwendet mit einer fokalen Länge von 36mm und einer numerischen Apertur von 0.051. In der Fokusebene besitzt das System eine laterale Auflösung von  $5,2 \mu\text{m}$  (FWHM) und eine axiale Auflösung von  $4,9 \mu\text{m}$  (FWHM). Der Aufnahmebereich wurde auf  $2 \times 5,2 \text{ mm}^2$  festgelegt. Das Callisto-System hat eine maximale Eindringtiefe in Luft von rund 1,7mm mit einem axialen Pixelabstand von  $3,3 \mu\text{m}$ . Neben der Aufnahme eines OCT-Volumens ist das System noch in der Lage ein Weißlichtbild einer Probe aufzunehmen. Der Aufnahmebereich dieser Weißlichtaufnahme betrug  $12,8 \times 9,6 \text{ mm}$ . Die Abbildung 2 verdeutlicht den Zusammenhang der unterschiedlichen Aufnahmebereiche der verschiedenen Systeme. Das Callisto-System bildete somit einen Kompromiss aus geringer Eindringtiefe gepaart mit hoher Auflösung. Das Gegenteil dazu bildete

das zweite OCT-System. Das Omes-System besitzt mit seiner Grundwellenlänge von 1310nm und eine Eindringtiefe von bis zu 4mm in Luft. Der axiale Pixelabstand betrug 8,35mm. Das genutzte Objektiv war ein LSM04 von Thorlabs mit einer fokalen Länge von 54mm und einer numerischen Apertur von 0.021. Die laterale Auflösung waren 22µm (FWHM) und für die axiale Auflösung betrug 16µm (FWHM). Die Größe des Scan-Feldes betrug 6 x 6mm<sup>2</sup> und der laterale Pixelabstand war mit 4,86µm in beide Scan-Richtungen gleich groß. Nach der Aufnahme der ex-vivo Volumen wurde jede Probe mit Formalin fixiert und für die histologische Verarbeitung an die Neuropathologie gesendet.

Die histologische Aufbereitung beschreibt den gesamten Prozess in dem eine Gewebeprobe zu einem histologischen Schnitt verarbeitet wurde und die anschließende Färbung dieses Schnittes. Pro Probe wurden 10 histologische Schnitte geschnitten. Jeder Schnitt hatte eine Dicke von 4µm. Der Abstand zwischen den Schnitten betrug 100µm. Der Bereich aus dem die Schnitte geschnitten wurden, wurde von dem Field-Of-View (FOV) des Callisto-OCT-Systems vorgegeben. Nur Schnitte innerhalb dieses Bereiches wurden von beiden OCT-Systemen aufgenommen. Da das FOV auf dem Weißlichtbild der Probe markiert ist, diente dieses Bild als Grundlage für eine Schnittanleitung (siehe Abbildung 2). Anhand der sichtbaren Gewebekanten konnten genaue Angaben gemacht werden, wie weit eine Probe geschnitten werden muss, bis das FOV des Callisto OCT-System erreicht wurde oder wo die 10 Schnitte auf der Probe gemacht werden sollten. Die Schnittebene entspricht dabei der B-Scan-Ebene die aufgenommenen Volumina (siehe Abbildung 2). Nach dem Schnitt wurden die Proben mit Hämatoxylin und Eosin (HE) eingefärbt. Für die Annotation der HE-Schnitte wurde eine pixelweise Annotation verwendet mit welcher die Neuropathologie die unterschiedlichen Gewebearten markierte. Die ausgewählten Annotationen unterschieden graue und weiße Masse, vier unterschiedliche Grade an Tumordinfiltration (0%, 0-30%, 30-60% und >60%), sowie weitere Pathologien, wie Einblutungen, Ödeme oder Nekrosen.

## 2.2 Automatische Annotation der ex vivo OCT Daten

Nach der Datenaufnahme standen pro Probe folgende Ex-vivo-Daten zur Verfügung: 10 annotierte histologische Schnitte, 2 Ex-vivo-OCT-Volumen aufgenommen mit dem Callisto-System und dem OMES-System und eine Weißlichtaufnahme der Ex-vivo-Probe, auf dem die Positionen der histologischen Schnitte markiert sind. Im Folgenden wird vorgestellt, wie die Registrierung (Übertragung) zwischen den histologischen Bildern und den OCT-Daten durchgeführt wurde. Durch eine Registrierung der Daten konnte ein Ex-vivo-Datensatz für die Klassifikation von menschlichem Gehirngewebe auf Basis von OCT-Daten erstellt werden [1]. Hierzu wurde die pixelweise Annotation der histologischen Schnitte direkt auf korrespondierende Ex-vivo-OCT-B-Scans transformiert. Das war möglich, da die Orientierung der Proben während der Ex-vivo-OCT-Aufnahmen und nach der histologischen Aufbereitung bekannt waren. Um die histologischen Informationen auf die Ex-vivo-OCT-Daten zu übertragen, mussten zu den histologischen Schnitten korrespondierende OCT-B-Scans bestimmt werden. Diese Zuordnung erfolgte auf Basis der Oberflächenposition der OCT-Volumen und der bekannten Schnittlinienpositionen auf dem Weißlichtbild. Nachdem die korrespondierenden Paare gefunden wurden, konnten die histologischen Schnittbilder auf Basis von Forminformationen auf die OCT-B-Scans übertragen werden.

## 2.3 Oberflächenbestimmung

Da die Oberflächenposition und die Form der Proben die Grundlage für die weiteren Verarbeitungsschritte bilden, wurde ein neuronales Netzwerk trainiert, um die notwendigen Informationen aus den Daten zu extrahieren. Die genutzte Architektur ist ein U-Net, welches oft für die pixelweise Segmentierung von Bildern genutzt wird (siehe Abbildung 3) [2]. Es wurde ausgewählt, da dieses neuronale Netzwerk robuster gegenüber Bildartefakten (z. B. Reflektionsartefakte) war, als wie herkömmliche Methoden (z.B. einfache Kantenerfilter). Das U-Net besteht aus einem Pfad, der die Bildinformation in mehreren Stufen herunterskaliert (Encoder-Pfad) und zusammenfasst und einem Pfad, der die Information wieder auf die Bildgröße hochskaliert (Decoder-Pfad). Es bestehen zusätzliche Verbindungen zwischen den beiden Pfaden, was dem Netzwerk ermöglicht Informationen mit unterschiedlichen Komprimierungsgraden für die Segmentierung zu berücksichtigen.

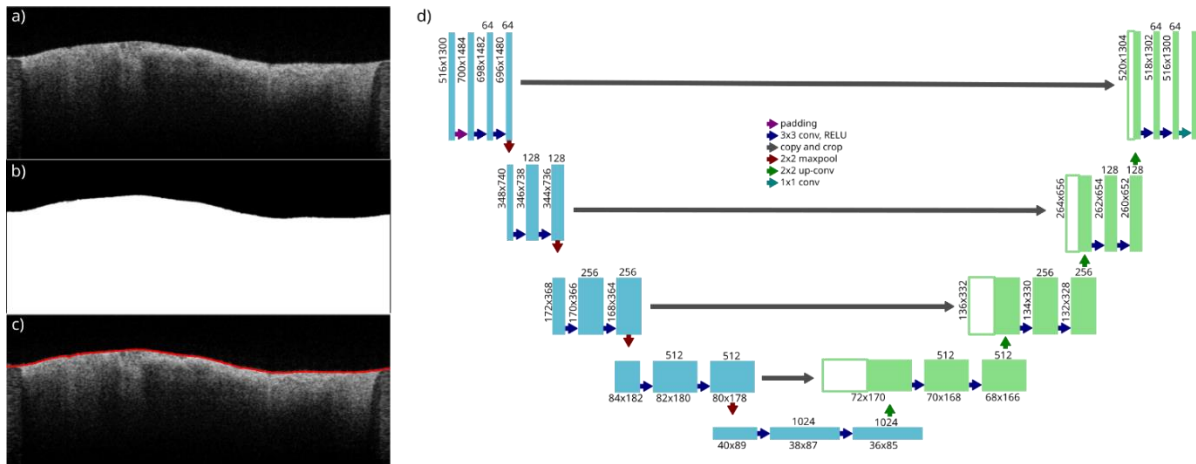


Abbildung 3 Anwendung des U-Nets auf einen OCT-B-Scan zur Bestimmung der Oberflächenposition (a). (b) zeigt die generierte Maske anhand von (a) und die extrahierte Oberfläche (c). Die Architektur des U-Nets (d).

Für das Training des Netzwerkes wurden 1700 OCT-B-Scans zufällig aus 80 OCT-Volumen der beiden OCT-Systeme extrahiert. Die OCT-B-Scans wurden manuell annotiert, wobei die Gewebeeinformationen mit 1 und der Hintergrund mit 0 gekennzeichnet wurden. Da die OCT-B-Scans unterschiedliche Größen besaßen, wurden sie auf eine einheitliche Größe von 516 x 1300 Pixel vergrößert. Um Overfitting der Daten entgegenzuwirken, wurde eine Daten-Augmentierung eingeführt. Hierzu wurden der Kontrast und der vertikale Versatz der Bilder zufällig verändert. Für das Training wurden die Bilder in 80% Trainingsdaten und 20% Testdaten aufgeteilt.

Das Training wurde für 300 Epochen durchgeführt. Die Batchgröße wurde auf eins gesetzt. Als Optimierungsfunktion wurde der ADAM-Optimierer verwendet mit einer Lernrate von  $1e-6$ . Die Minimierungsfunktion war eine Kombination aus Kreuzentropie (engl. cross entropy) und die Dice-Minimierungsfunktion [3,4]. Dieses Vorgehen kombiniert die Vorteile der beiden Methoden. Die Dice-Minimierungsfunktion reagiert gut auf Daten, wo eine Klasse den Großteil der Daten ausmacht. Die Kreuzentropie ist eher dafür ausgelegt falsche Segmentierungen direkt zu bestrafen. Da die Kreuzentropie pro Pixel berechnet wurde, ist von einer lokalen Minimierungsfunktion zu sprechen, während die Dice-Minimierungsfunktion ein globales Maß repräsentiert. Die Evaluierung des trainierten U-Nets erfolgt auf dem unabhängigen Testdatensatz. Der Testdatensatz bestand aus 342 OCT-B-Scans. Die Testdaten wurden mit dem U-Net verarbeitet, um die binären Gewebemasken zu erzeugen. Diese wurden anschließend mit den Originalmasken verglichen. Der Vergleich erfolgte mit Hilfe des Dice-Koeffizienten, welcher genutzt werden kann, um die Übereinstimmung von semantischen Masken zu messen [5]. Das U-Net erreichte einen Dice-Koeffizienten von 0.9970 auf dem Testdatensatz. Die Gesamtperformance im Vergleich zu anderen Methoden wurde anhand der Abweichung der bestimmten Oberflächenpositionen zu dem Oberflächenverlauf der manuell annotierten Masken (siehe Abbildung 4). Es ist deutlich zu sehen, dass das U-Net robust gegen Linien- und Reflektionsartefakte ist und den gewünschten Oberflächenverlauf am besten abbilden kann.

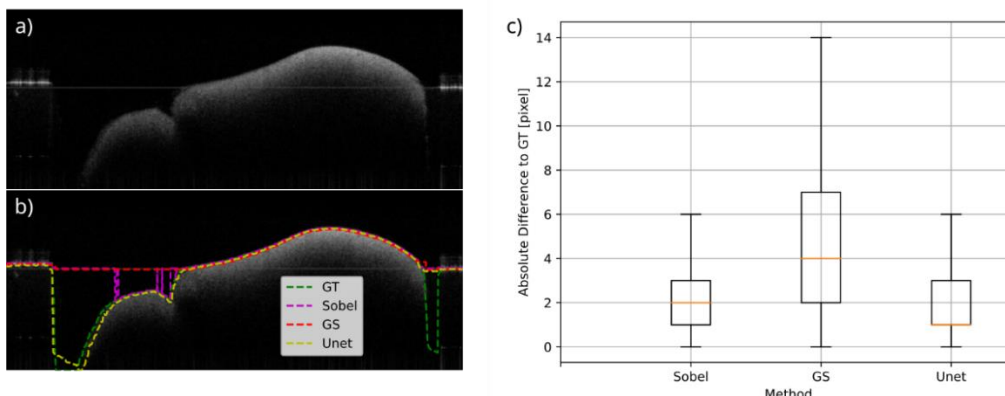


Abbildung 4 Vergleich anderer Methoden mit dem U-Net (GT = Grundwahrheit, Sobel = Anwendung eines Sobel-Filters, GS = Anwendung einer graphenbasierten Suchalgorithmus, Unet = Anwendung des U-Nets) zur Bestimmung der B-Scan-Oberfläche anhand eines B-Scans des Callisto-Systems. (a) zeigt den OCT-B-Scan und (b) die überlagerten Ergebnisse der unterschiedlichen Methoden. (c) Die Verteilung der bestimmten Fehler für jede der drei Methoden.

## 2.4 Ermittlung von korrespondierenden HE-Schnitten und OCT-B-Scans

Bevor die histologischen Informationen auf die OCT-Daten übertragen werden können, muss geklärt werden, welche OCT-B-Scans mit den histologischen Schnitten korrelieren. Es war notwendig, die OCT-B-Scans in den akquirierten Ex-vivo-OCT-Volumen zu finden, die die gleiche Gewebeeinformation zeigen, wie die HE-Schnitte. Durch die histologische Aufarbeitung ist die Position der HE-Schnitte auf dem Weißlichtbild bekannt (siehe Abbildung 2). Dieser Umstand führt dazu, dass Positionierungen der HE-Schnitte im Bezug zur Probe bekannt sind. Unter dieser Annahme bilden die Schnittlinien die Grundlage für das Finden der korrespondierenden OCT-B-Scans. Die Bestimmung der korrespondierenden OCT-B-Scans erfolgte in zwei Schritten. Zunächst erfolgte eine Transformation der Schnittlinien vom Weißlichtbild auf das OCT-Volumen des Callisto-Systems. Im zweiten Schritt wurde eine Transformation bestimmt, welche die Schnittlinien von dem Callisto-System auf das OCT-Volumen des OMES-Systems überträgt. Die Grundlage für diese Transformation bildete hierbei die Oberflächenstruktur, welche aus den korrespondierenden OCT-Volumen extrahiert werden konnte. Beide Schritte werden folgend im Detail erklärt.

Wie bereits erwähnt beruht dieser Schritt auf der Annahme, dass die Schnittlinien der Schnittanleitung mit den Positionen übereinstimmen, an denen die histologischen Bilder herausgeschnitten wurden. Die Grundlage der Schnittlinien bildete das Weißlichtbild der Probe, welches von dem Callisto-System aufgenommen wurde. Aus diesem Grund ist ebenfalls die Lage des Scanfeldes in Bezug zum Weißlichtbild bekannt. Diese Umstände erlaubten die Anwendung einer affinen Landmarkentransformation, um die Schnittlinien von dem Weißlichtbild auf das Volumen des Callisto-Systems zu transformieren (siehe Abbildung 5). Die Landmarken des Weißlichtbildes bildeten hierbei die Eckpunkte des Scanfeldes und die Landmarken des Callisto-Volumens bildeten die oberen Eckpunkte des Volumens. Die affine Transformation  $T_1$  wurde mit Hilfe eines Least-Squares-Ansatzes zwischen den beiden Punktwolken ermittelt.

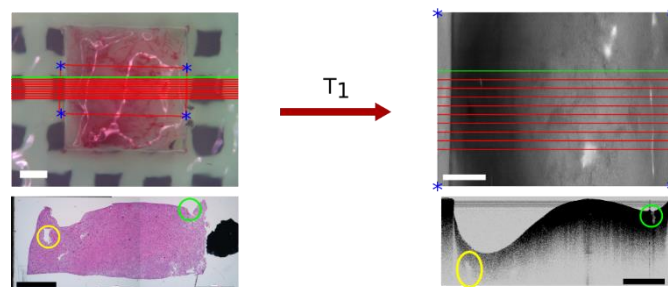


Abbildung 5 Landmarkenbasierte Transformation der Schnittlinien von dem Weißlichtbild des Callisto-Systems auf das Callisto-OCT-Volumen mit Hilfe von  $T_1$ . Die blauen Sterne zeigen die verwendeten Landmarken. Die grüne Schnittlinie korrespondiert jeweils mit dem gezeigten histologischen Schnittbild und dem OCT-B-Scan. Die eingekreisten Bereiche zeigen markante Bildpunkte, die eine Plausibilität der gefundenen Korrespondenzen zwischen dem OCT-B-Scan und dem histologischen Schnittbild zeigen. Der OCT-B-Scan wurde für eine bessere Sichtbarkeit der Merkmale invertiert.

Nachdem die Schnittlinien auf das Callisto-OCT-Volumen mit Hilfe von  $T_1$  transformiert wurden, war eine Transformation  $T_2$  zwischen den beiden OCT-Volumen der beiden Ex-vivo-Systeme möglich (siehe Abbildung 6). Die Transformation  $T_2$  ist affin. Eine Transformation zwischen den akquirierten OCT-Volumen der beiden OCT-Systeme war möglich, da beide Systeme dieselbe Probe innerhalb eines kurzen Zeitfensters aufgenommen haben. Die Grundlage für die Registrierung der beiden Ex-vivo-OCT-Volumen bildeten die topologischen Informationen, welche anhand der sichtbaren Luft-Gewebe-Grenze bestimmt wurden. Hierzu wurden das U-Net genutzt, um die Oberflächenposition des Gewebes in den Volumens zu ermitteln. Die Betrachtung der Oberflächenstruktur reduziert die Dimensionalität des Registrierungsproblems, wodurch die Komplexität und der Rechenaufwand geringer ist als bei der direkten Registrierung der OCT-Volumen. Die topologische Information ist robust gegenüber Reflektionsartefakten.

Die Höheninformationen wurden jeweils für die Volumens der beiden OCT-Systeme ermittelt (siehe Abbildung 6). Um nun die Transformation  $T_2$  zwischen diesen beiden Bildern zu bestimmen, wurde ein iteratives Verfahren gewählt, welches von Maes et al. vorgestellt wurde [6]. Das Verfahren minimiert die Ungleichheit zwischen den Bildern durch die passende Transformation, beziehungsweise maximiert die Gleichheit zwischen den Bildern. Im Idealfall ist die Ungleichheit null, was bedeutet, dass die beiden

Bilder perfekt innerhalb der überlappenden Betrachtungsregion gut korrelieren und somit die gleiche Bildinformation zeigen. Als Vergleichsmaß diente die Mutual-Information MI. Die Mutual-Information kann als Vergleichsmaß für multimodale Registrierungsprobleme verwendet werden. Da die Oberfläche bei der OCT-Systeme immer nur relativ zum Referenzarm gemessen wird, gibt es einen konstanten Versatz zwischen den Oberflächen der beiden OCT-Volumen. Aufgrund von Umklappartefakten, speziell beim Callisto-System kann es dazu kommen, dass dieser Versatz nicht mehr konstant ist, wodurch ein multimodales Vergleichsmaß besser geeignet ist. Je mehr die Bilder miteinander korrelieren, sprich je abhängiger sie voneinander sind, desto höher ist der Wert für MI.

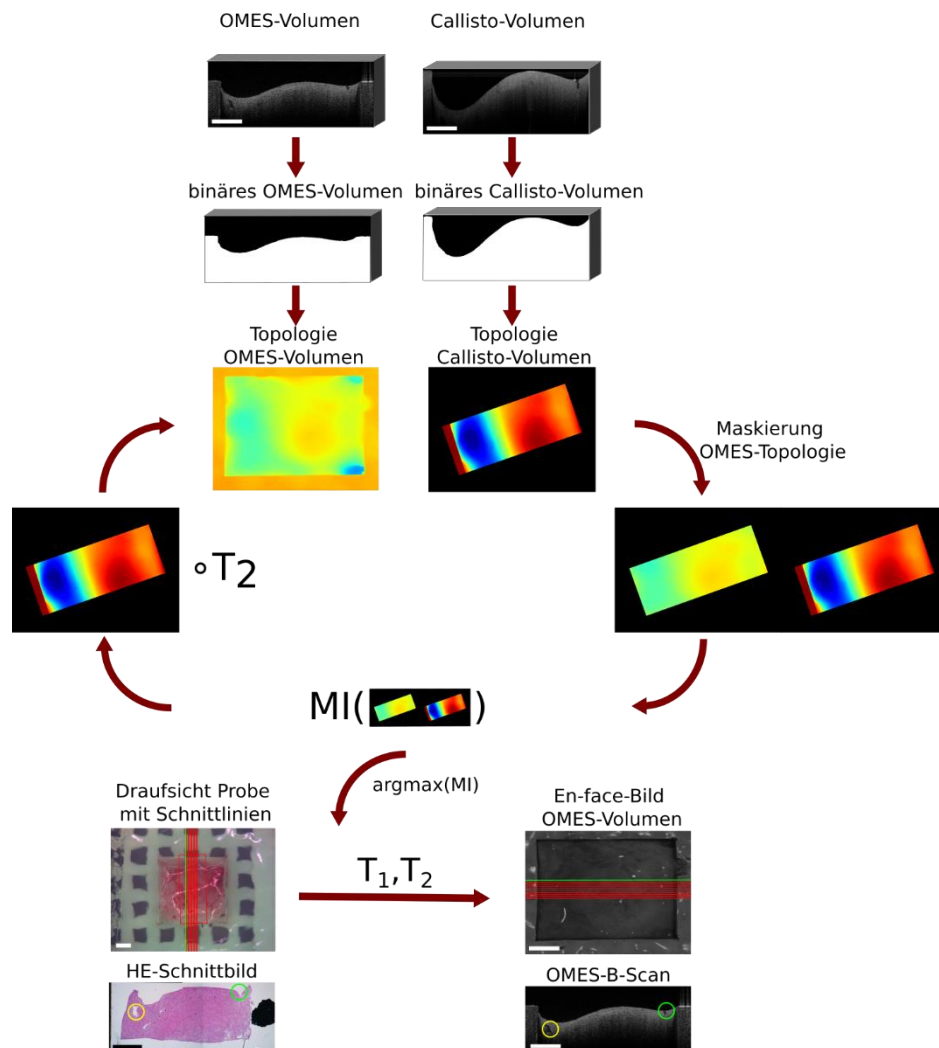


Abbildung 6 Übersicht über die unterschiedlichen Methoden, um die Transformation  $T_2$  zwischen zwei korrespondierenden OCT-Volumen zu ermitteln. Die Binarisierung der OCT-Daten wurde mit dem U-Net erreicht. Nach Minimierung der Ungleichheit durch Maximierung der Mutual Information, können  $T_1$  und  $T_2$  auf die Schnittlinien der Probe angewandt werden, um diese auf das OMES-Volumen zu übertragen. Die eingekreisten Bereiche zeigen markante Bildpunkte, die eine Plausibilität der gefundenen Korrespondenzen zwischen dem OCT-B-Scan und dem histologischen Schnittbild zeigen.

