

# Dreidimensionale Rekonstruktion der Invasionsfront von Gebärmutterhalskarzinomen

Ulf-Dietrich Braumann<sup>1</sup>, Jens-Peer Kuska<sup>2</sup> und Jens Einenkel<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Interdisziplinäres Zentrum für Bioinformatik, Universität Leipzig, 04103 Leipzig  
Email: braumann@izbi.uni-leipzig.de

<sup>2</sup>Institut für Informatik, Universität Leipzig, 04109 Leipzig  
Email: kuska@informatik.uni-leipzig.de

<sup>3</sup>Universitätsfrauenklinik Leipzig, 04103 Leipzig  
Email: einj@medizin.uni-leipzig.de

**Zusammenfassung.** Die Art der Invasion von Gebärmutterhalskarzinomen in umliegendes gesundes Gewebe besitzt prognostische Relevanz. Es wird eine Verarbeitungskette (starre und nichtlineare Registrierung sowie Farbsegmentierung) vorgestellt, mit der anhand histologischer Serienschnitte Teilvolumina aus dem Bereich der Invasionsfront rekonstruiert werden können.

## 1 Einleitung

Die 3D-Charakterisierung des Invasionsmusters beim Plattenepithelkarzinom des Gebärmutterhalses anhand histologischer Serienschnitte ist eine aktuelle klinische Fragestellung, die höchste Anforderungen besonders an Bildverarbeitung und -analyse stellt. Die Arbeit ist Teil eines Projektes und hat die weitere Aufklärung der Tumorinvasion am Beispiel des Plattenepithelkarzinoms des Gebärmutterhalses (Cervix Uteri) zum Ziel. Bei der Ausbreitung von Tumoren spielen viele Einzelfaktoren eine Rolle, deren Zusammenspiel sich in Variationen morphologisch charakterisierbarer Invasionsmuster niederschlägt, obwohl der derselbe Tumortyp vorliegt (hier: Plattenepithelkarzinom). Die Variationsbreite reicht dabei von einer glatten Tumor-Wirt-Grenzfläche bis hin zu diffus aufgesplitterten Mustern, die unterschiedliche prognostische Relevanz besitzen [1]. Wichtige Einschränkung dieser Studien ist, daß alle morphologischen Einteilungen nur anhand einzelner histologischer Schnitte erfolgt sind.

Zur genauen Analyse von Gewebevolumina mit Submillimetrauflösung werden histologische Serienschnitte als Referenzmethode angesehen. Daher wurde für unsere Fragestellung prinzipiell auf diese Technik zurückgegriffen. Allerdings muß eine Vielzahl von Artefakten (Verzerrungen, Risse, Falten, Schwankungen der HE-Färbung) in Kauf genommen werden. Diese können bei routinemäßigen Untersuchungen vom Pathologen gut toleriert werden. Für eine automatische Rekonstruktion mit Registrierung und Segmentierung resultieren daraus aber erhebliche Anforderungen. Daher wird in der vorliegenden Arbeit ein mehrstufiges

Verfahren vorgestellt, das zur Rekonstruktion der Tumorinvasionsfront eingesetzt wird. Es geht in Art und Umfang erheblich über unsere früheren Arbeiten hinaus [2].

Hauptproblem der Rekonstruktion ist die automatische referenzdatensatzlose Registrierung der histologischen Serienschritte. Es existieren in der Literatur Arbeiten zur Registrierung von Datensätzen praktisch aller Bildmodalitäten. Verglichen mit bisher behandelten histologischen Serienschritten, nimmt das uns vorliegende Problem eine besondere Stellung ein: Während es sich in der Literatur meist um Serienschritte von Organen wie Gehirnen [3,4] handelt, liegen uns Schritte aus Teilpräparaten des Gebärmutterhalses vor, die nicht nur hochauflösend digitalisiert (Pixelgröße typ.  $8^2\mu\text{m}^2$ ), sondern auch sehr dünn geschnitten wurden (z. T. mehrere hundert Schritte, Stärke typ.  $10\mu\text{m}$ ). Unter diesen Umständen ist unseres Erachtens für eine erfolgreiche Gewinnung von Volumeninformation die Kombination geeigneter bekannter Registrierungsschritte (starre Ausrichtung, globale und lokale nichtlineare Entzerrung) die beste Lösung.

