



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK
INSTITUT FÜR MEDIZINISCHE INFORMATIK

Aus dem Institut für Medizinische Informatik
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. rer. nat. habil. Heinz Handels

KI-gestützte Gewebeanalyse auf Basis der optischen Kohärenztomographie für die Tumorerkennung in der Neurochirurgie

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

Aus der Sektion Informatik/Technik

vorgelegt von
Paul Strenge
aus Eberswalde

Lübeck, 2024

1. Berichtstatter: Prof. Dr. rer. nat. habil. Heinz Handels

2. Berichtstatter: Prof. Dr. rer. nat. Gereon Hüttmann

Tag der mündlichen Prüfung: 28.04.2025

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 30.04.2025

Zusammenfassung

Die Erkrankung an einem Hirntumor stellt eine große physische und emotionale Herausforderung für einen Patienten und dessen persönliches Umfeld dar. In der Regel bildet der chirurgische Eingriff einen wichtigen Bestandteil in der Therapie eines Hirntumors. Hierbei gibt es eine direkte Korrelation zwischen dem Langzeitüberleben eines Patienten und dem prozentualen Anteil des chirurgisch entfernten Tumorgewebes. Aus diesem Grund ist das Hauptziel einer Resektion die vollständige Entfernung des Tumorgewebes unter Schonung des umliegenden gesunden Gewebes. Zeitgleich ist dieses Ziel eine der größten Herausforderungen in der Neurochirurgie. Aufgrund des diffusen Wachstums einiger Hirntumorarten bilden sich graduelle Infiltrationszonen, die histologisch nur schwer von gesundem Gewebe zu unterscheiden sind. Aus diesem Grund ist eine zuverlässige Erkennung des Tumorgewebes während eines chirurgischen Eingriffes mit intraoperativen Bildgebungsmethoden wie der Magnetresonanztomographie oder der Fluoreszenzmikroskopie nur eingeschränkt möglich. Die optische Kohärenztomographie (OCT) könnte eine alternative Bildgebungsmethode darstellen, um die Erkennung der Infiltrationszonen zu verbessern. Bei der OCT handelt es sich um eine kontaktfreie und nichtinvasive Bildgebungsmodalität, die Tiefenschnittbilder mit einer Auflösung im Mikrometerbereich erzeugt. Die Tiefenschnittbilder werden dabei interferometrisch auf Grundlage des Weglängenunterschiedes zwischen einem Referenz- und einem Probenlichtstrahl ermittelt.

Diese Arbeit behandelt die Untersuchung der OCT als potentielle Bildgebungsmethode zur Identifikation des Haupttumorgewebes und der vorhandenen Infiltrationszonen. Die Bildverarbeitungsmethoden zur Gewebeanalyse stützen sich auf optische und strukturelle Gewebeeigenschaften, die aus den OCT-Daten extrahiert wurden, sowie Algorithmen des maschinellen Lernens, mit denen Klassifikationen zwischen den unterschiedlichen Gewebearten durchgeführt wurden. Die Grundlage der Auswertung bildet ein Datensatz bestehend aus rund 700 pixelweise annotierten OCT-B-Scans, der aktuell aufgrund der Genauigkeit der Annotationen weltweit einzigartig ist. Die Daten wurden im Rahmen einer klinischen Studie mit 21 Patienten während der Tumorresektion mit zwei OCT-Systemen ex-vivo aufgenommen. Die OCT-Systeme unterscheiden sich hierbei in ihren Systemeigenschaften, wie der Aufnahmewellenlänge und der Auflösung. Die entnommenen Proben wurden anschließend für die neuropathologische Untersuchung zu histologischen Schnittbildern verarbeitet, welche durch einen Neuropathologen annotiert wurden. Mit Hilfe eines formbasierten Verfahrens wurden die Annotationen von den histologischen Schnittbildern auf korrespondierende OCT-B-Scans der beiden

OCT-Systeme übertragen, um so den Datensatz für die gewebespezifische Untersuchung zu erzeugen.

Der Beginn der Auswertungen des Datensatzes bildete ein Vergleich der beiden OCT-Systeme auf Basis von optischen Gewebeeigenschaften der Proben und einer binären Gewebeklassifikation zwischen gesundem und tumorösem Gewebe. Der Vergleich zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Systemen hinsichtlich der grundlegenden Trennung zwischen gesundem und pathologischem Gewebe. Es stellte sich heraus, dass gesunde weiße Masse sehr gut von weißer Masse mit einer Tumordinfiltration von $>60\%$ zu trennen ist. Diese Gewebe konnten im Mittel mit einer Genauigkeit von 91% getrennt werden. Gesunde graue Masse zeigte jedoch eine hohe Ähnlichkeit der optischen Eigenschaften zu Tumorgewebe. Das Hinzufügen von grauer Masse und die Berücksichtigung von Zwischenstufen der Tumordinfiltration bei der binären Klassifikation von gesundem und tumorösem Gewebe führten zu einem starken Einbruch der Klassifikationsgenauigkeit auf rund 60% . Aus diesem Grund wurde die Gewebeuntersuchung um die Betrachtung von strukturellen Eigenschaften erweitert. Diese wurden sowohl mit konventionellen Methoden als auch durch Methoden des maschinellen Lernens ermittelt. Anschließend erfolgte eine Klassifikation basierend auf neuronalen Netzwerken, mit der die drei Gewebearten weiße Masse, graue Masse und weiße Masse mit einer Tumordinfiltration von $>60\%$ identifiziert wurden. Um die Komplexität der Gewebetrennung besser zu quantifizieren, wurden die Klassifikationsunsicherheiten mit einem evidenzbasierten Lernansatz ermittelt. Für sichere Klassifikationen der drei Gewebearten, welche mindestens 50% jeder Gewebeart ausmachten, konnte ansatzübergreifend eine Präzision von 83% und eine Sensitivität von 83% erreicht werden. Insgesamt bildet die Arbeit eine umfangreiche Grundlage für die weitere Forschung zur Anwendung der OCT in der Neurochirurgie.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Motivation	1
1.2	Aufbau und wissenschaftliche Beiträge dieser Arbeit	4
2	Medizinischer Hintergrund	8
2.1	Neuroanatomie des menschlichen Gehirns	8
2.2	Intrakranielle Tumore	10
2.2.1	Primäre Hirntumore	11
2.2.1.1	Oligodendrogliom	11
2.2.1.2	Anaplastisches Oligodendrogliom	12
2.2.1.3	Anaplastisches Astrozytom	12
2.2.1.4	Glioblastom	13
2.2.2	Sekundäre Hirntumore	14
2.3	Therapie von Hirntumoren	15
2.4	Neuropathologische Probenverarbeitung	18
3	Grundlagen der optischen Kohärenztomographie	20
3.1	Funktionsweise der optischen Kohärenztomographie	21
3.2	Optische Gewebeeigenschaften	26
3.3	Bestimmung der optischen Gewebeeigenschaften mit der OCT	29
4	Ex-vivo-Datenaufnahme von menschlichen Gehirnproben	35
4.1	Patienten und Proben	36
4.2	Probeneinbettung	37
4.3	Ex-vivo-OCT-Datenaufnahme	42
4.4	Histologische Probenaufbereitung	44
4.5	Annotation der histologischen Schnittbilder	47
5	Registrierung von OCT-Daten und histologischen Schnittbildern	49
5.1	Bestimmung der Oberflächenposition von OCT-B-Scans	49
5.1.1	Kantenfilter	50
5.1.2	Graphensuche	51
5.1.3	U-Net	52
5.1.4	Vergleich der Methoden	55
5.2	Korrespondenzbestimmung zwischen OCT-B-Scans und HE-Schnitten	56

5.3	Registrierung zwischen HE-Schnittbildern und OCT-B-Scans	63
5.3.1	Shape-Context	63
5.3.2	Inner-Distance-Shape-Context	66
5.3.3	Thin-Plate-Spline-Interpolation	67
5.3.4	Nicht-affine Transformation zwischen HE-Schnittbild und OCT-B-Scan	69
5.4	Bewertung des Ex-vivo-Datensatzes	77
5.5	Ergebnisse und Diskussion	84
6	Hirntumorerkennung mit Hilfe der OCT: Ein Vergleich zweier Systeme	90
6.1	Datenvorverarbeitung	91
6.1.1	Intensitätsnormierung der OMES-Daten	91
6.1.2	Fokus- und Roll-Off-Korrektur	95
6.1.3	Extraktion der OCT-Bild-Patches	98
6.2	Bestimmung der optischen Gewebeeigenschaften von menschlichem Gehirn	101
6.3	Tumorklassifikation mit neuronalen Netzwerken	107
6.4	Diskussion	111
7	Ex-vivo-Gewebeklassifikation unter Berücksichtigung von Unsicherheiten	115
7.1	Datenvorbereitung	116
7.2	Strukturmerkmale	116
7.2.1	Bestimmtheitsmaß	117
7.2.2	Die räumlichen Bildgradienten	118
7.2.3	Texturmerkmale nach Laws	119
7.2.4	Grauwertematrix	121
7.2.5	Gewebecharakterisierung anhand der Strukturmerkmale	123
7.3	Merkmalsfindung mittels Variational-Autoencoder	126
7.3.1	Aufbau und Training	127
7.3.2	Ergebnisse	129
7.4	Unsicherheiten bei der Klassifikation	131
7.4.1	Definition der Unsicherheit	131
7.4.2	Evidenzbasierte Neuronale Netzwerke	134
7.5	Gewebeklassifikation mit evidenzbasierten neuronalen Netzwerken	137
7.5.1	Methoden	138
7.5.2	Ergebnisse	140
7.6	Diskussion	151
8	Fazit und Ausblick	156

9 Publikationsliste	165
A Anhang zu Kapitel 1 und Kapitel 8	169
B Anhang zu Kapitel 4	170
C Anhang zu Kapitel 6	171
C.1 Übersicht über die relativen Differenzen	171
C.2 Punktwolken der bestimmten optischen Parameter	173
Literaturverzeichnis	175

Abkürzungsverzeichnis

AE	Autoencoder
5-ALA	5-Aminolävulinsäure
ASM	Angular-Second-Moment
ATRX	Alpha-Thalassemia-Retardation-X-Linked
CNN	Convolutional Neural Network
CT	Computertomographie
FDML	Fourier Domain Mode Locked
FD-OCT	Fourierdomänen-OCT
FN	Falsch Negativ
FOV	Field Of View
FP	Falsch Positiv
FWHM	Full Width At Half Maximum
GLCM	Gray Level Co Matrix
GM	Graue Masse
HE	Hämatoxylin Eosin
IDH	Isocitrat Dehydrogenase
IDSC	Inner Distance Shape Context
MRT	Magnetische Resonanztomographie
MI	Mutual Information
MSE	Mean Squared Error
NA	Numerische Apertur
ND	Neutraldichte
NPL	National Physical Laboratory
OCT	Optical Coherence Tomography
OP	Operation
PCA	Principal Component Analysis
PPR	Positive Prediction Rate
PSF	Point Spread Function
ReLU	Rectified Linear Unit
ROI	Region of Interest

SC	Shape Context
SD-OCT	Spektraldomänen-OCT
SIFT	Scale Invariant Feature Transform
SO	Strukturelle und optische Merkmale
SS-OCT	Swept Source Optical Coherence Tomography
T	Tumor
TD-OCT	Time Domain Optical Coherence Tomography
TN	True Negative
TNR	True Negative Rate
TP	True Positive
TPR	True Positive Rate
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
US	Ultraschall
VAE	Variational Autoencoder
WHO	World Health Organization
WM	Weißer Masse

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Motivation

Jedes Jahr werden weltweit rund 700.000 Patienten mit einem Hirntumor diagnostiziert, der einen chirurgischen Eingriff erforderlich macht, allein 8.000 davon in Deutschland [Dewan u. a., 2019]. Die größte chirurgische Herausforderung ist dabei die größtmögliche Resektion der Tumormasse, da die verbleibende Lebenszeit des Patienten direkt von dem entfernten Tumolvolumen abhängt [Lacroix u. a., 2001]. Die Tumorresektion ist in den meisten Fällen ein Kompromiss aus der Entfernung von möglichst viel Tumorgewebe und dem Erhalt des umliegenden gesunden Gewebes, um die Lebensqualität des Patienten zu erhalten. Je nach Tumorart kann die Resektion des Tumorgewebes erheblich erschwert sein. Diffus wachsende Gliome, wie zum Beispiel das Glioblastom, wachsen infiltrativ in das umliegende Gewebe und bilden eine graduelle Grenze zwischen dem Tumorkern und dem umliegenden gesunden Gewebe. Diese Grenze wird auch als Infiltrationszone bezeichnet. Das Glioblastom ist der häufigste hirneigene Tumor mit einem Anteil von 15 % bis 20 % und ist durch ein extrem aggressives und diffuses Wachstum charakterisiert [Arevalo u. a., 2017; Bernstein u. a., 2000; Young u. a., 2015]. Unbehandelt führt das Glioblastom innerhalb von drei Monaten zum Tod des Patienten. Die Tumorresektion in Kombination mit Strahlentherapie kann die Lebenszeit im Mittel auf 15 Monate verlängern [Thakkar u. a., 2014]. Es ist essentiell während des chirurgischen Eingriffes das Tumorgewebe mitsamt der Infiltrationszonen zu identifizieren. Um möglichst viele Informationen über das vorliegende Gewebe bereitzustellen, findet die Tumorresektion aktuell mit einer Kombination unterschiedlicher Bildgebungsmethoden statt. Zu den verwendeten Bildgebungsverfahren gehören: pre- und intraoperative Magnetresonanztomographie (MRT), intraoperativer Ultraschall und die Fluoreszenzmikroskopie auf Basis von Fluorescein oder 5-ALA (5-Aminolävulinsäure) [Kuppler u. a., 2023; Kut u. a., 2015]. Die MRT wird in der Regel für die Orientierung und globale Lokalisierung des Tumors genutzt, kann aber aufgrund der schlechten Auflösung die Infiltrationszonen nicht darstellen und verliert ihre Gültigkeit, sobald Gewebe entnommen wird oder sich das Gehirn während des Eingriffes bewegt [Spivak u. a., 2005]. Hinzu kommt, dass die intraoperative MRT nicht in allen Kliniken verfügbar ist. Intraoperativer Ultraschall ermöglicht eine echtzeitfä-

hige Aufnahme des Gehirns und ist somit weniger anfällig gegenüber Bewegungen des Gehirns. Jedoch zeigen die akquirierten Bilder einen komplexen Bildkontrast, der nur von speziell geschultem Personal interpretiert werden kann [Selbekk u. a., 2013]. Fluoreszenzmikroskopie ermöglicht die Bereitstellung von leicht interpretierbaren hochauflösenden Bildern, jedoch hängt die Stärke der Fluoreszenzintensität von der Dosis des Fluoreszenzmittels ab und kann durch lokale Gegebenheiten (z. B. Gefäßproliferation) für gleiche Gewebearten variieren [Stummer u. a., 2000]. Hinzu kommt, dass der Patient im Falle von 5-ALA mindestens 24 h in einem abgedunkelten Raum untergebracht werden muss, um phototoxische Reaktionen der Haut zu verhindern, was den klinischen Ablauf deutlich verkompliziert.

Die optische Kohärenztomographie (OCT) verbindet einige der Vorteile des intraoperativen Ultraschalls und der Fluoreszenzmikroskopie ohne die Nachteile, weshalb Giese u. a., 2006 evaluiert haben, ob die OCT für die Identifikation von Tumorgewebe im Gehirn geeignet ist [Giese u. a., 2006]. Bei der OCT handelt es sich um eine lichtbasierte Bildgebungsmethode zur Erstellung von Tiefenschnittbildern, welche erstmals durch Huang u. a., 1991 vorgestellt wurde [Huang u. a., 1991]. Die Tiefenschnittbilder werden mit Hilfe einer interferometrischen Weglängenmessung von Licht erzeugt [Drexler u. a., 2008; Fujimoto u. a., 2000]. Durch die Verwendung von Licht können die Tiefenschnittbilder, anders als bei dem intraoperativen Ultraschall, kontaktfrei bestimmt werden. Ein weiterer Vorteil ist die hohe Aufnahmegeschwindigkeit von derzeit mehr als 1.6 MHz, wodurch bis zu 32 Volumen pro Sekunde aufgenommen werden können [Lotz u. a., 2023; Miura u. a., 2019]. Die Tiefenschnittbilder besitzen eine Auflösung im Bereich von 4 μm bis 30 μm und decken eine Aufnahmetiefe von bis zu 5 mm ab. Somit schließt die OCT die Lücke zwischen der konfokalen Mikroskopie und dem Ultraschall und bildet einen guten Kompromiss aus beiden Bildgebungsmodalitäten. Aufgrund der aufgezählten Eigenschaften ist die OCT bereits in der Ophthalmologie etabliert (z. B. Retinabildgebung [Adhi u. a., 2013]). In den letzten Jahren gab es große Bestrebungen 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 [Faber u. a., 2004; Schmitt u. a., 1993, 1997]. Die Bestimmung dieses Parameters wurde über die Jahre um unterschiedliche Methoden erweitert, zum Beispiel die pixelweise Bestimmung [Vermeer u. a., 2013], die Bestimmung basierend auf einer Fourier-Transformation [Yuan u. a., 2017] oder die Bestimmung unter Berücksichtigung von Mehrfachstreuung [Turani u. a., 2019]. Eine auf diesen Parameter basierende Tumorerkennung beruht auf der Annahme, dass die zunehmende Tumorerkennung die optischen Eigenschaften des Gewebes verändert. Böhringer u. a., 2009 zeigten in einer

Ex-vivo- und In-vivo-Studie mit neun Patienten, dass der Abschwächungskoeffizient genutzt werden kann, um Tumorgewebe zu identifizieren [Böhringer u. a., 2009]. Eine genauere Untersuchung dieses Sachverhaltes hat gezeigt, dass der Abschwächungskoeffizient von weißer Masse mit zunehmender Tumordinfiltration abnimmt [Kut u. a., 2015; Yashin u. a., 2019b]. Yashin u. a., 2019b führten die Hypothese ein, dass die Abnahme des Koeffizienten mit der Zerstörung der stark streuenden Myelinfasern zu tun hat. Die beiden Forschungsgruppen waren in der Lage weiße Masse von stark tumordinfiltriertem Gewebe zu trennen.

Ein anderer Ansatz berücksichtigt strukturelle Informationen. Böhringer u. a., 2009 stellten fest, dass strukturelle Heterogenitäten in tumorösem Gewebe auftreten, während gesundes Hirngewebe strukturelle Homogenität aufweist [Böhringer u. a., 2009]. Die strukturelle Trennung wurde von unterschiedlichen Forschungsgruppen einige Jahre später wieder aufgegriffen. Lenz u. a., 2018 beispielsweise nutzten eine Kombination von unterschiedlichen Texturmerkmalen und einem Support-Vector-Machine-Ansatz zur Unterscheidung von Ex-vivo-Meningeom und gesundem Hirngewebe [Lenz u. a., 2018]. Möller u. a., 2021 zeigten eine erfolgreiche Anwendung der Methode auf Hirnmetastasen [Möller u. a., 2021]. Moiseev u. a., 2018 verwendeten Ausschnitte von OCT-Signalen, die anschließend mittels Hauptkomponentenanalyse zur Erstellung von Merkmalsvektoren zerlegt wurden, um eine Gewebecharakterisierung von Hirntumoren in Mäusen durchzuführen [Moiseev u. a., 2018]. Den wohl größten strukturellen Kontrast zeigten Gesperger u. a., 2020, die im Gegensatz zu den anderen Publikationen ein hochauflösendes optisches Kohärenzmikroskop nutzen, um ein neuronales Netzwerk zu trainieren [Gesperger u. a., 2020]. 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. All diese Ansätze erreichten eine Klassifikationsgenauigkeit von über 90%. Es wurde auch gezeigt, dass die Genauigkeit signifikant sinkt, wenn Proben mit geringer Tumordinfiltration klassifiziert wurden [Gesperger u. a., 2020].

Obwohl die bisherigen Arbeiten bereits eine gute Grundlage für die Anwendung der OCT in der Neurochirurgie bilden (Übersicht siehe Anhang A), wurden einige Aspekte nicht beachtet. Die meisten Studien beschränkten sich auf die Unterscheidung von gesunder und tumoröser weißer Masse. Die Differenzierung aller Gewebearten (weiße und graue Masse - gesund und tumorös) wurde nur in wenigen Studien untersucht [Gesperger u. a., 2020; Yashin u. a., 2019a]. In diesen Veröffentlichungen fehlen allerdings detaillierte Informationen über die Verteilung der weißen und grauen Masse in den Stichproben. Dabei zeigten Yashin u. a., 2019a, dass graue Masse eine hohe Ähnlichkeit zu Tumorgewebe zeigt. Des Weiteren gehen viele Studien von homogenen Proben aus, wodurch Proben mit heterogenen Gewebekombinationen von den Auswertungen ausgeschlossen wurden [Möller u. a., 2023]. Eine solche Maßnahme ist für initiale Forschung vertretbar, spiegelt jedoch nicht die medizinische Realität wieder. Diese muss aber adressiert werden, um die OCT in Neurochirurgie zu etablieren. Die schwer klas-

sifizierbaren Tumordinfiltrationszonen wurden ebenfalls nur in wenigen Studien berücksichtigt [Gesperger u. a., 2020; Kut u. a., 2015]. Ein weiterer Aspekt sind die optimalen Eigenschaften eines OCT-Systems für die Identifikation von Tumorgewebe, welche nur durch einen direkten Vergleich mehrerer Systeme genau untersucht werden kann. In der vorliegenden Arbeit wurden die angesprochenen Aspekte berücksichtigt, um eine bestmögliche Einschätzung darüber zu geben, ob die OCT eine mögliche Ergänzung in der Bildgebung der Neurochirurgie ist.

1.2 Aufbau und wissenschaftliche Beiträge dieser Arbeit

Diese Arbeit behandelt die Untersuchung von menschlichem Hirngewebe auf Basis von Ex-vivo-OCT-Daten. Das Ziel der Arbeit war die Unterscheidung von gesundem Gewebe und Gewebe mit Tumordinfiltration. Hierbei wurde nicht nur Gewebe mit starker Tumordinfiltration berücksichtigt, sondern auch die Infiltrationszonen mit geringer und mittlerer Tumordinfiltration. Die Datengrundlage für die Untersuchungen bildet ein eigens für diese Forschung angefertigter Datensatz, welcher aktuell weltweit einzigartig ist. Dieser Datensatz wurde im Rahmen einer klinischen Studie erzeugt, in der Proben von menschlichem Gehirn während einer Tumorresektion entnommen und mit zwei OCT-Systemen ex-vivo aufgenommen wurden. Aufgrund der Neuheit der OCT-Anwendung in dem Bereich der Neurochirurgie konnte die Annotation nicht direkt auf den OCT-B-Scans erfolgen, sondern musste von histologischen Schnittbildern übertragen werden. Hierzu wurde ein innovatives Verfahren entwickelt, wodurch die Bildregistrierung zwischen OCT-B-Scans von menschlichem Gehirn und histologischen Schnittbildern ermöglicht wurde. Das Verfahren beruht auf der Form der Probe, welche unabhängig von der Bildmodalität ist. Durch die Registrierung konnten die pixelweisen Annotationen von den histologischen Schnitten auf korrespondierende OCT-B-Scans übertragen werden. Um eine weitreichende Gewebeanalyse zu gewährleisten, wurden zwei OCT-Systeme mit unterschiedlichen Geräteeigenschaften für die Datenaufnahme verwendet. Aufgrund der unterschiedlichen Aufnahmeparameter konnte der Einfluss dieser auf die Qualität der Trennung zwischen gesundem und pathologischem Gewebe untersucht werden. Der entstandene Datensatz besteht aus Paaren von OCT-B-Scans der beiden OCT-Systeme mit pixelweisen Annotationen, mit denen neben grauer und weißer Masse auch drei Abstufungen der Tumordinfiltration unterschieden werden können. Auf Grundlage dieses Datensatzes wurden zunächst die beiden OCT-Systeme hinsichtlich der Trennung von gesundem und tumorösem Gewebe miteinander verglichen. Dieser Vergleich erfolgte hauptsächlich auf Basis von optischen Gewebeeigenschaften, die aus den OCT-Daten extrahiert wurden und der Anwendung von neuronalen Netzwerken für die Klassifikation von gesundem und tumorösem Gewebe. In einer erweiterten Betrachtung wurden anschließend strukturelle Eigenschaften in die Gewebeanalyse einbezogen. Die Gewebeklassifikation wurde ebenfalls erweitert, indem die Trennung

zwischen grauer und weißer Masse sowie tumorinfiltriertem Gewebe untersucht und die Quantifizierung der Unsicherheiten der Klassifikationsergebnisse eingeführt wurde. Im Folgenden werden die Inhalte der einzelnen Kapitel nochmals detaillierter aufgeschlüsselt. Die Kapitel 2 und 3 sind Kapitel für die klinischen und technischen Grundlagen, während die restlichen Kapitel die wissenschaftliche Arbeit beinhalten (siehe Abb. 1.1).

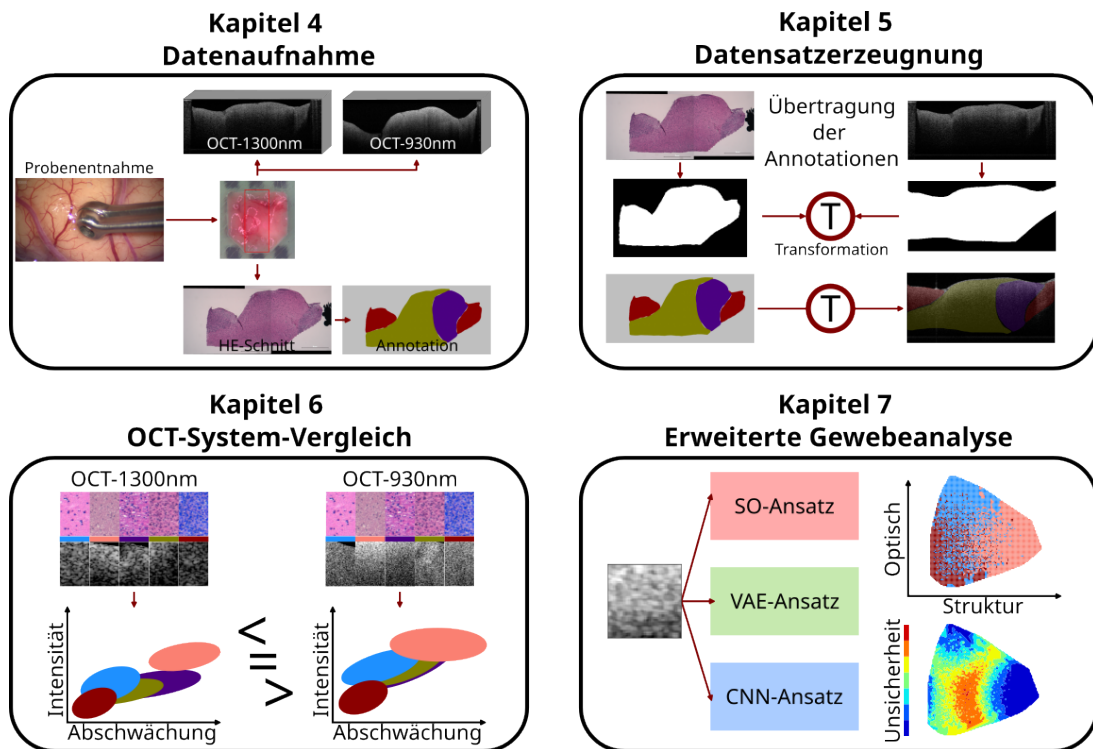


Abb. 1.1: Schematische Übersicht über die Inhalte der wissenschaftlichen Kapitel.

Ex-vivo-Datenaufnahme und Verarbeitung von menschlichen Gehirnproben Die in Kapitel 4 vorgestellte Datenaufnahme erfolgte in enger Zusammenarbeit mit der Neurochirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH) in Lübeck und der Neuropathologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) innerhalb einer klinischen Studie. Das Kapitel geht zunächst darauf ein, welche Patienten in die Studie aufgenommen wurden. Ein wesentlicher Teil der klinischen Studie ist die Entnahme von Proben aus dem menschlichen Gehirn. Die Entnahmeorte der Proben umfassten die Oberfläche des Gehirns, die Haupttumormasse und verschiedene Positionen innerhalb der Resektionshöhle. Die Proben wurden anschließend in eine Agaroseform eingebettet und von zwei OCT-Systemen aufgenommen. Die histologische Aufarbeitung der Proben durch das UKE erfolgte in einem speziell für die Studie eingeführten Prozess. Dieser umfasste eine angepasste Anfertigung der histolo-

gischen Schnitte an vorher festgelegten Positionen, welche mit der Scan-Richtung der OCT-B-Scans übereinstimmte und pixelweise Annotation der Schnittbilder. Für die pixelweise Annotation wurden gesunde graue Masse, gesunde weiße Masse und drei Infiltrationsgrade, neben anderen Gewebearten, wie zum Beispiel Ödemen oder Blutungen berücksichtigt. Mit Hilfe dieser Vorgehensweise gab es eine hohe Flexibilität, da die Komplexität der späteren Analyse angepasst werden konnte. Während der Datenaufnahme wurde die Grundlage zur Erstellung des Datensatzes für die Gewebeanalyse gelegt. Die spezielle Probeneinbettung ermöglichte eine standardisierte Verarbeitung auf deren Basis später eine Registrierung zwischen den OCT-Daten und den histologischen Schnittbildern ermöglicht wurde. Diese beschriebene Vorgehensweise wurde in Strenge u. a., 2022b veröffentlicht.

Registrierung von OCT-Daten und histologischen Schnittbildern In Kapitel 5 wurde die Erstellung des Datensatzes für die Gewebeanalyse beschrieben, der aus annotierten Paaren von korrespondierenden OCT-B-Scans der beiden OCT-Systeme besteht. Um die histologischen Informationen in Form der Annotationen auf die OCT-Daten zu übertragen, wurden zunächst zu den histologischen Schnittbildern korrespondierende OCT-B-Scans aus den aufgenommenen OCT-Volumen extrahiert. Die korrespondierenden OCT-B-Scans wurden unter der Annahme ermittelt, dass die Schnitt Ebenen auf den OCT-Volumen aufgrund der Formgebung bekannt waren. Die Registrierung zwischen den OCT-Daten und den histologischen Schnittbildern erfolgte dann auf Basis der Gewebeform, welche durch die Einbettung vorgegeben wurde. Da die Form des Gewebes in den OCT-Daten aufgrund der limitierten Eindringtiefe nicht immer sichtbar ist, wurde die Form indirekt über die Oberflächenposition ermittelt. Hierzu wurden unterschiedliche Methoden evaluiert, um die Oberflächenposition in einem OCT-B-Scan zu ermitteln. Die Registrierung zwischen den OCT-B-Scans und den korrespondierenden histologischen Schnittbildern erfolgte durch die Anwendung des Inner-Distance-Shape-Context und einer nicht-affinen Transformation. Auf Basis der ermittelten Transformation konnten die Annotationen von den Schnittbildern auf die korrespondierenden OCT-B-Scans der beiden OCT-Systeme übertragen werden. Die vorgestellte Methodik wurde in Strenge u. a., 2022b veröffentlicht und in Burhan u. a., 2023 erneut angewandt.

Vergleich zweier OCT-Systeme Das Kapitel 6 nutzte den erstellten Datensatz aus Kapitel 5 für einen Vergleich der genutzten OCT-Systeme hinsichtlich der Fähigkeit gesundes und tumorinfiltriertes Gewebe zu unterscheiden. Der Vergleich erfolgte zunächst auf Grundlage des Abschwächungskoeffizienten und der zurückgestreuten Lichtintensität des OCT-Signals, welche zu den optischen Gewebeeigenschaften zusammengefasst wurden. Hierfür wurde genauer auf die Signal- und Bildkorrekturen eingegangen, um die optischen Parameter möglichst genau anhand der OCT-Daten zu ermitteln. Hierzu gehörte unter anderem die Fokus- und Roll-Off-Korrektur. Als

weitere Vergleichsmethode wurden zwei Klassifikationsansätze basierend auf neuronalen Netzwerken genutzt. Als Vergleichsgrundlage dienten hierbei die Ergebnisse der binären Klassifikation zwischen gesundem und tumorösem Gewebe auf Basis der optischen Eigenschaften und der OCT-Daten. Die Ergebnisse dieses Kapitels wurden in Strenge u. a., 2022a veröffentlicht.

Gewebeklassifikation auf Basis von optischen und strukturellen Eigenschaften Aus den Ergebnisse aus Kapitel 6 wurden Schlussfolgerungen gezogen, um die Gewebeanalyse weiter zu vertiefen. Die wichtigsten Erweiterungen sind die Betrachtung der strukturellen Eigenschaften und die Quantifizierung der Unsicherheiten der Klassifikationen. Die Ergebnisse dieser Analyse wurden in Kapitel 7 dargestellt. Das Kapitel 7 beginnt mit einer Untersuchung, wie die strukturellen Merkmale am besten aus den OCT-Daten extrahiert werden können. Für die Quantifizierung der Klassifikationsunsicherheiten wurde ein Ansatz genutzt, welcher auf der Evidenztheorie von Dempster und Shafer beruht [Dempster, 1968]. Mit Hilfe dieses Ansatzes werden die Unsicherheiten bereits während des Trainings der neuronalen Netzwerke berücksichtigt. Die Klassifikation der Gewebearten wurde von einem binären Problem zu einer Klassifikation zwischen grauer und weißer Masse und Tumordinfiltration erweitert, um eine bessere Interpretation der Klassifikationsergebnisse zu ermöglichen. Für die Trennung der drei Gewebearten wurden drei Klassifikationsansätze eingeführt. Der erste Ansatz nutzte eine Kombination aus optischen und strukturellen Parametern, welche mit konventionellen Methoden aus den OCT-Daten extrahiert wurden. Der zweite Ansatz nutzte einen Variational-Autoencoder, mit dem Merkmale der OCT-Daten indirekt ermittelt wurden. Der dritte Ansatz beruht auf einem Faltungsnetzwerk, welches eigene Merkmale auf Basis der Klassen aus den OCT-Daten extrahiert hat. Erste Ergebnisse des beschriebenen Vorgehens wurden bereits in Strenge u. a., 2023a,b veröffentlicht.

Kapitel 2

Medizinischer Hintergrund

Dieses Kapitel behandelt die medizinischen Hintergründe zur Tumorerkennung. Hierzu wird zunächst auf die unterschiedlichen Tumorarten eingegangen, welche bei den Patienten, denen für die Studie Proben entnommen wurden, diagnostiziert wurden. Zusätzlich umfasst dieses Kapitel eine Zusammenfassung des aktuellen klinischen Ablaufes zur Behandlung einer Tumorerkrankung im Gehirn sowie eine Beschreibung der neuropathologischen Probenaufbereitung, um die klinische Diagnose festzustellen. Die klinischen und neuropathologischen Prozesse mussten bei der Datenaufnahme berücksichtigt werden, um eine Datengrundlage zu schaffen, die eine Korrelation zwischen den histologischen Schnittbildern und den OCT-Daten ermöglicht.

2.1 Neuroanatomie des menschlichen Gehirns

Das Gehirn bildet zusammen mit dem Rückenmark das zentrale Nervensystem im menschlichen Körper und ist für die Verarbeitung von motorischen und sensitiven Signalen zuständig [Splittgerber, 2018]. Es liegt geschützt innerhalb des Schädelknochens und des Spinalkanals, umhüllt von drei Hirnhäuten: der Dura Mater, der Arachnoidea Mater und der Pia Mater (siehe Abb. 2.1). Innerhalb des Subarachnoidalraumes ist das Gehirn zusätzlich vom Liquor umspült. Eine Gliederung des Gehirns kann in folgende drei Teile erfolgen: Großhirn (lat. Cerebrum), Kleinhirn (lat. Cerebellum) und Hirnstamm (lat. Truncus Cerebri). Das Großhirn wird in zwei Hemisphären unterteilt, welche über den Corpus Callosum verbunden sind. Jede Hemisphäre besteht wiederum aus der Großhirnrinde (lat. Cortex) und dem Großhirnmark (lat. Medulla). Die Großhirnrinde befindet sich am äußeren Rand jeder Hemisphäre und ist durch viele Windungen (lat. Gyri) und Falten (lat. Sulci) charakterisiert. Innerhalb der Großhirnrinde befinden sich die Zellkörper der Nervenzellen (lat. Neuron), diese sorgen für eine charakteristische gräuliche Farbe, weshalb solche Regionen auch als graue Masse (GM) bezeichnet werden [Splittgerber, 2018]. Der Begriff graue Masse ist aber nicht exklusiv für die Großhirnrinde, da auch andere Regionen im Gehirn nur aus Nervenzellkörpern bestehen, wie zum Beispiel Teile des Kleinhirns oder der zentral liegenden Stammganglien. Die mit Myelin ummantelten Nervenfasern bilden zusammen mit anderen

Gliazellen des Großhirnmark. Diese Region ist durch einen weißen Farbton gekennzeichnet und wird daher auch als weiße Masse (WM) bezeichnet.

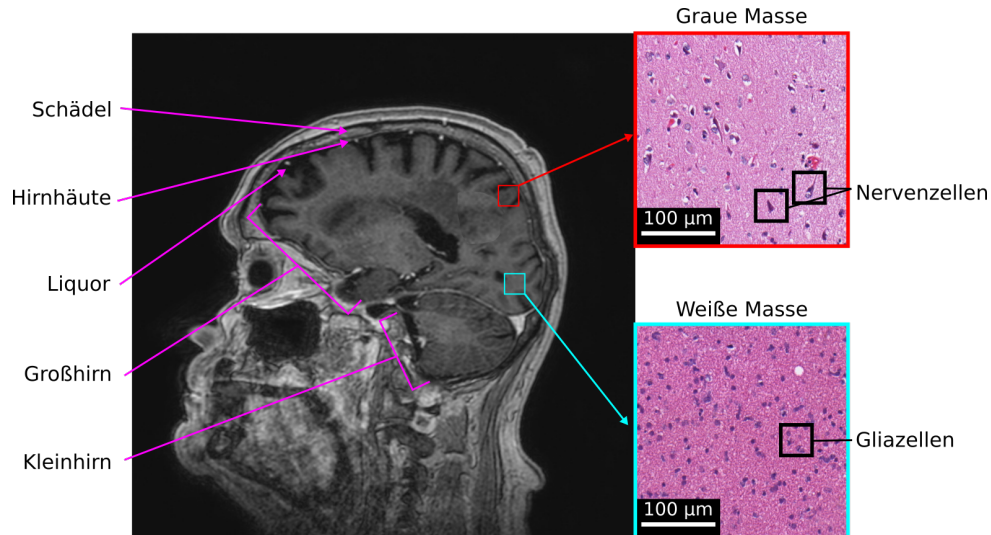


Abb. 2.1: Grundlegende Anatomie des menschlichen Gehirns anhand eines MRT-Bildes und das histologische Erscheinungsbild von weißer und grauer Masse.

Auf zellulärer Ebene ist das menschliche Gehirn aus Nervenzellen und Gliazellen aufgebaut [Splittgerber, 2018]. Im Folgenden werden die markantesten Zelltypen kurz beschrieben. Der wohl bekannteste Zelltyp ist hierbei die Nervenzelle. Dieser Zelltyp ist für die Signalweiterleitung und Verarbeitung zuständig. Es gibt viele verschiedene Formen von Nervenzellen, es wird jedoch nur auf die im Gehirn auftretenden Formen eingegangen. Bei den Neuronen im Gehirn handelt es sich um multipolare Nervenzellen. Diese bestehen aus einem Zellkörper aus welchem verschiedene Fortsätze abgehen. Dazu gehören die Dendriten, welche für die Signalaufnahme von anderen Nervenzellen verantwortlich sind. Das empfangene Signal wird dann über das Axon an andere Nervenzellen weitergeleitet. Die Verbindung zu anderen Neuronen bildet eine chemische Transmitterstoffbrücke zwischen Synapsen, welche sich am Ende eines Axons befinden und den Dendriten, einer oder mehrerer Nervenzellen. Es gibt zwei Arten von Neuronen im Gehirn, wenn nach Größe der Zellen eingeteilt wird: Golgi-Typ 1 Neuronen und Golgi-Typ 2 Neuronen. Golgi-Typ 1 Neuronen besitzen ein relativ zum Zellkörper langes Axon, welches Längen von bis zu 1 m oder mehr haben kann. Im Gegensatz dazu besitzen Neuronen des Golgi-Typ 2 nur sehr kurze Axone, wodurch diese sternförmig erscheinen. Charakteristisch für Nervenzellen der Großhirnrinde sind die pyramidenförmigen Zellkörper der Golgi-Typ 1 Nervenzellen.

Die Versorgung und Unterstützung der Nervenzellen erfolgt durch die Gliazellen, welche in Makroglia und Mikroglia unterteilt werden können. Zu den Makroglia gehö-

ren: Astrozyten, Oligodendrozyten und Ependymzellen. Astrozyten sind im gesamten zentralen Nervensystem zu finden [Sofroniew u. a., 2010]. Sie werden in protoplastische und fibrotische Astrozyten unterteilt. Protoplastische Astrozyten befinden sich größtenteils in grauer Masse und sind durch kurze dicke und stark verzweigte Fortsätze charakterisiert. Fibrotische Astrozyten hingegen besitzen lange dünne und wenig verzweigte Fortsätze und kommen in der weißen Masse vor. Aufgrund der Fortsätze und ihrer geordneten Anordnung innerhalb des zentralen Nervensystems bilden Astrozyten eine Stützstruktur für Neuronen und dienen auch als Isolatoren, indem benachbarte Neuronen voneinander getrennt werden. In den meisten Fällen stellen Astrozyten Verbindungen zu Blutgefäßen her und kontrollieren den lokalen Blutfluss. Dadurch spielen sie eine wichtige Rolle bei der Regulierung des chemischen Haushalts und der Versorgung von Neuronen. Sie sind somit ein Bestandteil der Blut-Hirn-Schranke. Sie fungieren auch als Phagozyten, die tote Neuronen entfernen und den so entstehenden Platz auffüllen, um das umliegende Gewebe zu stabilisieren. Oligodendrozyten sind Gliazellen mit wenigen Fortsätzen, die sich entlang von Axonen anordnen. Die Hauptfunktion ist die Bildung von Myelinscheiden, welche sich um die Axone formen. Die Myelinscheiden isolieren die Axone vom umliegenden Gewebe und sorgen dafür, dass die Geschwindigkeit der Signalweiterleitung innerhalb der Axone vervielfacht wird. Ependymzellen bilden eine einzellige Schicht, die das Ventrikelsystem des Gehirns zum Nervengewebe abgrenzen. Sie sind beteiligt an der Bildung des Liquors und an der Verteilung und Zirkulation des Liquors durch die Bewegung von haarförmigen Auswüchsen, den Cilia. Mikroglia sind über das gesamte zentrale Nervensystem verteilt und kommen in vielen Formen vor. Sie bilden einen wichtigen Bestandteil der Immunantwort des Gehirns bei Schädigungen oder Entzündungen. Hierbei fungieren die Mikroglia als Phagozyten und zerstören fehlerhafte Zellen, indem sie diese umhüllen und zersetzen.

2.2 Intrakranielle Tumore

Der Begriff „Tumor“ wird im engeren Sinne als eine benigne (gutartige) oder maligne (bösartige) Neubildung (lat. Neoplasie) von Körpergewebe definiert, die durch eine Fehlregulation des Zellwachstums entsteht. [Patel, 2020]. Gutartige Tumore sind durch ein langsames Zellwachstum gekennzeichnet und infiltrieren in der Regel nicht in umliegendes Gewebe. Je nach Tumorentität können sie sich aber in maligne Tumore entwickeln. Diese sind in der Lage, stark in umliegendes Gewebe zu streuen und wachsen in der Regel schnell und unkontrolliert. Die Tumore des zentralen Nervensystems werden in primäre und sekundäre Tumore unterteilt. Primäre Tumore bilden sich aus Zellen des zentralen Nervensystems, wie zum Beispiel Astrozyten, Oligodendrozyten oder den Zellen des Ependyms [Smith u. a., 2004]. Sekundäre Tumore wiederum gehen aus Zellen eines Tumors hervor, welcher sich nicht im zentralen Nervensystem

befindet. Die Tumorzellen gelangen über das Lymphsystem oder durch Einwuchs des ursprünglichen Tumors in das zentrale Nervensystem. Die häufigsten primären Tumore, die Gliome, lassen sich nach der Weltgesundheitsorganisation (WHO, engl. world health organisation) je nach Gliomart einem von vier WHO Graden zugeordnet werden (WHO 1 bis 4) [Louis u. a., 2021]. Der Grad wird hierbei für jeden Tumor anhand von histologischen Merkmalen und genetischen Biomarkern festgelegt. Im Laufe der Studie wurde das System zur Einteilung in die verschiedenen Grade umgestellt [Louis u. a., 2016, 2021]. Vor 2021 legte alleine die Tumorart den Grad fest (z. B. Glioblastom = WHO 4), während nach dem neuen System jede Tumorart einer von vier Schweregraden zugeordnet werden kann. Es erfolgte keine neue Klassifizierung der in dieser Arbeit aufgeführten Tumorarten. Aus diesem Grund kann der aufgeführte WHO-Grad für das jeweilige Gliom von dem neuen System abweichen. Im folgenden werden alle Tumorarten näher beschrieben, die während der Studie diagnostiziert wurden.

2.2.1 Primäre Hirntumore

In dem folgenden Abschnitt werden die unterschiedlichen primären Tumorarten beschrieben, die während der klinischen Studie diagnostiziert wurden.

2.2.1.1 Oligodendrogliom

Oligodendrogliome sind primäre Hirntumore und bestehen aus Zellen, die ausgewachsenen Oligodendrozyten ähneln und aus ihnen hervorgehen [Smith u. a., 2004; Tonn u. a., 2006]. Nach dem Klassifikationsmodell der WHO im Jahr 2016 wurden sie dem Grad 2 zugeordnet. Sie machen 5% der malignen Hirntumore aus und die Patienten sind im Schnitt um die 43 Jahre alt [Ostrom u. a., 2019]. Makroskopisch betrachtet wachsen Oligodendrogliome diffus infiltrativ in das umliegende Gewebe. Sie sind im MRT gut erkennbar (siehe Abb. 2.2) und können in einigen Fällen fokale Blutungen und Kalzifikationen aufweisen. Auf mikroskopischer Ebene zeigen die Tumorzellen ein Spiegelei-ähnliches Erscheinungsbild (siehe Abb. 2.2) [Tonn u. a., 2006]. Die Zellen besitzen einen runden Zellkern, der etwas größer ist als bei einem normalen Oligodendrozyt. Ein fein verzweigtes Netzwerk aus kleinen dünnwandigen Gefäßen durchzieht die Tumormasse. In der Regel weisen Oligodendrogliome eine Mutation des Enzyms Isocitrat-Dehydrogenase (IDH) auf, welches eine wichtige Funktion in der Regulierung des Citrat-Zyklus zur Aufgabe hat. Oligodendrogliome haben fehlende Chromosomenarme an den Chromosomen 1 und 19, wo typischerweise fehlende Chromosomenarme zu finden sind [Arevalo u. a., 2017; Tonn u. a., 2006]. Das Fehlen dieser Chromosomen führt in besseren Erfolgchancen bei der Behandlung, da Strahlentherapie unter diesen Bedingungen besser wirkt. Nach der Diagnose und Therapie liegt die Überlebenschance für die kommenden fünf Jahren bei rund 80% [Ostrom u. a., 2019].

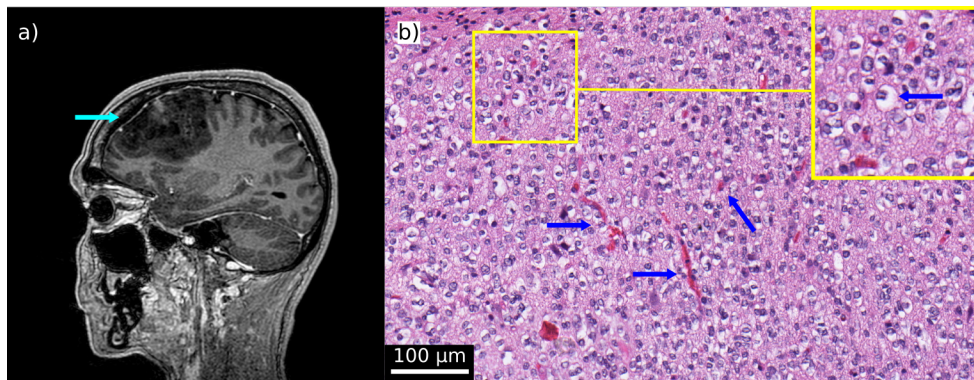


Abb. 2.2: a) MRT-Bild eines Patienten mit einem Oligodendrogliom (siehe Pfeil). b) HE-Schnittbild eines Oligodendroglioms. Die Pfeile weisen auf das typische Gefäßnetzwerk und die Spiegelei-ähnlichen Zellen

2.2.1.2 Anaplastisches Oligodendrogliom

Das anaplastische Oligodendrogliom ist ein primärer Hirntumor vom WHO Grad 3 [Louis u. a., 2016]. Diese Tumore sind in der Regel histologisch sehr ähnlich zum Oligodendrogliom. Der genaue Übergang zwischen beiden Gliomarten ist schwierig festzulegen, da sie auch das charakteristische Fehlen der Chromosomenarme der Chromosomen 1 und 19 aufweisen, sowie die Mutation von IDH. Jedoch können Nekrosen einen Teil der Histologie bilden. Neben den Nekrosen zeigen anaplastische Oligodendrogliome verschiedene Anaplasien, wie eine erhöhte Zellanzahl, sowie Atypien der Zellen und eine erhöhte Mitoserate (siehe Abb. 2.3). Das Durchschnittsalter von Patienten mit einem anaplastischen Oligodendrogliom ist 50 Jahre. Die Überlebenschance für die kommenden fünf Jahre liegt bei rund 60 % [Ostrom u. a., 2019].

2.2.1.3 Anaplastisches Astrozytom

Bei dem anaplastischen Astrozytom handelt es sich nach der Einteilung der WHO vom Jahr 2016 um einen primären Hirntumor des Grades 3 [Louis u. a., 2016]. Diese Gliome entwickeln sich aus niedergradigen diffusen Astrozytomen oder bilden sich direkt. Die Gruppe der Astrozytome macht 17 % aller primären Hirntumore aus und betrifft Patienten allen Alters [Ostrom u. a., 2019]. Diffuse Astrozytome entstehen in der Regel in den Großhirnhemisphären. Sie wachsen infiltrierend in das umliegende Gewebe und vergrößern oder verändern dabei die infiltrierte Gehirnregion [Smith u. a., 2004; Tonn u. a., 2006]. Durch dieses Wachstumsverhalten entstehen graduelle Gewebegrenzen auf makroskopischer Ebene, wodurch der Tumor schwerer bei einem operativen Eingriff vom gesunden Gehirngewebe unterschieden werden kann. Zusätzlich können sich zystische und kalzifizierte Areale ausbilden. Auf mikroskopischer Ebene

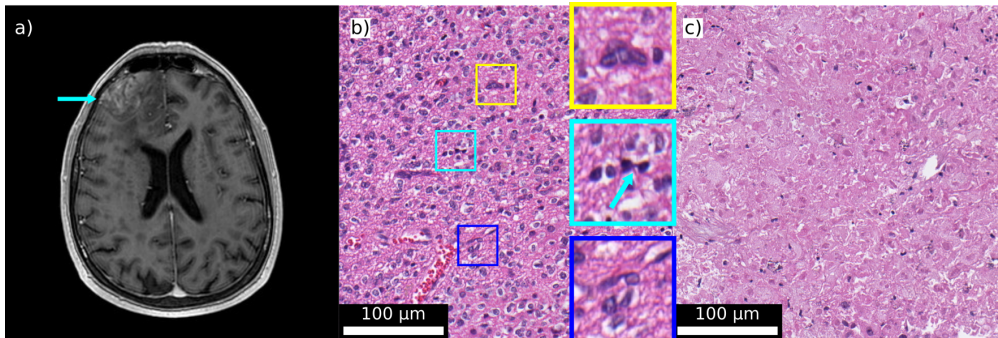


Abb. 2.3: a) MRT-Bild eines Patienten mit einem anaplastischen Oligodendrogliom (siehe Pfeil). b) HE-Schnittbild eines anaplastischen Oligodendroglioms. Besondere Zellmorphologien, wie Mitosevorgänge (türkis) und Zellatypien (gelb, blau) wurden vergrößert dargestellt. c) histologisches Erscheinungsbild einer Nekrose.

bestehen sie aus Astrozyten, die Atypien der Zellkerne aufweisen. Astrozytome wachsen langsam und weisen somit wenig Mitosen auf. Nekrosen und Gefäßproliferationen sind ebenfalls kaum bis gar nicht vorhanden. Diffuse Astrozytome haben genauso wie Oligodendrogliome eine Mutation des IDHs, jedoch bedingt diese Mutation nicht die Veränderung von Chromosomen, sondern führt zur Mutation des Gens ATRX (engl. alpha-thalassemia retardation X-linked) und des Proteins p53. Diese beiden Bausteine sind aktiv an der Regelung des Zellwachstums beteiligt [Arevalo u. a., 2017]. Eher selten kommt es vor, dass sich Astrozytome bilden ohne das eine Mutation des IDHs vorliegt. Genau wie beim anaplastischen Oligodendrogliom sind auch hier eine erhöhte Zelldichte, veränderte Zellkerne und eine hohe Mitoserate auf histologischer Ebene zu finden (siehe Abb. 2.4). Nekrosen und Gefäßproliferationen sind nicht vorhanden. Die Überlebenschancen für die fünf Folgejahre nach der Diagnose liegen bei rund 30% [Ostrom u. a., 2019].

2.2.1.4 Glioblastom

Das Glioblastom ist ein astrozytisches primäres Gliom und ist nach der WHO Einstufung von 2016 dem Grad 4 zugeordnet [Arevalo u. a., 2017]. Es ist mit 50% der häufigste maligne primäre Hirntumor und macht 14% aller Hirntumore aus [Ostrom u. a., 2019]. Im Schnitt beträgt das mittlere Patientenalter 65 Jahre und die Symptome variieren je nach Lage und Größe des Glioms. Die Symptome reichen dabei von Kopfschmerzen und Schwindelgefühl bis hin zu stärkeren Symptomen, wie Persönlichkeitsveränderungen, Gedächtnisverlust, Erblindung oder anderen neurologischen Einschränkungen [Young u. a., 2015]. Die Langzeitüberlebensrate ist bei diesem Gliom extrem gering, unbehandelt haben Patienten eine Medianüberlebenszeit von drei Monaten, während nach einer Behandlung nur 7% die folgenden fünf Jahre überleben

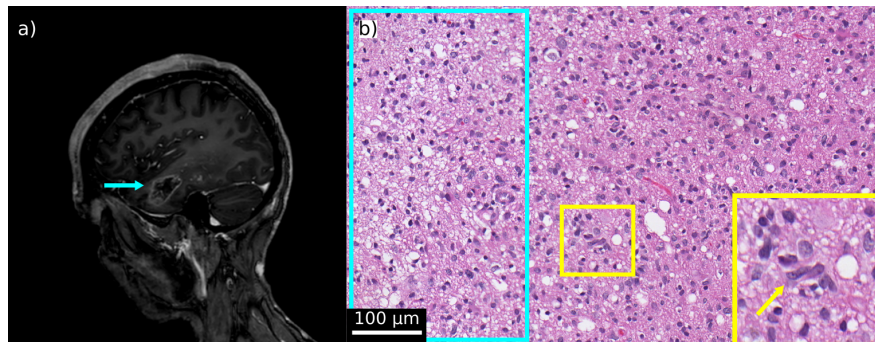


Abb. 2.4: a) MRT-Bild eines Patienten mit einem anaplastischen Astrozytom (siehe Pfeil).
b) HE-Schnittbild eines anaplastischen Astrozytoms. Zelltypen innerhalb des Gewebe (Gelb) und das histologische Erscheinungsbild einer spongiös-ödematösen Auflockerung (türkis).

[Ostrom u. a., 2019; Thakkar u. a., 2014]. Der Grund für diese schlechten Prognosen ist das extrem schnelle und infiltrative Wachstum des Glioblastoms [Smith u. a., 2004; Tonn u. a., 2006]. Aufgrund der so entstehenden Tumordinfiltrationszonen ist auch unter Zuhilfenahme moderner Bildgebungsmethoden eine genaue intraoperative Identifikation der Tumorgrenzen bis heute nicht möglich. Auf mikroskopischer Ebene weisen diese Gliome starke anaplastische Eigenschaften auf, wie Atypien der Zellkerne, variierende Zellformen, Zellen mit mehreren Zellkernen und eine hohe Mitoserate (siehe Abb. 2.5). Zusätzlich treten verstärkt Gefäßproliferationen auf. Die Entstehung eines Glioblastoms wird in zwei Kategorien eingeteilt. Sie können sich aus dem Nichts ohne vorhergehende Tumorerkrankung bilden. In diesem Fall handelt es sich um ein primäres Glioblastom und ist mit 95 % die häufigste Kategorie [Arevalo u. a., 2017]. Im Gegensatz dazu bilden sich sekundäre Glioblastome aus einem vorhergehenden diffusen Astrozytom, wie dem anaplastischen Astrozytom. Diese Art tritt in rund 5 % der Fälle auf.

2.2.2 Sekundäre Hirntumore

Sekundäre Hirntumore, wie Metastasen sind mit 20 % die häufigste Tumorart im Gehirn [Quattrocchi u. a., 2012; Smith u. a., 2004]. Sie können überall im Hirn auftreten, da sich Tumorzellen über das Lymphsystem im Körper verteilen. Durch eine gestörte Blut-Hirn-Schranke kann solch eine Zelle ebenfalls in das Gehirn gelangen und dort zu einer größeren Tumormasse heranwachsen. Bei intrakraniellen Metastasen stammen die Tumorzellen dabei aus einem Tumorherd, der sich an einer anderen Stelle im Körper befindet. In den meisten Fällen liegt der Tumorherd in der Lunge, Brust, Niere oder Haut [Nayak u. a., 2012]. Bei Metastasen handelt es sich um gut abgrenzbare Tumore, die dem histologischen Aussehen des Gewebes der Tumorquelle entsprechen

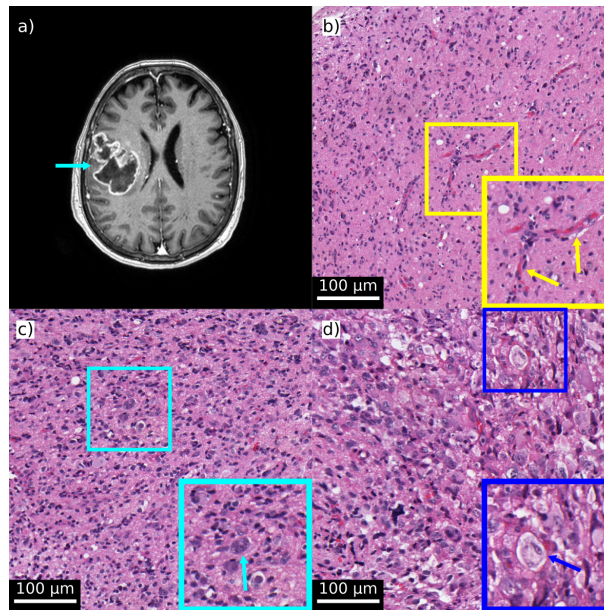


Abb. 2.5: a) MRT-Bild eines Patienten mit einem Glioblastom (siehe Pfeil). HE-Schnittbilder von Glioblastomen mit geringer (b), mittlerer (c) und hoher Zellkerndichte (d). Besonders hervorgehoben wurden auftretende Gefäßproliferationen (gelb) und Zellaotypien (türkis, blau).

(siehe Abb. 2.6). Das Auftreten von Nekrosen im Tumorkern und Blutungen innerhalb des Tumorgewebes sind nicht unüblich. Eine Metastase wächst selten infiltrativ, sie verdrängt nur das umliegende gesunde Gewebe. Die dadurch auftretende Quetschung kann zu diversen neurologischen Symptomen führen, am häufigsten sind Kopfschmerzen. Je nach Größe und Lage des Tumors können die Symptome weiter zunehmen und zu Sprachverlust oder Koordinationsstörungen führen [Tonn u. a., 2006]. Durch das Vorhandensein des Primärtumors ist die Erkrankung des Patienten bereits sehr weit fortgeschritten. Eine Metastase ist ein Indikator für einen sehr hohen Erkrankungsgrad. Aus diesem Grund liegt die durchschnittliche Überlebenszeit bei rund einem Jahr [Tonn u. a., 2006].

2.3 Therapie von Hirntumoren

In der Regel hängt Erfolg und Umfang der Therapie eines Patienten stark von der Art und Schwere des Hirntumors ab. Da maligne Hirntumore bislang nicht vollständig geheilt werden können, ist das Hauptziel der Therapie die Reduzierung der auftretenden Symptome und die damit einhergehende Verbesserung der Lebensqualität des Patienten [Taillibert u. a., 2004]. Der erste Schritt zur Reduzierung der Symptome ist

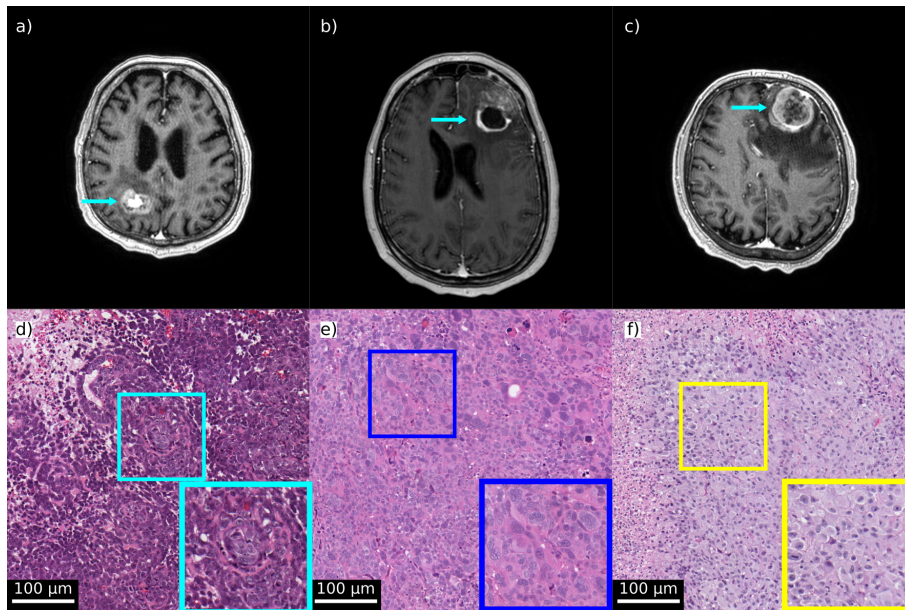


Abb. 2.6: a) MRT-Bild eines Patienten mit einem Lungenkarzinom (siehe Pfeil) und dazugehörigen HE-Schnittbild (d). b) MRT-Bild eines Patienten mit einem Ovarialkarzinom (siehe Pfeil) und dazugehörigen HE-Schnittbild (e). c) MRT-Bild eines Patienten mit einem Melanom (siehe Pfeil) und dazugehörigen HE-Schnittbild (f).

die Gabe von Steroiden zu Beginn der Therapie [Vecht u. a., 1994]. Diese reduzieren das peritumoröse Ödem, welches die Haupttumormasse umgibt. Der zweite Schritt ist ein chirurgischer Eingriff zur Tumorresektion mit anschließender Strahlentherapie (siehe Abb. 2.7) [Patchell u. a., 1998; Young u. a., 2015]. Für die Lokalisation des Tumors können unterschiedliche Bildgebungsmethoden verwendet werden. Zum Standard zählt hier eine präoperative MRT-Bildgebung mit Kontrastmittelgabe, welche intraoperativ zur Neuronavigation verwendet werden kann. Das frühe postoperative MRT wird im Anschluss zur Einschätzung des Resektionsausmaßes ergänzt. Einige wenige Zentren verwenden dafür ein intraoperatives MRT, wodurch eine potentielle Nachresektion bereits während des Primäreingriffes erfolgen kann. Des Weiteren hat sich in den letzten Jahren zunehmend die fluoreszenzgestützte Mikroskopie etabliert, welche unter Verwendung von fluoreszierenden Farbstoffen zu einer deutlichen Verbesserung des operativen Ergebnisses geführt hat [Stummer u. a., 2000]. Zusammen mit der operativen Erfahrung der Chirurgen (z. B. optische und haptische Eindruck des Tumors) wird in der Regel soviel Tumorgewebe entfernt, bis anhand der bildgebenden Verfahren das kontrastmittelaufnehmende Gewebe entfernt wurde. Der chirurgische Eingriff erfüllt dabei drei Aufgaben [Giese u. a., 2003]. Die erste Aufgabe ist die Reduktion der neu-

rologischen Symptome, bedingt durch die Tumormasse, die Druck auf das umliegende Gewebe ausgeübt, was die neurologische Aktivität beeinträchtigt. Durch Resektion der Tumormasse kann der Druck auf das umliegende Gewebe gesenkt werden, was zu einer Reduktion der Symptome führt. In einigen Fällen kann jedoch nicht die gesamte Tumormasse entfernt werden, zum Beispiel wenn der Tumor in einem funktionellem Areal lokalisiert ist. Eine Resektion aus einem solchen Bereich würde zu schweren neurologischen Einschränkungen führen und die Lebensqualität des Patienten einschränken. In solchen Fällen muss ein chirurgischer Kompromiss eingegangen werden und es wird nur eine unvollständige Resektion durchgeführt.

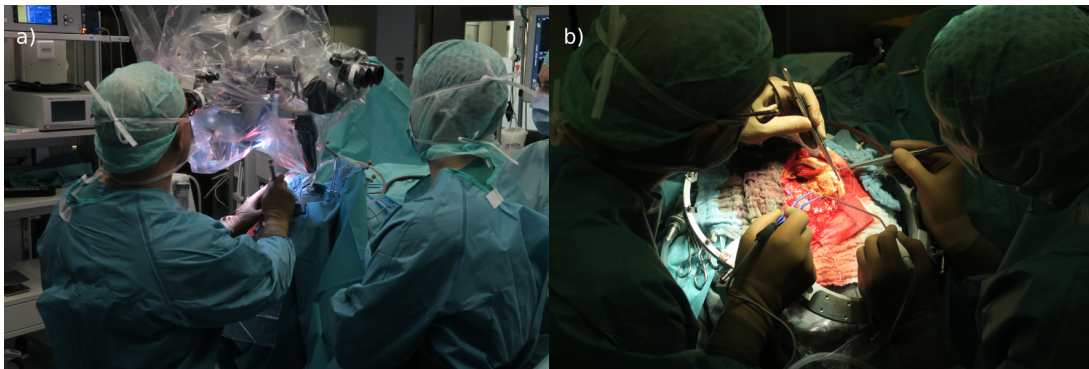


Abb. 2.7: a) Chirurg bei der Kalibrierung der Neuronavigation. b) Chirurg bei der Tumorresektion.

Die zweite Aufgabe eines neurochirurgischen Eingriffs ist die Verlängerung der Lebenszeit des Patienten. Das Ausmaß der Verlängerung korreliert direkt mit der Menge des rezierten Tumolvolumens [Bette u. a., 2018; Kreth u. a., 2013; Lacroix u. a., 2001; Pouratian u. a., 2010]. Genau wie bei der Reduzierung der Symptome ist der Erfolg dieser Therapieaufgabe vor allem abhängig von der Tumorgröße und Lage. Auch hier muss bei ungünstiger Lage in einem funktionellen Areal ein Kompromiss eingegangen werden, um die Lebensqualität des Patienten so hoch wie möglich zu halten.

Die dritte Aufgabe der Neurochirurgie ist die Sicherung der Diagnose. Die genaue Bestimmung von Tumorart und -grad ist relevant für die weitere Behandlung des Patienten, da einige Behandlungsschritte (z. B. Strahlentherapie) auf den jeweiligen Tumor abgestimmt werden müssen. Die Ermittlung der Tumorart und des Grades erfolgt durch die Neuropathologie anhand einer Gewebeprobe, die mikroskopisch untersucht wird. Die Gewebeprobe wird während der Tumorresektion aus der Tumormasse entnommen. Eine weniger invasive alternative Methode zur Entnahme bildet die stereotaktische Biopsie [Schlegel u. a., 2009]. Jedoch haben einige Studien gezeigt, dass diese Biopsiemethode zu Fehldiagnosen führen kann [Jackson u. a., 2001; Muragaki u. a., 2008]. Gerade niedergradige Gliome sind in präoperativen Bildgebungsverfahren

ren (z. B. MRT) schwer zu sehen, was eine genaue Planung der Biopsie erschwert. Es ist somit möglich, dass Proben an Stellen entnommen werden, anhand derer keine genaue Bestimmung des Tumors machbar ist. Diese Fehldiagnosen verhindern eine optimale Behandlung des Patienten. Im Anschluss an die operative Entfernung erfolgt in Abhängigkeit vom histologischen Befund die postoperative Strahlentherapie. Die Strahlentherapie unterdrückt das erneute Tumorwachstum [Patchell u. a., 1998]. Die Unterdrückung des erneuten Tumorwachstums verlängert wiederum die Überlebensdauer des Patienten [Pirzkall u. a., 2009].

2.4 Neuropathologische Probenverarbeitung

Die Feststellung der Diagnose erfolgt auf Basis einer histopathologischen Analyse anhand von histologischen Schnittbildern. Sie bildet aktuell den Goldstandard und wird in einer neuropathologischen Einrichtung durchgeführt. Um die histopathologische Analyse zu ermöglichen, erfolgt die Anfertigung von Gewebeschnitten aus in Paraffin eingebettetem Tumor, der mittels Hämatoxylin und Eosin (HE) eingefärbt und auf Objektträger aufgetragen wird. Dieser Gewebeschnitt kann im Weiteren dann mikroskopisch begutachtet werden. Die Färbung besteht aus einer Reihe an Prozessen, die im Folgenden kurz beschrieben werden. Die während der neurochirurgischen Resektion entnommene Probe wird zunächst fixiert. In der Regel wird dazu 4 %-ige Formalinlösung verwendet, aber auch Aceton oder Ethanol sind mögliche Fixierlösungen [Alturkistani u. a., 2015; Rahman u. a., 2021]. Die Fixierung konserviert das Gewebe, indem biologische Prozesse gestoppt werden, wodurch die Zersetzung des Gewebes unterbunden wird. Für die eigentliche Färbung wird das fixierte Gewebe zunächst mit Wasser ausgewaschen, um die Fixierlösung wieder zu entfernen. Rückstände der Fixierlösung können bei der Färbung zu Artefakten führen, welche wiederum eine Analyse des Gewebes erschweren. Nach dem Auswaschen wird das Gewebe für den Gewebeschnitt vorbereitet. Hierzu wird das Gewebe in der Regel in Paraffin eingebettet, beziehungsweise eingegossen, um eine gewisse Festigkeit beim Schneiden der Probe zu gewährleisten. Damit die Probe in Paraffin eingegossen werden kann, muss zunächst das Wasser aus der Probe entfernt werden, da Paraffin nicht wasserlöslich ist. Zur Entwässerung der Probe wird das Wasser mit einer aufsteigenden Alkoholreihe aus dem Gewebe entfernt. Anschließend wird der Alkohol mit einer paraffinlöslichen Flüssigkeit, wie Xylol ersetzt. Das vorbereitete Gewebe wird danach mit Paraffin zu einem Block gegossen. Dieser Block kann dann mit Hilfe eines Mikrotoms in Gewebeschnitte geschnitten werden, die in der Regel 2 μm bis 4 μm dick sind. Hierbei muss darauf geachtet werden, dass die Klinge des Mikrotoms sich in einem guten Zustand befindet, da sonst die Probe zerrissen wird (siehe Abb. 2.8 (a,b)) [Taqi u. a., 2018]. Die entstehenden Gewebeschnitte werden auf einem Objektträger platziert. Auch dieser Schritt muss äußerst sorgfältig durchgeführt werden, da die Gefahr besteht, dass sich das Gewebe faltet (siehe Abb. 2.8 (c)) [Taqi

u. a., 2018]. Der Gewebeschnitt wird von dem restlichen Paraffin mit Hilfe von Xylol befreit und mit der gewählten Färbelösung gefärbt. Es gibt viele unterschiedliche Färbemethoden, die verschiedene Gewebestrukturen markieren können [Alturkistani u. a., 2015]. Die Standardfärbung für Gewebeschnitte ist die Färbemethode mit Hämatoxylin und Eosin. Hämatoxylin ist eine blau violette Färbung und wird verwendet, um Zellkerne zu färben. Bei Eosin handelt es sich um eine rosa bis rote Färbung, die genutzt wird, um Zytoplasma einzufärben. Neben dem vorgestellten Prozess kann auch ein Schnellschnittverfahren angewandt werden, um die Diagnose zu sichern. Hierbei wird das Gewebe nicht aufwendig in Paraffin eingegossen, sondern eingefroren. Dieses Verfahren ist um einiges schneller, jedoch kann das Einfrieren der Probe zu Artefakten führen, die zu einer Fehldiagnose führen können [Taqi u. a., 2018]. Die histologische Analyse erfolgt auf Basis der mikroskopischen Merkmale, welche in Abschnitt 2.2 beschrieben wurden. Sollte eine genaue Sicherung der Diagnose anhand dieser Merkmale nicht möglich sein, ist eine fortführende Analyse auf Grundlage genetischer Merkmale (z. B. IDH-Mutationen) möglich.

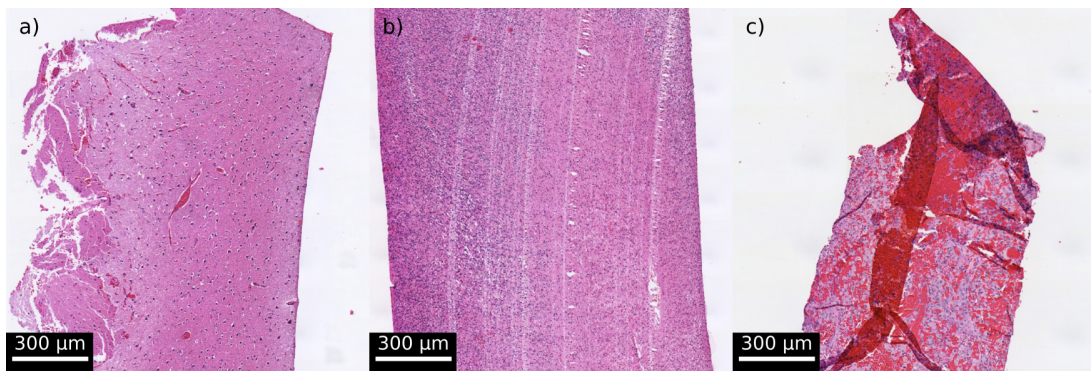


Abb. 2.8: a) Ablösung einzelner Bestandteile von der Probe. b) Schnittartefakt aufgrund mehrerer Einkerbungen in der Mikrotomklinge. c) Faltung des histologischen Schnitts.

