

Stereoskopische Volumenvisualisierung digitaler histologischer Konfokalbilddaten

Alexander Roth¹, Hans-Gerd Lipinski¹, Martin Wiemann²
und Dieter Bingmann²

¹Arbeitsgruppe Medizintechnische Informatik,
Fachhochschule Dortmund, 44227 Dortmund

² Institut für Physiologie der Universität Duisburg Essen,
Universitätsklinikum Essen, 45147 Essen
Email: alexander.roth@fh-dortmund.de

Zusammenfassung. Durch Erweiterungen des Median-Filteralgorithmus und einen neuartigen Bildschärfungsalgorithmus, der unter Verwendung der zwei- und dreidimensionalen Fouriertransformation gezielte Manipulationen im Ortsfrequenzbereich vornimmt, ist es gelungen die Bildqualität von Konfokalbildern vitaler Zellpräparate soweit zu steigern, dass sich hiermit hochwertige Volumenvisualisierungen durchführen lassen. Für die Volumenvisualisierungen wurde ein Programm implementiert, das die Bilddaten auf gewöhnlichen Bildschirmen und Ausdrucken mit Hilfe einer speziellen 3D-Brille stereoskopisch wiedergeben kann.

1 Einleitung

Mit modernen Konfokalmikroskopen lassen sich durch spezielle Färbetechniken 3D-Bilddaten von lebenden Zellen *in vitro* erzeugen. Die Darstellung dieser Bilddaten als Abfolge von 2D-Bildern lässt sich problemlos durchführen, die räumliche Darstellung dieser Bilddaten hingegen ist relativ schwierig. Einmal verhindern Störeffekte, die sich bei der Bildgenerierung kaum vermeiden lassen, dass die Bilddaten für eine 3D-Visualisierung eine ausreichend gute Qualität besitzen. Zum anderen sind die heute häufig verwendeten Oberflächenmodelle für die Visualisierung nicht immer effektiv genug. Welche Lösung letztlich zu einem für die biowissenschaftliche Fragestellung adäquaten Resultat bei der räumlichen Darstellung der Mikroskopiebilddaten führt, hängt dabei auch vom zu untersuchenden Zelltyp ab. Im Rahmen dieser Arbeit beschäftigen wir uns mit der Darstellung von lebenden Knochenzellen, die sich *in vitro* durch ein engmaschiges Netz von Zellverknüpfungen auszeichnen. Das Ziel der Arbeit war es herauszufinden, mit welchen Verfahren sowohl bei der Bildaufbereitung als auch der 3D-Visualisierung für die räumliche Darstellung von vitalen Knochenzellen die bestmöglichen Erfolge erzielt werden können.

2 Methoden

Das Problem gliedert sich in einen Bildvorverarbeitungsteil und in einen Visualisierungsteil. Die Bildvorverarbeitung durchläuft zwei Hauptschritte: Mit dem

ersten Schritt erfolgt eine Tiefpassfilterung mit Hilfe eines modifizierten, schwellwertbasierten Medianfilters. Eine Filtermaske wird über die Bildmatrix geführt. Ausgehend von einem festen Bildpunkt in der Bildmatrix wird der Median einer 3x3-Umgebung berechnet. Übersteigt die Differenz von Median und Grauwert des betrachteten Bildpunktes einen Schwellwert, der vorab empirisch ermittelt werden muss, dann wird der Grauwert des betrachteten Bildpunktes durch den Median ersetzt. Auf diese Weise lassen sich niederfrequente Störungen aus den Bildern erfolgreich entfernen, ohne dass die Bilder dabei an Schärfe verlieren.