## 2 Methodik

In der ersten Stufe wird der Serienschritt einer sukzessiven paarweisen starren Registrierung anhand der Luminanzbilder unterzogen und damit der Volumendatensatz auf das effektiv erfaßte Volume Of Interest (VOI) eingeschränkt. Grundlage bildet die Verbindung von translationsinvarianter polar-logarithmischer Fourier-Mellin-Transformation (FMI [6]) und Phase-Only Matched Filtering (POMF [7]) zur Verdrehungsbestimmung (Reskalierung ist nicht erforderlich) sowie ein weiteres POMF zur Translationsbestimmung. Darin hat ein POMF zur Bestimmung der Koordinaten der besten Korrelation  $x_t$  und  $y_t$  für ein Referenzbild  $r(x, y)$  sowie ein betrachtetes Bild  $s(x, y)$  prinzipiell die Form

$$(x_t, y_t) = \arg \max_{(x,y)} F^{-1} \left[ \frac{F(r(x, y))}{|F(r(x, y))|} \cdot F(s(x, y))^* \right] \quad (1)$$

Die Korrelation im Fourierraum mittels POMF erweist sich erwartungsgemäß als sehr schnell gegenüber iterativen Verfahren im Ortsraum sowie im Rahmen des stufenweisen Rekonstruktionsverfahrens als ausreichend genau.

Danach erfolgt eine erste nichtlineare Entzerrung. Diese zweite Stufe sehen wir als erforderlich an, da die nachfolgende nichtlineare krümmungsbasierte Registrierung ansonsten aufgrund der Artefakte der Bilder zwar gute *paarweise* Registrierungen erzeugt, jedoch zugleich mit fortschreitender Abarbeitung der Serie mehr und mehr Artefakte nachbildet, was i. a. schließlich zu sehr starken Deformationen bis hin zu topologischen Defekten führt. Es wird zunächst also ein gleichmäßig dünn besetztes Verschiebungsvektorfeld berechnet und mittels Methode der kleinsten Fehlerquadrate die optimalen Koeffizienten eines Entzerrungspolynom (Ansatz: 5. Ordnung) geschätzt. Für die lokale Korrelation wird pro Verschiebungsvektor erneut ein POMF angewandt.

Hieran schließt eine farbbasierte Analyse hinsichtlich des jeweiligen Tumors an. Es werden hierfür für jeden Serienschritt (Variabilität der Färbung!) in

fünf ausgewählten Schnitten manuell Tumor- und Normalgewebereiche komplett segmentiert. Im weiteren wird mit intensitätsnormierten Farbwertanteilen  $b$  und  $g$  gearbeitet, die für beide Bereiche Normalverteilungen genügen. Dafür werden die Parameter der Verteilungsdichten für Tumor  $\rho_c$  und Normalgewebe  $\rho_m$  geschätzt. Die Wahrscheinlichkeit eines Pixels  $\xi$ , Tumorgewebe darzustellen, wird bestimmt als

$$\gamma(\xi) = \frac{\rho_c(\xi)}{\rho_c(\xi) + \rho_m(\xi)}. \quad (2)$$

Da die Färbung innerhalb einer Serie Schwankungen und Driften unterliegt, wird der farbasierten Analyse eine Farbadaptation bezüglich eines gewählten Referenzschnittes vorangestellt. Adaptationskriterium ist dabei die geschätzte multivariate Normalverteilung der Farbvalenzen im  $RGB$ -Raum.

In der vierten Stufe erfolgt die Bestimmung eines vollständigen verbleibenden Verschiebungsvektorfeldes  $\mathbf{u}$  zur Beseitigung restlicher lokaler Registrierungsfehler. Dafür wird eine krümmungsbasierte nichtlineare Registrierung von betrachtetem Bild  $s(x, y)$  auf Referenzbild  $r(x, y)$  auf der Basis einer partiellen Differentialgleichung 4. Ordnung verwendet [5]:

$$\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t}(x, y, t) = -\alpha \Delta^2 \mathbf{u}(x, y, t) + \mathbf{f}(\mathbf{u}(x, y, t)) \quad (3)$$

mit

$$\begin{aligned} \mathbf{f} = & (s(x - u_x(x, y), y - u_y(x, y)) - r(x, y)) \\ & \times \nabla (s(x - u_x, y - u_y) - r(x, y)) \end{aligned} \quad (4)$$