Kapitel 3

Grundlagen der optischen Kohärenztomographie

Die optische Kohärenztomographie (OCT, engl. optical coherence tomography) ist eine lichtbasierte Bildgebungsmethode zur Erstellung von Tiefenschnittbildern, welche erstmals von Huang u. a. [1991] vorgestellt wurde. Seitdem wurde die Technologie stetig weiterentwickelt, wodurch insbesondere die Aufnahmegeschwindigkeit um mehrere Größenordnungen gesteigert werden konnte [Drexler u. a., 2014]. Der Bildeindruck von OCT-Bildern ist ähnlich zu denen des Ultraschalls (siehe Abb. 3.1 (b,c)), jedoch wird bei der OCT der Weglängenunterschied des in das Gewebe eindringenden und gestreuten Lichtes zu einem Referenzlichtstrahl mit Hilfe eines Interferometers gemessen. Aufgrund der Verwendung von Licht ist die OCT kontaktfrei und dringt einige Millimeter in das Gewebe ein. Unterschiedliche Optiken erlauben die Aufnahme von OCT-Daten mit einer lateralen Auflösung von wenigen Mikrometern. Mit diesen Aufnahmeeigenschaften ordnet sich die OCT zwischen der konfokalen Mikroskopie und dem Ultraschall ein (siehe Abb. 3.1 (a)). Aufgrund des Zusammenspiels all dieser Eigenschaften hat die OCT es geschafft, sich in den letzten 20 Jahren in vielen medizinischen Forschungs- und Anwendungsfeldern zu etablieren, allen voran in der Ophthalmologie [Wang u. a., 2019]. Eines der Forschungsfelder ist die Neurochirurgie. Da die OCT die in dieser Arbeit verwendete Bildgebungsmethode ist und alle angewendeten Algorithmen auf den OCT-Daten basieren, wird im folgenden Kapitel auf das grundlegende Messprinzip eingegangen. Es wird ebenfalls näher erläutert, welche Arten von OCT in dieser Arbeit genutzt werden und wie sich diese voneinander unterscheiden. Da im Laufe der Arbeit auch auf Aspekte der Signalverarbeitungskette eingegangen wird, wird auf diese ebenfalls Bezug genommen. Hierbei wird darauf eingegangen, welchen Einfluss die Geräteeigenschaften des OCT-Systems auf das entstehende OCT-Bild haben. Abschließend enthält dieses Kapitel einen Abschnitt, in dem auf die optischen Gewebeeigenschaften eingegangen wird, da im Zuge der Arbeit spezifische Gewebeparameter aus den OCT-Daten extrahiert werden.

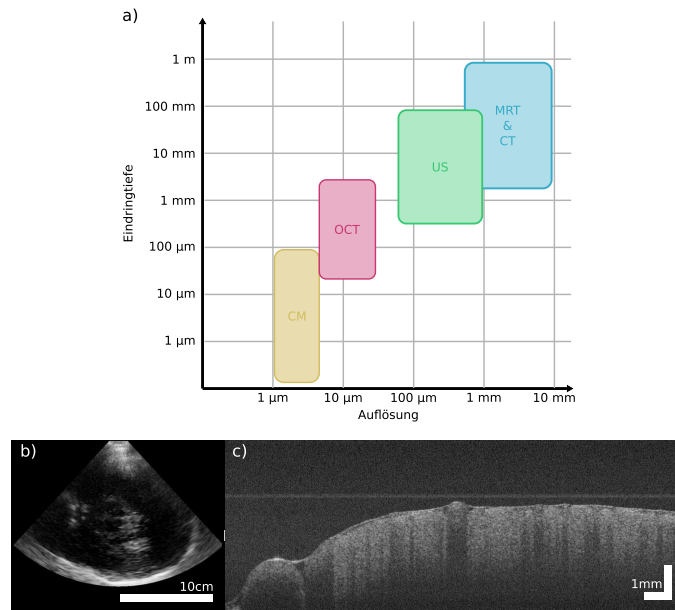


Abb. 3.1: a) Vergleich unterschiedlicher Bildgebungsmethoden, die innerhalb der Neurochirurgie Anwendung finden (CM - Konfokal Mikroskopie, OCT - optische Kohärenztomographie, US - Ultraschall, MRT - Magnetische Resonanztomographie und CT - Computertomographie) hinsichtlich der Eindringtiefe und der Auflösung. b) Ultraschall-Aufnahme des menschlichen Gehirns (Entnommen aus [Kapoor u. a., 2022]). c) OCT-B-Scan von der Oberfläche des menschlichen Gehirns.

3.1 Funktionsweise der optischen Kohärenztomographie

Das grundlegende Messprinzip der OCT ist die Messung eines Weglängen- oder Phasenunterschiedes zwischen einem Referenz- und einem Probenlichtstrahl mit Hilfe eines Interferometers. Dieses Messprinzip wird bereits in der ursprünglichsten Form der OCT, der Zeitdomänen-OCT (TD-OCT, engl. time domain), deutlich [Huang u. a., 1991][Kaschke u. a., 2014]. Das grundlegende Messprinzip wird folgend anhand der TD-OCT erklärt. Die Basis des Aufbaus bildet ein Interferometer (z. B. Michelson-Interferometer oder Mach-Zehnder-Interferometer). Bei einem TD-OCT wird in der Regel eine kurzkohärente Lichtquelle verwendet. Diese besitzt eine größere spektrale Bandbreite, als monochrome Laserlichtquellen, wodurch neben der zeitlichen Kohärenz ebenfalls eine räumliche Kohärenz erreicht wird. Daher interferieren die einzelnen Wellenlängen nur innerhalb einer kurzen Distanz, der Kohärenzlänge. Aufgrund der konstruktiven und destruktiven Interferenz bilden sich Wellenpakete. Diese Wellenpakete werden nun innerhalb des Interferometers in die zwei Pfade aufgeteilt: den Referenzpfad und den Probenpfad (siehe Abb. 3.2 (a)). Der Referenzpfad besteht aus

einem beweglichen Spiegel, während der Probenpfad das einfallende Licht auf die Probe führt. Die aufgeteilten Wellenpakete werden im jeweiligen Pfad wieder zurück in das Interferometer reflektiert. Im Referenzpfad geschieht dies aufgrund der reflektierenden Eigenschaften des Spiegels, während im Probenpfad wegen der reflektierenden und streuenden Eigenschaften der Probe ein Zurückführen des Lichtstrahls erfolgt. Die zurückreflektierten Wellenpakete werden innerhalb des Interferometers wieder überlagert, bevor diese von einem Detektor gemessen werden. Für die Messung eines tiefenaufgelösten OCT-Signals (OCT-A-Scan, oder A-Scan) wird nun die Position des Referenzspiegels durchgestimmt, wodurch die Weglänge des Wellenpaketes im Referenzpfad verändert wird. Damit nun eine Schicht innerhalb einer Probe detektiert werden kann, muss das Signal der Probe mit dem Signal des Referenzspiegels konstruktiv interferieren. Damit dies geschehen kann, muss die Position der Schicht mit der des Referenzspiegels übereinstimmen, wodurch der Proben- und der Referenzpfad die gleiche Weglänge besitzen. Die Intensität, welche auf dem Detektor gemessen wird, kann wie folgt ausgedrückt werden [Wieser, 2016]:

$$I \propto |E_R + E_S|^2 = |E_R|^2 + |E_S|^2 + 2\text{Re}(E_R + E_S) \quad (3.1)$$

E_R ist das elektrische Feld des Signals aus dem Referenzpfad und enthält keine Information aus der Probe. Aus diesem Grund wird es innerhalb der Datenverarbeitung abgezogen. E_S ist das elektrische Feld aus dem Probenpfad und ist vernachlässigbar klein. Der letzte Term repräsentiert die Interferenz von E_R und E_S . Aufgrund der Interferenz wird das eigentlich vernachlässigbare E_S heterodyn verstärkt und wird somit sichtbar. Im Idealfall ist die Sensitivität des OCT-Signals, aufgrund der Heterodynverstärkung, nur durch den verwendeten Detektor limitiert. Für die TD-OCT ist es möglich den Interferenzterm aus Gleichung 3.1 zu der Gleichung 3.2 umzuwandeln [Drexler u. a., 2008].

$$I(z_R) = A_0 \sum_{n=1}^N \sqrt{R_R R_{S,n}} e^{-(z_R - z_{S,n})^2 \Delta k^2} \cos(2k_0(z_R - z_{S,n})) \quad (3.2)$$

$I(z_R)$ ist die Intensität für die Position des Referenzspiegels z_R . R_R und $R_{S,n}$ sind die Reflektivitäten für den Referenzspiegel und die N Schichten der Probe. A_0 ist die Gesamtintensität, welche über die komplette Bandbreite der Lichtquelle ausgesendet wurde. $z_R - z_{S,n}$ ist der Weglängenunterschied zwischen dem Referenzpfad und dem Probenpfad. k_0 ist die zentrale Wellenzahl der Lichtquelle und Δk die spektrale Bandbreite.

Im Jahr 1998 wurde die heute populärere Fourierdomänen-OCT (FD-OCT, engl. fourier domain) eingeführt [Haeusler u. a., 1998]. Mit diesem Verfahren wird der Zusammenhang zwischen dem tiefenabhängigen OCT-Signal nicht durch das Verschieben eines Referenzspiegels erreicht, sondern es wird ein Bezug zu dem Spektrum des gemessenen Signals hergestellt. Dies erlaubt die Erfassung des OCT-A-Scans mit nur

einer Messung. Bei der FD-OCT wird davon ausgegangen, dass die Amplitude der Lichtquelle wellenlängenabhängig ist $A(k)$, wodurch sich das elektrische Feld im Probenpfad $E_R(k)$ wie folgt beschreiben lässt [Wieser, 2016]:

$$E_R(k) = A(k)\sqrt{R_R}e^{i2kz_R} \quad (3.3)$$

Analog lässt sich auch das elektrische Feld im Probenpfad $E_S(k)$ darstellen:

$$E_S(k) = A(k) \sum_{n=1}^N \sqrt{R_{S,n}} e^{i2kz_{S,n}} \quad (3.4)$$

Die auf dem Detektor zu messende Intensität sieht unter der Annahme von Gleichung 3.3 und 3.4 folgendermaßen aus (siehe Abb. 3.2 (d)):

$$I(k) = A(k) \left| \sqrt{R_R} e^{i2kz_R} + \sum_{n=1}^N \sqrt{R_{S,n}} e^{i2kz_{S,n}} \right|^2 \quad (3.5)$$

Gleichung 3.5 nimmt nach Umformung die folgende Form an [Drexler u. a., 2008]:

$$\begin{aligned} I(k) &= A(k)R_R + A(k) \sum_{n=1}^N R_{S,n} \\ &+ 2A(k) \sum_{n=1}^N \sqrt{R_R R_{S,n}} \cos(2k(z_R - z_{S,n})) \\ &+ 2A(k) \sum_{n=1}^N \sum_{m=1}^M \sqrt{R_{S,n} R_{S,m}} \cos(2k(z_{S,n} - z_{S,m})) \end{aligned} \quad (3.6)$$

Die ersten beiden Terme beschreiben einen konstanten Signalpegel, welcher unabhängig von der Weglängendifferenz zwischen dem Referenzpfad und dem Probenpfad ist. Der zweite Term ist die Kreuzkorrelation zwischen dem Signal aus dem Referenzpfad und der Probe. Dieser Term enthält die Probeninformation, welche heterodyn durch das Referenzsignal verstärkt wurde. Aufgrund des Kosinustermes sorgen Schichten, die eine höhere Weglängendifferenz besitzen, für eine höhere Frequenz der Interferenzmodulation auf dem gemessenen Spektrum. Ein ähnlicher Zusammenhang besteht auch im letzten Term, welcher die Überlagerung zwischen den Signalen der einzelnen Schichten beschreibt. Die Intensität dieses Terms ist jedoch aufgrund der fehlenden Verstärkung durch das Referenzsignals vernachlässigbar. Um nun aus $I(k)$ ein OCT-A-Scan $I(\Delta z)$ zu generieren ist lediglich die inverse Fouriertransformation notwendig.

$$\begin{aligned}
 I(\Delta z) &= \mathcal{F}^{-1}(I(k)) \\
 &= \mathcal{F}^{-1}(A(k)) * (R_R + \sum_{n=1}^N R_{S,n}) \\
 &+ \mathcal{F}^{-1}(A(k)) \otimes \sum_{n=1}^N \sqrt{R_R R_{S,n}} \delta(z \pm 2(z_R - z_{S,n})) \\
 &+ \mathcal{F}^{-1}(A(k)) \otimes \sum_{n=1}^N \sum_{m=1}^M \sqrt{R_{S,n} R_{S,m}} \delta(z \pm 2(z_{S,n} - z_{S,m}))
 \end{aligned} \tag{3.7}$$

δ ist eine Dirac-Funktion an der Position Δz und repräsentiert jede Schicht der Probe. Die Dirac-Funktion ergibt sich während der Fouriertransformation durch die Berücksichtigung des Zusammenhangs [Drexler u. a., 2008]:

$$\frac{1}{2}(\delta(z + z_0) + \delta(z - z_0)) \leftrightarrow \cos(kz_0) \tag{3.8}$$

Durch diesen Zusammenhang verliert das FD-OCT auch die Möglichkeit zu unterscheiden, ob der Weglängenunterschied zum Referenzpfad negativ oder positiv ist. Somit sind ohne weitere Vorkehrungen, im Vergleich zum TD-OCT, nur relative Messungen möglich [Wieser, 2016]. Nach der Fouriertransformation unterliegt jede Dirac-Funktion der Faltung mit dem spektralen Profil der Lichtquelle $A(k)$, wodurch die detektierten Schichten verschmiert werden. Der Zusammenhang, wodurch die Faltung hervorgerufen wurde, ist wie folgt [Drexler u. a., 2008]:

$$x(z) \otimes y(z) \leftrightarrow X(k)Y(k) \tag{3.9}$$

$x(z)$ und $y(z)$ sind Tiefensignale und $X(k)$ und $Y(k)$ die dazugehörigen Fourier-Transformierten. Die Fourier-Transformation von $A(k)$ repräsentiert somit die Punktspreizfunktion (PSF), aus welcher die axiale Auflösung des FD-OCTs ermittelt werden kann. Hierbei gilt, je breiter das Spektrum, desto größer die axiale Auflösung [Wieser, 2016]. Die axiale Auflösung für ein FD-OCT mit einem gaußförmigen $A(k)$ ist wie folgt bestimmbar:

$$z_{FWHM} = \frac{2 \ln 2}{\pi n} \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda} \tag{3.10}$$

z_{FWHM} ist die Halbwertsbreite (FWHM, engl. full width half maximum) der Dirac-Funktion nach der Faltung mit der Fourier-Transformation von $A(k)$. λ_0 ist die zentrale Wellenlänge und $\Delta \lambda$ ist die Bandbreite der Lichtquelle. n ist der Brechungsindex der Probe. Die maximale Messtiefe des FD-OCT-Systems ist ebenfalls von der genutzten Wellenlänge abhängig und dem Interval $\delta \lambda$ mit dem das Spektrum aufgenommen werden kann.

$$z_{\max} = \frac{\lambda_0}{4\delta\lambda} \quad (3.11)$$

Eine Besonderheit der OCT ist, dass die laterale und axiale Auflösung entkoppelt sind. Die laterale Auflösung Δx hängt unter Annahme von einem gaußschen Strahlprofil von der numerischen Apertur NA des genutzten Objektivs und von der zentralen Wellenlänge λ_0 ab [Aumann u. a., 2019]:

$$\Delta x = \sqrt{2\ln 2} \frac{\lambda_0}{\pi \text{NA}} \quad (3.12)$$

In dem Bereich der FD-OCT gibt es zwei Arten von Systemen: Spektraldomänen-OCT (SD-OCT, engl. spectral domain) und Swept-Source-OCT (SS-OCT) (siehe Abb. 3.2 (b,c)) [Kaschke u. a., 2014]. Bei dem SD-OCT wird das Spektrum $I(k)$ mit Hilfe eines Spektrometers aufgenommen, welches aus einem refraktiven Gitter und einer Zeilenkamera besteht [Drexler u. a., 2008]. Der Vorteil dieser Systeme im Vergleich zum TD-OCT ist die Aufnahme der gesamten Tiefeninformation mit einer Messung ohne einen beweglichen Spiegel. Zusätzlich besitzen SD-OCT-Systeme eine höhere Sensitivität als TD-OCT-Systeme. Ein wesentlicher Nachteil von SD-OCT-Systemen ist der systembedingte Signalabfall mit steigender Tiefe, welcher als Roll-Off bezeichnet wird [Kaschke u. a., 2014]. Dieser Abfall ist hauptsächlich bedingt durch die begrenzte Auflösung der Zeilenkamera, wodurch hohe Modulationen des Spektrums nicht vollständig aufgelöst werden können. Aus Gleichung 3.7 geht hervor, dass für große Weglängendifferenzen hohe Frequenzmodulationen erreicht werden, wodurch der Roll-Off mit zunehmender Aufnahmetiefe größer wird. Dieses Problem tritt bei SS-OCT-Systemen nicht auf. Bei SS-OCTs erfolgt eine sequentielle Aufnahme des Tiefenspektrums $I(k)$. Hierzu wird jede Wellenlänge der Lichtquelle einzeln in das Interferometer geschickt. Aus diesem Grund werden durchstimmbare Lichtquellen verwendet [Huber u. a., 2006]. Als Detektor kann eine einfache Fotodiode verwendet werden. In der Regel besitzen SS-OCT-Systeme eine höhere Aufnahmegeschwindigkeit als SD-OCTs, da die genutzten Lichtquellen schneller durchgestimmt werden, als die Zeilenkameras ausgelesen werden können [Kaschke u. a., 2014]. Jedoch ist die Sensitivität im Vergleich zu den SD-OCTs geringer.

Nach der Bestimmung des tiefenabhängigen OCT Signals $I(\Delta z)$ aus Gleichung 3.7 handelt es sich bei den Daten um lineare Intensitätsdaten. Um die linearen Daten für einen Betrachter besser zu visualisieren, werden die Daten logarithmiert [Drexler u. a., 2008] (siehe Abb. 3.2 (e,f)).

$$I^*(\Delta z) = 10 \cdot \log(I(\Delta z)) \quad (3.13)$$

Ein einfaches OCT-Tiefensignal wird auch A-Scan oder A-Frame bezeichnet. Viele A-Scans können zu einem OCT Bild zusammengesetzt werden, welches als B-Scan

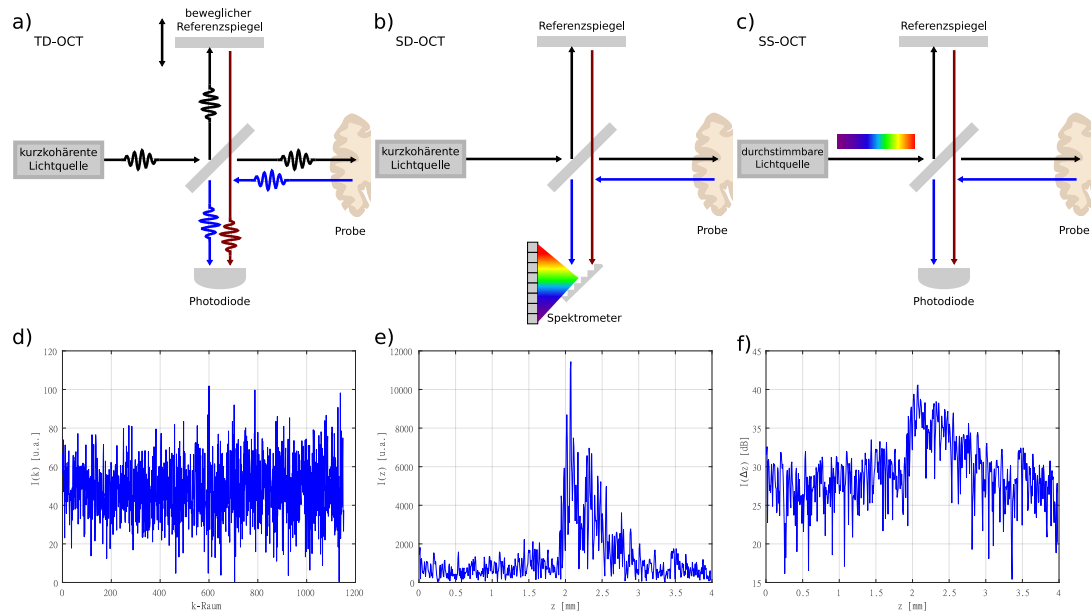


Abb. 3.2: Übersicht über die gängigen OCT-Systeme und ihrer Funktionsweisen: TD-OCT (a), SD-OCT (b) und SS-OCT (c). Beispiel eines aufgenommenen Spektrums $I(k)$ von einem SS-OCT-System (d). Mit Hilfe von Gleichung 3.7 kann (d) zu einem A-Scan $I(\Delta z)$ umgewandelt werden (e). (f) zeigt das Ergebnis der Anwendung von Gleichung 3.13.

oder B-Frame bezeichnet wird (siehe Abb. 3.3 (a)). Analog dazu bildet ein OCT-Volumen $V(x, y, z)$, welches aus vielen B-Scans besteht, einen C-Scan (siehe Abb. 3.3 (c)). Aus einem C-Scan werden für eine bessere Übersicht Draufsichten erzeugt, welche durch eine Aufsummierung der A-Scans gebildet werden (siehe Gleichung 3.14). Diese Draufsicht wird als En-Face-Bild $I_{\text{en-face}}$ (franz. en face) bezeichnet (siehe Abb. 3.3 (b)).

$$I_{\text{en-face}}(x, y) = \sum_{z=1}^{N_z} V(x, y, z) \quad (3.14)$$

3.2 Optische Gewebeeigenschaften

Wenn die OCT zur Vermessung von biologischem Gewebe verwendet wird, interagiert das Licht mit dem Gewebe, indem es reflektiert, transmittiert, gestreut oder absorbiert wird. Wie stark jede dieser Wechselwirkungen das einfallende Licht beeinflussen, ist abhängig von den optischen Gewebeeigenschaften. Zu den in diesem Kapitel betrachteten optischen Eigenschaften von Gewebe gehören: der Brechungsindex n , der Absorptions-

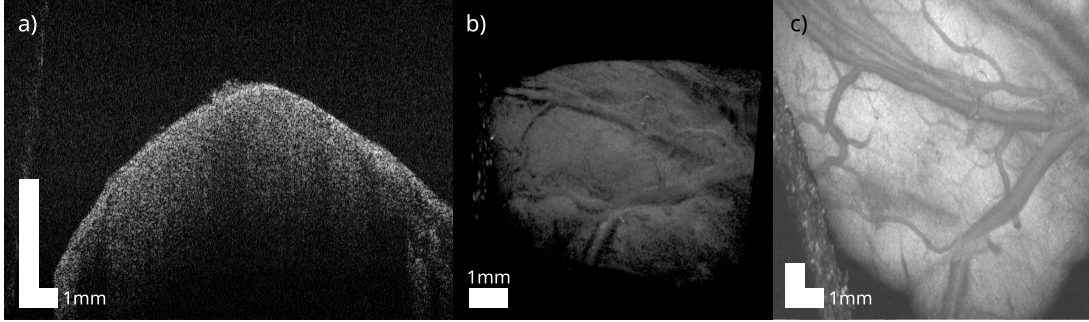


Abb. 3.3: Beispiele für einen OCT-B-Scan (a), ein OCT-C-Scan (b) und En-face-Bild (c) von einem menschlichen Gehirn.

koeffizient μ_a und unterschiedliche Streueigenschaften, wie die Streuanisotropie g oder der Streukoeffizient μ_s (siehe Abb. 3.4).

Der Phasenbrechungsindex n beschreibt wie stark sich die Geschwindigkeit des Lichtes ($c = 2,998 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$) innerhalb eines Mediums m ändert [Vo-Dinh, 2014]:

$$c_m(\lambda) = \frac{c}{n_m(\lambda)} \quad (3.15)$$

Die Bestimmung des Phasenbrechungsindex erfolgt über die Sellmeier-Gleichung [Medhat u. a., 2002].

$$n_m(\lambda) = A + \frac{B\lambda^2}{(\lambda^2 - C)} + \frac{D\lambda^2}{(\lambda^2 - E)} \quad (3.16)$$

Hierbei sind A , B , C , D und E die materialabhängigen Sellmeier-Koeffizienten, welche über eine Messreihe von unterschiedlichen Wellenlängen und den dazu ermittelten Phasenbrechungsindizes bestimmt werden können. Da in der OCT aber mit nicht-monochromatischen Lichtquellen gearbeitet wird, muss die Dispersion der unterschiedlichen Wellenlängen innerhalb des Mediums berücksichtigt werden. Hierfür lässt sich der Gruppenbrechungsindex n_g definieren als [Vo-Dinh, 2014]:

$$n_g = n_m(\lambda) - \lambda \frac{dn_m}{d\lambda} \quad (3.17)$$

Während einer OCT-Messung muss das Licht, je nach Beschaffenheit der Probe, Regionen durchlaufen in denen sich der Brechungsindex graduell oder sprunghaft ändert (z. B. der Luft-Gewebe-Übergang). In diesen Bereichen wird Licht entweder gebrochen, reflektiert oder gestreut. Der Brechungsindexunterschied zwischen zwei Schichten mit den Brechungsindizes n_1 und n_2 entscheidet darüber, wie hoch der Anteil des reflektierten Lichtes R zum transmittierenden Licht T ist.

$$R = 1 - T = \frac{(n_1 - n_2)^2}{(n_1 + n_2)^2} \quad (3.18)$$

Ist der Unterschied der Brechungsindizes zwischen zwei Schichten zu hoch ist der Anteil von R zu groß und es kommt zu Reflektionsartefakten im A-Scan. Diese entstehen durch die Sättigung des Detektors. Durch die gesättigten Bereiche im aufgenommenen Spektrum werden falsche Modulationen erzeugt, welche sich in dem generierten A-Scan als 'Geisterbilder' ausdrücken (siehe Abb. 3.4) [Wieser, 2016].

Die in der OCT gemessenen Streueffekte können bei biologischen Proben mit der Rayleigh-Mie-Streuung modelliert werden. Dabei handelt es sich um die Kombination aus der Rayleigh-Streuung und der Mie-Streuung. Die Rayleigh-Streuung beschreibt die Streuung von Partikeln, welche kleiner sind als die Wellenlänge des einfallenden Lichtstrahls, während die Mie-Streuung die Streuung von Partikeln modelliert, welche größer sind [Vo-Dinh, 2014]. Typische Streukörper sind zum Beispiel der Zellkern oder andere Zellstrukturen. Die Stärke der Streuung kann durch den Streukoeffizienten μ_s beschrieben werden. μ_s beschreibt, nach welcher Länge l_s ein Streueignis statistisch gesehen auftritt (siehe Abb. 3.4).

$$\mu_s = \frac{1}{l_s} \quad (3.19)$$

Je nach Größe des Streukörpers hat ein Streueignis eine Richtungsänderung zur Folge [Venkata, 2012a]. Die Winkelverteilung dieser Richtungsänderung kann zum Beispiel mit Hilfe der Henyey-Greenstein-Funktion beschrieben werden [Venkata, 2012a][Vo-Dinh, 2014]:

$$\rho_{HG}(\theta) = \frac{1}{4\pi} \frac{1 - g^2}{1 + (g^2 - 2g\cos(\theta))^{3/2}} \quad (3.20)$$

Die Funktion ist nicht nur abhängig von dem Streuwinkel θ , sondern auch von dem Anisotropiefaktor g . g beschreibt wie hoch der Anteil der Vorwärtsstreuung (Streuung ohne Richtungsänderung) ist. g nimmt hierbei Werte zwischen -1 und 1 an und steigt mit dem Anteil der Vorwärtsstreuung (Rückwärtsstreuung: $g = -1$, isotrope Streuung (Rayleigh-Streuung): $g = 0$, Vorwärtsstreuung: $g = 1$). Im Falle der OCT wird nur das zurückgestreute Licht detektiert, was bedeutet, dass viel Licht allein durch die hohe Vorwärtsstreuung den Detektor nicht erreicht. Je nachdem wie viele Streueignisse für ein Photon innerhalb einer Distanz z auftreten wird von Einfachstreuung oder Mehrfachstreuung gesprochen [Venkata, 2012a]. Unter der Annahme von Mehrfachstreuung wird der Streukoeffizient in Abhängigkeit von g als reduzierter Streukoeffizient μ'_s angegeben [Vo-Dinh, 2014]:

$$\mu'_s = (1 - g)\mu_s \quad (3.21)$$

Die Absorption beschreibt den Energieverlust, den das Licht auf dem Weg durch das Gewebe nimmt. Analog zum Streukoeffizienten und Gleichung 3.22 kann auch für die Absorption der Absorptionskoeffizient μ_a definiert werden. μ_a beschreibt, nach welcher Länge l_a statistisch ein Absorptionsereignis auftritt (siehe Abb. 3.4).

$$\mu_a = \frac{1}{l_a} \quad (3.22)$$

Im Gewebe sind Chromophore wie Melanin oder Hämoglobin und Wasser hauptverantwortlich für die Absorption des Lichtes [Gong u. a., 2020]. Wasser hat im speziellen im Wellenlängenbereich von 600 nm bis 1300 nm eine verringerte Absorption, was auch als therapeutisches Fenster bezeichnet wird. In der OCT wird dieses Fenster bei der Wahl der zentralen Wellenlängen berücksichtigt, um möglichst tief in das Gewebe eindringen zu können. Aus diesem Grund ist der Anteil der Absorption generell sehr gering im Vergleich zu den auftretenden Streueffekten. μ_s und μ_a können über eine einfache Addition zu dem Abschwächungskoeffizienten μ_t zusammengefasst werden, um die gesamte Abschwächung des Lichtes zu beschreiben. μ_t wird in der OCT häufig verwendet, um Gewebe zu charakterisieren, besonders in der Anwendung am menschlichem Gehirn [Faber u. a., 2004; Gong u. a., 2020].

$$\mu_t = \mu_s + \mu_a \quad (3.23)$$

3.3 Bestimmung der optischen Gewebeeigenschaften mit der OCT

Die Analyse auf Basis optischer Gewebeeigenschaften gehört zu den etablierten Vorgehensweisen zur Charakterisierung von Gewebe mit Hilfe von OCT-Aufnahmen [Faber u. a., 2004; Schmitt u. a., 1993, 1997]. In der OCT beschränkt sich die Bestimmung der optischen Parameter in der Regel auf den Abschwächungskoeffizienten und die Menge des zurückgestreuten oder reflektierten Lichtes [Gong u. a., 2020; Wang u. a., 2017]. Die Grundlage zur Bestimmung der optischen Gewebeeigenschaften bildet der gemessene OCT-A-Scan $I'(z)$, welcher wie folgt beschrieben werden kann [Faber u. a., 2004; Wang u. a., 2017; Yun u. a., 2003]:

$$I'(z) = r(z) \cdot h(z) \cdot I(z) + n(z) \quad (3.24)$$

$n(z)$ ist das Signalrauschen über die Tiefe z . Der Roll-Off $r(z)$ und die Fokuskurve $h(z)$ sind systemabhängige Funktionen, welche das eigentliche Signal des Gewebes $I(z)$ beeinflussen. Durch das Kompensieren der Einflussfaktoren lassen sich die optischen Gewebeeigenschaften aus $I_T(z)$ extrahieren. Der Roll-Off beschreibt einen systembedingten tiefenabhängigen Intensitätsabfall, der mit zunehmender Tiefe größer wird. Bei

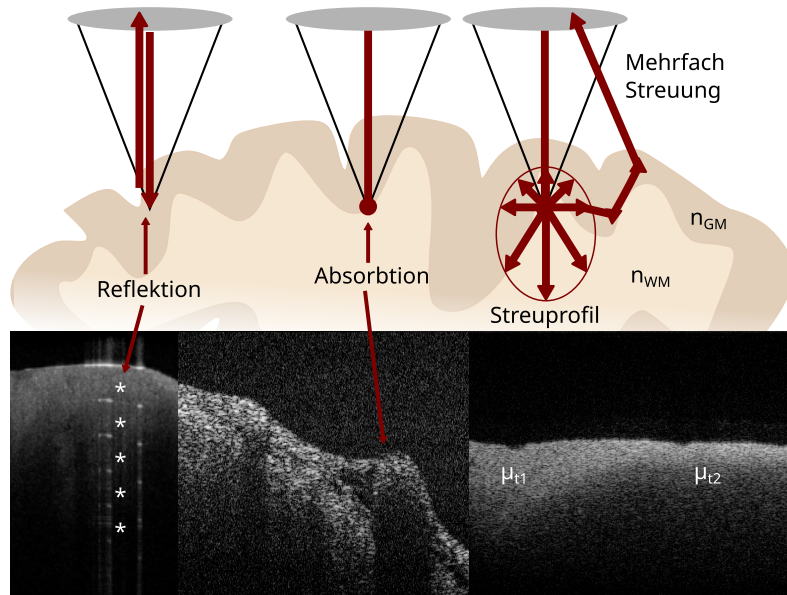


Abb. 3.4: Übersicht über das Verhalten eines Lichtstrahls im Gewebe und ihre Auswirkungen auf den OCT-B-Scan. Durch starke Reflexionen entstehen Artefakte in dem OCT-B-Scan in Form von 'Geisterbildern' (*). Absorption (z. B. Blut) führt zum Verlust des OCT-Signals, da von hier kein Signal erfasst wird. Unterschiedliche Streueigenschaften haben Auswirkungen auf das zu bestimmende μ_t und die zu sehende Eindringtiefe des Lichtes.

einem SD-OCT-System wird der Roll-Off durch die begrenzte Auflösung des Spektrometers ausgelöst. Aufgrund der begrenzten Auflösung des Detektorarrays können die hohen Oszillationen des Spektrums, welche bei Schichten in tieferen Bereichen entstehen, nicht vollständig aufgelöst werden. Dies führt zu einer unvollständigen Detektion des Spektrums und damit zu einer Verringerung der gemessenen Amplitude und Sensitivität des OCT-A-Scans [Wieser u. a., 2012]. Für ein SD-OCT-System ist der Roll-Off wie folgt charakterisiert [Dorrer u. a., 2000; Yun u. a., 2003]:

$$r(z) = \left(\frac{\sin(\xi)}{\xi} \right)^2 \cdot \exp \left(-\frac{\xi^2 \omega^2}{2 \ln 2} \right) \quad (3.25)$$

ξ ist die normalisierte Aufnahmetiefe ($\xi = \frac{z}{z_{\max}}$). ω ist das Verhältnis zwischen dem Wellenlängenabstand zwischen den Pixeln des Detektorarrays und der spektralen Auflösung des Spektrometers. Bei SS-OCT-Systemen erfolgt die Detektion über eine Photodiode. In der Regel besitzen SS-OCT-Systeme eine weitaus bessere Roll-Off-Charakteristik im Vergleich zu SD-OCT-Systemen [Wieser u. a., 2012]. Die Quantifizierung des Roll-Offs kann hierbei anhand einer linearen Funktion erfolgen.

Die Fokuseigenschaften eines OCT-Systems werden durch die Fokusposition z_f und die Rayleighlänge z_r charakterisiert [Faber u. a., 2004; Wang u. a., 2017]. Mit Hilfe dieser Parameter kann beschrieben werden, wie effizient Licht entlang der Tiefenachse von dem eingesetzten Objektiv innerhalb des OCT-Messfensters aufgenommen werden kann. Dieser Zusammenhang kann mit Hilfe der axialen und konfokalen Punktspreizfunktion (PSF) $h(z)$ beschrieben werden [Faber u. a., 2004; Wang u. a., 2017]:

$$h(z) = \frac{1}{1 + \left(\frac{z-z_f}{nz_r}\right)^2} \quad (3.26)$$

Je nach Objektiv bedeutet das, dass die gemessene Intensität von Strukturen mit relativem Abstand von der Fokusposition unterschiedlich stark abnimmt. Ausschlaggebend für die Stärke dieses Effektes ist die Rayleighlänge, welche direkt von der NA des jeweiligen Objektivs, dem Radius der Strahltaile des Laserstrahls ω_0 und dem refraktiven Index des Mediums n abhängt [Drexler u. a., 2008]:

$$z_r = \frac{n\omega_0}{\text{NA}} \quad (3.27)$$

Ein höheres z_r bedeutet somit eine gleichmäßigere Intensitätsverteilung entlang der Tiefenachse z und eine geringere laterale Auflösung an der Fokusposition. z_f in der Gleichung 3.26 repräsentiert die Fokuslage in Luft. Bei einer OCT-Messung von Gewebe sorgt die Lichtbrechung an dem Luft-Gewebe-Übergang für eine Verschiebung der Fokuslage z'_f , welche in Gleichung 3.26 berücksichtigt werden muss (siehe Abb.6.6). Die Bestimmung von z'_f erfolgt auf Grundlage des snelliussches Brechungsgesetzes:

$$\alpha = \sin^{-1} \frac{\text{NA}}{n_1} \quad (3.28)$$

$$\beta = \sin^{-1} \frac{n_1 \sin(\alpha)}{n_2} \quad (3.29)$$

α beschreibt den Winkel des Laserlichtes ohne Brechungsindexsprung und benötigt die NA des Objektivs und den refraktiven Index n_1 zur Bestimmung. β ist der Winkel des Lichtstrahls nachdem dieser an der Mediumsgrenze gebrochen wurde. Dieser ergibt sich direkt aus dem snelliusschem Brechungsgesetz. n_2 ist der Brechungsindex des Gewebes. Anhand der geometrischen Annahmen aus Abb.6.6 lassen sich weitere Zusammenhänge ableiten:

$$\Delta x = \tan(\alpha) \cdot (z_f - z_s) \quad (3.30)$$

$$\Delta x = \tan(\beta) \cdot (z'_f - z_s) \quad (3.31)$$

z_s ist hierbei die Position der Gewebeoberfläche. Durch Gleichsetzen der Gleichung 3.30 und Gleichung 3.31 lassen sich die Gleichungen 3.32 und 3.33 ermitteln, mit dessen

Hilft die Verschiebung des Fokus aufgrund von Lichtbrechung bestimmt werden kann. Hierbei ist Gleichung 3.33 die nach z_f umgestellte Form von Gleichung 3.32.

$$z'_f = \frac{\tan(\alpha)}{\tan(\beta)} \cdot (z_f - z_s) + z_s \quad (3.32)$$

$$z_f = \frac{\tan(\beta)}{\tan(\alpha)} \cdot (z'_f - z_s) + z_s \quad (3.33)$$

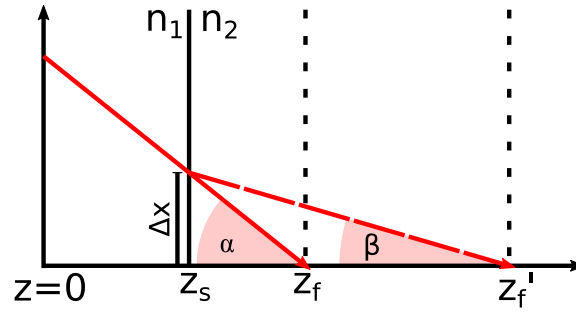


Abb. 3.5: Schema zur Lichtbrechung des einfallenden Laserlichts an der Gewebeoberfläche. Das Schema veranschaulicht die Verschiebung der Fokuspersion von z_f zu z'_f aufgrund der Lichtbrechung an der Gewebeoberfläche z_s .

Die Definition von $I(z)$ in Gleichung 3.24 hängt davon ab, ob Mehrfachstreuung oder nur Einfachstreuung berücksichtigt wird [Gong u. a., 2020]. Unter der Annahme von Einfachstreuung kann $I(z)$ durch das Lambert-Beer-Gesetz definiert werden [Schmitt u. a., 1993]:

$$I(z) = I_0 e^{(-2\mu_t z)} \quad (3.34)$$

Hierbei wird der Anteil des zurückgestreuten Lichtes durch I_0 repräsentiert. Einfachstreuung kann bei schwachstreuenden Gewebe, zu welchem auch menschliches Gehirn gezählt werden kann, bis zu einer Eindringtiefe von 1 mm angenommen werden [Faber u. a., 2004]. Für die Berücksichtigung von Mehrfachstreuung wurde die Gleichung 3.34 unter Berücksichtigung des Huygens-Fresnel-Prinzips erweitert [Thrane u. a., 2000, 2004]:

$$I(z) = I_0 \left(e^{(-2\mu_t z)} + \frac{2e^{(-\mu_t z)} (1 - e^{(-\mu_t z)})}{1 + \frac{w_s^2(z)}{w_h^2(z)}} + (1 - e^{(-\mu_t z)})^2 \frac{w_s^2(z)}{w_h^2(z)} \right) \quad (3.35)$$

$$w_h^2(z) = w_0^2 \left(\left(\frac{z - z_f}{2nz_R} \right)^2 + 1 \right) \quad (3.36)$$

$$w_s^2(z) = w_h^2(z) + \frac{1}{3}(\mu_s z)(2(1-g))\frac{z^2}{n^2} \quad (3.37)$$

Die letzten zwei Terme aus Gleichung 3.35 sind für die Berücksichtigung der Mehrfachstreuung verantwortlich. Gleichung 3.35 stellt einen erheblich höheren Aufwand zur Bestimmung der optischen Parameter dar. g und μ_t sind innerhalb der Gleichung über eine Multiplikation voneinander abhängig, was nur durch Vorwissen über das Gewebe ausgeglichen werden kann. Je nach Beschaffenheit der Probe ist dieses Vorwissen nicht vorhanden. Zusätzlich können die optischen Parameter anders als in Gleichung 3.34 nur iterativ ermittelt werden. Diese Gründe sorgten in der Vergangenheit dafür, dass sich vorherige Forschungen zu menschlichem Gehirn auf die Gleichung 3.34 beschränkten [Kut u. a., 2015; Yashin u. a., 2019b]. Es gibt unterschiedliche Methoden, um die optischen Parameter für einen gemessenen OCT-A-Scan auf Basis von Gleichung 3.34 zu ermitteln.

Eine Möglichkeit ist das direkte Bestimmen der Parameter auf den exponentiellen Messwerten y_i durch die Maximum-Likelihood-Methode, in dem der Fehler χ^2 zwischen den Messdaten und dem Modell aus Gleichung 3.34 minimiert wird (siehe Gleichung 3.38) [Faber u. a., 2004]. Mit σ_i können die einzelnen Messwerte gewichtet werden. Praktisch kann dies durch die Anwendung der Levenberg-Marquardt-Methode erreicht werden. Der Vorteil dieser Methode ist die Robustheit gegenüber Rauschen. Nachteile dieser Methode ist die iterative Bestimmung der Parameter und die Annahme von Vorwissen.

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^N \left(\frac{y_i - I(z_i; I_0, \mu_t)}{\sigma_i} \right)^2 \quad (3.38)$$

Eine weitere Möglichkeit ergibt sich durch die Logarithmierung von Gleichung 3.34, wodurch sich die Gleichung 3.39 bildet [Yashin u. a., 2019b]. Somit ist eine einfache Bestimmung der optischen Parameter über eine lineare Regression möglich. Der Vorteil dieser Methode ist die schnellere Bestimmung im Vergleich zu der Bestimmung über die Gleichung 3.38. Der Nachteil liegt in der höheren Sensitivität gegenüber Rauschen, da das Verhältnis zwischen dem OCT-Signal und dem Rauschen durch die Logarithmierung verkleinert wird. Dieser Nachteil kann jedoch durch die Anwendung von Gewichtungen der einzelnen Messwerte teilweise kompensiert werden.

$$\ln(I(z)) = \ln(I_0) - 2\mu_t z \quad (3.39)$$

Eine pixelweise Bestimmung des Abschwächungskoeffizienten wurde durch [Vermeer u. a., 2013] eingeführt (siehe Gleichung 3.40) [Vermeer u. a., 2013]. Diese Methode eignet sich gut für die Bestimmung des Abschwächungskoeffizienten von geschichteten Gewebestrukturen, wie zum Beispiel die menschliche Haut. Bei der Gleichung 3.40 wird angenommen, dass am Ende des OCT-Messfensters die gesamte Lichtintensität

gestreut oder absorbiert wurde ($I(\infty) = 0$). Dies führt dazu, dass der Abschwächungskoeffizient in den tiefen Bereichen des OCT-A-Scans zu groß angenommen wird. Um diese Probleme zu beheben wurden unterschiedliche Regularisierungsmethoden eingeführt [Cannon u. a., 2021; Li u. a., 2020]. [Cannon u. a., 2021] zum Beispiel bestimmten $\mu_t(z)$ getrennt für jede detektierte Schicht. Am Ende jeder Schicht wurde der OCT-A-Scan künstlich verlängert, um den Bereich in dem $\mu_t(z)$ zu groß geschätzt wird nach unten zu schieben. Es hat sich in der Anwendung gezeigt, dass die pixelweise Bestimmung des Abschwächungskoeffizienten nur einen geringen Vorteil bei dem homogenen Hirngewebe hat, weshalb bei den späteren Gewebeanalysen die lineare Regression auf Basis von Gleichung 3.39 verwendet wurde.

$$\mu_t(z) = \frac{1}{2\Delta z} \ln \left(1 + \frac{I(z)}{\sum_{z+1}^{\infty} I(z)} \right) \quad (3.40)$$

Kapitel 4

Ex-vivo-Datenaufnahme von menschlichen Gehirnproben

In diesem Kapitel wird das Vorgehen bei der Datenakquise beschrieben. Die Datenakquise beinhaltet die Entnahme von Proben von menschlichen Gehirngewebe während eines neurochirurgischen Eingriffes, die Aufnahme der OCT-Daten und die histologische Aufbereitung der entnommenen Proben. Die Entnahme der menschlichen Proben wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt (Studien Nr.: 18-204). Da die Probenentnahme extrem limitiert ist, da eine Entnahme von zu viel Gewebe die Lebensqualität des Patienten stark beeinflussen kann, wurden zwei OCT-Systeme für die Ex-vivo-Aufnahmen verwendet. Der Einsatz von zwei OCT-Systemen erlaubt einen Vergleich der beiden Systeme, beziehungsweise gibt Aufschlüsse darüber, welche Systemeigenschaften (z. B. zentrale Wellenlänge des Lasers, laterale und axiale Auflösung) für eine zuverlässige Tumorklassifikation präferiert werden sollten. Vorhergehende Forschungen haben gezeigt, dass eine einfache Betrachtung des Gehirngewebes, also nur gesund oder tumorös, nicht ausreicht, um die Identifikation des malignen Gewebes ausreichend zu erforschen [Kut u. a., 2015; Yashin u. a., 2019b]. Sie zeigten, dass es sinnvoll ist, das Gewebe weiter zu differenzieren. Es wurde gezeigt, dass es Unterschiede zwischen gesunder weißer Masse und gesunder grauer Masse gibt und somit eine einfache Betrachtung von gesundem Gewebe nicht ausreichend erscheint.

Um eine erfolgreiche Datenakquise mit den zwei OCT-Systemen zu gewährleisten, wurde die Datenaufnahme wie in Abb. 4.1 zu sehen strukturiert. Zunächst wählte der Chirurg eine Position an der eine Probe entnommen werden soll. Nach der Probenentnahme wurde die Probe in einem speziellen Verfahren in eine mit Agarose gefüllte Gewebekassette eingebettet und mit den beiden Ex-vivo-OCT-Systemen vermessen. Anschließend wurde die Probe neuropathologisch weiterverarbeitet, sodass zehn gefärbte histologische Schnitte entstanden. Diese gefärbten Schnittbilder wurden abschließend von einem Neuropathologen pixelweise annotiert. Die aus diesem Prozess entstandenen Daten erlaubten später eine pixelweise Zuordnung der histologischen Informationen und der Ex-vivo-Daten. Die einzelnen Teilprozesse der Datenakquise werden in den folgenden Kapiteln genauer beschrieben. Sie wurden so ausgearbeitet, dass sie sich in die bereits bestehenden Prozesse eingliedern und diese nicht mehr als nötig verkompli-

zieren und verlängern. Da die bestehenden Abläufe nur geringfügig verändert wurden, wurden Fehler durch fehlende Routine vermieden. Die Datenaufnahme stützte sich somit auf die von den beteiligten Personen bestehenden Routinen, was zu einer höheren Akzeptanz beim klinischen Personal sorgte und zu weniger Fehlern bei der Ausführung führte.

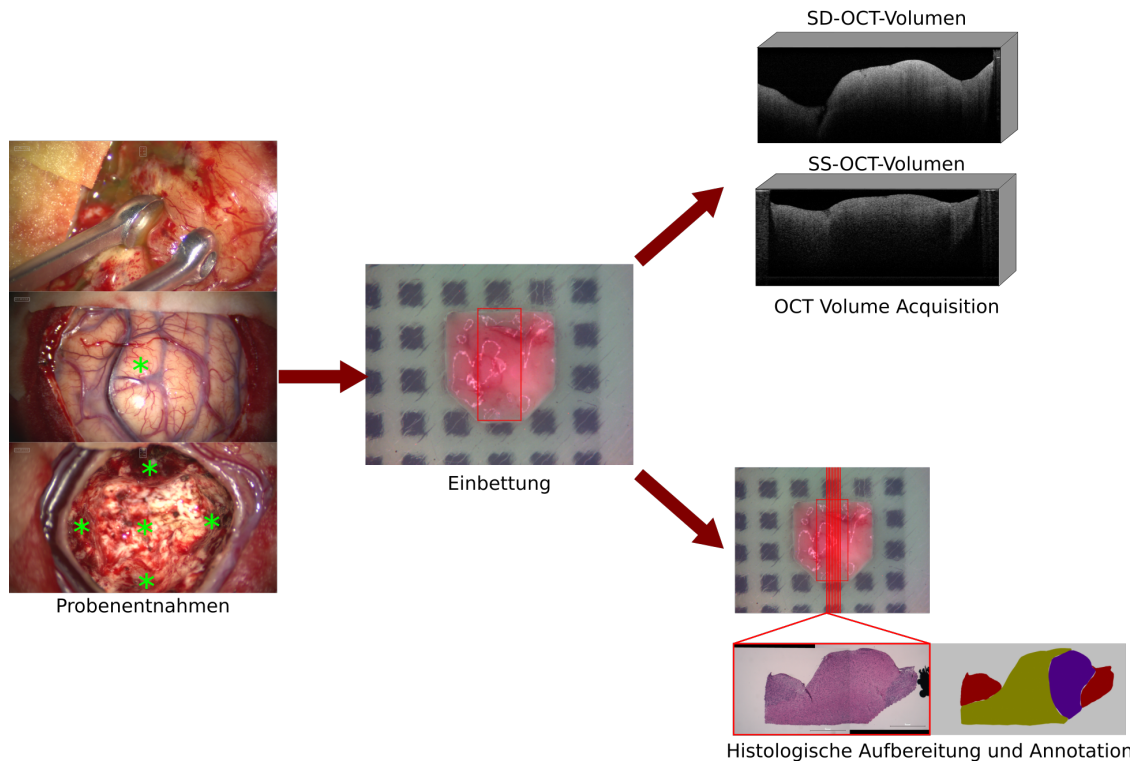


Abb. 4.1: Überblick über die Ex-vivo-Datenaufnahme: Die Probenentnahme erfolgte mit einer 5 mm Yasargil-Pinzette (* zeigt exemplarische Positionen). Die entnommene Probe wurde danach in eine Agarose Form eingebettet und dann von zwei Ex-vivo-OCT-Systemen vermessen. Aus jeder Probe wurden anschließend zehn histologische Schnitte extrahiert und pixelweise von einem Neuropathologen annotiert.

4.1 Patienten und Proben

Im Rahmen der Ex-vivo-Datenaufnahme wurden 21 Patienten ausgewählt. Die Proben wurden nur von Patienten genommen, welche zuvor mit einer Metastase oder einem primären Hirntumor des Grades 2 oder höher diagnostiziert wurden. Somit waren Patienten mit einem Meningeom nicht involviert. Während der Datenaufnahme wurden

insgesamt 143 Proben entnommen. Die Tabelle 4.1 zeigt eine Übersicht aller Patienten und die dazu entnommene Anzahl der Proben. Für die Ex-vivo-Datenaufnahme wurden größere Proben in kleinere Proben aufgeteilt, um zu gewährleisten, dass das gesamte Probenmaterial verwendet wird. Durch diese Maßnahme wurde eine Gesamtanzahl von rund 200 Ex-vivo-Proben registriert. Die Proben wurden während jeder Operation (OP) standardisiert an den gleichen Positionen mit einer 5 mm Yasargil-Pinzette entnommen, soweit dies aus Sicht des chirurgischen Personals möglich war (siehe Abb. 4.1). Eine dieser Positionen war die Gehirnoberfläche. Die Proben aus diesem Bereich sollten gewährleisten, dass gesunde oder tumorinfiltrierte graue Masse mit in die Probensammlung aufgenommen wird. Weitere Proben wurden aus der Tumormasse extrahiert. Mit diesen Proben sollte untersucht werden, ob eine Unterscheidung zwischen Tumor und gesundem Gewebe mit der OCT möglich ist. Die Mehrheit der Proben wurden aus der Resektionshöhle entnommen, nachdem das chirurgische Personal eine 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 eine weitere Probe für die Neuropathologie zur Sicherung der Diagnose entnommen. Eine Probenentnahme wurde nicht durchgeführt, wenn zu starke Blutungen vorhanden waren oder die Proben zu nah an einem funktionellen Areal lagen, was eine Verschlechterung des Wohlbefindens des Patienten zur Folge gehabt hätte.

4.2 Probeneinbettung

Nach der Entnahme wurde die Probe für die weitere Datenaufnahme und Verarbeitung eingebettet. Die Einbettung diente nicht nur der Probenhalterung sondern bildete die Grundlage für alle folgenden Verarbeitungsschritte. Sie ist somit der wichtigste Schritt in der Ex-vivo-Datenaufnahme, da hier die Basis gelegt wurde, ob später die histologischen Informationen mit den Ex-vivo-OCT-Volumen korreliert werden können. Um dies zu gewährleisten musste die Einbettung verschiedene Bedingungen und Aufgaben erfüllen, welche im Folgenden näher erläutert werden. Zunächst musste sich die Geweeinbettung an den bereits etablierten Methoden orientieren, damit die Proben die bestehenden Prozesse während der histologischen Verarbeitung nicht verkomplizieren. Aus diesem Grund basiert die Probeneinbettung auf einer handelsüblichen Gewebekassette, die mit Agarose gefüllt worden ist. Die Gewebekassetten sind standardisiert und die Geräte der Neuropathologie auf diese ausgelegt, wodurch diese problemlos verwendet werden konnten. Agarose wurde als Medium für die Einbettung aufgrund der leichten Handhabung verwendet. Durch die geringe Schmelztemperatur ließ sich Agarose gut in die Gewebekassetten gießen und härtete bei Zimmertemperatur wieder aus

Tabelle 4.1: Überblick der Patienten und entnommenen Proben.

Patient	Alter	Geschlecht	Diagnose	Proben
1	55	M	Glioblastom - WHO 4	8
2	39	W	Oligodendrogliom - WHO 2	8
3	75	W	Glioblastom - WHO 4	13
4	60	M	Metastase (Non-Hodgkin-Lymphom)	11
5	70	M	Glioblastom - WHO 4	13
6	77	W	Neuroendokrines Karzinom - WHO 3	10
7	59	M	Glioblastom - WHO 4	10
8	46	W	Anaplastisches Astrozytom - WHO 3	8
9	45	M	Glioblastom - WHO 4	3
10	65	M	Glioblastom - WHO 4	15
11	77	M	Metastase (Lungenkarzinom)	9
12	72	M	Metastase (Nierenzellkarzinom)	9
13	73	M	Metastase (Adenokarzinom)	6
14	59	M	Anaplastisches Oligodendrogliom - WHO 3	8
15	59	W	Metastase (Ovarialkarzinom)	11
16	62	W	Glioblastom - WHO 4	8
17	67	W	Glioblastom - WHO 4	9
18	72	M	Metastase (Melanom)	9
19	66	M	Glioblastom - WHO 4	14
20	53	W	Oligodendrogliom - WHO 2	8
21	66	W	Glioblastom - WHO 4	11

[Jones u. a., 2007]. Ein weiterer Vorteil von Agarose ist die Permeabilität für Flüssigkeiten, wie Wasser oder Alkohol. Anders als zum Beispiel bei Paraffin, kann die Probe während der Entwässerung und Fixierung innerhalb des Einbettungsmediums bleiben, da die Flüssigkeiten trotzdem alle Seiten der Probe erreichen können. Agarose ist in diesem Forschungsbereich ein gut etabliertes Einbettungsmedium und wurde bereits von anderen Forschungsgruppen verwendet [Jones u. a., 2007; Lenz u. a., 2018]. Die nächste Aufgabe der Einbettung war die Positionsfixierung der Probe für nachfolgende Prozesse, wie der Ex-vivo-Datenaufnahme oder dem Transport zur Neuropathologie. Während dieser Schritte darf die Probe ihre Position oder Orientierung nicht verändern, da sonst eine Korrelation zwischen den histologischen Schnitten und den Ex-vivo-OCT-Volumen nicht mehr möglich wäre. Aus diesem Grund wurde entschieden, Vertiefungen in die Agarose einzubringen. Um während der Probenentnahme flexibel zu sein, gab es vier Vertiefungen in der Agarose pro Gewebekassette. Die Größen dieser Vertiefungen waren $3\text{ mm} \times 3\text{ mm} \times 2\text{ mm}$, $4\text{ mm} \times 4\text{ mm} \times 2\text{ mm}$, $5\text{ mm} \times 5\text{ mm} \times 3\text{ mm}$ und $6\text{ mm} \times 6\text{ mm} \times 3\text{ mm}$. Es wurde mit den vier Größen gewährleistet, dass für je-

de Probe eine passende Vertiefung gefunden werden konnte, die die Probe gegen das Verrutschen sicherte. Für den Transport wurde die Probe mit Teflon überdeckt und der Deckel der Gewebekassette wurde geschlossen, um ein Herausrutschen der Probe zu verhindern. Teflon wurde gewählt, damit es mit den in der Neuropathologie verwendeten Chemikalien, für die histologische Bearbeitung, nicht reagiert und somit die Probe nicht beeinflusst. Eine weitere Aufgabe der Einbettung ist die Formgebung des Gewebes. Diese Aufgabe steht in enger Verbindung mit den Vertiefungen in der Agarose. Die Formgebung wurde aus zwei Gründen eingeführt: 1. Die Form erlaubte eine Kontrolle der nachfolgenden Prozesse und 2. bildete eine Grundlage auf die sich spätere Verarbeitungsschritte stützen konnten. Eine Kontrolle der nachfolgenden Verarbeitungsprozesse ist essentiell. Bei einigen Prozessen, wie zum Beispiel die histologische Verarbeitung sind auftretende Fehler nur schwer nachvollziehbar. Ein möglicher Fehler wäre zum Beispiel, dass die Orientierung der Probe während des Schnittprozesses nicht mit der B-Scan-Ebene übereinstimmt. Bei solch einem Fehler kann die histologische Information nicht mehr mit den B-Scans im OCT-Volumen korreliert werden. Je nach Gewebetyp können gewebespezifische Merkmale, wie zum Beispiel Gewebeschichten im Auge oder der Haut genutzt werden, um die Probenorientierung nachzuvollziehen. Diese gewebespezifischen Merkmale gibt es jedoch bei den entnommenen Hirnproben nicht, da es sich in der Regel um sehr homogene Proben ohne klare Schichten oder andere Merkmale handelt. Um die richtige Orientierung des histologischen Schnittes nach der histologischen Verarbeitung zu kontrollieren, eignen sich Markierungen auf der Probe. Hierbei gibt es unterschiedliche Alternativen. Eine Möglichkeit wäre der Einsatz von Lasermarkierungen auf der Probe. Nachteil dieses Verfahrens ist die Schädigung der Probe. Diese Gewebeänderungen haben besonders großen Einfluss auf kleine Proben, wie sie in dieser Arbeit entnommen wurden. Ein weiterer Nachteil ist ein weiteres Gerät, welches mit in den OP-Saal muss. Weitere Alternativen waren die Markierung der Probenunterseite mit einem histologischen Papier oder mit histologischer Farbe. Aber auch diese Methoden hatten Nachteile. Bei der Markierung mit histologischem Papier ist die markierte Seite nur schwer zu sehen und das Papier stumpft die Klingen des Mikrotoms ab, was zu schlechteren Gewebeschnitten führen kann (siehe Abb. 4.2 (a, b)). Die histologische Farbe hingegen ist sehr markant und einfach im histologischen Schnitt zu sehen, jedoch ist die Handhabung der Farbe extrem schwierig (siehe Abb. 4.2 (c, d)). Die Farbe ist extrem sehr und verläuft schnell über die gesamte Probe, was wiederum die Datenaufnahme mit den OCT-Systemen negativ beeinflussen kann (z. B. durch die Absorptionseigenschaften der Farbe). Aus diesem Grund wurde die Markierung der Probe mit Hilfe von Formgebung in Betracht gezogen. Die entnommenen Gewebeproben waren relativ weich und verformbar. Es war also möglich mit den in der Agarose eingebrachten Vertiefungen eine Form vorzugeben, welche von den Hirnproben übernommen wurde (siehe Abb. 4.2 (e, f)). Daher wurde eine Vertiefung konstruiert, die die Orientierung der Schnittprobe anhand der Form nachvollziehbar macht. Ein weiterer Vorteil der Formgebung ist, dass die Ausmaße der Probe bekannt

sind. Dies ermöglichte eine Korrelation zwischen den histologischen Schnitten und der OCT-B-Scans. Insbesondere die Tiefe einer Probe ist in OCT-Aufnahmen aufgrund der limitierten Eindringtiefe der Systeme meist nicht messbar. Aus diesem Grund ist eine bekannte Tiefe ein gutes Vorwissen, um das gesamte Probenausmaß innerhalb eines B-Scans zu ermitteln.

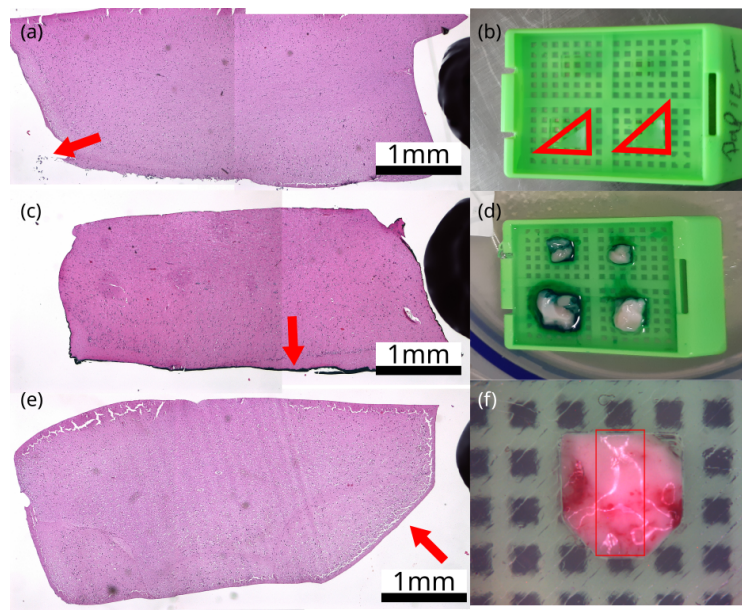


Abb. 4.2: Übersicht über die unterschiedlichen Methoden zur Gewebemarkierung. (a, b) Gewebemarkierung mit Hilfe von histologischem Papier auf welches das Gewebe gelegt wurde. Die roten Dreiecke bei (b) umrahmen die Stücke des Gewebepapiers, worauf das Gewebe gelegt wurde. Der rote Pfeil in (a) zeigt die Reste, welche nach dem Schnittprozess übrig geblieben sind, anhand welcher die Orientierung festgestellt werden kann. (c, d) Gewebemarkierung mit Hilfe von histologischer Farbe. (d) zeigt die Proben direkt, nachdem diese auf die histologische Farbe gelegt wurden. (c) zeigt, dass Ergebnis der Markierung nach der histologischen Aufbereitung. Der rote Pfeil markiert die Farbrückstände, anhand welcher die Probenorientierung festgestellt werden kann. (e, f) Gewebemarkierung mit Hilfe von Formgebung. (f) zeigt die Probe nach der Einbettung und (e) zeigt das Ergebnis nach der histologischen Aufbereitung. Der rote Pfeil markiert das formgebende Merkmal, anhand welcher die Probenorientierung festgestellt werden kann.

Während der Durchführung der Studie gab es mehrere Variationen der Probeneinbettung, welche immer mehr auf die oben beschriebenen Aufgaben und Anforderungen optimiert wurden. Für den ersten Studienpatienten wurden die Vertiefungen noch mit der 5 mm Yasargil-Pinzette in die Agarose eingebracht (siehe Abb. 4.3 (a, b)). Das

Problem an diesem Verfahren war die mehr oder weniger zufällige Form der Vertiefung. Zusätzlich gab es keine Möglichkeit die Orientierung der Probe nachträglich zu kontrollieren. Somit erfüllte diese Form der Einbettung nur bedingt die oben aufgezählten Anforderungen. Für die Transportsicherung der Probe wurde das Gewebe mit einem Gewebepapier und einem Gewebeschwamm abgedeckt. Das Gewebepapier führte jedoch dazu, dass die Probe an dem Papier kleben blieb, was die Weiterverarbeitung erschwerte. Für die zweite Iteration der Gewebeeinbettung wurde eine feste Form für die Vertiefungen entwickelt. Dazu wurde eine Negativform konzipiert, welche in die Gewebekassetten eingesetzt werden konnte und vier quaderförmige Aussparungen in den oben genannten Größen in der Agarose erzeugte (siehe Abb. 4.3 (c, d, e)). Die feste Form ermöglichte eine bessere Standardisierung der nachfolgenden Verarbeitungsprozesse. Die entstehenden glatten Gewebekanten erlaubten zum Beispiel eine bessere Lokalisierung der korrespondierenden Schnittebenen mit den OCT-B-Scans. Außerdem waren nun die Gewebeausmaße bekannt, was später eine Korrelation zwischen OCT und histologischen Schnitten erlaubte. Für den Transport wurde Teflon anstelle des Gewebepapiers zusammen mit dem Gewebeschwamm auf die Probe gelegt (siehe Abb. 4.5 (a-c)). Diese Iteration der Probeneinbettung wurde für die Studienpatienten 2 bis 14 verwendet.

Für die Patienten 15 bis 21 wurde die finale Einbettungsmethode verwendet. Die Einbettungsmethode mit den quaderförmigen Aussparungen hatte den Nachteil, dass eine Überwachung des Schnittprozesses immer noch nicht ohne weiteres möglich war. Wie bereits oben erwähnt, wurden unterschiedliche Methoden in Erwägung gezogen, um die Orientierung der Probe nach dem Schnittprozess zu kontrollieren. Auf Grund der Nachteile jeder einzelnen Methode, wurde entschieden, die Form der Vertiefung so zu verändern, dass die Anforderungen der Nachverfolgung über die Form abgedeckt sind. Abb. 4.3 (h) zeigt die Änderungen an der originalen quaderförmigen Vertiefung. Von der Draufsicht ausgehend wurden die Ecken in einer Richtung eingeschnitten (siehe Abb. 4.3 (h, g)). Diese Bearbeitung erzeugte in der Mitte der Form den relevanten Bereich für die Datenaufnahme. In diesem Bereich wurden später die Ex-vivo-OCT-Volumen und die histologischen Schnitte erzeugt. Da die Länge der Form bekannt war, war es nun möglich bei Abweichungen der Länge bei den histologischen Schnitten davon auszugehen, dass nicht innerhalb des relevanten Bereiches geschnitten wurde. Eine weitere Anpassung war das Erzeugen einer Kante, welche in der seitlichen Ansicht sichtbar ist (siehe Abb. 4.3 (h, f)). Die Aufnahme der Ex-vivo-OCT-Volumen und das Schneiden der histologischen Schnitte erfolgte senkrecht zu dieser Kante. Ist die Kante nicht auf einem histologischen Schnitt zu sehen, wurde der Schnittprozess nicht korrekt durchgeführt. Zusätzlich erlaubt die Kante eine Zuordnung der Seiten links und rechts, was bei der vorhergehenden Iteration der Einbettungsform nicht möglich war. Im Idealfall war die Kante ebenfalls im OCT-B-Scan sichtbar, was nochmals die Zuordnung der histologischen Schnitte mit dem OCT-B-Scan vereinfachte. Für den Transport wurde nur noch Teflon für die Abdeckung der Probe verwendet, da sich der

Gewebeschwamm durch das Teflon durchdrücken und so die Oberfläche des Gewebes nachhaltig verändern konnte (siehe Abb. 4.5 (a-c)).

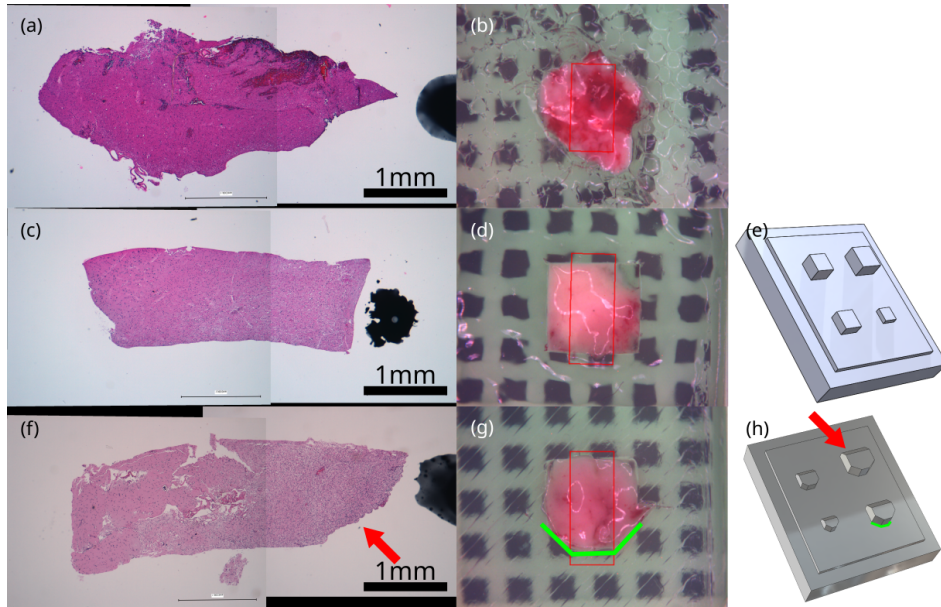


Abb. 4.3: Übersicht über die unterschiedlichen Iterationen für die Formgebung des Gewebes. Einbettungsvariante des ersten Patienten mit dem korrespondierenden histologischen Schnitt (a) und Weißlichtaufnahme der Probe nach der Einbettung (b). Einbettungsvariante für die Patienten 2 bis 14 mit histologischem Schnitt (c), Weißlichtaufnahme nach der Probeneinbettung (d) und 3D Ansicht der Form zur Erstellung der Einbuchtungen in der Agarose. (f, g, h) sind analog zu (c, d, e), aber für die Probeneinbettung ab dem Studienpatienten 15. Der rote Pfeil markiert die Kante in (h), welche die Kante in (f) erzeugt. Die grüne Umrandung zeigt die Kanten in (h), die die Kanten in (g) erzeugen.

4.3 Ex-vivo-OCT-Datenaufnahme

Nach der Einbettung erfolgte die Ex-vivo-Datenaufnahme mit den OCT-Systemen. Für die Datenaufnahme wurden zwei unterschiedliche OCT-Systeme verwendet. Zum einen das Callisto-SD-OCT-System der Firma Thorlabs und das OMES-SS-OCT-System von der Optores GmbH. Beide System unterscheiden sich stark in ihren Geräteeigenschaften, was später einen aussagekräftigen Vergleich der beiden OCT-Systeme hinsichtlich ihrer Hirntumorklassifikation ermöglicht. Das Callisto-System besitzt eine Laserquelle mit einer zentralen Wellenlänge von 930 nm und einer Bandbreite von 127 nm. Als Aufnahmeobjektiv wurde das LSM03-BB Objektiv von Thorlabs verwendet mit einer

fokalen Länge von 36 mm und einer numerischen Apertur von 0,051. Anhand eines Auflösungsphantoms (National Physical Laboratory (NPL)) wurden die laterale und axiale Auflösung des Callisto-Systems bestimmt [Woolliams u. a., 2010]. Die Ergebnisse dieser Messungen ergaben in der Fokusebene eine laterale Auflösung von 5.2 μm (FWHM) und eine axiale Auflösung von 4.9 mm (FWHM). Der Aufnahmebereich (FOV, engl. field of view) wurde auf 2 mm \times 5.2 mm festgelegt. Dabei betrug der Pixelabstand in die beiden Scan-Richtungen 15 μm und 4 μm . Die Eindringtiefe des Callisto-Systems in Luft betrug rund 1.7 mm mit einem axialen Pixelabstand von 3.3 μm . Neben der Aufnahme eines OCT-Volumens ist das System außerdem in der Lage ein Weißlichtbild einer Probe aufzunehmen. Das FOV dieser Weißlichtaufnahme betrug 12.8 mm \times 9.6 mm. 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 zentralen Wellenlänge von 1310 nm und einer Bandbreite von 100 nm eine Eindringtiefe von bis zu 4 mm in Luft. Der Pixelabstand wurde anhand einer definierten Glasscheibe bestimmt und betrug 8.35 μm . Das Objektiv war ein LSM04 von Thorlabs mit einer fokalen Länge von 54 mm und einer numerischen Apertur von 0,021. Die Auflösungen wurden wieder mit Hilfe eines Auflösungsphantoms bestimmt. Für die laterale Auflösung wurde so ein Wert von 22 μm (FWHM) ermittelt und für die axiale Auflösung 16 μm (FWHM). Die Größe des FOV betrug 6 mm \times 6 mm und der Pixelabstand war mit 4.86 μm in beide Scan-Richtungen gleich groß. Die Abb. 4.4 verdeutlicht den Zusammenhang der unterschiedlichen Aufnahmebereiche der verschiedenen Systeme.