Die Abbildung 7 zeigt nochmals drei Beispiele, wo die Korrespondenz zwischen den OCT-B-Scans und den HE-Schnitten gut nachvollzogen werden kann. Auf Grundlage der gefundenen Korrespondenzen konnte gezeigt werden, dass eine Registrierung zwischen den HE-Schnittbildern und den OCT-B-Scans des OMES-Systems möglich ist und zu plausiblen Registrierungsergebnissen führt.

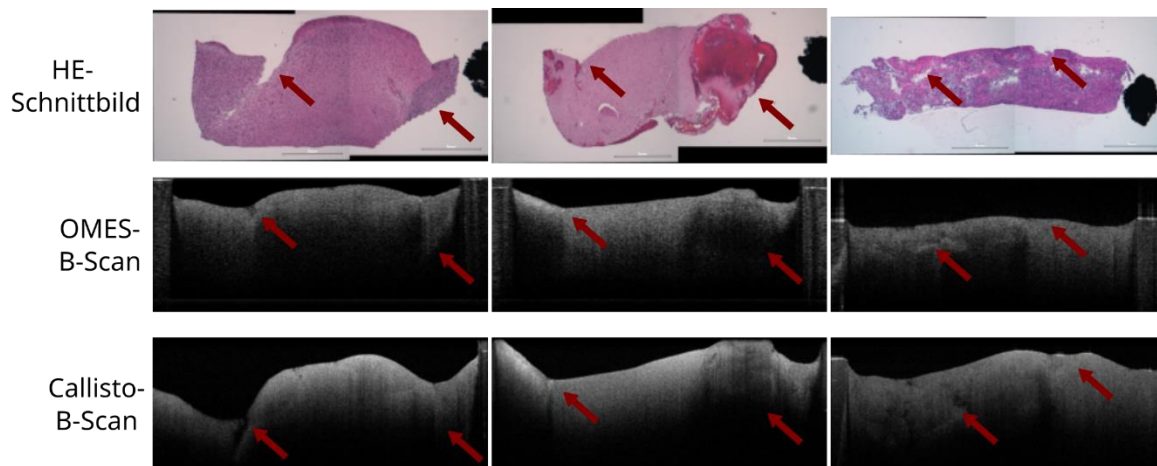


Abbildung 7 Beispiele von HE-Schnittbildern und korrespondierende OCT-B-Scans der OCT-Systeme.

## 2.5 Registrierung zwischen HE-Schnittbildern und OCT-B-Scans

Nachdem im vorherigen Abschnitt für jedes HE-Schnittbild die korrespondierenden OCT-B-Scans gefunden wurden, erfolgt nun der zweite Schritt der Verarbeitungskette. Dieser Schritt beinhaltet die Übertragung der histologischen Informationen in Form der Annotationen auf die korrespondierenden OCT-B-Scans (siehe

Abbildung 10). Die Basis für die Transformation bilden das HE-Schnittbild und der korrespondierende OCT-B-Scan des OMES-Systems. Die Transformation wurde zuerst zwischen dem histologischen Schnitt und dem OCT-B-Scan des OMES-Systems durchgeführt, da dieses System einen größeren Aufnahmebereich besaß und somit besser mit dem histologischen Schnitt registriert werden kann, als OCT-B-Scans des Callisto-Systems. Die Transformation, die zwischen den beiden Bildern bestimmt wurde, kann direkt auf die annotierten Bilder angewandt werden, um die histologischen Informationen auf den OCT-B-Scan des OMES-Systems zu übertragen. Dadurch wird die eine automatische Annotation der OCT-B-Scans erreicht. Mit Hilfe einer einfachen affinen Transformation kann dann zusätzlich die Annotation von dem OMES-OCT-B-Scan auf den korrespondierenden OCT-B-Scan des Callisto-Systems übertragen werden.

Die reine Transformation des histologischen Bildes auf den OCT-B-Scan beruht auf der Extraktion von Bildmerkmalen, die mit einer Transformation in Übereinstimmung gebracht werden können. Das Problem bei dieser Registrierung ist die Ungleichheit der Bildinformation und die geringe Anzahl an markanten Bildmerkmalen in den OCT-B-Scans (z. B. Schichten), wodurch ein komplexes multimodales Registrierungsproblem entsteht. Dies macht die Anwendung von gängigen Merkmalsextraktoren, wie Scale-Invariant-Feature-Transform (SIFT) oder ähnlichen Algorithmen nur schwer möglich [7]. Die einzige Gemeinsamkeit die beide Bildmodalitäten teilen, ist die generelle Form des Gewebes. Aus diesem Grund beruht dieser Verarbeitungsschritt auf der Annahme, dass die Form aus beiden Bildmodalitäten extrahiert werden kann und genutzt wird, um die beiden Modalitäten in Übereinstimmung zu bringen. Die Beschreibung der Form beruht hierbei auf dem Inner-Distance-Shape-Context (IDSC) [8]. Mit Hilfe dieser Merkmale ist eine nicht-affine Transformation auf Basis einer Thin-Plate-Spline-Interpolation (TPS) zwischen dem HE-Schnittbild und dem OMES-B-Scan möglich.

IDSC-Merkmale sind eine Erweiterung des Shape-Context, ein Ansatz zur Beschreibung der Form einer binären Maske oder eines Objektes. Durch die Erweiterung ist es möglich neben Löchern auch Knicke (Artikulationen) gut abzubilden und zu beschreiben. Gerade Artikulationen können bei der histologischen Verarbeitung entstehen, aufgrund von mechanischen oder chemischen Einwirkungen auf das Gewebe.

Da sich dieser Merkmalsextraktor nur auf die Form der Silhouette bezieht, eignet er sich als Basis für die Transformation der HE-Schnittbilder auf die OCT-B-Scans. Die Silhouette reduziert das multimodale Registrierungsproblem zu einer monomodalen Registrierungs Aufgabe, wodurch die Komplexität verringert wird. Beim IDSC wird für jeden Punkt auf der Silhouette ein Merkmals-Histogramm definiert, der die relative Lage des jeweiligen Punktes zu allen anderen Punkten auf der Silhouette beschreibt (siehe Abbildung 8). Die innere Distanz und der innere Winkel bilden die Achsen des Histogramms.

Definiert ist die innere Distanz als der kürzeste Weg zwischen zwei Punkten innerhalb der Silhouette. Zur Bestimmung der inneren Distanz werden die Punkte als Knoten eines Graphen angenommen. Eine Verbindung zwischen zwei Knoten erfolgt nur, wenn eine direkte Linie zwischen zwei Punkten gezogen werden kann, die vollständig innerhalb von liegt. In diesem Fall bildet die euklidische Distanz das Gewicht zwischen den Knoten. Für benachbarte Punkte wird angenommen, dass sie direkt verbunden werden können. Anhand des entstandenen Graphen kann nun für jede Punktekombination der kürzeste Weg ermittelt werden, um die Entfernung zwischen zwei Punkten zu bestimmen. Innerhalb dieser Anwendung wurde Dijkstra's-Algorithmus verwendet. Der innere Winkel wurde als Winkel zwischen einem Punkt und dem zum nächstgelegenen Punkt entlang des inneren Weges zum Zielpunkt. Die IDSC-Histogramme wurden für alle Punkte auf den beiden Silhouetten bestimmt. Anschließend wurden mit Hilfe der  $\chi^2$ -Statistik eine Kostenmatrix zwischen allen möglichen Punktekombinationen aufgestellt. Das Finden der korrespondierenden Punktepaare erfolgte über die Verwendung des Viterbi-Algorithmus und Dynamic-Programming [9,10]. Dynamic-Programming konnte für die Zuordnung verwendet werden, da während der Bestimmung der Punktkorrespondenzen die Bedingung eingeführt wurde, dass die Reihenfolge der Punkte auf einer Silhouette beibehalten wird. Eine Zuordnung von Punkten über Kreuz ist somit ausgeschlossen.

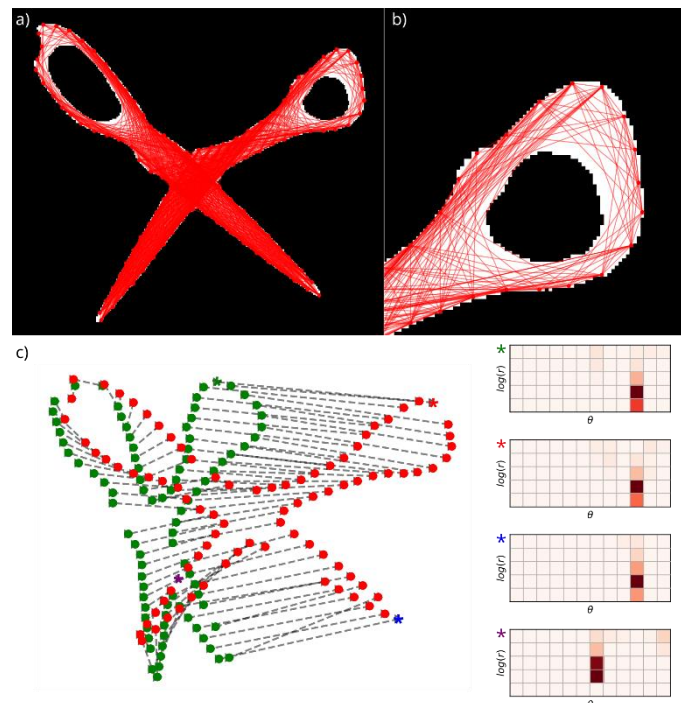


Abbildung 8 Visualisierung der Punktebeziehungen zwischen allen Punkten einer Silhouette, basierend auf der inneren Distanz (a). (b) zeigt den Zusammenhang im Detail. Gefundene Punktepaare zwischen zwei Silhouetten, basierend auf dem IDSC (c). Drei ausgewählte Punkte und ihre bestimmten IDSC-Histogramme (\* = rot, blau, lila) aus der roten Silhouette im Vergleich mit einem ausgewählten Punkt (\* = grün).

Damit die oben beschriebene nicht-affine Transformation auf dem HE-Schnittbild und dem korrespondierenden OCT-B-Scan durchgeführt werden kann, müssen zunächst die Silhouetten für beide Bildmodalitäten bestimmt werden. Anschließend können die korrespondierenden Punktepaare zwischen den beiden Silhouetten bestimmt werden. Anhand dieser Korrespondenzen wird eine nicht-affine Transformation auf Basis der TPS-Interpolation ermittelt. Mit Hilfe der ermittelten Transformation kann die Annotation auf die OCT-B-Scans übertragen werden (siehe Abbildung 10).

Für die Extraktion der Silhouette aus den histologischen Bildern wurde das HE-Schnittbild mit einem weiteren U-Net in eine Maske umgewandelt. Hierbei wurde dem Hintergrund der Wert 0 und dem Vordergrund der Wert 1 zugeordnet. Zum Hintergrund gehören neben dem offensichtlichen weißen Bereich, der die histologische Probe umgibt, auch der schwarze Punkt, welcher auf allen Proben vorhanden ist und zur Erfassung der Probenorientierung genutzt wurde. Zum Hintergrund gehören ebenfalls schwarze Bildbereiche, welche dem Bild hinzugefügt wurden, um die meist aus zwei Teilbildern bestehenden histologischen Bilder zusammenzufügen, damit die Probe als Gesamtheit

betrachtet werden kann. Zum Vordergrund gehören die HE-gefärbten Gewebeprobe.

Die Extraktion der Gewebeinformation aus dem korrespondierenden B-Scan erfolgte ebenfalls über eine Binarisierung. Auch hier korrespondiert der Hintergrund mit dem Wert 0 und umfasst die Luft über dem Gewebe und die im B-Scan zu sehende Agarose. Der Vordergrund enthält nur Gewebeinformation und korrespondierte mit dem Wert 1. Die Grundlage zur Extraktion der Gewebeinformation bildet die Annahme, dass das Gewebe vollständig die Agaroseform ausfüllt und sich ganz an die vorgegebene Form angepasst hat. Auf Basis dieser Annahme kann die Tiefe des Gewebes im OCT-B-Scan angenommen werden. Je nach Größe der Probe ist das Ende der Probe aufgrund des tiefenbedingten Signalverlustes auf dem OCT-B-Scan nicht sichtbar (siehe Abbildung 9 (a,b)). Aus diesem Grund muss die Tiefe anhand der bekannten Form abgeschätzt werden. Bevor die Tiefe des Gewebes bestimmt werden konnte, wurde der B-Scan mit dem bereits erwähnten U-Net für die Bestimmung der Höhenprojektionen binarisiert (siehe Abbildung 9 (d)). In dem binarisierten B-Scan befindet sich die Information über die Agarose. Die Position und Höhe der Agarose wurde für jeden OCT-B-Scan manuell bestimmt, bevor diese Information weggeschnitten wurde. Für die Ermittlung der Gewebetiefe musste die Position des letzten Gewebepixels gefunden werden. Diese Position hängt von dem Verhältnis von Luft zu dem Gewebe ab. Dieser Effekt ist sehr gut in der Abbildung 9 (c) erkennbar. Die Tiefe der Agaroseform ist konstant, jedoch ist in der Abbildung sehr gut zu sehen, dass das Ende der Form früher im B-Scan auftritt, wenn nur Luft in der Form ist. Sobald Gewebe in der Form ist, verschiebt sich das Ende der Agaroseform nach unten. Durch das Gewebe ist die geometrische Tiefe der Agaroseform unverändert, jedoch ist der optische Weg, den das Licht durchläuft abweichend zur Situation ohne Gewebe. Das bedeutet, dass sich die axiale Pixelgröße innerhalb der Gehirnproben aufgrund des Verhältnisses der refraktiven Indizes von Luft und Gewebe verkleinert. Das führt dazu, dass es mehr axiale Pixel braucht um die Tiefe der Agaroseform abzubilden, als wenn sich nur Luft in der Form befindet. Da sich dieses Verhältnis über den gesamten B-Scan aufgrund der variierenden Gewebeoberfläche ändert, wurde die Tiefenposition für jeden A-Scan einzeln bestimmt. Die Basis für die Bestimmung bildet die binäre Maske des B-Scans, welche bereits eine Einteilung der Pixel in der Luft und im Gehirn vorgibt. Es wurden so lange Pixel ab der Gewebeoberfläche der Maske hinzugefügt bis die Zieltiefe erreicht wurde (siehe Abbildung 9 (e,f)).

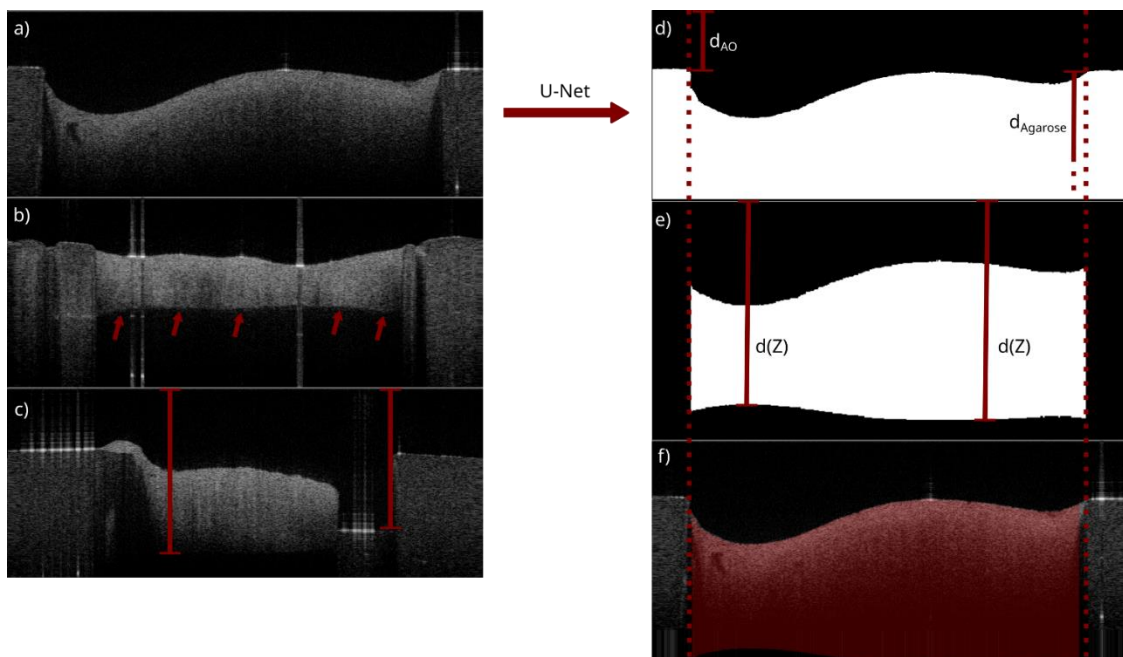


Abbildung 9 a) OCT-B-Scan des OMES-Systems in dem das Ende der Probe in der Tiefe nicht sichtbar ist. b) OCT-B-Scan des OMES-Systems in dem das Ende der Probe sichtbar ist und mit roten Pfeilen markiert wurde. c) Zeigt die unterschiedliche optische Länge aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung aus Gewebe und Luft. Die zwei dargestellten Längen sind geometrisch gleich lang und haben eine unterschiedliche optische Länge. d) Maske, welche aus (a) mit dem U-Net generiert wurde. e) Generierte Gewebemaske unter der Berücksichtigung der Zusammensetzung des optischen Lichtweges. f) Ermittelte Maske aus (e) überlagert auf (a).

Nachdem die Silhouette vollständig aus den einzelnen Masken zusammengesetzt wurde, konnte die Kontur mit Hilfe des Konturfinde-Algorithmuses von Suzuki et al. extrahiert werden [11]. Nachdem die Konturen für das HE-Schnittbild und dem korrespondierenden B-Scan ermittelt wurden, wurden die IDSC-Histogramme für die Punkte auf der Kontur bestimmt (siehe

Abbildung 10). Um eine schnellere Verarbeitung zu gewährleisten und um die Konturen etwas mehr zu glätten, wurden die Konturen herunterskaliert. Anhand der IDSC-Histogramme wurden korrespondierende Punktepaare zwischen den Konturen ermittelt. Auf Basis dieser Korrespondenzen wurde die nicht-affine Transformation mit Hilfe der TPS-Interpolation berechnet. Um die nicht-affine Transformation plausibel zu halten und fehlerhaften sprunghaften Verschiebungsfeldern entgegenzuwirken, wurde die Transformation mit Hilfe der Verschiebungsfelder iterativ durchgeführt (siehe Abbildung 10). Mit jeder Iteration wurde der Freiheitsgrad der Bewegungen, welcher mit dem Regularisierungsparameter eingestellt werden kann, erhöht. In der ersten Iteration sollte eine möglichst steife Initialtransformation erreicht werden. Es folgten zwei weitere Iterationen mit einer Vergrößerung der Bewegungsfreiheit. Die so generierten Verschiebungsfelder können auf die Annotationen angewandt werden, um diese auf den korrespondierenden B-Scan zu transformieren. Die Transformation kann analog für den korrespondierenden Callisto-B-Scan wiederholt werden. Es ist aber auch möglich die Annotationen von dem OMES-B-Scan direkt auf den Callisto-B-Scan zu übertragen. Der Vorteil liegt hierbei in der Reduzierung der Berechnungszeit und verringerten Komplexität.

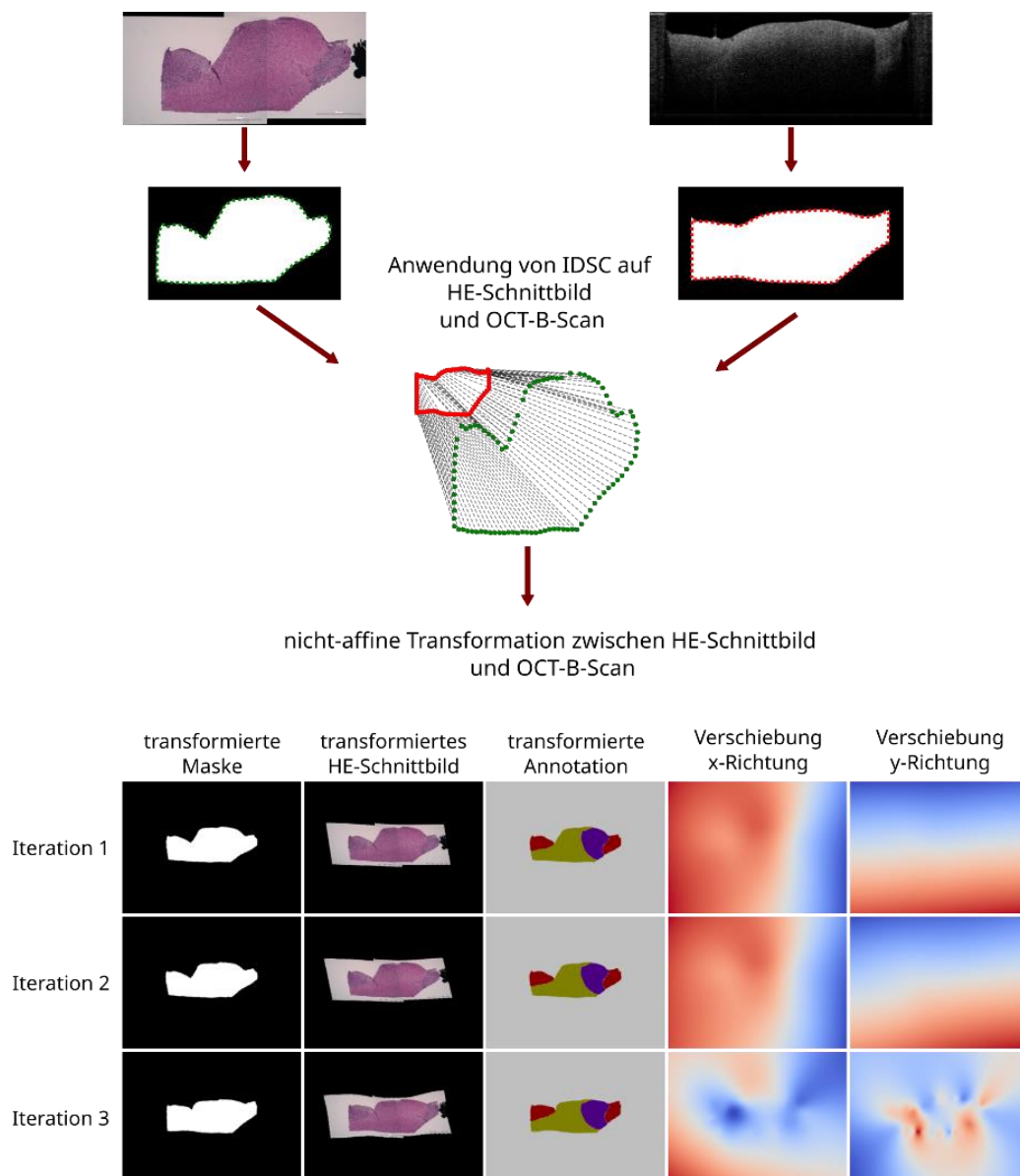


Abbildung 10 Ablauf der nicht-affinen Transformation zwischen dem HE-Schnittbild und dem OCT-B-Scan des OMES-Systems. Im Detail werden die Veränderungen der HE-Daten über die bestimmten Verschiebungsfelder gezeigt. Bei den Verschiebungsfeldern stehen rote Werte für positive Verschiebungen und negative Verschiebungen sind blau dargestellt.

