

Elastische Registrierung von in-vivo-CLSM-Aufnahmen der Kornea

Stephan Allgeier¹, Bernd Köhler², Franz Eberle², Susanne Maier¹,
Oliver Stachs³, Andrey Zhivov³, Georg Bretthauer^{1,2}

¹Institut für Angewandte Informatik/Automatisierungstechnik, KIT

²Institut für Angewandte Informatik, KIT

³Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universität Rostock

stephan.allgeier@kit.edu

Kurzfassung. Die konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie ermöglicht die Erzeugung hochauflöser Aufnahmen von Nerven- und Zellstrukturen der Kornea in vivo. Ein Hindernis bei der Generierung großflächiger Abbildungen durch etablierte Mosaikbildmethoden sind Verzerrungen in den aufgenommenen Bildern, die durch unvermeidbare Augenbewegungen verursacht werden. Diese Arbeit präsentiert ein Verfahren zur elastischen Registrierung solcher Bildserien, welches durch die Berücksichtigung der spezifischen Eigenschaften des Aufnahmesystems in der Lage ist, die Bewegungsartefakte zu erkennen und zu korrigieren.

1 Einleitung

Der subbasale Nervenplexus (SNP) der Augenhornhaut (Kornea) bietet die einzigartige Möglichkeit, periphere Nervenstrukturen in vivo und nicht-invasiv mit Hilfe hochauflösender optischer Verfahren zu untersuchen. Für die Untersuchung des SNP, z.B. zur Beurteilung der Diabetischen Neuropathie [1], hat sich – derzeit noch vorwiegend in der medizinischen Forschung – die konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM) als geeignetes bildgebendes Verfahren etabliert [2].

Bedingt durch die hohe laterale Auflösung besteht eine wesentliche Einschränkung der CLSM in ihrem kleinen Bildfeld. Erstmals 2005 wurden von Patel et al., später auch von Stachs et al., bei einzelnen Probanden in einem aufwändigen, manuell geführten Prozess Mosaikbilder des SNP aus umfangreichen Bildserien zusammengesetzt [2, 3]. Solche Mosaikbilder bilden die Basis zur Erfassung und Charakterisierung der großflächigen Struktur des SNP. Sie belegen zudem die inhomogene Verteilung der subbasalen Nervenfasern, wodurch die Belastbarkeit morphometrischer Parameter auf der Basis von Einzelbildern stark eingeschränkt ist. Zur Durchführung umfangreicherer Studien oder für den Einsatz in der klinischen Praxis ist der manuell geführte Prozess jedoch nicht praktikabel, die Generierung der Mosaikbilder muss automatisiert erfolgen.

Die Mosaikbilderzeugung aus Bildserien basiert auf der Registrierung der Einzelbilder. Die einzige bisher publizierte Anwendung, die eine Registrierung von CLSM-Aufnahmen der Kornea beinhaltet, berechnet dafür affine Transformationen zwischen den Einzelbildern [4]. Aufgrund von bewegungsinduzierten

nicht-affinen Verzerrungen ist ein solcher Ansatz nicht ausreichend für eine exakte Registrierung von CLSM-Aufnahmen der Kornea. Diese Arbeit beschreibt einen neuen Ansatz zur elastischen Registrierung solcher Bildserien, welcher die spezifischen Eigenschaften des Aufnahmesystems berücksichtigt.

2 Material und Methoden

Für die Akquisition der Bilddaten wurde das konfokale Laser-Scanning-Mikroskop HRTII (Heidelberg Retina Tomograph II) mit dem RCM-Modul (Rostock Cornea Module) verwendet. Das Mikroskop liefert 30 Aufnahmen pro Sekunde mit einem Bildfeld von $400 \times 400 \mu\text{m}^2$ (384×384 Pixel, 8 Bit Grauwerte).