Für den Einsatz in der Klinik wurden die beiden Ex-vivo-Systeme auf einem Rack-System montiert. Das System stand während jeder OP in einem separaten Raum nahe dem Operationssaal. Somit wurde gewährleistet, dass die entnommenen Proben möglichst schnell eingebettet werden konnten, um anschließend innerhalb von 10 min bis 15 min von den beiden Ex-vivo-OCT-Systemen vermessen zu werden. Dieses Vorgehen garantierte, dass die Veränderungen der entnommenen Proben während der Ex-vivo-Datenaufnahme minimal waren. Die Proben wurden immer zuerst mit dem OMES-System vermessen. Der Grund dafür war die vielfach schnellere Aufnahmezeit aufgrund der Verwendung eines Fourier-Domänen-Moden-gekoppelter-Laser (FDML, engl. fourier domain mode locked laser) [Huber u. a., 2006], wodurch die Zeit bis zum Wechsel des OCT-Systems kleiner war, als anders herum. Die Proben wurden bei der Volumenaufnahme immer möglichst parallel zu der Scan-Richtung ausgerichtet. Bei dem letzten Design der Einbettung war die Ausrichtung der Probe, wie in Abb. 4.4 gezeigt. Die vollständig aufgenommenen Proben wurden anschließend in 4%-ige Formalinlösung gelegt, um die Probe für die später anfallenden neuropathologischen Prozesse zu konservieren.

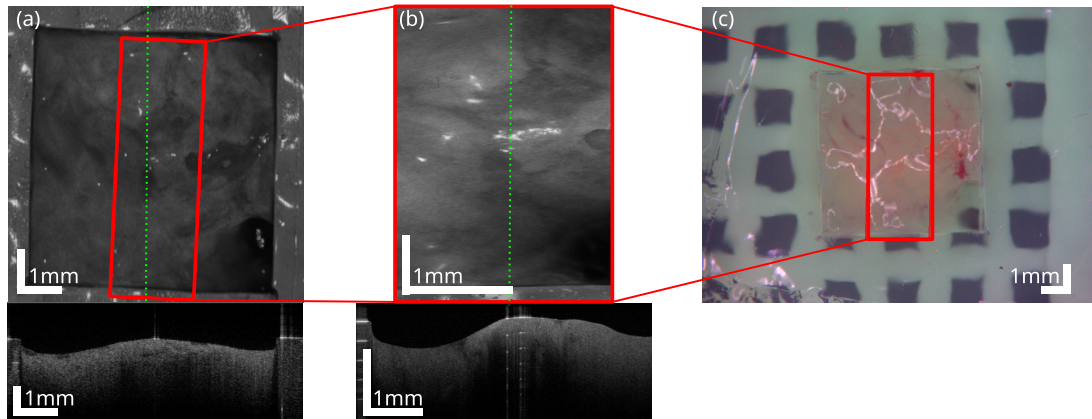


Abb. 4.4: Übersicht über die Ex-vivo-Datenaufnahme. (a) zeigt exemplarisch eine En-face-Projektion eines OCT-Volumens, welches mit dem OMES-System aufgenommen wurde. Die grüne Linie zeigt einen exemplarischen OCT-B-Scan des Volumens. (b) zeigt analog die gleichen Informationen wie (a) nur für das Callisto-System. (c) zeigt, das En-face-Weißlichtbild der aufgenommenen Probe. Die roten Linien zeigen den Zusammenhang der verschiedenen FOV der unterschiedlichen Modalitäten.

4.4 Histologische Probenaufbereitung

Die histologische Aufbereitung beschreibt den gesamten Prozess, in dem eine Gewebeprobe zu einem histologischen Schnitt verarbeitet wurde und die anschließende Färbung dieses Schnittes. Nach der Aufnahme der Ex-vivo-OCT-Volumen wurden die Proben zunächst 24 h in Formalin fixiert. Anschließend wurden die Proben wie in Kapitel 4.2 beschrieben, für den Transport gesichert. Die Proben wurden, nach dem in Kapitel 2.4 beschriebenen Ablauf, verarbeitet. Bei den für den Transport gesicherten Proben wurde zunächst das Formalin ausgewaschen und durch Xylol ersetzt. Anschließend wurde die Probe für den Paraffinguss vorbereitet. Abb. 4.5 (a-c) zeigt, die geöffnete Gewebekassette mit der eingebetteten Probe vor dem Paraffinguss. Der histologische Schnitt musste parallel zu der roten Kante erfolgen, um der OCT-B-Scan-Ebene zu entsprechen (siehe Abb. 4.5 (d)). Nur so ist eine Zuordnung der histologischen Schnitte zu den OCT-B-Scans überhaupt möglich. Um die Kante für die Neuropathologie zu markieren, wurde ein Stück Teflon neben die Probe gesetzt (siehe Abb. 4.5 (c)). Um für den Schnitt mit dem Mikrotom korrekt ausgerichtet zu sein, musste die Probe wie in dem Schema von Abb. 4.5 (d) gezeigt, aufgestellt werden. Die flache Kante des geformten Gewebes vereinfachte diesen Vorgang.

Nachdem die Probe auf der richtigen Seite aufgestellt war, wurde diese in Paraffin eingebettet. Pro Probe wurden 10 histologische Schnitte angefertigt. Jeder Schnitt hatte eine Dicke von $4\mu\text{m}$. Der Abstand zwischen den Schnitten betrug $100\mu\text{m}$. Der

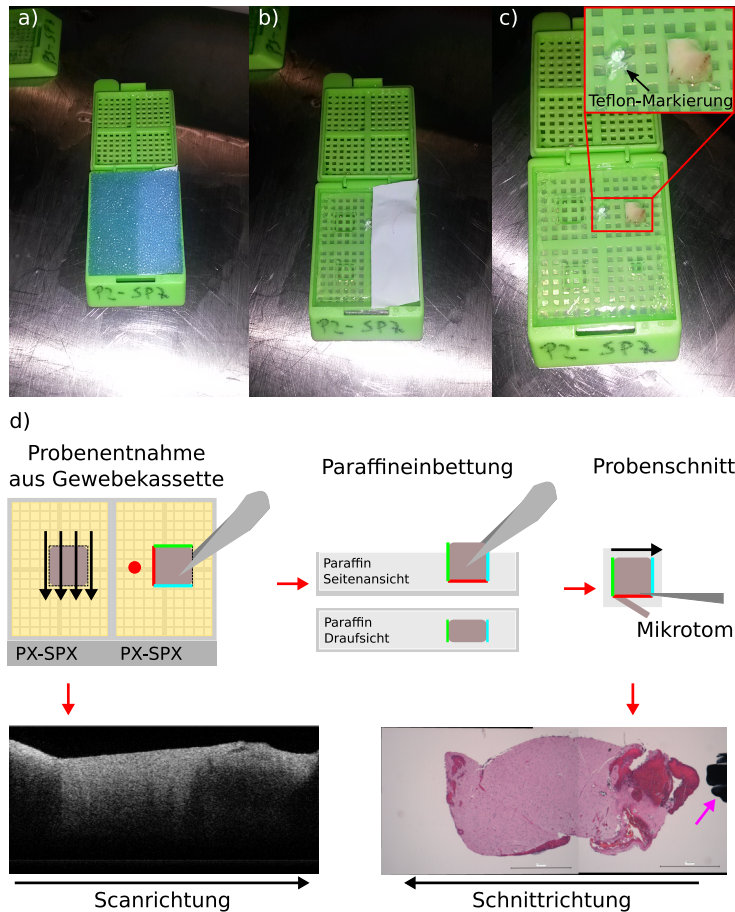


Abb. 4.5: Für den Transport gesicherte Gewebekassette. Nach dem Öffnen der Kassette ist der histologische Schwamm sichtbar (a) unter welchem sich die Teflon-Schicht befindet (b). Nach dem Entfernen der beiden Schichten ist die Probe mit der Teflon-Markierung zu sehen (c). (d) zeigt den Zusammenhang der Probenorientierung während des Schnittprozesses, um später korrespondierende OCT-B-Scans in den OCT-Volumen zu finden. Auf dem HE-Schnitt ist der schwarze Punkt zur Orientierungskontrolle mit einem rosa Pfeil markiert.

Bereich aus dem die Schnitte angefertigt wurden, wurde von dem 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 Schnitthanleitung. Anhand der sichtbaren Gewebekanten konnten genaue Angaben gemacht werden, wie weit eine Probe geschnitten werden muss, bis der Aufnahmebereich des Callisto-OCT-Systems erreicht wurde oder wo die zehn Schnitte auf der Probe gemacht werden mussten. Solch eine Schnitthanleitung wurde individuell für jede Probe erstellt (siehe Abb. 4.6). Die Schnitthanleitung war notwendig, da die Probe eingebettet in Paraffin nur schwer zu sehen ist. In der Regel ist diese Präzision für die Erstellung eines Schnittes nicht notwendig, da im normalen klinischen Ablauf nur ein zentraler Schnitt pro Probe (z. B. Sicherung der Diagnose) angefertigt wird. Da für diese Arbeit jedoch so viel Information pro Probe, wie möglich, extrahiert werden sollte wurde der Schnittprozess auf Basis der Schnitthanleitung eingeführt. Nach dem Schnitt wurden die Proben mit HE-Färbung eingefärbt. Für die ersten Einbettungsvarianten wurde die Orientierung des Histologischen Schnittes aufwendig mitverfolgt und die rechte Seite des HE-Schnittes wurde mit einem schwarzen Punkt markiert (siehe Abb. 4.5 (d)). Dieser Vorgang war für die finale Version der Einbettung nicht mehr notwendig, wurde jedoch als zusätzliche Kontrollinstanz weiter fortgeführt.

Cutting Instruction for P4-SP18	
Distance to Cut	Comment
40 x 50µm	Starting Offset-Scrap
5 x 2µm	A1
5 x 2µm	B1
8 x 10 µm	Spacing-Scrap
5 x 2µm	A2
5 x 2µm	B2
8 x 10 µm	Spacing-Scrap
5 x 2µm	A3
5 x 2µm	B3

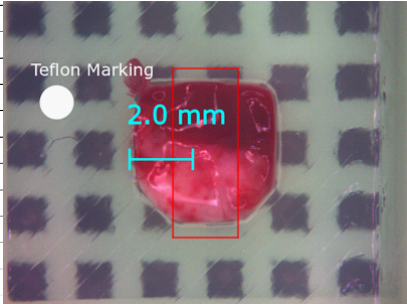


Abb. 4.6: Ausschnitt einer Schnitthanleitung für eine Probe. Der initiale Versatz (türkis) wurde weggeschnitten, um innerhalb des Aufnahmebereiches des Callisto-Systems zu sein (rotes Viereck). Der A-Schnitt wurde histologisch eingefärbt, während der B-Schnitt ungefärbt blieb. Dieser diente als Absicherung, falls eine Probe nochmals mit einer anderen Färbemethode nachgefärbt werden musste. Die vollständige Schnitthanleitung befindet sich im Anhang B

4.5 Annotation der histologischen Schnittbilder

Für eine Gewebeklassifikation auf Basis der OCT-Daten war es notwendig, die histologischen Schnitte neuropathologisch zu analysieren und zu annotieren. Die Annotation bildet die Basis für die spätere Gewebeklassifikation. Aus diesem Grund war es das Ziel, die Annotation sehr detailliert durchzuführen. Für diesen Schritt wurden alle HE-Schnitte zunächst mit Hilfe eines Mikroskops digitalisiert. Es wurde sich für eine pixelweise Annotation der HE-Bilder entschieden. Dieses Vorgehen erlaubte es die Komplexität der Gewebeproben besser abzubilden. Alternativ hätte auch eine instanzbasierte Annotation (eine Gewebezuordnung pro Probe) angewendet werden können, wie sie bereits von anderen Gruppen verwendet wurde [Kut u. a., 2015; Lenz u. a., 2018; Yashin u. a., 2019b]. Jedoch ist die pixelweise Annotation deutlich flexibler für die spätere Klassifikation. Bei der pixelweisen Annotation ist es möglich, die Lage unterschiedlicher Gewebebestandteile zu berücksichtigen. Im einfachsten Fall entscheidet bereits die limitierte Eindringtiefe, ob überhaupt gewisse Bereiche der Probe für das OCT-System sichtbar sind. Die zu annotierenden Gewebearten wurden zusammen mit der Neuropathologie erarbeitet. Sie wurden so konzipiert, dass möglichst viele unterschiedliche Fragestellungen bearbeitet werden konnten. Aus diesem Grund unterschied die Annotation zunächst das Grundgewebe, also weiße oder graue Masse. Die Tumorfiltration wurde in vier Stufen eingeteilt: 0 %, 0 % bis 30 %, 30 % bis 60 % und >60 %. Zusätzlich wurden weitere Pathologien mit in die Annotation aufgenommen, wie zum Beispiel Nekrose, Ödeme oder Einblutungen. Die Abb. 4.7 zeigt alle möglichen Gewebearten, die annotiert werden konnten.

Für die Annotation wurde ein für die digitalisierten Bilder zugeschnittenes Programm angefertigt, was die pixelweise Annotation für die Neuropathologie so einfach wie möglich halten sollte (siehe Abb. 4.8). Das Programm wurde so konzipiert, dass die Daten als Batch geladen und direkt bearbeitet werden konnten. Für die Bearbeitung der Bilder musste sich der Neuropathologe nur um die Annotation der Bilder kümmern. Das Speichern und richtige Ablegen der Annotationen lief voll automatisch über das Programm. Durch die erleichterte Benutzung wurde der Aufwand auf neuropathologischer Seite klein gehalten, wodurch wiederum die Akzeptanz und Motivation die Annotation schnell durchzuführen hoch gehalten wurde.

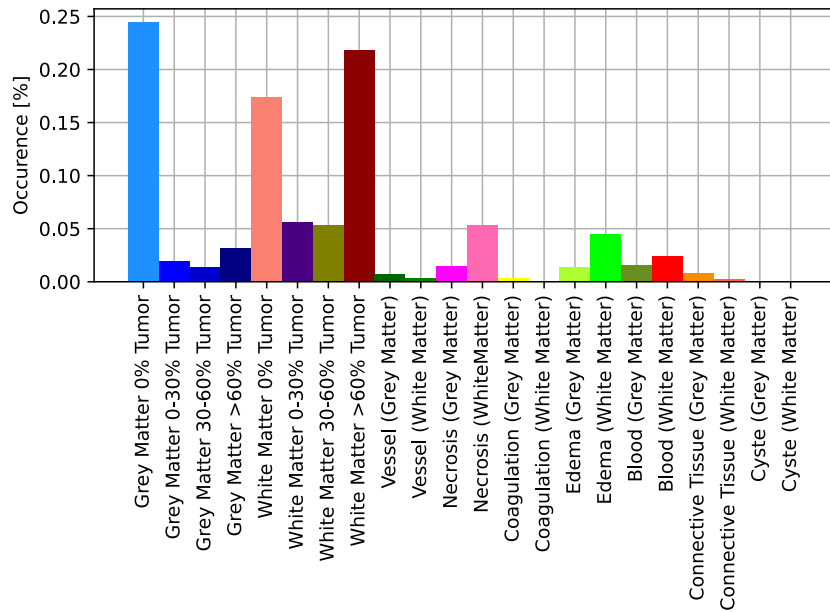


Abb. 4.7: Übersicht über die verwendeten Gewebetypen für die Annotation der HE-Schnittbilder und deren Anteil im Verhältnis zu allen annotierten Pixeln. Es waren nicht alle eingeführten Gewebetypen in den Proben vorhanden.

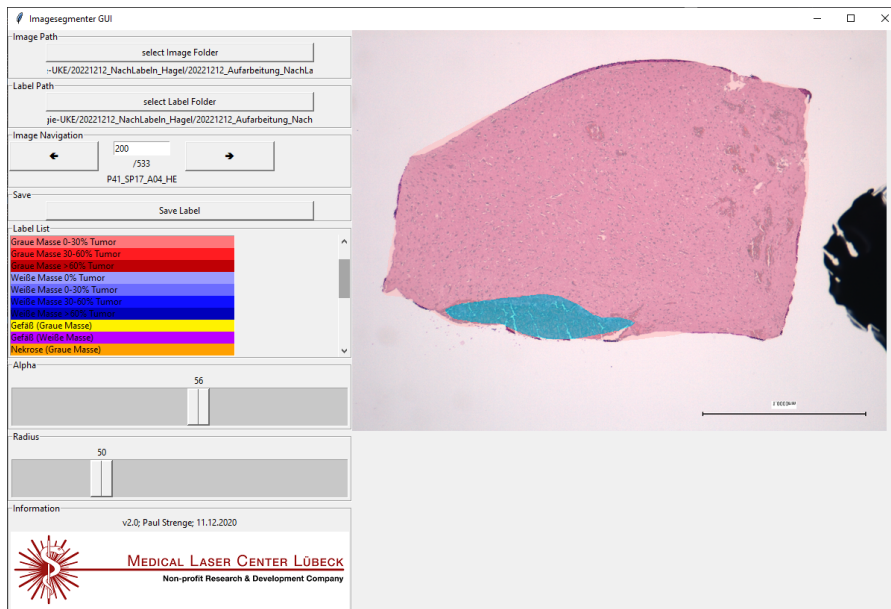


Abb. 4.8: Übersicht über das Programm, um die histologischen Bilder zu annotieren.

Kapitel 5

Registrierung von OCT-Daten und histologischen Schnittbildern

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 5.1. Im Folgenden wird vorgestellt, wie die Registrierung zwischen den histologischen Bildern und den OCT-Daten hergestellt wurde. Durch eine Registrierung der Daten konnte ein Ex-vivo-Datensatz für die Klassifikation von menschlichem Gehirngewebe auf Basis von OCT-Daten erstellt werden [Streng u. a., 2022b]. 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. Da die Oberflächenposition und die Form der Proben die Grundlage für die weiteren Verarbeitungsschritte bilden, beginnt das Kapitel mit der Betrachtung von unterschiedlichen Methoden, welche genutzt werden können, um die Oberfläche aus OCT-B-Scans zu extrahieren.

5.1 Bestimmung der Oberflächenposition von OCT-B-Scans

Die Erzeugung der topologischen Informationen aus den OCT-Volumen kann mit verschiedenen Methoden erreicht werden. Es wurden drei Ansätze ausgewählt. Die Oberflächenposition korreliert in der Regel mit der Kante zwischen dem Gewebe und der Luft. Aus diesem Grund lag die Verwendung eines Kantenfilters, sowie eines graphenbasierten Wegesuche entlang der Kante, nahe. Um besser mit Bildartefakten umzugehen,

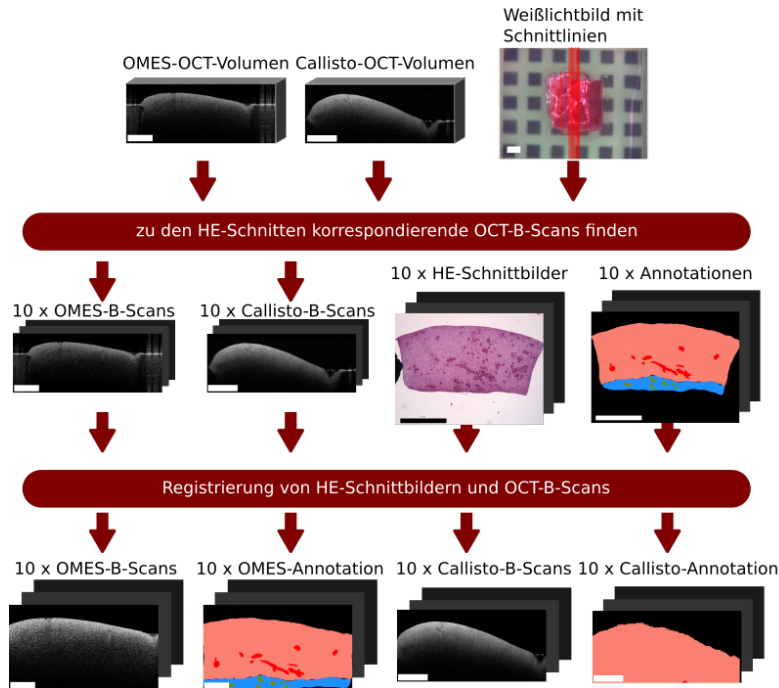


Abb. 5.1: Überblick über die zur Verfügung stehenden Daten und die Prozesse für die Registrierung der OCT-Daten mit den histologischen Daten. Das Rechteck in der linken Ecke jedes Bildes hat die Länge von 1 mm. Entnommen aus [Strengue u. a., 2022b].

wurde ein Deep-Learning-Ansatz basierend auf einem U-Net verwendet. Im Folgenden werden die unterschiedlichen Ansätze beschrieben und miteinander verglichen.

5.1.1 Kantenfilter

Der einfachste Ansatz zur Detektion der Oberfläche besteht aus einer Kombination von einem Gauß-Filter und einem vertikalen Sobel-Filter \mathbf{S}_z (siehe Abb. 5.2). Der Gauß-Filter hat hierbei die Aufgabe das Bild zu glätten, wodurch Unregelmäßigkeiten an der Kante reduziert werden sollen. Mit Hilfe des Sobel-Filters wurde die eigentliche Kantenposition bestimmt.

$$\mathbf{S}_z = \begin{bmatrix} 1 & 2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{bmatrix} \quad (5.1)$$

Der maximale Kantenwert pro OCT-A-Scan bestimmte die Lage der Oberfläche. Vor der Anwendung der Filter wurde der Kontrast des OCT-B-Scans angepasst [Kraus,

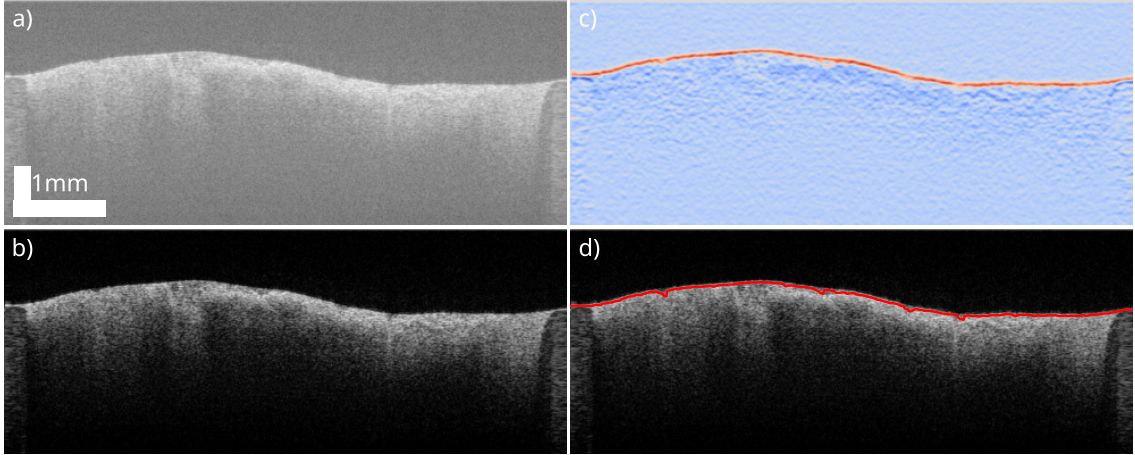


Abb. 5.2: Vergleich des Bildkontrastes von einem OCT-B-Scan vor (a) und nach (b) der Kontrastanpassung nach Gleichung 5.2. Anwendung des Sobel-Filters auf einen OCT-B-Scan des OMES-Systems zur Bestimmung der Oberfläche (b). Anhand der Kantenposition (c) wurde die Oberfläche des Gewebes in dem OCT-B-Scan ermittelt (d).

2017]. Hierzu wurde zunächst die Median-Intensität des B-Scans ermittelt I_m . I_m wurde anhand eines Histogramms mit 128 Klassen bestimmt. I_m ist die Intensität, an der das Histogramm sein Maximum besitzt. Da ein OCT-B-Scan in der Regel aus mehrheitlich Hintergrundpixeln besteht, bildet I_m das Rauschlevel ab. Dieser Umstand ermöglichte eine Kontrastanpassung für Intensitäten $I(x, y)$ oberhalb des Rauschlevels, während Intensitäten unterhalb des Rauschlevels auf 0 gesetzt wurden:

$$I(x, y) = \begin{cases} \frac{I(x, y) - I_m}{\max(I) - I_m}, & \text{wenn } I(x, y) > I_m \\ 0, & \text{sonst} \end{cases} \quad (5.2)$$

Abb. 5.2 zeigt das Ergebnis der Anwendung des Kantenfilters und zuvor angewendeter Kontrastanpassung.

5.1.2 Graphensuche

Der Ansatz mit dem Kantenfilter ist schnell und einfach umzusetzen, jedoch berücksichtigt dieser Ansatz nicht die zusammenhängende Struktur der Oberfläche. Durch die separate Betrachtung der A-Scans geht die Oberflächenposition der benachbarten A-Scans nicht mit in das Ergebnis mit ein. Aus diesem Grund wurde eine Oberflächenerkennung auf Basis einer Kostenminimierung verwendet (siehe Abb. 5.3) [Duan u. a., 2012]. Zunächst wurde der OCT-B-Scan wieder mit Hilfe der Kontrastanpassung vorverarbeitet. Durch die Anwendung des folgenden Filterkerns $[-1, 0, 0, 0, 0, 2, 0, 0, 0, -1]$

wurde die zweite Ableitung eines A-Scans bestimmt. Zuvor wurde ein B-Scan mit einem Gauß-Filter geglättet. Anschließend wurde das entstandene Bild spaltenweise normiert. Anhand dieses Bildes $d(i, j)$ wurden Pixel bestimmt, die potentiell zu einer Oberfläche gehören könnten. Hierzu wurden die Pixel wie folgt zugeordnet:

$$c(i, j) = \begin{cases} 2, & \text{wenn } d(i, j) < 0,5 \\ 1 - d(i, j), & \text{wenn } d(i, j) > 0,5 \end{cases} \quad (5.3)$$

Auf Basis von $c(i, j)$ wurde eine Kostenmatrix gebildet, auf deren Basis eine graphenbasierte Wegesuche durchgeführt wurde, welche sich entlang des Pfades mit den geringsten Kosten entlang bewegt. Im Idealfall entspricht dieser Weg der Oberfläche des Gewebes. Zur Erstellung der Kostenmatrix $\text{cost}(i, j)$ wurden für jeden A-Scan folgende Berechnung durchgeführt:

$$\text{cost}(i, j) = \begin{cases} c(i, j) & i = 0, 0 \leq j < N_j \\ \min_{-1 \leq n \leq j+1} \text{cost}(i-1, n) + \sqrt{|n-j|+1} \cdot c(i, j) & 0 < i < N_i, 0 \leq j < N_j \\ \infty & \text{sonst} \end{cases} \quad (5.4)$$

Hierbei steht N_j für die Anzahl der Pixel in axialer Richtung und N_i die Pixel in lateraler Richtung. Anschließend wurde für jede Spalte der Kostenmatrix das Pixel bestimmt, welches die geringsten Kosten aufwies. Der Algorithmus läuft von links nach rechts durch die Kostenmatrix. Für eine robustere Bestimmung der Oberfläche wurde die Kostenmatrix nochmal von rechts nach links durchlaufen. Der Mittelwert aus den bestimmten Pixelpositionen bildete die Oberfläche des Gewebes.

5.1.3 U-Net

Der komplexeste Ansatz zur Bestimmung der Oberflächenposition bestand aus der Verwendung eines U-Net. Das U-Net ist ein neuronales Netzwerk, welches von Ronneberger u. a., 2015 eingeführt wurde [Ronneberger u. a., 2015]. Das U-Net wird für die semantische Segmentierung von Bildern verwendet. Abbildung 5.4 zeigt den generellen Aufbau des U-Nets. Es besteht aus einem Pfad, der die Bildinformation in mehreren Stufen runterskaliert (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 Komprimierungsstufen für die Segmentierung zu berücksichtigen.

Der Komprimierungspfad besteht aus vier Faltungsböcken. Jeder Faltungsblock besteht aus zwei Faltungsschichten. Die Faltungen wurden hierbei ohne Padding durchgeführt und besaßen eine Kernelgröße von $3 \text{ Pixel} \times 3 \text{ Pixel}$. Das Ergebnis der Faltungsschichten wird am Ende mit Hilfe einer Max-Pooling-Schicht runterskaliert. Die

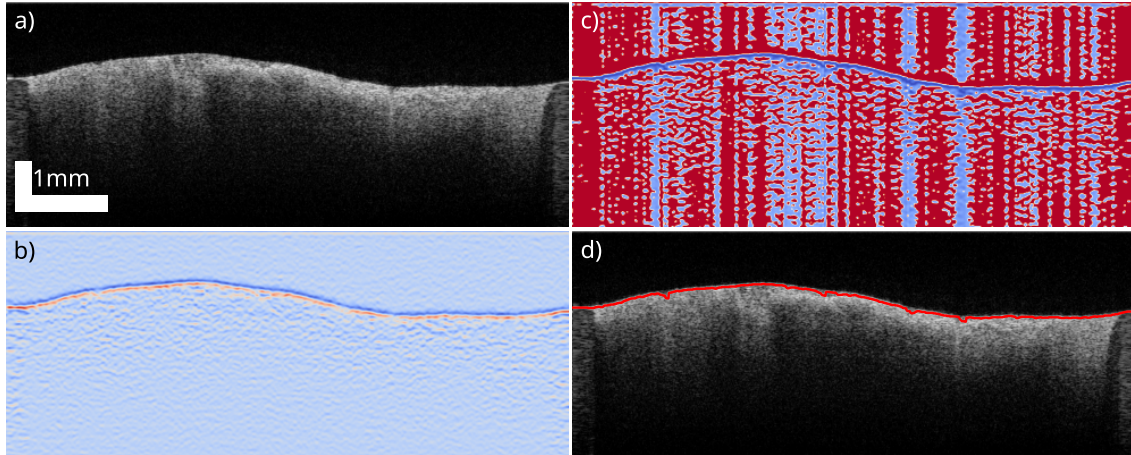


Abb. 5.3: Anwendung der minimalen Wegesuche auf einen OCT-B-Scan zur Bestimmung der Oberflächenposition (a). (b) zeigt die Anwendung des Filterkerns zur Bestimmung der zweiten Ableitung entlang der Tiefenachse. Anhand von (b) wurde die Kostenmatrix $c(i, j)$ (c), anhand welcher die Oberfläche des Gewebes in dem OCT-B-Scan ermittelt (d).

Größe des Pooling-Fensters war $2 \text{ Pixel} \times 2 \text{ Pixel}$ mit einem Stride-Wert von zwei. Die Anzahl der Filter wird mit jeder Schicht des Encoder-Pfades verdoppelt. Für den ersten Faltungsblock ist die Anzahl der Filter 64. Der Decoder-Pfad ist komplementär zum Komprimierungspfad aufgebaut und besteht aus vier inversen Faltungsböcken. Bei einem inversen Faltungsböck wird zunächst die Information hochskaliert. Hierzu wird die Information aus der vorhergehenden Faltungsschicht mit dem Faltungsergebnis des Faltungsböcks der selben Stufe verbunden. Diese Information wird dann mit zwei Faltungsschichten weiterverarbeitet, bevor die Information wieder hochskaliert wird. Hierbei halbiert sich die Anzahl der Filter pro Faltungsschicht. Das Ergebnis der Rückprojektion ist ein Bild, welches durch die Anwendung einer Sigmoid-Funktion die Zugehörigkeitswahrscheinlichkeiten zum Vordergrund (hier Gewebe) enthält. Mit Hilfe eines Grenzwertes wurden binäre Masken erzeugt.

Für das Training des Netzwerkes wurden 1700 OCT-B-Scans von jedem OCT-System zufällig aus 80 OCT-Volumen extrahiert. Die OCT-B-Scans wurden manuell annotiert, wobei die Gewebeinformationen mit 1 und der Hintergrund mit 0 gekennzeichnet wurden. Da die OCT-B-Scans unterschiedliche Größen besaßen, wurden sie auf eine einheitliche Größe vergrößert. Die Zielgröße war $516 \text{ Pixel} \times 1300 \text{ Pixel}$ und wurde mit Hilfe eines Mirror-Padding erreicht. Aufgrund der Architektur des U-Nets werden die Eingangsdaten bei der Dekodierung nicht auf die Originalgröße zurück skaliert. Aus diesem Grund wurde die Eingangsgröße berechnet, welche notwendig war, um am Ende

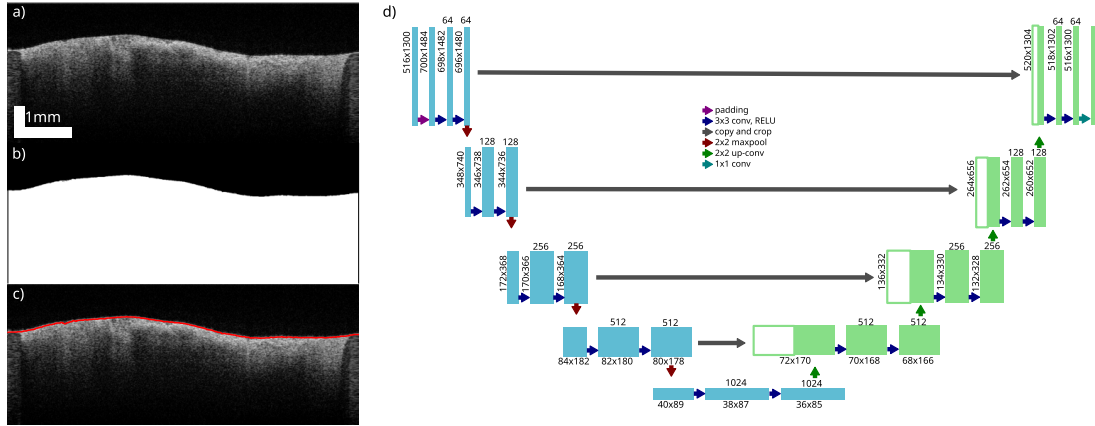


Abb. 5.4: Anwendung des U-Nets auf einen OCT-B-Scan zur Bestimmung der Oberflächenposition (a). (b) zeigt die generierte Maske anhand von (a) und die extrahierte Oberfläche (c). Die Architektur des U-Nets (d).

wieder die Größe $516 \text{ Pixel} \times 1300 \text{ Pixel}$ zu erhalten. Die notwendige Eingangsgröße k_{in} kann anhand der U-Net-Architektur berechnet werden:

$$k_{\text{in}} = 2m \left(2c \cdot k_{\text{out}} \sum_{i=0}^{m-1} 0,5^i + 2c \right) \quad (5.5)$$

m ist hierbei die Anzahl an Max-Pooling-Schichten im Encoder-Pfad und c die Anzahl Faltungsschichten ohne Padding pro Faltungsblock. Diese Gleichung wurde aus der oben beschriebenen U-Net-Architektur abgeleitet, eine generalisierte Form ist in Venhuizen u. a., 2017 aufgeführt. Aus der Architektur ließ sich auch eine Gleichung ermitteln, die genutzt werden kann um zu testen, ob eine gewünschte Größe von dem Netzwerk ausgehen werden kann:

$$\text{mod}([k_{\text{out}} - m], m)^c \neq 0 \quad (5.6)$$

Die berechnete Eingangsgröße k_{in} mit Gleichung 5.5 ist $700 \text{ Pixel} \times 1484 \text{ Pixel}$ und wurde durch Mirror-Padding erreicht.

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 1×10^{-6} . Die Minimierungsfunktion \mathcal{L} ist eine Kombination aus Kreuzentropie (engl. cross entropy) \mathcal{L}_{ce} und die Dice-Minimierungsfunktion \mathcal{L}_d [Milletari u. a., 2016; Taghanaki u. a., 2019]. Dieses Vorgehen kombiniert die Vorteile der bei-

den 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 sie pro Pixel berechnet wird, ist von einer lokalen Minimierungsfunktion zu sprechen, während die Dice-Minimierungsfunktion ein globales Maß repräsentiert. Die Minimierungsfunktion wurde folgendermaßen berechnet:

$$\mathcal{L} = \mathcal{L}_d + \frac{1}{N} \sum_{i=0}^N \mathcal{L}_{ce}(i) \quad (5.7)$$

$$\mathcal{L}_{ce}(i) = -[p(i)\log(p'(i)) + (1 - p(i)) \cdot \log(1 - p'(i))] \quad (5.8)$$

$$\mathcal{L}_d = 1 - \frac{2 \sum_{i=0}^N p(i)p'(i)}{\sum_{i=0}^N p(i) + \sum_{i=0}^N p'(i)} \quad (5.9)$$

$p(i)$ ist die binäre Zugehörigkeitswahrscheinlichkeit zur Gewebeklasse und $p'(i)$ ist die ermittelte Zugehörigkeitswahrscheinlichkeit zum Gewebe durch das U-Net und nimmt Werte zwischen 0 und 1 an. N beschreibt die Gesamtanzahl der Pixel pro Maske und i der aktuell betrachtete Pixel innerhalb der Maske.

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 D , welcher genutzt werden kann, um die Übereinstimmung von semantischen Masken zu messen [Dice, 1945].

$$D = \frac{2TP}{2TP + FP + FN} \quad (5.10)$$

TP sind die richtig-positiven, FP die falsch-positiven und FN die falsch-negativen Zuordnungen. Für das U-Net wurde ein Dice-Koeffizient von 0,9970 auf dem Testdatensatz für die Segmentierung von Gewebeinformationen aus OCT-B-Scans erreicht.

5.1.4 Vergleich der Methoden

Der folgende Vergleich der drei vorgestellten Methoden soll die beste Methode finden, um die Oberflächenposition in den OCT-B-Scans zu detektieren, um das Gewebe vom Hintergrund zu trennen. Für den Vergleich wurde der Testdatensatz, welcher bereits für das U-Net genutzt wurde, verwendet. Für jeden OCT-B-Scan aus dem Testdatensatz wurde die Oberfläche mit jeder der drei Methoden bestimmt. Für jeden Punkt $z(x)$ der ermittelten Oberfläche wurde der absolute Fehler $e(x)$ zum jeweiligen Punkt $z_t(x)$ der Zieloberfläche bestimmt (siehe Abb. 5.5).

$$e(x) = |z(x) - z_t(x)| \quad (5.11)$$

Um die Gesamtperformance jedes Algorithmus zu bewerten, wurde die Verteilung der absoluten Fehler bestimmt (siehe Abb.5.5 (c)). Es ist deutlich zu sehen, dass die Performance des Oberflächendetektionsalgorithmus auf Basis der Graphensuche schlechter ist als bei den anderen beiden Methoden. Ein Punkt für die schlechtere Performance sind die in den Callisto-B-Scans auftretenden, Linien-Artefakte. Diese führen zu Kanten, die ebenfalls die Methode, basierend auf dem Sobel-Filter, zu einer Fehlidentifikation der Oberfläche bringen. Die Methode aus Abschnitt 5.1.2 geht davon aus, dass die Oberfläche des Gewebes graduelle Übergänge besitzt. Da die Agaroseform in einigen Fällen, aber nicht komplett gefüllt ist, konnten starke Sprünge entstehen, welche dazu führten, dass die gefundene Oberfläche entlang der Linien-Artefakte läuft (siehe Abb.5.5 (a)). Die Anwendung des Sobel-Filters ist robust gegen starke Sprünge der Oberfläche, da immer nur eine kleine Nachbarschaft an A-Scans betrachtet wird. Jedoch führen schwache Gewebekanten im Zusammenspiel mit Artefakten zu Fehlidentifikationen der Oberfläche, da die Artefakte eine stärkere Filterantwort hervorrufen. Die beste Methode in diesem Fall ist, die Oberflächenerkennung auf Basis des U-Nets, da sich das neuronale Netzwerk am besten auf die in diesem Datensatz aufgetretenen Probleme adaptieren konnte. Dies war aber nur möglich, da die Probleme bereits in dem Trainingsdatensatz vorhanden waren. Nach Abb. 5.5 (c) ist die Performance des Sobel-Filters in den meisten Fällen vergleichbar mit dem des U-Nets und aufgrund seiner Einfachheit, sollte der Sobel-Filter die erste Wahl sein, wenn es um die Erkennung der Geweboberfläche in OCT-B-Scans geht. Aufgrund der vielen Bildartefakte, gerade in den OCT-B-Scans des Callisto-Systems (z. B. Linien-Artefakte, verstärkte Reflexionsartefakte aufgrund der hohen NA), wird in den kommenden Kapitel, das hier vorgestellte U-Net verwendet, um die Gewebeinformation von dem Hintergrund zu trennen, um so die Oberflächenposition zu bestimmen. Der Grund hierfür ist, dass die kommenden Algorithmen stark auf eine genaue und robuste Extraktion der Positionen angewiesen sind, um zum Beispiel die histologische Information der HE-Schnitte auf korrespondierende OCT-B-Scans zu übertragen.

5.2 Korrespondenzbestimmung zwischen OCT-B-Scans und HE-Schnitten

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 Gewebeinformation zeigen, wie die HE-Schnitte. Während der histologischen Aufarbeitung wurden die HE-Schnitte anhand der Schnittanleitung aus Abschnitt 4.4 angefertigt. Dieser Umstand führt dazu, dass Positionierun-

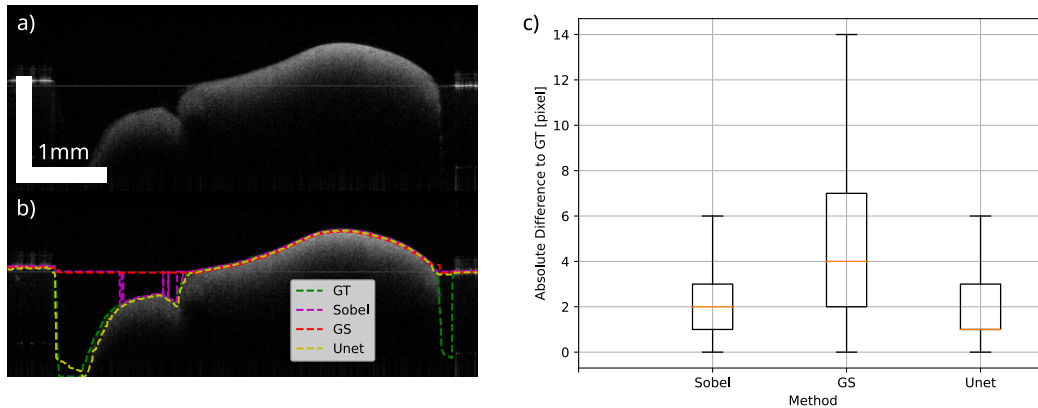


Abb. 5.5: Vergleich der drei Methoden (GT = Grundwahrheit, Sobel = Methode aus Abschnitt 5.1.1, GS = Methode aus Kapitel 5.1.2, Unet = Methode aus Abschnitt 5.1.3) zur Bestimmung der B-Scan-Oberfläche anhand eines B-Scans des Callisto-Systems. (a) zeigt den OCT-B-Scan und (b) die überlagerten Ergebnisse der unterschiedlichen Methoden. (c) Die Verteilung der bestimmten $e(x)$ für jede der drei Methoden.

gen 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 dem 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 Scan-Feldes 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 Abb. 5.6). Die Landmarken des Weißlichtbildes bildeten hierbei die Eckpunkte des Scan-Feldes \mathbf{P}_1 und die Landmarken des Callisto-Volumens bildeten die oberen Eckpunkte des Volumens $\mathbf{P}_{callisto}$ (siehe Abb. 5.6). Die affine Transformation \mathbf{T}_1 , die die Transformation zwischen \mathbf{P}_2 und $\mathbf{P}_{callisto}$ beschreibt ist wie folgt definiert:

$$\mathbf{P}_2 = \mathbf{T}_1 \mathbf{P}_1 = \begin{bmatrix} A_{11} & A_{12} & A_{13} \\ A_{21} & A_{22} & A_{23} \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \mathbf{P}_1 \quad (5.12)$$

\mathbf{P}_1 und \mathbf{P}_2 repräsentieren Punktwolken mit N Eckpunkten und den jeweiligen Koordinaten $(x_{i,n}, y_{i,n}, 1)^T$. Zur Bestimmung der einzelnen Komponenten von \mathbf{T}_1 wurden die x_2 und die y_2 Komponente von \mathbf{P}_2 getrennt. Für die x-Komponente ergibt sich aus Gleichung 5.12 folgende Gleichung:

$$x_{2,n} = \begin{bmatrix} A_{11} & A_{12} & A_{13} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_{1,n} \\ y_{1,n} \\ 1 \end{bmatrix} = A_{11}x_{1,n} + A_{12}y_{1,n} + A_{13} \quad (5.13)$$

Gleichung 5.13 ermöglicht es mit Hilfe eines Least-Squares-Ansatzes die einzelnen Komponenten von \mathbf{T}_1 zu ermitteln [Guo, 2012]. Hierbei minimiert der Ansatz den Fehler der Transformation $E(A_{11}, A_{12}, A_{13})$, welcher die Summe der quadrierten Differenzen zwischen der transformierten x-Komponente und der Ziel x-Komponente $x_{2,n}$ repräsentiert.

$$E(A_{11}, A_{12}, A_{13}) = \sum_{n=1}^N (x_{2,n} - (A_{11}x_{1,n} + A_{12}y_{1,n} + A_{13}))^2 \quad (5.14)$$

Nachdem die räumlichen Ableitungen auf Basis von Gleichung 5.14 bestimmt wurden, ergab sich das Gleichungssystem aus Gleichung 5.15. Durch Lösen des Gleichungssystems konnten die Parameter A_{11}, A_{12}, A_{13} ermittelt werden.

$$\begin{bmatrix} \sum_1^N x_{2,n}x_{1,n} \\ \sum_1^N x_{2,n}y_{1,n} \\ \sum_1^N x_{2,n} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sum_1^N x_{1,n}^2 & \sum_1^N x_{1,n}y_{1,n} & \sum_1^N x_{1,n} \\ \sum_1^N x_{1,n}y_{1,n} & \sum_1^N y_{1,n}^2 & \sum_1^N y_{1,n} \\ \sum_1^N x_{1,n} & \sum_1^N y_{1,n} & N \end{bmatrix} \begin{bmatrix} A_{11} \\ A_{12} \\ A_{13} \end{bmatrix} \quad (5.15)$$

Um die restlichen Parameter zur Vervollständigung der Transformationsmatrix \mathbf{T} zu bestimmen, wurden die Schritte der Gleichungen 5.13 bis Gleichung 5.15 durchgeführt, wodurch sich folgendes Gleichungssystem bildet:

$$\begin{bmatrix} \sum_1^N y_{2,n}x_{1,n} \\ \sum_1^N y_{2,n}y_{1,n} \\ \sum_1^N y_{2,n} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sum_1^N x_{1,n}^2 & \sum_1^N x_{1,n}y_{1,n} & \sum_1^N x_{1,n} \\ \sum_1^N x_{1,n}y_{1,n} & \sum_1^N y_{1,n}^2 & \sum_1^N y_{1,n} \\ \sum_1^N x_{1,n} & \sum_1^N y_{1,n} & N \end{bmatrix} \begin{bmatrix} A_{21} \\ A_{22} \\ A_{23} \end{bmatrix} \quad (5.16)$$

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 Abb. 5.8). Die Transformation T_2 ist affin. Eine Transformation zwischen den akquirierten OCT-Volumen der beiden OCT-Systeme

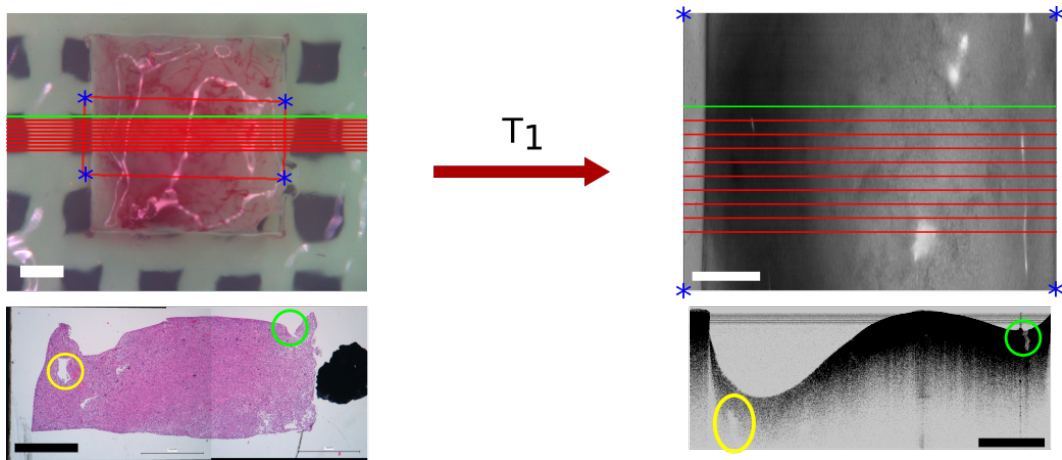


Abb. 5.6: Landmarkenbasierte Transformation der Schnittlinien von dem Weißlichtbild des Callisto-Systems auf das Callisto-OCT-Volumen mit Hilfe von \mathbf{T}_1 . Die blauen Sterne zeigen die verwendeten Landmarken. Die grüne Schnittlinie korrespondiert jeweils mit dem gezeigten histologischen Schnittbild 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.

war möglich, da beide Systeme die selbe 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 unterschiedliche Algorithmen getestet und verglichen. Die Aufstellung der unterschiedlichen Methoden und ihre Ergebnisse wurden in Kapitel 5.1 näher beschrieben. 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. Eine weitere Methode zur Reduzierung der Dimensionalität wäre die Berechnung des En-face-Bildes $I_{\text{En-face}}$ aus dem OCT-Volumen (siehe Gleichung 3.14). Diese Intensitätsprojektion ist von der Komplexität sehr einfach zu ermitteln, hat jedoch den Nachteil, dass die Intensität abhängig von der Aufnahmewellenlänge und des verwendeten Objektivs des jeweiligen OCT-Systems ist. Die topologische Information ist robuster gegenüber diesen Parametern und kann extrahiert werden, solange die Oberfläche innerhalb des Messfensters liegt (siehe Abb. 5.7). Ein weiteres Problem stellen Reflexionsartefakte dar, welche an stark reflektierenden Oberflächen entstehen können, wie zum Beispiel an Positionen wo sich Wasserakkumulationen befinden. Diese Artefakte variieren in ihrer Position und Intensität je nach OCT-System und können Registrierungsfehlern führen. Die Reflexionsartefakte sind in den topologischen Infor-

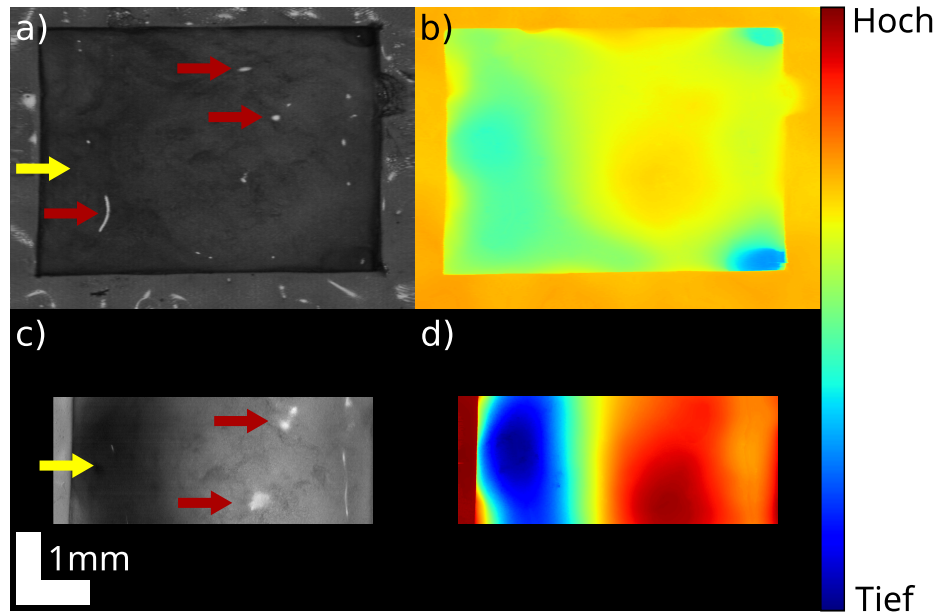


Abb. 5.7: Vergleich zwischen den En-face-Projektionen ((a) OMES-System, (c) Callisto-System) und den topologischen Informationen ((b) OMES-System, (d) Callisto-System), welche sich aus den OCT-Volumen extrahieren lassen. Die roten Pfeile zeigen Reflexionsartefakte und die gelben Pfeile zeigen Intensitätsunterschiede bedingt durch die Systemeigenschaften des jeweiligen OCT-Systems.

mationen nicht sichtbar, wenn die Oberflächenerkennung robust gegen diese Artefakte ist, was bei der Anwendung des U-Nets der Fall ist.

Die Höheninformationen wurden jeweils für die Volumen der beiden OCT-Systeme ermittelt (siehe Abb. 5.8). Um nun die Transformation T_2 zwischen diesen beiden Bildern zu bestimmen, wurde ein iteratives Verfahren gewählt, welches von Maes u. a., 1997 vorgestellt wurde [Maes u. a., 1997]. 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 [Maes u. a., 1997]. 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 geeig-

net ist. Die Mutual-Information bestimmt die Abhängigkeit univariater Verteilungen auf Basis der bivariaten Verteilung. Für den Fall das die Mutual-Information für den Vergleich von Bildern genutzt wird, werden die Verteilungen jeweils durch die normierten Histogramme der Einzelbilder und dem normierten bivariaten Histogramm aus den beiden Bildern ermittelt. Je mehr die Bilder miteinander korrelieren, sprich je abhängiger sie voneinander sind, desto höher ist der Wert für MI. Aus diesem Grund wurde das zu lösende Registrierungsproblem wie folgt definiert:

$$T_2 = \operatorname{argmax}(\operatorname{MI}(\mathbf{H}_{\mathbf{SD}}(x, y) \circ T_2, \mathbf{H}_{\mathbf{SS}}(x, y))) \quad (5.17)$$

Mit Hilfe der Registrierung soll die Transformation T_2 gefunden werden, welche MI zwischen der Höhenprojektion des OMES-OCTs $\mathbf{H}_{\mathbf{SS}}(x, y)$ und der transformierten Höhenprojektion des Callisto-OCTs $\mathbf{H}_{\mathbf{SD}}(x, y)$ maximiert. Die MI wurde dabei wie folgt bestimmt:

$$\operatorname{MI} = \sum_{\mathbf{H}_{\mathbf{SS}}(x, y)} \sum_{\mathbf{H}_{\mathbf{SD}}(x, y)} h_J(\mathbf{H}_{\mathbf{SD}}(x, y), \mathbf{H}_{\mathbf{SD}}(x, y)) \cdot \log_2 \left[\frac{h_J(\mathbf{H}_{\mathbf{SS}}(x, y), \mathbf{H}_{\mathbf{SD}}(x, y))}{h(\mathbf{H}_{\mathbf{SS}}(x, y))h(\mathbf{H}_{\mathbf{SD}}(x, y))} \right] \quad (5.18)$$

h_J beschreibt das normierte bivariate Histogramm der topologischen Werte aus dem OMES-System $\mathbf{H}_{\mathbf{SS}}(x, y)$ und der transformierten Höhenprojektion des Callisto-Systems $\mathbf{H}_{\mathbf{SD}}(x, y)$. h ist das jeweilige Histogramm aus den topologischen Werten der Einzelbilder. Da die Höhenprojektion des Callisto-Systems aufgrund des kleineren Aufnahmebereiches kleiner ist als das des OMES-Systems wurde nur der überlappende Teil für die Berechnung der MI berücksichtigt. Für die Optimierung wurde der Powell-Algorithmus genutzt [Maes u. a., 1997]. Da die Skalierung zwischen den Volumen bekannt war, wurden vor der Durchführung der Registrierung die Bilder anhand ihrer Pixelgrößen auf die gleiche Pixelgröße skaliert.

Um zu evaluieren, ob die Registrierung auf Basis der topologischen Informationen wirklich besser ist als die Registrierung auf den En-face-Bildern, wurde die Registrierung auf 164 Proben jeweils auf Basis der topologischen Bilder und der En-face-Bilder durchgeführt. Die Registrierung auf Basis der Höhenprojektionen erzielte ein Ergebnis von $\operatorname{MI} = 1,92 \pm 0,59$, während für die Registrierung auf Basis der En-face-Bilder $\operatorname{MI} = 0,37 \pm 0,25$ erreicht wurde. Daraus lässt sich ableiten, dass die Höheninformationen weitaus mehr Information bereitstellen, die die Korrelation zwischen den Bildern ermöglicht, da die Mutual-Information steigt, je höher die Korrelation zwischen den Bildern ist, beziehungsweise je ähnlicher die Intensitätsverteilungen zwischen den Bildern sind. Die topologischen Informationen sind besser für diese Art von Registrierung geeignet, da OCT-Daten vom Gehirn generell wenig Intensitätsinformationen bereitstellen, bzw. wenig Kontrast aufweisen, da sie in der Regel sehr homogen sind. Somit gibt es wenig Merkmale wie Gefäße, welche bei einer reinen intensitätsbasierten Registrierung helfen würden.

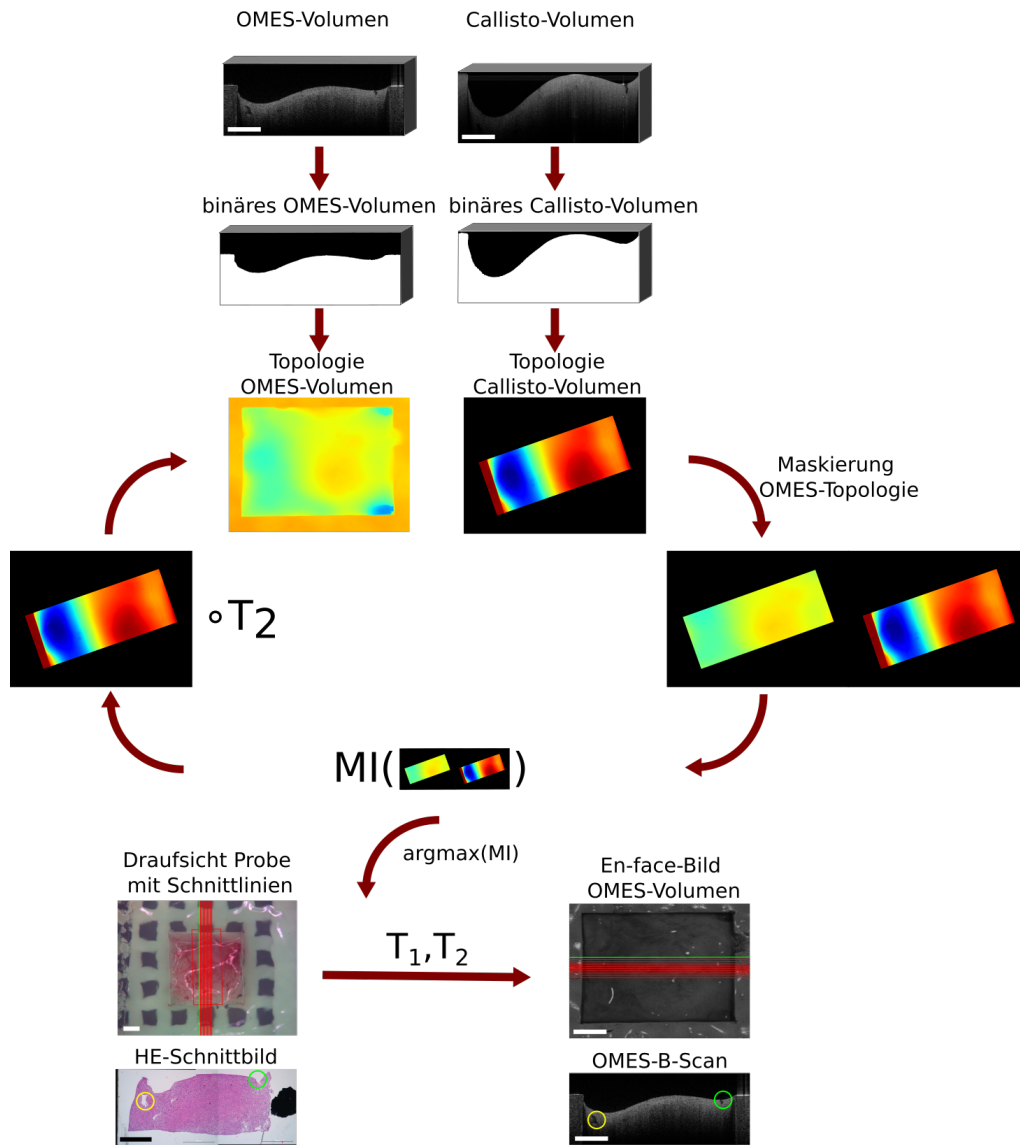


Abb. 5.8: Übersicht über die unterschiedlichen Methoden, um die Transformation T_2 zwischen zwei korrespondierenden OCT-Volumen zu ermitteln. Die Binarisierung der OCT-Daten wird in Abschnitt 5.1 näher beschrieben. Nachdem Gleichung 5.17 gelöst wurde, können T_1 und T_2 auf die Schnittlinien der Probe 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.

5.3 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 Abb. 5.9). 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. 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 (siehe Abb. 5.9). 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 [Goshtasby, 2012]. 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) einer Weiterentwicklung des Shape-Context (SC) [Ling u. a., 2007]. 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.

5.3.1 Shape-Context

Shape-Context-Merkmale wurden erstmals von Belongie u. a., 2000 vorgestellt [Belongie u. a., 2000; Belongie u. a., 2002]. Es handelt sich dabei um einen Ansatz, die Form einer binären Maske oder eines Objektes zu beschreiben. 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 Registrierungsaufgabe, wodurch die Komplexität verringert wird. Beim Shape-Context wird für jeden Punkt auf der Silhouette ein Merkmalsvektor definiert, der die relative Lage des jeweiligen Punktes zu allen anderen Punkten auf der Silhouette beschreibt (siehe Abb. 5.10). Eine Silhouette wurde definiert als $\mathbf{S} = \{p_1, \dots, p_N\}$ und besteht aus N Punkten $p_i \in \mathbb{R}^2$. Für jeden Punkt p_i wird nun ein Histogramm h_i bestimmt, welches den Shape-Context für den jeweiligen Punkt beschreibt (siehe Abb. 5.10 (c)).

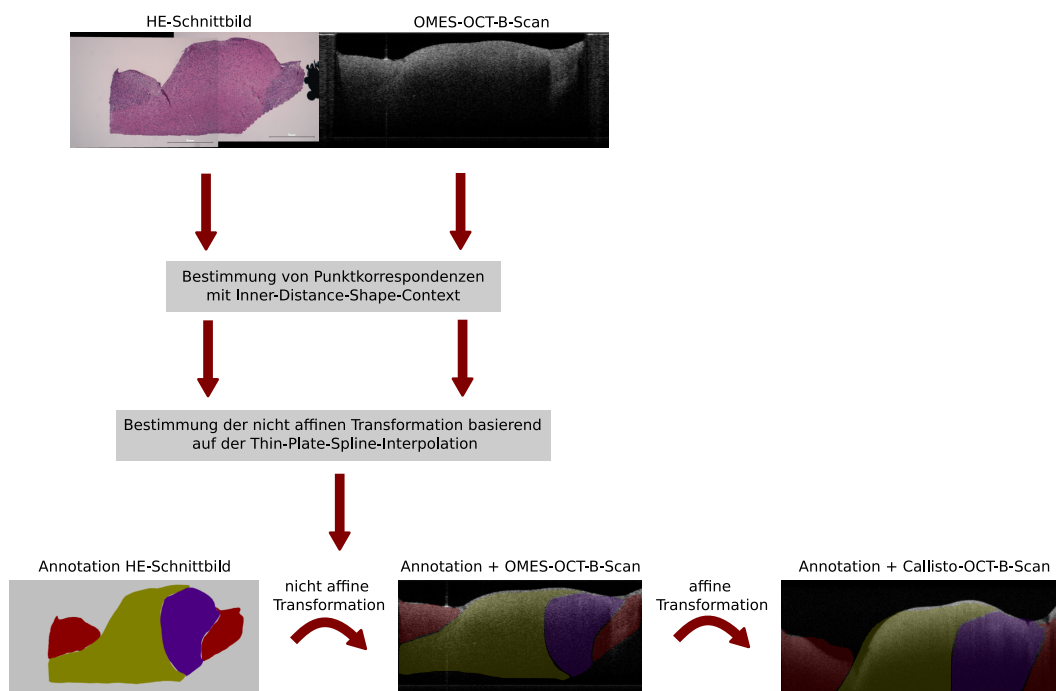


Abb. 5.9: Übersicht für die Transformation der Annotationen auf die korrespondierenden OCT-B-Scans der beiden OCT-Systeme.

$$h_i(k) = \# \{p_j \neq p_i : (p_j - p_i) \in \text{Klasse}(k)\} \quad (5.19)$$

Hierzu wird der Differenzvektor $d \in \mathbb{R}^2$ zwischen dem Punkt p_i zu allen anderen Punkten der Silhouette p_j bestimmt. Anhand des Vektors wurden die Länge r und der Winkel θ bestimmt.

$$r = \|\mathbf{d}\|^2 = \|p_i - p_j\|^2 \quad (5.20)$$

$$\theta = \tan \left(\frac{\mathbf{d}(y)}{\mathbf{d}(x)} \right) \quad (5.21)$$

r und θ bilden die Achsen des Histogramms h_i . Für r wurden fünf Klassen im Histogramm verwendet. Um sensitiver für Punkte zu sein, die näher an dem aktuellen Punkt p_i liegen, wurde die logarithmische Länge $\log(r)$ verwendet. Um $\log(r)$ invariant gegen Skalierungen zu machen, wurde $\log(r)$ auf die Medianlänge λ aller möglichen Punktpaare innerhalb der Silhouette S normiert. Die fünf Klassen wurden innerhalb der Grenzen 0.125λ bis 2λ definiert, wobei Werte außerhalb dieser Grenzen dem nächstgelegenen Bin zugeordnet wurden. θ wurde ebenfalls normiert, um eine Invarianz gegenüber Rotation zu bekommen. Aus diesem Grund wurde θ immer auf den Steigungswinkel der Tangente an p_i normiert (siehe Abb. 5.10 (b)). Die Tangente wurde anhand einer Geraden bestimmt, welche durch p_{i-3} bis p_{i+3} gelegt wurde. Für die Winkeleinteilung wurden zwölf Klassen verwendet in den Grenzen 0° bis 360° .

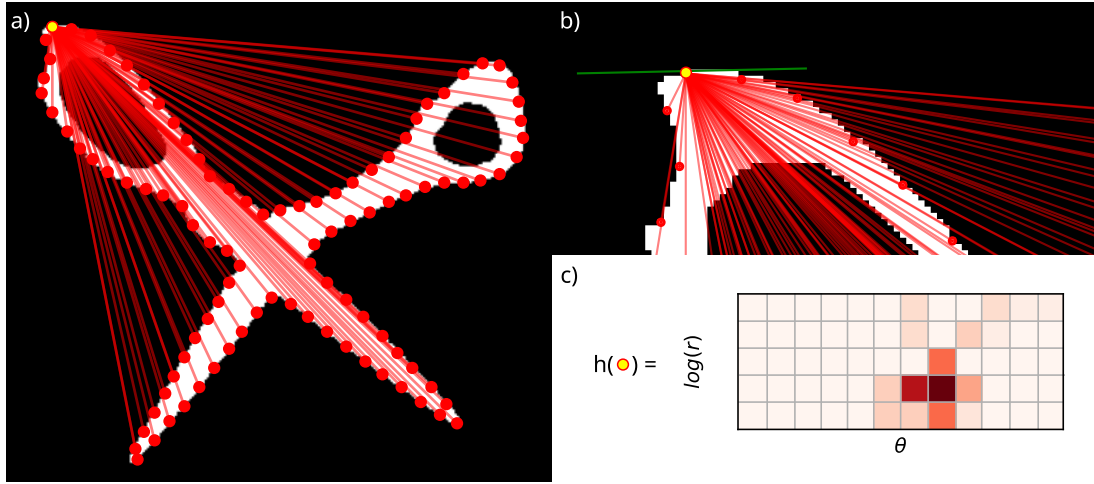


Abb. 5.10: Vektorbeziehungen zwischen einem Punkt und allen anderen Punkten auf einer Silhouette (a), aus welchen sich das SC-Histogramm bilden lässt (c). Detailansicht der Winkelbeziehung zwischen der Tangente (grün) und bestimmten Vektoren aus (a).

Werden nun die SC-Histogramme für die p_i und q_j von zwei Silhouetten S_1 und S_2 bestimmt, ist es möglich korrespondierende Punktpaare zu finden. Zur Bestimmung der Ähnlichkeit der Punktpaare werden die SC-Histogramme aller Punkte von S_1 mit den Histogrammen von S_2 anhand der χ^2 -Statistik verglichen.

$$C(p_i, q_j) = \frac{1}{2} \sum_{k=1}^K \frac{[h_i(k) - h_j(k)]^2}{h_i(k) + h_j(k)} \quad (5.22)$$

$C(p_i, q_j)$ bildet eine Kostenmatrix, welche die Ähnlichkeit möglicher Punktpaare enthält. Die Bestimmung der Punktpaare erfolgt über die Minimierung der Kosten über alle passenden Punktpaare. Hierzu wird die Zuordnung der Punkte π gesucht,

welche die Summe der Kosten $H(\pi)$ minimiert. Es handelt sich um eine bipartite Zuordnung, was bedeutet, dass jedem Punkt q_j nur ein Punkt p_i zugeordnet werden kann. Die Zuordnung kann mit Hilfe des Kuhn-Munkres-Algorithmus gelöst werden [Kuhn, 1955].

$$\pi = \operatorname{argmin}(H(\pi)) = \operatorname{argmin}\left(\sum_i C(p_i, q_j)\right) \quad (5.23)$$

5.3.2 Inner-Distance-Shape-Context

Der Shape-Context wurde von Ling u. a., 2007 erweitert [Ling u. a., 2007]. Anstelle der euklidischen Distanz zur Bestimmung der Entfernung der Punkte, wie in Gleichung 5.20 dargestellt, wird die innere Distanz verwendet. Aus diesem Grund wird diese Methode auch Inner-Distance-Shape-Context genannt. Abbildung 5.11 zeigt deutlich, dass die innere Distanz die eigentliche Positionierung zweier Punkte innerhalb einer Kontur besser beschreibt als die reine euklidische Distanz. Mit Hilfe der inneren Distanz 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.

Definiert ist die innere Distanz d als der kürzeste Weg zwischen zwei Punkten p_i und p_j innerhalb der Silhouette \mathbf{S} . Zur Bestimmung der inneren Distanz werden die Punkte von \mathbf{S} als Knoten eines Graphen angenommen. Eine Verbindung zwischen zwei Knoten erfolgt nur, wenn eine direkte Linie zwischen zwei Punkten p_i und p_j gezogen werden kann, die vollständig innerhalb von \mathbf{S} liegt. In diesem Fall bildet die euklidische Distanz das Gewicht zwischen den Knoten (siehe Gleichung 5.20). 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 [Cormen u. a., 2022]. Ling u. a., 2007 ersetzen die euklidische Distanz aus dem Shape-Context durch ermittelte innere Distanz. Da nun Punkte nicht mehr direkt miteinander verbunden sein müssen, ist die Bestimmung des Winkels θ aus der originalen Methode ebenfalls nicht mehr gültig und wird durch den sogenannten inneren Winkel θ' ersetzt. θ' ist der Winkel zwischen dem p_i und dem nächsten Punkt der auf dem kürzesten Weg zum Punkt q_j liegt. Die Normierung der inneren Distanz und des inneren Winkels erfolgt analog zu der Normierung beim Shape-Context. Die Berechnung der Kostenmatrix zur Bestimmung der korrespondierenden Punktepaare erfolgt wieder nach Gleichung 5.22. Das Finden der korrespondierenden Punktepaare erfolgte über die Verwendung des Viterbi-Algorithmus und Dynamic-Programming [Cormen u. a., 2022; Thayananthan u. a., 2003]. Dynamic-Programming konnte für die Zuordnung verwendet werden, da während der Bestimmung der Punktkorrespondenzen die Bedingung eingeführt wurde,

das die Reihenfolge der Punkte auf einer Silhouette beibehalten wird. Eine Zuordnung von Punkten über Kreuz ist somit ausgeschlossen.

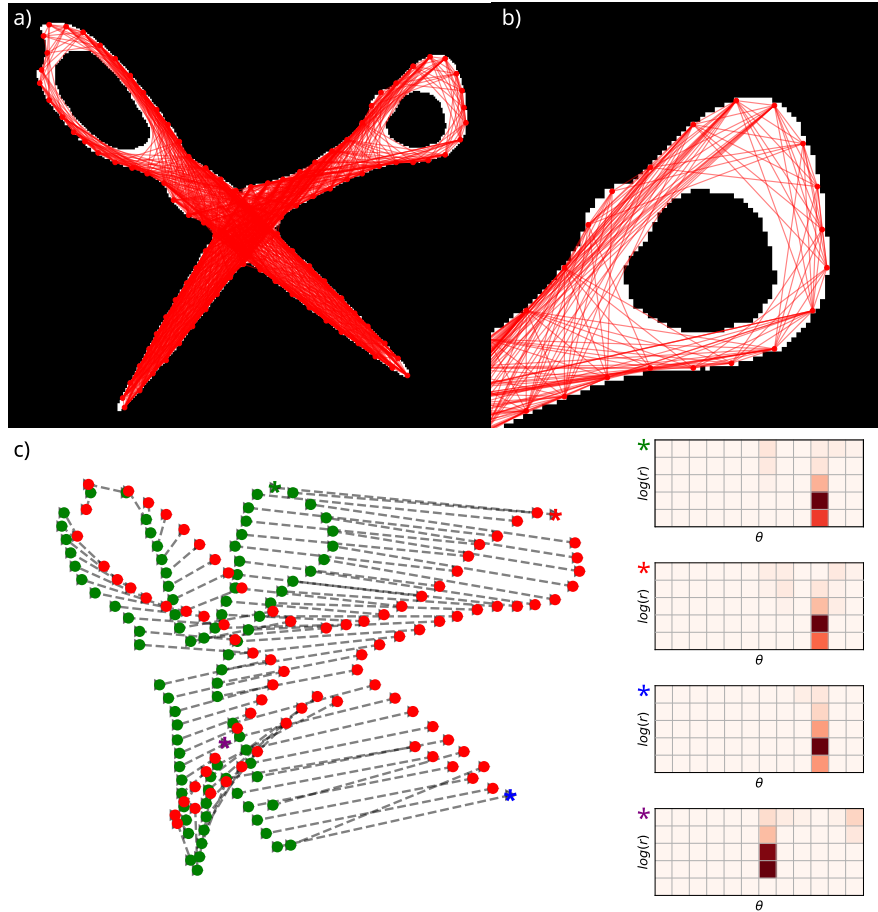


Abb. 5.11: Visualisierung der Punktebeziehungen zwischen allen Punkten einer Silhouette, basierend auf der inneren Distanz (a). (b) zeigt den Zusammenhang im Detail und den Unterschied zu dem normalen Shape-Context (siehe Abb. 5.10). Gefundene Punktepaare zwischen zwei Silhouetten, basierend auf dem IDSC (c). Drei ausgewählte Punkte und ihre bestimmten IDSC-Histogramme (* = rot, blau, lila) aus der roten Silhouette im Vergleich mit einem ausgewählten Punkt (* = grün).