## 2.6 Zusammenfassung

Auf Grundlage der gefundenen Korrespondenzen konnte gezeigt werden, dass eine Registrierung zwischen den HE-Schnittbildern und den OCT-B-Scans möglich ist und zu plausiblen Registrierungsergebnissen führt. Das Verfahren beruht auf einer Kombination aus IDSC-Histogrammen und einer TPS-Interpolation. Der beschriebene Prozess erlaubte es für 75% der Daten, die histologischen Annotationen auf die korrespondierenden OCT-B-Scans zu übertragen. Für die restlichen 25% war dies nicht möglich, da sich die Form aufgrund der histologischen Verarbeitung zu stark verändert hat und somit eine Korrelation der Forminformation zwischen den OCT-Daten und den histologischen Bildern nicht mehr möglich war. In der Abbildung 11 sind exemplarisch gute Ergebnisse für die Transformation der histologischen Information auf die korrespondierenden OCT-B-Scans der beiden OCT-Systeme zu sehen.

Die Konservierung der Probenform über den kompletten histologischen Verarbeitungsprozess ist das größte Problem. Da sich die vorgestellte Methode hauptsächlich auf die Formähnlichkeit zwischen den HE-Schnittbildern und OCT-Daten stützt, können sich schon geringe Formveränderungen der Probe negativ auf das Registrierungsergebnis auswirken. Allein die Zusammensetzung der Probe kann zu unkontrollierbaren Veränderungen der Form während der histologischen Verarbeitung der Probe führen. Zusätzlich bildet eine falsche Schnittausrichtung eine weitere Gefahrenquelle, welche die Form des Gewebes unwiederbringlich verändert. Um das Risiko einer falschen Bearbeitung zu minimieren, wurde das Personal in der Neuropathologie intensiv für die Bearbeitung der Proben geschult und trainiert. Aufgrund der vielen potentiellen Fehlerquellen, welche eine Weiterverarbeitung der Probe ausschließen würde, ist die aktuelle Ausfallrate von 25% sehr positiv zu bewerten.

Um die Genauigkeit der Transformation zu evaluieren wurden 30 histologische Bilder und die dazu gehörigen OCT-B-Scans ausgewählt. Die Anzahl der Evaluierungsdaten ist extrem klein im Vergleich zu der Gesamtanzahl der Daten, jedoch zeigten diese Bilder klare Gewebemerkmale, welche in den unterschiedlichen Modalitäten korreliert werden konnten. Für die Evaluation wurde das histologische Bild mit Hilfe der zuvor bestimmten Verschiebungsfelder auf den korrespondierenden OCT-B-Scan transformiert. Anschließend wurden manuell markante Punkte, welche in beiden Bildmodalitäten gefunden werden konnten, ausgewählt. Die euklidische Distanz wurde verwendet um zu bestimmen, wie gut die Transformation durchgeführt werden konnte. Die durchschnittliche euklidische Distanz zwischen dem OCT-B-Scan und dem transformierten HE-Schnittbild war  $200\mu\text{m} \pm 120\mu\text{m}$ . Dieses Ergebnis entspricht einem relativen Fehler von 6% für die minimale Probenlänge von 3mm. Ähnliche Registrierungsansätze von Unger et al. und Gibson et al. erreichten ähnliche relative Fehler [12,13]. Unger et al. verwendete eine Kombination aus Inner-Distance-Shape-Context und abladierte Stützstellen innerhalb des Gewebes, um die Registrierung von histologischen Bildern zu Autofluoreszenzbildern durchzuführen. Der Ansatz erreichte eine Genauigkeit von  $0,78 \pm 0,67\text{mm}$  für einen minimalen Probendurchmesser von 15mm [12]. Die Methode erreichte somit einen relativen Registrierungsfehler von 5%. Gibson et al. erreichte einen Registrierungsfehler von  $0,71 \pm 0,38\text{mm}$  für eine Probengröße von 30mm für die Registrierung von histologischen Bildern der Prostata zu Ex-vivo-MRT-Bildern [13]. Somit wurde ein relativer Fehler von 2,4mm erreicht. Obwohl keine gewebeinternen Merkmale für die Registrierung berücksichtigt werden konnten, erreichte der vorgestellte Prozess vergleichbare relative Fehler bei der Registrierung, wie ähnliche Ansätze anderer Forschungsgruppen. Jedoch ist die hier angegebene Genauigkeit nicht vollständig zuverlässig, da es nur einen sehr limitierten Evaluationsdatensatz gibt. Der vorgestellte Registrierungsprozess für die Übertragung der histologischen Annotation auf korrespondierende OCT-B-Scans von Hirngewebe ist zwar extrem aufwendig, jedoch wird durch diesen Aufwand die Komplexität des Gewebes berücksichtigt und erlaubt später einen flexiblen Umgang mit den Daten. Der entstandene Datensatz erlaubt die Anpassung der Komplexität und den Detailgrad für die zu lösende Problematik. Diesen Vorteil haben andere Gruppen nicht. Möller et al. zum Beispiel musste fast 50% aller aufgenommenen Daten aus dem Datensatz entfernen, da die Annotation nur Volumen als homogene Gewebe erfasste [14]. Somit mussten die Proben entfernt werden, welche eine zu große Heterogenität aufwiesen. In den folgenden Kapiteln zur Ex-vivo-Tumorklassifikation dient der Datensatz als Basis. Die Annotationen auf den OCT-B-Scans dienen als Grundwahrheit. Der Datensatz besteht aus rund 700 erfolgreich annotierten B-Scans für die jeweils beiden OCT-Systeme.

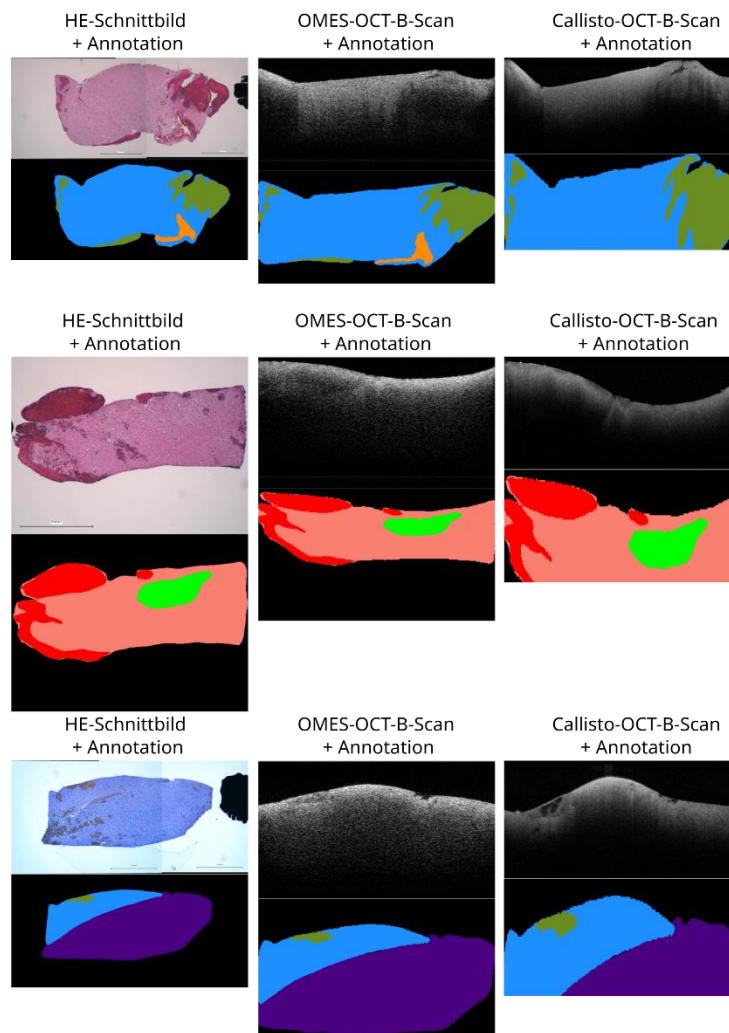


Abbildung 11 Drei Beispiele von der nicht-affinen Transformation der histologischen Informationen auf die korrespondierenden OCT-B-Scans.

## 2.7 Datenauswertung

### 2.7.1 Ex-vivo-Anwendung

#### 2.7.1.1 Vergleich der beiden OCT Systeme

Die Gewebeanalyse auf Basis optischer Parameter gehört zu den etablierten Vorgehensweisen zur Charakterisierung von Gewebe, mit Hilfe von OCT-Aufnahmen. Zu den hier verarbeiteten optischen Parametern gehören der Abschwächungskoeffizient und die maximale Intensität des zurückgestreuten Lichtes [15,16,17]. Der Abschwächungskoeffizient stellt einen gewebespezifischen Parameter dar, der beschreibt, wie stark ein in das Gewebe eindringender Lichtstrahl durch Streuung und Absorption entlang der Tiefe abgeschwächt wird. Die maximale Intensität des zurückgestreuten Lichtes korreliert mit dem Rückstreuoeffizienten [18]. Giese et al. zeigte anhand erster Messungen, dass die Unterscheidung von menschlichem Gehirngewebe auf Basis der optischen Parameter möglich ist [19]. Innerhalb dieses Kapitels wurde die Erkennung unterschiedlicher Gehirngewebearten auf Basis der optischen Parameter durchgeführt. Die optischen Parameter wurden für die OCT-Daten der beiden Ex-vivo-OCT-Systeme ermittelt. Da die OCT-Daten der beiden OCT-Systeme miteinander korrelieren, wurde ein Vergleich der beiden OCT-Systeme durchgeführt, um zu bewerten, welche Systemeigenschaften von Vorteil sind, wenn es um die Identifikation von Tumorgewebe geht. Die optischen Parameter wurden für OCT-Bild-Patches bestimmt, wodurch lokale Signalunterschiede in den verschiedenen Gewebeararten berücksichtigt wurden. Die Gewebeanalyse beschränkt sich auf folgende Gewebeararten: graue Masse, weiße Masse und weiße Masse mit den drei Tumordinfiltrationsstufen 0%-

30%,30%-60% und >60%). Um die Gewebeanalyse weiter zu vertiefen und um eine Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen anderer Forschungsgruppen herzustellen, wurden auf Basis der extrahierten OCT-Bild-Patches und der ermittelten optischen Parameter neuronale Netzwerke trainiert, um verschiedene Klassifikationsaufgaben für die Gewebeanalyse zu lösen. Die OCT-Daten der beiden Ex-vivo-OCT-Systeme wurden zunächst für die Gewebekarakterisierung vorzubereitet. Hierzu zählten die Korrektur von Fokus und Roll-Off Effekten und weitere Normierungsschritte, um die Intensitätsschwankungen in den OCT-Daten zwischen den einzelnen Aufnahmetagen auszugleichen. Nachdem die OCT-B-Scans für die beiden Ex-vivo-OCT-Systeme für die unterschiedlichen Effekte korrigiert wurden, konnten OCT-Bild-Patches aus den OCT-B-Scans für die Gewebeanalyse extrahiert werden. Es wurde eine Größe von  $300\mu\text{m} \times 200\mu\text{m}$  gewählt. Diese Größe korrespondiert beim Callisto-System mit einer ungefähren Patch-Größe von 100Pixel x 50Pixel und beim OMES-System von 50Pixel x 50Pixel. Abbildung 12 zeigt beispielhaft OCT-Bild-Patches für die unterschiedlichen Gewebeararten.

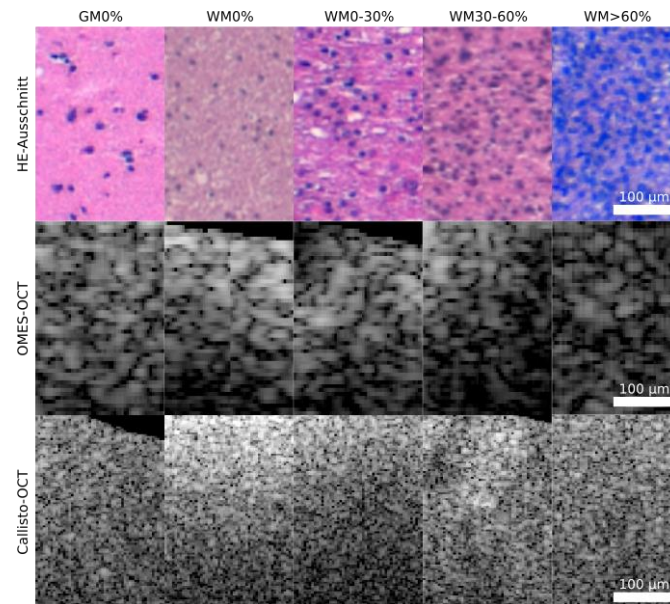


Abbildung 12 Beispiele für die extrahierten OCT-Bild-Patches für jedes der beiden Ex-vivo-OCT-Systeme und die dazu korrespondierenden Ausschnitte von histologischen Bildern. Die Bild-Patches wurden für die folgenden Gewebe dargestellt: Weiße Masse 0% Tumordinfiltration = WM0%, weiße Masse 0-30% Tumordinfiltration = WM0-30%, weiße Masse 30-60% Tumordinfiltration = WM30-60%, weiße Masse >60% Tumordinfiltration = WM>60% und graue Masse 0% Tumordinfiltration = GM0%).

Die erstellten OCT-Bild-Patches enthalten nach der Korrektur von Roll-Off und Fokuseffekten das reine OCT-Signal, welches die tiefenaufgelösten Gewebefinformationen enthält. Die Bestimmung optischen Parameter beschränkt sich auf den Abschwächungskoeffizienten  $\mu$  und der Intensität  $I_0$ , welche proportional zum Anteil des zurückgestreuten Lichtes ist. Für die Bestimmung der optischen Parameter wurde jeder OCT-Bild-Patch zuvor entlang der lateralen Achse zu einem OCT-A-Scan gemittelt (siehe Abbildung 13 (a)). Anhand dieses gemittelten A-Scans wurden die Parameter mit Hilfe einer linearen Fit-Gerade ermittelt. Der Bereich zur Bestimmung der Fit-Gerade wurde kurz unter die Oberfläche gelegt, um oberflächennahe Reflektionsartefakte zu umgehen.

Die bestimmten optischen Parameter aller extrahierten OCT-Bild-Patches sind in Abbildung 13 (b) beispielhaft für das OMES-System dargestellt. Für die dargestellten Gewebeunterschiede gibt es zwei mögliche Gründe: 1. der Besitz von Myelinscheiden und 2. die Zellkerndichte. Die Myelinscheiden besitzen stark streuende Eigenschaften, welche aufgrund des Tumorwachstums graduell zerstört werden [20]. Gesunde weiße Masse besitzt einen hohen Anteil an Myelinscheiden und zeigt hohe Werte für  $\mu$  und  $I_0$ . Durch die graduelle Abnahme des Myelingehtes mit zunehmender Tumordinfiltration in weißer Masse sinken die Streueigenschaften und somit auch die Werte für die beiden optischen Parameter. Gesunde graue Masse besitzt hingegen einen sehr geringen Anteil an Myelinscheiden, weshalb sich bestimmten Werte der optischen Parameter eher tumorinfiltrierter weißer Masse annähern. Neben der Zersetzung der Myelinscheiden hat die Tumordinfiltration zu Folge, dass die Zelldichte sich erhöht. Der Grund dafür könnte der erhöhte Metabolismus im Tumorgewebe sein und die damit erhöhte Mitoserate. Die erhöhte Zellkerndichte wirkt sich auf die Streuanisotropie aus. Die erhöhte Anzahl der Tumorzellen führt zu einer Erhöhung der Vorwärtsstreuung, wodurch sich die Eindringtiefe

des Lichtes sich ebenfalls erhöht. Aufgrund der erhöhten Eindringtiefe wird  $\mu_t$  kleiner. Im Vergleich zu gesunder grauer Masse besitzt stark tumorinfiltrierte weiße Masse eine höhere Zellkerndichte und somit eine höhere Streuanisotropie. Yaroslavsky et al. haben mit Hilfe einer Ulbricht-Kugel die Anisotropie von weißer Masse ( $\sim 0,88$ ), grauer Masse ( $\sim 0,90$ ) und eines Astrozytoms (WHO 2) ( $\sim 0,96$ ) für die OCT relevanten Wellenlängenbereich von 800-1100nm bestimmt [21]. Die gemessenen Anisotropiewerte zeigen, dass der Einfluss der Zellkerndichte auf die Anisotropie plausibel ist. Jedoch muss ergänzt werden, dass die Datenlage hinsichtlich des Anisotropiefaktors von Hirntumor in der Literatur als schwierig zu bezeichnen ist.

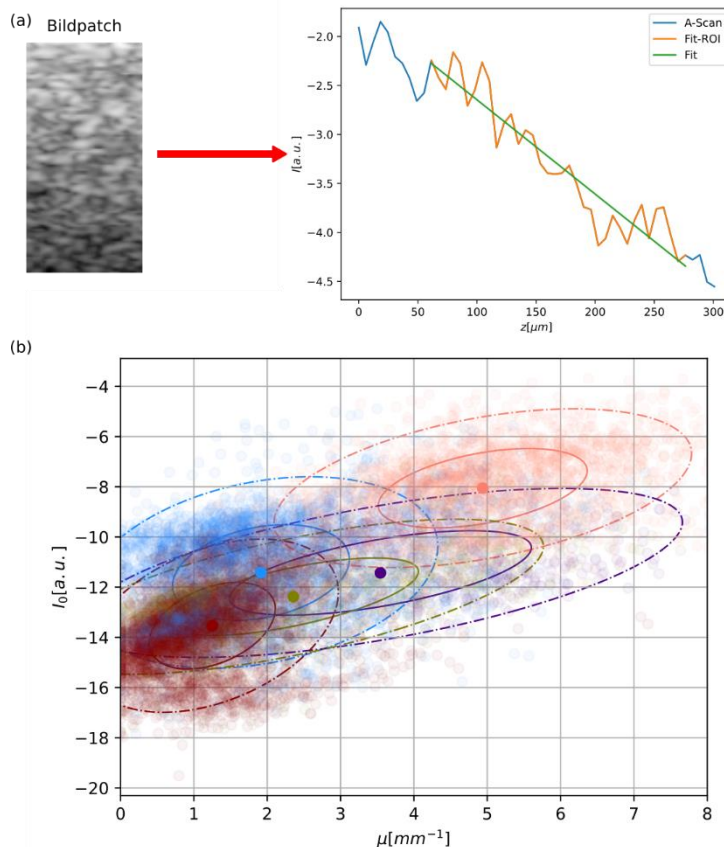


Abbildung 13 (a) Beispielhafte Anwendung der linearen Regression auf dem mittleren A-Scan des extrahierten OCT-Bild-Patches des OMES-Systems (a). Punktwolke zur Darstellung der Cluster, welche sich basierend auf den optischen Parametern für die untersuchten Gewebe mit dem OMES-System bilden (b) (gesunde Weiße Masse (WM0%), weiße Masse mit geringer Tumorinfiltration (WM0-30%), weiße Masse mit mittlerer Tumorinfiltration (WM30-60%), weiße Masse mit hoher Tumorinfiltration (WM>60%) und graue Masse 0% Tumorinfiltration (GM0%)). Der Punkt zeigt jeweils den Mittelpunkt des Clusters für das jeweilige Gewebe. Die durchgezogene Linie stellt den Bereich dar in dem 68% der Daten liegen und die gestrichelte Linie den Bereich mit 95% der Daten.

Um die Unterschiede zwischen den beiden Systemen und den unterschiedlichen Pathologien besser bewerten zu können, wurden die optischen Parameter in Abbildung 14 passend aufgeteilt. Die optischen Parameter wurden anders als in Abbildung 13 (b) hier getrennt aufgeführt, um eine differenziertere Aussage über das Verhalten bei zunehmender Tumorinfiltration treffen zu können. Unabhängig vom OCT-System und Pathologie zeigen die bestimmten optischen Parameter, die bereits oben erwähnten Trends. Es ist ebenfalls zu sehen, dass die Auswirkungen der Tumorinfiltration für die unterschiedlichen Pathologien relativ ähnlich sind. Das deutet darauf hin, dass die unterschiedlichen Tumorarten einen ähnlichen Einfluss bei der Veränderung des Gewebes und dessen optischer Eigenschaften haben. Generell verhalten sich  $I_0$  und  $\mu$  proportional zueinander, jedoch ist festzustellen, dass sich Änderungen in den Gewebeeigenschaften relativ gesehen stärker auf  $I_0$  auswirken, als auf  $\mu$ .