Zur Erzeugung eines Bildes wird das Bildfeld punktweise Zeile für Zeile abgetastet. Unvermeidbare Augenbewegungen führen in praktisch allen in-vivo-CLSM-Aufnahmen der Kornea zu Bewegungsartefakte in Form von verzerrt dargestellten Bildbereichen. Während der Aufnahmedauer einer einzelnen Bildzeile ($\sim 0,065$ ms) bewegt sich das Auge maximal um etwa $1 \mu\text{m}$ bzw. eine Pixelbreite; die Bildzeilen können somit als starr und unverzerrt angenommen werden. In der Zeitspanne einer Einzelaufnahme (~ 24 ms) kann sich das Auge jedoch um bis zu $400 \mu\text{m}$ bzw. eine komplette Bildbreite bewegen. Augenbewegungen in horizontaler Richtung führen zu einem horizontalen Versatz folgender Bildzeilen, Augenbewegungen in vertikaler Richtung verursachen eine vertikale Stauchung oder Dehnung des abgebildeten Bereichs in den Aufnahmen.

Mit dem nachfolgend beschriebenen Algorithmus wird die unbekannte Trajektorie $\mathbf{s}(t)$ des untersuchten Auges, also der Verlauf der Lage des Auges relativ zum Bezugssystem des Mikroskops über der Zeit, aus korrespondierenden Bildbereichen einer Bildfolge geschätzt. Aus der ermittelten Trajektorie des Auges während der Bildaufnahme und den bekannten Aufnahmezeitpunkten aller Bildzeilen lassen sich die Bildzeilen zueinander in Beziehung setzen und somit die Bilder zurück in den unverzerrten Zustand transformieren.

In einem ersten Schritt werden für jedes Bildpaar (I_{n-1}, I_n) einer Bildserie (I_1, \dots, I_N) Korrespondenzen zwischen Bildbereichen ermittelt. Dazu wird I_n in 12 Teilbilder $i_{n,k}$ ($1 \leq k \leq 12$) zu je 32 Bildzeilen aufgeteilt. Für jedes Teilbild $i_{n,k}$ wird mit Hilfe der Phasenkorrelationsfunktion ein Versatzvektor $\mathbf{u}_{n,k}$ zum Vorgängerbild I_{n-1} berechnet. Versatzvektoren, die mit einem zu geringen Korrelationswert ermittelt wurden, werden in der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.

Im zweiten Schritt wird die Trajektorie $\mathbf{s}(t)$ geschätzt. Dazu werden aus den Versatzvektoren $\mathbf{u}_{n,k}$ Stützpunkte des Bewegungsverlaufs über die gesamte Aufnahmedauer der Bildserie ermittelt, die im zeitlichen Abstand von 2 ms jeweils in der Mitte der Aufnahmedauer eines Teilbilds liegen. Die technisch bedingten Aufnahmepausen von ca. 9,3 ms zwischen zwei Aufnahmen werden zu diesem Zweck mit 4 Stützpunkten grob abgeschätzt, so dass insgesamt 16 Stützpunkte im Zeitraum vom Beginn eines Bilds bis zum Beginn des folgenden Bilds liegen. Jeder Versatzvektor $\mathbf{u}_{n,k}$ entspricht einer relativen Lageänderung des Auges um

$$\mathbf{u}_{n,k} = \mathbf{s}(t_2) - \mathbf{s}(t_1) \quad (1)$$

Dabei entspricht der Punkt $\mathbf{s}(t_2)$ exakt dem Stützpunkt des Teilbilds $i_{n,k}$ auf dem Bewegungsverlauf. Der Punkt $\mathbf{s}(t_1)$ hingegen liegt im Allgemeinen zwischen zwei Stützpunkten (Abb. 1). Gleichung 1 wird in die diskrete Form

$$\mathbf{u}_{n,k} = \mathbf{w}_{n,k} \cdot S \quad (2)$$

überführt, mit einem Zeilenvektor $\mathbf{w}_{n,k} \in \mathbb{R}^{16N}$, der fast überall mit dem Wert 0 besetzt ist und dessen Komponenten paarweise den Stützpunkten in \mathbf{s} zugeordnet sind. An der t_2 entsprechenden Position wird der Wert 1 eingetragen. Der theoretisch an der t_1 entsprechenden Position einzutragende Wert -1 wird im Verhältnis der Abstände auf die beiden benachbarten Positionen aufgeteilt. Die Zeilen der Matrix $S \in \mathbb{R}^{16N \times 2}$ entsprechen den gesuchten Stützpunkten des Bewegungsverlaufs. Nach Gleichung 2 lässt sich mit allen vorliegenden Versatzvektoren $\mathbf{u}_{n,k}$ das lineare Gleichungssystem