5.3.3 Thin-Plate-Spline-Interpolation

Nachdem die Punktkorrespondenzen zwischen den beiden Silhouetten hergestellt wurden, kann eine Transformation \mathbf{T} bestimmt werden mit der Silhouetten zu einander registriert werden können. Da sich die Gewebeproben während der histologischen Verar-

beitung, zum Beispiel während des Entwässerns oder dem Schnittprozess, sich ungleichmäßig verformen können, ist eine affine Transformation nicht ausreichend. Aus diesem Grund wurde eine nicht-affine Transformation mit Hilfe einer Thin-Plate-Spline-Interpolation verwendet, um die Registrierung der HE-Schnittbilder auf die OCT-B-Scans zu ermöglichen. Die TPS-Interpolation wurde von Bookstein, 1989 eingeführt [Bookstein, 1989]. Bei der TPS-Transformation werden die pixelweisen Transformationen für die x - und y -Koordinaten anhand von Verschiebungsfeldern $\mathbf{f}_x(x, y) \in \mathbb{R}^{M \times N}$ und $\mathbf{f}_y(x, y) \in \mathbb{R}^{M \times N}$ getrennt betrachtet.

$$\mathbf{T}(x, y) = (\mathbf{f}_x(x, y), \mathbf{f}_y(x, y)) \quad (5.24)$$

Hierzu werden zunächst die Verschiebungen Δx und Δy anhand der korrespondierenden Punktepaare bestimmt. Mit Hilfe der TPS-Interpolation werden nun die fehlenden Werte des jeweiligen Verschiebungsfeldes interpoliert. Dazu wird die Biegeenergie I_f des Splines minimiert:

$$I_f = \int \int_{\mathbb{R}^2} \left(\frac{\delta^2 f}{\delta x^2} \right)^2 + 2 \left(\frac{\delta^2 f}{\delta x \delta y} \right)^2 + \left(\frac{\delta^2 f}{\delta y^2} \right)^2 dx dy \quad (5.25)$$

Die Verschiebung $f(x, y)$ wird dabei wie folgt definiert:

$$f(x, y) = a_1 + a_2 x + a_3 y + \sum_{i=1}^K w_i U(\|P_i - (x, y)\|) \quad (5.26)$$

Die Parameter a_{1-3} definieren hierbei eine Ebene, welche die generelle Lage aller K Stützstellen P_i am besten beschreibt. Der letzte Term beschreibt die Biegung des Splines in Abhängigkeit der Punkteentfernung zu einer Stützstelle und dem Biegeparameter w_i . Die Kernel-Funktion $U(r)$ wurde definiert als:

$$U(r) = r^2 \log(r^2) \quad (5.27)$$

Für die Bestimmung des Verschiebungsfeldes $f(x, y)$ ist es notwendig, die Parameter a_{1-3} und w_{1-K} zu ermitteln. Basierend auf Gleichung 5.26 lässt sich ein Gleichungssystem in Matrixform bilden, welches für die gesuchten Parameter gelöst werden kann:

$$\mathbf{L}(\mathbf{W} | a_1 a_2 a_3)^T = \mathbf{V} \quad (5.28)$$

\mathbf{W} beinhaltet vektorisiert die Gewichte w_i . $\mathbf{V} \in \mathbb{R}^{K+3}$ enthält die bestimmten Verschiebungen Δx oder Δy und sieht wie folgt aus:

$$\mathbf{V} = [v_1, v_2, \dots, v_K, 0, 0, 0]^T \quad (5.29)$$

Die Matrix $\mathbf{L} \in \mathbb{R}^{(K+3) \times (K+3)}$ besteht aus folgenden Submatrizen:

$$\mathbf{L} = \begin{bmatrix} \mathbf{K} & \mathbf{P} \\ \mathbf{P}^T & \mathbf{0} \end{bmatrix} \quad (5.30)$$

$\mathbf{K} \in \mathbb{R}^{K \times K}$ enthält die Informationen über die Entfernungen aller Stützstellen zueinander in Form der Kernel-Funktion:

$$\mathbf{K} = \begin{bmatrix} U(r_{11}) & U(r_{12}) & \dots \\ U(r_{21}) & U(r_{22}) & \dots \\ \dots & \dots & U(r_{KK}) \end{bmatrix}, \text{ mit } r_{i,j} = |\mathbf{p}_i - \mathbf{p}_j| \quad (5.31)$$

$\mathbf{p} \in \mathbb{R}^{K \times 3}$ enthält die Information der Positionen der Stützstellen:

$$\mathbf{P} = \begin{bmatrix} 1 & x_1 & y_1 \\ 1 & x_2 & y_2 \\ \dots & & \\ 1 & x_K & y_K \end{bmatrix} \quad (5.32)$$

Die fehlenden Positionen wurden dann mit einer Nullmatrix $\mathbf{0} \in \mathbb{R}^{3 \times 3}$ aufgefüllt. Das Gleichungssystem aus Gleichung 5.28 kann mit Hilfe einer LU-Dekomposition gelöst werden. Für die eigentliche Transformation werden die Verschiebungsfelder f_x und f_y auf die Punkte der ersten Silhouette addiert, um diese auf die zweite Silhouette zu transformieren.

Um die Flexibilität des Verschiebungsfeld zu regularisieren kann ein Regularisierungsparameter λ eingeführt werden [Wahba, 1990]. Für die Regularisierung wird \mathbf{K} mit $\mathbf{K} + \lambda \mathbf{I}$ ersetzt. Hierbei ist $\mathbf{I} \in \mathbb{R}^{K \times K}$ eine Identitätsmatrix. Je stärker die Regularisierung desto steifer ist die Verformung des Splines. Bei maximaler Regularisierung nimmt die Transformation mit TPS-Interpolation eine affine Form an.

5.3.4 Nicht-affine Transformation zwischen HE-Schnittbild und OCT-B-Scan

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 Abb. 5.9). Für die Extraktion der Silhouette aus den histologischen Bildern wurde das HE-Schnittbild binarisiert. 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 (siehe Abb. 5.12 (a)). 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 Gewebeproben. Da während der Erfassung der Gewebeproben mit Hilfe einer Mikroskopkamera nicht immer auf den Weißlichtabgleich geachtet wurde, besitzen einige der histologischen Bilder einen Blaustich, welcher stark vom üblichen Farbeindruck der HE-Schnittbilder abweicht (siehe Abbildung 5.12 (a)). Zur Extraktion der Silhouette aus den histologischen Daten wurde ein U-Net mit einer binären Ausgabe verwendet (siehe Abb. 5.12 (b)). Der Grund hierfür sind die Menge an Artefakten, welche bereits beschrieben wurden und durch ein neuronales Netzwerk besser segmentiert werden können. Für das Training wurden aus den rund 2000 zu Verfügung stehenden HE-Schnittbildern 20 ausgewählt, welche manuell annotiert wurden. Die histologischen Bilder besaßen eine Größe zwischen $2000 \text{ Pixel} \times 1500 \text{ Pixel}$ und $4000 \text{ Pixel} \times 2000 \text{ Pixel}$, je nach Ausmaß der histologischen Probe. Aufgrund dieser Größenunterschiede und zur Erweiterung der Trainingsdaten, wurden die Originalbilder in $500 \text{ Pixel} \times 500 \text{ Pixel}$ große Teilbilder zerlegt (siehe Abb. 5.12 (c)). Die Eingangsgrößen des Netzwerkes wurden wieder mit den Gleichungen 5.5 und 5.6 konfiguriert.

Für das Training wurde die generelle Netzwerkarchitektur leicht verändert. Um Overfitting zu vermeiden wurde die Anzahl an Filtern pro Schicht, im Vergleich zu dem U-Net aus Abschnitt 5.1.3, um den Faktor 32 verkleinert. Als weitere Maßnahmen wurden die Bilder zuvor augmentiert. Die Augmentierungen bestanden aus zufälligen Kontrastveränderungen und Rotationen. Als Minimierungsfunktion wurde die binäre Kreuzentropie aus Gleichung 5.8 verwendet. Für die Evaluation wurden die Daten in 75 % Trainingsdaten und 25 % Testdaten aufgeteilt. Das trainierte Netzwerk erreichte eine Genauigkeit von 98 % auf den Testdaten und 97 % auf dem Trainingsdatensatz. Um die Silhouette final für ein histologisches Bild zu erhalten, wurde das Bild mit dem U-Net binarisiert und anschließend wurde die längste Silhouette aus dem binarisierten Bild mit Hilfe des Algorithmus von Suzuki u. a., 1985 gefunden [Suzuki u. a., 1985].

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 Abb. 5.13 (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 Abb. 5.13 (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 5.13 (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. Bei der optischen Länge erfolgt eine Skalierung der axialen Pixelgröße Δz mit dem inversen Brechungsindex des Mediums durch welches das Licht läuft:

$$\Delta z_{\text{Medium}} = \Delta z \frac{n_{\text{Luft}}}{n_{\text{Medium}}} \quad (5.33)$$

Das bedeutet, dass sich die axiale Pixelgröße innerhalb der Gehirnproben aufgrund des Verhältnisses der refraktiven Indizes $n_{\text{Luft}} = 1$ und $n_{\text{Medium}} > 1$ 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. Der refraktive Index für Gehirn wurde mit 1,36 angenommen [Binding u. a., 2011; Gottschalk, 1992; Honda u. a., 2018; Müller u. a., 1995]. Es lässt sich somit ableiten, dass die Position des Endes der Agaroseform, abhängig von dem Verhältnis aus Pixeln in Luft und Gehirn ist. Da sich dieses Verhältnis über den gesamten B-Scan aufgrund der variierenden Gewebeerfläche 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 Gewebeerfläche $z_{\text{Oberfläche}}$ der Maske hinzugefügt bis die Zieltiefe d_{Boden} erreicht wurde. Die hinzugefügten Pixel hatten einen Brechungsindex von n_{Gehirn} . d_{Boden} setzt sich dabei wie folgt zusammen:

$$d_{\text{Boden}} = d_{\text{AO}} + d_{\text{Agarose}} \quad (5.34)$$

d_{AO} beschreibt die Distanz der Agaroseoberfläche bis zum oberen Bildrand und d_{Agarose} beschreibt die eigentliche Tiefe der Agaroseform (2 mm oder 3 mm). Setzt man d_{Boden} in Abhängigkeit zu der Gewebe-Luft-Zusammensetzung in dem jeweiligen A-Scan so lässt sich d_{Boden} , wie folgt beschreiben:

$$d(Z) = \Delta z_{\text{Luft}} \sum_{z=0}^Z \frac{n_{\text{Luft}}}{n_{\text{Medium}}(z)} \quad (5.35)$$

Z ist die Anzahl an axialen Pixeln, welche aktuell für den jeweiligen A-Scan betrachtet wurden. Die Vervollständigung der Maske $M(z)$ wird für den jeweiligen A-Scan beendet, sobald $d(Z) = d_{\text{Boden}}$ erfüllt ist. Somit lässt sich $M(z)$ wie folgt definieren.

$$M(z) = \begin{cases} 0, & \text{wenn } z < z_{\text{Oberfläche}} \\ 1, & \text{wenn } z > z_{\text{Oberfläche}} \text{ und } d(Z) < d_{\text{Boden}} \\ 0, & \text{wenn } d(Z) > d_{\text{Boden}} \end{cases} \quad (5.36)$$

Nachdem die Silhouette vollständig aus den einzelnen Masken zusammengesetzt wurde, konnte die Kontur mit Hilfe des Konturfinde-Algorithmus von Suzuki u. a., 1985 extrahiert werden [Suzuki u. a., 1985]. 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 Abb. 5.14). Um eine schnellere Verarbeitung zu gewährleisten und um die Konturen etwas mehr zu glätten, wurden die Konturen runterskaliert. 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 Abb. 5.14). Mit jeder Iteration wurde der Freiheitsgrad der Bewegungen, welcher mit dem Regularisierungsparameter λ eingestellt werden kann, erhöht. In der ersten Iteration wurde λ auf 10.000 gesetzt, um eine möglichst affine Initialtransformation zu erhalten. Es folgten zwei weitere Iterationen, in denen λ mit jeder Iteration um den Faktor 10 verkleinert wurde. Die so generierten Verschiebungsfelder können auf die Annotationen angewandt werden, um diese auf den korrespondierenden B-Scan zu transformieren.

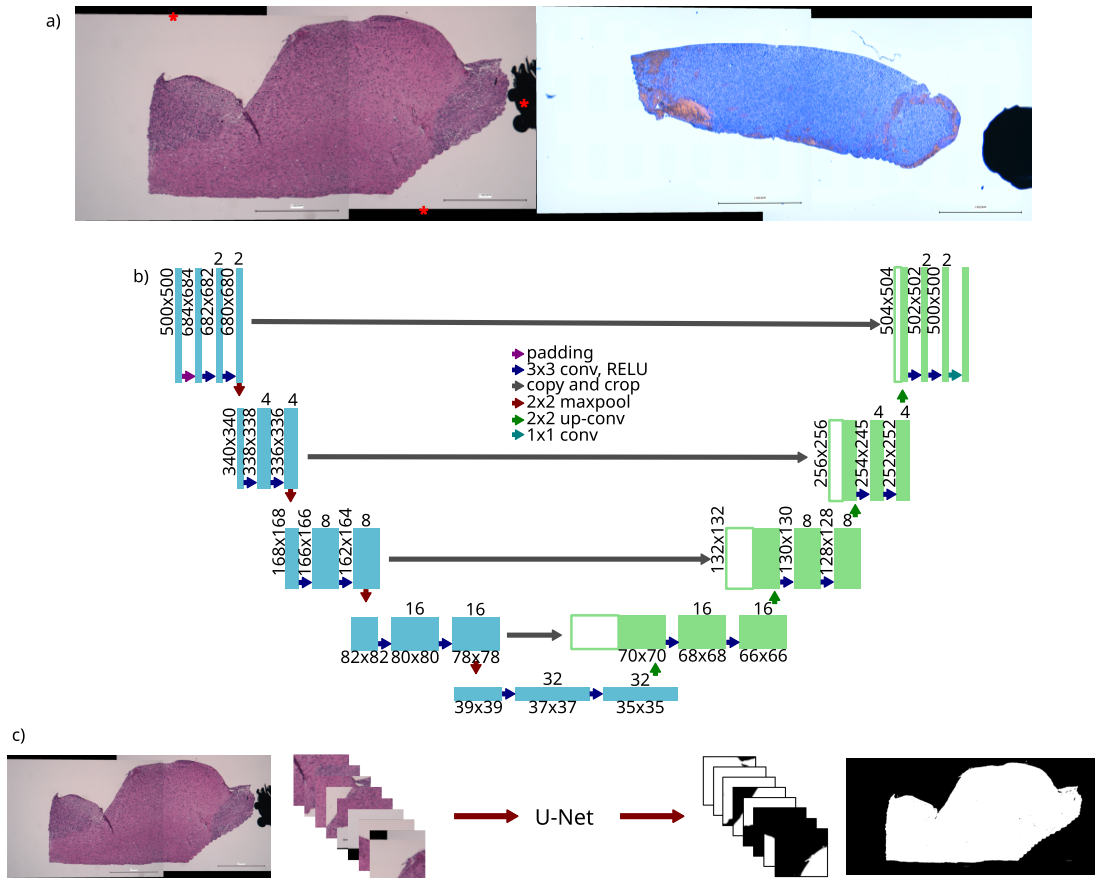


Abb. 5.12: a) Übersicht über möglichen Artefakte, die die Segmentierung der Gewebeinformation in den histologischen Schnittbildern erschweren: schwarze Bildstellen durch Markierung und Zusammenfügen der Teilbilder (rote *) und Blaustich durch nicht durchgeführten Weißabgleich. b) Zerteilung des histologischen Schnittbildes, um durch das konfigurierte U-Net binarisiert zu werden (c). Die Einzelteile der binären Maske werden anschließend wieder zu einem Bild zusammengesetzt (d).

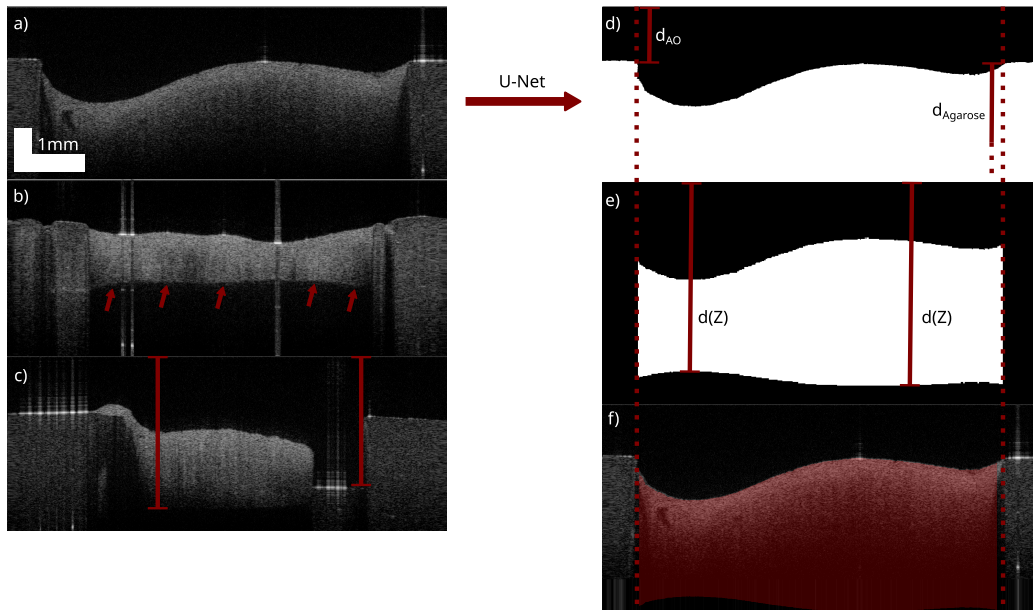


Abb. 5.13: a) OCT-B-Scan des OMES-Systems in dem das Ende der Probe in der Tiefe nicht sichtbar ist. b) OCT-B-Scan des OMES-Systems in dem das Ende der Probe sichtbar ist und mit roten Pfeilen markiert wurde. c) Zeigt die unterschiedliche optische Länge aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung 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).

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. Für die Transformation wurde eine affine Transformation angenommen, welche die Translation (t_x, t_z) und die unterschiedlichen Pixelskalierungen (s_x, s_z) berücksichtigt. Die Skalierungen ergeben sich jeweils aus dem Verhältnis der Pixelgrößen ($\Delta x, \Delta z$) der beiden OCT-Systeme:

$$s_x = \frac{\Delta x_{\text{Callisto}}}{\Delta x_{\text{OMES}}} \quad (5.37)$$

$$s_z = \frac{\Delta z_{\text{Callisto}}}{\Delta z_{\text{OMES}}} \quad (5.38)$$

Da die Translation in lateraler Richtung bereits bei der Transformation durch die Schnittlinien bekannt ist und es keinen Versatz in dieser Dimension geben sollte, wurde

t_x auf 0 gesetzt. Unbekannt ist jedoch der axiale Versatz zwischen den Gewebeoberflächen t_y . Um diesen zu bestimmen wurden die binären Masken der jeweiligen B-Scans verwendet. Zunächst wurde die Maske des OMES-B-Scans mit Hilfe von s_x und s_y korrekt skaliert. Die Mediandifferenz zwischen den Gewebeoberflächen des OMES- und des Callisto-B-Scans, welche aus den binären Masken extrahiert wurden, ergaben den Wert für die axiale Verschiebung t_z . Mit Hilfe der Skalierungs- und Translationsparameter konnte eine affine Transformationsmatrix definiert werden, die es erlaubt, die Annotationen vom OMES-B-Scan auf den korrespondierenden Callisto-B-Scan zu übertragen (siehe 5.9).

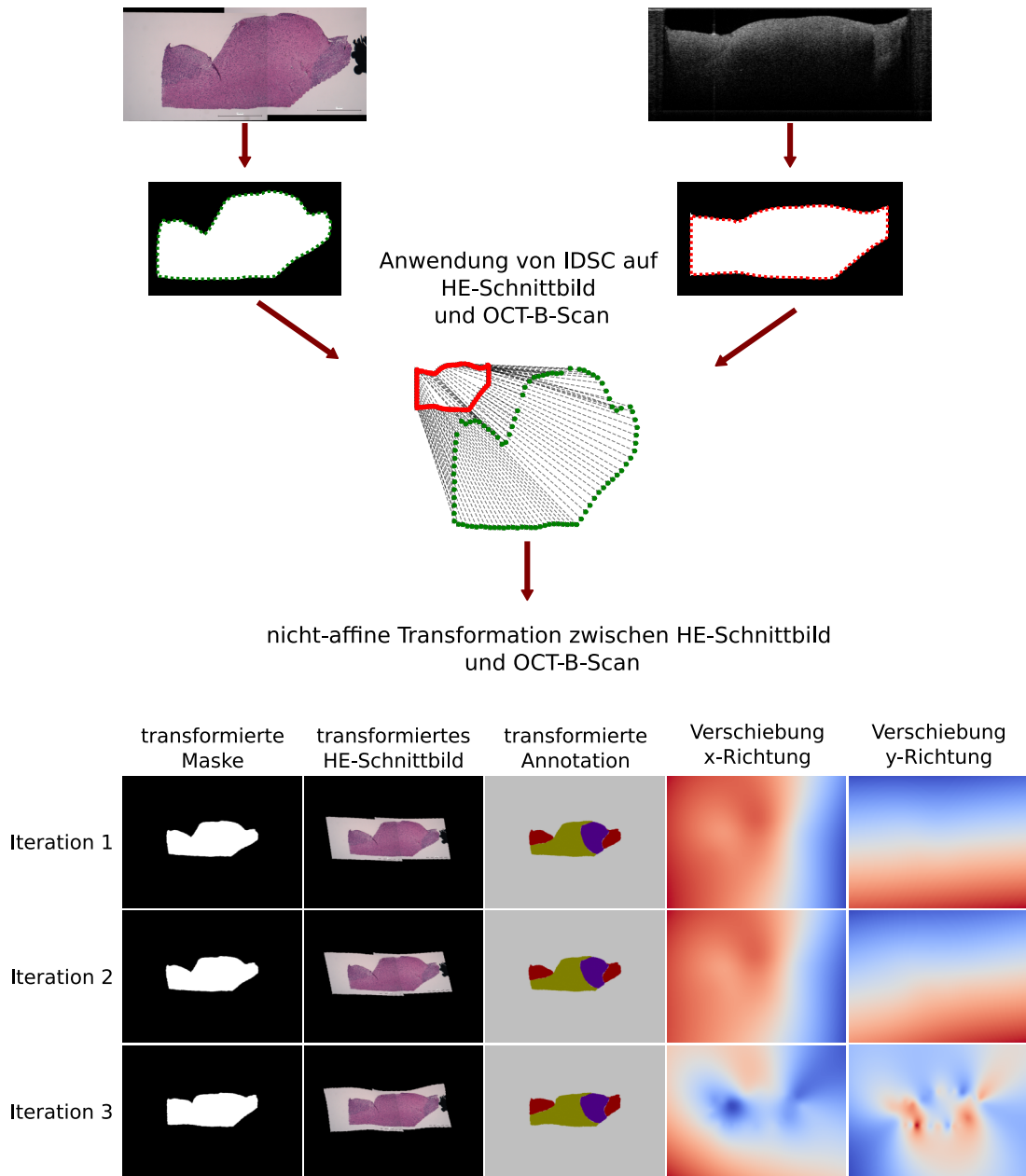


Abb. 5.14: Ablauf der nicht-affinen Transformation zwischen dem HE-Schnittbild und dem OCT-B-Scan des OMES-Systems. Im Detail werden die Veränderungen der HE-Daten über die bestimmten Verschiebungsfelder gezeigt. Bei den Verschiebungsfeldern stehen rote Werte für positive Verschiebungen und negative Verschiebungen sind blau dargestellt.

5.4 Bewertung des Ex-vivo-Datensatzes

In diesem Abschnitt erfolgt eine genaue Bewertung des erstellten Datensatzes. Es ist essentiell, die unterschiedlichen Instanzen zu kategorisieren, um für nachfolgende Klassifikationsansätze verwendet werden zu können. Somit wird gewährleistet, dass für spätere Klassifikationen nur plausible Daten genutzt werden, um unnötige Fehler beim Training des verwendeten Klassifikationsalgorithmus zu vermeiden. Die Bewertung deckt verschiedene Aspekte des multimodalen Datensatzes ab und wurde für jede Instanz des Datensatzes individuell durchgeführt. Die Bewertung umfasst die Begutachtung der Qualität des histologischen Schnittes und der dazugehörigen Annotation, sowie die Qualität der Transformation mit der die Annotationen von dem HE-Schnittbildes auf die OCT-B-Scans des Callisto- und OMES-Systems übertragen wurden. Für die Bewertung der histologischen Schnitte wurden drei Kriterien definiert:

1. Das generelle Aussehen des histologischen Schnittes.
2. Die Komplexität oder Großflächigkeit der Annotationen.
3. Die Plausibilität der Annotation.

Das Aussehen des histologischen Schnittes gibt Aufschluss darüber, wie gut die Probe die Form des Agaroseabdrucks übernommen hat und ob die histologische Verarbeitung der Probe korrekt durchgeführt wurde. Je besser die Form des Agaroseabdrucks von der Probe übernommen wurde, desto besser ist die Grundlage für die Übertragung der histologischen Informationen durch die verschiedenen Registrierungsschritte. Die Qualität des Probenaussehens wurde in drei Unterkategorien unterteilt:

- 1 = die Form des Agaroseabdrucks wurde gut von der Probe übernommen.
- 2 = die Form des Agaroseabdrucks wurde nicht optimal von der Probe übernommen.
- 3 = die Form des Agaroseabdrucks wurde gar nicht von der Probe übernommen.

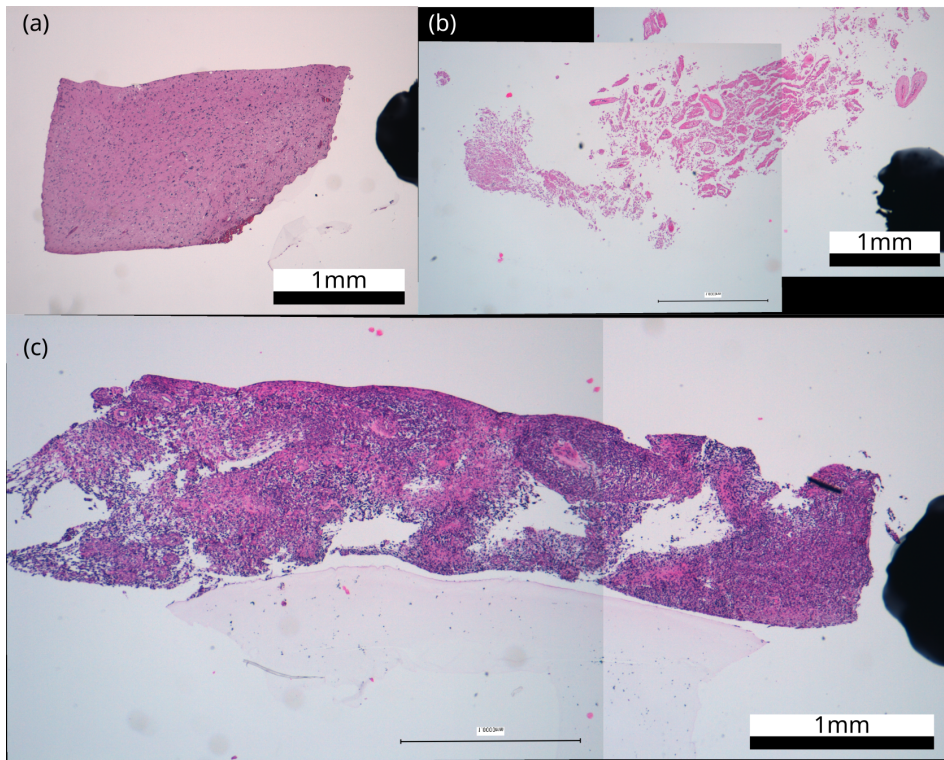


Abb. 5.15: Beispiele für die unterschiedlichen Bewertungen des Aussehens des histologischen Schnittes: (a) Kategorie 1, (b) Kategorie 3 und (c) Kategorie 2.

Ein Beispiel für jede Bewertung wurde in der Abb. 5.15 aufgeführt. Abb. 5.15 (a) zeigt, dass sich die Probe sehr gut an die vorgegebene Form angepasst hat. Es ist sehr gut zusehen, dass sogar die Orientierungskante von dem Gewebe übernommen wurde. Somit lässt sich zusätzlich feststellen, dass für diese Probe der Verarbeitungsprozess korrekt durchgeführt wurde. Bei Abb. 5.15 (b) sieht man einen Abstieg der Qualität des histologischen Schnittes, wenn es um das Aussehen geht, im Vergleich zu Abb. 5.15 (a). Empirisch wurde festgestellt, dass je höher die Tumordinfiltration im Gewebe, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Probe die Form nicht korrekt angenommen hat. Das liegt daran, dass das Gewebe aufgrund des Tumors geschädigt wird und seine strukturelle Integrität verliert. Dieser Umstand erklärt den Aufriss des Gewebes an der unteren linken Ecke. Trotzdem ist der histologische Schnitt noch gut genug, um die generelle Form des Gewebes zu extrahieren, wodurch eine erfolgreiche Übertragung der Annotationen auf die korrespondierenden B-Scans möglich ist. Abb. 5.15 (c) zeigt ein HE-Schnittbild, aus welchem die Silhouette des Gewebes nicht extrahiert werden kann. Der histologische Schnitt zeigt Nekrose, welche von Gefäßen durchzogen ist. Nekrose

besteht aus totem Gewebe ohne jegliche strukturelle Integrität, wodurch das Gewebe bei der histologischen Verarbeitung seine Form verlieren kann.

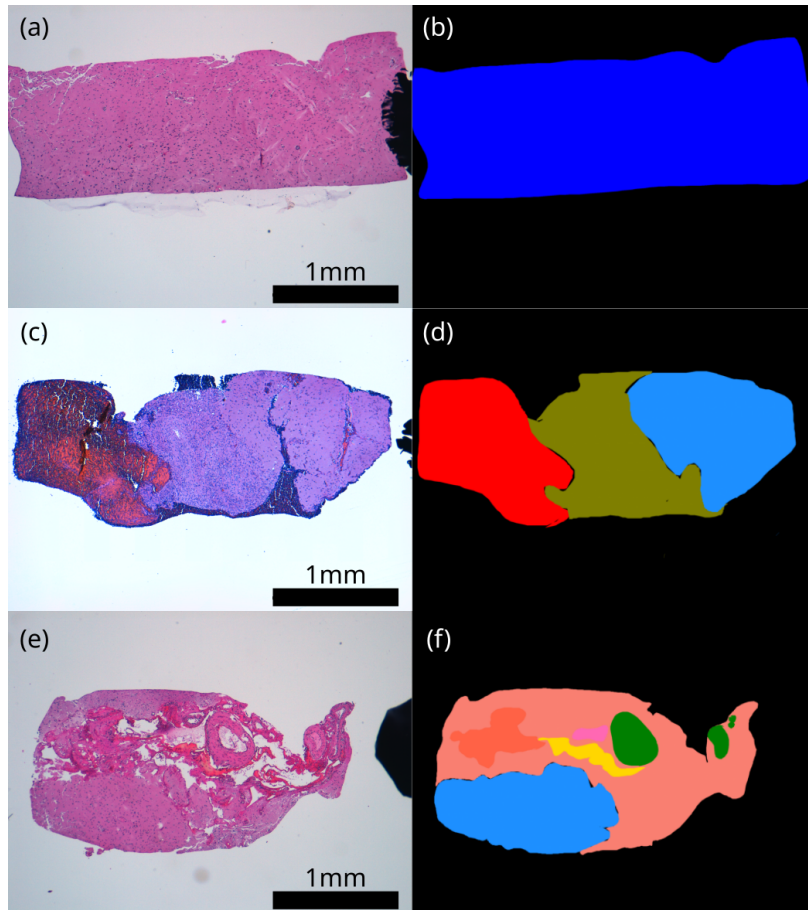


Abb. 5.16: Beispiele für die unterschiedlichen Bewertungen der Komplexität der Annotationen: (a,b) Kategorie 1, (c,d) Kategorie 2 und (e,f) Kategorie 3.

Das zweite Bewertungskriterium beschäftigt sich mit der Komplexität oder Großflächigkeit der Annotation. Dieses Kriterium wurde eingeführt, um beurteilen zu können, wie gut die übertragenen Annotationen das Gewebe des jeweiligen B-Scans beschreiben. Je geringer die Komplexität, sprich je größer die Fläche, die durch eine Annotation abgedeckt wird, desto geringer ist der Einfluss von Fehlern in der Transformation auf das Transformationsergebnis. Ist die Heterogenität eines Gewebes sehr hoch, dann ist es sehr schwer, die Übertragung der Annotation auf den OCT-B-Scan auf Korrektheit zu verifizieren, da die vielen Details des histologischen Schnittes nicht im OCT-B-Scan zu sehen sind. Im Gegensatz dazu benötigt eine reine homogene Annotation keine Transformation und kann direkt auf den B-Scan übertragen werden, da jeder Gewebepixel

der homogenen Annotation zugeordnet wird. Je nach Beschaffenheit der Annotationen ist es sinnvoll, viele kleine Annotationen zu einer größeren Region zusammenzuführen. Dies würde einen Kompromiss zwischen reduzierter lokaler Auflösung und vereinfachter Verarbeitung bilden. Dieser Kompromiss kann eingegangen werden, da die Auflösung der OCT-Systeme nicht ausreicht, die Details der histologischen Schnitte aufzulösen. Die Komplexität der Annotationen wurde ebenfalls in drei Unterkategorien eingeteilt:

- 1 = die Annotationen sind sehr groß und die Komplexität ist sehr gering.
- 2 = die Annotationen haben eine geringe Heterogenität und sind relativ groß.
- 3 = die Annotationen sind kleinteilig und das Gewebe besitzt eine hohe Komplexität.

Die Abb. 5.16 zeigt Beispiele für die Bewertung der Komplexität anhand des HE-Schnittbildes und der dazugehörigen Annotation. Die Beispiele zeigen deutlich die zunehmende Komplexität des Gewebes und die somit sinkende Sicherheit zur Evaluierung von Fehlregistrierungen. Die Abb. 5.16 (e,f) veranschaulichen eindeutig, dass bei starker Gewebekomplexität geringe Fehler in der Registrierung dazu führen, dass Annotationen falsch übertragen werden und diese Fehler anhand des OCT-B-Scans nicht evaluiert werden können.

Das dritte Kriterium beschäftigte sich mit der Plausibilität der Annotationen. Da die Annotationen von einem Neuropathologen durchgeführt wurden und der Detailgrad dieser Annotationen in dieser Form nicht zum Standard gehört, kann es zu Fehlern in der Annotation kommen. Falsche oder schlecht gesetzte Annotationen müssen korrigiert werden oder von der Klassifikation ausgeschlossen werden, da es sonst zu Fehlern in den Klassifikationsalgorithmen kommen kann. Es kann ab und zu vorkommen, dass Strukturen, wie Gefäße oder Einblutungen aufgrund der Menge nicht konsistent annotiert wurden. In solchen Fällen ist die Annotation nicht komplett falsch, muss aber korrigiert werden. Genauso wie bei den anderen Kriterien wurden auch hier drei Unterkategorien definiert:

- 1 = die Annotationen sind plausibel.
- 2 = die Annotationen sind nicht konsistent innerhalb des Gewebes. Die Plausibilität ist schwer einzuschätzen.
- 3 = die Annotationen sind falsch oder fehlen.

Die in Abb. 5.17 dargestellten Beispiele zeigen die Unterschiede zwischen den Unterkategorien. Für Abb. 5.17 (a,b) korrelieren die Annotationen sehr gut mit den zu erkennenden Strukturen, während bei Abb. 5.17 (c,d) die Annotation der Einblutungen nicht vollständig eingearbeitet wurde. Die geringste Plausibilität besitzt jedoch das Beispiel in Abb. 5.17 (e,f). Hier ist die Annotation ganz eindeutig nicht vollständig

und es wurden dominante Gewebeanteile (Bindegewebe in diesem Fall) nicht annotiert, obwohl diese klar sichtbar sind.

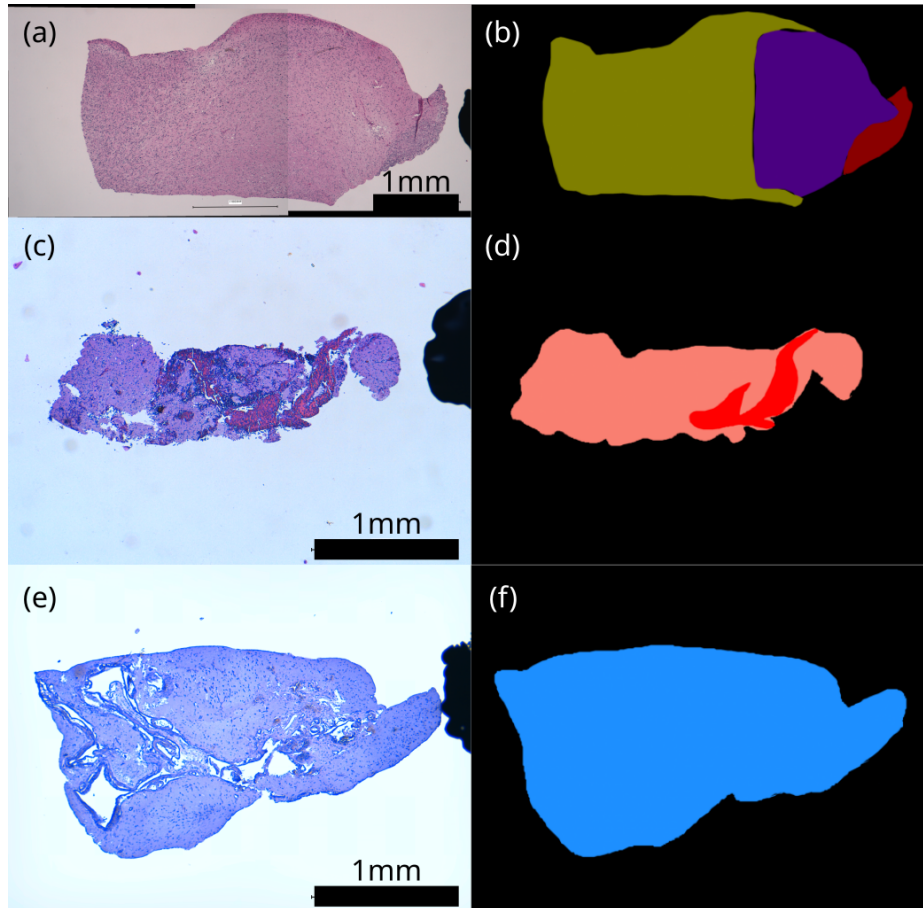


Abb. 5.17: Beispiele für die unterschiedlichen Bewertungen der Plausibilität der Annotationen: (a,b) Kategorie 1, (c,d) Kategorie 2 und (e,f) Kategorie 3.

Die Transformation der Annotation auf die korrespondierenden OCT-B-Scans wurde ebenfalls bewertet. In der Regel korrelierte eine gute Bewertung des HE-Schnittbildes mit einem guten Transformationsergebnis. Dieser Schritt diente zur Evaluierung des Transformationsalgorithmus und zur Quantifizierung der Fehltransformationen. Die Bewertungen wurden jeweils für die Ergebnisse für die beiden OCT-Systeme durchgeführt. Es wurden vier Kategorien wurden eingeführt, um die Transformation zu bewerten:

- 1 = Es handelte sich um das Übertragen einer homogenen Annotation, somit können keine Fehler passieren.

- 2 = Es handelt sich um eine gute Transformation einer heterogenen Annotation, die Proportionen stimmen und die Orientierung ist korrekt.
- 3 = Die Transformation der heterogenen Übertragung war nicht plausibel. Es wurden Bereiche zu stark transformiert, was dazu führt, dass Annotationen gequetscht oder zu stark vergrößert wurden. Dies ist meist eine Folge einer schlechte Formübernahme des Gewebes und somit eine schlechtere Ausgangslage für die Transformation.
- 4 = Die Transformation war nicht möglich. Der Grund dafür war in der Regel eine schlechte Qualität der OCT-Volumen.

In der Abb. 5.18 sind für jede Kategorie ein Beispiel aufgeführt. Die Abb. (siehe Abb. 5.18) (a,b) zeigen, dass die homogenen Annotationen einfach übernommen wurden, auch wenn das histologische Bild Oberflächenartefakte aufweist. Diese wurden durch den Schwamm erzeugt, welcher zur Transportsicherung verwendet wurde. Die Transformation von heterogenen Annotationen ist sehr abhängig von der Form des Gewebes und kann im Idealfall so aussehen wie in Abb. 5.18 (c,d). Ist jedoch die Formübernahme nicht optimal, dann kann es zu Fehlern bei der Transformation kommen. In Abb. 5.18) (e,f) ist dieser Fehler eine überproportionale Quetschung der Annotation. Aufgrund der Form wurden falsche Punktkorrespondenzen auf Basis der IDSC-Histogramme gefunden, wodurch eine Quetschung hervorgerufen wurde und zusätzlich eine Auftrennung der Annotation in der rechten unteren Ecke. Die letzten Beispiele zeigen OCT-B-Scans aus OCT-Volumen, bei denen eine Transformation nicht möglich war. In Abb. 5.18) (g) ist ein OCT-B-Scan des OMES-Systems zu sehen, auf dem die Agarosegrenzen nicht vollständig zu sehen sind. Im Laufe der Extraktion der Gewebeinformationen muss die Breite und die Tiefe des Gewebes anhand der Agarosegrenzen ermittelt werden. Dadurch, dass auf der linken Seite keine Agarose zu sehen ist, war dies nicht möglich. In Abb. 5.18) (h) zeigt einen B-Scan des Callisto-Systems, der zu tief aufgenommen wurde und somit der Bildinhalt aufgrund des Signalabfalls keine wirklichen Informationen mehr zeigt. Aus diesem Grund ist die Bewertung der Qualität schwierig und der B-Scan für die generelle Weiterverarbeitung ungeeignet.

Mit Hilfe der vorgestellten Bewertungen wurde die Qualität jeder Instanz des Datensatzes bewertet. Auf Basis der Bewertungen der einzelnen Kriterien konnten Qualitätsvektoren für die histologische und Transformationsbeurteilung erstellt werden. Abb. 5.19 zeigt die Verteilung der Bewertungen für die jeweiligen Qualitätsvektoren. Die dargestellten Daten zeigen gut, dass die histologische Bearbeitung bei einem Großteil der Daten gut funktioniert hat. Für die nachfolgenden Auswertungen wurden nur die Instanzen berücksichtigt, welche eine histologische Bewertung von 111, 121 oder 211 besaßen. Bei diesen Instanzen konnte davon ausgegangen, dass die Annotation des Neuropathologen plausibel ist. Diese Instanzen machen rund 45% des Gesamtdatensatzes aus. Die Instanzen, welche mit einer histologischen Beurteilung von 113, 123, 122

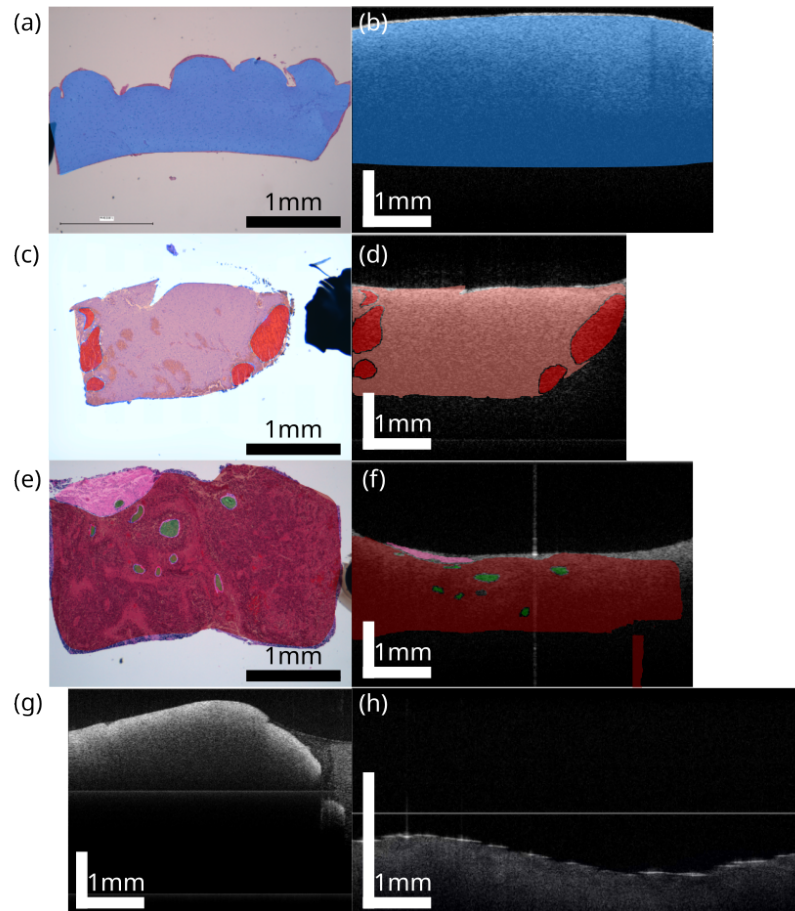


Abb. 5.18: Beispiele für die unterschiedlichen Kategorien zur Bewertung der Qualität der Transformation. Es werden immer die Annotation und die korrespondierende Transformation dargestellt. (a,b) zeigen eine homogene Transformation der Kategorie 1. (c,d) zeigen eine heterogene Transformation der Kategorie 2. (e,f) zeigen eine heterogene Transformation der Kategorie 3. (g,h) zeigen OCT-B-Scans für die keine Transformation durchgeführt werden konnte und somit zu Kategorie 4 gehören.

oder 112 bewertet wurden, müssen erneut bearbeitet werden. Bei diesen Instanzen gab es Probleme bei der Plausibilität der Annotationen, aber die generelle Beschaffenheit der Probe ist gut. Bei einer erneuten Bearbeitung durch einen Neuropathologen könnte somit der Datensatz fast verdoppelt werden, da diese Instanzen rund 37 % der Daten ausmachen. Bei den restlichen Instanzen ist die Qualität der Probe nicht optimal für die Weiterverarbeitung. Es ist aber extrem positiv hervorzuheben, dass rund 82 % des gesamten Datensatzes verwendet werden können, obwohl es sich um kein Standardverfahren für die neuropathologische Aufbereitung von Gehirngewebe handelt.

Die Beurteilung der Transformationen (siehe Abb. 5.19) zeigt, dass rund 75 % der Instanzen gut transformiert werden konnten. Dieser Anteil zeigte, dass in der Regel die Übertragung der Annotationen gut funktioniert und die Plausibilität der Annotationen ein größerer Faktor für das Ausschließen von Proben war, als die Verarbeitung der Proben oder die verschiedenen Registrierungsschritte.

5.5 Ergebnisse und Diskussion

In diesem Kapitel wurde beschrieben, wie histologische Informationen in Form von pixelweisen Annotationen von HE-Schnittbildern auf korrespondierende OCT-B-Scans übertragen werden konnten. Es wurde detailliert darauf eingegangen, welche Bedingungen erfüllt werden müssen, um den vorgestellten Prozess durchzuführen. Der beschriebene Übertragungsprozess besteht aus zwei Hauptschritten. Zunächst wurden aus den aufgenommenen OCT-Volumen der zwei OCT-Systeme OCT-B-Scans extrahiert, welche mit den angefertigten HE-Schnittbildern korrespondieren. Anschließend wurden die histologischen Informationen mit Hilfe einer nicht-affinen Transformation von dem histologischen Bild auf die korrespondierenden OCT-B-Scans der beiden OCT-Systeme übertragen. Die beiden Verarbeitungsschritte stützen sich dabei sehr stark auf die Forminformationen, wie die topologischen Informationen aus den OCT-Daten und den Konturinformationen, welche aus den OCT-Daten als auch den histologischen Bildern extrahiert werden können. Innerhalb der Hauptverarbeitungsschritte wurde gezeigt, dass die Registrierung zweier OCT-Volumen auf der Basis ihrer topologischen Informationen möglich ist und im Falle von Gehirn-Daten mit wenig Bildkontrast, sogar besser funktioniert, als auf Basis von reinen Intensitätswerten, wie sie für eine En-face-Projektion verwendet werden. Für die Extraktion der topologischen Informationen wurden drei unterschiedliche Algorithmen mit variierender Komplexität miteinander verglichen. Es zeigt sich, dass eine einfache Kantenfilterung mit einem Sobel-Filter gut funktioniert, solange keine Artefakte in den OCT-B-Scans auftreten. Für diesen Fall erwies sich ein trainiertes U-Net für die binäre Klassifikation von Gewebe und Luft als robusteste Methode. Auf Basis der Oberflächenposition konnten korrespondierende OCT-B-Scans für die beiden OCT-Systeme zu den annotierten HE-Schnittbildern gefunden werden. Die Abb. 5.20 zeigt nochmals drei Beispiele, wo die Korrespondenz gut

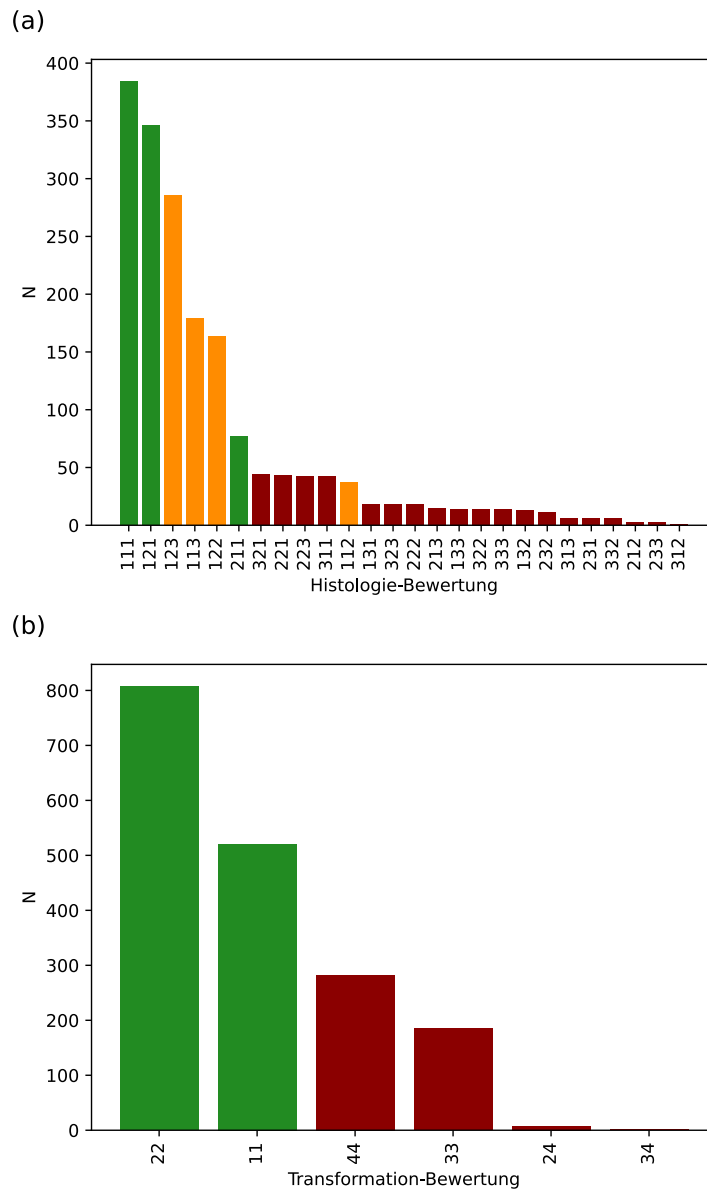


Abb. 5.19: Verteilung der unterschiedlichen Bewertungen für die histologische Beurteilung (a) und die Bewertung der Transformation (b). Eine genaue Erklärung der unterschiedlichen Bewertungen ist in Abschnitt 5.4 zu finden. Die Instanzen, die für die späteren Klassifikationen verwendet wurden sind grün markiert, während nicht verwendete Instanzen orange oder rot markiert sind. Die Instanzen die in (a) orange markiert wurden, könnten nach einer erneuten Verarbeitung in der Bewertung steigen und dem Datensatz hinzugefügt werden.

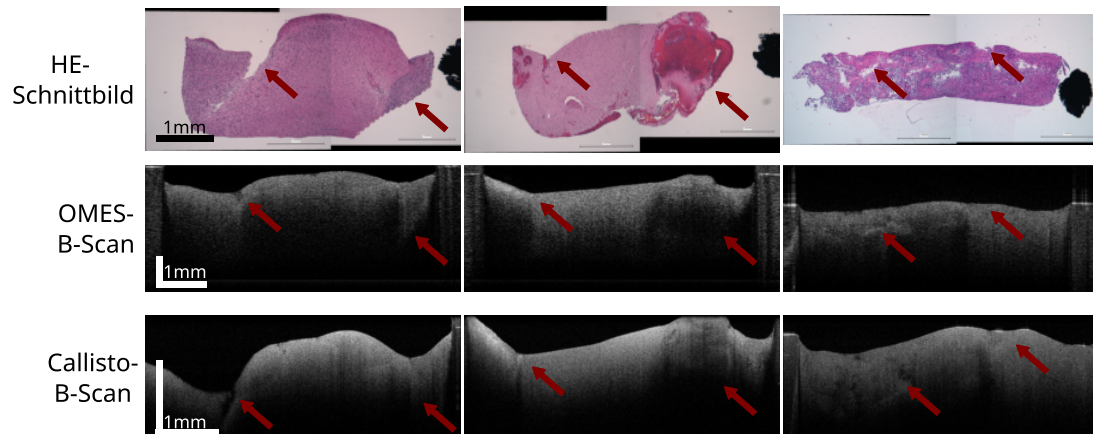


Abb. 5.20: Drei Beispiele von HE-Schnittbildern und den dazu gefundenen OCT-B-Scans des OMES- und Callisto-Systems.

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. 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 (siehe Abb. 5.19), 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 (siehe Abb. 5.15 (b)). In der Abb. 5.21 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 chemischen Verarbeitung der Probe führen. Zum Beispiel kann die Entwässerung zur Folge haben, dass Gewebe mit einem hohen Wassergehalt (z. B. Ödem) stärker seine Form ändert, als Gewebe mit geringem Wassergehalt (z. B. koaguliertes Gewebe). Die mechanische Verarbeitung der Probe, während des Schneidens, kann ebenfalls zu einer Formveränderung führen. Je nach Beschaffenheit der Probe und dem Zustand des Mikrotoms, kann die mechanische Beanspruchung des Gewebes zu Quetschungen oder zu Rissen im Gewebe führen [Taqi u. a., 2018].

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. Der Prozess wurde auch zu Beginn persönlich überwacht, um einen optimalen Ablauf zu gewährleisten. 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 $(200 \pm 120) \mu\text{m}$. Dieses Ergebnis entspricht einem relativen Fehler von 6 % für die minimale Probenlänge von 3 mm. Ähnliche Registrierungsansätze von Unger u. a., 2018 und Gibson u. a., 2012 erreichten ähnliche relative Fehler [Gibson u. a., 2012; Unger u. a., 2018]. Unger u. a., 2018 verwendete eine Kombination aus Inner-Distance-Shape-Context und mit einem Laser markierte 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 15 mm [Unger u. a., 2018]. Die Methode von Unger u. a., 2018 erreichte somit einen relativen Registrierungsfehler von 5 %. Gibson u. a., 2012 erreichte einen Registrierungsfehler von $(0.71 \pm 0.38) \text{ mm}$ für eine Probengröße von 30 mm für die Registrierung von histologischen Bildern der Prostata zu Ex-vivo-MRT-Bildern. Somit wurde ein relativer Fehler von 2.4 % 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 u. a., 2021 zum Beispiel musste fast 50 % aller aufgenommenen Daten aus dem Datensatz entfernen, da die Annotation nur Volumen als homogene Gewebe erfasste [Möller u. a.,

2021]. Somit mussten die Proben entfernt werden, welche eine zu große Heterogenität aufwiesen. Für den hier vorgestellten Datensatz könnten 60 % der Daten als homogen bezeichnet werden, wenn diese zu mehr als 90 % aus einem Gewebetyp bestehen würden. Das würde dazu führen, dass 40 % der Daten aus dem Datensatz entfernt werden müssten. Aufgrund der detaillierten Annotation und der Berücksichtigung heterogener Gewebzusammensetzungen können diese Daten weiter im Datensatz bestehen bleiben. Aufgrund der detaillierten Unterteilung der Gewebetypen, zum Beispiel in weiße Masse, graue Masse und die unterschiedlichen Abstufungen der Tumordinfiltration, kann eine genaue Untersuchung von komplizierten Gewebekonstellationen erfolgen. Yashin u. a., 2019a zeigte, dass graue Masse ähnliche optische Eigenschaften zu Tumorgewebe besitzt und eine simple Trennung dieser Gewebetypen nicht möglich ist [Yashin u. a., 2019a]. Der erstellte Datensatz erlaubt ebenfalls die Untersuchung dieses Sachverhaltes. 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. Wenn die unplausiblen Annotationen nochmals überarbeitet werden (siehe Abb. 5.19 (a)), ist es möglich, den Datensatz auf 1250 OCT-B-Scans zu erweitern.

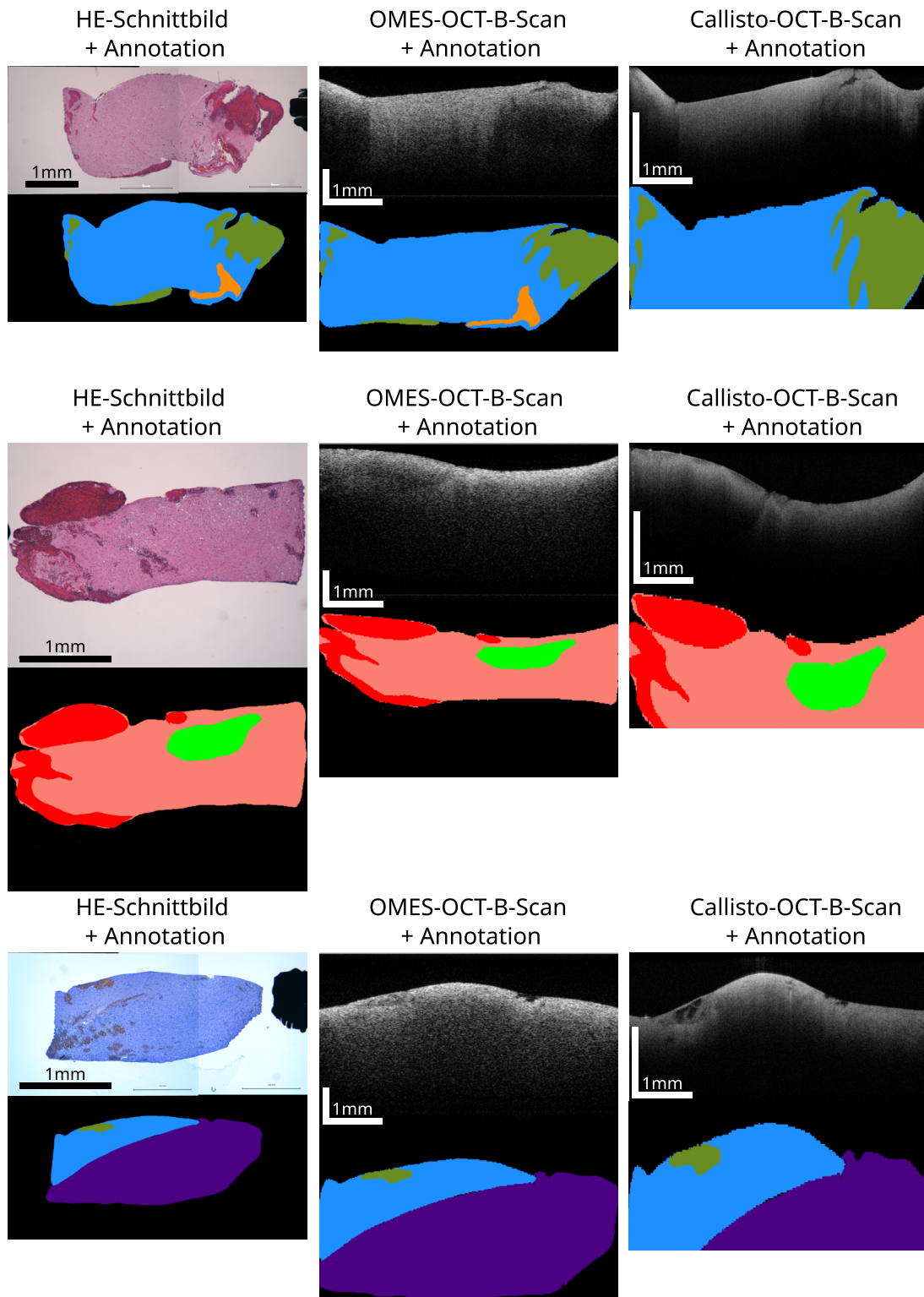


Abb. 5.21: Drei Beispiele von der nicht-affinen Transformation der histologischen Informationen auf die korrespondierenden OCT-B-Scans.

Kapitel 6

Hirntumorerkennung mit Hilfe der OCT: Ein Vergleich zweier 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 [Faber u. a., 2004; Schmitt u. a., 1993, 1997]. 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 Rückstreukoeffizienten [Wang u. a., 2017]. Giese u. a., 2006 zeigte anhand erster Messungen, dass die Unterscheidung von menschlichem Gehirngewebe auf Basis der optischen Parameter möglich ist [Giese u. a., 2006]. 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 Gewebearten berücksichtigt wurden. Die Gewebeanalyse beschränkt sich auf folgende Gewebearten: graue Masse, weiße Masse und weiße Masse mit den drei Tumorinfiltrationsstufen (0% bis 30%, 30% bis 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. Das Kapitel wurde so aufgebaut, dass zunächst die Schritte beschrieben wurden, um die OCT-Daten der beiden Ex-vivo-OCT-Systeme für die Gewebecharakterisierung vorzubereiten. 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. Anschließend wurde genauer auf die Extraktion der OCT-Bild-Patches

eingegangen, bevor die Extraktion der optischen Parameter genauer besprochen wurde. Den Abschluss bildet die Gewebeklassifikation mit Hilfe der neuronalen Netzwerke.

6.1 Datenvorverarbeitung

Dieser Abschnitt beschreibt die Prozesse für die Datenvorverarbeitung, um die OCT-B-Scans der beiden Ex-vivo-OCT-Systeme für Gewebeanalyse auf Basis von optischen Parametern durchzuführen. Es wurde entschieden die Analyse anhand von OCT-Bild-Patches, welche zuvor aus den OCT-B-Scans extrahiert worden sind, durchzuführen. Um eine möglichst gute Datengrundlage für die Analyse zu haben, wurden nur OCT-B-Scans verwendet, deren korrespondierenden HE-Schnittbilder im Abschnitt 5.4 eine Bewertung von 111, 121 oder 211 zugewiesen wurden. Somit wurde gewährleistet sein, dass die histologischen Informationen mit der höchsten Qualität berücksichtigt wurden. Des Weiteren wurden OCT-B-Scans ausgeschlossen deren Bewertung der Transformation schlechter als 3 war (siehe Abschnitt 5.4). Diese Maßnahme sollte verhindern, dass schlechte Registrierungen zwischen der Histologie und dem OCT-Daten zu Fehlern bei der Gewebeanalyse führen. Da die Analyse ebenfalls genutzt werden soll, um die beiden OCT-Systeme zu vergleichen, wurden nur Patienten berücksichtigt, bei denen beide Ex-vivo-Systeme voll funktionsfähig waren. Somit mussten die Patienten 6, 9, 13 und 19 von der Analyse ausgeschlossen werden, da es bei diesen Patienten Probleme bei der Datenaufnahme mit dem OMES-System gab. Der Patient 1 wurde ebenfalls ausgeschlossen, da bei diesem Patient noch nicht die Formgebung mittels Agarose angewendet wurde. Aus diesem Grund konnte Übertragung der histologischen Annotationen auf Basis der Gewebeform, wie in Kapitel 5, durchgeführt werden. Die Tabelle 6.1 zeigt die für die Analyse berücksichtigten Patienten, sowie die Anzahl der berücksichtigten Proben pro Patient. Die Datenvorverarbeitung ist in drei Hauptschritte unterteilt, die in den folgenden Abschnitten näher erklärt werden. Zunächst wurden die OCT-B-Scans des OMES-Systems auf die Intensität des Referenzsignals normiert, um die Intensitätsvariationen des OCT-Systems zu den jeweiligen OPs zu kompensieren. Anschließend wurden die Einflüsse des Roll-Offs und des Fokus korrigiert. Diese Korrektur wurde für die beiden Ex-vivo-OCT-Systeme durchgeführt. Zuletzt wurden dann die OCT-Bild-Patches aus den korrigierten OCT-B-Scans extrahiert. Hierbei wurden nur homogene Bereiche ausgeschnitten, die weit genug von Übergangsbereichen zwischen zwei Annotationen lagen, um zu gewährleisten, dass nur homogene Gewebeeinformationen innerhalb der OCT-Bild-Patches enthalten waren.

6.1.1 Intensitätsnormierung der OMES-Daten

Im Laufe der Studie wurde das OMES-System in unregelmäßigen Abständen modifiziert. Ein Grund dafür war die Verwendung des OCT-Systems außerhalb der Studie. In diesem Fall umfassten die Umbaumaßnahmen eine Veränderung der Aufnahmeoptik

Tabelle 6.1: Übersicht über die Patienten, Pathologien und Anzahl der Proben, welche für die Gewebecharakterisierung anhand der optischen Parameter verwendet wurden.

Patient	Diagnose	Proben
2	Oligodendrogliom - WHO 2	6
3	Glioblastom - WHO 4	7
4	Metastase	4
5	Glioblastom - WHO 4	6
7	Glioblastom - WHO 4	5
8	Anaplastisches Astrozytom - WHO 3	3
10	Glioblastom - WHO 4	5
11	Metastase	3
14	Anaplastisches Oligodendrogliom - WHO 3	6
15	Metastase	5
16	Glioblastom - WHO 4	4
17	Glioblastom - WHO 4	5
18	Metastase	2
20	Oligodendrogliom - WHO 4	5
21	Glioblastom - WHO 4	7

und der Referenzarmposition. Ein weiterer Grund war ein generelles System-Upgrade ab Patient 14. Bei dem OMES-System handelte es sich zur Zeit der Studie befand sich das OMES-System noch in der Entwicklungsphase. Deshalb wurden im Rahmen einer Systemverbesserung einige Hardwarekomponenten getauscht, um die Aufnahmequalität zu verbessern und um verschleißte Komponenten (z. B. Spiegelbeschichtungen) zu erneuern. Vor jeder OP musste sichergestellt werden, dass die Aufnahmebedingungen des OMES-Systems vergleichbar mit den anderen Studien-OPs bleiben, um später eine gute Voraussetzung für die Klassifikation zu schaffen. Es kam jedoch bei einigen Patienten zu Problemen, die dazu geführt haben, dass die Aufnahmebedingungen nicht immer konstant für alle Patienten waren. Die Gründe hierfür werden im folgenden näher betrachtet. Je nach Ursache des Problems konnte die Datenqualität mit einer Nachverarbeitung wiederhergestellt werden. In anderen Fällen wurden die Daten von der Weiterverarbeitung und Klassifikation ausgeschlossen.

Eine Ursache für eine veränderte Datenqualität war eine zu niedrig eingestellte Referenzamplitude. Da das Referenzlicht mit dem Licht aus dem Probenarm interferiert, ist diese maßgeblich an dem Kontrast und der Helligkeit des OCT-B-Scans beteiligt. In der Abb. 6.1 (a) ist der Vergleich zwischen zwei Referenzspektren dargestellt. Die Auswirkungen auf A-Scan- und B-Scan Ebene des jeweiligen Referenzspektrums sind

in den Abb. 6.1 (b-d) visualisiert. Es ist deutlich zu sehen, dass die Qualität des Referenzspektrums einen hohen Einfluss auf die später zu erreichende OCT-Signalqualität hat. Während ein gut eingestelltes Referenzspektrum dazu führt, dass Streupartikel in einem Messphantom gut zu sehen sind, führt ein schlecht eingestelltes Spektrum dazu, dass die Streupartikel kaum noch sichtbar sind.

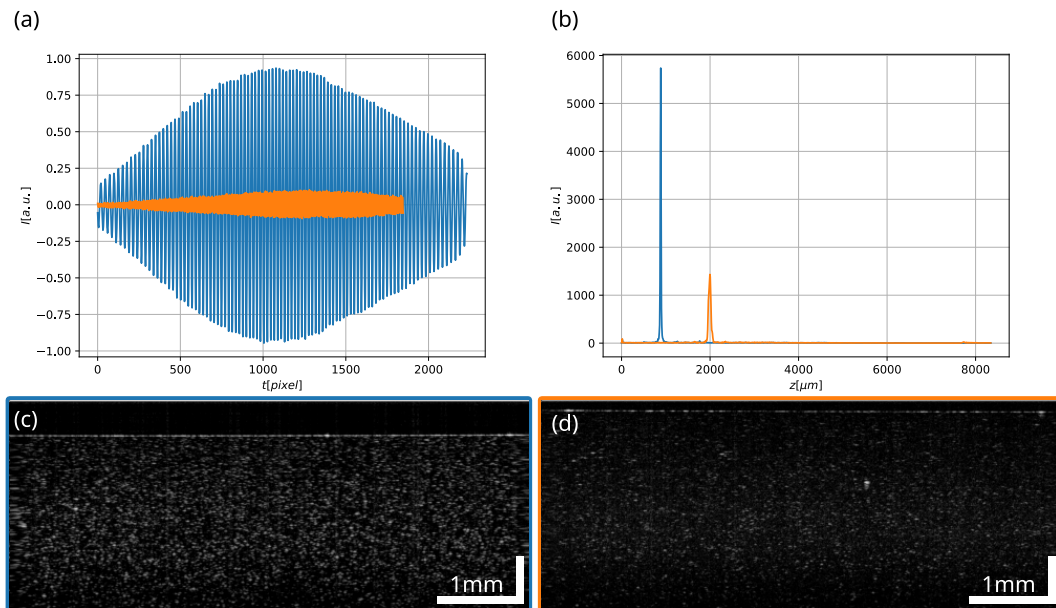


Abb. 6.1: (a) Vergleich eines aufgenommenen Referenzspektrums mit korrekt eingestellter Intensität (blau) mit einem Referenzspektrum mit zu niedriger Intensität (orange). (b) OCT-A-Scan, welcher aus den Spektren von (a) generiert wurde, in dem diese mit sich selbst interferiert wurden. (c) zeigt exemplarisch einen OCT-B-Scan eines Messphantoms mit Streupartikeln, welcher mit Hilfe des blauen Referenzspektrums von (a) gemessen wurde. (d) wurde analog dazu mit dem orangen Referenzspektrum gemessen.

Um den Zusammenhang zwischen dem Referenzspektrum und der Signalqualität näher zu beleuchten, wurde für jede Probe innerhalb der Studie, dass jeweilige Referenzspektrum extrahiert und mit sich selbst interferiert und zu einem A-Scan prozessiert. Das Maximum des A-Scans wurde dann mit der Amplitude und der Fläche des jeweiligen Referenzspektrums in Zusammenhang gebracht (siehe Abb. 6.2). Es ist deutlich zu erkennen, dass es einen nahezu linearen Zusammenhang zwischen dem Maximum des A-Scans und der Qualität des Referenzspektrums gibt. Es wird deutlich, dass sich der Zusammenhang nach dem Umbau des OMES-Systems verändert hat. Aus Abb. 6.2 (b) geht hervor, dass versucht wurde, die Amplitude des Referenzspektrums im Bereich von 0.4 bis 0.7 zu halten. Der Grund dafür ist, dass eine zu große Amplitude

des Spektrums zu einer Übersteuerung des OCT-Signals führen kann. Eine Übersteuerung des OCT-Signals kann unter anderem die Entstehung von Reflektionsartefakten hervorrufen (siehe Abb. 3.4), wodurch eine Auswertung erschwert wird. Eine zu kleine Amplitude führt zu geringen OCT-Signal, wodurch Signal- und Kontrastverlust im OCT-B-Scan sichtbar ist. Die Schwankungen der Signalhöhe stellen ein großes Problem für die spätere Gewebeklassifikation dar. Yashin u. a., 2019b zeigte zum Beispiel, dass die gemessene Signalintensität ein wichtiger Parameter für die Trennung von gesunder weißer Masse und Tumorgewebe ist [Yashin u. a., 2019b]. Es ist also wichtig, jede Probe auf ihr Referenzspektrum zu normieren, um die Intensitätsvariationen des Referenzspektrums zwischen den einzelnen Aufnahmetagen zu kompensieren.

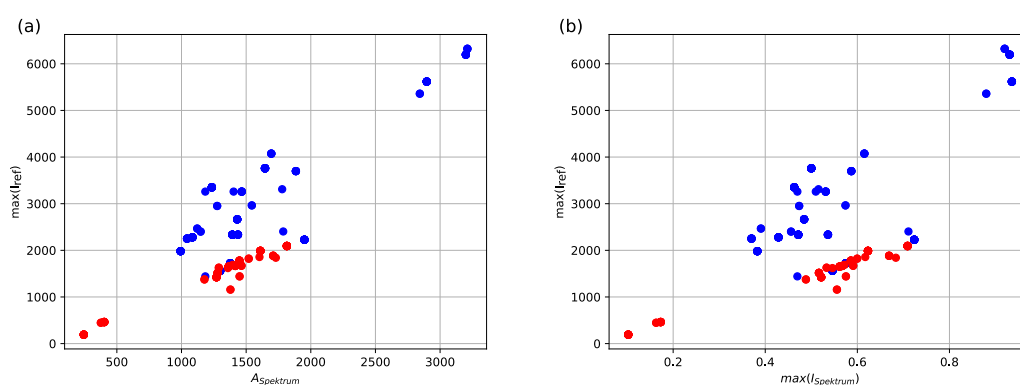


Abb. 6.2: (a) Zusammenhang zwischen der Fläche des Referenzspektrums und dem maximalen Signalwert des Referenz-A-Scans. (b) Zusammenhang zwischen dem maximalen Signal des Referenzspektrums und dem maximalen Signalwert des Referenz-A-Scans. Die dargestellten Werte repräsentieren alle Variationen der aufgetretenen Referenzspektren. Die blau markierten Punkte decken alle Patienten vor dem Umbau ab ($<$ Patient 15), während die roten Punkte die Patienten nach dem Umbau behandeln (\geq Patient 15).