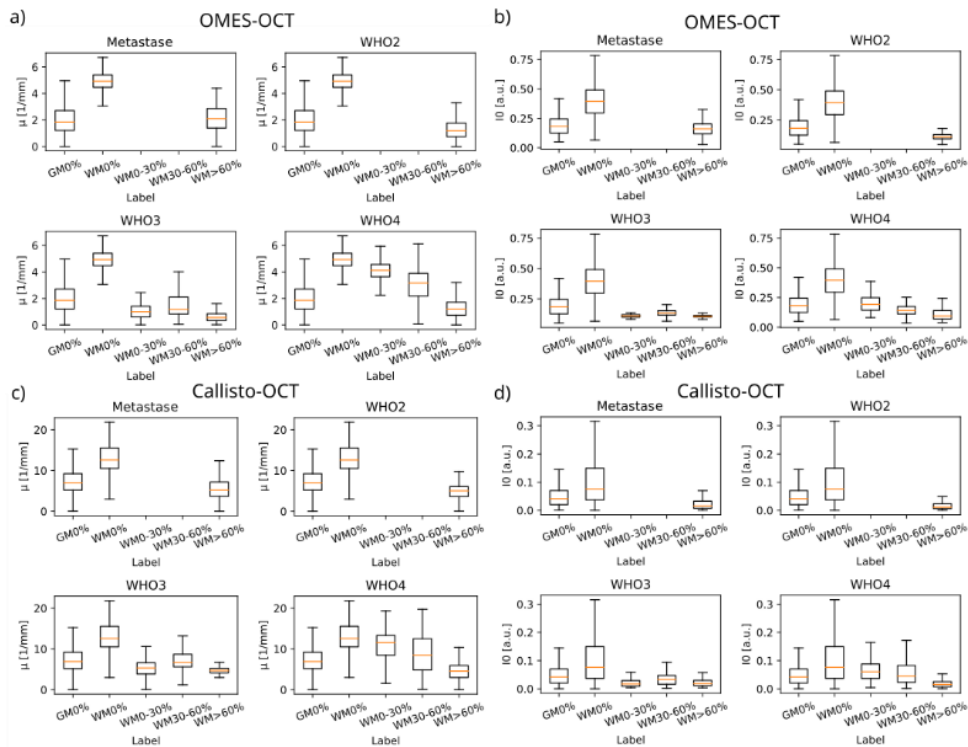


Abbildung 14 Ermittelte optische Parameter  $\mu$  und  $I_0$  für die beiden OCT-Systeme OMES (a, b) und Callisto (c, d) für die vier unterschiedlichen Pathologien. Orange markiert den Medianwert der optischen Parameter innerhalb des Boxplots.  $I_0$  zeigt hier den linearisierten Wert, welcher zu dem Maximum der bestimmten  $I_0$  normiert wurde. Die optischen Parameter wurden für die folgenden Gewebe ermittelt: Weiße Masse 0% Tumordinfiltration = WM0%, weiße Masse 0-30% Tumordinfiltration = WM0-30%, weiße Masse 30-60% Tumordinfiltration = WM30-60%, weiße Masse >60% Tumordinfiltration = WM>60% und graue Masse 0% Tumordinfiltration = GM0%. [Entnommen aus [22]].

Mit Hilfe einer Klassifikation sollte ermittelt werden, wie gut Tumorgewebe von gesundem Hirngewebe getrennt werden kann [22]. Neben der Tumorklassifikation dienten die Ergebnisse der Klassifikation als weitere Vergleichsgrundlage zwischen den beiden OCT-Systemen. Hierzu wurden vier unterschiedliche Klassifikationsaufgaben festgelegt, welche in ihrer Schwierigkeit und Komplexität zunehmen. Die erste Klassifikationsaufgabe (I) berücksichtigte nur gesunde weiße Masse und tumorinfiltrierte weiße Masse mit einem Infiltrationsgrad von >60%. Für die zweite Aufgabe (II) wurden die Daten der weißen Masse mit einem Infiltrationsgrad von 30%-60% den Tumordaten hinzugefügt. Das Gleiche geschah bei der dritten Aufgabe (III) mit den Daten mit einer Tumordinfiltration von >60%. Die vierte Klassifikationsaufgabe (IV) behandelte die Trennung von gesundem und tumorösem Gewebe auf Basis des gesamten Datensatzes, indem die Daten für gesunde graue Masse mit den gesunden Daten für weiße Masse zusammengelegt wurden. Für die Klassifikation wurden zwei Ansätze gewählt. Der erste Ansatz basiert auf den OCT-Bild-Patches und der zweite Ansatz nutzt die optischen Parameter, welche aus den Bild-Patches bestimmt wurden. Durch dieses Vorgehen lässt sich zusätzlich evaluieren, ob die optischen Parameter bereits ausreichen, um eine signifikante Trennung durchzuführen, oder ob die zusätzlichen Informationen der OCT-Bild-Patches dabei helfen, das Klassifikationsergebnis zu verbessern. Für die Klassifikation auf Basis der OCT-Bild-Patches wurde ein neuronales Netzwerk verwendet. Die genutzte Architektur nutzt unter anderem eine Reihe von Faltungsoperationen (siehe Abbildung 15 (a)), wodurch das genutzte Netzwerk auch als Faltungsnetzwerk (CNN, engl. convolutional neural network) bezeichnet werden kann. Das CNN erlaubte die Bestimmung weiterer Merkmale aus den Bild-Patches, als nur die optischen Parameter, welche für die Trennung des gesunden Gewebes vom pathologischen Gewebe hilfreich sind. Für die Merkmalsextraktion verwendet das CNN eine Folge von Faltungsblöcken, ähnlich zu dem U-Net. Nach der Merkmalsextraktion durch die Faltungsblöcke wurde das Ergebnis vektorisiert, wodurch ein Merkmalsvektor für die Klassifikation erzeugt wird. Die Zuordnung der CNN-Merkmale zu den unterschiedlichen Klassen erfolgte mit zwei Schichten. Da es sich bei der Klassifikation um eine binäre Trennung zwischen gesundem Gewebe und Tumor handelt, wurde das Ergebnis mit einer Sigmoid-Funktion binarisiert.

Neben der Klassifikation auf Basis der OCT-Bild-Patches wurde zusätzlich eine Klassifikation auf Basis der extrahierten optischen Parameter durchgeführt. Mit Hilfe dieser Klassifikation sollte überprüft werden, ob die optischen Parameter alleine ausreichen, um die Tumorerkennung durchzuführen, oder

ob das neuronale Netzwerk in der Lage ist mehr Merkmale aus den OCT-Bild-Patches zu extrahieren. Hierzu wurde ein neuronales Netzwerk erstellt, welches nur aus zwei Schichten besteht (siehe Abb. Abbildung 15 (b)). Genau wie bei dem CNN wird das Ergebnis der aus diesen Schichten durch eine Sigmoid-Funktion binarisiert. Das neuronale Netzwerk nutzte nur die OP-Merkmale, bestehend aus den optischen Parametern  $I_0$  und  $\mu$ . Die Vorgehensweise bei Training ist mit Ausnahme von der Augmentierung der Daten die gleiche, wie bei der Klassifikation durch das CNN auf Basis der OCT-Bild-Patches. Somit unterscheiden sich die beiden Ansätze lediglich in Art der Merkmale, welche dem Netzwerk zu Klassifikation bereitgestellt werden.

Für das Training des neuronalen Netzwerkes aus Abbildung 15 (a) wurde eine k-fache Kreuzvalidierung verwendet. Hierbei wurde das Training 15-mal wiederholt, wobei jeder Patient einmal als Testdatensatz verwendet wurde und die restlichen Patienten den Trainingsdatensatz stellten. Der Mittelwert der Klassifikationsergebnisse bildet dann die Gesamtperformance des Ansatzes. Es wurde sich für diese Form der Evaluierung entschieden, um so die Maximalanzahl an Daten für das Training zu nutzen. Aufgrund der unterschiedlichen Probenanzahl zwischen den Patienten und der unterschiedlichen Verteilung der Gewebearten innerhalb eines Patienten war es schwer einen repräsentativen Testdatensatz festzulegen. Aus diesem Grund war es sinnvoller, dass jeder Patient einmal als Testdatensatz verwendet wurde. Um die Unausgelichenheiten in der Probenanzahl pro Patient und die Verteilung der Gewebearten innerhalb der Trainingsdaten zu berücksichtigen wurden die Daten in unterrepräsentierten Patienten und Gewebearten so lange vervielfacht, bis jede Gewebeart und jeder Patient innerhalb des Trainingsdatensatzes gleich stark repräsentiert wurde. Für die Regularisierung während des Trainings wurden die OCT-Bild-Patches augmentiert, indem diese zufällig horizontal oder vertikal gespiegelt wurden und zufällig horizontal verschoben wurden.

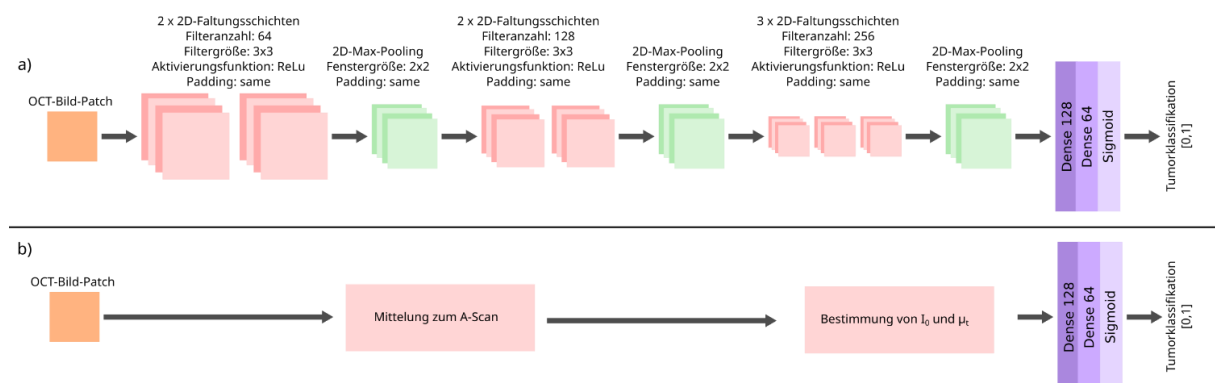


Abbildung 15 Aufbau der neuronalen Netzwerke für die Gewebeklassifikation auf Basis der OCT-Bild-Patches (a) und der extrahierten optischen Parametern (b). [Entnommen aus [22]]

Die Ergebnisse der Gewebeklassifikation auf Basis der Ex-vivo-Daten sind in Tabelle Abbildung 16 zusammengefasst. Es ist deutlich zu sehen, dass unabhängig vom Klassifikationsansatz und OCT-System die besten Ergebnisse für die Klassifikationsaufgabe I erreicht wurden. Das war erwartbar, da bereits in Abbildung 13 (b) eine deutliche Trennung zwischen weißer Masse und stark tumorinfiltrierter weißer Masse ersichtlich war. Mit Zunahme der Komplexität der Klassifikationsaufgabe sinken ansatz- und systemübergreifend die Werte für Sensitivität und Spezifität. Dieser Trend erscheint plausibel, da die Ähnlichkeit zwischen weißer Masse und tumorinfiltrierter weißer Masse mit sinkender Tumorinfiltration zunimmt und somit eine Trennung dieser Gewebearten schwieriger wird. In Klassifikationsaufgabe IV ist kaum noch eine gute Trennung der Gewebearten möglich, da sich gesunde graue Masse optisch zwischen weißer Masse mit Tumorinfiltration und gesunder weißer Masse anordnet (siehe Abbildung 13 (b)). Ebenfalls ist festzustellen, dass die Schwankungen der Werte für die Sensitivität und Spezifität mit zunehmender Komplexität der Aufgaben größer werden. Dies ist plausibel, da bei den komplexeren Klassifikationsaufgaben Grenzfälle eingeführt werden können, welche je nach Beschaffenheit des gerade genutzten Trainingsdatensatzes entweder korrekt oder falsch klassifiziert werden. Bei den Ergebnissen des OMES-Systems ist festzustellen, dass die beiden Klassifikationsansätze eine ähnliche Performance über die unterschiedlichen Klassifikationsaufgaben besitzen. Es wäre zu erwarten, dass das CNN auf Basis der OCT-Bild-Patches in der Lage ist, noch weitere Merkmale aus den Daten zu extrahieren. Eine Erklärung hierfür könnte die geringe Auflösung des Systems sein, was dazu führt, dass sich das CNN, ähnlich wie der Ansatz basierend auf den OP-Merkmalen auf die optischen Parameter beschränkt, da diese die markantesten Merkmale den OCT-Bild-Patches waren. Bei dem Callisto-System ist ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden

Klassifikationsansätzen bei der ersten Klassifikationsaufgabe zu sehen. Das deutet daraufhin, dass das CNN mehr Informationen aus den OCT-Bild-Patches des Callisto-Systems zu ziehen und diese für die Trennung zu nutzen. Der Grund hierfür könnte die höhere Auflösung des Callisto-Systems sein. Die extrahierten Merkmale verlieren mit zunehmender Komplexität an Aussagekraft, da für die restlichen Klassifikationsaufgaben die Performance der beiden Ansätze ähnlich ist.

OCT-System	Merkmale	Metrik	I	II	III	IV
OMES-OCT	CNN	Sensitivität	0.97 ± 0.05	0.89 ± 0.16	0.89 ± 0.14	0.58 ± 0.20
OMES-OCT	CNN	Spezifität	0.95 ± 0.06	0.86 ± 0.22	0.79 ± 0.29	0.63 ± 0.27
OMES-OCT	OP	Sensitivität	0.92 ± 0.20	0.87 ± 0.20	0.84 ± 0.21	0.56 ± 0.34
OMES-OCT	OP	Spezifität	0.96 ± 0.07	0.94 ± 0.08	0.86 ± 0.24	0.62 ± 0.38
Callisto-OCT	CNN	Sensitivität	0.91 ± 0.14	0.85 ± 0.19	0.83 ± 0.19	0.54 ± 0.19
Callisto-OCT	CNN	Spezifität	0.95 ± 0.03	0.76 ± 0.20	0.62 ± 0.13	0.65 ± 0.17
Callisto-OCT	OP	Sensitivität	0.81 ± 0.25	0.75 ± 0.24	0.72 ± 0.25	0.63 ± 0.26
Callisto-OCT	OP	Spezifität	0.85 ± 0.06	0.81 ± 0.08	0.76 ± 0.10	0.57 ± 0.22

Abbildung 16 Sensitivität und Spezifität für die unterschiedlichen Klassifikationsaufgaben für das jeweilige OCT-System und den zwei Klassifikationsansätzen. Die Werte für die Sensitivität und Spezifität ergaben sich aus der Mittelung der Einzelperformance jedes Patienten als Testdatensatz aufgrund der  $k$ -fache Kreuzvalidierung. Die vier Klassifikationsaufgaben bestanden aus der Klassifikation von: weißer Masse mit 0% Tumordinfiltration und weißer Masse mit Tumordinfiltration >60% (I); weißer Masse mit 0% Tumordinfiltration und weißer Masse mit Tumordinfiltration >30% (II); weißer Masse mit 0% Tumordinfiltration und weißer Masse mit Tumordinfiltration >0% (III); weißer und graue Masse mit 0% Tumordinfiltration und weißer Masse mit Tumordinfiltration >0% (IV). [Entnommen aus [21]]

### 2.7.1.2 Erweiterte Gewebeanalyse

Im vorherigen Abschnitt Kapitel wurde gezeigt, dass eine Trennung von gesunder weißer Masse und stark tumordinfiltrierter weißer Masse möglich ist. Zusätzlich stellte sich heraus, dass die Identifikation von Tumorgewebe, unter Berücksichtigung von gesunder grauer Masse, mit dem vorgestellten Ansatz nicht möglich war. Dieses Kapitel hat das Ziel, den initialen Ansatz weiterzuentwickeln und die Gewebeanalyse zu vertiefen. Hierfür wurden die Limitierungen in der vorherigen Auswertung herausgearbeitet und in den vorgestellten Ansätzen berücksichtigt. Eine Limitierung behandelt die Vernachlässigung von strukturellen Informationen. Diese können zum Beispiel durch die Mittelung der OCT-B-Scans stärker hervorgehoben werden. Im initialen Ansatz wurden die OCT-B-Scans nicht gemittelt. Der Grund hierfür lag in der Vergleichbarkeit der beiden Ex-vivo-OCT-Systeme. Aufgrund der geringen Aufnahmegeschwindigkeit des Callisto-Systems wurden die OCT-Volumen in der B-Scan-Richtung unterabgetastet, was dazu führte das der Abstand zwischen zwei OCT-B-Scans so groß ist, dass sich die Bildinhalte stark voneinander unterscheiden. Eine Mittelung der B-Scans des Callisto-Systems würde somit zu einem starken Verschmieren und Reduzierung möglicher Strukturinformation führen. Bei dem OMES-System liegt der gegenteilige Fall vor, hier wurde die Probe fünffach überabgetastet. Dies erlaubte eine sinnvolle Mittelung der OCT-B-Scans des OMES-Systems innerhalb der lateralen Auflösung. Aus diesem Grund wurden in den folgenden Untersuchungen nur die Daten des OMES-Systems verwendet.

Für die Gewebeklassifikation wurden drei Ansätze zur Merkmalsextraktion gewählt, welche im Rahmen der Analyse miteinander verglichen wurden. Der erste Ansatz ergänzt die optischen Merkmale aus dem vorherigen Abschnitt um eine Auswahl von Strukturmerkmalen, welche zum Teil anderen Veröffentlichungen gute Trennungen ermöglicht haben [14]. Bei dem zweiten Ansatz wurden die Merkmale während einer überwachten Klassifikation mittels eines neuronalen Netzwerkes von dem Netzwerk selbst ermittelt, ähnlich wie der CNN-Ansatz aus dem vorherigen Abschnitt. Der dritte Ansatz beschäftigte sich mit der Merkmalsbestimmung mit Hilfe eines Variational-Autoencoders (VAE). Dabei handelt es sich um eine unüberwachte Methode zur Dimensionsreduktion, ähnlich zu einer Hauptkomponentenanalyse [23]. Auf Basis der unterschiedlichen Merkmale wurden neuronale Netzwerke trainiert, welche eine Klassifikation zwischen gesunder weißer Masse, gesunder grauer Masse und stark tumordinfiltrierter weißer Masse durchgeführt haben. Die Klassifikation wurde um eine Quantifizierung der Klassifikationsunsicherheit erweitert, indem ein evidenzbasierter Lernansatz verwendet wurde möglich war [24]. Für einen späteren Anwendungsfall ist es sinnvoll dem Chirurgen anzugeben, wie sicher die Klassifikation ist. Des Weiteren erweiterte die Betrachtung der Unsicherheiten die Auswertung der Ergebnisse, da zum Beispiel nur sichere Klassifikation berücksichtigt werden konnten.

Die Abbildung 17 zeigt einen Überblick über die extrahierten Merkmale für den ersten Ansatz und die Verteilung der zu klassifizierenden Gewebetypen. Es ist deutlich, dass alle ausgewählten Merkmale helfen, die Unterschiede zwischen den verschiedenen Gewebetypen herauszuarbeiten. Besonders der Unterschied zwischen weißer Masse mit 0% Tumordinfiltration und stark tumordinfiltrierter weißer Masse (>60%), ebenso wie der Übergang, welcher durch die steigende Tumordinfiltration entsteht, ist in allen Merkmalen sichtbar. Es ist auch zu sehen, dass die Werte für die graue Masse der weißen Masse mit Tumordinfiltration ähneln. Bei den Merkmalen, die aus einer Gray-Level-Co-Occurrence-Matrix (GLCM) berechnet wurden, zeigt sich, dass Parameter, die Ordnung und Homogenität quantifizieren ( $H_{\text{Homogen}}$ ,  $H_{\text{Korrelation}}$  und  $H_{\text{ASM}}$ ), höhere Werte für gesunde weiße Masse aufweisen als tumordinfiltrierte weiße Masse. Im Gegensatz dazu dreht sich der Trend bei  $H_{\text{Ungleichheit}}$  und  $H_{\text{Kontrast}}$  um, da diese Parameter Unregelmäßigkeit und Heterogenität quantifizieren. Diese Trends sind plausibel, da weiße Masse aufgrund der dicht gepackten Nervenfasern eine hohe Ordnung und Homogenität aufweist, welche durch die Tumordinfiltration zerstört wird. Neben den GLCM-Merkmalen wurden auch Texturmerkmale von Laws et al. ermittelt. Dabei handelt es sich um Merkmale durch die Anwendung verschiedener Filterkombinationen berechnet werden [25]. Die angewandten Filterkombinationen zeigen die gleichen Trends, bis auf die Filterkombination (L5R5, R5L5). Da die Filterkombinationen die Unterschiede höher quantifizieren, sollten die Trends mit den Messungen von  $H_{\text{Ungleichheit}}$  und  $H_{\text{Kontrast}}$  vergleichbar sein, was sie in diesem Fall auch sind. Bei  $R^2$  handelt es sich um das Bestimmtheitsmaß, welches in der Regel angibt, wie gut die lineare Fit-Gerade bei der Bestimmung der optischen Parameter von den Messwerten abweicht. Indirekt kann dieser Parameter genutzt werden, um die Heterogenität des Gewebes zu quantifizieren. Trotz der simplen Bestimmung von  $R^2$  handelt es sich um einen sehr aussagekräftigen Parameter, welcher anders als die anderen Strukturmerkmale eine höhere Ähnlichkeit zwischen gesunder weißer Masse und grauer Masse zeigt. Bei den Parametern, welche aus Bildgradienten gewonnen wurden, zeigt sich, dass die mittlere Vektorlänge der Gradienten  $L$  mit den Ergebnissen der Texturmerkmale von Laws Laws et al. übereinstimmt. Dass war zu erwarten, da die Bestimmung sehr ähnlich ist. Die Varianz der Gradientenwinkel  $\text{var}(\theta)$  korreliert mit der Homogenität des Gewebes. Es ist zu vermuten, dass die Homogenität und eine geringe Variation der Bildintensitäten zu einer zufälligen Ausrichtung der Gradientenwinkel führt, wodurch die hohe Variation erreicht wird. Im Gegensatz dazu führen eine hohe Heterogenität und ein damit entstehender Kontrast zu einer geringeren Varianz der Gradientenwinkel. Neben den optischen Parametern  $I_0$  und  $\mu$  wurde noch die Summe aller Intensitäten eines Bild-Patches  $\Sigma I$  den optischen Parametern hinzugefügt. Es ist in Abbildung 17 zu sehen, dass die optischen Parameter eine aussagekräftige Merkmale für die Unterscheidung der unterschiedlichen Gewebetypen sind. Gerade  $I_0$  und  $\Sigma I$  sind von allen aufgeführten Merkmalen, die Parameter anhand welcher der Unterschied zwischen grauer Masse und stark tumordinfiltrierter weißer Masse am größten ist.