$$U = WS \quad (3)$$

aufstellen. Das Gleichungssystem ist im Allgemeinen singulär, da sich bei einer Bildserie von N Bildern mit insgesamt $12N$ Teilbildern maximal $12(N-1)$ voneinander unabhängige Beziehungen aufstellen lassen. Zur Lösung des Gleichungssystems wird deshalb ein zu minimierendes Energiefunktional

$$f_\alpha(S) = \|WS - U\|_2^2 + \alpha \|LS\|_2^2 + \eta (\sum S)^2 \quad (4)$$

definiert. Der erste Term fordert die Anpassung der Trajektorie auf die Versatzvektoren, die zwei gewichteten Regularisierungsterme fordern die Minimierung der Krümmung des geschätzten Bewegungsverlaufs und die Festlegung des Ursprungs des globalen Koordinatensystems auf den Mittelpunkt von S . Die Tridiagonalmatrix L berechnet numerisch die zweite Ableitung von S , wodurch Stützpunkte ohne korrespondierende Teilbildregistrierung interpoliert werden. Aus Gleichung 4 ergibt sich das reguläre Gleichungssystem

$$(W^T W + \alpha L^T L + \eta E)S = W^T U \quad (5)$$

mit der Einsmatrix E , das sich nach S lösen lässt. Die Stützpunkte der Trajektorie in S definieren die mittlere Lage aller Teilbilder in einem globalen Koordinatensystem. Durch quadratische Interpolation zwischen den Stützpunkten

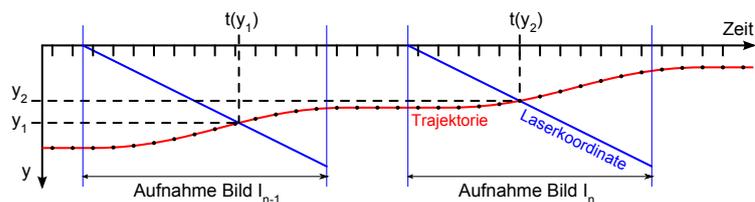


Abb. 1. Skizze des Aufnahmeprozesses für einen Objektpunkt (nur für die y-Koordinate); die Punkte auf der Trajektorie und die Unterteilungen der Zeitachse markieren die gesuchten Stützpunkte.

werden schließlich die Lagevektor aller Bildzeilen der Einzelbilder berechnet und daraus registrierte, bewegungskorrigierte Einzelbilder erzeugt (Abb. 2).

Das beschriebene Verfahren wurde an 20 Bildserien mit jeweils 96 Bildern getestet. Die elastisch korrigierten Bildserien wurden zuerst visuell begutachtet. Anschließend wurde für alle korrigierten Bildpaare (I_{n-1}, I_n) eine rigide Registrierung auf Basis der normalisierten Kreuzkorrelation durchgeführt.

3 Ergebnisse

Insgesamt 20 der 1900 Bildpaare (1,05%) konnten mit dem von uns implementierten Verfahren nicht registriert werden. In allen anderen Fällen wurden die Bildpaare korrekt registriert und dabei die Bewegungsartefakte deutlich korrigiert, was durch die Sichtprüfung verifiziert wurde (Abb. 2).

Die Werte der normalisierten Kreuzkorrelation belegen die Genauigkeit des Registrierungsverfahrens im Subpixel-Bereich. Das Diagramm in Abb. 3 stellt zur besseren Lesbarkeit nur die Versatzwerte von bis zu 2 Pixeln dar. Insgesamt 20 Bildpaare (1,05%) weisen eine Abweichung von mehr als 2 Pixeln auf. Bei 1752 Bildpaaren (93,19%) verbleibt nach der elastischen Registrierung ein Versatz von weniger als 0,5 Pixeln.

4 Diskussion

Die Sichtprüfung zeigt, dass bei 17 der 20 nicht registrierten Bildpaare die Fehlregistrierung durch sehr schnelle Augenbewegungen von mehr als $8 \mu\text{m}/\text{ms}$ verursacht wurde. Zwei der missglückten Registrierungen lassen sich auf ein zu geringes Signal-Rausch-Verhältnis zurückführen. In einem Fall können wir uns die fehlgeschlagene elastische Registrierung bisher nicht schlüssig erklären.