Für die Normierung der OCT-B-Scans wurde das dazugehörige Referenzspektrum mit sich selbst interferiert und zu einem A-Scan umgewandelt (Referenz-A-Scan). Das Maximum dieses Signals I_{ref} wurde nun verwendet um die Intensitäten der OCT-B-Scans I_{OCT} zu normieren. Aufgrund des linearen Zusammenhangs erfolgt die Normierung durch eine einfache Division:

$$I_{\text{OCT-Norm}} = \frac{I_{\text{OCT}}}{\max(I_{\text{ref}})} \quad (6.1)$$

In der Abb. 6.3 sind die Normierungsfaktoren für die verschiedenen Patienten aufgeführt. Auch hier sind nochmals deutlich die Schwankungen des Referenzsignals über den Verlauf der Studie sichtbar. In einigen Fällen kam es zu variierenden Referenzspektren

innerhalb einer Studien-OP. Diese Variationen können aus Temperaturveränderungen aufgrund der langen Systemlaufzeit während einer OP (>6 h) resultieren. Die Temperaturvariationen können zu Veränderungen des Laserlichtes führen und somit die Qualität des OCT-Signals beeinflussen. Für das Callisto-System musste diese Form der Normierung nicht durchgeführt werden. Das Callisto-System, als kommerziell erhältliches System, kommt mit einer eigenen Software, die es erlaubt, die Intensität des Referenzsignals zu überprüfen und einzustellen. Die Intensität des Referenzspektrums wurde vor jeder Aufnahme kontrolliert und war über die verschiedenen Aufnahmetage konstant.

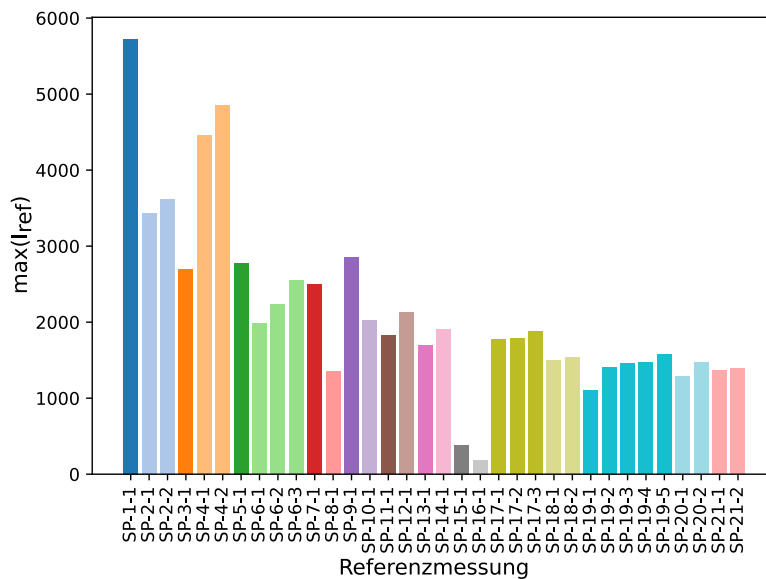


Abb. 6.3: (a) $\max(I_{\text{ref}})$ für alle Studienpatienten. Wenn während einer OP mehrere Referenzmessungen durchgeführt werden mussten, wurden diese mit gleicher Farbe gekennzeichnet.

6.1.2 Fokus- und Roll-Off-Korrektur

In diesem Abschnitt wird die Korrektur des Fokus- und Roll-Off-Einflusses beschrieben. Die Vorgehensweise basiert hierbei auf den Grundlagen aus Abschnitt 3.3. Die Bestimmung des Roll-Offs für beide OCT-Systeme erfolgte über eine Messreihe, in der ein Neutraldichte-Filter (ND-Filter, Schott-NG9) durch Verstellen der Referenzarmlänge durch das Messfenster des jeweiligen OCT-Systems gefahren wurde. Der zu messende Reflex an der Oberfläche des ND-Filters und die Amplitudenveränderung über die Tiefe sind in Abb. 6.4 dargestellt. Es ist ein deutlicher Unterschied im Verhalten des

Roll-Offs zwischen den beiden OCT-Systemen zu erkennen. Zur Bestimmung des Roll-Offs wurden die Maxima der Reflexe detektiert. Für das Callisto-System wurde die Funktion aus Gleichung 3.25 iterativ mit Hilfe des Levenberg-Marquardt-Algorithmus an die gemessenen Maxima angepasst. Der bestimmte Signalabfall kann mit ungefähr 9 dB mm^{-1} angegeben werden. Bei dem OMES-System erfolgte die Bestimmung des Roll-Offs über eine lineare Funktion, welche mit der Least-Squares-Methode gelöst wurde. Der gemessene Roll-Off ist mit 0.21 dB mm^{-1} vernachlässigbar klein.

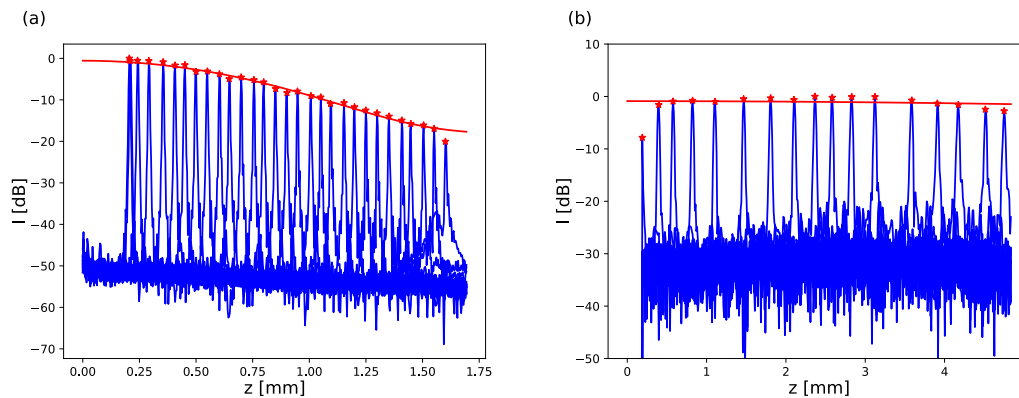


Abb. 6.4: Gemessene und nachträglich überlagerte Reflexe des ND-Filters (blau) zur Bestimmung des Roll-Offs für das Callisto-System (a) und das OMES-System (b). Die roten Sterne markieren die extrahierten Punkte, um die jeweilige Roll-Off-Funktion zu bestimmen (rot).

Für die Bestimmung der Fokusslage müssen die Rayleighlänge und die Fokusposition ermittelt werden (siehe Gleichung 3.26). Aufgrund der niedrigeren NA des Aufnahmeobjektivs des OMES-Systems, dass die Rayleighlänge größer ist als bei der Fokuslage des Callisto-Systems. Eine höhere Rayleighlänge bedeutet eine gleichmäßigere Intensitätsverteilung und geringere Variation der lateralen Auflösung entlang der Tiefenachse. Jedoch ist die laterale Auflösung in der Fokusebene bei einem Objektiv mit hoher NA größer. Für die Bestimmung der Fokusparameter für das Callisto-System wurde wieder ein ND-Filter durch das OCT-Messfenster gefahren, wobei der Referenzarm und die Fokuslage innerhalb des Messfensters fix war. Es wurde lediglich der Abstand des ND-Filters zum Objektiv verändert. Genau wie bei den Roll-Off Messungen wurde auch hier das Maximum des ND-Filter-Signals für jede Messposition ermittelt. Durch die bestimmten Messpunkte wurde anschließend mit Hilfe des Levenberg-Marquardt-Algorithmus die Funktion aus Gleichung 3.26 gelegt. Das Ergebnis dieser Messung ist in Abb. 6.5 (a) dargestellt. Um den Einfluss des Roll-Offs in dieser Messung zu kompensieren, wurde vor der Bestimmung der Maxima immer der ermittelte Roll-Off von der jeweiligen Messung abgezogen.

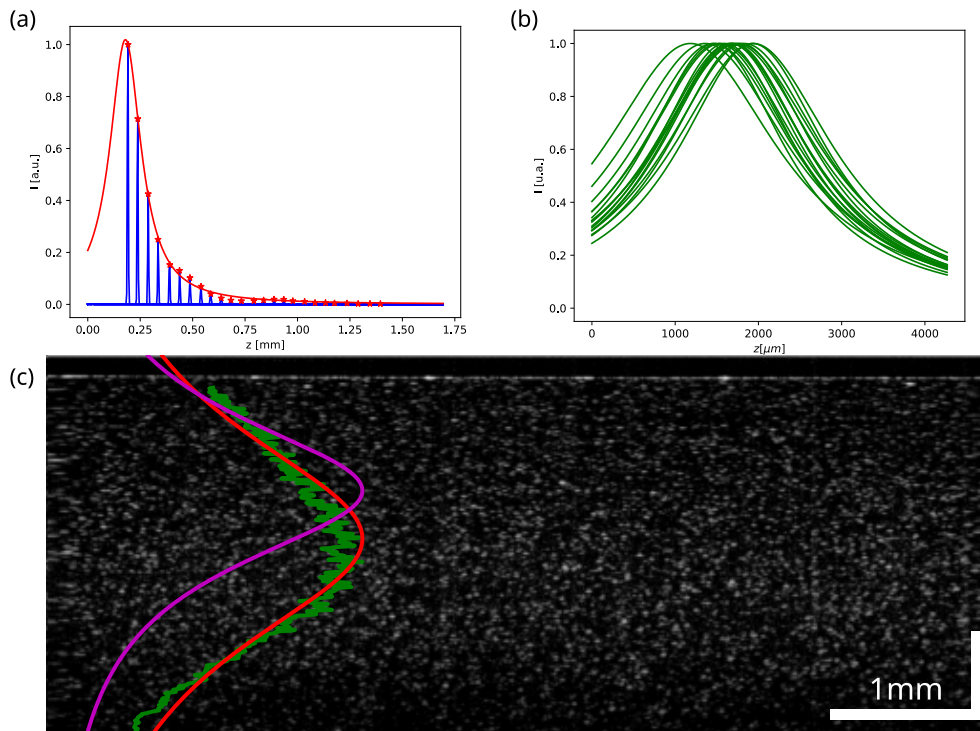


Abb. 6.5: (a) Überlagerte ND-Filter-Signale (blau) zur Bestimmung der Fokusparameter für das Callisto-System. Die roten Sterne markieren die Punkte, um die Fokusfunktion zu bestimmen (rot). (b) Variation der ermittelten Fokusfunktionen des OMES-Systems für die unterschiedlichen Studien-OPs. (c) Beispielhafter B-Scan des Auflösungsphantoms des OMES-Systems mit überlagelter korrigierter Fokusfunktion in magenta. Die gemittelte Intensität der Streukörper, anhand welcher die Fokuslage bestimmt wurde ist in grün dargestellt und die daraus ermittelte Fokusfunktion in rot.

Die Fokusbestimmung für das OMES-System erfolgt durch eine andere Methode. In Abschnitt 6.1.1 wurde bereits erwähnt, dass die Eigenschaften aufgrund von Umbaumaßnahmen von zwischen den Studien-OPs schwanken können. Da die Messungen mit Hilfe des ND-Filters relativ zeitaufwendig sind und die Messung eine senkrechte Ausrichtung des ND-Filters zum Laserstrahl benötigt, wurde sich dafür entschieden, die Fokusfunktion anhand eines Auflösungsphantoms zu schätzen. Das Auflösungsphantom wurde bereits für die Auflösungsbestimmung in Kapitel 4 genutzt und besteht aus einem Epoxidharz ($n = 1,5$) und Nanopartikeln, die als Streukörper fungieren. Für Bestimmung der Fokusparameter wurden die mittleren Intensitäten der Streukörper entlang der Tiefenachse ermittelt (siehe Abb. 6.5 (c)). Anhand der Intensitätswerte wurde anschließend Fokusfunktion berechnet. Die ermittelte Fokusposition beschreibt

die Fokusbildung innerhalb des Auflösungsphantoms. Mit Hilfe von Gleichung 3.33 wurde die Fokusposition verschoben, sodass sie der Fokuslage in Luft entspricht (siehe Abb. 6.5 (c)). Abb. 6.5 (b) zeigt die Variation der Fokuspositionen des OMES-Systems über die unterschiedlichen Studien-OPs.

Mit Hilfe den ermittelten Roll-Off und Fokusfunktionen war es möglich die OCT-B-Scans zu korrigieren, um das Gewebesignal aus den Messungen zu isolieren (siehe Gleichung 3.24). Zunächst wurde der logarithmierte Roll-Off (siehe Gleichung 3.13) von den logarithmierten OCT-B-Scans abgezogen. Anschließend wurde die Korrektur der fokusbedingten Intensitätsverteilung durchgeführt. Auch hier wurde berücksichtigt, dass es eine Fokusverschiebung aufgrund des Brechungsindexunterschiedes zwischen der Luft und dem vermessenen Gewebe ($n = 1,36$, siehe Kapitel 5) gibt. Da die Position der Oberfläche ebenfalls entscheidend für die Verschiebung der Fokuslage ist, wurde die korrigierte Fokusposition (siehe Gleichung 3.32), für jeden A-Scan individuell bestimmt. Die Korrektur der Fokuslage wurde dementsprechend ebenfalls individuell für jeden A-Scan eines B-Scans durchgeführt. Abb. 6.6 zeigt beispielhaft den Einfluss der Fokuskorrektur auf die axiale Intensitätsverteilung. Aufgrund der kürzeren Rayleighlänge des Callisto-Systems hat die Korrektur eine deutlich stärkere Auswirkung auf das OCT-Signal. Es ist deutlich zu sehen, dass die Intensitätsverteilung bei dem Callisto-System entlang der Oberfläche vor der Korrektur deutlich mit der Lage der Oberfläche variiert. Nach der Korrektur ist die Intensitätsverteilung entlang der Oberfläche deutlich regelmäßiger. Aufgrund des starken Roll-Offs des Callisto-Systems wird die Intensität in tiefer gelegenen Bildbereichen überkorrigiert, was dazu führt, dass das Rauschen stark verstärkt wird. Aus diesem Grund muss bei dem Callisto-System darauf geachtet werden, dass die OCT-Bild-Patches nicht zu tief extrahiert werden, um nicht überkorrigierte Bildbereiche in die Gewebeklassifikation mit einzuschließen. Beim OMES-System sind die Auswirkungen der Korrektur aufgrund des geringen Roll-Offs und der geringen NA deutlich subtiler. Hier wirkt sich die Verstärkung des Rauschens aufgrund der Überkorrektur weniger aus, wodurch die Extraktion der OCT-Bild-Patches weniger eingeschränkt ist, als bei dem Callisto-System. Ein Nachteil bei der hier vorgestellten Korrektur ist die fehlende Berücksichtigung der Veränderung der lateralen Auflösung mit zunehmendem Abstand von der Fokusposition. Gleichung 3.26 ist nur in der Lage die Intensitätsverteilung zu kompensieren, aber nicht das ebenfalls stattfindende Verschmieren von Bildinformationen. Dies ist ein weiterer Grund, warum OCT-Bild-Patches beim Callisto-System nicht zu tief extrahiert werden dürfen.

6.1.3 Extraktion der OCT-Bild-Patches

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. Die Extraktion von OCT-Bild-Patches ermöglicht zunächst eine Reduktion der Gesamtdaten, da nicht relevante Daten nicht

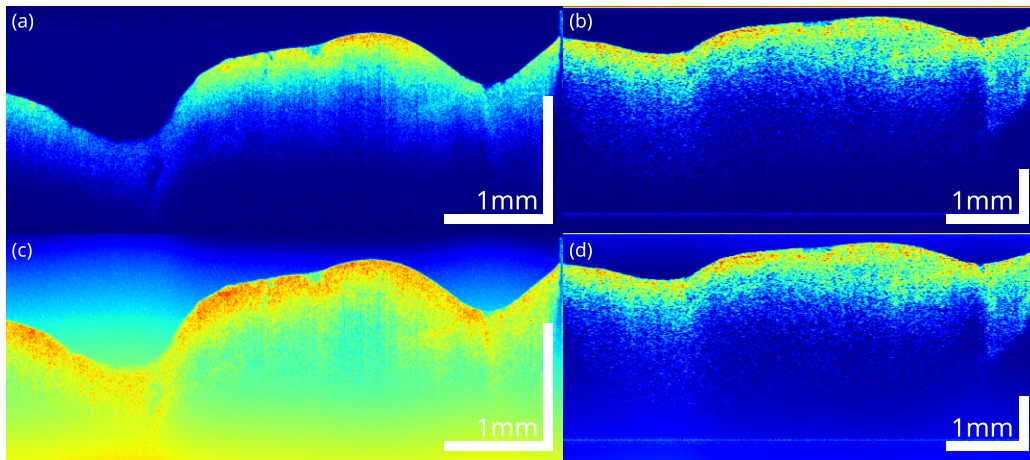


Abb. 6.6: OCT-B-Scans vor und nach der Korrektur von Roll-Off und Fokuseinflüssen für die beiden OCT-Systeme (OMES (b, d), Callisto (a, c)).

mehr berücksichtigt werden müssen. Außerdem erlaubt die gleiche Größe der OCT-Bild-Patches eine einfache und standardisierte Datenauswertung. 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 $100\ \text{Pixel} \times 50\ \text{Pixel}$ und beim OMES-System von $50\ \text{Pixel} \times 50\ \text{Pixel}$. Die gewählte Tiefe hingte stark von der Messtiefe des Callisto-Systems ab. Aufgrund des starken Roll-Offs und der geringen Eindringtiefe, durfte die Tiefe der Bild-Patches nicht zu groß gewählt werden. Die Abb. 6.7 veranschaulicht die Extraktion der OCT-Bild-Patches etwas genauer. Es wurden laterale Sicherheitsbereiche von $50\ \text{Pixel}$ ($\approx 200\ \mu\text{m}$) verwendet, innerhalb welcher keine OCT-Bild-Patches extrahiert wurden. Diese Abstände wurden jeweils am Beginn und am Ende eines OCT-B-Scans angewendet. Der Grund dafür sind mögliche Agaroseinformationen, welche durch ungenaues Ausschneiden während der Transformation der histologischen Annotationen im OCT-B-Scan verblieben sind. Die Sicherheitsabstände wurden ebenfalls zwischen den Übergängen von zwei Gewebearten angewandt. Mit Hilfe dieser Sicherheitsabstände soll sichergestellt werden, dass sich nur eine Gewebeart innerhalb des OCT-Bild-Patches befindet. Zusätzlich wurden mögliche Fehler bei der Transformation kompensiert. Speziell für das Callisto-System wurde eine maximale Tiefe festgelegt, ab der keine OCT-Bild-Patches mehr extrahiert werden können. Hierfür wurde eine maximale Tiefe von $500\ \mu\text{m}$ festgelegt. Ab dieser Tiefe ist eine gute Signalqualität aufgrund des axial sinkenden Signal-zu-Rausch-Verhältnisses nicht mehr gewährleistet. Mögliche Reflexionsartefakte (siehe Abb. 6.7 (a)) wurden für jeden A-Scan mit Hilfe eines Intensitätsgrenzwertes, der empirisch und individuell für jedes OCT-System ermittelt wurde, ausgeschlossen. Um möglichst viele OCT-Bild-Patches aus den OCT-B-Scans zu erhalten, wurden die Patches jeweils zur Hälfte überlagert.

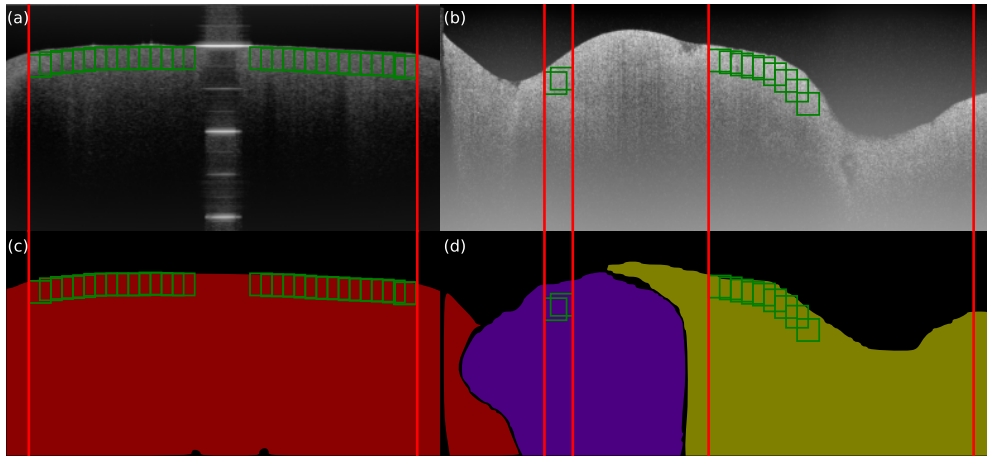


Abb. 6.7: Beispiele für die Extraktion der OCT-Bild-Patches (grün) auf den OCT-B-Scans. (a,c) zeigen die Extraktion der OCT-Bild-Patches, für den Fall, dass ein Bildartefakt im B-Scan vorhanden ist. (b,d) zeigen das Verhalten der Ermittlung der OCT-Bild-Patches, wenn inhomogene Gewebekombinationen in den Annotationen zu finden sind. Zusätzlich ist hier ebenfalls dargestellt, dass OCT-Bild-Patches unterhalb einer Tiefe von $500\ \mu\text{m}$ ebenfalls nicht extrahiert wurden. Die roten Linien bilden die Bereiche ab, innerhalb derer valide OCT-Bild-Patches gefunden werden können.

Das letzte Kriterium, ob ein Bild-Patch extrahiert werden konnte, war abhängig von dem Gewebetyp. Für die Gewebeanalyse lag der Fokus auf grauer Masse, weißer Masse und die unterschiedlichen Tumordinfiltrationsstufen in weißer Masse. Es handelt sich dabei um die meist vertretenen Annotationen innerhalb des Datensatzes und die wichtigsten Gewebearten für eine Gewebeklassifikation (siehe Abb 4.7). Abb. 6.8 zeigt Beispiele für die extrahierten OCT-Bild-Patches für die jeweiligen Gewebearten mit den dazugehörigen histologischen Erscheinungsbild. Die generelle Verteilung der unterschiedlichen Gewebearten innerhalb des Datensatzes ist in Abb. 6.9 aufgeführt. Es ist gut zu sehen, dass gesunde graue Masse und weiße Masse mit hoher Tumordinfiltration ($>60\%$) einen großen Anteil an dem Datensatz haben. Der Grund dafür ist die gezielte Entnahme von grauer Masse aus der Oberfläche und des tumorösen Gewebes aus der Tumormainmasse. Die anderen Gewebearten konnten aufgrund des Studienprotokolls nicht so gezielt entnommen werden. Anhand der Abb.6.9 (b, d) lässt sich die Plausibilität der Annotationen nochmals feststellen. Die geringen Tumordinfiltrationsstufen ($>0\%$ bis 30% und 30% bis 60%) gibt es nur für die diffus wachsenden Gliome vom Grad 3 und Grad 4. Da Metastasen und niedergradige Gliome nicht diffus wachsen, würde ein Auftauchen dieser Pathologien innerhalb der geringen Tumordinfiltrationsstufen auf Fehler in der Annotation hindeuten. Da dies hier nicht der Fall ist, kann davon ausgegangen werden, dass die Annotationen mit hoher Wahrchein-

lichkeit für den Datensatz Plausibel sind. Für einen besseren Vergleich der beiden OCT-Systeme wurden nur Bild-Patches aus OCT-B-Scans extrahiert, die vollständig für beide OCT-Systemen vorliegen.

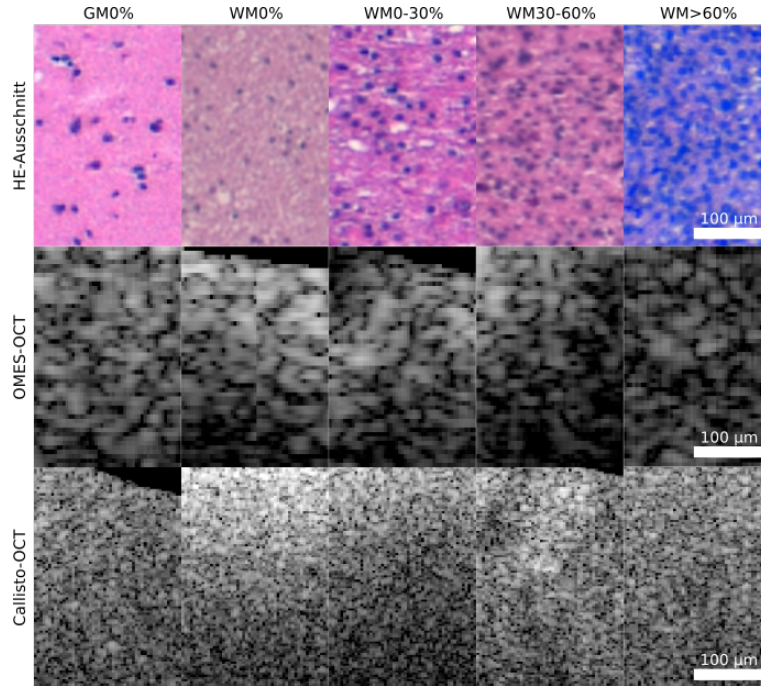


Abb. 6.8: Beispiele für die extrahierten OCT-Bild-Patches für jedes der beiden Ex-vivo-OCT-Systeme und die dazu korrespondierenden Ausschnitte von histologischen Bildern. Die Bildpatches wurden für die folgenden Gewebe dargestellt: Weiße Masse 0% Tumorinfiltration = WM0%, weiße Masse 0% bis 30% Tumorinfiltration = WM0% bis 30%, weiße Masse 30% bis 60% Tumorinfiltration = WM30% bis 60%, weiße Masse >60% Tumorinfiltration = WM>60% und graue Masse 0% Tumorinfiltration = GM0%).

6.2 Bestimmung der optischen Gewebeeigenschaften von menschlichem Gehirn

Die aus dem vorherigen Abschnitt erstellten OCT-Bild-Patches enthalten nach der Korrektur von Roll-Off und Fokuseffekten das reine OCT-Signal (siehe Gleichung 3.24), welches die tiefenaufgelösten Gewebeinformationen $I(z)$ enthält. Die Bestimmung optischen Parameter beschränkt sich auf den Abschwächungskoeffizienten μ_t und der Intensität I_0 , welche proportional zum Anteil des zurückgestreuten Lichtes ist (siehe Abschnitt 3.3). Für die Bestimmung der optischen Parameter wurde jeder OCT-

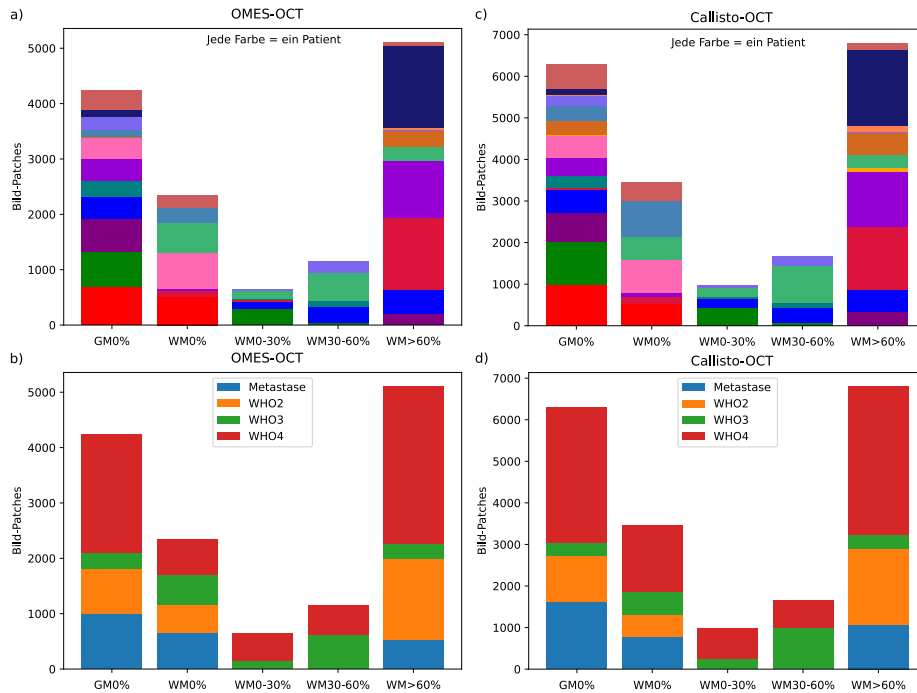


Abb. 6.9: Verteilung der extrahierten OCT-Bild-Patches in Abhängigkeit von den Studienpatienten und den unterschiedlichen Diagnosen für die fünf ausgewählten Gewebearten und die beiden OCT-Systeme. Die unterschiedlichen Farben in (a) und (c) stehen jeweils für einen Patienten. Die folgenden Gewebearten sind dargestellt: Weiße Masse 0 % Tumorinfiltration = WM0 %, weiße Masse 0 % bis 30 % Tumorinfiltration = WM0 % bis 30 %, weiße Masse 30 % bis 60 % Tumorinfiltration = WM30 % bis 60 %, weiße Masse >60 % Tumorinfiltration = WM>60 % und graue Masse 0 % Tumorinfiltration = GM0 %).

Bild-Patch zuvor entlang der lateralen Achse zu einem OCT-A-Scan gemittelt (siehe Abb. 6.10 (a)). Anhand dieses gemittelten A-Scans wurden die Parameter auf Basis von Gleichung 3.39 berechnet. Der Grund hierfür ist die Ermittlung der Parameter ohne spezifisches Vorwissen zur Gewebeszusammensetzung, wie es für Gleichung 3.35 notwendig ist. Ein weiterer Vorteil ist die schnelle Parameterbestimmung über einen Least-Squares-Ansatz, anders als bei Lösung von Gleichung 3.38. Ein Nachteil dieses Verfahrens ist das Festlegen einer ROI, in der die Parameter ermittelt werden (siehe Abb. 6.10 (a)). Wird die ROI zu hoch oder zu tief angesetzt, kann zum Beispiel Rauschen die Ergebnisse verfälschen. Da die Bild-Patches unterhalb der Gewebeoberfläche extrahiert wurden, kann die ROI nicht zu hoch gesetzt werden, um Rauschen zu beinhalten. Für eine Unterdrückung des Rauschens in der Tiefe wurden Gewichte w eingeführt, welche der normierten A-Scan-Intensität entsprachen. Somit wurden die hohen Intensitäten mehr berücksichtigt als niedrige. Für die Eigenschaften der

ROI wurde sich an anderen Forschungsgruppen orientiert [Wang u. a., 2017; Yashin u. a., 2019a]. Diese führten einen Versatz ein, um oberflächennahe Reflexionsartefakte zu umgehen. Aus diesem Grund beginnt die ROI erst nach 50 μm . Die Länge der ROI wurde auf 200 μm festgelegt. Für das Lösen von Gleichung 3.39 mit dem Least-Square-Verfahren, um die optischen Parameter zu bestimmen, wurde Gleichung 3.39 in eine Matrixform gebracht. Hierzu wird ähnlich zu Gleichung 5.14 eine Fehlerfunktion $E(\ln(I_0), \mu_t)$ gebildet [Guo, 2012]:

$$E(\ln(I_0), \mu_t) = \sum_{i=1}^N (\ln(I_i) - (\ln(I_0) - 2\mu_t z_i))^2 \quad (6.2)$$

Um die Werte $\ln(I_0)$ und μ_t zu finden, welche $E(\ln(I_0), \mu_t)$ minimieren, wurden die räumlichen Ableitungen für die zwei gesuchten Parameter gebildet. Das Gleichungssystem mit dem die beiden optischen Parameter ermittelt werden konnten, sieht wie folgt aus:

$$\begin{bmatrix} \sum_1^N \ln(I_i) w_i \\ \sum_1^N \ln(I_i) w_i z_i \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sum_1^N w_i & -2 \sum_1^N w_i z_i \\ \sum_1^N w_i z_i & -2 \sum_1^N w_i z_i^2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \ln(I_0) \\ \mu_t \end{bmatrix} \quad (6.3)$$

Die bestimmten optischen Parameter aller extrahierten OCT-Bild-Patches sind in Abb. 6.10 (b) beispielhaft für das OMES-System dargestellt (Darstellung der Werte für das Callisto-System siehe Anhang C.2). 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 [Yashin u. a., 2019b]. Gesunde weiße Masse besitzt einen hohen Anteil an Myelinscheiden und zeigt hohe Werte für μ_t 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 g 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 μ_t kleiner. Im Vergleich zu gesunder grauer Masse besitzt stark tumorinfiltrierte weiße Masse eine höhere Zellkerndichte und somit eine höhere Streuanisotropie. Yaroslavsky u. a., 2002 haben mit Hilfe einer Ulbricht-Kugel die Anisotropie von weißer Masse ($g \approx 0,88$), grauer Masse ($g \approx 0,90$) und eines Astrozytoms (WHO 2) ($g \approx 0,96$) für die OCT relevanten Wellenlängenbereich von 800 nm bis 1100 nm bestimmt [Yaroslavsky u. a., 2002]. 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. Nur Willmann u. a., 1999 bestimmten, als weitere Forschungsgruppe, den Anisotropiefaktor von einem Astrozytom (WHO 3) mit $g = 0,88$ bei einer Wellenlänge von 800 nm [Willmann u. a., 1999]. Die Messungen wurden mit einem Mikrospektrophotometer durchgeführt und lassen sich aufgrund des Fehlens von Referenzmessungen von gesundem Gehirngewebe nur schwer mit den Werten von Yaroslavsky u. a., 2002 vergleichen. Andere Forschungsgruppen, die ebenfalls graue und weiße Masse mit einer Ulbricht-Kugel ermittelt haben, erzielten für beide Gewebe eine Anisotropie von $g \approx 0,96$ für die Wellenlängen 850 nm und 1064 nm [Gottschalk, 1992; Roggan u. a., 1994]. Allerdings fehlen auch hier Messungen von Gehirntumor, weshalb die Ergebnisse von Yaroslavsky u. a., 2002, die einzigen sind, die eine gute Vergleichbarkeit unter den drei Gewebearten zulassen.

Um die Unterschiede zwischen den beiden Systemen und den unterschiedlichen Pathologien besser bewerten zu können, wurden die optischen Parameter in Abb. 6.11 passend aufgeteilt. Die optischen Parameter wurden anders als in Abb. 6.10 (b) hier getrennt aufgeführt, um eine differenziertere Aussage über das Verhalten bei zunehmender Tumordinfiltration 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 Tumordinfiltration 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 μ_t proportional zueinander, jedoch ist festzustellen, dass sich Änderungen in den Gewebeeigenschaften relativ gesehen stärker auf I_0 auswirken, als auf μ_t . Venkata, 2012b zeigte ein ähnliches Verhalten anhand von konfokal Mikroskopiemessungen. Hierbei hatten Veränderungen der Anisotropie größere Auswirkungen auf die gemessene die Reflektanz, die sich proportional zu I_0 verhält, als auf den Streukoeffizienten [Jacques, 2013; Venkata, 2012b].

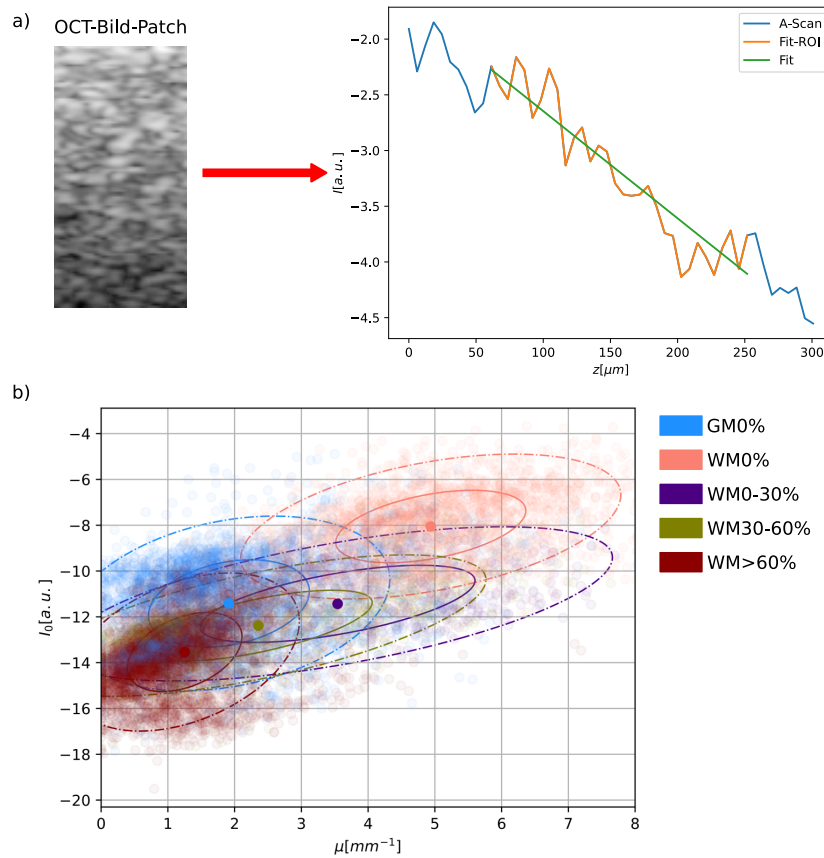


Abb. 6.10: (a) Beispielhafte Anwendung der linearen Regression auf dem mittleren A-Scan des extrahierten OCT-Bild-Patches des OMES-Systems(a). Punktwolke zur Darstellung der Cluster, welche sich basierend auf den optischen Parametern für die untersuchten Gewebe mit dem OMES-System bilden (b) (gesunde Weiße Masse (WM0%), weiße Masse mit geringer Tumordinfiltration (WM0% bis 30%), weiße Masse mit mittlerer Tumordinfiltration (WM30% bis 60%), weiße Masse mit hoher Tumordinfiltration (WM>60%) und graue Masse 0% Tumordinfiltration (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.

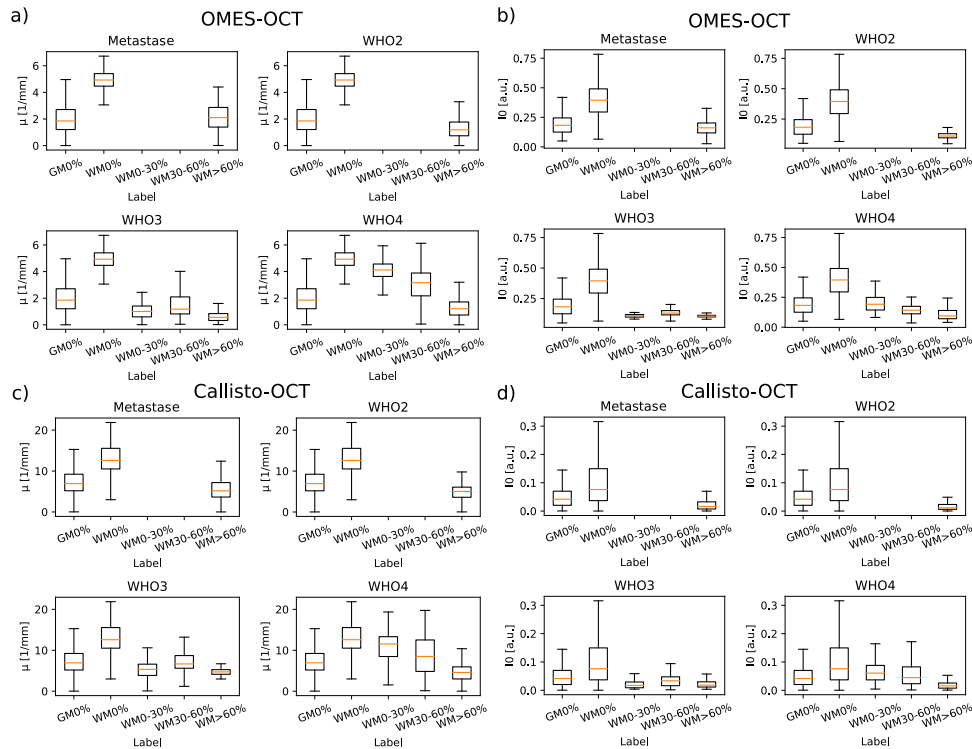


Abb. 6.11: Ermittelte optische Parameter μ_t und I_0 für die beiden OCT-Systeme OMES (a, b) und Callisto (c, d) für die vier unterschiedlichen Pathologien. Orange markiert den Medianwert der optischen Parameter innerhalb des Boxplots. I_0 zeigt hier den linearisierten Wert, welcher zu dem Maximum der bestimmten I_0 normiert wurde. Die optischen Parameter wurden für die folgenden Gewebe ermittelt: Weiße Masse 0 % Tumorinfiltration = WM0 %, weiße Masse 0 % bis 30 % Tumorinfiltration = WM0 % bis 30 %, weiße Masse 30 % bis 60 % Tumorinfiltration = WM30 % bis 60 %, weiße Masse >60 % Tumorinfiltration = WM>60 % und graue Masse 0 % Tumorinfiltration = GM0 %. [Entnommen aus [Strengel u. a., 2022a]] Der Zusammenhang zwischen den optischen Parametern ist im Anhang C.2 aufgeführt.

Um den Unterschied zwischen den OCT-Systemen zu vergleichen, wurde die Tabelle 6.2 anhand der Werte aus Abb.6.11 erstellt und zeigt zusammengefasst die bestimmten optischen Parameter für alle Pathologien, aufgeteilt nach dem OCT-System. Anhand der optischen Parameter wurden die Verhältnisse zwischen den einzelnen Gewebearten für die beiden optischen Parameter für jedes OCT-System ermittelt (siehe Anhang C.1). Für jeden optischen Parameter wurden Quotienten zwischen korrespondierenden Verhältnissen der beiden OCT-Systeme gebildet. Für μ_t wurde ein relativer Unterschied zwischen den beiden OCT-Systemen von 1,00 [0,76;1,31] und für I_0 wurde

ein Unterschied von 1,00 [0,64;1,54] berechnet. Diese Ergebnisse zeigen, dass basierend auf den ermittelten optischen Parametern der beiden OCT-Systeme relativ kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden OCT-Systemen besteht. Lediglich die Schwankungsbreiten der Messwerte (siehe Abb. 6.11 und Tabelle 6.2) sind bei dem Callisto-System deutlich ausgeprägter. Ein Grund hierfür könnte die schwierigere Korrektur des Fokus und des Roll-Offs sein, aufgrund der höheren NA im Vergleich zum OMES-System. Es können Fehler bei der Korrektur aufgetreten sein, welche sich stark auf die intensitätsabhängigen optischen Parameter auswirken und zu Abweichungen führen konnten.

Tabelle 6.2: Numerische Werte der ermittelten optischen Parameter für alle Pathologien, abgeleitet aus Abb. 6.11. Die dargestellten Werte spiegeln den Medianwert wieder. Die Werte in den Klammern sind jeweils die Werte des 25 % und 75 % Quantiles, innerhalb welchen 50 % der ermittelten optischen Parameter liegen. [Entnommen aus [Strengé u. a., 2022a]]

OCT-System	GM 0 %	WM 0 %	WM 0 % bis 30 %	WM 30 % bis 60 %	WM >60 %
Callisto-OCT μ_t [mm ⁻¹]	6,93 [5,18;9,22]	12,58 [10,52;15,55]	10,21 [5,72;12,80]	6,95 [5,46;10,41]	4,79 [3,32;6,06]
OMES-OCT μ_t [mm ⁻¹]	1,85 [1,21;2,71]	4,93 [4,47;5,41]	3,91 [1,70;4,39]	2,05 [1,05;3,67]	1,22 [0,72;1,81]
Callisto-OCT I_0 [a.u.]	0,04 [0,02;0,07]	0,08 [0,04;0,15]	0,05 [0,02;0,08]	0,04 [0,02;0,06]	0,01 [0,01;0,03]
OMES-OCT I_0 [a.u.]	0,18 [0,13;0,25]	0,40 [0,29;0,49]	0,16 [0,12;0,24]	0,13 [0,11;0,17]	0,11 [0,08;0,14]

6.3 Tumorklassifikation mit neuronalen Netzwerken

Mit Hilfe einer Klassifikation sollte ermittelt werden, wie gut Tumorgewebe von gesundem Hirngewebe getrennt werden kann [Strengé u. a., 2022a]. 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 % bis 60 % den Tumordaten hinzugefügt. Das Gleiche geschah bei der dritten Aufgabe (III) mit den Daten mit einer Tumordinfiltration von >0 %. 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 anderen eine Reihe von Faltungsoperationen (siehe Abb. 6.12 (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 aus dem Abschnitt 5.1.3. Die Faltungsblöcke bestehen aus zwei oder drei Faltungsschichten, auf welche jeweils eine Max-Pooling-Schicht folgt [Gesperger u. a., 2020; Simonyan u. a., 2014]. Mit Hilfe der Max-Pooling-Schicht wurden die Daten herunterskaliert, indem maximaler Wert innerhalb einer ROI ($2 \text{ Pixel} \times 2 \text{ Pixel}$) bestimmt wurde und dann den nachfolgenden Faltungsblock übergeben wurde. Die Anzahl der Filter pro Faltungsschicht wurde zu Beginn auf 64 gesetzt und wurde mit jedem Faltungsblock verdoppelt. Für die Faltungsoperationen innerhalb einer Schicht wurde eine Filtergröße von $3 \text{ Pixel} \times 3 \text{ Pixel}$ verwendet und das Padding wurde so eingestellt, dass die Eingangsgröße erhalten bleibt. Als Aktivierungsfunktion wurde eine ReLu-Aktivierung verwendet. 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 Dense-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. Für das Training des neuronalen Netzwerkes aus Abb. 6.12 (a) wurde eine k-fache Kreuzvalidierung verwendet [Stone, 1974]. 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 das Ungleichgewicht 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 Trainingsda-

tensatzes 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. Vor dem Übergeben der OCT-Bild-Patches an das neuronale Netzwerk wurden, diese standardisiert mit Hilfe folgender Gleichung:

$$I_n(x, y) = \frac{I_n(x, y) - \bar{I}}{\sigma} \quad (6.4)$$

$I_n(x, y)$ ist der verwendete Bildpatch und \bar{I} ist der globale Intensitätsmittelwert über alle OCT-Bild-Patches $I_n(x, y) (n = 1, \dots, N)$. σ ist die globale Standardabweichung der Intensitäten. Während des Trainings wurden gleichzeitig 32 OCT-Bild-Patches als Batch verarbeitet [Masters u. a., 2018]. Für die Optimierung wurde die generalisierte Kreuzentropie, ähnlich zu Gleichung 5.8 in Kombination mit einem Adam-Optimierer und einer Lernrate von 1×10^{-3} verwendet [Kingma u. a., 2014; Zhang u. a., 2018]. Für die Evaluierung der Netzwerkperformance wurden die Sensitivität und Spezifität bestimmt [Powers, 2011]. Die Sensitivität (TPR, engl. true positive rate) beschreibt wie gut tumoröses Gewebe erkannt werden konnte. Die TPR wurde wie folgt bestimmt:

$$\text{TPR} = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FN}} \quad (6.5)$$

TP (engl. true positives) ist die Anzahl an korrekt klassifizierten OCT-Bild-Patches mit Tumorannotation, während FN (engl. false negatives) die Anzahl an OCT-Bild-Patches zusammenfasst, welche falsch als gesund klassifiziert wurden. Die Spezifität (TNR, engl. true negative rate) ist das Gegenteil der Sensitivität. In diesem Falle beschreibt die TNR, wie gut gesundes Gewebe erkannt wurde. Für die Bestimmung der TNR wurde folgende Gleichung verwendet:

$$\text{TNR} = \frac{\text{TN}}{\text{TN} + \text{FP}} \quad (6.6)$$

TN (engl. true negatives) ist die Anzahl an OCT-Bild-Patches, welche korrekt als gesund klassifiziert wurden. FP (engl. false positives) ist die Anzahl an OCT-Bild-Patches, welche falsch als tumorös klassifiziert wurden.

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 Dense-Schichten besteht (siehe Abb. 6.12 (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 μ_t . 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.

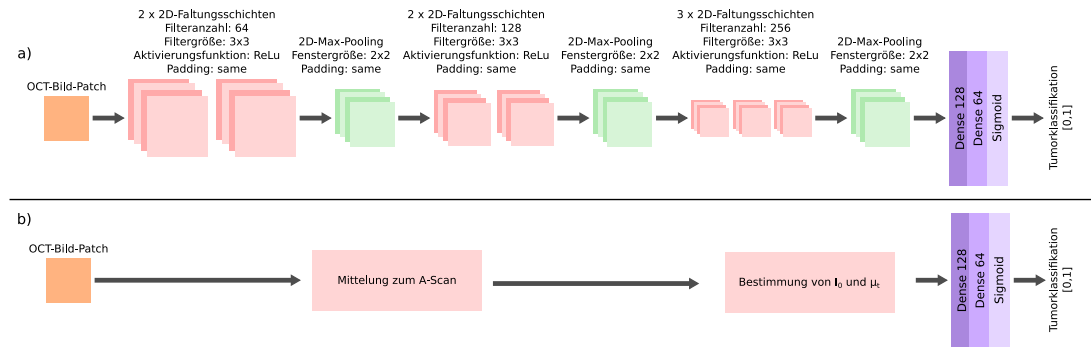


Abb. 6.12: Aufbau der neuronalen Netzwerke für die Gewebeklassifikation auf Basis der OCT-Bild-Patches (a) und der extrahierten optischen Parametern (b). [Entnommen aus [Strengue u. a., 2022a]]

Die Ergebnisse der Gewebeklassifikation auf Basis der Ex-vivo-Daten sind in Tabelle 6.3 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 Abb. 6.10 (b) und Tabelle 6.2 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 Gewebeararten 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 Abb. 6.10 (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.

Tabelle 6.3: 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 [Strenge u. a., 2022a]].

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

6.4 Diskussion

Bei der Bestimmung der optischen Parameter I_0 und μ_t wurden die Trends anderer Gruppen bestätigt. Yashin u. a., 2019a und Kut u. a., 2015 berechneten die Abschwächungskoeffizienten für graue Masse, weiße Masse und tumordinfiltriertes Hirngewebe von unterschiedlichen Hirntumorarten [Kut u. a., 2015; Yashin u. a., 2019a]. Beide Forschungsgruppen benutzten mit 1300 nm eine ähnliche Aufnahmewellenlänge für ihr jeweiliges OCT-System, wie das OMES-System. Yashin u. a., 2019a bestimmte μ_t unter anderem für weiße Masse (8.5 mm^{-1}), graue Masse (2.5 mm^{-1}) und Glioblastom

(3.0 mm^{-1} bis 5.5 mm^{-1}) [Yashin u. a., 2019a]. Kut u. a., 2015 ermittelte die Abschwächungskoeffizienten für weiße Masse und unterschiedliche Tumordinfiltrationsstufen: gesunde weiße Masse ($(6.2 \pm 0.8) \text{ mm}^{-1}$), tumordinfiltrierte weiße Masse ($(3.5 \pm 0.8) \text{ mm}^{-1}$) und dem Tumorkern ($(3.9 \pm 1.6) \text{ mm}^{-1}$) [Kut u. a., 2015]. Bei dem Vergleich dieser Ergebnisse mit den hier vorgestellten Werten für die Abschwächungskoeffizienten, ist festzustellen, dass die absoluten Werte sich zwischen den Gruppen unterscheiden, jedoch sind die relativen Trends gleich. Unabhängig von der Datenaufnahme und -verarbeitung ist die Verringerung des Abschwächungskoeffizienten in weißer Masse mit zunehmender Tumordinfiltration deutlich erkennbar. Dieses Verhalten begründet sich mit der Zersetzung der Myelinscheiden, welche durch den Tumor zersetzt werden [Bevilacqua u. a., 1999; Yashin u. a., 2019a]. Das Fehlen der Myelinscheiden in gesunder grauer Masse erschwert die Trennung von tumordinfiltrierter weißer Masse, da es eine starke Überschneidung der bestimmten Abschwächungskoeffizienten gibt. Der Unterschied der absoluten Werte der bestimmten Abschwächungskoeffizienten zwischen den einzelnen Forschungsgruppen kann durch die unterschiedlichen Eigenschaften der OCT-Systeme oder durch die verschiedenen Vorgehensweisen bei der Signalverarbeitung bedingt sein. Kut u. a., 2015 nutzten zum Beispiel ein Referenzphantom, um Fokus- und Roll-Off-Effekte zu kompensieren [Kut u. a., 2015]. Yashin u. a., 2019a wiederum verzichteten auf eine zusätzliche Korrektur der Daten, da durch die Verwendung eines SONDENSYSTEMS die Fokuslage innerhalb eines OCT-B-Scans als konstant angenommen wurde [Yashin u. a., 2019a]. Durch die nicht durchgeführte Korrektur des Fokus und des Roll-Offs fallen die Werte für die Abschwächungskoeffizienten größer aus als mit den hier vorgestellten Werten. Ein anderer Grund für die abweichenden Werte könnte Dauer der Probenverarbeitung nach der Entnahme sein. Kiseleva u. a., 2017 zeigten, dass es signifikante Abweichungen zwischen den bestimmten Abschwächungskoeffizienten von In-vivo- und Ex-vivo-Proben geben kann [Kiseleva u. a., 2017]. Sie bestimmten μ_t für In-vivo-Proben und Ex-vivo-Proben von Rattenhirnen. Dabei zeigten sich bei gesunder weiße Masse und Tumorgewebe signifikante Unterschiede in den bestimmten Abschwächungskoeffizienten. In-vivo wurden bei diesen Gewebearten kleinere Werte gemessen, als Ex-vivo (In-vivo-WM: 7.5 mm^{-1} , Ex-vivo-WM: 9.0 mm^{-1} , In-vivo-T: 5.5 mm^{-1} , Ex-vivo-T: 7.0 mm^{-1}). Die Verarbeitungszeit einer Ex-vivo-Probe in dieser Arbeit wurde innerhalb von 15 min abgeschlossen, während Yashin u. a., 2019b eine Verarbeitungszeit von 15 min bis 30 min hatten [Yashin u. a., 2019b]. Kut u. a., 2015 veröffentlichten nicht die Verarbeitungszeit der Ex-vivo-Proben, wodurch es möglich sein kann, dass die Proben schneller verarbeitet wurden. Somit gäbe es eine weitere Erklärung für die kleineren Werte für die Abschwächungskoeffizienten.

Die ermittelten Werte für die Abschwächungskoeffizienten für das Callisto-System mit der Aufnahmewellenlänge von 930 nm können nicht direkt mit Werten anderer Veröffentlichungen verglichen werden, da Forschungsgruppen mit OCT-Systemen mit einer vergleichbaren Wellenlänge sich bei der Klassifikation auf strukturelle Informationen gestützt haben [Lenz u. a., 2018; Möller u. a., 2021] oder nur eine qualitative

Analyse durchgeführt haben [Böhringer u. a., 2006]. Laut Almasian u. a., 2015 sollten die Abschwächungskoeffizienten kleiner sein, als die in der Literatur bestimmten Streukoeffizienten, da Mehrfachstreuung gerade bei stark streuenden Gewebe einen Einfluss haben kann. Die hier vorgestellten Werte für die Abschwächungskoeffizienten für eine Aufnahmewellenlänge von 930 nm sind kleiner als die Streukoeffizienten ($\mu_{s,850nm} = 34.2 \text{ mm}^{-1}$, $(\mu_{s,1064nm} = 29.6 \text{ mm}^{-1})$), welche von Yaroslavsky u. a., 2002 für menschliche weiße Masse ermittelt wurden [Yaroslavsky u. a., 2002]. Die ermittelten Abschwächungskoeffizienten des Callisto-Systems fallen höher aus, als die von dem OMES-System bestimmten, da die Streueigenschaften in menschlichen Gehirn mit kleinerer Wellenlänge zunehmen [Yaroslavsky u. a., 2002]. Dennoch sind die relativen Trends die gleichen, wie bei dem OMES-System.

Die ermittelten Werte von I_0 sind proportional zu den bestimmten Abschwächungskoeffizienten. Jedoch fällt auf, dass die relativen Unterschiede zwischen den ermittelten Werten von I_0 für die unterschiedlichen Infiltrationsgrade innerhalb von weißer Masse viel größer sind, als die relativen Unterschiede der ermittelten Abschwächungskoeffizienten. Venkata, 2012b sieht den Grund hierfür in der, sich mit zunehmenden Tumordinfiltration, ändernden Streuanisotropie [Jacques, 2013; Venkata, 2012b]. Eine Veränderung der Anisotropie bewirkt eine Veränderung der optischen Parameter I_0 und μ_t . Dabei fällt die Änderung bei I_0 stärker aus. Bis jetzt wurde die quantitative Analyse der maximalen Intensität des OCT-Signales bei der Analyse von menschlichem Gehirn vernachlässigt. Lediglich Yashin u. a., 2019b verwendete die Intensität als subjektiven Parameter für die Erkennung von Tumorgewebe bei der Analyse von In-vivo-Proben [Yashin u. a., 2019b].

Bei der Trennung von gesundem und tumorinfiltriertem Gehirngewebe mit Hilfe des neuronalen Netzwerkes wurden verschiedene Abstufungen des Klassifikationsproblems betrachtet. Jede Klassifikationsaufgabe wurde aus Problemen abgeleitet, welche von verschiedenen Forschungsgruppen beschrieben wurden. Das markanteste Problem ist die Trennung von gesunder weißer Masse und stark tumorinfiltrierter weißer Masse. Für die Datensätze der beiden OCT-Systeme wurden sehr gute Klassifikationsergebnisse erreicht. Der Grund hierfür ist der starke optische Unterschied zwischen den beiden Gewebearten. Die erreichten Ergebnisse sind vergleichbar mit anderen Forschungsgruppen, die andere Machine Learning Ansätze für die Trennung verwendet haben. Juarez-Chambi u. a., 2019 erreichten eine Sensitivität von 99 % und eine Spezifität von 86 % für einen Ansatz basierend auf A-Scan-Daten [Juarez-Chambi u. a., 2019]. Andere Gruppen verwendeten Bild-Patch oder B-Scan basierte Ansätze und erreichten ebenfalls eine Genauigkeit von über 93 % für die Trennung des gesunden Gewebes von Meningeom, Metastasen oder stark infiltrierter weißer Masse [Gesperger u. a., 2020; Lenz u. a., 2018; Möller u. a., 2021]. Gesperger u. a., 2020 merkten an, dass die Klassifikationsgenauigkeit stark abnimmt, wenn die Tumordinfiltration nicht während des Trainings berücksichtigt wird. Die Klassifikationsaufgaben II und III berücksichtigten unterschiedliche Stufen von Tumordinfiltration während des Trainings, was trotzdem

dazu geführt hat, dass die Genauigkeit der Klassifikation signifikant, um mehr als 5 % abnimmt. Dieses Verhalten ist plausibel, da mit abnehmender Tumordinfiltration die Ähnlichkeit zu gesunder weißer Masse zunimmt, wodurch die Wahrscheinlichkeit auf falschen Zuordnungen während der Klassifikation steigt. In der vierten Klassifikationsaufgabe wurde gesunde graue Masse der gesunden Klasse hinzugefügt. Da die optischen Eigenschaften von grauer Masse sehr ähnlich zu denen von tumordinfiltrierter weißer Masse sind, war das neuronale Netzwerk nicht in der Lage aussagekräftige Merkmale aus den Daten zu extrahieren, um eine Genauigkeit bei der Klassifikation zu erreichen. Im Gegensatz zu den Ergebnissen aus dieser Arbeit konnten Lenz u. a., 2018 anhand von Meningeomproben eine Trennung von grauer Masse von Tumorgewebe zeigen, indem strukturelle Merkmale berücksichtigt wurden (z. B. Haralick's Texturmerkmale). Der Grund dafür könnte in der generell stärkeren Strukturalität der Meningeomproben liegen. Trotzdem sollten in weiteren Ansätzen weitere Merkmale neben den optischen Parametern betrachtet werden.

Der Vergleich der beiden OCT-Systeme hat gezeigt, dass die beiden OCT-Systeme ähnlich gute Ergebnisse liefern, wenn es um die Bestimmung der optischen Eigenschaften von Hirngewebe und die Trennung von gesundem und tumordinfiltriertem Gewebe geht. Jedoch zeigen die Ergebnisse des Callisto-Systems höhere Fluktuationen, als die des OMES-Systems. Der Grund dafür könnte die höhere Auflösung des Callisto-Systems sein. Aufgrund des höheren Detailgrads in den OCT-B-Scans können kleine Gewebevariationen, wie Blutakkumulationen, die beim Schneiden erzeugt werden oder kleine Lufteinschlüsse während der Einbettung, zu Bildartefakten führen. Diese Artefakte können in jedem OCT-B-Scan vorhanden sein und sind schwer zu detektieren. Sie erschweren ebenfalls die Klassifikation und die Bestimmung der optischen Eigenschaften. Für die OCT-B-Scans, welche mit dem OMES-System aufgenommen wurden, wurden diese Variationen bereits aufgrund der schlechteren Auflösung herausgemittelt oder unterdrückt. Die höhere NA des Callisto-Systems ist ebenfalls eine potentielle Fehlerquelle, da eine höhere NA zu einem schnelleren Signalabfall mit zunehmender Distanz zum Fokus führt. Dieser Umstand erschwert erheblich die Kompensation des Fokus Einflusses auf das OCT-Signal, was ebenfalls zu Fehlern führen kann. Eine andere Limitierung dieser Arbeit ist der begrenzte Datensatz. Die kleine Anzahl von Patienten kann zu unvorteilhaften Kombinationen bei den Trainings- und Testdaten führen. Kombinationen, welche zu einem schlechten Klassifikationsergebnis führen, würden eventuell nicht passieren, wenn die Anzahl der Patienten und somit die Anzahl an Proben größer gewesen wäre. Eine größere Anzahl von Proben mit einem geringen Grad an Tumordinfiltration ist notwendig, um ein neuronales Netzwerk ausreichend zu trainieren, damit eine vollständige Trennung zwischen gesundem und tumorösem Gewebe möglich ist.

Kapitel 7

Ex-vivo-Gewebeklassifikation unter Berücksichtigung von Unsicherheiten

In Kapitel 6 wurde gezeigt, dass eine Trennung von gesunder weißer Masse und stark tumorinfiltrierter 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 aus Kapitel 6 herausgearbeitet und in den vorgestellten Ansätzen berücksichtigt. Eine Limitierung behandelt die Vernachlässigung von strukturellen Informationen. Diese können zum Beispiel durch die Mittlung 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 dass 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 Kapitel 6 um eine Auswahl von Strukturmerkmalen, welche zum Teil anderen Veröffentlichungen gute Trennungen ermöglicht haben [Lenz u. a., 2018; Möller u. a., 2021]. 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 von Kapitel 6. Der dritte Ansatz beschäftigte sich mit der Merkmalsbestimmung mit Hilfe eines Variational-Autoencoder (VAE). Dabei handelt es sich um eine unüberwachte Methode zur Dimensionsreduktion, ähnlich zu einer Hauptkomponentenanalyse [Kingma u. a., 2022].

Auf Basis der unterschiedlichen Merkmale wurden neuronale Netzwerke trainiert, welche eine Klassifikation zwischen gesunder weißer Masse, gesunder grauer Masse und stark tumorinfiltrierter weißer Masse durchgeführt haben. Die Klassifikation wurde im Vergleich zu dem Ansatz aus Kapitel 6 so erweitert, dass eine Quantifizierung der Klassifikationsunsicherheit möglich war. 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. Mit Hilfe dieser Maßnahmen soll in diesem Kapitel geklärt werden, ob die Ergebnisse aus Kapitel 6 verbessert werden konnten und ob die Identifikation von Tumorgewebe unter Berücksichtigung von grauer Masse möglich ist.

7.1 Datenvorbereitung

Die Datenvorverarbeitung hat sich im Vergleich zu dem Kapitel 6 nicht essentiell verändert. Die Anzahl der Proben wurde durch das Hinzufügen der Daten von Patient 13 und 19 erhöht (siehe Tab. 7.1). Die Klassifikation wurde nur auf den Daten des OMES-Systems durchgeführt, da die Überabtastung bei der Aufnahme der OCT-Volumen eine bessere Mittelung der OCT-B-Scans ermöglicht, als bei den unterabtasteten Daten des Callisto-Systems. Bei den Aufnahmen des Callisto-Systems würde eine Mittelung zu einem Verschmieren der Strukturinformation führen. Die Basis der Klassifikation bilden, wie im Kapitel 6, die Bild-Patches, mit dem Unterschied, dass ein OCT-B-Scan vor der Extraktion jeweils mit den fünf OCT-B-Scans davor und dahinter gemittelt wurde (siehe Abb. 7.1). In einigen Fällen führt die Mittelung zu einer Verstärkung der systembedingten Intensitätsunterschieden zwischen einzelnen A-Scans innerhalb eines B-Scans. Um zu verhindern, dass diese Merkmale sich negativ auf die Klassifikationsergebnisse auswirken konnten, wurde ein einfacher Gauß-Filter zur Intensitätsglättung angewandt. Die Größe der Bild-Patches würde diese Analyse mit $50 \text{ Pixel} \times 50 \text{ Pixel}$ beibehalten, um mit den Daten aus Kapitel 6 vergleichbar zu bleiben.

7.2 Strukturmerkmale

Im Kapitel 6 wurden Strukturmerkmale nicht explizit betrachtet, sondern nur die optischen Parameter in Form des Abschwächungskoeffizienten und der zurückgestreuten Lichtintensität. Um die Gewebeklassifikation basierend auf manuell ausgewählten Merkmalen zu erweitern, wurde eine Reihe an unterschiedlichen Strukturmerkmalen diesem Ansatz hinzugefügt. Die folgenden Abschnitte behandeln die einzelnen Strukturmerkmale. Abschließend folgt eine Zusammenfassung der unterschiedlichen Merkmale und eine Gegenüberstellung der Merkmalsqualität bei ungemittelten und gemittelten Bild-Patches.

Tabelle 7.1: Übersicht über die Patienten, Pathologien und Anzahl der Proben, welche für die Gewebecharakterisierung anhand der optischen Parameter verwendet wurden.

Patient	Diagnose	Proben
2	Oligodendrogliom - WHO 2	6
3	Glioblastom - WHO 4	7
4	Metastase	4
5	Glioblastom - WHO 4	6
7	Glioblastom - WHO 4	5
8	Anaplastisches Astrozytom - WHO 3	3
10	Glioblastom - WHO 4	5
11	Metastase	3
12	Metastase	2
13	Metastase	1
14	Anaplastisches Oligodendrogliom - WHO 3	6
15	Metastase	5
16	Glioblastom - WHO 4	4
17	Glioblastom - WHO 4	5
18	Metastase	2
19	Glioblastom - WHO 4	4
20	Oligodendrogliom - WHO 2	5
21	Glioblastom - WHO 4	7

7.2.1 Bestimmtheitsmaß

Ein simples Maß zur Ermittlung von Struktureigenschaften ist das Bestimmtheitsmaß R^2 . Es handelt sich dabei um ein Qualitätsmaß bei der linearen Regression ($y = -2\mu_t z + \ln(I_0)$), um die optischen Parameter I_0 und μ zu bestimmen (siehe Gleichung 3.39) [Kuppler u. a., 2023]. Mit ihr lässt sich ausdrücken, wie gut das Ergebnis der linearen Regression den anzufittenden OCT-A-Scan beschreibt. R^2 nimmt hierbei Werte zwischen 0 bis 1 an. Wobei $R^2 = 1$ bedeutet, dass das Ergebnis der linearen Regression \hat{y}_i perfekt auf den Zielwerten y_i liegt. R^2 wird, wie folgt bestimmt [Fahrmeir u. a., 2016]:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2} \quad (7.1)$$

\bar{y} ist der Mittelwert aus den Zielwerten y_i . In der Theorie sollten Gewebetypen mit einer höheren Heterogenität (z. B. Tumorgewebe) durch ein kleineres R^2 gekennzeichnet sein als homogene Gewebearten (z. B. gesunde weiße Masse). Der Grund dafür ist

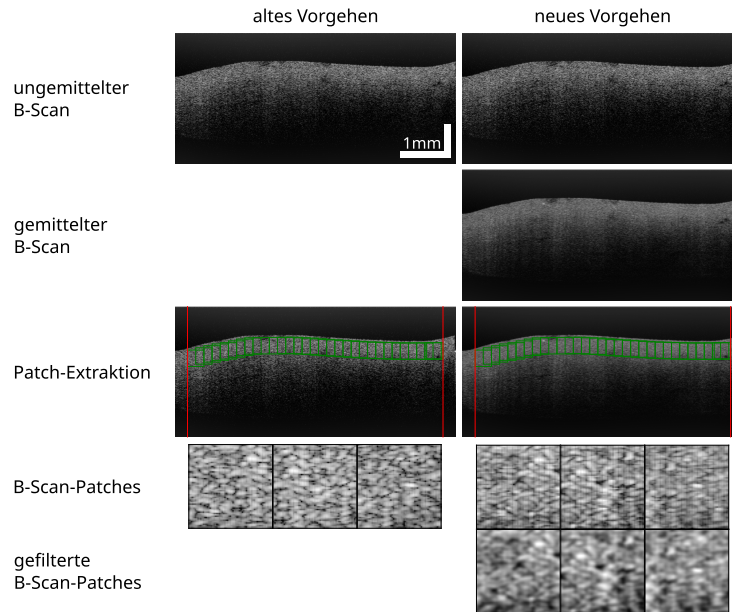


Abb. 7.1: Vergleich der Datenvorverarbeitung von Kapitel 6 und der aktuellen Vorgehensweise.

die höhere Fluktuation der Messwerte, welche zu einem größeren Fehler bei der linearen Regression führen. Die Abb. 7.2 zeigt gut den Zusammenhang für zwei synthetische A-Scans und der sich daraus ergebende Wert für das Bestimmtheitsmaß.

7.2.2 Die räumlichen Bildgradienten

Ein weiteres Maß zur Bestimmung von Struktureigenschaften ist die Verwendung von räumlichen Gradienten [Shapiro u. a., 2001]. Bei Bildgradienten handelt es sich um die räumlichen Ableitungen nach den vorhandenen Dimensionen. Bei einem OCT-B-Scan gibt es die laterale Dimension x und die axiale Dimension z . Die Gradienten g für den OCT-B-Scan I sind wie folgt definiert:

$$\nabla I = \begin{bmatrix} g_z \\ g_x \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\delta I}{\delta z} \\ \frac{\delta I}{\delta x} \end{bmatrix} \quad (7.2)$$

Die Gradienten $g_{z,x}$ könne diskret über finite Differenzen angenähert werden [Fornberg, 1988]. Die folgende Gleichung zeigt beispielhaft die Bestimmung der Gradienten entlang der lateralen Dimension:

$$\frac{\delta I}{\delta x} = \frac{I(z, x + 1) - I(z, x - 1)}{\Delta x} \quad (7.3)$$

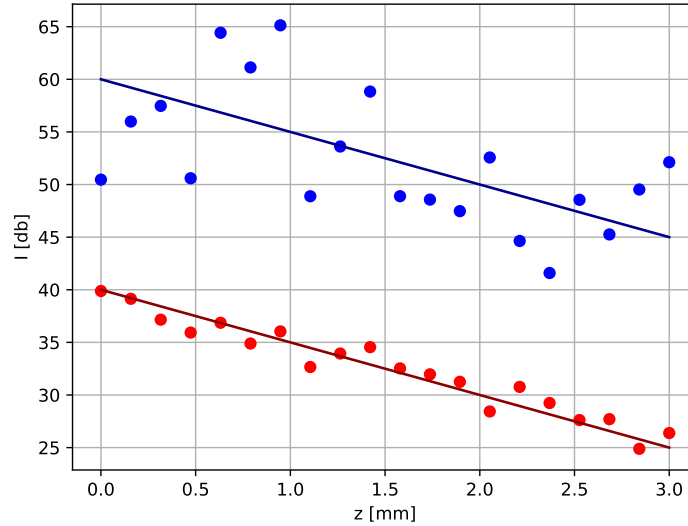


Abb. 7.2: Veranschaulichung des Einflusses der Heterogenität der Messpunkte auf das Bestimmtheitsmaß: $R^2 = 0,28$ (blau) und $R^2 = 0,93$ (rot).

Gleichung 7.3 stellt die Faltung des OCT-B-Scans mit dem Vektor $[-1/\Delta x, 0, 1/\Delta x]$ dar [Shapiro u. a., 2001]. Nach der Bestimmung der Gradienten $g_{z,x}$ wurden die Richtung θ und die Länge L des Gradientenvektors bestimmt:

$$\theta = \tan^{-1} \left[\frac{g_x}{g_z} \right] \quad (7.4)$$

$$L = \sqrt{g_z^2 + g_x^2} \quad (7.5)$$

Diese beiden Metriken wurden später verwendet, um die Struktur eines Bild-Patches anhand der Gradienten zu beschreiben (siehe Abb. 7.3). Es wird davon ausgegangen, dass Tumordaten einen höheren Gradienten aufweisen, als gesunde Daten. Damit dies gut von den Gradientenparametern abgebildet werden kann, wird der Mittelwert über alle Vektorlängen $\bar{L}(z, x)$ und die Variation der Vektorrichtungen $\theta(z, x)$ bestimmt.