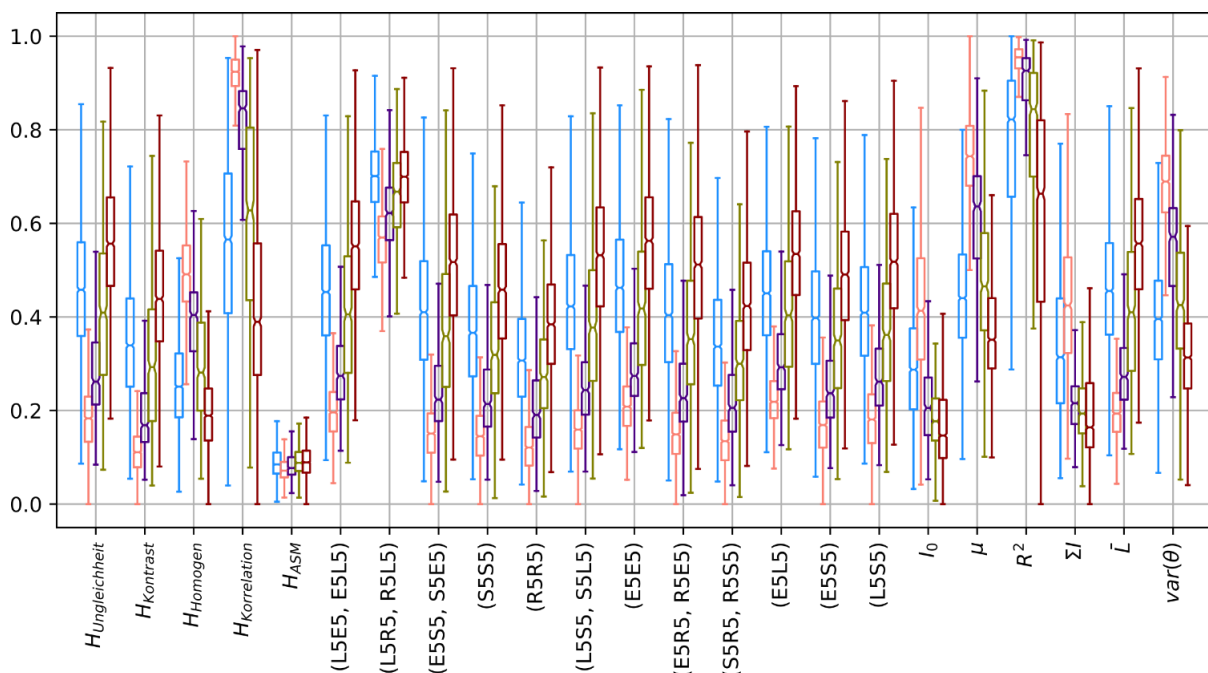


Abbildung 17 Vergleich aller bestimmten strukturellen Merkmale und der optischen Parameter. Die folgenden Gewebetypen wurden berücksichtigt: graue Masse mit 0% Tumordinfiltration (blau), weiße Masse mit 0% Tumordinfiltration (rosa), weiße Masse mit 30-60% Tumordinfiltration (lila), weiße Masse mit 30-60% Tumordinfiltration (grün) und weiße Masse mit >60% Tumordinfiltration (rot).

Ein Variational-Autoencoder ist ein neuronales Netzwerk bei dem eine Dimensionsreduktion eines Eingabebildes durchgeführt wird, ähnlich zu einer Hauptkomponentenanalyse [23]. Es eignet sich somit für die Extraktion von optischen als auch strukturellen Merkmalen aus einem OCT-Bild-Patch. Im Folgenden wird beschrieben, wie der VAE aufgebaut war und wie das Training strukturiert wurde. Abschließend wird kurz auf die Ergebnisse des Trainings zur Merkmalsextraktion eingegangen.

Der Aufbau des VAE besteht aus einem Encoder-Pfad und einem Decoder-Pfad. Der Encoder-Pfad reduziert die Informationen eines Bildes zu einem latenten Merkmalsvektor  $z$ .  $z$  enthält die reduzierten Informationen des Eingabebildes. Mit Hilfe des Decoder-Pfades kann das Originalbild aus  $z$  rekonstruiert werden (siehe Abbildung 18). Um zu gewährleisten, dass der latente Raum, aus dem  $z$  gewonnen wird, die Unterschiede in den OCT-Bild-Patches sauber abbilden kann und ähnliche Bildinhalte innerhalb des latenten Raumes nahe beieinanderliegen, entspricht die Ausgabe des Encoder-Pfades eines VAE einer Menge aus Gauß-Verteilungen, aus der das jeweilige Merkmal entnommen werden kann. Die Ausgabe des Encoder-Pfades besteht bei einem VAE somit aus zwei Vektoren  $z_\mu$  und  $z_\sigma$ . Anhand dieser Vektoren lässt sich der latente Vektor  $z$  bestimmen (siehe Abbildung 18).

Für das Training wurde ein VAE mit einem dreistufigen Encoder und Decoder konstruiert (siehe Abbildung 18). Zusätzlich wurden die Bild-Patches auf die Größe von 52Pixel x 52Pixel vergrößert, indem der Rand jedes Bild-Patches erweitert wurde. 75% des Datensatzes wurden für Training des Netzwerkes genutzt, während die restlichen 25% wurden zum Testen genutzt. Eine Trennung der einzelnen Patienten oder Gewebearten wurde nicht durchgeführt. Das Training wurde für 300 Epochen durchgeführt und die ADAM-Optimierung mit einer Lernrate von  $1e-4$  wurde verwendet. Für die Größe von  $z$  wurde sich empirisch für eine Länge  $L_z$  von 128 entschieden (siehe Abbildung 19 (a, b)).

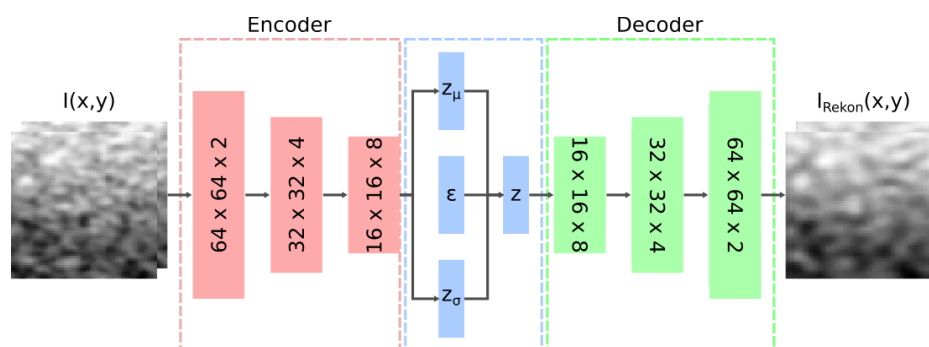


Abbildung 18 Architektur des verwendeten VAE.

Die in Abbildung 19 (c, d) dargestellten Gewebebeziehungen zwischen den Verteilungen des Rekonstruktionsfehlers  $L_{\text{Rekon}}$  und der Verteilungen der ersten zwei Hauptkomponenten einer PCA, die auf den codierten latenten Vektoren  $z$  aller OCT-Bild-Patches angewandt wurde, sind ähnlich zu den Erkenntnissen aus Abbildung 17. Auch hier weisen gesunde graue Masse und stark tumorinfiltrierte weiße Masse eine Ähnlichkeit auf, während gesunde weiße Masse sich klar abgrenzt. Die Zwischenstufen der Tumorinfiltration ordnen sich plausibel zwischen gesunder und stark tumorinfiltrierter weißer Masse ein. Aus den geringen Werten von  $L_{\text{Rekon}}$  lässt sich ebenfalls eine Aussage über die Homogenität des Gewebes treffen. Ein homogenes Gewebe, wie weiße Masse lässt sich besser mit den Werten von  $z$  rekonstruieren, da starke Intensitätsunterschiede nicht modelliert werden müssen. Dieser Umstand führt zu einem geringeren Rekonstruktionsfehler. Gleichzeitig deutet ein hoher Wert für  $L_{\text{Rekon}}$  auf ein heterogenes Gewebe hin. Anhand der Ergebnisse lässt sich somit ableiten, dass gesunde graue Masse eine ähnliche Heterogenität besitzt, wie stark tumorinfiltrierte weiße Masse. Anhand der  $z$ , welche sich an den Mittelpunkten der Verteilungen in Abb. Abbildung 19 (d) ergeben, wurden repräsentative OCT-Bild-Patches mit dem Decoder erzeugt (siehe Abb. Abbildung 19 (b)). Anhand dieser können für die jeweiligen Gewebearten repräsentative Merkmale festgestellt werden. Auch hier lässt sich die Homogenität und die hohe Abschwächung für weiße Masse feststellen. Ebenfalls ist die Zunahme der Heterogenität und die sinkende Lichtabschwächung mit zunehmender Tumorinfiltration sichtbar und deckt sich mit den Erkenntnissen aus Abbildung 17. Der VAE bestätigt gewissermaßen, dass die Abschwächung und die Betrachtung der Homogenität die wichtigsten Merkmale zur Unterscheidung der unterschiedlichen Gewebearten sind.

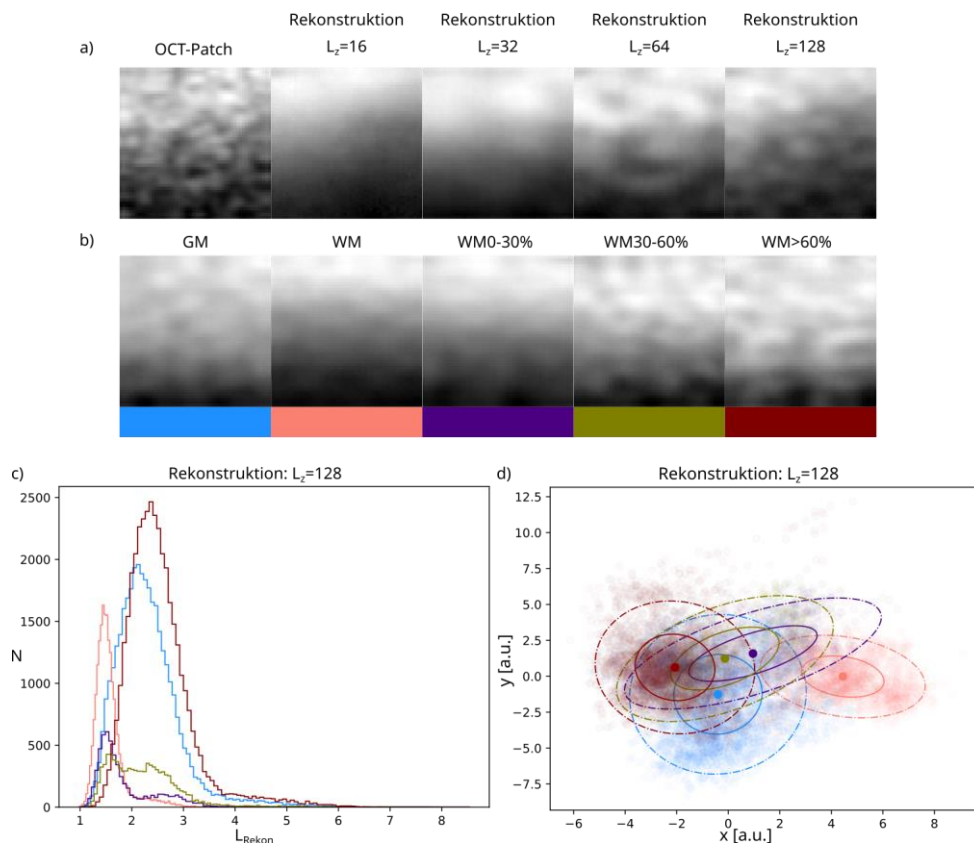


Abbildung 19 a) Rekonstruktionen eines OCT-Bild-Patches mit VAE mit unterschiedlich großen latenten Vektoren z. b) Repräsentative OCT-Bild-Patches für jede Gewebeart, die aus den Mittelpunkten der Merkmalsverteilungen aus (d) mit dem Decoder generiert wurden. c) Die Verteilung von  $L_{Rekon}$  für die unterschiedlichen Gewebearten. d) Verteilung der ersten zwei Hauptkomponenten einer PCA, welche auf allen  $z$  angewendet wurde, für die unterschiedlichen Gewebearten. Die Gewebearten sind farblich folgendermaßen markiert: gesunde graue Masse (GM, blau), gesunde weiße Masse (WM, rosa), weiße Masse mit einer Tumordinfiltration  $>0-30\%$  (WM0-30%, lila), weiße Masse mit einer Tumordinfiltration  $>30-60\%$  (WM30-60%, grün) und weiße Masse mit einer Tumordinfiltration  $>60\%$  (WM $>60\%$ , rot).

Im Folgenden wird die Gewebeklassifikation auf Basis der unterschiedlichen Methoden zur Merkmalsextraktion behandelt (siehe Abbildung 20). Das Ziel war eine Verbesserung der Ergebnisse aus dem vorherigen Klassifikationsversuch. Anders als davor wurden bei der Klassifikation nur die drei Hauptgewebearten: graue Masse, weiße Masse und weiße Masse mit einer Tumordinfiltration  $>60\%$ , während des Trainings berücksichtigt. Die Zwischenstufen der Tumordinfiltration wurden für einen stabileren Trainingsprozess erst in der Evaluation berücksichtigt. Insgesamt wurden drei Ansätze konzipiert und miteinander verglichen. Der erste Ansatz verwendet die optischen und strukturellen Parameter, während der zweite Ansatz die codierten Merkmalsvektoren des VAE nutzt. Der dritte Ansatz ist eine überwachte Klassifikation auf Basis der OCT-Bild-Patches und bestimmt selbst einen Merkmalsvektor unter der Bekanntheit des Gewebetyps jedes OCT-Bild-Patches. Alle Ansätze verwenden ein neuronales Netzwerk, welches das evidenzbasierte Lernen nutzt, um die Klassifikationsunsicherheiten zu ermitteln und diese mit in die Evaluierung der Daten einfließen zu lassen.

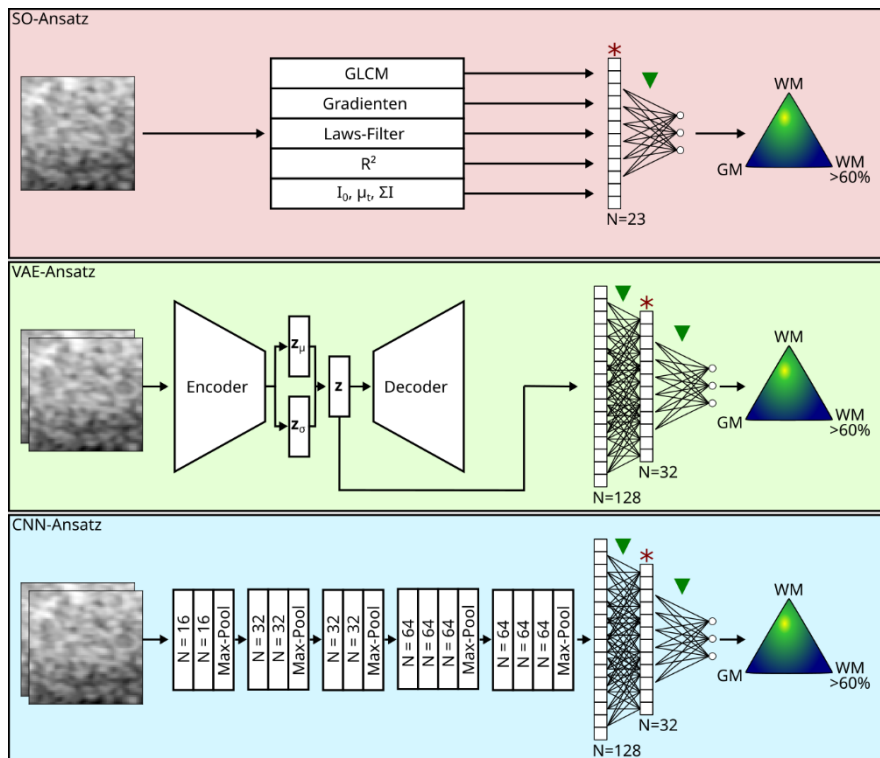


Abbildung 20 Übersicht die Ansätze zur Extraktion der Merkmale und welche Merkmale für Klassifikation verwendet wurden. Roter Stern = Merkmale genutzt für Hauptkomponentenanalyse. Grünes Dreieck = Anwendung von Drop-Outs mit 50% Ausschussrate während des Trainingsprozesses.

Für den ersten Ansatz wurden für jeden OCT-Bild-Patch die strukturellen und optischen Merkmale (SO-Merkmale) bestimmt. Für diesen SO-Ansatz wurden für jeden OCT-Bild-Patch ein Merkmalsvektor mit 23 Merkmalen ermittelt. Für ein besseres Training wurden alle bestimmten Merkmalsvektoren global normiert. Im zweiten Ansatz wurden die Merkmale mit Hilfe des VAE aus den OCT-Bild-Patches ermittelt, weshalb dieser Ansatz folgend auch VAE-Ansatz genannt wird. Der Merkmalsvektor besteht in diesem Falle aus dem bestimmten latenten Vektor. Auch hier wurden die Merkmalsvektoren vor dem Training mit Gleichung global normiert. Für den dritten Ansatz wurde eine überwachte Klassifikation mit einem Faltungsnetzwerk verwendet. Mit Hilfe der unterschiedlichen Faltungsschichten extrahiert das neuronale Netzwerk selbständig einen Merkmalsvektor basierend auf den Bild- und Klasseninformationen. Aus diesem Grund wird dieser Ansatz auch als CNN-Ansatz bezeichnet. Das Netzwerk besteht hierbei aus fünf Faltungsblöcken, welche aus zwei bis drei Faltungsschichten und einer Max-Pooling-Schicht bestehen. Die Anzahl der Filter pro Faltungsschicht ist in Abbildung 20 festgehalten. Genau wie beim VAE wurden die OCT-Bild-Patches mit Gleichung global und lokal normiert, wodurch jeder Patch in zwei Kanäle aufgeteilt wurde. Jeder Bild-Patch wurde vor der Eingabe zufällig horizontal oder vertikal gespiegelt. Der Trainingsprozess wurde für alle drei Ansätze gleich gehalten, um später eine bessere Vergleichbarkeit zu erreichen. Für das Training wurde eine K-Fold-Kreuzvalidierung verwendet. In diesem Fall gab es acht Testgruppen, die aus unterschiedlichen Patientenkombinationen bestanden. Die Testgruppen wurden so angelegt, dass jede der drei Gewebearten in den Gruppen vertreten war. Zusätzlich ist jeder Patient zweimal in den Testgruppen vertreten.

In

Abbildung 21 sind exemplarisch die Ergebnisse des Trainings der Testgruppe 1 für die unterschiedlichen Ansätze dargestellt. Die gezeigten Verteilungen der einzelnen Instanzen repräsentieren die ersten zwei Hauptkomponenten einer PCA. Die Hauptkomponenten wurden anhand der Merkmalsvektoren, welche in Abbildung 20 markiert wurden, ermittelt. Für die Konfiguration der PCA wurden lediglich die Merkmalsvektoren der Trainingsdaten der Testgruppe 1 genutzt. Anschließend wurden die Merkmalsvektoren der Trainingsdaten, der Testdaten und die Daten der Zwischenstufen der Tumordinfiltration der Testgruppe 1 mit der PCA in die zweidimensionalen Hauptkomponenten umgewandelt. Somit ermöglicht die PCA eine Visualisierung des Merkmalsraumes und Interpretation der Vorgänge innerhalb des neuronalen Netzwerkes. Bei Betrachtung der Verteilung der Trainingsinstanzen ist bei allen Ansätzen ein ähnlicher Trend sichtbar, was darauf hindeutet, dass trotz

der unterschiedlichen Merkmale vergleichbare Gewebebeziehungen von den neuronalen Netzwerken extrahiert wurden. Gesunde weiße Masse grenzt sich klar von den anderen beiden Gewebearten ab. Stark tumorinfiltrierte weiße Masse und gesunde graue Masse wiederum verlaufen stärker ineinander. Der geringe Grad an Durchmischung zeigt, dass während des Trainings gewebespezifische Merkmale gelernt wurden und eine gute Generalisierung vorhanden ist. Bei Betrachtung der Testinstanzen ist unabhängig von dem Ansatz eine hohe visuelle Übereinstimmung zu den Verteilungen der Trainingsinstanzen festzustellen. Neben den Testdaten wurden auch die Merkmalsvektoren von OCT-Bild-Patches von weißer Masse mit schwacher (0%-30%) und mittlerer (30%-60%) Tumorinfiltration des jeweiligen Ansatzes nach dem Training evaluiert. Die Verteilung dieser Instanzen wurde ebenfalls in Abbildung 21 dargestellt. Mit Hilfe dieser Daten ist es möglich zu untersuchen, ob die Daten innerhalb des Merkmalsraumes einer gewissen Logik folgen, zum Beispiel auf Grundlage des Grades der Tumorinfiltration. Auch hier ist unabhängig vom Ansatz eine ähnliche Verteilung festzustellen. Schwache Tumorinfiltration ordnet sich näher an gesunder weißer Masse an, während mittlere Tumorinfiltration sich zwischen gesunder weißer Masse und stark tumorinfiltrierter weißer Masse platziert. Diese Beobachtungen sind sehr plausibel und mit den Abbildung 14, Abbildung 17 und Abbildung 19 gemachten Zusammenhängen vergleichbar. Neben der Position der Instanzen wurde auch die Unsicherheit der Klassifikationen des jeweiligen Klassifikationsansatzes im Merkmalsraum bestimmt (siehe Abbildung 21). Neben der Unsicherheit in Form der Entropie wurde auch die Evidenz (hier: Reziprok der Entropie) berechnet. Diese verhält sich antiproportional zu der Entropie und gibt die Sicherheit an, mit der eine Klassifikation gemacht wurde. Der antiproportionale Zusammenhang ist deutlich in der Abbildung 21 zusehen. Es ist zu beobachten, dass für die Klassifikationen von gesunder weißer Masse ansatzübergreifend niedrige Unsicherheiten und hohe Evidenzen aufweist, ebenso wie für die Klassifikation von stark tumorinfiltrierter weißer Masse. Die Grenze, in Form der gemessenen Entropie, von weißer Masse zu den anderen Gewebearten ist jedoch klarer definiert, als die Grenze zwischen grauer Masse und stark tumorinfiltrierter weißer Masse. Dies ist besonders gut anhand der Entropieverteilung des VAE-Ansatzes zusehen.