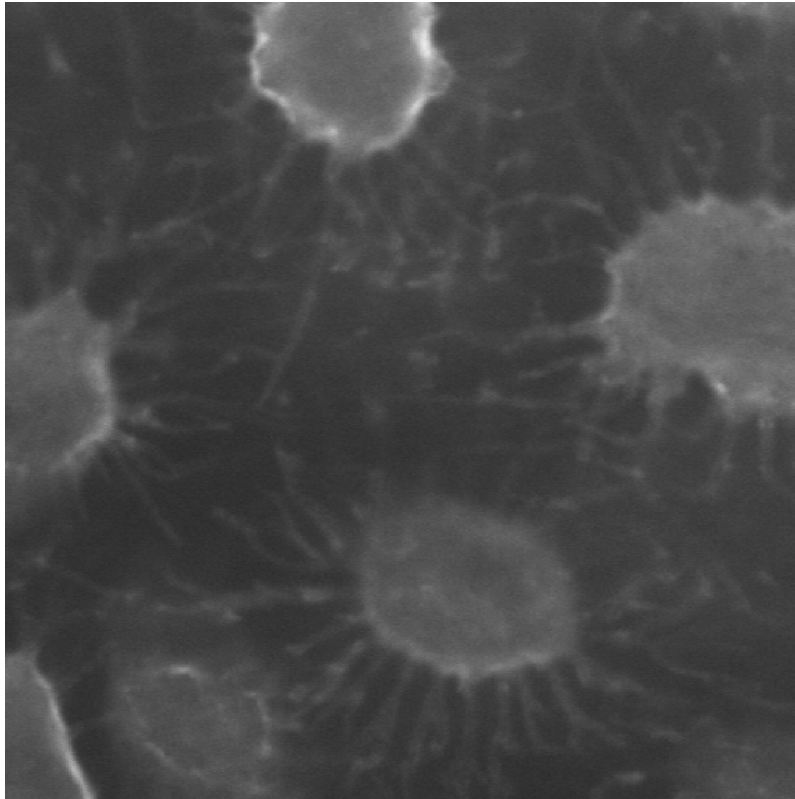
Im zweiten Schritt wird eine Kombination aus Hochpassfilterung und zusätzlicher Bildschärfung durchgeführt. Dabei werden die komplexen dreidimensionalen Komponenten des Fourierspektrums des Bilddatenstapels durch eine nicht-lineare Funktion neu gewichtet. Der Anwender gibt einen Parameterwert vor, mit dem mit Hilfe einer Exponentialfunktion eine 3-dimensionale Gewichtungsmatrix generiert wird. Die Real- und Imaginäranteile des Fourierspektrums werden nun mit den korrespondierenden Einträgen dieser Matrix multipliziert. Damit lässt sich sowohl eine zusätzliche Bildschärfung als auch eine Minderung der hochfrequenten Störanteile im Bild erreichen.

Die auf diese Weise vorverarbeiteten 3D-Bilddaten werden nun mit Hilfe eines Ray-Tracing-Algorithmus in Kombination mit dem Chromatekverfahren stereoskopisch visualisiert. Dazu wird die Tiefeninformation farblich codiert. Eine spezielle passive Chromatek-Filterbrille, die aus einem neutralen Glas (links) und einem mit einem optischen Beugungsgitter (rechts) ausgestattet ist, erzeugt dann durch Ablenken der Farben entsprechend der Gitterkonstanten auf den beiden Netzhäuten des Betrachterauges ein räumlich versetztes Bild.

Sowohl die Bildvorverarbeitung als auch die 3D-Visualisierung wurden mit Hilfe der Programmiersprache C++ für Windows[®]-Betriebssysteme programmiert. Alle Programme laufen performant ohne besondere Spezialhardware auf einem Standard-PC.