7.2.3 Texturmerkmale nach Laws

Laws, 1979 führte eine Reihe von Filtern ein, mit deren Hilfe unterschiedliche strukturelle Merkmale aus einem Bild extrahiert werden können [Laws, 1979]. Diese Merkmale wurden bereits erfolgreich auf OCT-Daten des menschlichen Gehirns angewandt [Lenz u. a., 2018]. Es handelt sich um neun 5×5 -Filter, welche aus vier Grundvektoren durch

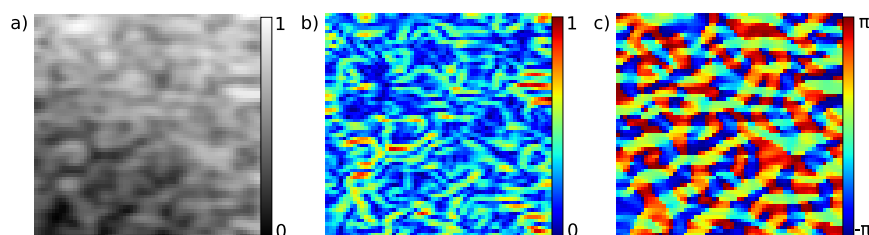


Abb. 7.3: Strukturanalyse auf Basis von Gradienten: (a) OCT-Bild-Patch, (b) $l(z, x)$ und (c) $\theta(z, x)$.

eine einfache Matrixmultiplikation gebildet werden können. Die Grundvektoren sehen wie folgt aus [Laws, 1979]:

$$\begin{aligned}
 L5 \quad (\text{Level}) &= \begin{bmatrix} 1 & 4 & 6 & 4 & 1 \end{bmatrix} \\
 E5 \quad (\text{Edge}) &= \begin{bmatrix} -1 & -2 & 0 & 2 & 1 \end{bmatrix} \\
 S5 \quad (\text{Spot}) &= \begin{bmatrix} -1 & 0 & 2 & 0 & -1 \end{bmatrix} \\
 R5 \quad (\text{Ripple}) &= \begin{bmatrix} 1 & -4 & 6 & -4 & 1 \end{bmatrix}
 \end{aligned} \tag{7.6}$$

Die Anwendung in Form einer Faltung von $L5$ bewirkt eine gewichtete Mittelwertbildung. $E5$ dient der Kantendetektion und ähnelt dem Sobel-Filter aus Kapitel 5.1.1. $S5$ wird gebraucht Punkte zu detektieren und $R5$ um wellenförmige Strukturen in Bildern kenntlich zu machen. Aus den vier Grundvektoren lassen sich 16 Kombinationen an 5×5 -Filter konstruieren. Innerhalb dieser 16 Filter gibt es redundante, bzw. symmetrische Kombinationen, welche entfernt werden können. Somit bleiben die folgenden neun Kombinationen: $(L5E5, E5L5)$, $(L5R5, R5L5)$, $(E5S5, S5E5)$, $S5S5$, $R5R5$, $(L5S5, S5L5)$, $E5E5$, $(E5R5, R5E5)$, $(S5R5, R5S5)$ [Shapiro u. a., 2001]. Im Falle der in den Klammern zusammengefassten Kombinationen wurden die zwei Filter auf das Originalbild angewandt und anschließend wurden die beiden gefilterten Bilder durch eine Mittelwertbildung zu einem Ergebnisbild zusammengeführt. Im Falle der ersten Kombinationen würden die vertikalen und horizontalen Kantenergebnisse zusammengefasst werden. Lenz u. a., 2018 verwendete zusätzlich die folgenden Filterkombinationen: $E5L5$, $E5S5$ und $L5S5$ [Lenz u. a., 2018]. Diese Filter wurden ebenfalls in die Auswahl der Filter mit aufgenommen. Um für jeden Bild-Patch einen Merkmalsvektor anhand der gefilterten Bilder $F(i, j)$ zu gewinnen, wurde eine sogenannte Texturenergie $E(x, y)$ für jede Filterkombination berechnet. Diese wurde wie folgt bestimmt [Laws, 1979]:

$$E(x, y) = \sum_{j=y-2}^{y+2} \sum_{i=x-2}^{x+2} |F(i, j)| \tag{7.7}$$

Der Mittelwert der berechneten Texturenergien jeder Filterkombination bildet den jeweiligen Merkmalswert. Die Abb. 7.4 zeigt beispielhaft die Anwendung der unterschiedlichen Filterkombinationen auf einem OCT-Bild-Patch.

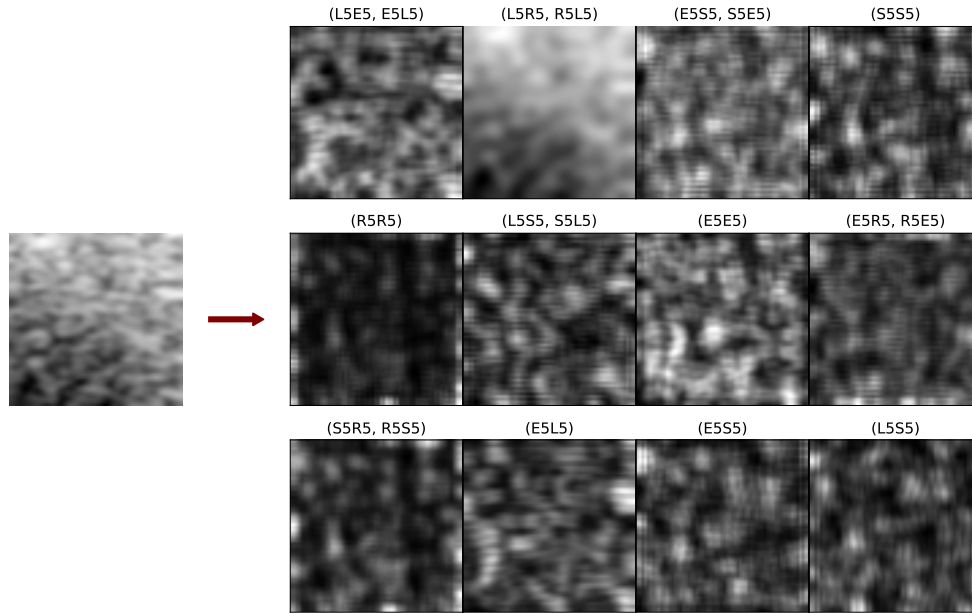


Abb. 7.4: Anwendung der zwölf Filterkombinationen für einen OCT-Bild-Patch. Die Bilder repräsentieren die nach Gleichung 7.7 berechneten Texturenergien.

7.2.4 Grauwertematrix

Eine Grauwertematrix (GLCM, engl. gray level co-occurrence matrix) wird verwendet, um das Auftreten aller Wertekombinationen zwischen zwei Bildern festzuhalten [Hall-Beyer, 2017; Shapiro u. a., 2001]. Es ist ebenfalls möglich die Wertekombinationen zwischen einem Bild und einer Version des Bildes, welche durch einen Versatz $\mathbf{d} = (d_x, d_y)$ verschoben wurde, zu bestimmen. Es ist ebenfalls möglich, \mathbf{d} in Form von Polarkoordinaten mit einem Winkel und einer Länge anzugeben. Anhand der entstandenen Grauwertematrix lassen sich strukturelle Merkmale ableiten, um später eine Gewebeklassifikation durchzuführen [Haralick u. a., 1973; Lenz u. a., 2018; Wang u. a., 2022]. Die Grauwertematrix $C_{\mathbf{d}}(i, j)$ lässt sich folgendermaßen aufbauen:

$$C_{d_x, d_y}(i, j) = \sum_{x=1}^n \sum_{y=1}^m \begin{cases} 1; & \text{wenn } I(x, y) = i \text{ und } I(x + d_x, y + d_y) = j \\ 0; & \text{sonst} \end{cases} \quad (7.8)$$

$I(x, y)$ beschreibt den Bildwert an der Position (x, y) und $I(x + d_x, y + d_y)$ den Bildwert der verschobenen Bildmatrix. (i, j) sind die Grauwerte in den Bildern und

die Positionen innerhalb von $C_{\mathbf{d}}$. Haralick u. a., 1973 führten Metriken ein, welche anhand der Grauwertematrix ermittelt werden können, um die strukturellen Eigenschaften eines Bildes zu bestimmen [Haralick u. a., 1973]. Zu diesen Metriken gehören: Kontrast, Ungleichheit, Homogenität, Energie und Korrelation. Mit Hilfe des Kontrastes H_{Kontrast} wird die Variation über alle Werte N von $C_{\mathbf{d}}$ quantifiziert. H_{Kontrast} wird wie folgt bestimmt:

$$H_{\text{Kontrast}} = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N C_{\mathbf{d}}(i, j)(i - j)^2 \quad (7.9)$$

Es handelt sich dabei um eine gewichtete Summe, welche Werte entlang der Hauptdiagonalen ignoriert, um sich nur auf Werteunterschiede zu fokussieren. Eine weitere Methode Variationen zu messen, ist die Ungleichheit $H_{\text{Ungleichheit}}$. Hierbei handelt es sich ebenfalls über eine gewichtete Summe, welche die Werte der Hauptdiagonalen ignoriert. Die Gewichtung ist im Gegensatz zum Kontrast linear.

$$H_{\text{Ungleichheit}} = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N C_{\mathbf{d}}(i, j)|i - j| \quad (7.10)$$

Durch eine inverse Gewichtung kann eine Messung der Homogenität erreicht werden. Die Homogenität H_{Homogen} kann somit wie folgt ermittelt werden:

$$H_{\text{Homogen}} = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{C_{\mathbf{d}}(i, j)}{1 + (i - j)^2} \quad (7.11)$$

Während die bereits erwähnten Metriken sich eher mit dem Bildkontrast befassen, hilft die Energie H_{Energie} die Regularität der Bildwerte zu beschreiben. Es handelt sich ebenfalls um eine gewichtete Summe, bei der jeder Wert mit sich selbst gewichtet wird. Je höher der Wert von H_{Energie} desto geordneter ist der Bildinhalt. H_{Energie} bildet sich aus der Metrik des Angular-Second-Moment (ASM) H_{ASM} , welche ebenfalls die Ordnung der Bildwerte beschreibt.

$$H_{\text{Energie}}^2 = H_{\text{ASM}} = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N C_{\mathbf{d}}(i, j)^2 \quad (7.12)$$

Aus $C_{\mathbf{d}}$ kann ebenfalls ein Wert für die lineare Abhängigkeit von benachbarten Bildwerten beschrieben werden. Dies geschieht mit Hilfe der Korrelation $H_{\text{Korrelation}}$:

$$H_{\text{Korrelation}} = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N C_{\mathbf{d}}(i, j) \frac{(i - \mu_i)(j - \mu_j)}{\sqrt{\sigma_i^2 \sigma_j^2}} \quad (7.13)$$

μ_i und μ_j sind die reihen- und spaltenweise ermittelten Mittelwerte. μ_j wird analog zu Gleichung 7.14 ermittelt. σ_i und σ_j sind die reihen- und spaltenweise ermittelten Variationen. σ_j wird analog zu Gleichung 7.15 ermittelt.

$$\mu_i = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N i \cdot C_{\mathbf{d}}(i, j) \quad (7.14)$$

$$\sigma_i^2 = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N i \cdot C_{\mathbf{d}}(i, j) \cdot (i - \mu_i)^2 \quad (7.15)$$

Für die Anwendung wurden die OCT-Bild-Patches in einem Wertebereich zwischen 0 bis 100 skaliert. Für die Bestimmung von $C_{\mathbf{d}}$ wurde \mathbf{d} in Polarkoordinaten ausgedrückt. Da im Falle der OCT das Licht von oben nach unten in das Bild läuft, wurde der Winkel auf 0 Grad eingestellt. Für die Längen wurden Werte von -10 bis 10 verwendet. Für jede Kombination aus Winkel und Länge wurde eine Grauwertematrix bestimmt, anhand welcher die oben genannten Metriken berechnet wurden. Anschließend wurde der Mittelwert für jede Kombination für die jeweilige Metrik verwendet, um für jedes Bild einen Merkmalsvektor zu bilden. Die Abb. 7.5 zeigt exemplarisch die Anwendung der Grauwertematrix für ein ausgewähltes \mathbf{d} auf OCT-Bild-Patches von unterschiedlichen Gewebetypen.

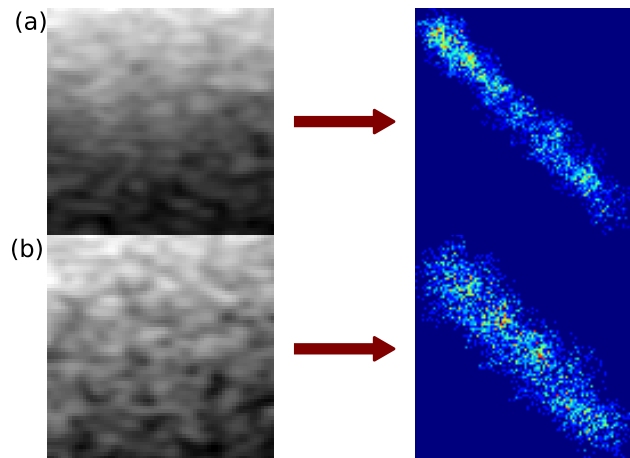


Abb. 7.5: Beispielhafte Grauwertematrix für ein OCT-Bild-Patch von gesunder weißer Masse (a) und stark tumorinfiltrierter weißer Masse (b).

7.2.5 Gewebecharakterisierung anhand der Strukturmerkmale

Dieses Kapitel stellt die vorgestellten Methoden zur Bestimmung der strukturellen Parameter gegenüber. Neben dem Vergleich der einzelnen Methoden wird auch darauf eingegangen, welche Faktoren wichtig waren, um die strukturellen Merkmale aus den OCT-Bild-Patches zuverlässig zu extrahieren. Hierbei wird außerdem Bezug auf die Datenverarbeitung aus Kapitel 6 genommen und welche Änderungen vorgenommen

wurden, um zu gewährleisten, dass die in den folgenden Kapiteln eingesetzten Klassifikationsansätze in der Lage sind, die strukturellen Informationen optimal zu nutzen. Es gibt zwei Hauptfaktoren, welche die Extraktion der strukturellen Parameter stark beeinflussen haben: die Art der Standardisierung und die Mittelung der OCT-B-Scans vor der Extraktion der OCT-Bild-Patches. Die Auswirkungen der beiden Faktoren auf die Qualität der bestimmten Strukturparameter sind in Abb. 7.6 dargestellt. Im Kapitel 6 wurden die Daten global standardisiert bevor die OCT-Bild-Patches für die Klassifikation verwendet wurden. Ein solches Vorgehen hat zur Folge, dass Aussagekraft vieler Strukturparameter sehr gering ausfällt, oder gar nicht vorhanden ist (siehe Abb. 7.6). Eine globale Normierung der Daten kann bei ungünstigen Bedingungen, zum Beispiel ein hoher Rauschanteil in den Daten, zu einer Komprimierung der Bildintensitäten führen, wodurch Strukturinformationen unterdrückt werden. Deshalb wurden ebenfalls neben einer globalen Normierung, eine lokale Normierung der OCT-Bild-Patches vor der Bestimmung der Parameter durchgeführt. Mit der lokalen Normierung können besser individuelle Intensitätsunterschiede in einem OCT-Bild-Patch erhalten bleiben. Die Normierung wurde wie folgt durchgeführt:

$$I_{\text{norm}} = \frac{I - I_{\min}}{I_{\max} - I_{\min}} \quad (7.16)$$

Bei einer globalen Normierung sind I_{\min} und I_{\max} der minimal und maximal Intensitätswert über den gesamten Datensatz, während bei sie dem minimal und maximal Wert des jeweiligen OCT-Bild-Patches entsprechen. In Abb. 7.6 ist bereit zu sehen, dass allein die Art der Normierung einen großen Einfluss auf die Aussagekraft der strukturellen Merkmale hat. Fast alle Merkmale gewinnen an Aussagekraft, lediglich R^2 und $\text{var}(\theta)$ bleiben annähernd konstant und H_{ASM} verschlechtert sich.

Die Mittlung der OCT-B-Scans vor der Extraktion ist der zweite Faktor, der Einfluss auf die Qualität der strukturellen Information hat. Im Kapitel 6 wurden die Daten nicht gemittelt. Der Grund hierfür waren die unterschiedlichen Aufnahmeeigenschaften der beiden OCT-Systeme, hinsichtlich der Scan-Dichte. Das Problem an ungemittelten OCT-Daten ist die Präsenz von Specklen. Dabei handelt es sich um Intensitätsunterschiede, welche aufgrund von zufälligen Interferenzen innerhalb der Zellmatrix entstehen [Schmitt u. a., 1999]. Die Reduzierung von Specklen ist wichtig, um die eigentlichen Strukturen hervorzuheben. Dabei darf der Abstand zwischen den benachbarten OCT-B-Scans nicht zu groß sein, da sonst neben den Speckeln auch die eigentliche Struktur verschmiert wird. Diese Bedingung war bei dem Callisto-OCT-System nicht gegeben, da hier der Scan-Abstand von $15 \mu\text{m}$ bei einer Auflösung von rund $5 \mu\text{m}$ zu groß war. Das OMES-OCT-System hingegen besitzt überabgetastete OCT-B-Scans, was eine gute Voraussetzung für die Mittelung der OCT-Daten ist. Für die Mittelung wurde ein B-Scan i in einer Nachbarschaft von $(i - 5, \dots, i + 5)$ zusammengefasst. Abb. 7.6 zeigt die Verbesserung der Strukturmerkmale durch Mittelung gegenüber des ungemittelten Datensatzes. Hierbei wurden die vorhandenen Trends verstärkt.

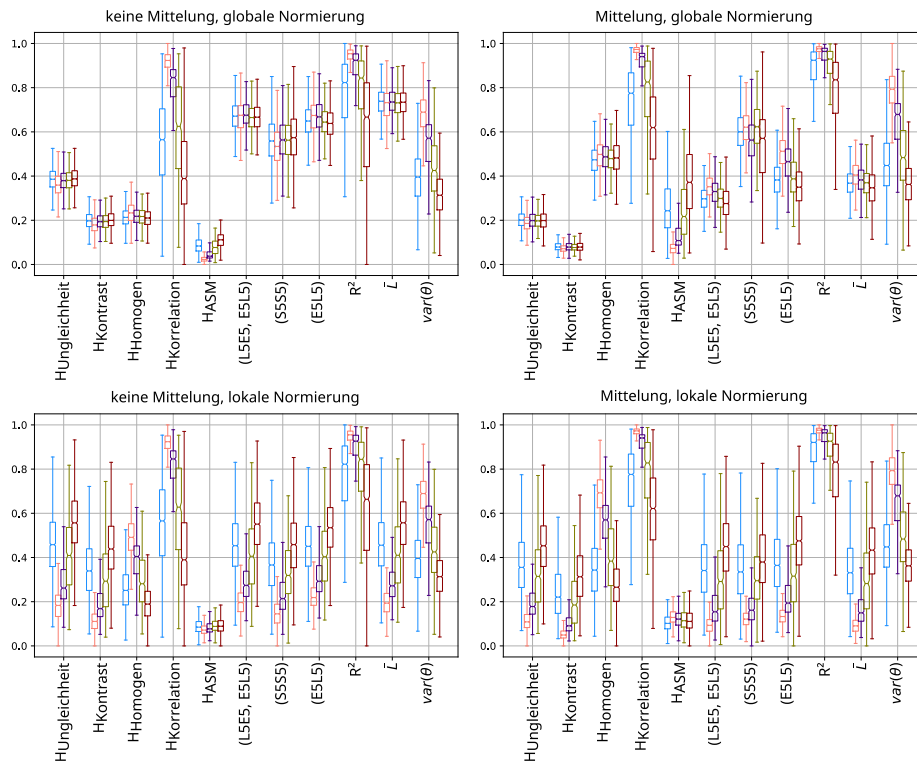


Abb. 7.6: Vergleich ausgewählter struktureller Merkmale hinsichtlich der Mittelungs- und Normierungsmethode. Die folgenden Gewebetypen wurden berücksichtigt: graue Masse mit 0 % Tumordinfiltration (blau), weiße Masse mit 0 % Tumordinfiltration (rosa), weiße Masse mit 0 % bis 30 % Tumordinfiltration (lila), weiße Masse mit 30 % bis 60 % Tumordinfiltration (grün) und weiße Masse mit >60 % Tumordinfiltration (rot).

Die Abb. 7.7 zeigt nochmals alle extrahierten Merkmale. 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 der GLCM berechnet wurden, zeigt sich, dass Parameter, die Ordnung und Homogenität quantifizieren (H_{Homogen} , $H_{\text{Korrelation}}$ und H_{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_{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. Bei den Texturmerkmalen von Laws, 1979 zeigen alle Filterkombinationen 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_{Kontrast} vergleichbar sein, was sie in diesem Fall auch sind. 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. Er ist zusätzlich robust gegenüber der Art von Normierung, was es erlaubt ihn global zu bestimmen, wodurch eine parallele Ermittlung mit den optischen Parametern möglich ist. Bei den Parametern, welche aus den Bildgradienten gewonnen wurden, zeigt sich, dass die mittlere Vektorlänge \bar{L} mit den Ergebnissen der Texturmerkmale nach Laws, 1979 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 μ_t wurde noch die Summe aller Intensitäten eines Bild-Patches $\sum I$ den optischen Parametern hinzugefügt. Es ist in Abb. 7.7 zu sehen, dass die optischen Parameter eine aussagekräftige Merkmale für die Unterscheidung der unterschiedlichen Gewebearten sind. Gerade I_0 und $\sum I$ sind von allen aufgeführten Merkmalen, die Parameter anhand welcher der Unterschied zwischen grauer Masse und stark tumordinfiltrierter weißer Masse am größten ist.

Es hat sich gezeigt, dass die Verarbeitung der OCT-Daten in Kapitel 6 dazu geführt hat, dass das neuronale Netzwerk eher optische Parameter berücksichtigt hat, da aufgrund der globalen Standardisierung und der ungemittelten Daten die Bestimmung der strukturellen Parameter erschwert wurde. In den folgenden Klassifikationsansätzen sollen die Erkenntnisse aus dieses Abschnittes genutzt werden, um die Trennung zwischen den einzelnen Gewebetypen zu verbessern.

7.3 Merkmalsfindung mittels Variational-Autoencoder

Ein Variational-Autoencoder ist ein neuronales Netzwerk bei dem eine Dimensionsreduktion eines Eingabebildes durchgeführt wird, ähnlich zu einer Hauptkomponentenanalyse [Kingma u. a., 2022]. 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.

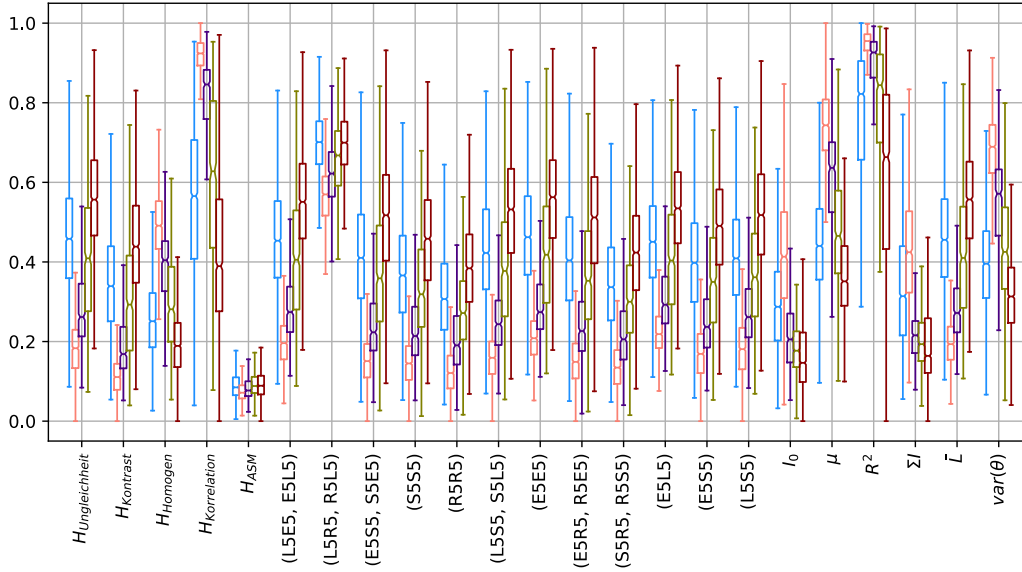


Abb. 7.7: Vergleich aller bestimmten strukturellen Merkmale nach den Erkenntnissen aus Abb. 7.6 und der optischen Parameter. Die folgenden Gewebetypen wurden berücksichtigt: graue Masse mit 0 % Tumordinfiltration (blau), weiße Masse mit 0 % Tumordinfiltration (rosa), weiße Masse mit 30 % bis 60 % Tumordinfiltration (lila), weiße Masse mit 30 % bis 60 % Tumordinfiltration (grün) und weiße Masse mit >60 % Tumordinfiltration (rot).

7.3.1 Aufbau und Training

Der Aufbau des VAE leitet sich von einem einfachen Autoencoder-Netzwerk ab [Baldi, 2012]. Der AE besteht aus einem Encoder-Pfad und einem Decoder-Pfad. Der Encoder-Pfad reduziert die Informationen eines Bildes zu einem latenten Merkmalsvektor \mathbf{z} . \mathbf{z} enthält die reduzierten Informationen des Eingabebildes. Mit Hilfe des Decoder-Pfades kann das Originalbild aus \mathbf{z} rekonstruiert werden (siehe Abb. 7.8). 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 \mathbf{z}_μ und \mathbf{z}_σ . Anhand dieser Vektoren lässt sich der jeweilige Wert im latenten Vektor $\mathbf{z}(i)$ bestimmen (siehe Abb. 7.8) [Kingma u. a., 2022]:

$$\mathbf{z}(i) = \mathbf{z}_\mu(i) + \mathbf{z}_\sigma(i)\epsilon \quad (7.17)$$

ϵ ist ein Wert der aus einer Gauß-Verteilung ($\mathcal{N}(0, 1)$) mit einem Mittelwert von $\mu = 0$ und einer Standardabweichung $\sigma = 1$ zufällig entnommen wird. Für das Training eines VAE setzt sich die gewichtete Minimierungsfunktion \mathcal{L}_{VAE} aus zwei Teilen zusammen:

$$\mathcal{L}_{\text{VAE}} = \frac{1}{\sum_{i=1}^N w_i} \sum_{i=1}^N w_i (\mathcal{L}_{\text{Rekon}} + \beta \mathcal{L}_{\text{KL}}) \quad (7.18)$$

$\mathcal{L}_{\text{Rekon}}$ ist der Fehler der Rekonstruktion zwischen dem Eingangsbild $I(x, y)$ und dem rekonstruierten Bild $I_{\text{Rekon}}(x, y)$. Quantifiziert wird $\mathcal{L}_{\text{Rekon}}$ durch die mittlere quadratische Abweichung (MSE, engl. mean squared error):

$$\mathcal{L}_{\text{Rekon}} = \frac{1}{MN} \sum_{x=1}^M \sum_{y=1}^N (I(x, y) - I_{\text{Rekon}}(x, y))^2 \quad (7.19)$$

\mathcal{L}_{KL} ist die Kullback-Leibler-Divergenz und dient als Regularisierer. β dient als Gewicht, um die Regularisierung zu steuern und wurde auf 2×10^{-4} gesetzt. w_i sind instanzspezifische Gewichte, die zum Beispiel mit Gleichung 7.38 bestimmt werden können. Mit Hilfe von \mathcal{L}_{KL} soll gewährleistet werden, dass die Vektoren \mathbf{z}_μ und \mathbf{z}_σ eine Gauß-Verteilung beschreiben.

$$\mathcal{L}_{\text{KL}} = -0,5 \sum_{i=1}^N 1 + \ln(\mathbf{z}_\sigma(i)) - \mathbf{z}_\mu^2(i) - \mathbf{z}_\sigma^2(i) \quad (7.20)$$

Für das Training wurde ein VAE mit einem dreistufigen Encoder und Decoder konstruiert (siehe Abb. 7.8). Jede Stufe des Encoders besteht aus einer zweidimensionalen Faltungsschicht, bei der die Anzahl der Filter mit jeder Stufe verdoppelt wurde. Initial wurden zwei Filter verwendet. Die Größe der Filter betrug 3×3 . Zur Reduzierung der Bilddimensionen wurde nach der ersten Filterschicht die Filter-Stride von eins auf zwei gesetzt. Die Aktivierungsfunktion nach jeder Filterschicht war eine ReLU-Funktion. Der Decoder ist gespiegelt zu dem Encoder aufgebaut und die Faltungsschichten wurden mit transponierten Faltungsschichten ersetzt. Die letzte Schicht des Decoder-Pfades besaß keine spezifizierte Aktivierungsfunktion. Abgeleitet aus den Erkenntnissen aus dem Abschnitt 7.2.5 wurde jeder OCT-Bild-Patch bei der Eingabe, jeweils global und lokal normiert mit Gleichung 7.16, wodurch als Eingabe ein Bild mit zwei Kanälen entstand (siehe Abb. 7.8). Zusätzlich wurden die Bild-Patches auf die Größe von $52 \text{ Pixel} \times 52 \text{ Pixel}$ 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 1×10^{-4} wurde verwendet. Für die Größe von \mathbf{z} wurde sich empirisch für eine Längen $L_{\mathbf{z}}$ von 128 entschieden.

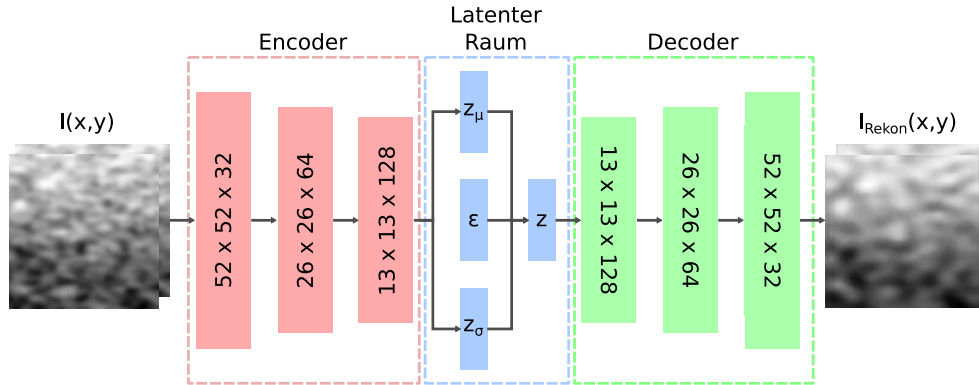


Abb. 7.8: Architektur des verwendeten VAE.

7.3.2 Ergebnisse

Bei der späteren Gewebeklassifikation wurde der Encoder des VAE genutzt, um die Merkmale für die Klassifikation für jeden OCT-Bild-Patch zu bestimmen. Die Ergebnisse des Trainings geben einen Einblick, was bei der späteren Klassifikation zu erwarten ist (siehe Abb. 7.9). Es ist deutlich zu sehen, dass die Länge von \mathbf{z} einen starken Einfluss auf das Rekonstruktionsergebnis eines OCT-Bild-Patches besitzt, was zu erwarten war, da mit einem größeren latenten Vektor auch mehr Informationen pro Eingangsbild codiert werden können (siehe Abb. 7.9 (a)). Bei einem $L_{\mathbf{z}}$ von 128 wurden die Eingangsbilder um ein achtfaches komprimiert, jedoch werden die groben Strukturen in den OCT-Bildpatches gut abgebildet.

Die in Abb. 7.9 (c, d) dargestellten Gewebebeziehungen zwischen den Verteilungen von $\mathcal{L}_{\text{Rekon}}$ und der Verteilungen der ersten zwei Hauptkomponenten einer Hauptkomponentenanalyse (PCA, engl. principal component analysis), die auf den codierten latenten Vektoren aller OCT-Bild-Patches angewandt wurde, sind ähnlich zu den Erkenntnissen aus Abschnitt 7.2.5. 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 $\mathcal{L}_{\text{Rekon}}$ lässt sich ebenfalls eine Aussage über die Homogenität des Gewebes treffen. Ein homogenes Gewebe, wie weiße Masse lässt sich besser mit den Werten von \mathbf{z} rekonstruieren, da starke Intensitätsunterschiede nicht modelliert werden müssen. Dieser Umstand führt zu einem geringeren Rekonstruktionsfehler. Gleichzeitig deutet ein hoher Wert für $\mathcal{L}_{\text{Rekon}}$ 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 \mathbf{z} , welche sich an den Mittelpunkten der Verteilungen in Abb. 7.9 (d) ergeben, wurden repräsentative OCT-Bild-Patches

mit dem Decoder erzeugt (siehe Abb. 7.9 (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 Tumordinfiltration sichtbar und deckt sich mit den Erkenntnissen aus Abschnitt 7.2.5. Der VAE bestätigt gewissermaßen, dass die Abschwächung und die Betrachtung der Homogenität die wichtigsten Merkmale zur Unterscheidung der unterschiedlichen Gewebearten sind.

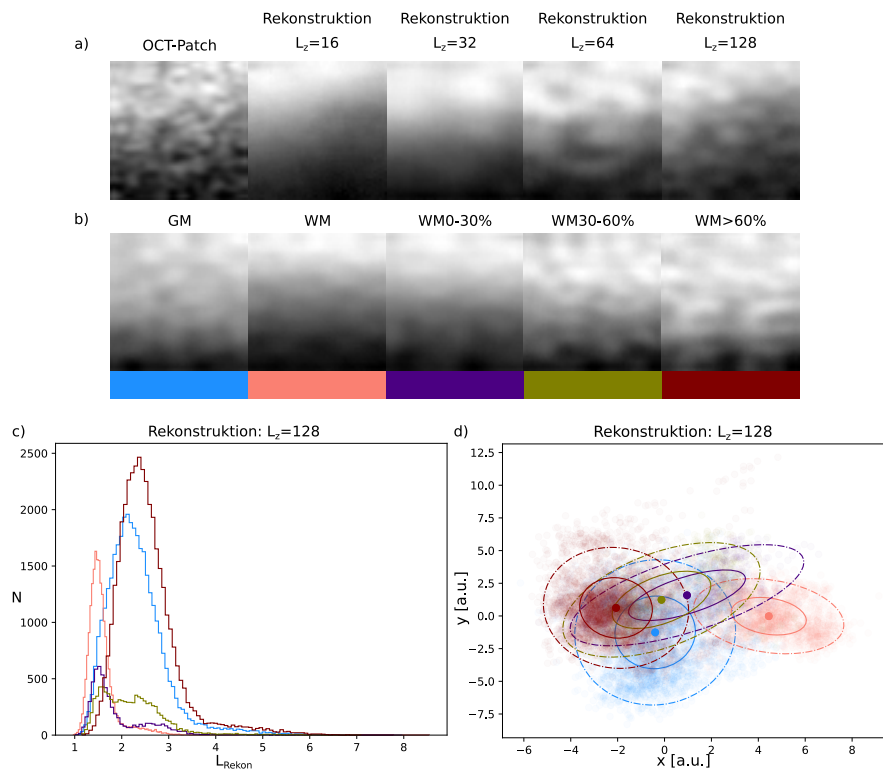


Abb. 7.9: a) Rekonstruktionen eines OCT-Bild-Patches mit VAE mit unterschiedlich großen \mathbf{z} . b) Repräsentative OCT-Bild-Patches für jede Gewebeart, die aus den Mittelpunkten der Merkmalsverteilungen aus (d) mit dem Decoder generiert wurden. c) Die Verteilung von $\mathcal{L}_{\text{Rekon}}$ für die unterschiedlichen Gewebearten. d) Verteilung der ersten zwei Hauptkomponenten einer PCA, welche auf allen \mathbf{z} angewandt 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% bis 30% (WM0-30%, lila), weiße Masse mit einer Tumordinfiltration >30% bis 60% (WM30-60%, grün) und weiße Masse mit einer Tumordinfiltration >60% (WM>60%, rot).

7.4 Unsicherheiten bei der Klassifikation

Für die spätere Anwendung des neuronalen Netzwerkes zur Klassifikation der unterschiedlichen Gewebearten im Gehirn ist es klinisch relevant zu wissen, wie sicher das Netzwerk bei einer durchgeführten Klassifikation ist. Nur unter Angabe einer Unsicherheitsmetrik kann das Klassifikationsergebnis seriös von dem klinischen Personal bewertet werden [Yang u. a., 2009]. Zusätzlich ermöglicht die Einbeziehung von Unsicherheiten eine bessere Analyse der Netzwerkqualität, da gezielter herausgefunden werden kann, mit welchen Instanzen Probleme entstehen und welche Kriterien erfüllt sein müssen, um eine gute Klassifikation zu erreichen. Im Folgenden werden Unsicherheiten für die Anwendung von neuronalen Netzwerken definiert und es werden unterschiedliche Herangehensweisen zur Bestimmung von Unsicherheiten beschrieben.

7.4.1 Definition der Unsicherheit

Im Falle der überwachten Klassifikation wird ein Klassifikator anhand eines Trainingsdatensatzes \mathbf{D} trainiert [Hüllermeier u. a., 2021]. \mathbf{D} besteht dabei aus den Instanzen $\mathbf{x} \subset \mathbf{X}$ und dazugehörige Annotationen $y \subset \mathbf{Y}$. Die Instanzen und die dazugehörigen Annotationen bilden in der Regel nur eine Teilmenge des Instanz- und Annotationsraumes (\mathbf{X}, \mathbf{Y}) ab. Es wird davon ausgegangen, dass es sich bei den Trainingsdaten um unabhängige und identisch verteilte Zufallsvariablen handelt, die zu einer unbekanntem Verteilung \mathbf{P} gehören. Während des Trainingsprozesses ist es das Ziel eine Hypothese $\mathbf{h} \in \mathbf{H}$ zu finden, mit der \mathbf{X} auf \mathbf{Y} optimal übertragen werden kann. Mit Hilfe einer Minimierungsfunktion \mathcal{L} kann der Klassifikator eine Hypothese h^* finden, bei dem das Risiko \mathbf{R} minimiert wird.

$$\mathbf{R}(h) := \int_{\mathbf{X} \times \mathbf{Y}} \mathcal{L}(h(\mathbf{x}), y) dP(\mathbf{x}, y) \quad (7.21)$$

Da \mathbf{D} nur eine Teilmenge der tatsächlichen Daten ausmacht, kann nur eine Approximation von \mathbf{R} ermittelt werden. Diese Annäherung wird auch als empirisches Risiko \mathbf{R}_{emp} bezeichnet [Vapnik, 1991]:

$$\mathbf{R}_{\text{emp}}(h) := \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N l(h(\mathbf{x}_i), y_i) \quad (7.22)$$

Durch die empirische Risikominimierung kann \hat{h} bestimmt werden.

$$\hat{h} := \underset{h \in \mathbf{H}}{\operatorname{argmin}} \mathbf{R}_{\text{emp}}(h) \quad (7.23)$$

\hat{h} stimmt nicht mit der Hypothese h^* überein, welche durch die Minimierung von $\mathbf{R}(h)$ ermittelt werden kann.

$$h^* := \underset{h \in \mathbf{H}}{\operatorname{argmin}} \mathbf{R}(h) \quad (7.24)$$

Es gibt verschiedene Gründe für die Abweichung von \hat{h} zu h^* , jedoch erzeugt dieser Umstand Unsicherheiten in der Klassifikation. Ein Grund für die Unsicherheiten ist der nicht-deterministische Zusammenhang zwischen \mathbf{X} und \mathbf{Y} , \mathbf{X} und \mathbf{Y} sind über eine bedingte Verteilung $p(y|\mathbf{x})$ verknüpft. Der Grund hierfür kann zum Beispiel Rauschen in \mathbf{x} sein. Der Umstand bleibt bestehen, selbst wenn \mathbf{X} und \mathbf{Y} vollständig für das Training verwendet werden. Eine solche Unsicherheit wird als aleatorische Unsicherheit oder Datenunsicherheit bezeichnet (siehe Abb. 7.10 (a)) [Hüllermeier u. a., 2021]. Ein Beispiel hierfür ist die Vorhersage eines Münzwurfes. Selbst das beste Model mit einem vollständigen Trainingsdatensatz wird nicht in der Lage sein, eine perfekte Vorhersage zu tätigen, da es sich um einen stochastischen Prozess handelt. Eine weitere Unsicherheit bei der Klassifikation mit einem neuronalen Netzwerk ist die epistemische Unsicherheit (siehe Abb. 7.10 (b)), welche auch als Modelunsicherheit bezeichnet wird [Gawlikowski u. a., 2021]. Diese Unklarheit entsteht durch Unwissenheit und wird zum Beispiel durch die gewählte Modelarchitektur oder den Trainingsprozess hervorgerufen. Genauso entsteht die Unsicherheit durch schlechte Annotation oder einen zu kleinen Trainingsdatensatz. Betrachtet man die gesamte Unsicherheit, welche bei der Klassifikation auftreten kann, so kann die epistemische Unsicherheit reduziert werden, indem das Model angepasst wird, oder mehr Trainingsdaten verwendet werden. Im Gegensatz dazu kann die aleatorische Unsicherheit nicht reduziert werden. Generell ist die Trennung der beiden Unsicherheiten nicht immer relevant, bzw. kann je nach Kontext die Grenze zwischen den beiden Unsicherheiten stark verwischen [Kiureghian u. a., 2009].

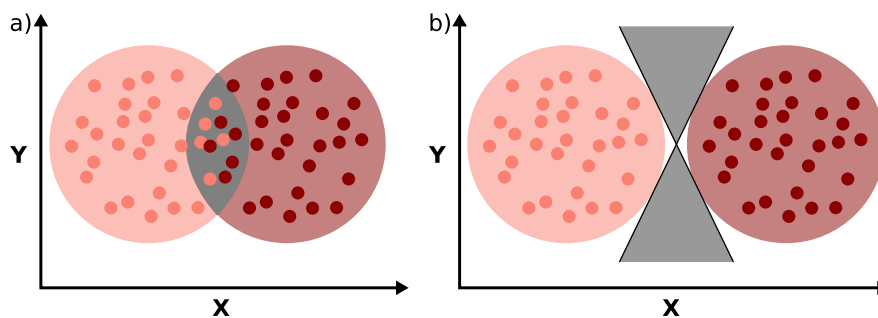


Abb. 7.10: a) Schematische Darstellung der aleatorischen Unsicherheit (grau), welche sich durch die Überlagerung von zwei Punktwolken ergibt. b) Schematische Darstellung der epistemischen Unsicherheit (grau), welche sich dadurch ergibt, dass die Trennlinie (schwarz) zwischen den zwei Punktwolken nicht eindeutig platziert werden kann.

Die Bestimmung der Unsicherheiten bei der Anwendung auf neuronale Netzwerke beruht auf dem Bayes-Theorem [Gawlikowski u. a., 2021][Denker u. a., 1990]. Hierbei wird die Wahrscheinlichkeiten für das Eintreten einer Klassifikation \mathbf{y}^* als bedingte Verteilung angenommen, welche folgendermaßen ausgedrückt werden kann:

$$p(\mathbf{y}^*|\mathbf{x}^*, \mathbf{D}) = \int p(\mathbf{y}^*|\mathbf{x}^*, \theta)p(\theta|\mathbf{D})d\theta \quad (7.25)$$

$p(\theta|\mathbf{D})$ beschreibt die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten bestimmter Modelgewichte θ nach dem Training mit den Trainingsdaten \mathbf{D} . Es handelt sich somit um eine A-posteriori-Verteilung und beschreibt die Modelunsicherheit. $p(\mathbf{y}^*|\mathbf{x}^*, \theta)$ ist die A-posteriori-Verteilung, welche die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten gewisser Klassifikationen \mathbf{y}^* bedingt, durch Eingabegrößen \mathbf{x}^* und den verwendeten Modelgewichten. $p(\theta|\mathbf{D})$ kann mit Hilfe des Bayes-Theorems umformuliert werden [Gawlikowski u. a., 2021; Hüllermeier u. a., 2021]:

$$p(\theta|\mathbf{D}) = \frac{p(\mathbf{D}|\theta)p(\theta)}{p(\mathbf{D})} \propto p(\mathbf{D}|\theta)p(\theta) \quad (7.26)$$

$p(\theta)$ beschreibt hierbei die A-priori-Verteilung der Modelgewichte. $p(\mathbf{D}|\theta)$ ist die bedingte Wahrscheinlichkeit, dass die Trainingsdaten durch die Modelgewichte beschrieben bzw. vorhergesagt werden können. Diese Wahrscheinlichkeit wird in der Regel während des Trainings maximiert. Die Verteilung $p(\mathbf{y}^*|\mathbf{x}^*, \mathbf{D})$ aus Gleichung 7.25 kann jedoch nicht ohne Weiteres bestimmt werden, wodurch eine vollständige Bestimmung der Unsicherheiten erschwert wird. Aus diesem Grund werden die Unsicherheiten mit unterschiedlichen Methoden und Ansätzen approximiert. Diese Ansätze können in vier Kategorien unterteilt werden: deterministische Methoden, Bayes-Methoden, Ensemble-Methoden und Augmentationsmethoden [Gawlikowski u. a., 2021]. Bei den deterministischen Methoden wird die Unsicherheit einer Vorhersage direkt in einem einmaligen Klassifikationsprozess durch das Netzwerk bestimmt. Bayes- und Ensemble-Methoden approximieren die Unsicherheit durch die Variation der Modelparameter. Bei den Bayes-Methoden wird eine stochastische Vorhersage erreicht, in der zum Beispiel die Modelparameter bei mehrmaligen Klassifikationsvorgängen für eine Instanz variiert werden. Das prominenteste Beispiel dieser Methoden ist wohl der Monte-Carlo-Drop-Out [Gal u. a., 2016]. Bei diesem Verfahren wird die Variation der Modelparameter durch den Einsatz von Drop-Outs während der Klassifikation erreicht. Bei der Anwendung von Drop-Outs wird zufällig ein bestimmter prozentualer Anteil der Modelparameter ausgeschaltet. Die Ensemble-Methoden erreichen die Variation durch die Kombination vieler deterministischer Netzwerke, wobei eine Instanz jedes Netzwerk einmal durchläuft. Bei dem Augmentationsansatz wird die Instanz vor dem Klassifikationsprozess mehrfach verändert (z. B. Rotation eines Bildes), um so mehrere Instanzen zu generieren, welche einmalig ein deterministisches Netzwerk durchlaufen. Die einzelnen Ergebnisse für jede Instanz werden genutzt, um die Unsicherheit zu bestimmen.

Im Folgenden werden die verwendeten Methoden zu Bestimmung der Unsicherheit genauer betrachtet.

7.4.2 Evidenzbasierte Neuronale Netzwerke

Evidenzbasierte Neuronale Netzwerke wurden erstmalig von Sensoy u. a., 2018 eingeführt und nutzen deterministische Methoden zur Bestimmung der Klassifikationsunsicherheit [Sensoy u. a., 2018]. Sie können der Untergruppe der A-priori-Netzwerke zugeordnet werden [Malinin u. a., 2018, 2019]. Dabei handelt es sich um Netzwerke, die die Unsicherheit nicht implizit schätzen, wie zum Beispiel bei den Bayes-Methoden, sondern explizit anhand einer A-priori-Verteilung. Normalerweise kann die Ausgabe eines neuronalen Netzwerkes zur Klassifikation als eine kategorische Verteilung über die vorhandenen Klassen K verstanden werden, welche durch eine Softmax-Funktion gewonnen wird. Im Falle der A-priori-Netzwerke wird die Ausgabe des Netzwerkes so definiert, dass der Ausgabevektor eine Dirichlet-Verteilung $\text{Dir}(\mathbf{y}|a)$ repräsentiert [Sensoy u. a., 2018]. Es wird dabei angenommen, dass $\text{Dir}(\mathbf{y}|a)$ mit $p(\mathbf{y}^*|\mathbf{x}^*, \mathbf{D})$ gleichgesetzt werden kann, wodurch eine Bestimmung der Unsicherheiten ermöglicht wird.

$$p(\mathbf{y}^*|\mathbf{x}^*, \mathbf{D}) \approx \text{Dir}(\mathbf{y}|a) \quad (7.27)$$

Die Dirichlet-Verteilung $\text{Dir}(\mathbf{y}|a)$ beschreibt die Wahrscheinlichkeit für das Eintreten einer Vorhersage \mathbf{y} und ist wie folgt definiert [Malinin u. a., 2018]:

$$\text{Dir}(\mathbf{y}|a) = \frac{\Gamma(a_0)}{\prod_{c=1}^K \Gamma a_c} \prod_{c=1}^K \mathbf{y}_c^{a_c-1}, \quad a_c > 0, \quad a_0 = \sum_{c=1}^K a_c \quad (7.28)$$

a_c beschreibt die Konzentrationsparameter für die jeweiligen Klassen $c \in K$, $\Gamma()$ ist die Gamma-Funktion. a_0 wird als Präzision der Verteilung bezeichnet. Die Abb. 7.11 zeigt mögliche Zustände der Dirichlet-Verteilung und sich daraus ergebende Aussagen über die Unsicherheit der Vorhersage.

Evidenzbasierte neuronale Netzwerke stützen sich auf die Evidenztheorie von Dempster und Shafer [Dempster, 1968]. Es handelt sich dabei um eine Verallgemeinerung des Bayes-Theorems von subjektiven Verteilungen. Hierbei werden nicht wie bei der normalen Wahrscheinlichkeitslehre feste Wahrscheinlichkeiten den möglichen Zuständen (z. B. mögliche Klassen bei der Klassifikation) zugeordnet, sondern zusätzlich noch ein Intervall. Je nach Verteilung der Wahrscheinlichkeiten und der dazugehörigen Intervalle ist es möglich eine Unsicherheit auszudrücken und sogar den Zustand der Unwissenheit ermitteln [Sensoy u. a., 2018]. Unter Einbeziehung von subjektiver Logik, kann die Evidenztheorie von Dempster und Shafer basierend auf einer multinominalen Wahrscheinlichkeit durch eine Dirichlet-Verteilung ausgedrückt werden [Jøsang, 2016]. In der Anwendung lassen sich subjektive Wahrscheinlichkeiten b_c für die unterschiedlichen Klassen K eines Klassifikationsproblems zuordnen, welche zusammen mit einer Unsicherheitswahrscheinlichkeit u eins ergeben:

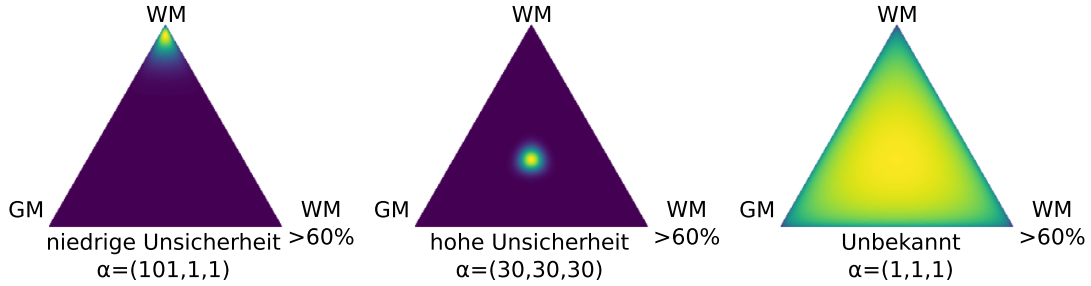


Abb. 7.11: Beispiele für unterschiedliche Ausgabezustände der Konzentrationsparameter für die Tumorklassifikationen (weiße Masse = WM, graue Masse = GM, stark tumorinfiltrierte weiße Masse = WM>60%) und die Aussagen über die Unsicherheit, welche daraus getroffen werden können.

$$u + \sum_{c=1}^K b_c = 1 \tag{7.29}$$

Für u und b_c gilt jeweils ≥ 0 . Die subjektiven Wahrscheinlichkeiten b_c ergeben sich aus der Evidenz e_c , welche für jede Klasse gefunden werden kann:

$$b_c = \frac{e_c}{S}, \quad S = \sum_{c=1}^K (e_c + 1) \tag{7.30}$$

Die Evidenz definiert sich als eine Größe die angibt, wie viele Beweise für eine Klasse für die jeweilige Instanz gesammelt werden konnten. u ist dabei invers proportional zu der totalen Evidenz S :

$$u = \frac{K}{S} \tag{7.31}$$

Die Evidenz kann wie folgt auf die Konzentrationsparameter der Dirichlet-Verteilung übertragen werden.

$$a_c = e_c + 1 \Rightarrow b_c = \frac{a_c - 1}{S}, \quad S = \sum_{c=1}^K a_c \tag{7.32}$$

Um ein evidenzbasiertes Training durchzuführen, müssen Änderungen an der Minimierungsfunktion und dem Netzwerk vorgenommen werden [Sensoy u. a., 2018]. Nur so ist es möglich, dass die Ausgabe des neuronalen Netzwerkes eine Dirichlet-Verteilung $\text{Dir}(\mathbf{p}_i | \mathbf{a}_i)$ repräsentiert, mit der die Verteilungen von Klassenwahrscheinlichkeiten \mathbf{p}_i für eine Instanz i beschrieben werden können. Eine wichtige Änderung an dem neuronalen Netzwerk ist das Austauschen der Softmax-Funktion, mit der normalerweise die \mathbf{p}_i direkt von dem neuronalen Netzwerk ausgegeben werden. Es handelt sich in diesem

Fall nur um punktweise Schätzungen von \mathbf{p}_i ohne Angabe von Unsicherheiten. Es gibt unterschiedliche Methoden, um die Ausgabe des neuronalen Netzwerkes so zu verändern, dass ein Vektor entsteht, welcher Einträge > 0 vorweist. Eine Möglichkeit ist die Verwendung einer ReLu-Aktivierungsfunktion [Sensoy u. a., 2018]. Im Falle der hier vorgestellten Anwendung wurde die Softmax-Aktivierungsfunktion durch eine lineare Aktivierungsfunktion ersetzt. Die Werte wurden danach zwischen den Werten -10 bis 10 limitiert und über eine Exponentialfunktion in nicht-negative Werte umgewandelt. Sensoy u. a., 2018 führt dann unter anderen folgende Minimierungsfunktion ein:

$$\mathcal{L}(\theta) = \sum_{i=1}^N L_i(\theta) + \lambda_t \sum_{i=1}^N KL[\text{Dir}(\mathbf{p}_i | \tilde{\mathbf{a}}_i) || \text{Dir}(\mathbf{p}_i | \langle 1, \dots, 1 \rangle)] \quad (7.33)$$

Diese Minimierungsfunktion besteht aus zwei Termen. $\sum_{i=1}^N \mathcal{L}_i(\theta)$ ist die mittlere quadratische Abweichung unter der Berücksichtigung, dass das Bayes-Risiko minimiert wird und kann wie folgt berechnet werden:

$$\mathcal{L}_i(\theta) = \sum_{j=1}^K \left(y_{ij} - \frac{a_{ij}}{S_i} \right)^2 + \frac{a_{ij}(S_i - a_{ij})}{S_i^2(S_i + 1)} \quad (7.34)$$

\mathbf{y} ist der One-Hot kodierte Vektor der Grundwahrheiten. \mathbf{a} wurde anhand von Gleichung 7.32 aus den Evidenzen \mathbf{e} berechnet. Die Evidenzen sind die mit der Exponentialfunktion umgewandelten Netzwerkausgaben. Der zweite Term dient der Regularisierung. Er ist über $\lambda_t = \min(1, t/10) \in [0, 1]$ mit dem ersten Term verknüpft. t ist hierbei die aktuell verwendete Trainingsepoche. Die Regularisierung bewirkt, dass das Netzwerk sich während des Trainings nur auf Merkmale und Instanzen konzentriert, die einen positiven Einfluss auf das Training haben. Alle anderen Instanzen werden mit Hilfe der Regularisierung in einen 'Ich weiß es nicht'-Zustand gebracht. Dieser Zustand drückt sich später in einer uniformen Dirichlet-Verteilung $\text{Dir}(\mathbf{p}_i | \langle 1, \dots, 1 \rangle)$ aus. Für die Regularisierung wird eine Kullback-Leibler-Divergenz KL verwendet, mit der sich unterschiedliche Verteilungen vergleichen lassen.

$$KL[\text{Dir}(\mathbf{p}_i | \tilde{\mathbf{a}}_i) || \text{Dir}(\mathbf{p}_i | \langle 1, \dots, 1 \rangle)] = \log \left(\frac{\Gamma(\sum_{c=1}^K \tilde{a}_{ik})}{\Gamma(K) \prod_{c=1}^K \Gamma(\tilde{a}_{ik})} + \sum_{c=1}^K (\tilde{a}_{ik} - 1) \left[\psi(\tilde{a}_{ik}) - \psi \left(\sum_{j=1}^K \tilde{a}_{ij} \right) \right] \right) \quad (7.35)$$

$\psi()$ ist die Digamma-Funktion. $\tilde{\mathbf{a}}_i$ sind die Konzentrationsparameter der Dirichlet-Verteilung nachdem die Evidenz, die zu Fehlklassifikationen führen kann, entfernt wurde (\odot ist eine elementweise Multiplikation):

$$\tilde{\mathbf{a}}_i = \mathbf{y}_i + (1 - \mathbf{y}_i) \odot \mathbf{a}_i \quad (7.36)$$

Laut Sensoy u. a., 2018 kann die epistemische Unsicherheit während der Klassifikationen durch Gleichung 7.31 ermittelt werden [Sensoy u. a., 2018]. Es gibt aber auch Veröffentlichungen, die behaupten, dass die Unterscheidung zwischen aleatorischer und epistemischer Unsicherheit verloren geht [Gawlikowski u. a., 2021]. Sensoy u. a., 2018 verwendete für Evaluierungsversuche die Shannon-Entropie, um die Gesamtunsicherheit einer Klassifikation zu erhalten und um vergleichbar mit anderen Arbeiten zu sein [Malinin u. a., 2018; Sensoy u. a., 2018]:

$$H(p(\mathbf{y}|\mathbf{a}, \mathbf{D})) = - \sum_{c=1}^K \mathbf{a}_c \ln(\mathbf{a}_c) \quad (7.37)$$

Der Vorteil des evidenzbasierten Trainings gegenüber den anderen Methoden zur Unsicherheitsbestimmung ist der geringe Aufwand in ihrer Anwendung. Es muss lediglich die Minimierungsfunktion angepasst werden. Die vorher konzipierten Netzwerkarchitekturen können bestehen bleiben. Des Weiteren ist auch der zeitliche Aufwand nicht zu vernachlässigen, gerade wenn es zum Beispiel um die spätere Anwendung in der Klinik geht. Bei den Bayes-Methoden, wie Monte-Carlo Drop-Out, muss eine Instanz das Netzwerk mehrfach durchlaufen. Hierbei steigt die Genauigkeit der Unsicherheitsapproximation mit der Anzahl der Durchläufe. Das mehrfache Durchlaufen des Netzwerkes führt zu einer erhöhten Rechenzeit. Bei Ensemble-Methoden ist es notwendig, dass mehrere neuronale Netzwerke evaluiert werden müssen, um die Unsicherheiten zu bestimmen. Dieser Umstand erhöht ebenfalls den Rechenaufwand, was ebenfalls bei einer klinischen Anwendung zum Problem werden kann, wenn die Rechenkapazität limitiert ist.

7.5 Gewebeklassifikation mit evidenzbasierten neuronalen Netzwerken

Im Folgenden wird die Gewebeklassifikation auf Basis der unterschiedlichen Methoden zur Merkmalsextraktion (siehe Abschnitt 7.2 und 7.3) behandelt. Das Ziel war eine Verbesserung der Ergebnisse aus Kapitel 6. Für die Klassifikation wurde der gemittelte Datensatz aus Abschnitt 7.1 genutzt. Anders als in Kapitel 6 wurden bei der Klassifikation nur die drei Hauptgewebearten: graue Masse, weiße Masse und weiße Masse mit einer Tumorinfiltration $>60\%$, während des Trainings berücksichtigt. Die Zwischenstufen der Tumorinfiltration 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 aus Abschnitt 7.2, während der zweite Ansatz die codierten Merkmalsvektoren des VAE aus Abschnitt 7.3 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 aus Abschnitt 7.4.2 nutzt, um die Klassifikationsunsicherheiten zu ermitteln und diese mit in die Evaluierung der Daten einfließen zu lassen.

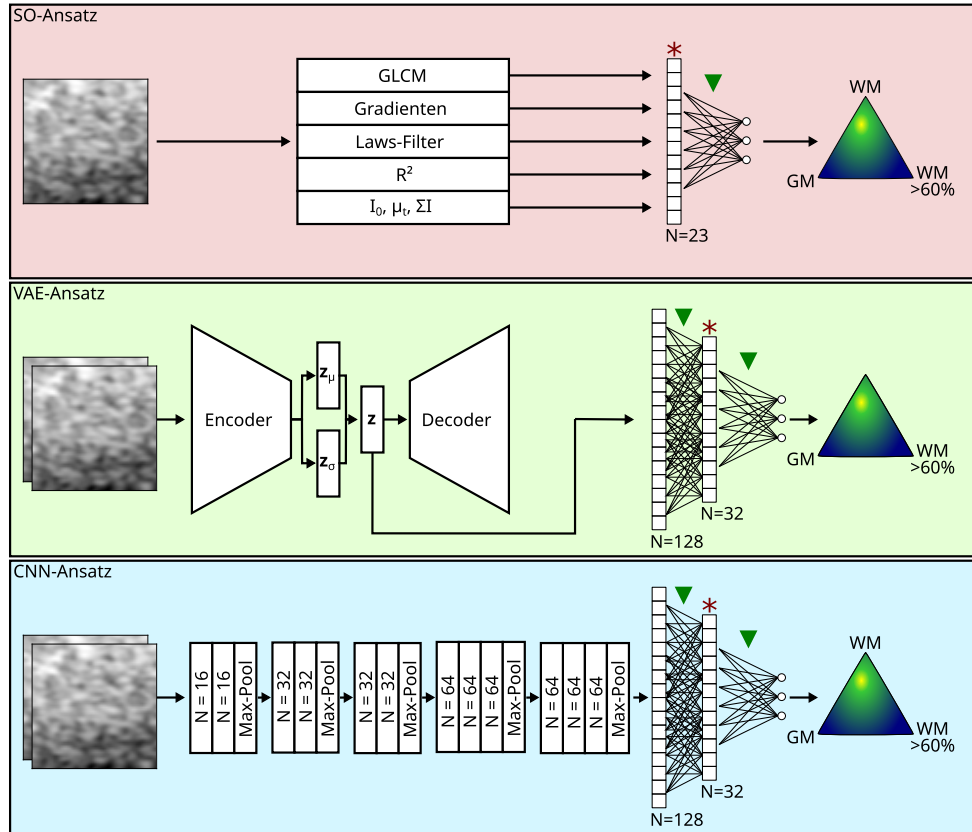


Abb. 7.12: Übersicht die Ansätze zur Extraktion der Merkmale und welche Merkmale für Klassifikation verwendet wurden. Roter Stern = Merkmale genutzt für Hauptkomponentenanalyse. Grünes Dreieck = Anwendung von Drop-Outs mit 50 % Ausschussrate während des Trainingsprozesses.

7.5.1 Methoden

Für den Vergleich der drei Ansätze für die Merkmalsextraktion aus den OCT-Bild-Patches wurde ein einfaches neuronales Netzwerk genutzt, welches auf Basis der unterschiedlichen Merkmalsvektoren eine Gewebetrennung zwischen gesunder grauer Masse, weißer Masse und weißer Masse mit einer Tumorentlastung >60 % durchführte (siehe Abb.7.12). Damit Unsicherheiten bei den Klassifikationen berücksichtigt werden konnten, wurde das neuronale Netzwerk mit dem evidenzbasierten Lernen erweitert (siehe

Abschnitt 7.4.2). Für den ersten Ansatz wurden für jeden OCT-Bild-Patch die strukturellen und optischen Merkmale (SO-Merkmale), wie sie in Abschnitt 7.2.5 und Kapitel 6 beschrieben wurden, bestimmt. Für diesen SO-Ansatz wurden für jeden OCT-Bild-Patch ein Merkmalsvektor mit 23 Merkmalen ermittelt. Für einen besseres Training wurden alle bestimmten Merkmalsvektoren mit Gleichung 7.16 global normiert. Im zweiten Ansatz wurden die Merkmale mit Hilfe des VAE aus den OCT-Bild-Patches ermittelt (siehe Abschnitt 7.3), weshalb dieser Ansatz folgend auch VAE-Ansatz genannt wird. Der Merkmalsvektor besteht in diesem Falle aus dem bestimmten latenten Vektor \mathbf{z} . Für den dritten Ansatz wurde eine überwachte Klassifikation mit einem Faltungsnetzwerk verwendet, ähnlich zu dem aus Kapitel 6. 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 Abb. 7.12 festgehalten. Die Anzahl der Filter wurde im Vergleich mit dem Ansatz aus Kapitel 6 reduziert, um eine Überanpassung an die Trainingsdaten zu vermeiden. Die Größe der Filter ist 3×3 und einem Stride-Wert von 1. Als Aktivierungsfunktion wurden die ReLu-Funktion für jede Faltungsschicht genutzt. Für die Max-Pooling-Schicht wurde der Stride-Wert auf zwei gesetzt, um die Bildinformationen nach jedem Faltungsblock um die Hälfte zu senken. Genau wie beim VAE wurden die OCT-Bild-Patches mit Gleichung 7.16 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, wie in Kapitel 6. 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. Die Abb. 7.13 zeigt die Datenverteilung innerhalb der einzelnen Testgruppen. Sind Patienten nicht in einer Testgruppe vertreten, wurden diese immer der dazugehörigen Trainingsgruppe zugeordnet. Die einzelnen Gruppen zeigen eine deutliche Unausgeglichenheit hinsichtlich der Verteilung der Gewebearten, als auch der Anzahl der Patienten. Das gleiche gilt auch für die jeweiligen Trainingsgruppen. Um die Unausgeglichenheit während des Trainings zu berücksichtigen, wurden jedem Merkmalsvektor Gewichte zugeordnet, welche sich nach anhand der Patientennummer, der Probennummer und des Gewebetyps orientieren. Das Gewicht für einen Merkmalsvektor $w(i)$ wurde wie folgt berechnet:

$$w(i) = \frac{\sum_{j=1}^N \mathbf{u}(j)}{\mathbf{u}(i)} \quad (7.38)$$

\mathbf{u} beinhaltet die Anzahl jeder einzigartigen Kombination aus Patientennummer, Probennummer und Gewebetyp innerhalb des gesamten Datensatzes. i beschreibt die aktuell betrachtete Instanz aller möglichen Merkmalsvektoren des jeweiligen Ansatzes. Für jede Kombination von Test- und Trainingsgruppe wurde das Training für 300 Epochen durchgeführt. Während des Trainings wurde eine Batchgröße von 32 Instanzen verwendet. Vor jeder Epoche wurden die Instanzen innerhalb des Trainingsdatensatzes zufällig gemischt. Um eine Quantifizierung der Klassifikationsunsicherheiten zu ermöglichen wurde als Minimierungsfunktion die Gleichung 7.33 genutzt. Für die Minimierung wurde ein ADAM-Optimierung mit einer Lernrate von 1×10^{-5} verwendet.

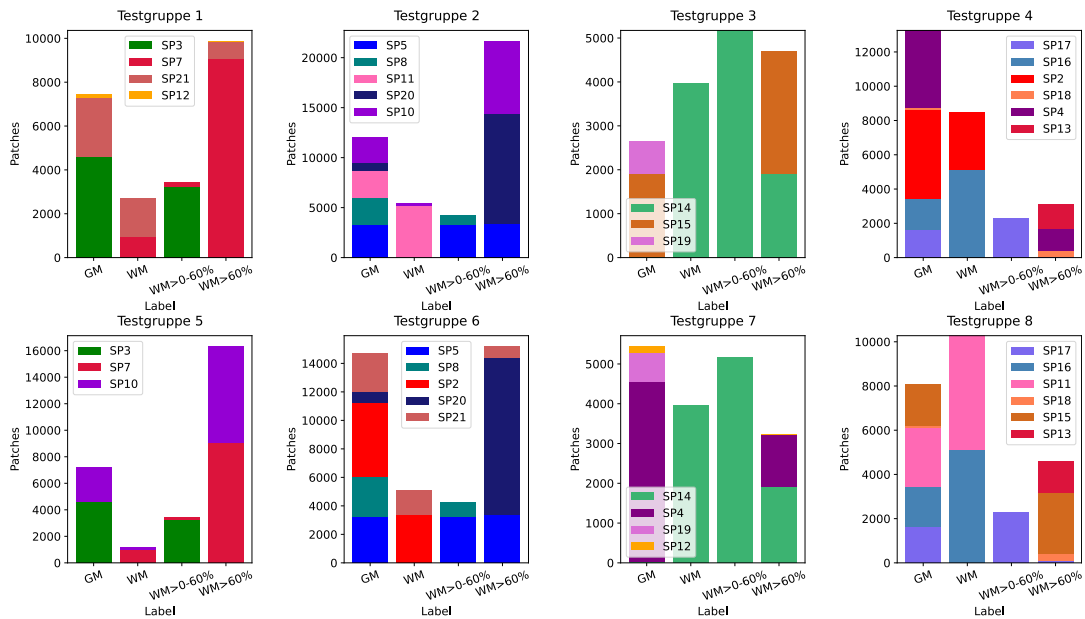


Abb. 7.13: Übersicht über die verwendeten Testgruppen für die K-Fold-Kreuzvalidierung. Für das Training wurden nur die Gewebearten: graue Masse (GM), weiße Masse (WM) und stark tumorinfiltrierte weiße Masse (WM<60%), berücksichtigt. Die lichten bis mittleren Infiltrationsstufen wurden für eine Evaluation außerhalb des Trainings genutzt.

7.5.2 Ergebnisse

Im folgenden Abschnitt wurden die Ergebnisse der drei Ansätze zur Merkmalsextraktion aufgeführt und miteinander verglichen. In Abb. 7.14 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 Abb. 7.12 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 tumordinfiltrierte 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 % bis 30 %) und mittlerer (30 % bis 60 %) Tumordinfiltration des jeweiligen Ansatzes nach dem Training evaluiert. Die Verteilung dieser Instanzen wurde ebenfalls in Abb. 7.14 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 Tumordinfiltration. Auch hier ist unabhängig vom Ansatz eine ähnliche Verteilung festzustellen. Schwache Tumordinfiltration ordnet sich näher an gesunder weißer Masse an, während mittlere Tumordinfiltration sich zwischen gesunder weißer Masse und stark tumordinfiltrierter weißer Masse platziert. Diese Beobachtungen sind sehr plausibel und mit den Abb. 6.11, Abb. 7.7 und Abb. 7.9 gemachten Zusammenhängen vergleichbar. Neben der Position der Instanzen wurde auch die Unsicherheit der Klassifikationen des jeweiligen Klassifikationsansatzes im Merkmalsraum bestimmt (siehe Abb. 7.14). Neben der Unsicherheit in Form der Entropie (siehe Gleichung 7.37) wurde auch die Evidenz (siehe Gleichung 7.30) 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 Abb. 7.14 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 tumordinfiltrierter 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 tumordinfiltrierter weißer Masse. Dies ist besonders gut anhand der Entropieverteilung des VAE-Ansatzes zusehen.

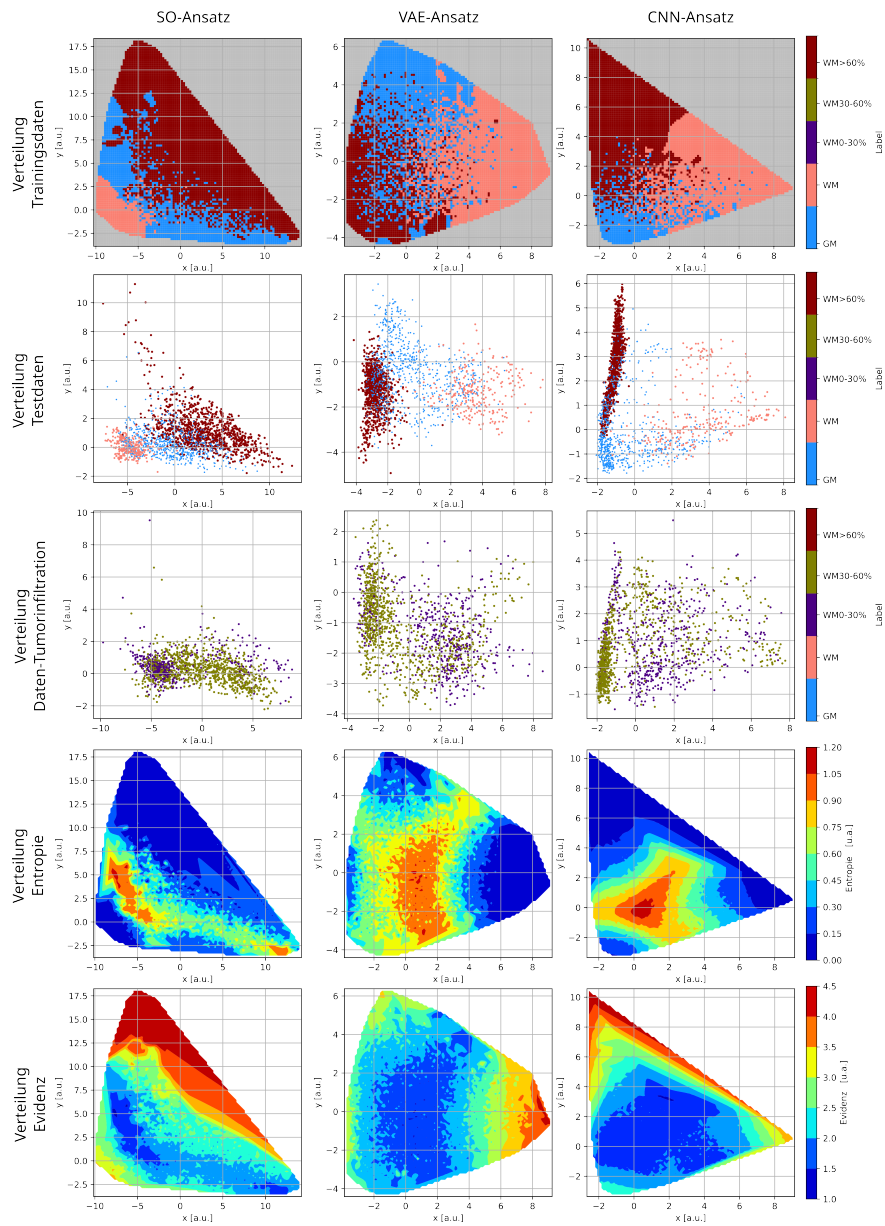


Abb. 7.14: Ergebnisse der Klassifikation mit den drei Ansätzen zur Merkmalsextraktion (siehe Abb. 7.12): Verteilung der Trainingsinstanzen, Verteilung der Testinstanzen, Verteilung von geringer und mittlerer Tumorinfiltration in weißer Masse, die Klassifikationsunsicherheit in Form der Entropie (siehe Gleichung 7.37) und die Sicherheit einer Klassifikation in Form der logarithmierten Evidenz (siehe Gleichung 7.30). Die folgenden Gewebe wurden hierbei berücksichtigt: graue Masse (GM), weiße Masse (WM), geringe Tumorinfiltration (WM0 % bis 30 %), mittlere Tumorinfiltration (WM30 % bis 60 %) und stark tumorinfiltrierte weiß Masse (WM>60 %).

Die Verteilung der Trainingsdaten aus den Abb. 7.14 lassen sich ebenfalls in Abhängigkeit von der Patientennummer und der Tumorart darstellen (siehe Abb. 7.15). Es ist festzustellen, dass die Gruppierung der einzelnen Patienten während des Trainings mit der Klassifikationsunsicherheit zum Teil korreliert. In Regionen mit einer hohen Durchmischung der Patienten ist die Entropie höher als in Regionen, wo sich Merkmale in Abhängigkeit der Patientennummer gruppiert haben. Eine Gruppierung einzelner Patienten ergibt sich durch die ungleiche Verteilung der Instanzen, welche von jedem einzelnen Patienten zu dem Datensatz beitragen. Gerade die Patienten 2, 11, 14 und 16 stellen den Großteil der Trainingsdaten für gesunde weiße Masse (siehe Abb. 7.13), weshalb hier die Wahrscheinlichkeit für eine patientenweise Gruppierung höher ist, als für die anderen Gewebearten. Zudem ist es nicht unwahrscheinlich, dass aufgrund der verschiedenen Aufnahmebedingungen bei den einzelnen Studien-OPs die neuronalen Netzwerke patientenabhängige Merkmale finden. Eine Gruppierung der einzelnen Tumorarten ist nicht festzustellen. Unabhängig vom Klassifikationsansatz zeigen, die Daten einen hohen Grad an Durchmischung. Die tumorabhängige Merkmale konnten somit nicht extrahiert werden, oder die Merkmale zur Tumoridentifikation sind für die einzelnen Tumorarten ähnlich.