Abbildung 21 Ergebnisse der Klassifikation mit den drei Ansätzen zur Merkmalsextraktion: Verteilung der Trainingsinstanzen, Verteilung der Testinstanzen, Verteilung von geringer und mittlerer Tumorfiltration in weißer Masse, die Klassifikationsunsicherheit in Form der Entropie und die Sicherheit einer Klassifikation in Form der logarithmierten Evidenz. Die folgenden Gewebe wurden hierbei berücksichtigt: graue Masse (GM), weiße Masse (WM), geringe Tumorfiltration (WM0-30%), mittlere Tumorfiltration (WM30-60%) und stark tumorfilierte weiß Masse (WM>60%).

Die Sensitivität aus Abbildung 16 wird weiter verwendet und wird im Zusammenspiel mit der Präzision auch als Recall bezeichnet (siehe Abbildung 22). Die dargestellten Werte wurden aus den Testergebnissen aller Testgruppen ermittelt. Die gewählten Grenzwerte für die Entropiegrenzen wurden empirisch gewählt. Um die Auswirkungen des Grenzwertes besser zu evaluieren, wurde hinter den Präzisions- und Sensitivitätswerten jeder Gewebeat der prozentuale Anteil der verbleibenden Instanzen angegeben. Ausgehend von Abbildung 22 ist zusehen, dass die Metriken für die drei Hauptklassen mit zunehmender Sicherheit unabhängig vom Ansatz steigen. Gleichzeitig nimmt die Anzahl der berücksichtigten Instanzen ab. Die Klassifikation von weißer Masse liefert, unabhängig vom Klassifikationsansatz, sehr gute Ergebnisse. Mit einem Entropiewert von 0,62 ist es möglich mindestens 75% aller Instanzen von weißer Masse mit einer Präzision von >0,92 und einer Sensitivität von 1,00 mit

den drei Ansätzen zu klassifizieren. Bei der Klassifizierung von grauer Masse und weißer Masse mit starker Tumordinfiltration zeigen der VAE- und CNN-Ansatz bis zu einem Entropiewert von  $<0,38$  eine ähnliche Performance. Danach zeigt der SO-Ansatz die besten Ergebnisse, jedoch mit nur einem Bruchteil der möglichen Daten. Bei der Klassifikation der Zwischenstufen der Tumordinfiltration in weißer Masse schneidet der SO-Ansatz am besten ab. Da die Evaluation dieser Daten separat durchgeführt wurde und es somit keine falsch positiven Ergebnisse geben konnte, ist die bestimmte Präzision für alle Ansätze 1,00, Der SO-Ansatz erreichte einen Recall-Wert von 0,61 für rund 50% der Daten. Zusammengenommen erreichten die drei Ansätze eine durchschnittlich eine Präzision von 0,83 und eine Sensitivität von 0,83 bei einer Entropie von  $<0,62$  und für eine Entropie von  $<0,38$  eine Präzision von 0,85 und eine Sensitivität von 0,86.

Ansatz	Entropie	GM			WM			WM60 %			WM0 % bis 60 %		
		Präzision	Recall	%	Präzision	Recall	%	Präzision	Recall	%	Präzision	Recall	%
SO-Ansatz	$<0,12$	0,94	0,87	2,05	1,00	1,00	20,02	0,91	0,96	2,05	1,00	0,64	1,52
	$<0,38$	0,71	0,74	26,72	0,99	1,00	48,68	0,79	0,76	23,93	1,00	0,67	17,36
	$<0,62$	0,67	0,69	56,24	0,96	1,00	74,47	0,79	0,76	58,11	1,00	0,61	44,72
	$<0,88$	0,62	0,64	100,00	0,93	0,98	100,00	0,77	0,73	100,00	1,00	0,54	100,00
VAE-Ansatz	$<0,12$	0,85	0,91	9,87	0,98	1,00	40,93	0,93	0,80	6,53	1,00	0,05	6,28
	$<0,38$	0,76	0,79	32,03	0,95	1,00	75,72	0,91	0,84	37,19	1,00	0,22	24,45
	$<0,62$	0,73	0,68	57,60	0,92	0,99	91,35	0,84	0,84	66,35	1,00	0,32	49,49
	$<0,88$	0,68	0,61	100,00	0,89	0,98	100,00	0,77	0,78	100,00	1,00	0,41	100,00
CNN-Ansatz	$<0,12$	0,84	0,96	10,63	0,99	1,00	31,31	0,95	0,64	4,32	1,00	0,18	3,19
	$<0,38$	0,73	0,80	30,93	0,96	1,00	63,88	0,90	0,82	42,64	1,00	0,41	18,94
	$<0,62$	0,74	0,74	56,35	0,93	0,99	80,26	0,85	0,82	66,70	1,00	0,45	40,29
	$<0,88$	0,67	0,66	100,00	0,89	0,96	100,00	0,76	0,74	100,00	1,00	0,43	100,00

Abbildung 22 Klassifikationsergebnisse für die beiden Ansätze für die Gewebe: graue Masse (GM), weiße Masse (WM), geringe bis mittlere tumorinfiltrierte weiße Masse (WM0-60%) und stark tumorinfiltrierte weiß Masse (WM>60%). Die berücksichtigte Unsicherheit ist die Entropie.

Die drei vorgestellten Klassifikationsansätze und die eingeführten Änderungen haben gezeigt, dass das Klassifikationsergebnis im Vergleich zu den initialen Ergebnissen beim Vergleich der beiden OCT-Systeme besser ist, wenn graue Masse mit in der Klassifikation berücksichtigt wird. Es wurde ebenfalls gezeigt, dass die Klassifikation von gesunder weißer Masse unabhängig vom Ansatz die besten Trennungswahrscheinlichkeiten liefert und dies bereits bei hohen Grenzwerten für die Unsicherheit. Dies bestätigt die initialen Ergebnisse auf Basis der optischen Parameter aus, welche bereits eine gute Trennung von weißer Masse anhand der optischen Parameter zeigten. Das Gleiche gilt auch für die in Abbildung 17 gezeigten Trends auf Basis der strukturellen Informationen. Anhand der bestimmten Entropiewerte ist festzustellen, dass die Identifizierung von weißer Masse mit den unterschiedlichen Klassifikationsansätzen am sichersten durchgeführt werden konnte. Komplizierter war die Trennung von grauer Masse und stark tumorinfiltrierter weißer Masse, was sich wieder auf die Ähnlichkeit bei den optischen und strukturellen Eigenschaften zurückführen lässt. Die Ähnlichkeit konnte anhand verschiedener Metriken gezeigt werden. Die Ähnlichkeit der beiden Gewebearten zeigte sich zum Beispiel in den ausgefranzten Entropiegrenzen zwischen diesen beiden Gewebearten (siehe Abbildung 20). Die Entropieübergänge zu gesunder weißer Masse waren im Gegensatz dazu klarer abgegrenzt. Während ein Großteil der Klassifikationsergebnisse von gesunder weißer Masse mit hoher Sicherheit durchgeführt wurden, verteilen sich die Klassifikationsergebnisse der anderen Gewebearten über einen größeren Entropiebereich. zeigten, dass die meisten falschen Klassifikationen zwischen grauer Masse und starktumorinfiltrierter weißer Masse, was ebenfalls auf eine Überlappung der Merkmalsräume dieser beiden Gewebearten hindeutet. Die aufgeführten Beobachtungen wurden unabhängig von dem Klassifikationsansatz gemacht und auch in Bezug auf die aus den Klassifikationsergebnissen bestimmten Evaluationsmetriken (siehe Abbildung 22), zeigten die drei Ansätze ähnliche Ergebnisse.

Ausgehend von Abbildung 22 wurden ansatzübergreifend ungewichtet die mittlere Präzision (PPR) und der mittlere Sensitivität (TPR) für die Entropiegrenzwerte  $<0,88$  ( $PPR[<0,88]=0,77$ ,  $TPR[<0,88]=0,79$ ) und  $<0,62$  ( $PPR[<0,62]=0,83$ ,  $TPR[<0,62]=0,83$ ) ermittelt, um mit den Ergebnissen der Klassifikationsaufgabe IV aus Abbildung 16 vergleichbar zu sein. Im Vergleich zu der Spezifität (TNR) und Sensitivität aus Abbildung 16 ( $TNR=0,63$ ,  $TPR=0,58$ ) eine deutliche Steigerung der Ergebnisse festzustellen. Die neue Verarbeitung der OCT-Bild-Patches, die Berücksichtigung von strukturellen Merkmalen und das Ausschließen der Zwischenstufen der Tumordinfiltration während des Trainingsprozesses haben die Klassifikation der drei Gewebearten verbessert. Die Ergebnisse für einen Entropiegrenzwert von  $<0,38$  ( $TPR[<0,38]=0,85$ ,  $PPR[<0,38]=0,86$ ) sind ebenfalls vergleichbar mit den erzielten Ergebnissen von Möller et al. für die Klassifikation von grauer Masse, weißer Masse und

Tumorgewebe mit einem OCT-System mit einer Wellenlänge von 930nm. Hierbei wurden eine Sensitivität von 0,87 und eine Spezifität von 0,86 für Proben mit einer Reinheit von >95% erreicht [26]. Die leicht besseren Klassifikationsergebnisse können zum einen mit dem OCT-System zusammenhängen. Das verwendete OCT-System besitzt eine vergleichbare Auflösung zu dem Callisto-OCT-System, wodurch strukturelle Unterschiede besser gemessen werden sollten. Zusätzlich wurden gesunde Proben (graue und weiße Masse) von Patienten mit Epilepsie entnommen, wodurch die Proben weniger Verunreinigungen durch andere Gewebe enthalten sollten. Ein weiterer Faktor ist die Zeit von der Entnahme bis zur Aufnahme der Probe, welche in diesem Fall innerhalb von 60min durchgeführt wurde. Die Probe wurde während dieser Zeit auf einem Filterpapier gelagert, ob die Lagerung gekühlt durchgeführt wurde, ist nicht bekannt. Die Verarbeitungszeit und Lagerung zwischen den Verarbeitungsschritten haben einen Einfluss auf die Gewebeeigenschaften. Es wurde ebenfalls festgestellt, dass die Klassifikation von leicht tumroinfiltrierter weißer Masse schwerer ist, als die Klassifikation von weißer Masse mit mittlerer Tumoringfiltration. Auch dieser Umstand erscheint plausibel, da bei leichter Tumoringfiltration die Zersetzung der Myelinscheiden noch nicht weit vorangeschritten ist und somit der Unterschied zu gesunder weißer Masse noch sehr gering ist. Die Einführung und Betrachtung der Klassifikationsunsicherheiten in Form der Entropie war eine wichtige Ergänzung. Mit Hilfe dieser Metrik konnten die komplexen Gewebezusammenhänge deutlich tiefer analysiert werden, als wenn nur das reine Klassifikationsergebnis betrachtet worden wäre. Die Betrachtung der Unsicherheiten muss für den weiteren klinischen Einsatz in Zukunft mitberücksichtigt werden. Mit dieser Metrik erhält ein Anwender eine Aussage darüber, wie sicher die Klassifikation getroffen wurde und erhöht Transparenz des neuronalen Netzwerkes.

### 2.7.2 In-Vivo-Anwendung

Für die Auswertung der in-vivo Daten des iOCTs mussten zunächst die aufgenommenen OCT-Volumen zu einem annotierten Datensatz, welcher für eine Klassifikation notwendig ist, verarbeitet werden. Hier wurden zunächst Subvolumen an den Positionen, an denen Proben entnommen wurden, extrahiert werden [27]. Die Positionen wurden manuell mit Hilfe von Weißlichtbildern auf denen die Probenentnahme festgehalten wurde bestimmt (siehe Abbildung 23). Für die Annotationen der Subvolumina wurden die pixelweisen Annotationen zusammengefasst, so dass pro Subvolumen der relative Anteil jedes Gewebetyps pro Subvolumen bekannt war. Für die spätere Gewebeanalyse wurde nur der Gewebetyp mit dem größten Anteil berücksichtigt. Anschließend wurden die Fokus- und Roll-Off-Einflüsse des iOCT-Systems korrigiert. Des Weiteren wurde die Oberfläche jedes Volumens begradigt (siehe Abbildung 24). Manuell wurden nun Fehlerhafte OCT-Bilder, also OCT-Bilder die Umklappartefakte oder Reflektionsartefakte zeigten, entfernt.

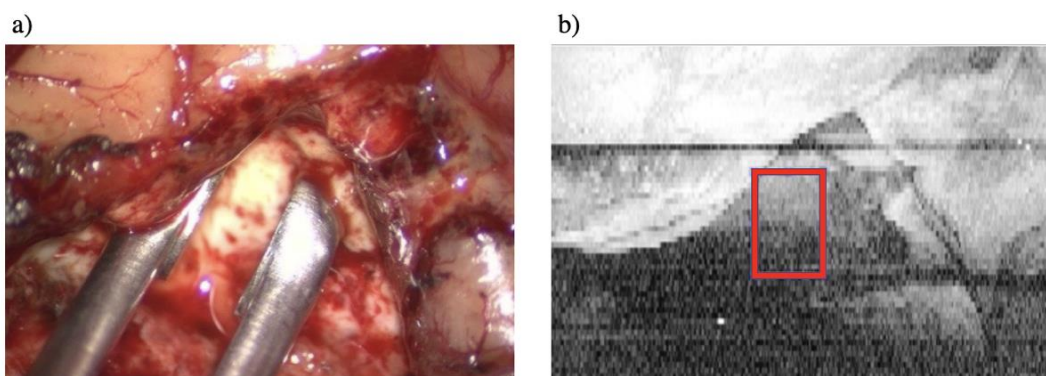


Abbildung 23 a) Weißlichtaufnahme während der Probenentnahme. b) En face OCT Volumen mit Position des Subvolumens (rotes Rechteck).

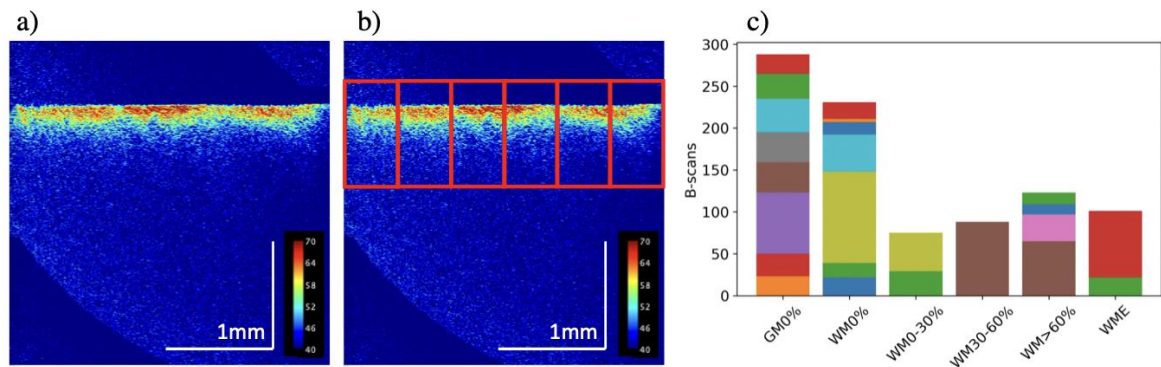


Abbildung 24 a) Ergebnis der Oberflächenbegradigung. b) Beispiel für die Extraktion von Bild-Patches aus dem OCT-Bild. c) Zeigt die Verteilung der extrahierten Patches bezüglich der verschiedenen Gewebetypen. Folgende Gewebetypen wurden berücksichtigt: GM0% - gesunde graue Masse, WM0% - gesunde weiße Masse, WM X-X% - weiße Masse mit dem jeweiligen Grad der Tumordinfiltration und WME – weiße Masse mit Ödem.

Genau wie bei den ex-vivo Daten wurden für die in-vivo Subvolumen die optischen Parameter  $I$  und  $\mu$ , sowie das Bestimmtheitsmaß  $r^2$  ermittelt. Die unterschiedlichen Zusammenhänge zwischen diesen drei Parametern sind in Abbildung 25 (a, b, c) aufgeführt. Die Evaluierung der Genauigkeit der Tumorerkennung durch die Konsultation der Bildeigenschaftscluster erfolgte mittels einer Support Vector Machine (SVM). Im Rahmen der Klassifizierung wurden drei unterschiedliche Klassifizierungsaufgaben definiert. Im Rahmen der ersten Aufgabe (I) erfolgte eine Klassifizierung der gesamten verfügbaren Daten. Im Rahmen dieser Klassifizierung wurden die gesunden grauen und weißen Substanzen der nicht-pathologischen Klasse zugeordnet, während die übrigen Gewebetypen der pathologischen Klasse zugewiesen wurden. Die zweite Aufgabe (II) fokussiert sich ausschließlich auf die Differenzierung von weißer Substanz mit einer Tumordinfiltration von 0 % und weißer Substanz mit einer Tumordinfiltration von >0–60 %. Die dritte Aufgabe (III) fokussiert sich ausschließlich auf die Differenzierung von gesundem weißem Substanzgewebe sowie weißem Substanzgewebe mit einer Tumordinfiltration von >0–60 %. Die Abbildung 25 (d) zeigt die Sensitivitäts- und Spezifitätswerte für jede Aufgabe. Die Daten demonstrieren eine hohe Genauigkeit bei der Trennung der weißen Substanz von allen Graden der Tumordinfiltration (Aufgabe II). Die Einbeziehung von grauer Substanz und ödematösem Gewebe in die nicht-pathologische Klasse führt jedoch zu einer Unmöglichkeit der Unterscheidung zwischen gesundem und tumordinfiltriertem Gewebe (Aufgabe I).

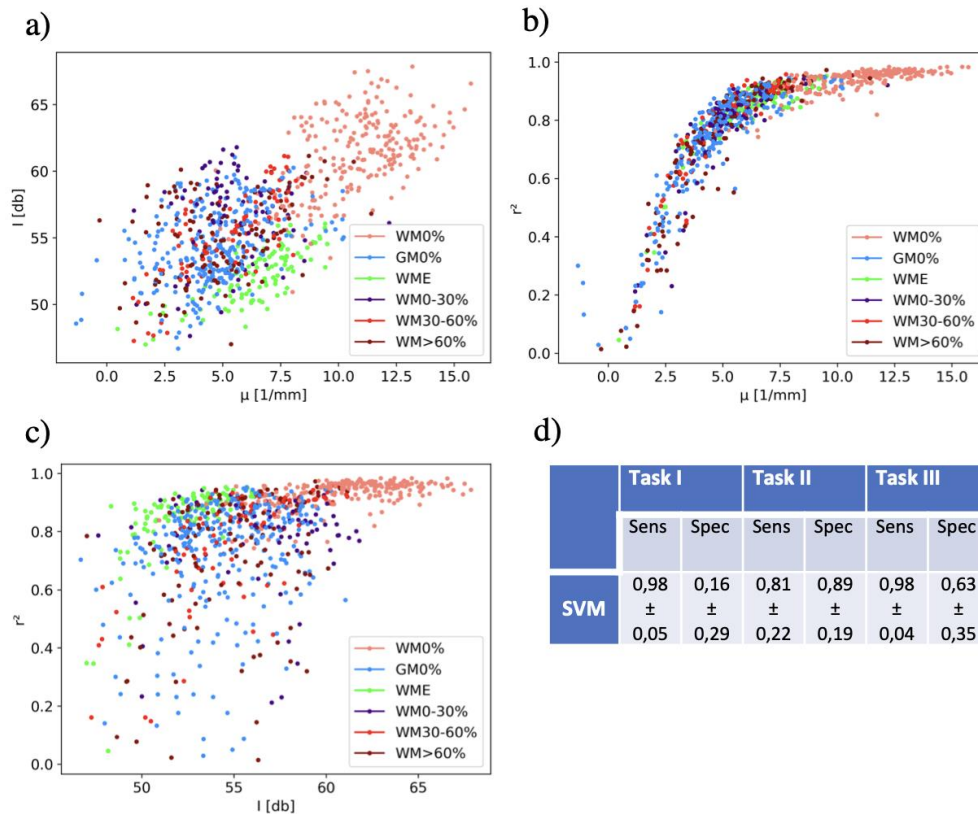


Abbildung 25 Streudiagramm der extrahierten optischen Eigenschaften in Bezug auf die verschiedenen Gewebetypen (GM0% = graue Substanz mit 0 Tumorerinfiltration, WM0% = weiße Substanz mit 0% Tumorerinfiltration, WM0-30% = weiße Substanz mit >0-30% Tumorerinfiltration, WM30-60% = weiße Substanz mit 30-60% Tumorerinfiltration, WM>60% = weiße Substanz mit >60% Tumorerinfiltration und WME = weiße Substanz mit Ödem). a) zeigt die Rückstreuintensität in Abhängigkeit vom Dämpfungskoeffizienten, b) zeigt den Dämpfungskoeffizienten in Abhängigkeit vom gemessenen angepassten  $r^2$ , c) zeigt die Rückstreuintensität in Abhängigkeit vom gemessenen angepassten  $r^2$ , d) zeigt Ergebnisse für Sensitivität und Spezifität bei den verschiedenen Klassifikationsaufgaben.

Für die Klassifikation der extrahierten in vivo OCT Patches wurden 2 Ansätze verwendet (siehe Abbildung 26). Der erste Ansatz bestand aus einem kleinen Convolutional Neural Network, welches Patches als Eingabe verwendet, um eine Tumorklassifikation durchzuführen. Der zweite Ansatz verwendet einen Autoencoder, welcher genutzt wurde um eine Dimensionsreduktion durchzuführen. Dieser Schritt führt dazu, dass die Bilder auf einen Vektor mit der Länge 10 zusammengefasst wurden. Dieser 10-Stellige Vektor wurde anschließend für die Klassifikation in ein Fully Connected Network gegeben. Für beide Klassifikationsansätze wurden drei Klassifikationsaufgaben gestellt. Die erste Aufgabe behandelt die Klassifikation von gesundem Hirngewebe (grau/ weiß) und pathologischem Gewebe (Tumorerinfiltration + Ödem) (Task I). Die zweite Aufgabe benutzte nur die gesunde weiße Masse und die Tumorerinfiltration (Task II). Die dritte Klassifikationsaufgabe verwendete nur noch die gesunde weiße Masse und Patches mit einer Tumorerinfiltration > 60 % (Task III). Für jede Aufgabe und jeden Ansatz wurden die Sensitivität und Spezifität in einer leave-one-out Validierung bestimmt. Hierbei wurden die Patches jedes Patienten einmal als Testdaten verwendet, während der Rest zum Training verwendet wurde. Die Ergebnisse dieser Validierung sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Daten zeigen, dass beide Ansätze gute Klassifizierungsergebnisse für die Klassifizierung der weißen Substanz von den verschiedenen Graden der Tumorerinfiltration erzielten. Bei der Klassifizierung von gesundem und pathologischem Gewebe (Aufgabe I) hatten sie hingegen Schwierigkeiten, gute Ergebnisse zu erzielen. Insgesamt zeigte der AE+FC-Ansatz die bessere Leistung. Diese Ergebnisse decken sich mit den Erkenntnissen von der Auswertung der ex-vivo Daten.