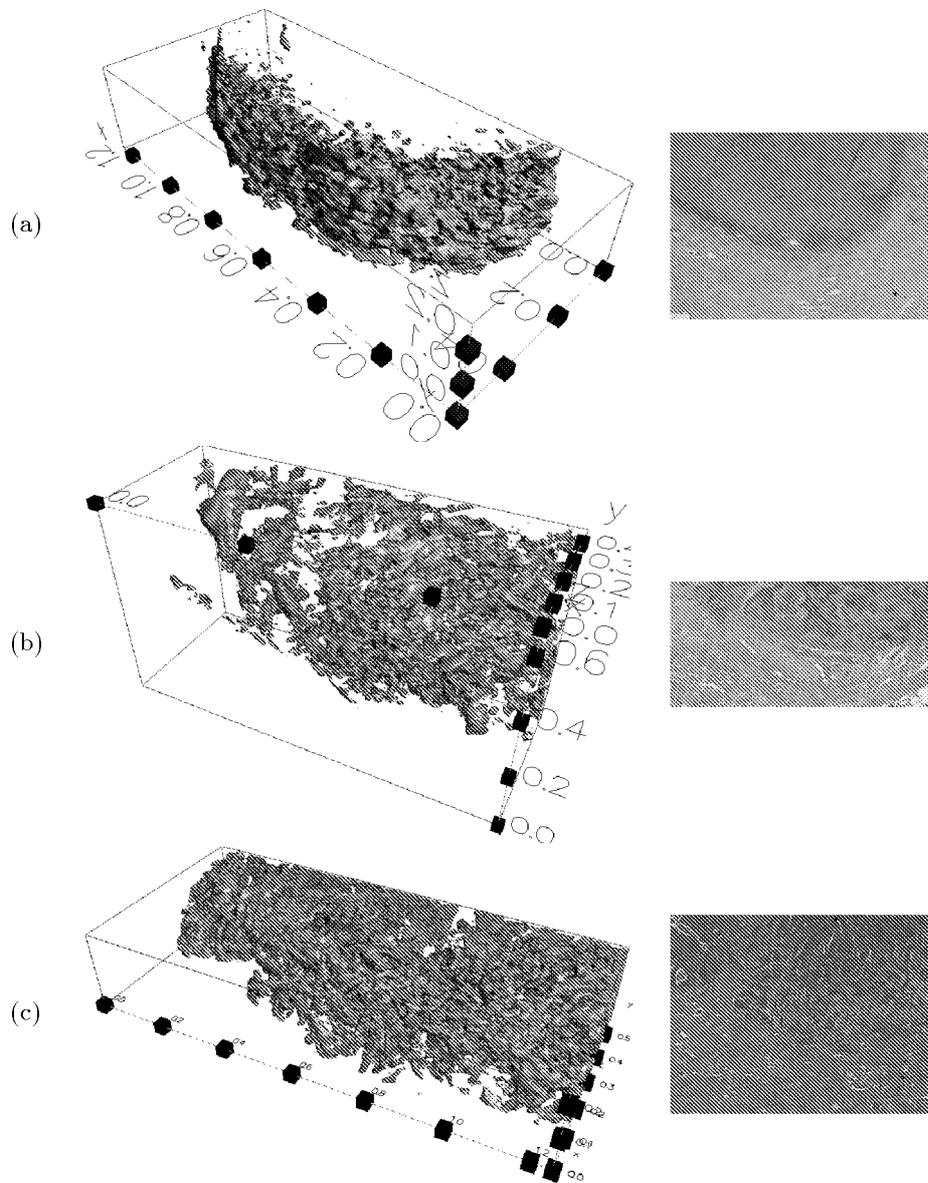
Das gekoppelte System partieller Differentialgleichungen für die Verschiebungsfelder wird mit sukzessiver Approximation und diskreter Fouriertransformation gelöst. Das Verschiebungsfeld wird dabei basierend auf Wahrscheinlichkeitsbildern aus der zuvor durchgeführten Farbanalyse berechnet. Somit gehen Bereiche der Bilder in diesen Registrierungsschritt umso höher ein, je höher dort die lokale Wahrscheinlichkeit für Tumorgewebe ist.

In der letzten Rekonstruktionsstufe wird der registrierte Volumendatensatz einer Medianfilterung unterzogen, an die sich eine Isoflächenberechnung [8] entsprechend eines gegebenen Schwellwertes anschließt.