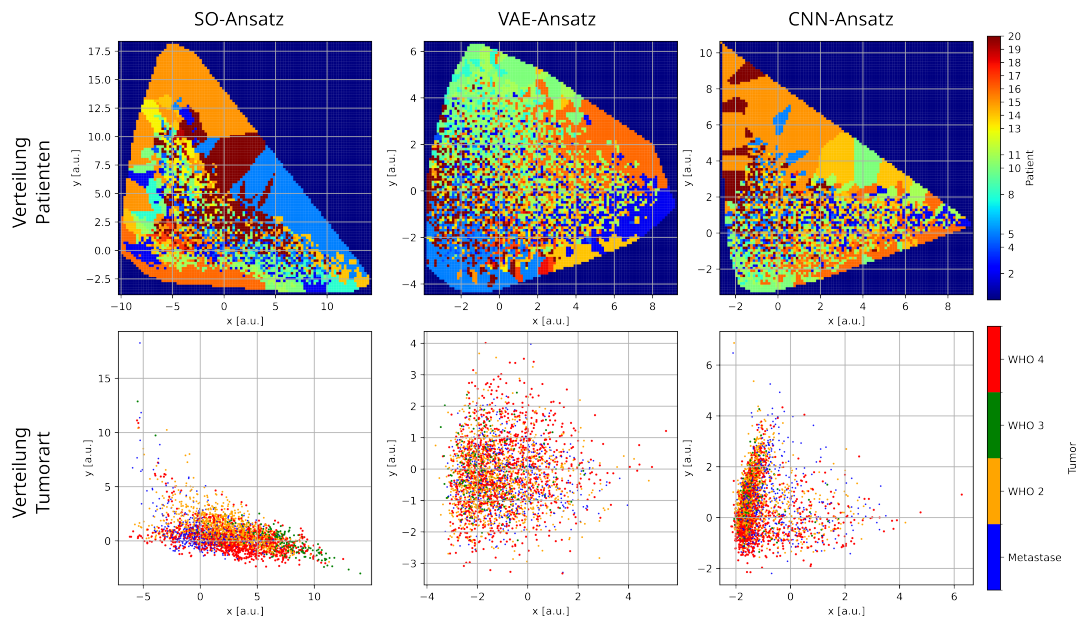


Abb. 7.15: Verteilung der Trainingsinstanzen der Testgruppe 1 hinsichtlich der Patientennummer und des Tumorgrads für die drei Ansätze.

Um die Klassifikationsunsicherheiten für jeden Gewebetyp über alle Testgruppen genauer zu untersuchen wurde die Abb. 7.16 erstellt. Diese Abbildung stellt die Klassifikationsunsicherheit mit den betrachteten Gewebearten in Zusammenhang. Die Zu-

sammenhänge wurden so dargestellt, dass die Entropie für die korrekt und die falsch klassifizierten Instanzen bestimmt wurde. In der Theorie sollte das Verhältnis zwischen richtig klassifizierten Instanzen und falsch klassifizierten Instanzen mit sinkender Entropie, also zunehmender Sicherheit, steigen. Dieses Verhalten ist am deutlichsten ansatzübergreifend bei der weißen Masse zusehen. Hier nimmt der Anteil von falschen Klassifikationen im Vergleich zu den anderen Gewebearten des jeweiligen Ansatzes früh ab. Das deutet daraufhin, dass die extrahierten Merkmale für gesunde weiße Masse gut von dem neuronalen Netzwerk identifiziert werden können. Bei stark tumorinfiltrierter weißer Masse ist das Verhalten ähnlich, jedoch sinkt der Anteil der falschen Klassifikationen später ab, was darauf schließen lässt, dass die Trennung dieses Gewebes komplizierter ist, als bei gesunder weißer Masse. Ähnlich verhält es sich mit der Klassifikation von gesunder grauer Masse, auch hier nimmt der Anteil an falsch Klassifikationen später ab, als im Vergleich zu gesunder weißer Masse. Bei den Zwischenstufen der Tumorinfiltration befindet sich der Großteil der Klassifikationen in einem Bereich mit hoher Unsicherheit, was nochmals den hohen Schwierigkeitsgrad dieser Klassifikation unterstreicht. Zusätzlich ist festzustellen, dass der Grad an falschen Klassifikationen bei geringer Tumorinfiltration höher ist, als bei mittlerer Tumorinfiltration. Dieser Umstand stammt vermutlich von der hohen Sicherheit gesunde weiße Masse zu identifizieren. Aufgrund der Ähnlichkeit zwischen gesunder weißer Masse und weißer Masse mit geringer Tumorinfiltration ordnen die neuronalen Netzwerke, die tumorinfiltrierten Instanzen automatisch der gesunden weißen Masse hinzu. Bei mittlerer Tumorinfiltration ist der Gewebeunterschied zu gesunder weißer Masse bereits hoch genug, wodurch nur noch eine Entscheidung zwischen grauer Masse und stark tumorinfiltrierter weißer Masse getroffen werden muss.

Abb. 7.17 schlüsselt die Ergebnisse der stark tumorinfiltrierten weißen Masse in die einzelnen Tumorarten auf. Mit Hilfe dieser Abbildung sollte untersucht werden, ob die Tumorart Auswirkungen auf die Klassifizierbarkeit hat. Ansatzübergreifend ist das Verhalten bei der Klassifikation der unterschiedlichen Tumorarten vergleichbar. Nach den dargestellten Ergebnissen ist die Klassifikation der Tumore des Grades WHO 3 am einfachsten, da hier die Anzahl der falschen Klassifikationen ziemlich gering ist, jedoch handelt es sich hierbei, zusammen mit dem Tumorgrad WHO 2, um die am geringsten vertretende Tumorart im Datensatz (siehe Tab. 7.1). Es kann somit nicht pauschal gesagt, werden dass dieser Tumorgrad einfacher zu klassifizieren ist, als die anderen Tumorarten. Es ist ebenfalls eindeutig zu klären, ob Metastasen einfacher zu identifizieren sind, als Glioblastom. Aufgrund der strukturellen Andersartigkeit einer Metastase zu dem umliegenden Hirngewebe wäre es nicht ausgeschlossen, dass diese Tumorart einfacher zu identifizieren ist, als ein hirneigener Tumor, wie das Glioblastom. Das Verhältnis zwischen falschen und korrekt klassifizierten Instanzen steigt zwar mit zunehmender Entropie schneller an, als bei den Daten des Glioblastoms, jedoch werden für Glioblastom, bei dem VAE-Ansatz und bei dem CNN-Ansatz, mehr Zuordnungen sicherer getroffen, als bei der Metastase.

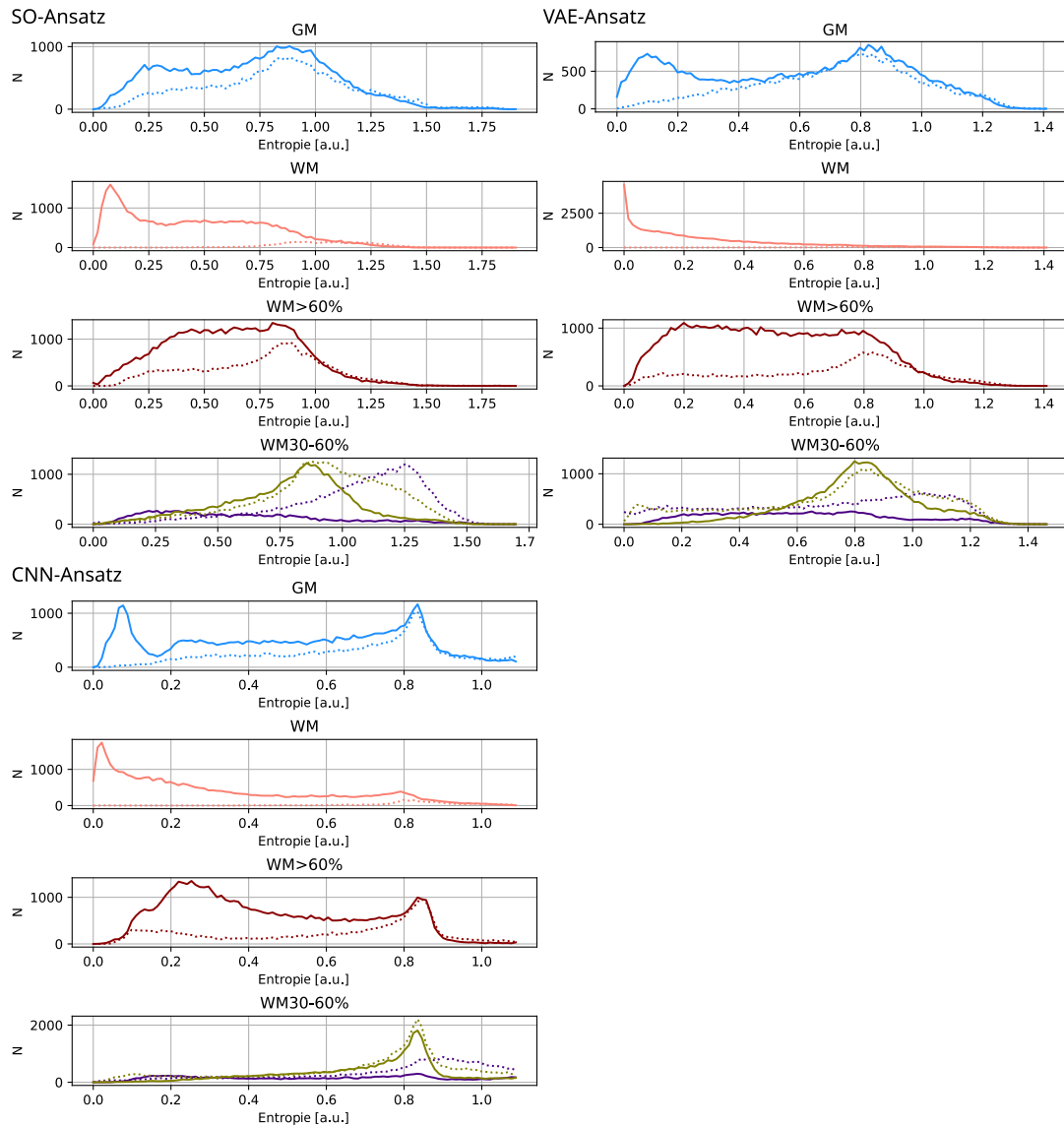


Abb. 7.16: Übersicht über die korrekt (durchgezogene Linie) und nicht korrekt (gestrichelte Linie) klassifizierte Instanzen in Abhängigkeit zur ermittelten Entropie aller Testgruppen für die drei Gewebetypen, graue Masse (GM), weiße Masse (WM) und starktumorinfiltrierte weiße Masse (WM<60%), sowie für die Zwischenstufen der tumorinfiltrierter weißer Masse (WM>0% bis 60%). Hier zeigt lila schwache Tumorinfiltration in weißer Masse (>30% bis 60%) und grün mittlere Tumorinfiltration (30% bis 60%).

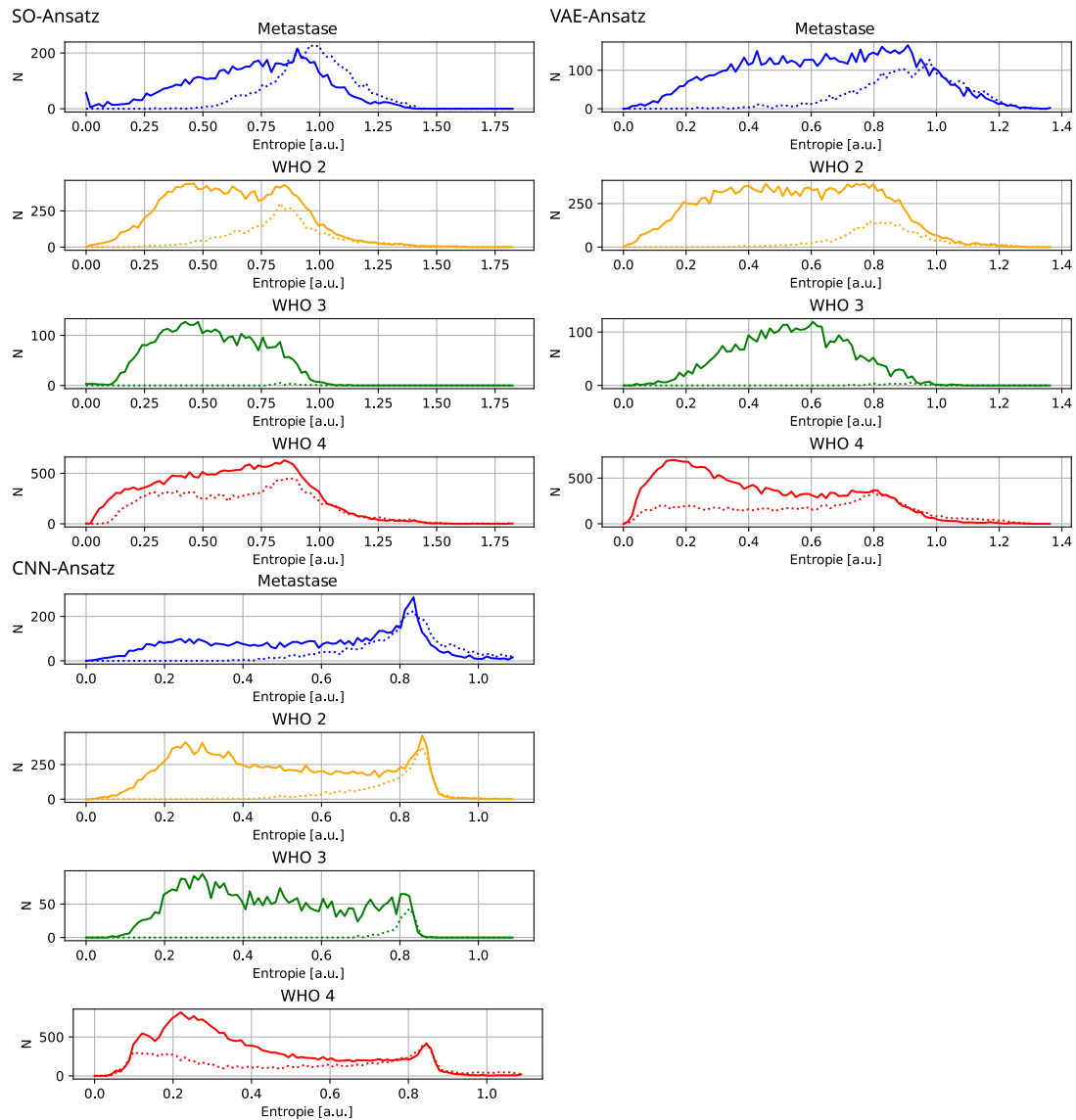


Abb. 7.17: Übersicht über die korrekt (durchgezogene Linie) und nicht korrekt (gestrichelte Linie) klassifizierte Instanzen in Abhängigkeit zur ermittelten Entropie aller Testgruppen für die vier Tumorarten: Metastase, WHO 2, WHO 3 und WHO 4.

Mit Hilfe der Unsicherheiten lässt sich ebenfalls der Einfluss der einzelnen Patienten auf das Training evaluieren. Aus diesem Grund wurde die Klassifikationsunsicherheit, in Form der Entropie, in Abhängigkeit jedes einzelnen Patienten ermittelt (siehe Abb. 7.18). Um den Einfluss besser zu bewerten und die Aussage über jeden Patienten besser zu differenzieren, wurden die Unsicherheiten für jeden Patienten so aufgeteilt, dass

die Unsicherheiten in der Test- und Trainingsgruppe getrennt wurden. Ähnlich wie in Abb 7.16 wurden auch hier die Ergebnisse nochmals in korrekt- und falschklassifizierte Instanzen aufgeteilt. In der Theorie sollten Instanzen mit eindeutigen Merkmalen einen hohen Einfluss auf das Training besitzen, da diese schnell zu einer Verkleinerung der Minimierungsfunktion führen, während schwer zu klassifizierende Instanzen (z. B. Grenzfälle) erst später im Verlauf des Trainings berücksichtigt werden. Im Falle des evidenzbasierten Trainings kommt noch die Regularisierung hinzu, welche Instanzen mit nicht eindeutigen Merkmalen weniger berücksichtigt und der 'Ich weiß es nicht'-Kategorie zuordnet. Aus diesem Grund kann hier die Unsicherheit als Maß für den Einfluss auf das Training verwendet werden. Je kleiner die Unsicherheit, desto höher war der Einfluss dieser Patienten auf das Training und je höher die Unsicherheit, desto geringer der Einfluss des Patienten auf das Training. Hinzu kommt, dass im Idealfall die Performance eines Patienten während des Trainings und des Testens ähnlich ist. Das würde darauf hindeuten, dass die Merkmale zur Klassifikation eines Patienten bei anderen Patienten gefunden werden könnten und somit auf eine gute Generalisierbarkeit der Merkmale geschlossen werden kann. Es ist dabei davon auszugehen, dass die Performance eines Patienten im Training leicht besser sein sollte, als im Test, da die Instanzen dem Netzwerk bekannt sind. Das Verhältnis von korrekt und falschen Klassifikationen sollte ebenfalls so ausfallen, dass korrekte Klassifikationen eher zu geringer Unsicherheit tendieren, während falsche Klassifikationen im Laufe des Trainings zu einer hohen Unsicherheit führen. Im Falle von Abb. 7.18 zeigen die Patienten 7, 11, 14, 16 das gewünschte Verhalten, während die Patienten 3, 5, 10, 19 eher ein Verhalten zeigen, was schwierigen Instanzen zugeordnet werden könnte.

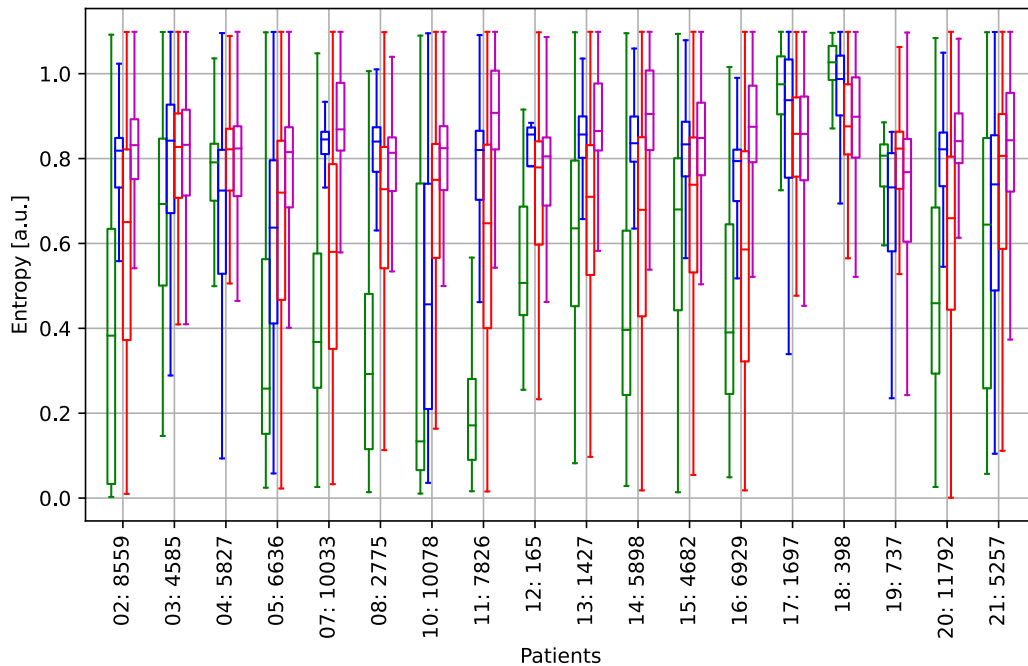


Abb. 7.18: Übersicht über den Einfluss der einzelnen Patienten während des Trainingsprozesses innerhalb der K-Fold-Kreuzvalidierung anhand der Entropie für den CNN-Ansatz. Die Performance eines Patienten innerhalb der Testgruppen sind mit blau und grün indiziert. Blau markiert die korrekten Klassifikation, während grün die falschen Klassifikationen markiert. Analog dazu wurde die Performance eines Patienten innerhalb der Trainingsgruppen mit rot und lila markiert. Rot markiert die korrekten Klassifikationen und lila markiert die falschen Klassifikationen. Für eine bessere Interpretation der Ergebnisse wurde zu jeder Patientenummer die Anzahl der Instanzen ergänzt.

Die Abb. 7.19 zeigt die relative Verteilung der Klassifikationsergebnisse in Form von Konfusionsmatrizen für die drei Klassifikationsansätze. Anhand der Abb. 7.19 lassen sich Rückschlüsse bilden, welche Gewebetypen schwer zu klassifizieren waren und zwischen welchen Gewebearten die meisten falschen Klassifikationen statt fanden. Außerdem lassen sich die Aussagen zu Abb. 7.14 überprüfen. Es gut zu sehen, dass die relativen Verteilungen der Klassifikationsergebnisse sehr ähnlich zwischen den unterschiedlichen Klassifikationsansätzen ist. Es ist deutlich zu sehen, dass die Klassifikation von weißer Masse deutlich einfacher ist, als die Klassifikation von grauer Masse und stark tumorinfiltrierter weißer Masse. Rund ein Drittel der Klassifikationen von grauer Masse und rund ein fünftel der Klassifikationen von stark tumorinfiltrierter weißer Masse wurden, während des Evaluationsprozesses jeweils dem anderen Gewebetyp zugeordnet. Im Vergleich dazu wurden bei dem VAE-Ansatz nur 11 % der gesunden

weißen Masse der gesunden grauen Masse falsch zugeordnet, während falsche Klassifikation zwischen weißer Masse und starktumorinfiltrierter weißer Masse nur selten vorkommen.

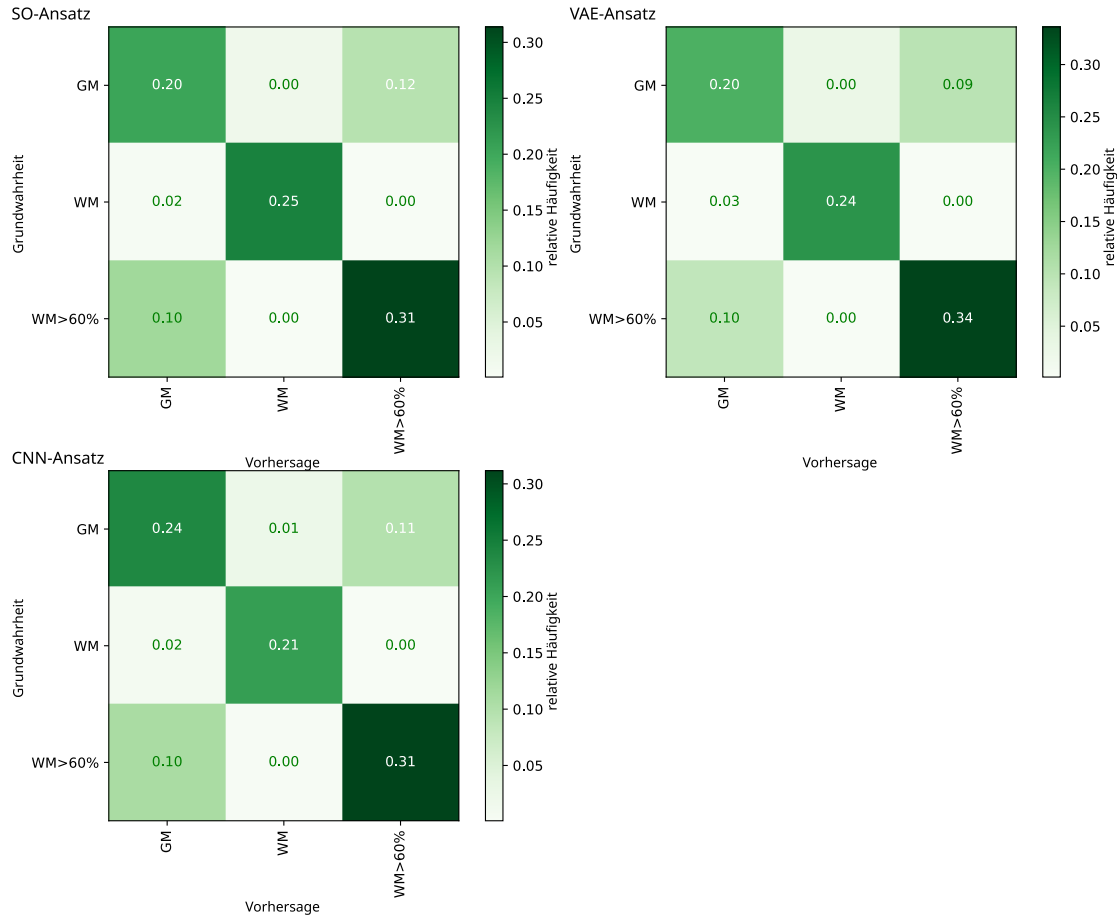


Abb. 7.19: Relative Verteilung der Klassifikationsergebnisse für den patchbasierten Ansatz (a) und den parameterbasierten Ansatz (b). Die Gewebetypen: graue Masse (GM), weiße Masse (WM) und stark tumorinfiltrierte weiße Masse (WM<60 %).

Die Tabelle 7.2 zeigt die Ergebnisse für die drei Klassifikationsansätze in Abhängigkeit von einem gewählten Grenzwert für die Entropie. Für die Evaluation der Klassifikation mit drei Klassen wurde die Spezifität aus Kapitel 6 durch die Präzision ausgetauscht. Dabei handelt es sich den Anteil der Anzahl der korrekt klassifizierten Instanzen einer Klasse TP zu der Gesamtanzahl der Instanzen, die dieser Klasse zugeordnet wurden. Zu diesen gehören auch falsch positive Klassifikationen FP. Aus diesem Grund wird die Präzision auch als positive Vorhersagerate (PPR, engl. positive predictive rate) bezeichnet:

$$\text{PPR} = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FP}} \quad (7.39)$$

Die Sensitivität (siehe Gleichung 6.5) wird weiter verwendet und wird im Zusammenspiel mit der Präzision auch als Recall bezeichnet (siehe Tab. 7.2). Die dargestellten Werte leiteten sich aus den Konfusionsmatrizen aus Abb. 7.19 ab. Die gewählten Grenzwerte für die Entropiegrenzen wurden empirisch gewählt. Um die Auswirkungen des Grenzwertes besser zu evaluieren, wurde hinter den Präzisions- und Sensitivitätswerten jeder Gewebeart der prozentuale Anteil der verbleibenden Instanzen angegeben. Ausgehend von Tab. 7.2 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. Zusammengefasst 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.

Die genutzten Merkmale sind bei dem SO-Ansatz bekannt, wodurch eine direkter Zusammenhang zwischen den Gewichten in dem neuronalen Netzwerken und den einzelnen Merkmalen hergestellt werden kann. Für Abb. 7.20 wurden die gemittelten Gewichte der trainierten neuronalen Netzwerke des SO-Ansatzes visualisiert. Diese Zusammenhänge stehen in enger Verbindung mit den Relationen, welche in Abb. 7.7 gezeigt wurden. Es ist deutlich zu sehen, dass die Netzwerke verstärkt auf die optischen Parameter reagieren und besonders $\sum I$ und μ_t zeigen einen deutlichen Unterschied zwischen gesundem Gewebe und Gewebe mit Tumordinfiltration. Für die strukturellen Merkmale sind die Gewichte des neuronalen Netzwerken etwas kleiner, als für die optischen Merkmale. Aber auch hier gibt es einzelne Merkmale, die spezifisch auf eine bestimmte Gewebeart zu reagieren scheinen.

Tabelle 7.2: Klassifikationsergebnisse für die drei Ansätze für die Gewebe: graue Masse (GM), weiße Masse (WM), geringe bis mittlere tumorinfiltrierte weiße Masse (WM0% bis 60%) und stark tumorinfiltrierte weiß Masse (WM>60%). Die berücksichtigte Unsicherheit ist die Entropie aus Gleichung (7.37).

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

7.6 Diskussion

Das Ziel dieses Kapitels war es, die Methoden aus Kapitel 6 zu erweitern, um die Gewebeklassifikation von menschlichem Hirngewebe auf Basis der OCT-Daten zu vertiefen und zu verbessern. Aus diesem Grund wurden neben den optischen Merkmalen auch strukturelle Parameter betrachtet. Die strukturellen Parameter dienen dazu, die erhöhte Heterogenität des Tumorgewebes herauszuarbeiten [Lenz u. a., 2018; Möller u. a., 2023; Wang u. a., 2022]. Es wurde analysiert, welche Bedingungen hinsichtlich Mittelung und Normierung erfüllt sein müssen, um die strukturellen Eigenschaften der OCT-Bild-Patches innerhalb des Datensatzes hervorzuheben. Es wurde ein größerer Fokus auf die strukturellen Parameter in diesem Kapitel gelegt, da Lenz u. a., 2018 und Möller u. a., 2021 gezeigt haben, dass eine Trennung von grauer Masse und Tumor auf Basis der strukturellen Merkmale möglich ist, wenn gesunde graue Masse mit Tumorgewebe (Infiltration >95%) verglichen wird [Lenz u. a., 2018; Möller u. a., 2021, 2023].

Basierend auf der Gewebecharakterisierung anhand der strukturellen Parameter aus Abschnitt 7.2.5 geht deutlich hervor, dass sich gesunde weiße Masse durch eine erhöhte Homogenität auszeichnet. Diese Homogenität wird mit zunehmender Tumorinfiltration zerstört, da die Ordnung der dicht gepackten Nervenfasern und ihrer Myelinscheiden zerstört wird. Somit steigt die Heterogenität im Gewebe. Dieser Zusammenhang konnte an allen ausgewählten strukturellen Parametern nachvollzogen werden. Abweichend von Lenz u. a., 2018 zeigen die Daten der grauen Masse ebenfalls eine erhöhte Heterogenität [Lenz u. a., 2018]. Dieser Unterschied könnte durch die Entnahme der Proben bedingt sein. Innerhalb der Studie wurden die meisten Proben der grauen Masse aus der Hirnoberfläche entnommen. An der Hirnoberfläche ist Heterogenität bei einem norma-

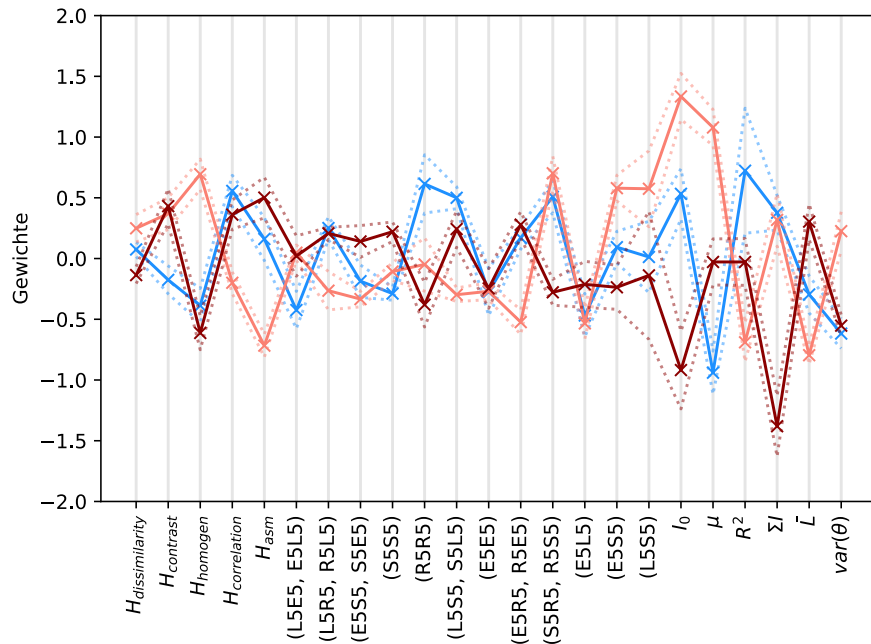


Abb. 7.20: Gemittelte Gewichte der acht neuronalen Netzwerke, welche für den SO-Ansatz trainiert wurden. Die betrachteten Gewebearten: graue Masse (blau), weiße Masse (rosa) und stark tumorinfiltrierte weiße Masse (rot).

len Gehirn am höchsten, aufgrund der unterschiedlichen Hirnhäute und der Blutgefäße. Da diese Strukturen Teil der entnommenen Proben sind, ist schwer zu verhindern, wodurch in den Proben der grauen Masse ein heterogener Bias erzeugt wird. Lenz u. a., 2018 gibt keine Auskunft darüber, wo die Proben der grauen Masse entnommen wurden, jedoch verwendeten aufbauende Arbeiten nur Gewebeproben (Tumor, graue Masse und weiße Masse) mit einer Reinheit von $>95\%$ [Möller u. a., 2021, 2023]. Dieser Umstand könnte eine Erklärung für den Unterschied bei der Charakterisierung sein.

Die Klassifikation, basierend auf den neuronalen Netzwerken, wurden mit dem evidenzbasierten Lernen so erweitert, dass auch Unsicherheiten bei der Klassifikation berücksichtigt und quantifiziert werden konnten [Sensoy u. a., 2018]. Der binäre Klassifikationsansatz (Klassen: Tumor, nicht Tumor) aus Kapitel 6 wurde zu einer Klassifikation mit mehreren Klassen (Klassen: weiße Masse, graue Masse, starke Tumorinfiltration in weißer Masse) umgewandelt. Die Umwandlung sollte helfen, die Fehler bei der Klassifikation zwischen den einzelnen Gewebetypen besser analysieren zu können. Zusätzlich wurden die Zwischenstufen der Tumorinfiltration (Infiltrationsrate 0% bis 60%) aus dem Trainingsprozess entfernt und für die erweiterte Evaluation verwendet. Es ist davon auszugehen, dass der Einbruch der Metriken im vorherigen Kapitel

6 bei den Klassifikationsaufgaben I bis III fast ausschließlich durch die Zwischenstufen der Tumordinfiltration hervorgerufen wurde. Die Unsicherheit zwischen gesunder weißer Masse und schwach tumorinfiltrierter weißer Masse ist sehr hoch, da schon eine Tumorzelle für einen Neuropathologen ausreicht, um das Gewebe als tumorös zu kennzeichnen. Diese feinen Gewebeunterschiede sind mit den genutzten OCT-Systemen nicht möglich aufzulösen. Gesperger u. a., 2020 nutzten bei ihren Versuchen ein OCT-System mit einer axialen Auflösung von $0.88\ \mu\text{m}$ und hatten keine Nachteile, wenn Tumordinfiltration während des Trainings berücksichtigt wurde [Gesperger u. a., 2020]. Die Unsicherheiten bei den hier untersuchten Daten destabilisieren den Trainingsprozess und sorgen dafür, dass der Merkmalsraum nicht klar definiert werden kann, besonders wenn zusätzlich noch die schwerer zu klassifizierende graue Masse mit in der Klassifikation berücksichtigt wird. Es ist schwer zu sagen, ob die Unsicherheit bei geringer Tumordinfiltration epistemischer oder aleatorischer Natur ist. Mehr Daten wären notwendig um diese Frage zu klären. Sollte sich herausstellen, dass es sich um eine aleatorische Unsicherheit handelt, kann die ermittelte Unsicherheit verwendet werden, um Grenzen innerhalb des Merkmalsraumes zu definieren, um die Klassifikation zu unterstützen.

Die drei vorgestellten Klassifikationsansätze und die eingeführten Änderungen haben gezeigt, dass das Klassifikationsergebnis im Vergleich zu den Ergebnissen aus Kapitel 6 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 Ergebnisse aus dem Kapitel 6, welche bereits eine gute Trennung von weißer Masse anhand der optischen Parameter zeigten. Das Gleiche gilt auch für die in Abschnitt 7.2.5 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 Abb. 7.14). Die Entropieübergänge zu gesunder weißer Masse waren im Gegensatz dazu klarer abgegrenzt. Anhand der Entropieverläufe aus Abb. 7.16 ist ebenfalls komplexe Unterscheidung zwischen gesunder grauer Masse und stark tumorinfiltrierter weißer Masse zu entnehmen. 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. Die Ergebnisse der Konfusionsmatrizen (siehe Abb. 7.19) zeigten, dass die meisten falschen Klassifikationen zwischen grauer Masse und stark tumorinfiltrierter weißer Masse zu finden sind, 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 Tab. 7.2), zeigten die drei Ansätze ähnliche Ergebnisse.

Ausgehend von Tab. 7.2 wurden ansatzübergreifend ungewichtet die mittlere Präzision und der mittlere Sensitivität für die Entropiegrenzwerte $<0,88$ ($\text{PPR}_{<0,88} = 0,77$, $\text{TPR}_{<0,88} = 0,79$) und $<0,62$ ($\text{PPR}_{<0,62} = 0,83$, $\text{TPR}_{<0,62} = 0,83$) ermittelt, um mit den Ergebnissen der Klassifikationsaufgabe IV aus Kapitel 6 vergleichbar zu sein. Im Vergleich zu der Spezifität und Sensitivität aus Tab. 6.3 ($\text{TNR} = 0,63$, $\text{TPR} = 0,58$) 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 $<0,38$ ($\text{TPR}_{<0,38} = 0,85$, $\text{PPR}_{<0,38} = 0,86$) sind ebenfalls vergleichbar mit den erzielten Ergebnissen von Möller u. a., 2023 für die Klassifikation von grauer Masse, weißer Masse und Tumorgewebe mit einem OCT-System mit einer Wellenlänge von 930 nm. Hierbei wurden eine Sensitivität von 0,87 und eine Spezifität von 0,86 für Proben mit einer Reinheit von $>95\%$ erreicht [Möller u. a., 2023]. 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 60 min durchgeführt wurde. Die Probe wurde während dieser Zeit auf einem Filterpapier gelagert, ob die Lagerung gekühlt durchgeführt wurde, ist nicht bekannt. Wie bereits in Kapitel 6 erwähnt, hat die Verarbeitungszeit und Lagerung zwischen den Verarbeitungsschritten einen Einfluss auf die Gewebeeigenschaften [Kiseleva u. a., 2017].

Weiterführend haben die Ergebnisse gezeigt, dass eine Trennung der einzelnen Tumorarten nicht mit den beschriebenen Ansätzen nicht ohne explizites Training zur Unterscheidung dieser möglich war. Die Ergebnisse aus Abb. 7.15 deuten eher daraufhin, dass die extrahierten optischen und strukturellen Merkmale für die unterschiedlichen Tumorarten ähnlich sind. Dies wäre plausibel, da die Demyelinisierung und die Heterogenisierung des Gewebes durch alle Tumorarten erfolgt. Bei der Klassifizierung der Zwischenstufen der Tumordinfiltration zeigt der SO-Ansatz die besten Ergebnisse (siehe Tab. 7.2). Anhand von Abb. 7.16 ist deutlich zusehen, dass ansatzübergreifend die neuronalen Netzwerke bei Klassifikation der Zwischenstufen der Tumordinfiltration nicht so sicher sind, wie bei den anderen Gewebearten. Aus diesem Grund befinden sich die Mehrheit der Klassifikationen in einem Bereich mit hoher Unsicherheit. Es wurde ebenfalls festgestellt, dass die Klassifikation von leicht tumorinfiltrierter weißer Masse

schwerer ist, als die Klassifikation von weißer Masse mit mittlerer Tumorinfiltration. Auch dieser Umstand erscheint plausibel, da bei leichter Tumorinfiltration 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.

Kapitel 8

Fazit und Ausblick

Die Behandlung und vollständige Entfernung eines Hirntumors ist immer noch eine große medizinische Herausforderung. Nicht zuletzt, da es sich bei dem Gehirn um eines der empfindlichsten und komplexesten menschlichen Organe handelt. Eine falsche Behandlung kann weitreichende Folgen für den Patienten haben. Der Chirurg trägt somit eine große Verantwortung gegenüber dem Patienten, so viel Tumor wie möglich zu entfernen und dabei das gesunde Gewebe zu schonen, um die Lebenszeit des Patienten zu verlängern [Lacroix u. a., 2001]. Es hat sich herausgestellt, dass das aktuell gängige klinische Setup aus pre- und intraoperativer MRT und Fluoreszenzmikroskopie nicht in der Lage ist, die Tumorgrenzen und Infiltrationszonen ausreichend zu identifizieren. In einigen In-vivo-Studien wurden diese Gewebearten mit einer Genauigkeit von nur 40 % bis 50 % erkannt [Kuppler u. a., 2023; Kut u. a., 2015]. Das Ziel der Arbeit war daher die Evaluierung, ob die OCT eine mögliche Alternative oder zusätzliche Bildgebungsmodalität zur Tumorerkennung während der Tumorresektion darstellt. Das theoretische Potential ist hoch: Die schnelle Aufnahmegeschwindigkeit, die Auflösung im Mikrometerbereich, sowie die Bestimmung von Gewebeparametern ohne die Verwendung eines Kontrastmittels sind ideale Voraussetzungen für die In-vivo-Anwendung zur Identifikation von Tumorgewebe.

Um überhaupt eine Evaluation der OCT auf der Basis menschlicher Hirndaten zu ermöglichen, wurde zunächst eine klinische Studie konzipiert, die es erlaubte, kontrolliert OCT-Daten von menschlichem Gehirn aufzunehmen. Der Aufbau der Studie wurde in Kapitel 4 im Detail beschrieben. Die OCT-Daten wurden ex-vivo mit dem OMES-OCT (SS-OCT, $\lambda = 1310 \text{ nm}$, $\Delta_{\text{lat}} = 22 \mu\text{m}$, $\text{NA} = 0,021$) und dem Callisto-OCT (SD-OCT, $\lambda = 930 \text{ nm}$, $\Delta_{\text{lat}} = 5.2 \mu\text{m}$, $\text{NA} = 0,051$) aufgenommen. Eine der größten Herausforderungen der Studie war die Probenvorbereitung und die spätere histologische Verarbeitung. Diese Prozesse waren für die Übertragung der histologischen Informationen auf korrespondierende OCT-B-Scans und somit für die Erstellung eines Datensatzes mit detaillierten Annotationen für eine Gewebeklassifikation ausschlaggebend. Das Gewebe des menschlichen Gehirns weist kaum Strukturen (z. B. Schichten) auf, die genutzt werden können, um makroskopisch eine Zuordnung zwischen den OCT-Daten und den histologischen Schnitten zu erzielen. Selbst wenn es Strukturen gibt, die eine Korrelation zulassen würden (z. B. Blutgefäße), sind die Bildeindrücke der

beiden Bildmodalitäten so unterschiedlich, dass intensitätsbasierte Merkmale nicht für die Registrierung genutzt werden können. Aus diesem Grund wurde das Gewebe in eine speziell geformte Agaroseform eingebettet, um künstlich Merkmale zu erzeugen, die später genutzt wurden, um die unterschiedlichen Bildmodalitäten zu überlagern. Die Form erlaubte ebenfalls eine indirekte Überwachung der histologischen Verarbeitung, indem Merkmale durch die Form erzeugt wurden, die bei korrekter Verarbeitung in dem HE-Schnittbild sichtbar waren. Für die Annotation der HE-Schnitte wurde eine pixelweise Annotation verwendet, die möglichst viele Gewebearten und -konstellationen berücksichtigte. Die prominentesten Gewebearten waren hierbei weiße Masse, graue Masse und unterschiedliche Tumordinfiltrationsstufen in weißer Masse.

Auf Basis dieser Voraussetzungen wurde ein einzigartiger Datensatz erstellt (siehe Kapitel 5), der sich in dem hohen Detailgrad der Annotationen von Daten anderer Forschungsgruppen abhebt. Hierfür wurden zunächst die zu den histologischen Schnittbildern korrespondierenden OCT-B-Scans der beiden OCT-Systeme anhand von topologischen Informationen ermittelt. Hierfür musste die topologische Beschaffenheit jedes OCT-Volumens bestimmt werden. Es wurden unterschiedliche Methoden miteinander verglichen. Es wurde gezeigt, dass sich ein neuronales Netzwerk mit einer U-Net-Architektur am besten auf die stark variierenden Oberflächen der Ex-vivo-Proben einstellen kann und ebenfalls robust gegen auftretende Bildartefakte ist. Jedoch zeigte sich auch, dass ein vereinfachter Ansatz auf Basis eines Sobel-Filters für OCT-B-Scans ohne Artefakte eine vergleichbare Performance besaß und gegenüber dem U-Net einen Geschwindigkeitsvorteil hatte. Die Überlagerung der OCT-B-Scans und der korrespondierenden HE-Schnittbilder erfolgte auf Basis einer nicht affinen Transformation mit einer Thin-Plate-Spline-Interpolation. Die dafür notwendigen Punktpaare zwischen dem jeweiligen OCT-B-Scan und dem HE-Schnittbild wurden mit Hilfe des Inner-Distance-Shape-Context ermittelt. Der IDSC erlaubt eine Beschreibung der Form auf Basis einer binären Silhouette, welche von unterschiedlichen U-Nets für die beiden Bildmodalitäten erstellt wurde. Nach der Bearbeitung aller zur Verfügung stehenden Daten wurden alle Ergebnisse anhand verschiedener Aspekte bewertet. Die Bewertungen berücksichtigen nicht nur die Qualität der Transformation, sondern beinhalten auch die Qualität der HE-Schnittbilder sowie die dazugehörigen Annotationen (siehe Abb. 5.19). Die Qualität berücksichtigt dabei die Form der Probe sowie die Komplexität und die Plausibilität der Annotationen. Auf Basis der Bewertungen wurde ermittelt, dass rund 75 % der Daten gut transformiert werden konnten. Die Transformationen wurden mit einer Genauigkeit von $(200 \pm 120) \mu\text{m}$ durchgeführt, was relativ zur minimalen Probengröße ($3 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$) einem Fehler von 6 % entspricht und vergleichbar mit anderen formbasierten Registrierungen für andere Gewebearten ist [Gibson u. a., 2012; Unger u. a., 2018]. Die restlichen 25 % der Daten konnten nicht plausibel überlagert werden, da sich die Form der HE-Schnittbilder während der histologischen Verarbeitung zu stark verändert hatte. Faktoren für die starke Veränderung sind zum Beispiel eine unvorteilhafte Gewebezusammensetzung, die eine starke Verformung bedingen konnte, oder

die mechanische Beanspruchung des Gewebes während der histologischen Verarbeitung (siehe Abb. 5.15). Die gewählte pixelweise Annotationsmethode erlaubte die Berücksichtigung von heterogenen Gewebekonstellationen, wodurch ein Großteil der Daten für die spätere Analyse nutzbar blieb. Die Berücksichtigung von ausschließlich homogenen Geweben (>90 % eines Gewebetyps), wie bei Möller u. a., 2023, hätte dazu geführt, dass nur 60 % des Datensatzes für die Weiterverarbeitung berücksichtigt werden könnten [Möller u. a., 2023]. Der erzeugte Datensatz besteht aus 1250 Paaren von pixelweise annotierten OCT-B-Scans der beiden OCT-Systeme. Aufgrund der Unsicherheiten bei den Annotationen (siehe Abb. 5.17) oder zu komplexen Gewebekonstellationen, basierend auf den Annotationen (siehe Abb. 5.16), wurden bei den folgenden Analysen nur rund 700 OCT-B-Scan-Paare verwendet. Das vorgestellte Verfahren, um die Histologie von menschlichen Gehirn mit korrespondierenden OCT-B-Scans zu korrelieren, wurde bereits erfolgreich in anderen Forschungsprojekten angewandt [Burhan u. a., 2023; Detrez u. a., 2023]. Dabei ging es um die Gewebeanalyse von menschlichem Gehirn auf Basis von mechanischen Eigenschaften.

Anhand der annotierten OCT-Daten folgte eine Analyse, mit der geklärt werden sollte, ob es grundsätzliche Unterschiede zwischen den beiden OCT-Systemen gibt, hinsichtlich ihrer Fähigkeit, die Unterschiede zwischen den einzelnen Gewebetypen zu identifizieren (siehe Kapitel 6). Um diese Fähigkeit zu evaluieren, wurden die optischen Eigenschaften in Form des Abschwächungskoeffizienten und der zurückgestreuten Intensität ermittelt. Die optischen Eigenschaften wurden anhand von OCT-Bild-Patches der beiden OCT-Systeme ermittelt. Es wurde gezeigt, dass die zu erwartenden Trends mit beiden OCT-Systemen gemessen werden konnten, wobei sich zwar die absolut gemessenen Werte der optischen Eigenschaften unterschieden, die relativen Unterschiede jedoch sehr ähnlich sind. Innerhalb der Analyse zeigte das Callisto-OCT-System eine höhere Varianz der Messwerte, was auf die höhere numerische Apertur des Objektivs zurückgeführt werden kann. Der schärfere Fokus erschwerte den Ausgleich der Fokuseffekte auf die Intensität des OCT-Signals. Aus diesem Grund sollte eine geringe NA bevorzugt werden, auch wenn dadurch ein Verlust der lateralen Auflösung in Kauf genommen werden muss. Des Weiteren ist der starke Roll-Off der SD-OCT-Systeme eine weitere Fehlerquelle, welche die Bestimmung der Gewebeparameter erschwert. Auf Basis der ermittelten optischen Gewebeeigenschaften konnte gezeigt werden, dass die weiße Masse sich deutlich von den anderen Geweben des menschlichen Gehirns unterscheidet. Weiße Masse charakterisiert sich durch eine starke Lichtabschwächung und eine hohe zurückgestreute Intensität des OCT-Signals, was auf stark streuende Eigenschaften schließen lässt. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die streuenden Eigenschaften mit zunehmender Tumordinfiltration in weißer Masse abnehmen. Graue Masse ist auf Basis der optischen Eigenschaften nur schwer von tumordinfiltrierter weißer Masse zu trennen. Diese relativen Trends sind mit den Ergebnissen anderer Forschungsgruppen vergleichbar, die auch OCT-Systeme mit einer Zentralwellenlänge von 1300 nm verwendeten [Kut u. a., 2015; Yashin u. a., 2019b]. Neben der Betrachtung der

optischen Eigenschaften wurden zwei binäre Klassifikationsansätze (Klassen: Tumor, nicht Tumor) basierend auf den optischen Eigenschaften durchgeführt. Innerhalb der Klassifikation wurden unterschiedliche Klassifikationsaufgaben erstellt, welche in ihrer Komplexität zunehmen. Diese reichten von der Klassifikation von gesunder weißer Masse und stark tumorinfiltrierter weißer Masse bis hin zu der Trennung von gesundem Gewebe (graue Masse und weiße Masse) und Tumorgewebe unabhängig von dem Grad der Tumorinfiltration. Es zeigte sich, dass die Trennung von gesunder weißer Masse und von stark infiltrierter weißer Masse mit einer Sensitivität von 0.91 bis 0.97 und einer Spezifität von 0,95 erreicht werden konnte. Die Genauigkeiten der Klassifikationen nahmen mit Zunahme der Komplexität der Klassifikationsaufgabe ab. Der Grund liegt in der starken Ähnlichkeit von grauer Masse zu tumorinfiltriertem Gewebe und der zunehmenden Ähnlichkeit der Tumorinfiltration bei niedriger Infiltration zu gesunder weißer Masse.

Aufbauend auf den Erkenntnissen aus Kapitel 6 wurde eine erweiterte Gewebeanalyse durchgeführt, in welcher auch explizit strukturelle Eigenschaften berücksichtigt wurden (siehe Kapitel 7). Um die Strukturmerkmale effizient aus den OCT-Daten zu extrahieren, wurde die Mittelung und die Normierung der Daten näher untersucht. Die effiziente inkohärente Mittelung zur Unterdrückung des Speckle-Rauschens war mit den Daten des Callisto-Systems aufgrund des hohen Scan-Abstandes zwischen den OCT-B-Scans nicht möglich. Eine Mittelung würde nur zu einem Verschmieren der Bildinformationen führen. Aus diesem Grund wurden nur die Daten des OMES-Systems genutzt. Es wurde gezeigt, dass eine individuelle Normierung der OCT-Bildpatches und eine Mittelung in einer Nachbarschaft ($i \pm 5$) die Strukturinformationen der einzelnen Gewebearten am signifikantesten darstellt (siehe Abb.7.6). Für die strukturelle Auswertung wurden vier unterschiedliche Verfahren evaluiert. Zum einen wurde das Bestimmtheitsmaß genutzt. Das Bestimmtheitsmaß quantifiziert die Qualität des Funktionsfits bei der Bestimmung der optischen Parameter und kann indirekt verwendet werden, um die Heterogenität eines A-Scans zu ermitteln. Die zweite Methode war die Bestimmung der Bildgradienten, aus welchen sich der Winkel und die Stärke der Intensitätsänderung ermitteln lassen. Somit ist ebenfalls eine Aussage über die Homogenität und Heterogenität des Gewebes möglich. Die dritte Methode umfasst die Verwendung von Filterkombinationen, mit denen unterschiedliche Struktureigenschaften hervorgehoben werden können [Laws, 1979]. Die letzte Methode nutzte GLCM-Merkmale, welche sich aus den Nachbarschaftsbeziehungen der Pixelintensitäten ergeben und aus denen der Kontrast, Homogenität, Heterogenität und Intensitätskorrelation quantifiziert werden können. Anhand dieser Daten zeigt sich, dass weiße Masse durch ein homogenes Erscheinungsbild charakterisiert ist, was durch die ordentlich gepackten Nervenfasern begründet werden kann. Es konnte, wie bei den optischen Parametern gezeigt werden, dass mit zunehmender Tumorinfiltration die Homogenität und Ordnung der weißen Masse zerstört und durch ein heterogenes Erscheinungsbild ersetzt wird. Die graue Masse charakterisiert sich durch eine hohe Ähnlichkeit zu tumorin-

filtrierter weißer Masse und konnte subjektiv von keinem der angewandten Methoden vom Tumor getrennt werden.

Es wurden drei Klassifikationsansätze genutzt, um eine Gewebetrennung zwischen den drei Gewebearten, weiße Masse, graue Masse und weiße Masse mit starker Tumorerinfiltration durchzuführen. Das Ziel war es, die mit dem ersten Ansatz durchgeführte Klassifikation von grauer Masse zu verbessern (siehe Kapitel 6). Zusätzlich wurden die Zwischenstufen der Tumorerinfiltration (0 % bis 60 %) als zusätzliche Evaluationsdaten genutzt, um zu kontrollieren, ob die neuronalen Netze die Tumorerinfiltration in einen nachvollziehbaren Kontext zu den gelernten Daten stellen. Der erste Ansatz stützte sich auf die konventionelle Bestimmung der strukturellen und optischen Parameter. Der zweite Ansatz basierte auf Merkmalen, welche unüberwacht von einem Variational-Autoencoder bestimmt wurden. Der dritte Ansatz war die überwachte Merkmalsextraktion mittels eines neuronalen Faltungsnetzwerkes. Um die Klassifikationsunsicherheiten der drei Ansätze zu quantifizieren, wurde ein evidenzbasierter Lernansatz verwendet [Sensoy u. a., 2018]. Die Erfassung von Klassifikationsunsicherheiten ist essentiell, da es dem Anwender erlaubt, die Aussage der Klassifikation zu hinterfragen und das weitere klinische Vorgehen besser zu planen. Für die Quantifizierung der Unsicherheit wurde die Entropie genutzt (siehe Gleichung 7.37). Die Ergebnisse zeigen, dass unabhängig vom Ansatz die weiße Masse mit einer Präzision von 0.89 bis 0.93 und einer Sensitivität von 0.96 bis 0.98 identifiziert werden kann, wenn ebenfalls unsichere Klassifikationen berücksichtigt werden (siehe Tab. 7.2). Ohne Berücksichtigung von unsicheren Klassifikationen konnten diese Werte um bis zu 10 % gesteigert werden. Die Klassifikation von grauer Masse und stark tumorerinfiltrierter weißer Masse erreichte kleinere Werte, was die Ähnlichkeit dieser beiden Gewebearten unterstreicht und sich somit mit den Ergebnissen der optischen Parameter aus Kapitel 6 deckt. Für gesunde graue Masse ergab sich eine Präzision von 0.62 bis 0.68 und Sensitivität von 0.61 bis 0.66. Für stark tumorerinfiltrierte weiße Masse wurden für die Präzision von 0.76 bis 0.77 und für die Sensitivität 0.73 bis 0.78 ermittelt. Aber auch hier konnten die Metriken in einigen Fällen um über 10 % gesteigert werden, wenn die Klassifikationsunsicherheiten berücksichtigt wurden. Im Mittel erreichten die Ansätze eine Präzision von 0,83 und eine Sensitivität von 0,83 für die Klassifikation der Gewebearten für einen Entropiegrenzwert von $<0,62$ (rund 65 % der Daten). Durch Herabsetzung des Entropiegrenzwertes auf $<0,38$ werden die Präzision auf 0,85 und die Sensitivität auf 0,86 angehoben. Bei diesem Grenzwert werden noch immer rund 42 % der Daten berücksichtigt. Mit den neuen Ansätzen konnten die Klassifikationsergebnisse aus Kapitel 6 verbessert werden. Eine zuverlässige Identifikation der Zwischenstufen der Tumorerinfiltration konnte nicht erreicht werden (siehe Tab. 7.2), jedoch reicht die Entropie in den meisten Fällen aus, um diese als unsichere Klassifikationen einzustufen. Somit können falsche Interpretationen der Klassifikationsvorhersagen minimiert werden.

Das langfristige Ziel ist die Etablierung der In-vivo-OCT in der Neurochirurgie. Die Ex-vivo-Anwendung hat gezeigt, dass das Potential der OCT sehr vielversprechend ist,

jedoch sind andere Ex-vivo-Bildgebungen wie die stimulierte Raman-Mikroskopie vom Bildeindruck deutlich näher an dem aktuellen Goldstandard, dem HE-Schnittbild, und dadurch einfacher zu etablieren [DePaoli u. a., 2020; Hollon u. a., 2016; Reinecke u. a., 2022]. Ein weiterer Nachteil der Ex-vivo-Anwendung ist die Entnahme der Probe, was dazu führen kann, dass gesundes Gewebe entnommen wird. Unnötige Gewebentnahmen sollten vermieden werden, um die Belastung auf den Patienten so klein wie möglich zu halten. In der In-vivo-Anwendung kann die OCT ihre Vorteile, die schnelle Aufnahmezeit gepaart mit der Auflösung im Mikrometerbereich, gegenüber anderen Bildgebungsmodalitäten ausspielen. Die OCT könnte als zusätzliche Bildgebungsmethode zur Ergänzung der anderen Diagnoseverfahren etabliert werden. Die Komplexität der Gewebeidentifikation ist am besten lösbar, wenn mehrere Methoden genutzt werden. Im Rahmen der Studie wurden neben den Ex-vivo-OCT-Aufnahmen auch In-vivo-Aufnahmen mit in einem OP-Mikroskop integrierten OCT-System (iOCT, Haag-Streit) erzeugt [Kuppler u. a., 2023]. Das System hatte eine Aufnahmewellenlänge von 830 nm mit einer lateralen Auflösung von ungefähr 23 μm . Die zu den Proben gehörenden pixelweisen Annotationen wurden zu einer globalen Annotation für jede In-vivo-Aufnahme zusammengefasst. Auf Basis dieser Daten konnte gezeigt werden, dass die Trends der Ex-vivo-Daten auch hier zu sehen sind (siehe Abb. 8.1 (b-d)). Die Trennung von weißer Masse von stark tumorinfiltrierter weißer Masse erfolgte mit einer Sensitivität von 0,90 und einer Spezifität von 0,84 [Kuppler u. a., 2023].

Die Aufnahmegeschwindigkeit des In-vivo-OCT-Systems ist mit 35.000 A-Scans pro Sekunde nach heutigen Maßstäben recht langsam, wodurch nur 100 B-Scans pro Volumen über einen Scan-Bereich von 6 mm \times 16 mm aufgenommen wurden. Diese Abtastrate ist nicht ausreichend, um effizient inkohärent zu mitteln, um so mögliche Strukturen besser darzustellen (siehe Abb. 8.1 (a)). Aus diesem Grund wurde das OCT-System des iOCTs durch das in den Ex-vivo-Messungen genutzte OMES-System ersetzt [Draxinger u. a., 2024]. Aufgrund seiner schnellen Datenaufnahme von 1.600.000 A-Scans pro Sekunde ist eine ausreichende Abtastrate über einen vergleichbaren Scan-Bereich möglich (siehe Abb. 8.2 (c)). Um die Interpretation der In-vivo-Daten für den Chirurgen zu vereinfachen, können die optischen Parameter und das Bestimmtheitsmaß genutzt werden, um einen Bildkontrast zu erzeugen, welcher einem Weißlichtbild ähnelt (siehe Abb. 8.2 (d)). In Zukunft wird dieses Verfahren weiterentwickelt, um in Kombination mit einem Klassifikator eine Aussage über den Gewebetyp (z. B. weiße Masse oder keine weiße Masse) dem Chirurgen bereitzustellen. Aktuell ist das neue In-vivo-OCT-System durch die hohe laterale Auflösung von rund 70 μm , die Anfälligkeit für Umklappartefakte und die begrenzte Bewegungsfreiheit des Mikroskops limitiert (siehe Abb. 8.2 (a,b)). Die Auflösung ist bedingt durch die Adaption auf ein Mikroskop-System und kann in Zukunft durch eine komplette Neuentwicklung des Systems gelöst werden. Die Umklappartefakte sind ein häufiges Problem bei den In-vivo-Aufnahmen, welches durch die teilweise extremen Formen der Resektionshöhle bedingt wird. Sie entstehen dadurch, dass das OCT-System den Weglängenunterschied zum Referenzspiegel

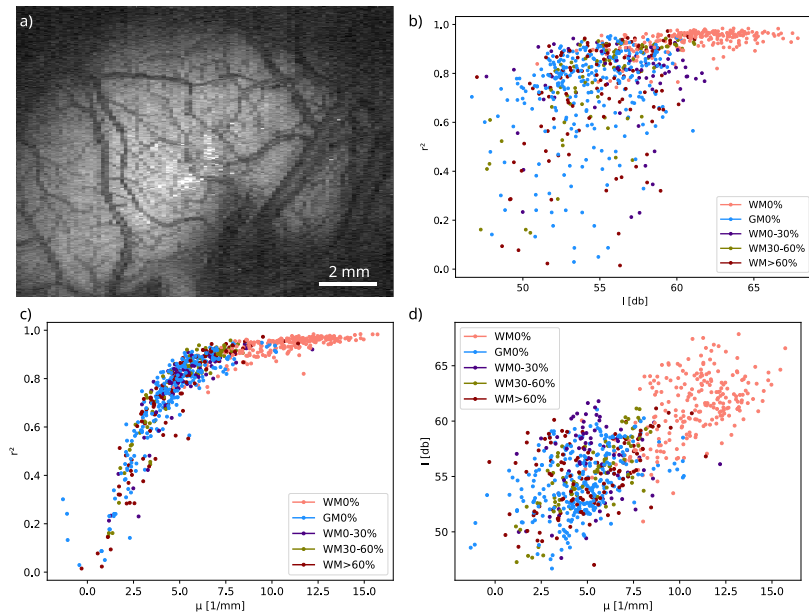


Abb. 8.1: a) En-face-Bild von der Gehirnoberfläche aufgenommen mit dem iOCT. b-d) Unterschiedliche Zusammenhänge zwischen den optischen Parametern (μ_t und I_0) und dem Bestimmtheitsmaß r^2 , die aus den In-vivo-Daten des iOCT extrahiert wurden. Die Parameter wurden für die folgenden Gewebe bestimmt: Weiße Masse 0 % Tumordinfiltration = WM0%, weiße Masse 0 % bis 30 % Tumordinfiltration = WM0-30%, weiße Masse 30 % bis 60 % Tumordinfiltration = WM30-60%, weiße Masse >60 % Tumordinfiltration = WM>60% und graue Masse 0 % Tumordinfiltration = GM0%

nur relativ bestimmt. Hierzu wird in Zukunft das System zu einem Full-Range-OCT erweitert. Ein solcher Aufbau erlaubt die Bestimmung von absoluten Weglängenunterschieden und somit die Unterdrückung der Umklappartefakte [Wieser, 2016]. Die begrenzte Bewegungsfreiheit limitiert die Erreichbarkeit aller Positionen innerhalb der Resektionshöhle. Um trotzdem OCT-Volumen an schwer zugänglichen Bereichen aufzunehmen, müssen teilweise extreme Positionierungen des Mikroskops eingestellt werden. Eine mögliche Lösung wäre die Verwendung einer OCT-Sonde, welche bereits von anderen Forschungsgruppen verwendet wurde [Möller u. a., 2021; Yashin u. a., 2019b]. Neben den genannten Herausforderungen ist das in die Resektionshöhle laufende Blut ein weiterer Faktor, der die Datenaufnahme mit einem OCT-System erschwert. Aufgrund der absorbierenden Eigenschaften kann Blut dafür sorgen, dass das darunterliegende Gewebe nicht mit dem OCT-System zusehen ist. In vielen Fällen ist das reine Absaugen des Blutes nicht ausreichend, da dieses unmittelbar nachfließt und nur eine Stillung der Blutung durch die Koagulation der Blutgefäße den Blutzuffluss stoppt. Je nach Umfang der Blutung müssen eventuell mehrere Blutgefäße geschlossen werden,

um die Resektionshöhle für eine OCT-Aufnahme vorzubereiten, was einen erheblichen Zeitaufwand aus chirurgischer Sicht darstellt.

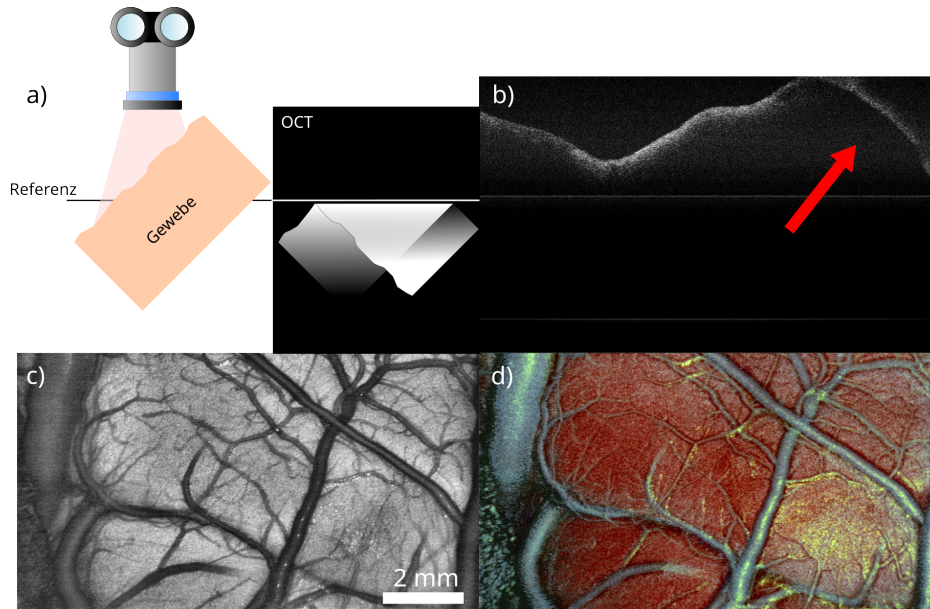


Abb. 8.2: a) Schema zur Entstehung der ‚Umklappartefakte‘. b) In-vivo-OCT-B-Scan mit einem ‚Umklappartefakt‘. c) En-face-Aufnahme von der Gehirnoberfläche mit dem In-vivo-OMES-System. d) Parameterbasierter Bildkontrast, angewandt auf das OCT-Volumen von (c).

Die Weiterentwicklung der In-vivo-Anwendung ist zwar das langfristige Ziel, doch können die Ex-vivo-Daten zur Evaluation von Algorithmen für die Gewebeidentifikation genutzt werden. Um die Aussagekraft dieser Algorithmen zu erhöhen, werden mehr Ex-vivo-Daten benötigt. Im Falle des hier vorgestellten Datensatzes können, die restlichen 37% der histologischen Schnitte, die aufgrund von nicht plausiblen Annotationen ausgeschlossen wurden, erneut annotiert werden. Allein diese Maßnahme würde dazu führen, dass sich der vorgestellte Datensatz fast verdoppelt und anstelle von 700 B-Scan-Paaren 1250 B-Scan-Paare zur Verfügung stehen. Um die Annotation zu erleichtern, ist es möglich eine automatische Klassifikation auf Basis der guten Annotationen und den dazugehörigen histologischen Schnitten zu erstellen. Außerdem ist es sinnvoll, dass mehrere Personen die Annotationen durchführen. Da es sich bei der Bestimmung der Grenzverläufe zwischen graduellen Gewebeübergängen um subjektive Bewertungen handelt, würden unterschiedliche Bearbeiter den Annotationen eine höhere Aussagekraft und Sicherheit verleihen.

Eine weitere Möglichkeit, den Ex-vivo-Datensatz zu erweitern, ist die Kombination mit den Datensätzen anderer Forschungsgruppen (siehe Anhang A). Ein Zusam-

menlegen der einzelnen Datensätze würde zu einem Versechsfachen der Patientenzahl für die OCT-Daten mit einer Wellenlänge von 1300 nm führen. Für die OCT-Daten mit einer Aufnahmewellenlänge von 930 nm würde sich die Patientenzahl verdreifachen. Allein die gesteigerte Patientenzahl könnte helfen, aktuelle Limitierungen in der Klassifikation der unterschiedlichen Gewebearten zu überwinden oder diese besser zu evaluieren. Die größte Herausforderung einer solchen Kombination würde darin liegen, die unterschiedlichen Annotationsverfahren zu vereinheitlichen, um eine Klassifikation durchführen zu können. Hinzu kommt, dass die unterschiedlichen Dateiformate der meist selbstgebauten OCT-Systeme in ein einheitliches Format umgewandelt werden müssten. Es bleibt offen, ob von den anderen Forschungsgruppen Meta-Daten wie der Roll-Off oder die Fokuslage aufgenommen wurden. In einigen Arbeiten wurden diese Korrekturen während der Auswertung nicht berücksichtigt.

Die vorliegende Arbeit legt den Grundstein für die weitere Forschung der Applikation der OCT in der Neurochirurgie. Die Ex-vivo-Ergebnisse zeigen, dass anhand von OCT-Aufnahmen die optischen und strukturellen Eigenschaften und Unterschiede der Gehirngewebe identifiziert werden können. Insbesondere gesunde weiße Masse ist aufgrund der hohen Streueigenschaften der Myelinscheiden allein auf Basis der optischen Eigenschaften von stark tumorinfiltrierter weißer Masse trennbar. Des Weiteren ist eine Identifikation auf Basis der strukturellen Merkmale möglich, da die OCT die Homogenität der gesunden weißen Masse erfassen kann. Die graduelle Zersetzung des gesunden Gewebes mit zunehmender Tumorinfiltration ist auch durch die OCT darstellbar. Komplizierter stellte sich die Identifikation von gesunder grauer Masse dar, welche eine hohe Ähnlichkeit der optischen und strukturellen Eigenschaften zu tumorinfiltrierter weißer Masse aufweist. Auf Basis der vorliegenden Ergebnisse kann es für die klinische Anwendung sinnvoll sein die OCT nur dazu zu verwenden, die weiße Masse zu identifizieren. Dieser Gewebetyp wurde unabhängig vom Ansatz und der genutzten Merkmale sehr gut identifiziert. Die In-vivo-Anwendung der OCT sollte perspektivisch unter Berücksichtigung der oben genannten Erkenntnisse und Systemoptimierungen fortgeführt werden.

Kapitel 9

Publikationsliste

Journal-Publikationen als Erst-Autor

1. **Streng, Paul**; Lange, Birgit; Grill, Christin; Draxinger, Wolfgang; Danicke, Veit; Theisen-Kunde, Dirk; Hagel, Christian; Spahr-Hess, Sonja; Bonsanto, Matteo; Huber, Robert; Handels, Heinz; Brinkmann, Ralf. (2022). Registration of histological brain images onto optical coherence tomography images based on shape information. *Physics in Medicine; Biology*. 67. 10.1088/1361-6560/ac6d9d.
2. **Streng, Paul**; Lange, Birgit; Draxinger, Wolfgang; Grill, Christin; Danicke, Veit; Theisen-Kunde, Dirk; Hagel, Christian; Spahr-Hess, Sonja; Bonsanto, Matteo; Handels, Heinz; Huber, Robert; Brinkmann, Ralf. (2022). Differentiation of different stages of brain tumor infiltration using optical coherence tomography: Comparison of two systems and histology. *Frontiers in Oncology*. 12. 10.3389/fonc.2022.896060.
3. Kuppler, Patrick; **Streng, Paul**; Lange, Birgit; Spahr-Hess, Sonja; Draxinger, Wolfgang; Hagel, Christian; Theisen-Kunde, Dirk; Brinkmann, Ralf; Huber, Robert; Tronnier, Volker; Bonsanto, Matteo. (2023). The neurosurgical benefit of contactless in vivo optical coherence tomography regarding residual tumor detection: A clinical study. *Frontiers in Oncology*. 13. 10.3389/fonc.2023.1151149. (geteilter Erst-Autor)

Konferenzbeiträge als Erst-Autor

1. **P., Streng**, B. Lange, W. Draxinger, C. Hagel, C. Grill, V. Danicke, D. Theisen-Kunde, S. Spahr-Hess, M. M. Bonsanto, R. Huber, H. Handels, and R. Brinkmann, "Demarcation of brain and tumor tissue with optical coherence tomography using prior neural networks,in *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media V*, Technical Digest Series (Optica Publishing Group, 2023), paper 126321P.
2. **Streng, Paul**; Lange, Birgit; Draxinger, Wolfgang; Hagel, Christian; Grill, Christin; Danicke, Veit; Theisen-Kunde, Dirk; Spahr-Hess, Sonja; Bonsanto, Matteo; Huber, Robert; Handels, Heinz; Brinkmann, Ralf. (2023). Dual wavelength

- analysis and classification of brain tumor tissue with optical coherence tomography. 13. 10.1117/12.2649963.
3. **Streng P**, Lange B, Grill C, et al. Automated identification of tumour infiltrated brain tissue using optical coherence tomography and deep learning. Published online 2022. doi:10.3205/22DGNC086
 4. **Streng, P.**; Lange, Birgit; Grill, C.; Draxinger, W.; Danicke, V.; Theisen-Kunde, Dirk; Handels, Heinz; Bonsanto, M.; Hagel, Christian; Huber, R.; Brinkmann, Ralf. (2021). Comparison of two optical coherence tomography systems to identify human brain tumor. 20. 10.1117/12.2616044.
 5. **Streng, Paul**; Lange, Birgit; Grill, Christin; Draxinger, Wolfgang; Danicke, Veit; Theisen-Kunde, Dirk; Handels, Heinz; Bonsanto, Matteo; Hagel, Christian; Huber, Robert; Brinkmann, Ralf. (2021). Characterization of brain tumor tissue with 1310 nm optical coherence tomography. 61. 10.1117/12.2578409.
 6. **Streng, Paul** ; Lange, Birgit; Grill, Christin; Draxinger, Wolfgang; Danicke, Veit; Theisen-Kunde, Dirk; Handels, Heinz; Hagel, Christian; Bonsanto, Matteo; Huber, Robert; Brinkmann, Ralf. (2021). Creating a depth-resolved OCT-dataset for supervised classification based on ex vivo human brain samples. 60. 10.1117/12.2578391.
 7. **Streng P**, Lange B, Danicke V, et al. Towards automated brain tumour detection with optical coherence tomography. 71 Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neurochirurgie (DGNC). Published online 2020:9. Joint Meeting mit der Japanischen Gesellschaft für Neurochirurgie. doi:10.3205/20DGNC360
 8. **Streng, Paul**; Lange, Birgit; Grill, Christin; Draxinger, Wolfgang; Bonsanto, Matteo; Hagel, Christian; Huber, Robert; Brinkmann, Ralf. (2020). Segmented OCT data set for depth resolved brain tumor detection validated by histological analysis. 96. 10.1117/12.2545659.
 9. **Streng, Paul** ; Lange, Birgit; Grill, Christin; Draxinger, Wolfgang; Danicke, Veit; Theisen-Kunde, Dirk; Bonsanto, Matteo; Huber, Robert; Brinkmann, Ralf. (2019). Ex vivo and in vivo imaging of human brain tissue with different OCT systems. 49. 10.1117/12.2526932.