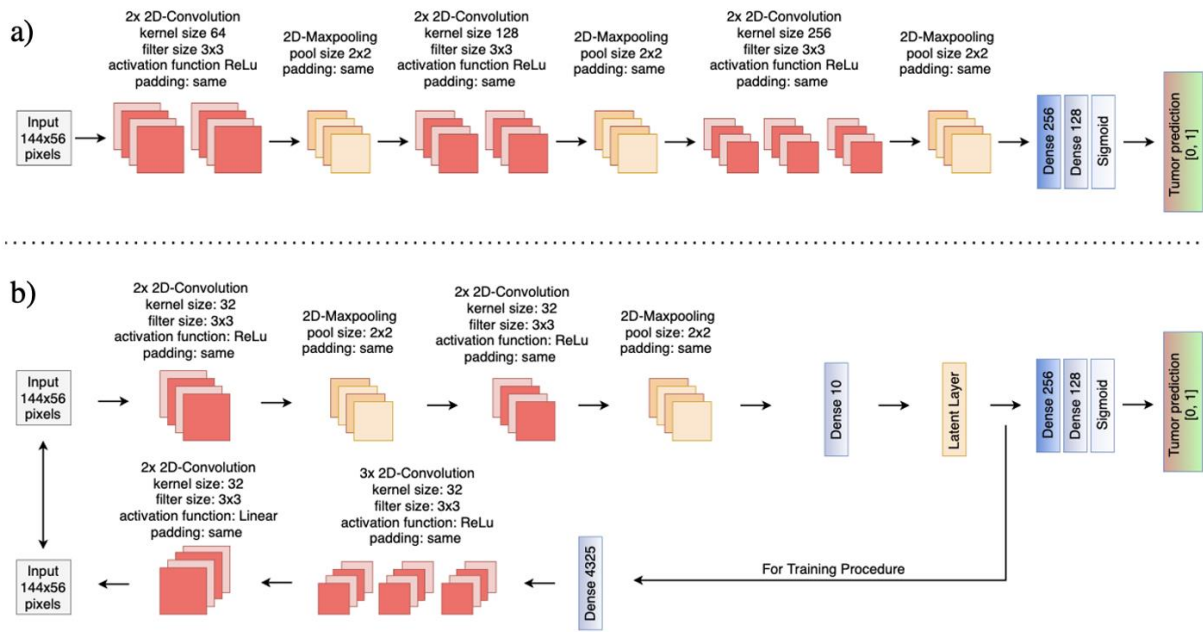


Abbildung 26 Überblick der Klassifikationsansätze: a) Convolutional Neural Network (CNN) und b) einem Autoencoder (AE) und einem Fully Connected Network (FC).

Table 1. Klassifikationsergebnisse für die in vivo Klassifikation

Klassifikationsansatz	Task I		Task II		Task III	
	Sensitivität	Spezifität	Sensitivität	Spezifität	Sensitivität	Spezifität
<b>CNN</b>	0.59 ± 0.23	0.77 ± 0.18	0.84 ± 0.20	0.79 ± 0.28	0.87 ± 0.11	0.79 ± 0.27
<b>AE + FC</b>	0.65 ± 0.27	0.66 ± 0.25	0.86 ± 0.17	0.81 ± 0.20	0.90 ± 0.09	0.84 ± 0.14

### 3 Zweiter Studienteil

Im ersten Studienteil konnte gezeigt werden, dass eine Trennung der unterschiedlichen Gewebetypen in der sowohl ex-vivo als auch in-vivo machbar ist. Gerade die Unterscheidung zwischen gesunder weißer Masse und stark-tumorinfiltrierter weißer Masse war unabhängig vom OCT-System immer möglich. Das im ersten Studienteil genutzte iOCT ist für die zukünftige Anwendung der OCT innerhalb der Neurochirurgie zu langsam und soll durch das OMES-System ersetzt werden. Auf Basis des integrierten OMES-OCT-Systems wurde eine neue klinische Studie für die Sammlung von Daten durchgeführt. Diese Daten bildeten die Grundlage für eine erneute Prüfung, ob eine Trennung der Gewebearten auch mit diesem System möglich war.

#### 3.1 Adaption des Systems

Die Realisierung der Adaption des MHz-OCT-Systems erfolgte unter Berücksichtigung einer fortlaufenden Risikoanalyse gemäß der Norm DIN EN ISO 14971 Risikomanagement, sowie den Grundlegenden Anforderungen gemäß der EU Richtlinie 93/42 EWG für Medizin Produkte für den Einsatz in klinischen Studien [28,29]. Bedingt durch die COVID-19 Pandemie kam es im Verlauf des Jahres immer wieder zu Verzögerungen, bedingt durch verzögerte Lieferungen der Bauteile oder der notwendigen Sonderanfertigungen, sowie durch zeitweilige Schließungen oder eingeschränkte Belegung in den Laboren.

Die im Jahr 2019 berechnete Optik-Einheit (siehe Abbildung 27) wurde zunächst mit einem Labor-Aufbau realisiert und vermessen. Hierdurch konnten wichtige Erkenntnisse erarbeitet werden, die für eine bestmögliche Anpassung des MHz-OCT-Systems an das OP-Mikroskops benötigt werden.

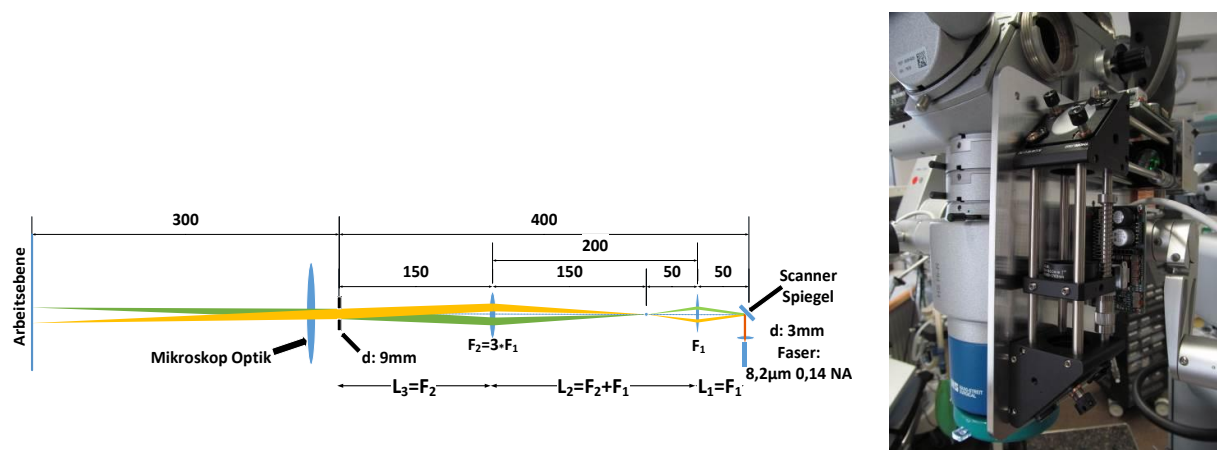


Abbildung 27 Links: Optisches System des MHz-OCT-Adapters bestehend aus einer Kombination aus Relay-Optik und Strahl-Aufweitung von 3mm auf 9mm. Das System bildet den Drehpunkt der Galvo-Scanner in die Blende des OP Mikroskops ab. Von dort wird der OCT-Strahl über die Mikroskop-Optik auf die Arbeitsebene abgebildet. Rechts: Adaption der Optik an einen offenen Laboraufbau zur Optimierung der bildgebenden optischen Komponenten.

Nachdem die optischen Parameter und Komponenten erarbeitet wurden, konnte ein entsprechendes Gehäuse, die sogenannte „nOCT-Box“ gefertigt und mit den notwendigen Optiken und elektronischen Einheiten bestückt werden (siehe Abbildung 28).

Diese „nOCT-Box“ wurde an einer Adapterplatte befestigt, welche direkt in den parallelen Strahlengang zwischen Objektiv und Filter Optik des OP-Mikroskops eingebaut wurde. Über die Adapter Platte wird der Laserstrahl des OCT-Systems in den Abbildungs-Strahlengang des Mikroskops eingespiegelt.

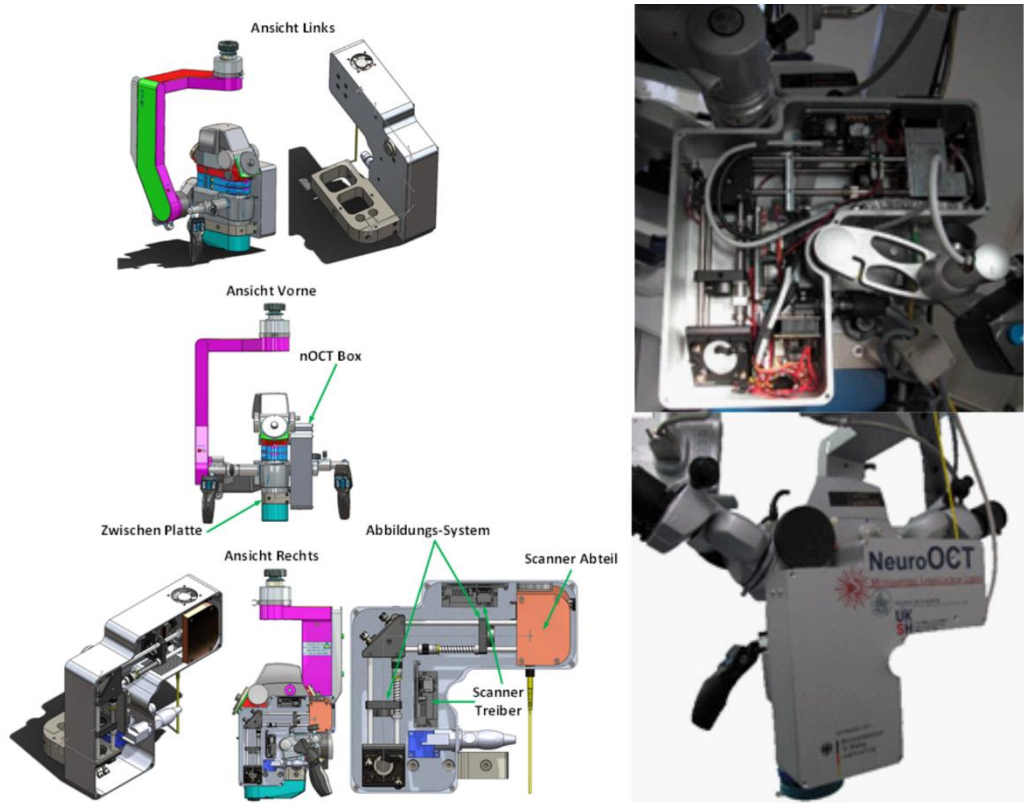


Abbildung 28 Links: CAD-Modell des MHz OCT-Adapter Systems, mit „nOCT-Box“ und Adapterplatte. Rechts: Mit optischen Elementen und elektronischen Treibern bestückten „nOCT-Box“ (oben offen, unten geschlossen).

Zur Einhaltung der grundlegenden Anforderungen für ein Medizinprodukt wurde die Konstruktion und die Komponenten gemäß einer fortlaufenden Risikoanalyse stetig angepasst und verbessert. Auch hierbei wurden weitere Erkenntnisse zur Stabilisierung der OCT-Aufnahmen erarbeitet.

Zur Ansteuerung der „nOCT-Box“, sowie zur Datenverarbeitung und Darstellung der OCT-Volumen wurde ein Basis Rack realisiert. Das Rack dient als autarke Versorgungseinheit für das „Neuro-OCT“ und ist vollständig vom OP-Mikroskop galvanisch getrennt. Hierzu wurde in Kooperation mit dem Hersteller des OP-Mikroskop (Haag Streit Surgical AG) ein Isolations-Konzept erarbeitet und durchgeführt. Dieses Konzept kann in einer späteren Verwertung des Projektes als Grundlage für einen Prototypenbau verwendet werden.



Abbildung 29 Gesamtsystem „Neuo-OCT“ mit dem Bedien- und Darstellungs- Rack (links), sowie der an den OP-Mikroskop-Kopf adaptierten „nOCT Box“.

Das in Abbildung 29 dargestellte Gesamtsystem wurde durch ein akkreditiertes Prüflabor für elektrische Sicherheit und Elektromagnetische Strahlung geprüft. Das System hat die erforderlichen Prüfungen für ein Medizinprodukt für klinische Studien erfolgreich bestanden. Nach bestandener Prüfung konnte mit dem bestehenden Aufbau in Kooperation mit dem Institut für Biomedizinische Optik (BMO) der Universität zu Lübeck mit der Integration der Ansteuerungs- und Verarbeitungssoftware begonnen werden. Um die geforderte Echtzeit-Geschwindigkeit der OCT-Volumen-Darstellung zu gewährleisten, konnte mit der Entwicklung der Software erst begonnen werden, nachdem die einzelnen verwendeten Komponenten feststanden und entsprechend geprüft wurden.

### 3.2 Datenerfassung und Gewebeanalyse

Die Datenerfassung für den zweiten Studienteil leitete sich aus dem Ablauf des ersten Studienteils ab, indem der Fokus voll auf die in-vivo Datenaufnahme gelegt wurde. Aus diesem Grund wurden in dieser Studie nur sporadisch ex-vivo Aufnahmen gemacht. Während des zweiten Studienteils wurden 35 Patienten in die Studie aufgenommen. Die Abbildung 30 zeigt die beispielhaft die Datenaufnahme mit dem adaptierten OMES-System. OCT-Volumenaufnahmen wurden von der Oberfläche, auf dem Weg zu Tumor, von der Tumormasse und innerhalb der Resektionshöhle aufgenommen (siehe Abbildung 31 (a, b)). Jede OCT-Volumenaufnahme wurde mit einer Weißlichtaufnahme begleitet. Anschließend wurde eine Probe für die histologische Begutachtung entnommen. Damit nachträglich die Probenentnahmestelle lokalisiert werden kann, wurde eine Weißlichtaufnahme und ein OCT-Volumen nach der Probenentnahme gemacht (siehe Abbildung 31 (c)). Die Proben wurden anschließend wieder histologisch aufbereitet und zu HE-Schnitten verarbeitet. Diese wurden ähnlich zu den in-vivo Daten aus dem ersten Studienteil annotiert, indem für jede Probe der Grad der Tumorerkrankung und das Grundgewebe (graue oder weiße Masse) ermittelt wurde.

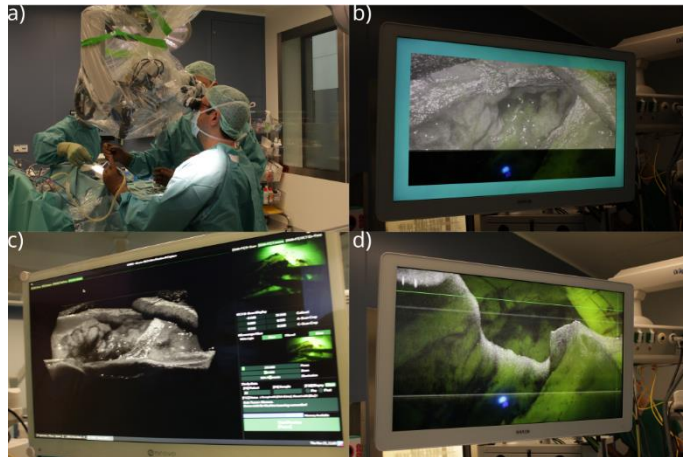


Abbildung 30 Bilder von der ersten Anwendung des adaptierten in-vivo OMES-Systems: (a) Neurochirurgen bei der Tumorsektion, (b) Fortschritt der in-vivo Volumenaufnahme, (c) Benutzeroberfläche zur Aufnahme der OCT-Volumen, (d) Anzeige eines B-Scans zur korrekten Ausrichtung des Mikroskop-Kopfes vor der Aufnahme eines OCT-Volumens

Um die Annotationen den Entnahmeorten zuordnen zu können, wurden basierend auf Videoaufnahmen und den Weißlichtbildern die Positionen der Entnahmeorte manuell maskiert (siehe Abbildung 31 (e)). Diese Maskierungen wurden anschließend mit Hilfe einer landmarkenbasierten Bildregistrierung auf die korrespondierenden OCT-Volumen übertragen (siehe Abbildung 31 (d)). Blut bildet in vielen aufgenommenen OCT-Volumen ein großes Problem, da es die zu messenden optischen Eigenschaften des darunterliegenden Gewebes verändert. Aus diesem Grund wurden basierend auf den Weißlichtaufnahmen Masken erstellt, welche kein Blut enthalten. Diese Masken wurden mit den Masken der Entnahmeorte multipliziert und mit den zuvor bestimmten Transformationen auf die in-vivo OCT-Volumen übertragen (siehe Abbildung 31 (f)). Somit ergab sich ein Datensatz aus 121 annotierten in-vivo OCT-Volumen. Um eine gute Qualität des Datensatzes zu gewährleisten, wurden anhand von Videoaufnahmen die Probenentnahme bewertet. In dieser Bewertung wurden folgende Kriterien berücksichtigt: 1. Ist das OCT-Volumen frei von Bewegungsartefakten 2. Beinhaltet die Probe genug Zielgewebe. Das zweite Kriterium deckt Fälle ab, wo Proben aus Bereichen mit starker Koagulation, oder Blutblasen entnommen wurden, die für eine Gewebetrennung zwischen gesundem und tumorösem Hirngewebe zu Fehlern führen können. Nach der Qualitätsbewertung bleiben noch 92 von 121 OCT-Volumen für eine Gewebeanalyse übrig.

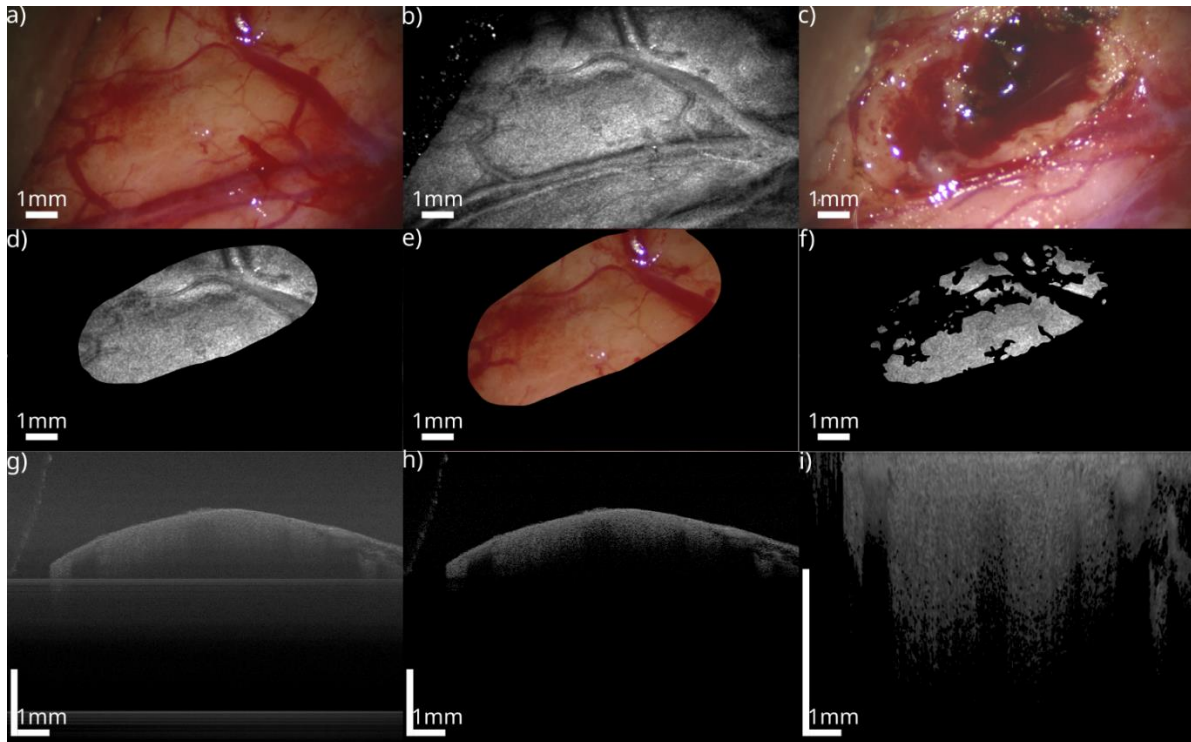


Abbildung 31 Überblick über die Datenverarbeitung der in-vivo OCT-Volumen: (a) Weißlichtbild vor der Probenentnahme, (b) OCT-Volumen vor der Probenentnahme, (c) Weißlichtbild nach der Probenentnahme, (d) maskiertes OCT-Volumen, (e) maskiertes Weißlichtbild, (f) Blut-Segmentationsmaske angewandt auf dem OCT-Volumen, (g) Unverarbeiteter OCT-B-Scan, (h) Vorprozessierter OCT-B-Scan, (i) Oberflächenbegradigter OCT-B-Scan.

Für die initiale Gewebeanalyse auf dem in-vivo Datensatz des OMES-Systems wurden zunächst für alle OCT-Volumen Hintergrundartefakte entfernt und die Oberfläche begradigt (siehe Abbildung 31 (g-h)). Anschließend wurden aus den maskierten Bereichen OCT-Subvolumen mit einer Größe von  $64 \times 64 \times 50$  Pixel<sup>3</sup> extrahiert. Für jedes dieser OCT-Subvolumen wurden ein mittlerer OCT-A-Scan, sowie die Standardabweichung entlang der Tiefenachse bestimmt. Diese Merkmale jedes OCT-Subvolumen wurden zu einem Merkmalsvektor zusammengefügt und die korrespondierende Annotation wurden jedem Merkmalsvektor zugeordnet. Basierend auf den Merkmalsvektoren aller Proben wurde eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt, um die ersten drei Hauptkomponenten zu ermitteln. Hierzu wurden die Merkmalsvektoren zunächst Merkmalsweise normiert. Der Mittelwert jeder einzelnen Hauptkomponente für jede Probe, sowie der Zusammenhang zwischen den einzelnen Hauptkomponenten wurde in Abbildung 32 visualisiert.