### 3 Ergebnisse und Diskussion

Mit der dargestellten Methodik ist es uns erstmals gelungen, Tumorpräparate anhand histologischer Serienschnitte zu rekonstruieren und die Invasionsfronten zu bestimmen (siehe Abb. 1 mit drei ausgewählten Beispielen mit (a) 90, (b) 300 und (c) 100 Schnitten). Nur in sehr wenigen Fällen traten prinzipielle Probleme bei der Rekonstruktion auf, so daß ca. 1% der Schnitte mit größten Artefakten wie großflächigen Gewebelücken oder großen Einfaltungen/Rissen nicht berücksichtigt werden konnten.

Der Verarbeitungsaufwand des mehrstufigen Verfahrens zahlt sich deutlich aus und wird für diese Art Datenmaterial mit sehr vielen verschiedenen möglichen



**Abb. 1.** Isoflächen von Tumorinvasionfronten und dazu korrespondierende einzelne Beispielschnitte mit (a) geschlossenem, (b) plumpem und (c) netzigem Invasionsmuster, dargestellt mittels ca. 280000, ca. 900000 bzw. ca. 1100000 Polygonen, Schwellwert jeweils 86% Tumorwahrscheinlichkeit. Die zugrundeliegenden rekonstruierten Gewebevolumenta haben eine Größe von (a)  $5,4 \times 3,8 \times 0,9 \text{ mm}^3$ , (b)  $7,1 \times 3,3 \times 3,0 \text{ mm}^3$  und (c)  $7,0 \times 5,2 \times 1,0 \text{ mm}^3$ .

Artefakten als erforderlich angesehen. Zur Quantifizierung der Registrierungsgüte wurde pro Serie der verbliebene mittlere quadratische Restfehler anhand von Verschiebungsvektorfeldern der geglätteten Volumendatensätze bestimmt. Dabei ergab sich für das Präparat in Abb. 1(a) nach starrer Registrierung ein Fehler von 1,87 Pixel, nach polynomialer nichtlinearer Registrierung 0,76 Pixel und nach krümmungsbasierter nichtlinearer Registrierung 0,72 Pixel. Für das Präparat in Abb. 1(b) sind die Restfehler 1,49, 0,83 bzw. 0,62 Pixel und für das Präparat in Abb. 1(c) 1,97, 0,84 und 0,57 Pixel.

Gegenwärtig arbeiten wir daran, die rekonstruierten Invasionsfronten quantitativ zu untersuchen, um eine objektivierbare Charakterisierung der Invasionsmuster vornehmen zu können.

### Danksagung

Die Autoren danken sehr herzlich Frau Regina Scherling für die Erstellung der Serienschnitte sowie Herrn Torsten Frohn für deren Digitalisierung.

### Literaturverzeichnis

1. Horn LC, Fischer U, Bilek K: Histopathologische Prognosefaktoren beim primär operativ therapierten Zervixkarzinom. *Zentralbl Gynakol*, 123(5):266–274, 2001.
2. Braumann UD, Galle J: Untersuchungen zur Rekonstruktion netzartiger Tumoringvasionsfronten anhand histologischer Serienschnitte. *Procs BVM 2002*:239–242, 2002.
3. Modersitzki J, Schmitt O, Fischer B: Effiziente, nicht-lineare Registrierung eines histologischen Serienschnittes durch das menschliche Gehirn. *Procs BVM 2001*:179–183, 2001.
4. Schmitt O, Modersitzki J: Registrierung einer hochaufgelösten histologischen Schnittserie eines Rattenhirns. *Procs BVM 2001*:174–178, 2001.
5. Fischer B, Modersitzki J: Fast Curvature Based Registration of MR-Mammography Images. *Procs BVM 2002*:139–142, 2002.
6. Casasent D, Psaltis D: Position, Rotation and Scale-Invariant Optical Correlation. *Appl Opt* 15:1793–1799, 1976
7. Horner JL, Gianino PD: Phase-Only Matched Filtering. *Appl Opt* 23(6):812–816, 1984
8. Kuska JP: MathGL3d 3.0 – Interaktiver OpenGL-Viewer für Mathematica. <http://phong.informatik.uni-leipzig.de/~kuska/mathgl3dv3>