Journal-Publikationen als Co-Autor

1. Kuppler, P., **Streng, P.**, Lange, B., Spahr-Hess, S., Draxinger, W., Hagel, C., Theisen-Kunde, D., Brinkmann, R., Huber, R., Tronnier, V., & Bonsanto, M. M. (2024). Microscope-integrated optical coherence tomography for in vivo human brain tumor detection with artificial intelligence. *Journal of neurosurgery*, 1–9. Advance online publication. <https://doi.org/10.3171/2024.1.JNS231511>
2. Burhan, S., Detrez, N., Rewerts, K., **Streng, P.**, Buschschlüter, S., Kren, J., Hagel, C., Bonsanto, M. M., Brinkmann, R., & Huber, R. (2024). Phase unwrap-

ping for MHz optical coherence elastography and application to brain tumor tissue. *Biomedical optics express*, 15(2), 1038–1058.

<https://doi.org/10.1364/BOE.510020>

3. Draxinger W, Detrez N, **Streng P**, et al. Microscope Integrated MHz Optical Coherence Tomography System for Neurosurgery: Development and Clinical In-Vivo Imaging. *Biomedical Optics Express*. Published online August 2024. doi:10.1364/boe.530976

Konferenzbeiträge als Co-Autor

1. Wolfgang Draxinger, Dirk Theisen-Kunde, Lion Schuetz, Nicolas Detrez, **Paul Streng**, Maximilian Rixius, Veit Danicke, Wolfgang Wieser, Jessica Kren, Patrick Kuppler, Sonja Spar-Hess, Matteo Mario Bonsanto, Ralf Brinkmann, Robert Huber, "Microscope integrated real time high density 4D MHz-OCT in neurosurgery: a depth and tissue resolving visual contrast channel and the challenge of fused presentation," *Proc. SPIE 12627, Translational Biophotonics: Diagnostics and Therapeutics III*, 126270W (11 August 2023); <https://doi.org/10.1117/12.2670953>
2. Nicolas Detrez, Sazgar Burhan, **Paul Streng**, Jessica Kren, Christian Hagel, Matteo Mario Bonsanto, Dirk Theisen-Kunde, Robert Huber, Ralf Brinkmann, Air-jet based optical coherence elastography of brain tumor tissue: stiffness evaluation by structural histological analysis, *Proc. SPIE 12629, Emerging Technologies for Cell and Tissue Characterization II*, 126290M (11 August 2023); <https://doi.org/10.1117/12.2670944>
3. Draxinger, Wolfgang; Theisen-Kunde, Dirk; Schützeck, Lion; Detrez, Nicolas; **Streng, Paul**; Danicke, Veit; Kren, Jessica; Kuppler, Patrick; Spahr-Hess, Sonja; Bonsanto, Matteo; Brinkmann, Ralf; Huber, Robert. (2023). High speed 4D in-vivo OCT imaging of the human brain: creating high density datasets for machine learning toward identification of malign tissue in real time. 41. 10.1117/12.2648505.
4. Kuppler, Patrick; **Streng, Paul**; Draxinger, Wolfgang; Spahn-Hess, Sonja; Hagel, Christian; Theisen-Kunde, Dirk; Brinkmann, Ralf; Huber, Robert; Tronnier, Volker; Bonsanto, Matteo. (2022). The neurosurgical benefit of contactless in vivo optical coherence tomography regarding residual tumor detection – a clinical study. 10.3205/22dgn266.
5. Theisen-Kunde, Dirk; Draxinger, W.; Bonsanto, M.; **Streng, Paul**; Detrez, Nicolas; Huber, R.; Brinkmann, Ralf. (2021). 1.6 MHz FDML OCT for intraoperative imaging in neurosurgery. 49. 10.1117/12.2614855.

6. Kuppler P, **Streng P**, Draxinger W, et al. The neurosurgical benefit of contactless in vivo optical coherence tomography regarding residual tumor detection – a clinical study. Published online 2022. doi:10.3205/22DGNC266
7. Kyme AZ, **Streng P**, Lee F, Meikle SR. Silhouette-Based Markerless Motion Estimation of Awake Rodents in PET. In: 2017 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference (NSS/MIC). IEEE; 2017. doi:10.1109/nssmic.2017.8532895

Anhang A

Anhang zu Kapitel 1 und Kapitel 8

Tabelle A.1: Übersicht über die Ex-vivo-Datensätze der bekannten Forschungsgruppen.

Gruppe	Patientenzahl	Wellenlänge [nm]	Gewebearten
Strengé u. a., 2022a	18	1300	graue Masse, weiÙe Masse, Gliome, Metastasen
Kut u. a., 2015	37	1300	gesundes Gewebe, Gliome
Yashin u. a., 2019a	30	1300	graue Masse, weiÙe Masse, Gliome
Juarez-Chambi u. a., 2019	21	1300	gesundes Gewebe, Gliome
Wang u. a., 2022	10	1300	gesundes Gewebe, Tumor
Strengé u. a., 2022a	18	930	graue Masse, weiÙe Masse, Gliome, Metastasen
Lenz u. a., 2018	11	930	graue Masse, weiÙe Masse, Meningiom
Möller u. a., 2023	27	930	graue Masse, weiÙe Masse, Glioblastom
Gesperger u. a., 2020	42	425–685	gesundes Gewebe, Gliome, Metastasen

Anhang B

Anhang zu Kapitel 4

Cutting Instruction for P4-SP18		
Distance to Cut	Comment	Status
40 x 50 μm	Starting Offset-Scrap	
5 x 2 μm	A1	
5 x 2 μm	B1	
8 x 10 μm	Spacing-Scrap	
5 x 2 μm	A2	
5 x 2 μm	B2	
8 x 10 μm	Spacing-Scrap	
5 x 2 μm	A3	
5 x 2 μm	B3	
8 x 10 μm	Spacing-Scrap	
5 x 2 μm	A4	
5 x 2 μm	B4	
8 x 10 μm	Spacing-Scrap	
5 x 2 μm	A5	
5 x 2 μm	B5	
8 x 10 μm	Spacing-Scrap	
5 x 2 μm	A6	
5 x 2 μm	B6	
8 x 10 μm	Spacing-Scrap	
5 x 2 μm	A7	
5 x 2 μm	B7	
8 x 10 μm	Spacing-Scrap	
5 x 2 μm	A8	
5 x 2 μm	B8	
8 x 10 μm	Spacing-Scrap	
5 x 2 μm	A9	
5 x 2 μm	B9	
8 x 10 μm	Spacing-Scrap	
5 x 2 μm	A10	
5 x 2 μm	B10	

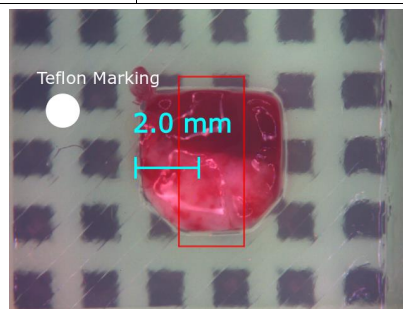


Abb. B.1: Vollständige Schnitthanleitung für eine Probe. Der Schnittversatz (türkis) wurde initial weggeschnitten, um innerhalb des FOV des Callisto-Systems zu sein (rotes Viereck). Der A-Schnitt wurde histologisch eingefärbt, während der B-Schnitt ungefärbt blieb. Dieser diente als Absicherung, falls eine Probe nochmals mit einer anderen Färbungsmethode nachgefärbt werden musste.

Anhang C

Anhang zu Kapitel 6

C.1 Übersicht über die relativen Differenzen

Tabelle C.1: Relative Unterschiede zwischen den bestimmten Absorptionskoeffizienten des Callisto-Systems für die unterschiedlichen Gewebetypen (GM = graue Masse, WM = weiße Masse, WM>0-30% = weiße Masse mit Tumordinfiltration von 0 % bis 30 %, WM>30-60% = weiße Masse mit Tumordinfiltration von 30 % bis 60 % und WM>60% = weiße Masse mit Tumordinfiltration von >60 %). Die verwendeten Medianwerte stammen aus Tab. 6.2.

Callisto- μ [mm^{-1}]	GM	WM	WM >0-30%	WM 30 % bis 60 %	WM >60%	
	6,93	12,58	10,21	6,95	4,79	
GM	6,93	-	0,55	0,68	-	1,45
WM	12,58	1,82	-	1,23	1,81	2,63
WM>0-30%	10,21	1,47	0,81	-	1,47	2,13
WM30-60%	6,95	-	0,55	0,68	-	1,45
WM>60%	4,79	0,69	0,38	0,47	0,69	-

Tabelle C.2: Relative Unterschiede zwischen den bestimmten Intensitätswerten des Callisto-Systems für die unterschiedlichen Gewebetypen (GM = graue Masse, WM = weiße Masse, WM>0-30% = weiße Masse mit Tumordinfiltration von 0 % bis 30 %, WM>30-60% = weiße Masse mit Tumordinfiltration von 30 % bis 60 % und WM>60% = weiße Masse mit Tumordinfiltration von >60 %). Die verwendeten Medianwerte stammen aus Tab. 6.2.

Callisto- I_0 [a.u.]	GM	WM	WM>0-30%	WM30-60%	WM>60%	
	0,04	0,08	0,05	0,04	0,01	
GM	0,04	-	0,55	0,88	1,15	2,87
WM	0,08	1,83	-	1,60	2,09	5,24
WM>0-30%	0,05	1,14	0,63	-	1,31	3,28
WM30-60%	0,04	0,87	0,48	0,76	-	2,51
WM>60%	0,01	0,35	0,19	0,30	0,40	-

Tabelle C.3: Relative Unterschiede zwischen den bestimmten Intensitätswerten des OMES-Systems für die unterschiedlichen Gewebetypen (GM = graue Masse, WM = weiße Masse, WM>0-30% = weiße Masse mit Tumordinfiltration von 0 % bis 30 %, WM>30-60% = weiße Masse mit Tumordinfiltration von 30 % bis 60 % und WM>60% = weiße Masse mit Tumordinfiltration von >60 %). Die verwendeten Medianwerte stammen aus Tab. 6.2.

OMES- I_0 [a.u.]		GM	WM	WM>0-30%	WM30-60%	WM>60%
		0,18	0,40	0,16	0,13	0,11
GM	0,18	-	0,46	1,14	1,36	1,71
WM	0,40	2,17	-	2,46	2,95	3,70
WM>0-30%	0,16	0,88	0,41	-	1,20	1,51
WM30-60%	0,13	0,73	0,34	0,83	-	1,25
WM>60%	0,11	0,58	0,27	0,66	0,80	-

Tabelle C.4: Relative Unterschiede zwischen den bestimmten Absorptionskoeffizienten des OMES-Systems für die unterschiedlichen Gewebetypen (GM = graue Masse, WM = weiße Masse, WM>0-30% = weiße Masse mit Tumordinfiltration von 0 % bis 30 %, WM>30-60% = weiße Masse mit Tumordinfiltration von 30 % bis 60 % und WM>60% = weiße Masse mit Tumordinfiltration von >60 %). Die verwendeten Medianwerte stammen aus Tab. 6.2.

OMES- μ [mm ⁻¹]		GM	WM	WM>0-30%	WM30-60%	WM>60%
		1,85	4,93	3,91	2,05	1,22
GM	1,85	-	0,38	0,47	0,90	1,52
WM	4,93	2,66	-	1,26	2,40	4,03
WM>0-30%	3,91	2,11	0,79	-	1,91	3,20
WM30-60%	2,05	1,11	0,42	0,52	-	1,68
WM>60%	1,22	0,66	0,25	0,31	0,60	-

C.2 Punktwolken der bestimmten optischen Parameter

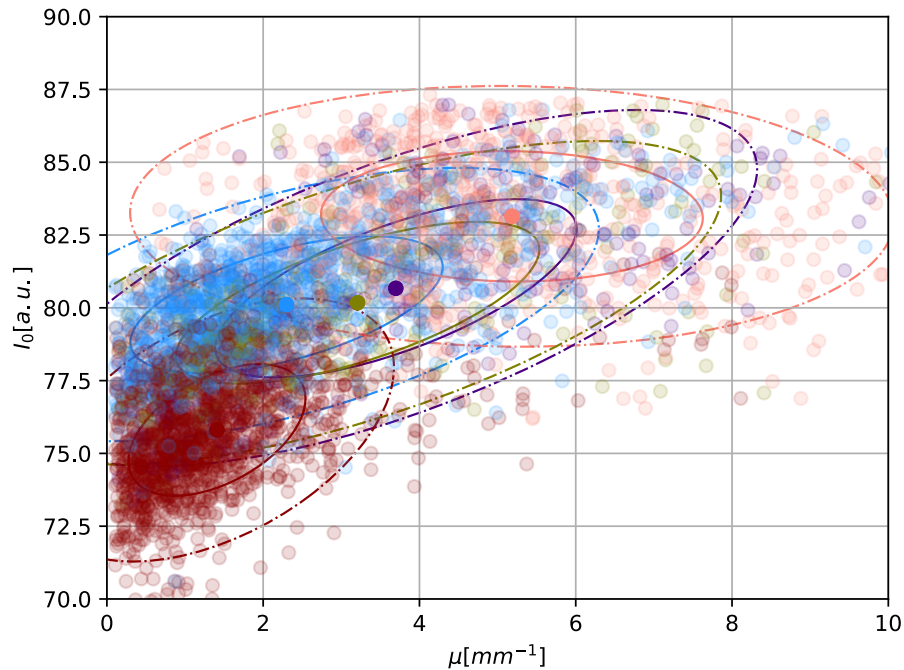


Abb. C.1: Zusammenhang der optischen Parameter für das Callisto-System (Weiße Masse 0 % Tumorinfiltration = orange, weiße Masse 0 % bis 30 % Tumorinfiltration = lila, weiße Masse 30 % bis 60 % Tumorinfiltration = olive-grün, weiße Masse >60 % Tumorinfiltration = rot und graue Masse 0 % Tumorinfiltration = blau). 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.

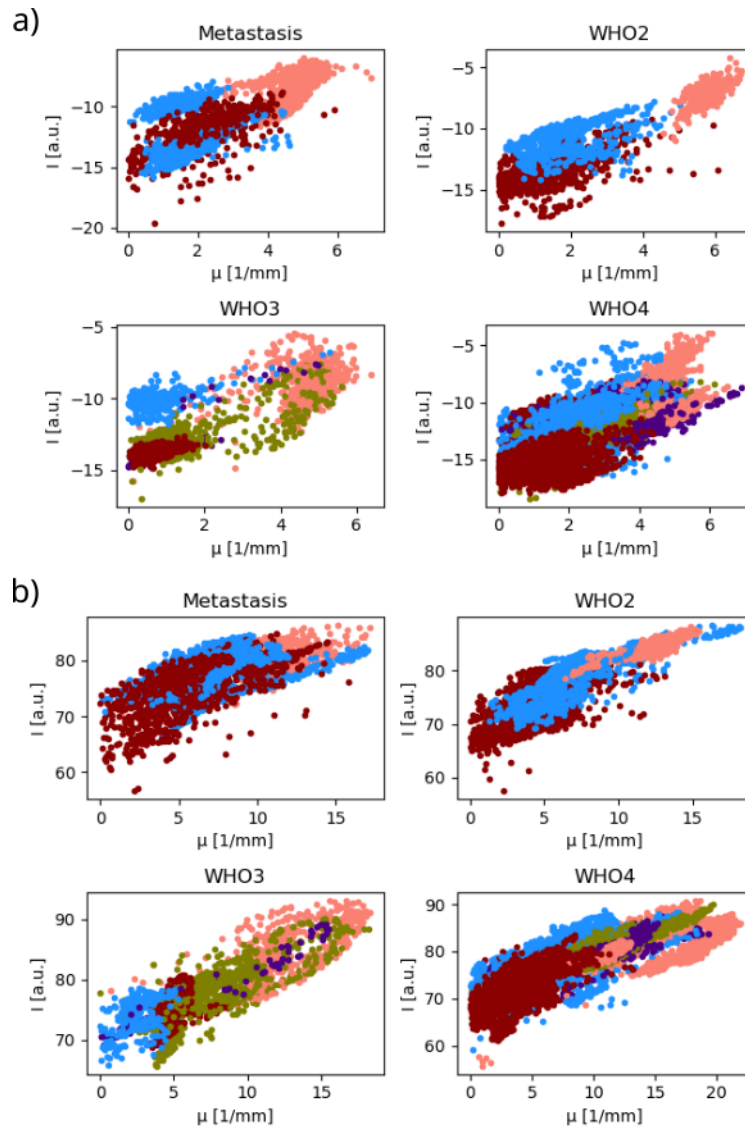


Abb. C.2: Zusammenhang der optischen Parameter für das OMES (a) und Callisto-System (b), aufgeschlüsselt nach den jeweiligen Pathologien (Weiße Masse 0 % Tumorinfiltration = orange, weiße Masse 0 % bis 30 % Tumorinfiltration = lila, weiße Masse 30 % bis 60 % Tumorinfiltration = olive-grün, weiße Masse >60 % Tumorinfiltration = rot und graue Masse 0 % Tumorinfiltration = blau). Der Punkt zeigt jeweils den Mittelpunkt des Clusters für das jeweilige Gewebe.

Literaturverzeichnis

- [Adhi u. a., 2013] Adhi, M. und Duker, J. „Optical coherence tomography – Current and future applications“. *Current opinion in ophthalmology* 24, 2013, S. 213–21.
- [Almasian u. a., 2015] Almasian, M., Bosschaart, N., Leeuwen, T. G. van und Faber, D. J. „Validation of quantitative attenuation and backscattering coefficient measurements by optical coherence tomography in the concentration-dependent and multiple scattering regime“. *Journal of Biomedical Optics* 20 (12), 2015, S. 1–11. URL: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.12.121314>.
- [Alturkistani u. a., 2015] Alturkistani, H. A., Tashkandi, F. M. und Mohammedsaleh, Z. M. „Histological Stains: A Literature Review and Case Study“. en. *Glob J Health Sci* 8 (3), 2015, S. 72–79.
- [Arevalo u. a., 2017] Arevalo, O., Valenzuela, R., Esquenazi, Y., Rao, M., Tran, B., Zhu, J.-J., Bhattacharjee, M., Fonseca, P., Doyle, N. und Riascos, R. „The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: A Practical Approach for Gliomas, Part 1. Basic Tumor Genetics“. *Neurographics* 7, 2017, S. 334–343.
- [Aumann u. a., 2019] Aumann, S., Donner, S., Fischer, J. und Müller, F. „Optical Coherence Tomography (OCT): Principle and Technical Realization“. In: *High Resolution Imaging in Microscopy and Ophthalmology: New Frontiers in Biomedical Optics*. Springer International Publishing, 2019, S. 59–85. URL: https://doi.org/10.1007/978-3-030-16638-0_3.
- [Baldi, 2012] Baldi, P. „Autoencoders, Unsupervised Learning, and Deep Architectures“. In: *Proceedings of ICML Workshop on Unsupervised and Transfer Learning*. Bd. 27. Proceedings of Machine Learning Research. PMLR, 2012, S. 37–49. URL: <https://proceedings.mlr.press/v27/baldi12a.html>.
- [Belongie u. a., 2000] Belongie und Malik. „Matching with shape contexts“. In: *2000 Proceedings Workshop on Content-based Access of Image and Video Libraries*. 2000, S. 20–26.
- [Belongie u. a., 2002] Belongie, S., Malik, J. und Puzicha, J. „Shape matching and object recognition using shape contexts“. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 24 (4), 2002, S. 509–522.
- [Bernstein u. a., 2000] Bernstein, M. und Berger, M. S. *Neuro-oncology - The Essentials*. Thieme, 2000.

- [Bette u. a., 2018] Bette, S., Barz, M., Wiestler, B., Huber, T., Gerhardt, J., Buchmann, N., Combs, S. E., Schmidt-Graf, F., Delbridge, C., Zimmer, C., Kirschke, J. S., Meyer, B., Ryang, Y.-M., Ringel, F. und Gempt, J. „Prognostic Value of Tumor Volume in Glioblastoma Patients: Size Also Matters for Patients with Incomplete Resection“. *Annals of Surgical Oncology* (2), 2018, S. 558–564.
- [Bevilacqua u. a., 1999] Bevilacqua, F., Piguët, D., Marquet, P., Gross, J. D., Tromberg, B. J. und Depeursinge, C. „In vivo local determination of tissue optical properties: applications to human brain“. *Appl. Opt.* 38 (22), 1999, S. 4939–4950. URL: <https://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?URI=ao-38-22-4939>.
- [Binding u. a., 2011] Binding, J., Arous, J. B., Léger, J.-F., Gigan, S., Boccara, C. und Bourdieu, L. „Brain refractive index measured in vivo with high-NA defocus-corrected full-field OCT and consequences for two-photon microscopy“. *Opt. Express* 19 (6), 2011, S. 4833–4847. URL: <https://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-19-6-4833>.
- [Böhringer u. a., 2006] Böhringer, H., Boller, D., Leppert, J., Knopp, U., Lankenau, E., Reusche, E., Hüttmann, G. und Giese, A. „Time-domain and spectral-domain optical coherence tomography in the analysis of brain tumor tissue“. *Lasers in Surgery and Medicine* 38 (6), 2006, S. 588–597. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/lsm.20353>. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/lsm.20353>.
- [Böhringer u. a., 2009] Böhringer, H. J., Lankenau, E., Stellmacher, F., Reusche, E., Hüttmann, G. und Giese, A. „Imaging of human brain tumor tissue by near-infrared laser coherence tomography“. *Acta neurochirurgica* 151, 2009, S. 507–517.
- [Bookstein, 1989] Bookstein, F. L. „Principal warps: thin-plate splines and the decomposition of deformations“. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 11 (6), 1989, S. 567–585.
- [Burhan u. a., 2023] Burhan, S., Detrez, N., Göb, M., Bonsanto, M. M., Brinkmann, R. und Huber, R. „Advanced FFT-based contrast approach for MHz optical coherence elastography“. In: *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media V*. Bd. 12632. SPIE, 2023, S. 1263215. URL: <https://doi.org/10.1117/12.2670957>.
- [Cannon u. a., 2021] Cannon, T. M., Bouma, B. E. und Uribe-Patarroyo, N. „Layer-based, depth-resolved computation of attenuation coefficients and backscattering fractions in tissue using optical coherence tomography“. *Biomed. Opt. Express* 12 (8), 2021, S. 5037–5056. URL: <https://opg.optica.org/boe/abstract.cfm?URI=boe-12-8-5037>.
- [Cormen u. a., 2022] Cormen, T. H., Leiserson, C. E., Rivest, R. L. und Stein, C. *Introduction to Algorithms, fourth edition* -. MIT Press, 2022.

-
- [Dempster, 1968] Dempster, A. P. „A Generalization of Bayesian Inference“. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* 30 (2), 1968, S. 205–247. URL: <http://www.jstor.org/stable/2984504> (besucht am 23.10.2023).
- [Denker u. a., 1990] Denker, J. S. und LeCun, Y. „Transforming Neural-Net Output Levels to Probability Distributions“. In: *Proceedings of the 3rd International Conference on Neural Information Processing Systems*. NIPS'90. Morgan Kaufmann Publishers Inc., 1990, S. 853–859.
- [DePaoli u. a., 2020] DePaoli, D., Lemoine, É., Ember, K., Parent, M., Prud'homme, M., Cantin, L., Petrecca, K., Leblond, F. und Côté, D. C. „Rise of Raman spectroscopy in neurosurgery: a review“. en. *J Biomed Opt* 25 (5), 2020, S. 1–36.
- [Detrez u. a., 2023] Detrez, N., Burhan, S., Strenge, P., Kren, J., Hagel, C., Bonsanto, M. M., Theisen-Kunde, D., Huber, R. und Brinkmann, R. „Air-jet based optical coherence elastography of brain tumor tissue: stiffness evaluation by structural histological analysis“. In: *Emerging Technologies for Cell and Tissue Characterization II*. Bd. 12629. SPIE, 2023, S. 126290M. URL: <https://doi.org/10.1117/12.2670944>.
- [Dewan u. a., 2019] Dewan, M. C., Rattani, A., Fieggen, G., Arraez, M. A., Servadei, F., Boop, F. A., Johnson, W. D., Warf, B. C. und Park, K. B. „Global neurosurgery: the current capacity and deficit in the provision of essential neurosurgical care. Executive Summary of the Global Neurosurgery Initiative at the Program in Global Surgery and Social Change“. *Journal of Neurosurgery JNS* 130 (4), 2019, S. 1055–1064. URL: <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/130/4/article-p1055.xml>.
- [Dice, 1945] Dice, L. R. „Measures of the Amount of Ecologic Association Between Species“. *Ecology* 26 (3), 1945, S. 297–302. URL: <http://www.jstor.org/stable/1932409>.
- [Dorrer u. a., 2000] Dorrer, C., Belabas, N., Likforman, J.-P. und Joffre, M. „Spectral resolution and sampling issues in Fourier-transform spectral interferometry“. *J. Opt. Soc. Am. B* 17 (10), 2000, S. 1795–1802. URL: <https://opg.optica.org/josab/abstract.cfm?URI=josab-17-10-1795>.
- [Draxinger u. a., 2024] Draxinger, W., Detrez, N., Strenge, P., Danicke, V., Theisen-Kunde, D., Schuetzack, L., Spahr-Hess, S., Kuppler, P., Kren, J., Wieser, W., Bonsanto, M., Brinkmann, R. und Huber, R. „Microscope Integrated MHz Optical Coherence Tomography System for Neurosurgery: Development and Clinical In-Vivo Imaging“. *Biomedical Optics Express*, 2024. URL: <http://dx.doi.org/10.1364/BOE.530976>.
- [Drexler u. a., 2008] Drexler, W. und Fujimoto, J. G. *Optical Coherence Tomography - Technology and Applications*. Springer Science & Business Media, 2008.

- [Drexler u. a., 2014] Drexler, W., Liu, M., Kumar, A., Kamali, T., Unterhuber, A. und Leitgeb, R. A. „Optical coherence tomography today: speed, contrast, and multimodality“. *Journal of Biomedical Optics* 19 (7), 2014, S. 071412. URL: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.7.071412>.
- [Duan u. a., 2012] Duan, L., Yamanari, M. und Yasuno, Y. „Automated phase retardation oriented segmentation of chorio-scleral interface by polarization sensitive optical coherence tomography“. *Opt. Express* 20 (3), 2012, S. 3353–3366. URL: <https://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-20-3-3353>.
- [Faber u. a., 2004] Faber, D. J., Meer, F. J. van der, Aalders, M. C. und Leeuwen, T. G. van. „Quantitative measurement of attenuation coefficients of weakly scattering media using optical coherence tomography“. *Opt. Express* 12 (19), 2004, S. 4353–4365. URL: <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-12-19-4353>.
- [Fahrmeir u. a., 2016] Fahrmeir, L., Heumann, C., Künstler, R., Pigeot, I. und Tutz, G. *Statistik - Der Weg zur Datenanalyse*. Springer-Verlag, 2016.
- [Fornberg, 1988] Fornberg, B. „Generation of Finite Difference Formulas on Arbitrarily Spaced Grids“. *Mathematics of Computation* 51 (184), 1988, S. 699–706. URL: <http://www.jstor.org/stable/2008770> (besucht am 26.10.2023).
- [Fujimoto u. a., 2000] Fujimoto, J., Pitris, C., Boppart, S. und Brezinski, M. „Optical Coherence Tomography: An Emerging Technology for Biomedical Imaging and Optical Biopsy 1“. *Neoplasia (New York, N.Y.)* 2, 2000, S. 9–25.
- [Gal u. a., 2016] Gal, Y. und Ghahramani, Z. *Dropout as a Bayesian Approximation: Representing Model Uncertainty in Deep Learning*. 2016. arXiv: 1506.02142 [stat.ML].
- [Gawlikowski u. a., 2021] Gawlikowski, J., Tassi, C. R. N., Ali, M., Lee, J., Humt, M., Feng, J., Kruspe, A. M., Triebel, R., Jung, P., Roscher, R., Shahzad, M., Yang, W., Bamler, R. und Zhu, X. X. „A Survey of Uncertainty in Deep Neural Networks“. *CoRR* abs/2107.03342, 2021. arXiv: 2107.03342. URL: <https://arxiv.org/abs/2107.03342>.
- [Gesperger u. a., 2020] Gesperger, J., Lichtenegger, A., Roetzer, T., Salas, M., Eugui, P., Harper, D. J., Merkle, C. W., Augustin, M., Kiesel, B., Mercea, P. A., Widhalm, G., Baumann, B. und Woehrer, A. „Improved Diagnostic Imaging of Brain Tumors by Multimodal Microscopy and Deep Learning“. *Cancers* 12 (7), 2020. URL: <https://www.mdpi.com/2072-6694/12/7/1806>.
- [Gibson u. a., 2012] Gibson, E., Crukley, C., Gaed, M., Gómez, J. A., Moussa, M., Chin, J. L., Bauman, G. S., Fenster, A. und Ward, A. D. „Registration of prostate histology images to ex vivo MR images via strand-shaped fiducials“. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 36 (6), 2012, S. 1402–1412. eprint: <https://doi.org/10.1002/jmri.22500>.

-
- [//onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jmri.23767](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jmri.23767). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jmri.23767>.
- [Giese u. a., 2003] Giese, A., Bjerkvig, R., Berens, M. und Westphal, M. „Cost of Migration: Invasion of Malignant Gliomas and Implications for Treatment“. *Journal of Clinical Oncology* 21 (8), 2003. PMID: 12697889, S. 1624–1636. eprint: <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.05.063>. URL: <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.05.06>.
- [Giese u. a., 2006] Giese, A., Böhringer, H. J., Leppert, J., Kantelhardt, S. R., Lankeau, E., Koch, P., Birngruber, R. und Hüttmann, G. „Non-invasive intraoperative optical coherence tomography of the resection cavity during surgery of intrinsic brain tumors“. In: *Photonic Therapeutics and Diagnostics II*. Bd. 6078. SPIE, 2006, 60782Z. URL: <https://doi.org/10.1117/12.674436>.
- [Gong u. a., 2020] Gong, P., Almasian, M., Soest, G. van, Bruin, D. M. de, Leeuwen, T. G. van, Sampson, D. D. und Faber, D. J. „Parametric imaging of attenuation by optical coherence tomography: review of models, methods, and clinical translation“. *Journal of Biomedical Optics* 25 (4), 2020, S. 040901. URL: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.25.4.040901>.
- [Goshtasby, 2012] Goshtasby, A. A. *Image Registration - Principles, Tools and Methods*. Springer Science und Business Media, 2012.
- [Gottschalk, 1992] Gottschalk, W. *Ein Messverfahren zur Bestimmung der optischen Parameter biologischer Gewebe in vitro*. Fak. f. Elektrotechnik, Diss. v. 15.12.1992. Universität Karlsruhe (TH), 1992.
- [Guo, 2012] Guo, H. „A Simple Algorithm for Fitting a Gaussian Function“. In: *Streamlining Digital Signal Processing*. John Wiley & Sons, Ltd, 2012. Kap. 31, S. 297–305. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9781118316948.ch31>. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118316948.ch31>.
- [Haeusler u. a., 1998] Haeusler, G. und Lindner, M. W. „Coherence radar and Spectral radar new tools for dermatological diagnosis“. *Journal of Biomedical Optics* 3 (1), 1998, S. 21–31. URL: <https://doi.org/10.1117/1.429899>.
- [Hall-Beyer, 2017] Hall-Beyer, M. *GLCM texture: A tutorial V. 3.0 March 2017*. 2017. URL: <https://prism.ucalgary.ca/handle/1880/51900>.
- [Haralick u. a., 1973] Haralick, R. M., Shanmugam, K. und Dinstein, I. „Textural Features for Image Classification“. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics* SMC-3 (6), 1973, S. 610–621.
- [Hollon u. a., 2016] Hollon, T., Lewis, S., Freudiger, C. W., Sunney Xie, X. und Orringer, D. A. „Improving the accuracy of brain tumor surgery via Raman-based technology“. en. *Neurosurg Focus* 40 (3), 2016, E9.

- [Honda u. a., 2018] Honda, N., Ishii, K., Kajimoto, Y., Kuroiwa, T. und Awazu, K. „Determination of optical properties of human brain tumor tissues from 350 to 1000 nm to investigate the cause of false negatives in fluorescence-guided resection with 5-aminolevulinic acid“. *Journal of Biomedical Optics* 23 (7), 2018, S. 1–10. URL: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.7.075006>.
- [Huang u. a., 1991] Huang, D., Swanson, E. A., Lin, C. P., Schuman, J. S., Stinson, W. G., Chang, W., Hee, M. R., Flotte, T., Gregory, K. und Puliafito, C. A. „Optical coherence tomography“. en. *Science* 254 (5035), 1991, S. 1178–1181.
- [Huber u. a., 2006] Huber, R., Wojtkowski, M. und Fujimoto, J. G. „Fourier Domain Mode Locking (FDML): A new laser operating regime and applications for optical coherence tomography“. *Opt. Express* 14 (8), 2006, S. 3225–3237. URL: <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-14-8-3225>.
- [Hüllermeier u. a., 2021] Hüllermeier, E. und Waegeman, W. „Aleatoric and epistemic uncertainty in machine learning: an introduction to concepts and methods“. *Machine Learning* 110 (3), 2021, S. 457–506. URL: <https://doi.org/10.1007/s10994-021-05946-3>.
- [Jackson u. a., 2001] Jackson, R. J., Fuller, G. N., Abi-Said, D., Lang, F. F., Gokaslan, Z. L., Shi, W. M., Wildrick, D. M. und Sawaya, R. „Limitations of stereotactic biopsy in the initial management of gliomas“. en. *Neuro Oncol* 3 (3), 2001, S. 193–200.
- [Jacques, 2013] Jacques, S. L. „Optical properties of biological tissues: a review“. *Physics in Medicine & Biology* 58 (11), 2013, R37. URL: <https://dx.doi.org/10.1088/0031-9155/58/11/R37>.
- [Jones u. a., 2007] Jones, M. V. und Calabresi, P. A. „Agar-gelatin for embedding tissues prior to paraffin processing“. *BioTechniques* 42 (5), 2007. PMID: 17515193, S. 569–570. eprint: <https://doi.org/10.2144/000112456>. URL: <https://doi.org/10.2144/000112456>.
- [Jøsang, 2016] Jøsang, A. *Subjective Logic: A Formalism for Reasoning Under Uncertainty*. 1st. Springer Publishing Company, Incorporated, 2016.
- [Juarez-Chambi u. a., 2019] Juarez-Chambi, R. M., Kut, C., Rico-Jimenez, J. J., Chaichana, K. L., Xi, J., Campos-Delgado, D. U., Rodriguez, F. J., Quinones-Hinojosa, A., Li, X. und Jo, J. A. „AI-Assisted In Situ Detection of Human Glioma Infiltration Using a Novel Computational Method for Optical Coherence Tomography“. en. *Clin Cancer Res* 25 (21), 2019, S. 6329–6338.
- [Kapoor u. a., 2022] Kapoor, S., Offnick, A., Allen, B., Brown, P. A., Sachs, J. R., Gurcan, M. N., Pinton, G., D’Agostino Jr, R., Bushnell, C., Wolfe, S., Duncan, P., Asimos, A. und Sarwal, A. „Brain topography on adult ultrasound images: Techniques, interpretation, and image library“. *Journal of Neuroimaging* 32 (6), 2022, S. 1013–1026. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/>

-
- 10.1111/jon.13031. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jon.13031>.
- [Kaschke u. a., 2014] Kaschke, M., Donnerhacke, K.-H. und Rill, M. S. *Optical Devices in Ophthalmology and Optometry - Technology, Design Principles and Clinical Applications*. John Wiley & Sons, 2014.
- [Kingma u. a., 2014] Kingma, D. und Ba, J. „Adam: A Method for Stochastic Optimization“. *International Conference on Learning Representations*, 2014.
- [Kingma u. a., 2022] Kingma, D. P. und Welling, M. *Auto-Encoding Variational Bayes*. 2022. arXiv: 1312.6114 [stat.ML].
- [Kiseleva u. a., 2017] Kiseleva, E., Yashin, K., Moiseev, A., Sirotkina, M., Timofeeva, L., Fedoseeva, V., Alekseeva, A., Medyanik, I., Karyakin, N., Kravets, L. und Gladkova, N. „Cross-Polarization Optical Coherence Tomography in Comparative in vivo and ex vivo Studies of the Optical Properties of Normal and Tumorous Brain Tissues“. *Sovremennyye tehnologii v medicine* 9, 2017, S. 177.
- [Kiureghian u. a., 2009] Kiureghian, A. D. und Ditlevsen, O. „Aleatory or epistemic? Does it matter?“ *Structural Safety* 31 (2), 2009. Risk Acceptance and Risk Communication, S. 105–112. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167473008000556>.
- [Kraus, 2017] Kraus, M. „Motion Correction and Signal Enhancement in Optical Coherence Tomography“. doctoralthesis. Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU), 2017.
- [Kreth u. a., 2013] Kreth, F. .-, Thon, N., Simon, M., Westphal, M., Schackert, G., Nikkhah, G., Hentschel, B., Reifenberger, G., Pietsch, T., Weller, M. und Tonn, J. .-. „Gross total but not incomplete resection of glioblastoma prolongs survival in the era of radiochemotherapy†††This study was presented in part (as oral presentations) at the 10th Meeting of the European Association of NeuroOncology (EANO), 6–9 September 2012, Marseille, France and at the 2012 Annual Meeting of the Society for NeuroOncology (SNO), 15–18 November 2012, Washington, DC, USA.“ *Annals of Oncology* 24 (12), 2013, S. 3117–3123. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923753419367328>.
- [Kuhn, 1955] Kuhn, H. W. „The Hungarian method for the assignment problem“. *Naval Research Logistics Quarterly* 2 (1-2), 1955, S. 83–97. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/nav.3800020109>. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/nav.3800020109>.
- [Kuppler u. a., 2023] Kuppler, P., Strenge, P., Lange, B., Spahr-Hess, S., Draxinger, W., Hagel, C., Theisen-Kunde, D., Brinkmann, R., Huber, R., Tronnier, V. und Bonsanto, M. M. „The neurosurgical benefit of contactless in vivo optical coherence tomography regarding residual tumor detection: A clinical study“. *Fron-*

- ters in *Oncology* 13, 2023. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2023.1151149>.
- [Kut u. a., 2015] Kut, C., Chaichana, K., Xi, J., Raza, S., Ye, X., Mcveigh, E., Rodriguez, F., Quiñones-Hinojosa, A. und Li, X. „Detection of Human Brain Cancer Infiltration ex vivo and in vivo Using Quantitative Optical Coherence Tomography“. *Science Translational Medicine* 7, 2015, 292ra100–292ra100.
- [Lacroix u. a., 2001] Lacroix, M., Abi-Said, D., Fourney, D. R., Gokaslan, Z. L., Shi, W., DeMonte, F., Lang, F. F., McCutcheon, I. E., Hassenbusch, S. J., Holland, E., Hess, K., Michael, C., Miller, D. und Sawaya, R. „A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival“. en. *J Neurosurg* 95 (2), 2001, S. 190–198.
- [Laws, 1979] Laws, K. I. „Texture energy measures“. In: *Image Understanding Workshop*, 1979, S. 47–51.
- [Lenz u. a., 2018] Lenz, M., Krug, R., Dillmann, C., Stroop, R., Gerhardt, N. C., Welp, H., Schmieder, K. und Hofmann, M. R. „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), 2018, S. 1–7. URL: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.7.071205>.
- [Li u. a., 2020] Li, K., Liang, W., Yang, Z., Liang, Y. und Wan, S. „Robust, accurate depth-resolved attenuation characterization in optical coherence tomography“. *Biomed. Opt. Express* 11 (2), 2020, S. 672–687. URL: <https://opg.optica.org/boe/abstract.cfm?URI=boe-11-2-672>.
- [Ling u. a., 2007] Ling, H. und Jacobs, D. W. „Shape Classification Using the Inner-Distance“. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 29 (2), 2007, S. 286–299.
- [Lotz u. a., 2023] Lotz, S., Göb, M., Draxinger, W., Dick, A. und Huber, R. „13.4 MHz FDML Laser for Intra-Surgical Optical Coherence Tomography“. In: *Conference on Lasers and Electro-Optics/Europe (CLEO/Europe 2023) and European Quantum Electronics Conference (EQEC 2023)*. Optica Publishing Group, 2023. URL: https://opg.optica.org/abstract.cfm?URI=CLEO_Europe-2023-c1_8_4.
- [Louis u. a., 2016] Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., Deimling, A. von, Figarella-Branger, D., Cavenee, W. K., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Kleihues, P. und Ellison, D. W. „The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary“. en. *Acta Neuropathol* 131 (6), 2016, S. 803–820.
- [Louis u. a., 2021] Louis, D. N., Perry, A., Wesseling, P., Brat, D. J., Cree, I. A., Figarella-Branger, D., Hawkins, C., Ng, H. K., Pfister, S. M., Reifenberger, G., Soffietti, R., Deimling, A. von und Ellison, D. W. „The 2021 WHO Classification

-
- of Tumors of the Central Nervous System: a summary“. en. *Neuro Oncol* 23 (8), 2021, S. 1231–1251.
- [Maes u. a., 1997] Maes, F., Collignon, A., Vandermeulen, D., Marchal, G. und Suetens, P. „Multimodality image registration by maximization of mutual information“. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 16 (2), 1997, S. 187–198.
- [Malinin u. a., 2018] Malinin, A. und Gales, M. „Predictive Uncertainty Estimation via Prior Networks“. In: *Advances in Neural Information Processing Systems*. Bd. 31. Curran Associates, Inc., 2018. URL: https://proceedings.neurips.cc/paper_files/paper/2018/file/3ea2db50e62ceefceaf70a9d9a56a6f4-Paper.pdf.
- [Malinin u. a., 2019] Malinin, A. und Gales, M. *Reverse KL-Divergence Training of Prior Networks: Improved Uncertainty and Adversarial Robustness*. 2019. arXiv: 1905.13472 [stat.ML].
- [Masters u. a., 2018] Masters, D. und Luschi, C. „Revisiting Small Batch Training for Deep Neural Networks“. *CoRR* abs/1804.07612, 2018. arXiv: 1804.07612. URL: <http://arxiv.org/abs/1804.07612>.
- [Medhat u. a., 2002] Medhat, M., El-Zaiat, S. Y., Radi, A. und Omar, M. F. „Application of fringes of equal chromatic order for investigating the effect of temperature on optical parameters of a GRIN optical fibre“. *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics* 4 (2), 2002, S. 174. URL: <https://dx.doi.org/10.1088/1464-4258/4/2/309>.
- [Milletari u. a., 2016] Milletari, F., Navab, N. und Ahmadi, S. „V-Net: Fully Convolutional Neural Networks for Volumetric Medical Image Segmentation“. *CoRR* abs/1606.04797, 2016. arXiv: 1606.04797. URL: <http://arxiv.org/abs/1606.04797>.
- [Miura u. a., 2019] Miura, Y., Draxinger, W., Grill, C., Pfeiffer, T., Grisanti, S. und Huber, R. „MHz-OCT for low latency virtual reality guided surgery: First wet lab experiments on ex-vivo porcine eye“. In: *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media III*. Optica Publishing Group, 2019, S. 11078–13. URL: https://opg.optica.org/abstract.cfm?URI=ECBO-2019-11078_13.
- [Moiseev u. a., 2018] Moiseev, A., Snopova, L., Kuznetsov, S., Buyanova, N., Elagin, V., Sirotkina, M., Kiseleva, E., Matveev, L., Zaitsev, V., Feldchtein, F., Zagaynova, E., Gelikonov, V., Gladkova, N., Vitkin, A. und Gelikonov, G. „Pixel classification method in optical coherence tomography for tumor segmentation and its complementary usage with OCT microangiography“. *Journal of Biophotonics* 11 (4), 2018, e201700072. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jbio.201700072>. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbio.201700072>.

- [Möller u. a., 2021] Möller, J., Bartsch, L.-A., Lenz, M., Tischoff, I., Krug, R., Welp, H., Hofmann, M., Schmieder, K. und Miller, D. „Applying machine learning to optical coherence tomography images for automated tissue classification in brain metastases“. *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery* 16, 2021.
- [Möller u. a., 2023] Möller, J., Popanda, E., Aydın, N. H., Welp, H., Tischoff, I., Brenner, C., Schmieder, K., Hofmann, M. R. und Miller, D. „Accurate OCT-based diffuse adult-type glioma WHO grade 4 tissue classification using comprehensible texture feature analysis“. *Biomedical Signal Processing and Control*, 2023, S. 105047. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1746809423004809>.
- [Müller u. a., 1995] Müller, G. J. und Roggan, A. *Laser-induced Interstitial Thermo-therapy* -. SPIE Press, 1995.
- [Muragaki u. a., 2008] Muragaki, Y., Chernov, M., Maruyama, T., Ochiai, T., Taira, T., Kubo, O., Nakamura, R., Iseki, H., Hori, T. und Takakura, K. „Low-grade glioma on stereotactic biopsy: how often is the diagnosis accurate?“ en. 51 (5), 2008, S. 275–279.
- [Nayak u. a., 2012] Nayak, L., Lee, E. Q. und Wen, P. Y. „Epidemiology of Brain Metastases“. *Current Oncology Reports* 14 (1), 2012, S. 48–54. URL: <https://doi.org/10.1007/s11912-011-0203-y>.
- [Ostrom u. a., 2019] Ostrom, Q. T., Cioffi, G., Gittleman, H., Patil, N., Waite, K., Kruchko, C. und Barnholtz-Sloan, J. S. „CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012–2016“. *Neuro-Oncology* 21 (Supplement 5), 2019, S. v1–v100. URL: <https://doi.org/10.1093/neuonc/noz150>.
- [Patchell u. a., 1998] Patchell, R. A., Tibbs, P. A., Regine, W. F., Dempsey, R. J., Mohiuddin, M., Kryscio, R. J., Markesbery, W. R., Foon, K. A. und Young, B. „Postoperative Radiotherapy in the Treatment of Single Metastases to the Brain: A Randomized Trial“. *JAMA* 280 (17), 1998, S. 1485–1489. eprint: <https://jamanetwork.com/journals/jama/articlepdf/188127/joc80445.pdf>. URL: <https://doi.org/10.1001/jama.280.17.1485>.
- [Patel, 2020] Patel, A. „Benign vs Malignant Tumors“. *JAMA Oncology* 6 (9), 2020, S. 1488–1488. URL: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.2592>.
- [Pirzkall u. a., 2009] Pirzkall, A., McGue, C., Saraswathy, S., Cha, S., Liu, R., Vandenberg, S., Lamborn, K. R., Berger, M. S., Chang, S. M. und Nelson, S. J. „Tumor regrowth between surgery and initiation of adjuvant therapy in patients with newly diagnosed glioblastoma“. en. *Neuro Oncol* 11 (6), 2009, S. 842–852.

-
- [Pouratian u. a., 2010] Pouratian, N. und Schiff, D. „Management of Low-Grade Glioma“. *Current Neurology and Neuroscience Reports* 10 (3), 2010, S. 224–231. URL: <https://doi.org/10.1007/s11910-010-0105-7>.
- [Powers, 2011] Powers, D. „Evaluation: From Precision, Recall and F-Factor to ROC, Informedness, Markedness & Correlation“. *Mach. Learn. Technol.* 2, 2011, S. 37–63.
- [Quattrocchi u. a., 2012] Quattrocchi, C. C., Errante, Y., Gaudino, C., Mallio, C. A., Giona, A., Santini, D., Tonini, G. und Zobel, B. B. „Spatial brain distribution of intra-axial metastatic lesions in breast and lung cancer patients“. *Journal of Neuro-Oncology* 110 (1), 2012, S. 79–87. URL: <https://doi.org/10.1007/s11060-012-0937-x>.
- [Rahman u. a., 2021] Rahman, M. A., Sultana, N., Ayman, U., Bhakta, S., Afrose, M., Afrin, M. und Haque, Z. „Alcoholic fixation over formalin fixation: A new, safer option for morphologic and molecular analysis of tissues“. en. *Saudi J Biol Sci* 29 (1), 2021, S. 175–182.
- [Reinecke u. a., 2022] Reinecke, D., Spreckelsen, N. von, Mawrin, C., Ion-Margineanu, A., Fürtjes, G., Jünger, S. T., Khalid, F., Freudiger, C. W., Timmer, M., Ruge, M. I., Goldbrunner, R. und Neuschmelting, V. „Novel rapid intraoperative qualitative tumor detection by a residual convolutional neural network using label-free stimulated Raman scattering microscopy“. *Acta Neuropathologica Communications* 10 (1), 2022, S. 109. URL: <https://doi.org/10.1186/s40478-022-01411-x>.
- [Roggan u. a., 1994] Roggan, A., Minet, O., Schroeder, C. und Mueller, G. J. „Determination of optical tissue properties with double integrating sphere technique and Monte Carlo simulations“. In: *Cell and Biotissue Optics: Applications in Laser Diagnostics and Therapy*. Bd. 2100. SPIE, 1994, S. 42–56. URL: <https://doi.org/10.1117/12.179026>.
- [Ronneberger u. a., 2015] Ronneberger, O., Fischer, P. und Brox, T. *U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation*. 2015. arXiv: 1505.04597 [cs.CV].
- [Schlegel u. a., 2009] Schlegel, U., Weller, M. und Westphal, M. *Neuroonkologische Therapie* -. Kohlhammer Verlag, 2009.
- [Schmitt u. a., 1993] Schmitt, J. M., Knüttel, A. und Bonner, R. F. „Measurement of optical properties of biological tissues by low-coherence reflectometry“. *Appl. Opt.* 32 (30), 1993, S. 6032–6042. URL: <http://ao.osa.org/abstract.cfm?URI=ao-32-30-6032>.
- [Schmitt u. a., 1997] Schmitt, J. M. und Knüttel, A. „Model of optical coherence tomography of heterogeneous tissue“. *J. Opt. Soc. Am. A* 14 (6), 1997, S. 1231–

1242. URL: <http://www.osapublishing.org/josaa/abstract.cfm?URI=josaa-14-6-1231>.
- [Schmitt u. a., 1999] Schmitt, J. M., Xiang, S. H. und Yung, K. M. „Speckle in optical coherence tomography“. *Journal of Biomedical Optics* 4(1), 1999, S. 95–105. URL: <https://doi.org/10.1117/1.429925>.
- [Selbekk u. a., 2013] Selbekk, T., Jakola, A. S., Solheim, O., Johansen, T. F., Lindseth, F., Reinertsen, I. und Unsgård, G. „Ultrasound imaging in neurosurgery: approaches to minimize surgically induced image artefacts for improved resection control“. en. *Acta Neurochir (Wien)* 155(6), 2013, S. 973–980.
- [Sensoy u. a., 2018] Sensoy, M., Kaplan, L. und Kandemir, M. *Evidential Deep Learning to Quantify Classification Uncertainty*. 2018. arXiv: 1806.01768 [cs.LG].
- [Shapiro u. a., 2001] Shapiro, L. G. und Stockman, G. C. *Computer Vision* -. Prentice Hall, 2001.
- [Simonyan u. a., 2014] Simonyan, K. und Zisserman, A. „Very Deep Convolutional Networks for Large-Scale Image Recognition“. *arXiv 1409.1556*, 2014.
- [Smith u. a., 2004] Smith, T. W., Folkert, R. D., Poirier, J. und Louis, D. N. „Chapter 2 - Tumors of the Nervous System“. In: *Escourolle and Poirier Manual of Basic Neuropathology (Fourth Edition)*. Fourth Edition. Butterworth-Heinemann, 2004, S. 21–56. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780750674058500077>.
- [Sofroniew u. a., 2010] Sofroniew, M. und Vinters, H. „Astrocytes: biology and pathology.“ *Acta Neuropathol.* 119, 2010, S. 7–35.
- [Spivak u. a., 2005] Spivak, C. J. und Pirouzmand, F. „Comparison of the reliability of brain lesion localization when using traditional and stereotactic image-guided techniques: a prospective study“. en. *J Neurosurg* 103(3), 2005, S. 424–427.
- [Splittgerber, 2018] Splittgerber, R. *Snell's Clinical Neuroanatomy* -. Wolters Kluwer Health, 2018.
- [Stone, 1974] Stone, M. „Cross-Validatory Choice and Assessment of Statistical Predictions“. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* 36(2), 1974, S. 111–147. URL: <http://www.jstor.org/stable/2984809>.
- [Streng u. a., 2022a] Streng, P., Lange, B., Draxinger, W., Grill, C., Danicke, V., Theisen-Kunde, D., Hagel, C., Spahr-Hess, S., Bonsanto, M. M., Handels, H., Huber, R. und Brinkmann, R. „Differentiation of different stages of brain tumor infiltration using optical coherence tomography: Comparison of two systems and histology“. *Frontiers in Oncology* 12, 2022. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2022.896060>.
- [Streng u. a., 2022b] Streng, P., Lange, B., Grill, C., Draxinger, W., Danicke, V., Theisen-Kunde, D., Hagel, C., Spahr-Hess, S., Bonsanto, M. M., Huber, R.,

-
- Handels, H. und Brinkmann, R. „Registration of histological brain images onto optical coherence tomography images based on shape information“. *Physics in Medicine and Biology* 67 (13), 2022, S. 135007. URL: <https://dx.doi.org/10.1088/1361-6560/ac6d9d>.
- [Streng u. a., 2023a] Streng, P., Lange, B., Draxinger, W., Hagel, C., Grill, C., Danicke, V., Theisen-Kunde, D., Spahr-Hess, S., Bonsanto, M. M., Huber, R., Handels, H. und Brinkmann, R. „Demarcation of brain and tumor tissue with optical coherence tomography using prior neural networks“. In: *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media V*. Optica Publishing Group, 2023, 126321P. URL: <https://opg.optica.org/abstract.cfm?URI=ECBO-2023-126321P>.
- [Streng u. a., 2023b] Streng, P., Lange, B., Draxinger, W., Hagel, C., Grill, C., Danicke, V., Theisen-Kunde, D., Spahr-Hess, S., Bonsanto, M. M., Huber, R., Handels, H. und Brinkmann, R. „Dual wavelength analysis and classification of brain tumor tissue with optical coherence tomography“. In: *Advanced Biomedical and Clinical Diagnostic and Surgical Guidance Systems XXI*. Bd. 12368. SPIE, 2023, S. 1236805. URL: <https://doi.org/10.1117/12.2649963>.
- [Stummer u. a., 2000] Stummer, W., Novotny, A., Stepp, H., Goetz, C., Bise, K. und Reulen, H. J. „Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins: a prospective study in 52 consecutive patients“. en. *J Neurosurg* 93 (6), 2000, S. 1003–1013.
- [Suzuki u. a., 1985] Suzuki, S. und be, K. „Topological structural analysis of digitized binary images by border following“. *Computer Vision, Graphics, and Image Processing* 30 (1), 1985, S. 32–46. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0734189X85900167>.
- [Taghanaki u. a., 2019] Taghanaki, S. A., Zheng, Y., Kevin Zhou, S., Georgescu, B., Sharma, P., Xu, D., Comaniciu, D. und Hamarneh, G. „Combo loss: Handling input and output imbalance in multi-organ segmentation“. *Computerized Medical Imaging and Graphics* 75, 2019, S. 24–33. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0895611118305688>.
- [Taillibert u. a., 2004] Taillibert, S., Laigle–Donadey, F. und Sanson, M. „Palliative care in patients with primary brain tumors“. *Current Opinion in Oncology* 16 (6), 2004.
- [Taqi u. a., 2018] Taqi, S. A., Sami, S. A., Sami, L. B. und Zaki, S. A. „A review of artifacts in histopathology“. en. *J Oral Maxillofac Pathol* 22 (2), 2018, S. 279.
- [Thayananthan u. a., 2003] Thayananthan, A., Stenger, B., Torr, P. und Cipolla, R. „Shape context and chamfer matching in cluttered scenes“. In: *2003 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, 2003. Proceedings*. Bd. 1. 2003, S. I–I.

- [Thakkar u. a., 2014] Thakkar, J. P., Dolecek, T. A., Horbinski, C., Ostrom, Q. T., Lightner, D. D., Barnholtz-Sloan, J. S. und Villano, J. L. „Epidemiologic and molecular prognostic review of glioblastoma“. en. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 23 (10), 2014, S. 1985–1996.
- [Thrane u. a., 2000] Thrane, L., Yura, H. T. und Andersen, P. E. „Analysis of optical coherence tomography systems based on the extended Huygens–Fresnel principle“. *J. Opt. Soc. Am. A* 17 (3), 2000, S. 484–490. URL: <https://opg.optica.org/josaa/abstract.cfm?URI=josaa-17-3-484>.
- [Thrane u. a., 2004] Thrane, L., Frosz, M. H., Jørgensen, T. M., Tycho, A., Yura, H. T. und Andersen, P. E. „Extraction of optical scattering parameters and attenuation compensation in optical coherence tomography images of multi-layered tissue structures“. *Opt. Lett.* 29 (14), 2004, S. 1641–1643. URL: <https://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-29-14-1641>.
- [Tonn u. a., 2006] Tonn, J.-C., Westphal, M., Rutka, J. T. und Grossman, S. *Neuro-Oncology of CNS Tumors* -. Springer Science und Business Media, 2006.
- [Turani u. a., 2019] Turani, Z., Fatemizadeh, E., Blumetti, T., Daveluy, S., Moraes, A. F., Chen, W., Mehregan, D., Andersen, P. E. und Nasirivanaki, M. „Optical Radiomic Signatures Derived from Optical Coherence Tomography Images Improve Identification of Melanoma“. *Cancer Research* 79 (8), 2019, S. 2021–2030. eprint: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/79/8/2021.full.pdf>. URL: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/79/8/2021>.
- [Unger u. a., 2018] Unger, J., Sun, T., Chen, Y.-L., Phipps, J. E., Bold, R. J., Darrow, M. A., Ma, K.-L. und Marcu, L. „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), 2018, S. 015001. URL: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.1.015001>.
- [Vapnik, 1991] Vapnik, V. „Principles of Risk Minimization for Learning Theory“. In: *Advances in Neural Information Processing Systems*. Bd. 4. Morgan-Kaufmann, 1991. URL: https://proceedings.neurips.cc/paper_files/paper/1991/file/ff4d5fbbafdf976cfdc032e3bde78de5-Paper.pdf.
- [Vecht u. a., 1994] Vecht, C. J., Hovestadt, A., Verbiest, H. B., Vliet, J. J. van und Putten, W. L. van. „Dose-effect relationship of dexamethasone on Karnofsky performance in metastatic brain tumors: a randomized study of doses of 4, 8, and 16 mg per day“. en. *Neurology* 44 (4), 1994, S. 675–680.
- [Venhuizen u. a., 2017] Venhuizen, F. G., Ginneken, B. van, Liefers, B., Grinsven, M. J. van, Fauser, S., Hoyng, C., Theelen, T. und Sánchez, C. I. „Robust total retina thickness segmentation in optical coherence tomography images using convolutional neural networks“. *Biomed. Opt. Express* 8 (7), 2017, S. 3292–3316. URL: <https://opg.optica.org/boe/abstract.cfm?URI=boe-8-7-3292>.

-
- [Venkata, 2012a] Venkata, R. S. „Determination of optical scattering properties of tissues using reflectance-mode confocal microscopy“. In: 2012. URL: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:138537973>.
- [Venkata, 2012b] Venkata, R. S. „Determination of optical scattering properties of tissues using reflectance-mode confocal microscopy“. In: 2012. URL: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:138537973>.
- [Vermeer u. a., 2013] Vermeer, K., Mo, J., Weda, J., Lemij, H. und Boer, J. „Depth-resolved model-based reconstruction of attenuation coefficients in optical coherence tomography“. *Biomedical optics express* 5, 2013, S. 322–37.
- [Vo-Dinh, 2014] Vo-Dinh, T. *Biomedical Photonics Handbook - Fundamentals, Devices, and Techniques*. CRC Press, 2014.
- [Wahba, 1990] Wahba, G. *Spline Models for Observational Data*. Society for Industrial and Applied Mathematics, 1990. eprint: <https://epubs.siam.org/doi/pdf/10.1137/1.9781611970128>. URL: <https://epubs.siam.org/doi/abs/10.1137/1.9781611970128>.
- [Wang u. a., 2017] Wang, H., Magnain, C., Sakadzic, S., Fischl, B. und Boas, D. „Characterizing the optical properties of human brain tissue with high numerical aperture optical coherence tomography“. *Biomedical Optics Express* 8, 2017, S. 5617.
- [Wang u. a., 2019] Wang, Y., Liu, S., Lou, S., Zhang, W., Cai, H. und Chen, X. „Application of optical coherence tomography in clinical diagnosis“. en. *J Xray Sci Technol* 27 (6), 2019, S. 995–1006.
- [Wang u. a., 2022] Wang, N., Lee, C.-Y., Park, H.-C., Nauen, D. W., Chaichana, K. L., Quinones-Hinojosa, A., Bettegowda, C. und Li, X. „Deep learning-based optical coherence tomography image analysis of human brain cancer“. en. *Biomed Opt Express* 14 (1), 2022, S. 81–88.
- [Wieser u. a., 2012] Wieser, W., Klein, T., Adler, D., Trépanier, F., Eigenwillig, C., Karpf, S., Schmitt, J. und Huber, R. „Extended coherence length megahertz FDML and its application for anterior segment imaging“. *Biomedical optics express* 3, 2012, S. 2647–57.
- [Wieser, 2016] Wieser, W. „Optische Kohärenztomographie mit Millionen Tiefenschnitten pro Sekunde und hoher Bildqualität“. 2016. URL: <http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:bvb:19-217659>.
- [Willmann u. a., 1999] Willmann, S., Terenji, A., Yaroslavsky, I., Kahn, T., Hering, P. und Schwarzaier, H.-J. „Determination of the optical properties of a human brain tumor using a new microspectrophotometric technique“. *Proc SPIE* 3598, 1999, S. 233–239.

- [Woolliams u. a., 2010] Woolliams, P. D., Ferguson, R. A., Hart, C., Grimwood, A. und Tomlins, P. H. „Spatially deconvolved optical coherence tomography“. *Appl. Opt.* 49 (11), 2010, S. 2014–2021. URL: <http://www.osapublishing.org/ao/abstract.cfm?URI=ao-49-11-2014>.
- [Yang u. a., 2009] Yang, F., Wang, H.-z., Mi, H., Lin, C.-d. und Cai, W.-w. „Using random forest for reliable classification and cost-sensitive learning for medical diagnosis“. *BMC Bioinformatics* 10 (1), 2009, S22. URL: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-S1-S22>.
- [Yaroslavsky u. a., 2002] Yaroslavsky, A. N., Schulze, P. C., Yaroslavsky, I. V., Schober, R., Ulrich, F. und Schwarzmaier, H.-J. „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), 2002, S. 2059. URL: <https://dx.doi.org/10.1088/0031-9155/47/12/305>.
- [Yashin u. a., 2019a] Yashin, K., Kiseleva, E., Moiseev, A., Kuznetsov, S., Timofeeva, L., Pavlova, N., Gelikonov, G., Medyanik, I., Kravets, L., Zagaynova, E. und Gladkova, N. „Quantitative nontumorous and tumorous human brain tissue assessment using microstructural co- and cross-polarized optical coherence tomography“. *Scientific Reports* 9, 2019.
- [Yashin u. a., 2019b] Yashin, K. S., Kiseleva, E. B., Gubarkova, E. V., Moiseev, A. A., Kuznetsov, S. S., Shilyagin, P. A., Gelikonov, G. V., Medyanik, I. A., Kravets, L. Y., Potapov, A. A., Zagaynova, E. V. und Gladkova, N. D. „Cross-Polarization Optical Coherence Tomography for Brain Tumor Imaging“. *Frontiers in Oncology* 9, 2019, S. 201. URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2019.00201>.
- [Young u. a., 2015] Young, R. M., Jamshidi, A., Davis, G. und Sherman, J. H. „Current trends in the surgical management and treatment of adult glioblastoma“. en. *Ann Transl Med* 3 (9), 2015, S. 121.
- [Yuan u. a., 2017] Yuan, W., Kut, C., Liang, W. und Li, X. „Robust and fast characterization of OCT-based optical attenuation using a novel frequency-domain algorithm for brain cancer detection“. *Scientific Reports* 7 (1), 2017, S. 44909. URL: <https://doi.org/10.1038/srep44909>.
- [Yun u. a., 2003] Yun, S. H., Tearney, G. J., Bouma, B. E., Park, B. H. und Boer, J. F. de. „High-speed spectral-domain optical coherence tomography at 1.3 μm wavelength“. *Opt. Express* 11 (26), 2003, S. 3598–3604. URL: <https://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-11-26-3598>.
- [Zhang u. a., 2018] Zhang, Z. und Sabuncu, M. R. „Generalized Cross Entropy Loss for Training Deep Neural Networks with Noisy Labels“. *CoRR* abs/1805.07836, 2018. arXiv: 1805.07836. URL: <http://arxiv.org/abs/1805.07836>.

Publikationsliste

Paul Streng

September 2024

Journal-Publikationen als Erst-Autor

1. **Streng, Paul**; Lange, Birgit; Grill, Christin; Draxinger, Wolfgang; Danicke, Veit; Theisen-Kunde, Dirk; Hagel, Christian; Spahr-Hess, Sonja; Bonsanto, Matteo; Huber, Robert; Handels, Heinz; Brinkmann, Ralf. (2022). Registration of histological brain images onto optical coherence tomography images based on shape information. *Physics in Medicine; Biology*. 67. 10.1088/1361-6560/ac6d9d.
2. **Streng, Paul**; Lange, Birgit; Draxinger, Wolfgang; Grill, Christin; Danicke, Veit; Theisen-Kunde, Dirk; Hagel, Christian; Spahr-Hess, Sonja; Bonsanto, Matteo; Handels, Heinz; Huber, Robert; Brinkmann, Ralf. (2022). Differentiation of different stages of brain tumor infiltration using optical coherence tomography: Comparison of two systems and histology. *Frontiers in Oncology*. 12. 10.3389/fonc.2022.896060.
3. Kuppler, Patrick; **Streng, Paul**; Lange, Birgit; Spahr-Hess, Sonja; Draxinger, Wolfgang; Hagel, Christian; Theisen-Kunde, Dirk; Brinkmann, Ralf; Huber, Robert; Tronnier, Volker; Bonsanto, Matteo. (2023). The neurosurgical benefit of contactless in vivo optical coherence tomography regarding residual tumor detection: A clinical study. *Frontiers in Oncology*. 13. 10.3389/fonc.2023.1151149. (**geteilter Erst-Autor**)

Konferenzbeiträge als Erst-Autor

1. **P., Streng**, B. Lange, W. Draxinger, C. Hagel, C. Grill, V. Danicke, D. Theisen-Kunde, S. Spahr-Hess, M. M. Bonsanto, R. Huber, H. Handels, and R. Brinkmann, "Demarcation of brain and tumor tissue with optical coherence tomography using prior neural networks," in *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media V*, Technical Digest Series (Optica Publishing Group, 2023), paper 126321P.
2. **Streng, Paul**; Lange, Birgit; Draxinger, Wolfgang; Hagel, Christian; Grill, Christin; Danicke, Veit; Theisen-Kunde, Dirk; Spahr-Hess, Sonja; Bonsanto, Matteo; Huber, Robert; Handels, Heinz; Brinkmann, Ralf. (2023). Dual wavelength analysis and classification of brain tumor tissue with optical coherence tomography. 13. 10.1117/12.2649963.
3. **Streng P**, Lange B, Grill C, et al. Automated identification of tumour infiltrated brain tissue using optical coherence tomography and deep learning. Published online 2022. doi:10.3205/22DGNC086
4. **Streng, P.**; Lange, Birgit; Grill, C.; Draxinger, W.; Danicke, V.; Theisen-Kunde, Dirk; Handels, Heinz; Bonsanto, M.; Hagel, Christian; Huber, R.; Brinkmann, Ralf. (2021). Comparison of two optical coherence tomography systems to identify human brain tumor. 20. 10.1117/12.2616044.
5. **Streng, Paul**; Lange, Birgit; Grill, Christin; Draxinger, Wolfgang; Danicke, Veit; Theisen-Kunde, Dirk; Handels, Heinz; Bonsanto, Matteo; Hagel, Christian; Huber, Robert; Brinkmann, Ralf. (2021). Characterization of brain tumor tissue with 1310 nm optical coherence tomography. 61. 10.1117/12.2578409.
6. **Streng, Paul** ; Lange, Birgit; Grill, Christin; Draxinger, Wolfgang; Danicke, Veit; Theisen-Kunde, Dirk; Handels, Heinz; Hagel, Christian; Bonsanto, Matteo; Huber, Robert; Brinkmann, Ralf. (2021). Creating a depth-resolved OCT-dataset for supervised classification based on ex vivo human brain samples. 60. 10.1117/12.2578391.
7. **Streng P**, Lange B, Danicke V, et al. Towards automated brain tumour detection with optical coherence tomography. 71 Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neurochirurgie

(DGNC). Published online 2020:9. Joint Meeting mit der Japanischen Gesellschaft für Neurochirurgie. doi:10.3205/20DGNC360

8. **Streng, Paul**; Lange, Birgit; Grill, Christin; Draxinger, Wolfgang; Bonsanto, Matteo; Hagel, Christian; Huber, Robert; Brinkmann, Ralf. (2020). Segmented OCT data set for depth resolved brain tumor detection validated by histological analysis. 96. 10.1117/12.2545659.
9. **Streng, Paul** ; Lange, Birgit; Grill, Christin; Draxinger, Wolfgang; Danicke, Veit; Theisen-Kunde, Dirk; Bonsanto, Matteo; Huber, Robert; Brinkmann, Ralf. (2019). Ex vivo and in vivo imaging of human brain tissue with different OCT systems. 49. 10.1117/12.2526932.

Journal-Publikationen als Co-Autor

1. Kuppler, P., **Streng, P.**, Lange, B., Spahr-Hess, S., Draxinger, W., Hagel, C., Theisen-Kunde, D., Brinkmann, R., Huber, R., Tronnier, V., & Bonsanto, M. M. (2024). Microscope-integrated optical coherence tomography for in vivo human brain tumor detection with artificial intelligence. *Journal of neurosurgery*, 1–9. Advance online publication. <https://doi.org/10.3171/2024.1.JNS231511>
2. Burhan, S., Detrez, N., Rewerts, K., **Streng, P.**, Buschschlüter, S., Kren, J., Hagel, C., Bonsanto, M. M., Brinkmann, R., & Huber, R. (2024). Phase unwrapping for MHz optical coherence elastography and application to brain tumor tissue. *Biomedical optics express*, 15(2), 1038–1058. <https://doi.org/10.1364/BOE.510020>
3. Draxinger W, Detrez N, **Streng P**, et al. Microscope Integrated MHz Optical Coherence Tomography System for Neurosurgery: Development and Clinical In-Vivo Imaging. *Biomedical Optics Express*. Published online August 2024. doi:10.1364/boe.530976

Konferenzbeiträge als Co-Autor

1. Wolfgang Draxinger, Dirk Theisen-Kunde, Lion Schuetz, Nicolas Detrez, **Paul Streng**, Maximilian Rixius, Veit Danicke, Wolfgang Wieser, Jessica Kren, Patrick Kuppler, Sonja Spahr-Hess, Matteo Mario Bonsanto, Ralf Brinkmann, Robert Huber, "Microscope integrated real time high density 4D MHz-OCT in neurosurgery: a depth and tissue resolving visual contrast channel and the challenge of fused presentation," Proc. SPIE 12627, Translational Biophotonics: Diagnostics and Therapeutics III, 126270W (11 August 2023); <https://doi.org/10.1117/12.2670953>
2. Nicolas Detrez, Sazgar Burhan, **Paul Streng**, Jessica Kren, Christian Hagel, Matteo Mario Bonsanto, Dirk Theisen-Kunde, Robert Huber, Ralf Brinkmann, Air-jet based optical coherence elastography of brain tumor tissue: stiffness evaluation by structural histological analysis, Proc. SPIE 12629, Emerging Technologies for Cell and Tissue Characterization II, 126290M (11 August 2023); <https://doi.org/10.1117/12.2670944>
3. Draxinger, Wolfgang; Theisen-Kunde, Dirk; Schützeck, Lion; Detrez, Nicolas; **Streng, Paul**; Danicke, Veit; Kren, Jessica; Kuppler, Patrick; Spahr-Hess, Sonja; Bonsanto, Matteo; Brinkmann, Ralf; Huber, Robert. (2023). High speed 4D in-vivo OCT imaging of the human brain: creating high density datasets for machine learning toward identification of malign tissue in real time. 41. 10.1117/12.2648505.
4. Kuppler, Patrick; **Streng, Paul**; Draxinger, Wolfgang; Spahr-Hess, Sonja; Hagel, Christian; Theisen-Kunde, Dirk; Brinkmann, Ralf; Huber, Robert; Tronnier, Volker; Bonsanto, Matteo. (2023). The neurosurgical benefit of contactless in vivo optical coherence tomography regarding residual tumor detection – a clinical study. 10.3205/22dgnc266.
5. Theisen-Kunde, Dirk; Draxinger, W.; Bonsanto, M.; **Streng, Paul**; Detrez, Nicolas; Huber, R.; Brinkmann, Ralf. (2021). 1.6 MHz FDML OCT for intraoperative imaging in neurosurgery. 49. 10.1117/12.2614855.
6. Kuppler P, **Streng P**, Draxinger W, et al. The neurosurgical benefit of contactless in vivo optical coherence tomography regarding residual tumor detection – a clinical study. Published online 2022. doi:10.3205/22DGNC266
7. Kyme AZ, **Streng P**, Lee F, Meikle SR. Silhouette-Based Markerless Motion Estimation of Awake Rodents in PET. In: 2017 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference (NSS/MIC). IEEE; 2017. doi:10.1109/nssmic.2017.8532895