3 Ergebnisse

Über Untersuchungen von 3D-Eigenschaften digitaler Bilddaten lebender Knochenzellen (in vitro) und ihre räumliche Darstellung ist in der wissenschaftlichen Literatur wenig bekannt. Voruntersuchungen der eigenen Arbeitsgruppe ergaben, dass sich Störeffekte bei der Bildgenerierung durch gezielte Veränderungen des 3D-Fourierspektrums insbesondere im höheren Ortsfrequenzbereich weitgehend beseitigen lassen [1,2]. Durch eine geeignete Modifikation der unteren Ortsfrequenzen lassen mit dem gleichen Verfahren auch typische niederfrequente Störungen reduzieren. Der Nachteil dieses Verfahrens besteht allerdings darin, dass die Handhabung von Equalizerfunktionen, d. h. die individuelle Gewichtung von ausgewählten Ortsfrequenzbereichen im Fourierspektrum der 3D-Bilddaten, zeitlich sehr aufwändig ist, auch wenn das Vorverarbeitungsverfahren relativ störungsfreie Bilddaten liefert. Die anschließende räumliche Darstellung der gefilterten Bilddaten mit Oberflächenmodellen zeigt die relevanten morphologischen

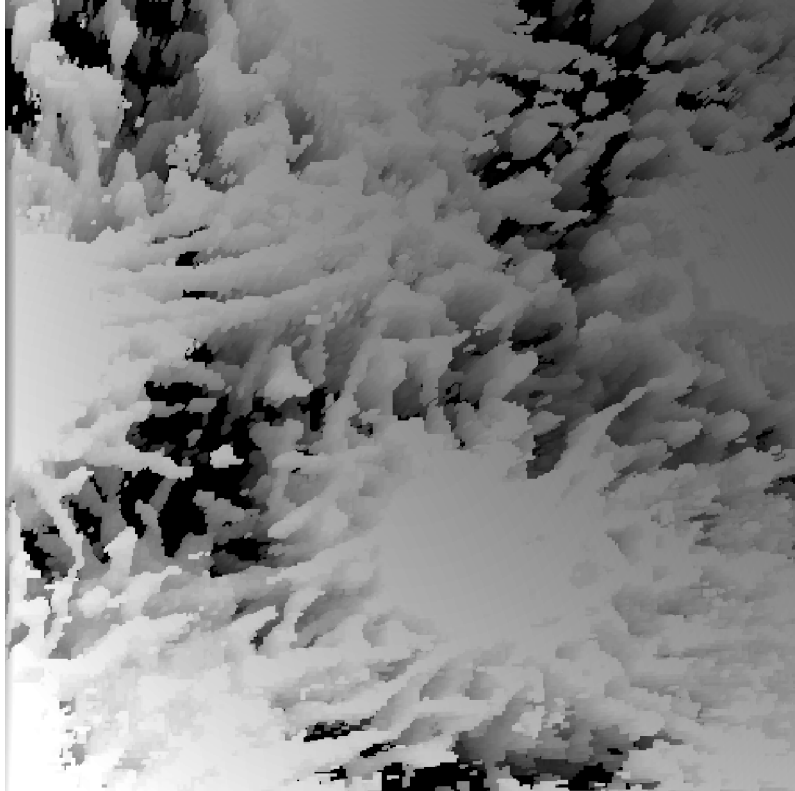
Abb. 1. 2D-Darstellung vitaler Knochenzellen in vitro

Strukturen oft nur sehr lückenhaft [3]. Insbesondere die wichtigen Zellausläufer lassen sich häufig nur unvollständig visualisieren.

Mit neuen, schneller durchführbaren Verfahren lässt sich die Filterung der Bilddaten als Vorbereitung auf die sich daran anschließende 3D-Visualisierung [4] effektiv realisieren. Dazu gehört ein modifizierter Medianalgorithmus für die Tiefpassfilterung und die Einführung von definierten Schärfungsfunktionen als Gewichtungsfunktion im 3D-Fourierraum für die Hochpassfilterung. Als Visualisierungstechnik hat sich die direkte stereoskopische Volumendarstellung (Chromatek-Verfahren) der vorverarbeiteten Bilddaten gegenüber einer reinen Oberflächenvisualisierung als vorteilhafter erwiesen, weil die darzustellenden Feinstrukturen der Zellausläufer nunmehr deutlich sichtbarer dargestellt werden konnten.