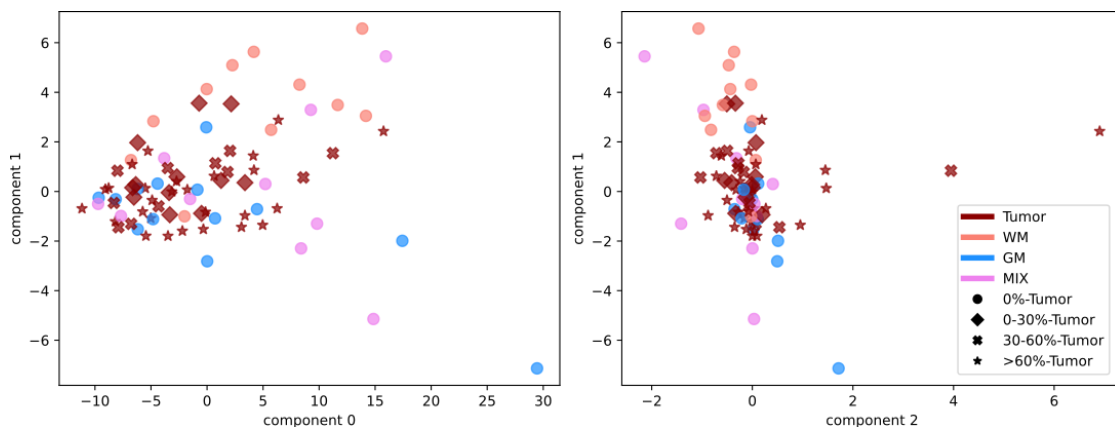


Abbildung 32 Ergebnisse der in-vivo Auswertung zur Unterscheidung der unterschiedlichen Gewebearten basierend auf den in-vivo OCT-Volumen des OMES-Systems. Jeder Punkt spiegelt den Mittelwert der Merkmale aus den Subvolumen einer Probe wieder.

Es ist deutlich zu sehen, dass hier die dargestellten Gewebezusammenhänge mit den vorherigen ex-vivo und in-vivo Analysen vergleichbar sind. Auch hier ist die Trennung zwischen gesunder weißer Masse und Tumorgewebe möglich. Genauso zeigt sich, dass gesunde graue Masse deutlich mehr Ähnlichkeit zu Tumorgewebe hat, als zu gesunder weißer Masse.

## 4 Literatur

- [1] Streng, P., Lange, B., Grill, C., Draxinger, W., Danicke, V., Theisen-Kunde, D., ... Brinkmann, R. (2022). Registration of histological brain images onto optical coherence tomography images based on shape information. *Physics in Medicine and Biology*, 67(13), 135007. doi:10.1088/1361-6560/ac6d9d
- [2] Ronneberger, O., Fischer, P., & Brox, T. (2015). U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation. *arXiv [Cs.CV]*. Retrieved from <http://arxiv.org/abs/1505.04597>
- [3] Milletari, F., Navab, N., & Ahmadi, S.-A. (2016). V-Net: Fully Convolutional Neural Networks for Volumetric Medical Image Segmentation. *CoRR*, abs/1606.04797. Retrieved from <http://arxiv.org/abs/1606.04797>
- [4] Taghanaki, S. A., Zheng, Y., Kevin Zhou, S., Georgescu, B., Sharma, P., Xu, D., ... Hamarneh, G. (2019). Combo loss: Handling input and output imbalance in multi-organ segmentation. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 75, 24–33. doi:10.1016/j.compmedimag.2019.04.005
- [5] Dice, L. R. (1945). Measures of the Amount of Ecologic Association Between Species. *Ecology*, 26(3), 297–302. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/1932409>
- [6] Maes, F., Collignon, A., Vandermeulen, D., Marchal, G., & Suetens, P. (1997). Multimodality image registration by maximization of mutual information. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 16(2), 187–198. doi:10.1109/42.563664
- [7] Goshtasby, A. A. (2012). *Image Registration - Principles, Tools and Methods*. Berlin Heidelberg: Springer Science and Business Media.
- [8] Ling, H., & Jacobs, D. W. (2007). Shape Classification Using the Inner-Distance. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 29(2), 286–299. doi:10.1109/TPAMI.2007.41
- [9] Thayananthan, A., Stenger, B., Torr, P. H. S., & Cipolla, R. (2003). Shape context and chamfer matching in cluttered scenes. *2003 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, 2003. Proceedings.*, 1, 1–1. doi:10.1109/CVPR.2003.1211346
- [10] Cormen, T. H., Leiserson, C. E., Rivest, R. L., & Stein, C. (2022). *Introduction to Algorithms, fourth edition* -. Cambridge: MIT Press.
- [11] Suzuki, S., & Be, K. (1985). Topological structural analysis of digitized binary images by border following. *Computer Vision, Graphics, and Image Processing*, 30(1), 32–46. doi:10.1016/0734-189X(85)90016-7
- [12] Unger, J., Sun, T., Chen, Y.-L., Phipps, J. E., Bold, R. J., Darrow, M. A., ... Marcu, L. (2018). Method for accurate registration of tissue autofluorescence imaging data with corresponding histology: a means for enhanced tumor margin assessment. *Journal of Biomedical Optics*, 23(1), 015001. doi:10.1117/1.JBO.23.1.015001
- [13] Gibson, E., Crukley, C., Gaed, M., Gómez, J. A., Moussa, M., Chin, J. L., ... Ward, A. D. (2012). Registration of prostate histology images to ex vivo MR images via strand-shaped fiducials. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 36(6), 1402–1412. doi:10.1002/jmri.23767
- [14] Möller, J., Bartsch, L.-A., Lenz, M., Tischoff, I., Krug, R., Welp, H., ... Miller, D. (05 2021). Applying machine learning to optical coherence tomography images for automated tissue classification in brain metastases. *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*, 16. doi:10.1007/s11548-021-02412-2
- [15] Schmitt, J. M., Knüttel, A., & Bonner, R. F. (1993). Measurement of optical properties of biological tissues by low-coherence reflectometry. *Appl. Opt.*, 32(30), 6032–6042. doi:10.1364/AO.32.006032
- [16] Schmitt, J. M., & Knüttel, A. (1997). Model of optical coherence tomography of heterogeneous tissue. *J. Opt. Soc. Am. A*, 14(6), 1231–1242. doi:10.1364/JOSAA.14.001231
- [17] Faber, D. J., van der Meer, F. J., Aalders, M. C. G., & van Leeuwen, T. G. (2004). Quantitative measurement of attenuation coefficients of weakly scattering media using optical coherence tomography. *Opt. Express*, 12(19), 4353–4365. doi:10.1364/OPEX.12.004353
- [18] Wang, H., Magnain, C., Sakadzic, S., Fischl, B., & Boas, D. (12 2017). Characterizing the optical properties of human brain tissue with high numerical aperture optical coherence tomography. *Biomedical Optics Express*, 8, 5617. doi:10.1364/BOE.8.005617
- [19] Giese, A., Böhringer, H. J., Leppert, J., Kantelhardt, S. R., Lankenau, E., Koch, P., ... Hüttmann, G. (2006). Non-invasive intraoperative optical coherence tomography of the resection cavity during surgery of intrinsic brain tumors. In K. W. G. M.d., G. J. T. M.d., N. K. M.d., H. Zeng, B. Choi, R. S. M. M.d., ... W. T. W. de Riese (Eds.), *Photonic Therapeutics and Diagnostics II* (Vol. 6078, p. 60782Z). doi:10.1117/12.674436

- [20] Yashin, K. S., Kiseleva, E. B., Gubarkova, E. V., Moiseev, A. A., Kuznetsov, S. S., Shilyagin, P. A., ... Gladkova, N. D. (2019). Cross-Polarization Optical Coherence Tomography for Brain Tumor Imaging. *Frontiers in Oncology*, 9, 201. doi:10.3389/fonc.2019.00201
- [21] Yaroslavsky, A. N., Schulze, P. C., Yaroslavsky, I. V., Schober, R., Ulrich, F., & Schwarzmaier, H.-J. (2002). Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues in vitro in the visible and near infrared spectral range. *Physics in Medicine & Biology*, 47(12), 2059. doi:10.1088/0031-9155/47/12/305
- [22] Strenge, P., Lange, B., Draxinger, W., Grill, C., Danicke, V., Theisen-Kunde, D., ... Brinkmann, R. (2022). Differentiation of different stages of brain tumor infiltration using optical coherence tomography: Comparison of two systems and histology. *Frontiers in Oncology*, 12. doi:10.3389/fonc.2022.896060
- [23] Kingma, D. P., & Welling, M. (2022). Auto-Encoding Variational Bayes. *arXiv [Stat.ML]*. Retrieved from <http://arxiv.org/abs/1312.6114>
- [24] Sensoy, M., Kaplan, L., & Kandemir, M. (2018). Evidential Deep Learning to Quantify Classification Uncertainty. *arXiv [Cs.LG]*. Retrieved from <http://arxiv.org/abs/1806.01768>
- [25] Laws, K. I. (1979). *Texture energy measures*. 47–51. Image Understanding Workshop.
- [26] Möller, J., Popanda, E., Aydın, N. H., Welp, H., Tischoff, I., Brenner, C., ... Miller, D. (2023). Accurate OCT-based diffuse adult-type glioma WHO grade 4 tissue classification using comprehensible texture feature analysis. *Biomedical Signal Processing and Control*, 105047. doi:10.1016/j.bspc.2023.105047
- [27] Kuppler, P., Strenge, P., Lange, B., Spahr-Hess, S., Draxinger, W., Hagel, C., ... Bonsanto, M. M. (2023). The neurosurgical benefit of contactless in vivo optical coherence tomography regarding residual tumor detection: A clinical study. *Frontiers in Oncology*, 13. doi:10.3389/fonc.2023.1151149
- [28] Theisen-Kunde, D., Draxinger, W., Bonsanto, M. M., Strenge, P., Detrez, N., Huber, R., & Brinkmann, R. (2021). 1.6 MHz FDML OCT for Intraoperative Imaging in Neurosurgery. *European Conferences on Biomedical Optics 2021 (ECBO)*, ETu4A.2. doi:10.1364/ECBO.2021.ETu4A.2
- [29] Draxinger, W., Detrez, N., Strenge, P., Danicke, V., Theisen-Kunde, D., Schuetzeck, L., ... Huber, R. (2024). Microscope Integrated MHz Optical Coherence Tomography System for Neurosurgery: Development and Clinical In-Vivo Imaging. *Biomedical Optics Express*. doi:10.1364/boe.530976



# Kurzbericht

## Verbundprojekt

Intraoperative Visualisierung von Hirntumoren in Echtzeit durch die optische Kohärenztomographie (Neuro-OCT)

## Teilvorhaben

Klinische Adaption eines High Speed OCT Systems zur intraoperativen Erfassung von Tumorgrenzen und Gefäßstrukturen in der Neurochirurgie

**Förderkennzeichen:** 13GW0227C

**Projektlaufzeit:** 01.10.2017 – 30.06.2024

**Institution:** Medizinisches Laserzentrum Lübeck gGmbH  
Peter-Monnik-Weg 4, 23562 Lübeck

**Projektleitung:** Dr. Ralf Brinkmann

**Autoren:** Paul Strenge  
Dr. Ralf Brinkmann

**Verbundpartner:** Universität zu Lübeck, Institut für Biomedizinische Optik  
Klinik für Neurochirurgie, Universitätsklinikum  
Schleswig-Holstein, Campus Lübeck

Medizinisches Laserzentrum Lübeck gGmbH

Peter-Monnik-Weg 4, 23562 Lübeck

**Kontakt:** Ralf Brinkmann

**Telefon:** 0451 3101 3207

ralf.brinkmann@uni-luebeck.de

Lübeck, Dezember 2024

# 1 Aufgabenstellung

Die Detektion von Tumordinfiltrationszonen im Bereich der Neurochirurgie ist immer noch eine sehr große medizinische Herausforderung und mit aktuell genutzten Bildgebungsmethoden nicht zuverlässig durchführbar. Die optische Kohärenztomografie (OCT) bildet aufgrund ihrer Eigenschaften eine potentielle Alternative oder Ergänzung zu den konventionellen Bildgebungsmethoden in der Neurochirurgie. Bei der OCT handelt es sich um eine lichtbasierte Bildgebungsmethode zur Erstellung von Tiefenschnittbildern. Durch die Verwendung von Licht können die Tiefenschnittbilder, anders als bei dem intraoperativen Ultraschall, kontaktfrei bestimmt werden. Ein weiterer Vorteil ist die hohe Aufnahmegeschwindigkeit, wodurch bis zu 32 Volumen pro Sekunde aufgenommen werden können. Die Tiefenschnittbilder besitzen eine Auflösung im Bereich von 4-30 $\mu$ m und decken eine Aufnahmetiefe von bis zu 5mm ab. Somit schließt die OCT die Lücke zwischen der konfokalen Mikroskopie und dem Ultraschall und bildet einen guten Kompromiss aus beiden Bildgebungsmodalitäten.

Das Ziel des Projektes ist die Erforschung der Anwendung der OCT in der Neurochirurgie zur Identifikation von Tumorgewebe und der Infiltrationszonen. Hierzu sollen auf Basis von klinischen OCT-Daten von menschlichem Gehirngewebe die optischen Eigenschaften des Gewebes bestimmt werden. Für die Ermittlung der Gewebeeigenschaften sollen neben konventionellen Methoden auch KI-basierte Algorithmen evaluiert werden. Die erprobten Methoden sollen anschließend in Kombination mit einem echtzeitfähigen OCT-System in-vivo während einer neurochirurgischen Tumorresektion eingesetzt werden, um die Gewebeunterschiede zwischen Tumor und gesundem Gewebe zu visualisieren. Somit soll eine effizientere Tumorresektion unter Schonung des gesunden Gewebes erreicht werden.

## 2 Ablauf des Vorhabens

Das Vorhaben gliederte sich in verschiedene Arbeitspakete. Zunächst wurden in Rahmen einer ersten klinischen Studie erste in-vivo und ex-vivo OCT-Aufnahmen von menschlichen Gehirn während der Tumorresektion durchgeführt. Dabei wurden die in-vivo Daten mit einem nicht echtzeitfähigen OCT-System akquiriert. Die aufgenommenen Daten dienten im Kombination mit annotierten histologischen Daten dazu, eine Datengrundlage zu schaffen, mit der unterschiedliche Methoden zur Gewebeklassifikation evaluiert werden konnten. Gerade die ex-vivo Daten ermöglichten eine genaue Korrelation mit den histologischen Daten, wodurch eine genaue Evaluation der Algorithmen möglich war. Die robustesten Methoden wurden dann an den in-vivo Daten nochmals erprobt. Parallel wurde ein echtzeitfähiges OCT-System an ein OP-Mikroskop adaptiert. Da die Aufnahmeeigenschaften dieses Systems sich von den davor akquirierten Daten unterscheiden, wurde eine zweite klinische Studie genutzt, um OCT-Daten aufzunehmen. Anhand dieser Daten wurden dann die zuvor erprobten Algorithmen genutzt, um die Fähigkeit des adaptierten Systems zur Tumorerkennung zu evaluieren.

## 3 Anknüpfungen an den wissenschaftlichen und technischen Stand

In den letzten Jahren gab es große Bestrebungen neben der Ophthalmologie weitere Anwendungsfelder für die OCT zu finden, unter anderem auch der Einsatz in der Neurochirurgie. Ein Hindernis ist die Interpretation der Tiefenschnittbilder, insbesondere in einem Gewebe ohne starke strukturelle Eigenschaften (z. B. Schichten). Um die Interpretierbarkeit zu erhöhen, wurden Methoden eingeführt, mit denen Gewebeeigenschaften anhand von OCT-Daten extrahiert werden können. Eine etablierte Gewebeeigenschaft zur Unterscheidung verschiedener Gewebearten ist der Abschwächungskoeffizient, welcher den Signalabfall entlang der Tiefenachse quantifiziert [1]. Frühe

Messungen des Abschwächungskoeffizienten innerhalb der Neurochirurgie haben gezeigt, dass der Koeffizient von weißer Masse mit zunehmender Tumordinfiltration abnimmt [2,3]. Andere Ansätze berücksichtigten strukturelle Informationen, um strukturelle Heterogenität in Tumorgewebe zu quantifizieren. Lenz et al. beispielsweise nutzten eine Kombination von unterschiedlichen Texturmerkmalen zur Unterscheidung von Ex-vivo-Meningeom und gesundem Hirngewebe [4]. Möller et al. zeigten eine erfolgreiche Anwendung der Methode auf Hirnmetastasen [5]. Den wohl größten strukturellen Kontrast zeigten Gesperger et al., die im Gegensatz zu den anderen Publikationen ein hochauflösendes optisches Kohärenzmikroskop nutzen, um ein neuronales Netzwerk zu trainieren [6]. Die hohe Auflösung des OCT-Systems (laterale Auflösung: 1,8 $\mu$ m, axiale Auflösung: 0,88 $\mu$ m) macht die strukturellen Unterschiede zwischen den verschiedenen Gewebearten deutlich sichtbar. Bisherige Arbeiten zur OCT in der Neurochirurgie fokussierten meist auf die Unterscheidung gesunder und tumoröser weißer Masse. Aspekte wie Gewebedifferenzierung, Verteilung weißer zu grauer Masse und Tumordinfiltrationszonen wurden selten untersucht. Zudem fehlen Vergleiche zwischen unterschiedlichen OCT-Systemen.

## 4 Wesentliche Ergebnisse

Innerhalb des Vorhabens wurde ein weltweit einzigartiger ex-vivo OCT-Datensatz erzeugt, bei dem histologische Annotationen genau den Tiefenschnittbildern zugeordnet werden konnten. Dieser Datensatz erlaubte einen Vergleich zweier OCT-Systeme mit unterschiedlichen Aufnahmeeigenschaften, sowie eine genaue Charakterisierung optischer und struktureller Gewbeeigenschaften. Es konnte gezeigt werden, dass eine Trennung zwischen weißer Masse und starker tumordinfiltrierter weißer Masse sehr gut möglich ist. Der Grund hierfür sind die Myelinscheiden, welche stark-streuende Eigenschaften besitzen und mit zunehmender Tumordinfiltration zersetzt werden. Im Gegensatz dazu zeigte gesunde graue Masse ähnliche optische Eigenschaften, wie stark tumordinfiltrierte weiße Masse und war somit schwerer von Tumorgewebe zu unterscheiden. Bei der Betrachtung von strukturellen Merkmalen konnte ein ähnlicher Zusammenhang festgestellt werden. Hier sorgen die regelmäßig und dichtgedrängten Myelinscheiden für ein homogenes Erscheinungsbild der OCT-Daten bei gesunder weißer Masse, welches mit zunehmender Tumordinfiltration immer heterogener wird.

Die gewonnenen Erkenntnisse aus den ex-vivo Messungen konnten ebenfalls erfolgreich auf die in-vivo OCT-Daten der zwei in-vivo OCT-Systeme übertragen werden. Auch hier konnten die Trends zwischen den unterschiedlichen Gewebearten festgestellt werden, jedoch weniger ausgeprägt. Der Grund hierfür liegt in der nicht so genauen Annotation der in-vivo Daten, welche nur volumenweise Annotiert werden konnten. Die Adaption eines echtzeitfähigen OCT-Systems an ein OP-Mikroskop könnte ebenfalls gezeigt werden. Mit diesem System konnten bereits von 30 Patienten OCT-Daten aufgenommen werden. Für Etablierung der OCT in der Neurochirurgie werden jedoch weitaus mehr Daten benötigt, um eine robuste Klassifizierung der einzelnen Gewebearten zu erreichen. Dies wird in Zukunft im Rahmen neuer Forschungsprojekte angestrebt.

## 5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen / Forschungseinrichtungen

Im Laufe des Projekts haben sich folgende Zusammenarbeiten anderen Stellen ergeben:

Institut für Biomedizinische Optik, Universität zu Lübeck:

- Adaption des OCT-Systems an das OP-Mikroskop
- Auswertung der OCT-Bilddaten

Klinik für Neurochirurgie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein:

- Durchführung und Planung der Studien-OPs für die Datenakquise

Institut für Neuropathologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf:

- Anpassung der Probenverarbeitung und Annotation der Gewebeschnitte

#### Literatur:

- [1] Faber, D. J., van der Meer, F. J., Aalders, M. C. G., & van Leeuwen, T. G. (2004). Quantitative measurement of attenuation coefficients of weakly scattering media using optical coherence tomography. *Opt. Express*, 12(19), 4353–4365. doi:10.1364/OPEX.12.004353
- [2] Kut, C., Chaichana, K., Xi, J., Raza, S., Ye, X., Mcveigh, E., ... Li, X. (06 2015). Detection of Human Brain Cancer Infiltration ex vivo and in vivo Using Quantitative Optical Coherence Tomography. *Science Translational Medicine*, 7, 292ra100-292ra100. doi:10.1126/scitranslmed.3010611
- [3] Yashin, K. S., Kiseleva, E. B., Gubarkova, E. V., Moiseev, A. A., Kuznetsov, S. S., Shilyagin, P. A., ... Gladkova, N. D. (2019). Cross-Polarization Optical Coherence Tomography for Brain Tumor Imaging. *Frontiers in Oncology*, 9, 201. doi:10.3389/fonc.2019.00201
- [4] Lenz, M., Krug, R., Dillmann, C., Stroop, R., Gerhardt, N. C., Welp, H., ... Hofmann, M. R. (2018). Automated differentiation between meningioma and healthy brain tissue based on optical coherence tomography ex vivo images using texture features. *Journal of Biomedical Optics*, 23(7), 1–7. doi:10.1117/1.JBO.23.7.071205
- [5] Möller, J., Bartsch, L.-A., Lenz, M., Tischoff, I., Krug, R., Welp, H., ... Miller, D. (05 2021). Applying machine learning to optical coherence tomography images for automated tissue classification in brain metastases. *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*, 16. doi:10.1007/s11548-021-02412-2
- [6] Gesperger, J., Lichtenegger, A., Roetzer, T., Salas, M., Eugui, P., Harper, D. J., ... Woehrer, A. (2020). Improved Diagnostic Imaging of Brain Tumors by Multimodal Microscopy and Deep Learning. *Cancers*, 12(7). doi:10.3390/cancers12071806