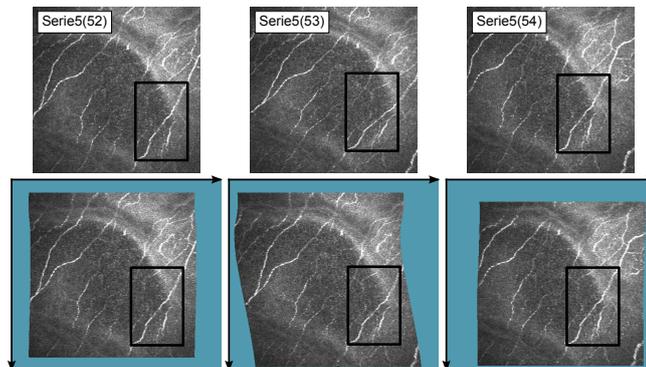
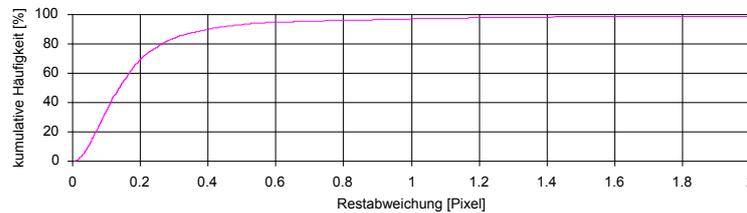


Abb. 2. Teilsequenz einer Bildserie; oben: Originalaufnahmen; unten: registrierte Bilder im globalen Koordinatensystem; die Markierung verdeutlicht bewegungsbedingte Verzerrungen im zweiten Bild (die linke untere Ecke liegt jeweils am selben Punkt des SNP).

Abb. 3. Gemessene Restabweichungen nach der elastischen Registrierung.

Die Überprüfung der elastischen Registrierungsergebnisse durch die starre Registrierung mit normalisierter Kreuzkorrelation zeigt fast durchweg Ergebnisse im sehr guten Subpixel-Bereich. Das mit über 90 Pixeln Versatz deutlich schlechteste Resultat konnte auf ein falsches Registrierergebnis des Kreuzkorrelationstests zurückgeführt werden, in allen anderen Fällen lieferte die rigide Registrierung plausible Versatzwerte. Alle 20 Fälle mit einem Versatz von mehr als 2 Pixeln zeigen stärkere Verzerrungen in den Aufnahmen, die durch die elastische Registrierung zwar nicht vollständig entfernt, aber deutlich verringert wurden.

In der überwiegenden Zahl der Fälle liefert der beschriebene Registrieransatz sehr gute Ergebnisse. Da praktisch alle CLSM-Aufnahmen der Kornea bewegungsinduzierte Verzerrungen aufweisen, sind die Ergebnisse von affinen und erst recht von rigiden Registrieransätzen grundsätzlich fehlerbehaftet. Vollelastische Ansätze besitzen im Prinzip zu viele Freiheitsgrade und bergen daher die Gefahr, neue Deformationen in die Aufnahmen einzubringen, anstatt nur die Bewegungsartefakte zu korrigieren. Der von uns gewählte Ansatz ist in der Lage, die bewegungsinduzierten Verzerrungen zuverlässig zu erkennen und deutlich zu vermindern. Er kann zur Erzeugung von großflächigen Mosaikbildern aus in-vivo-CLSM-Aufnahmen von kornealen Strukturen verwendet werden [5].

Literaturverzeichnis

1. Magjarevic R, Ferreira A, Morgado AM, et al. Corneal nerves segmentation and morphometric parameters quantification for early detection of diabetic neuropathy. *Proc IFMBE*. 2010;29:264–67.
2. Patel DV, McGhee CNJ. In vivo confocal microscopy of human corneal nerves in health, in ocular and systemic disease, and following corneal surgery: a review. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(7):853–60.
3. Stachs O, Zhivov A, Kraak R, et al. Structural-functional correlations of corneal innervation after LASIK and penetrating keratoplasty. *J Refract Surg*. 2010;26(3):159–67.
4. Zhivov A, Guthoff RF, Stachs O. On-line Mapping kornealer Strukturen mittels In-vivo-Laser-Scanning-Mikroskopie. *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 2009;226(12):980–83.
5. Allgeier S, Eberle F, Köhler B, et al. Ein neues Mosaikbildverfahren zur großflächigen Darstellung des subbasalen Nervenplexus der Kornea in vivo. *Biomed Tech*. 2010;55(Suppl. 1).