Mit den beschriebenen neuen Vorverarbeitungsverfahren lassen sich relativ schnell brauchbare Ergebnisse erzielen, die einerseits Störungen in den Bilddaten recht gut beseitigen, andererseits feine Strukturen in den Zellverbindungen praktisch unbeeinflusst lassen. Die Bilddatenvorverarbeitung lässt sich in sehr kurzer Zeit (wenige Sekunden pro Bildstapel) auf einem Standard PC durchführen, was für den Anwender sehr hilfreich ist, weil im Rahmen einer einzelnen experimentellen Untersuchungen sehr viele Bilddaten anfallen (ca. 30 – 100 MB).

Abb. 2. Volumenrekonstruktion von interzellulären Verbindungen vitaler Knochenzellen



Die Abbildung 1 zeigt eine typische 2D-Szene von miteinander verknüpften vitalen Knochenzellen *in vitro*. Eine anschließende räumliche Darstellung der histologischen Szenen erfolgt mit einem einfachen z-Buffer-Volumenvisualisierungsverfahren (vgl. Abbildung 2). Es zeigt erheblich bessere Ergebnisse bei der 3D-Darstellung feiner Knochenzellausläufer als eine vergleichsweise durchgeführte Oberflächenvisualisierung nach dem bekannten Marching-Cube-Verfahren. Das gilt auch für eine stereoskopische Visualisierung mit der Chromatek-Methode.

4 Diskussion

Die räumliche Rekonstruktion mikroskopischer Bilddaten mit Hilfe von digitalen Bildvorverarbeitungsmethoden und adäquaten 3D-Visualisierungstechniken gestaltet sich nach wie vor recht schwierig. Brauchbare Ergebnisse lassen sich derzeit nur empirisch ermitteln. Auch diese Arbeiten haben wiederum gezeigt, dass die Bilddaten zunächst mit einem geeigneten Verfahren von möglichst vielen Störungen befreit werden müssen, bevor eine räumliche Rekonstruktion der beteiligten morphologischen Strukturen und deren 3D-Darstellung erfolgen kann.

In diesem Zusammenhang hat sich insbesondere die Methode der empirischen Gewichtung ausgewählter Bildortsfrequenzen im Fourierraum mit anschließender Rücktransformation des Gewichtungsergebnisses in den Ortsbereich, erneut bewährt. Offensichtlich eignen sich für die 3D-Visualisierung der Mikroskopie-Bilddaten besonders stereoskopische volumenorientierte Verfahren, da reine Oberflächenmodelle die Komplexität der morphologischen Strukturen nicht so präzise wiedergeben. Mit den hier beschriebenen Verfahren der Bildvorverarbeitung und der Verwendung von stereoskopischen Volumenvisualisierungen sind die derzeit besten räumlichen Darstellungen von vitalen Knochenzellen *in vitro* möglich, wobei die Bewertung der Darstellungsqualität nach wie vor dem subjektiven Eindruck des diese computergestützte Methode benutzenden Biowissenschaftlers unterliegt.

Literaturverzeichnis

1. Roth A, Melzer K, Annacker K, Lipinski HG, Wiemann M, Bingmann D. 3D Visualisierung vitaler Knochenzellen. In: Procs BVM; 2003. p. 225–229.
2. Bracewell RN. Fourier analysis and imaging. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York; 2003.
3. Roth A, Melzer K, Annacker K, Lipinski HG, Wiemann M, Bingmann D. Filterung von räumlichen Bilddaten lebender Knochenzellen mit Hilfe der 3D-Fouriertransformation. In: Procs Biomedizinische Technik; 2003. p. 130–131.
4. Udupa JK, Herman GT. 3D Imaging in Medicine, Second Edition. CRC Press, Boca Raton; 1999.