



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Automated analysis and visualization of preclinical whole-body microCT data

Baiker, M.

### Citation

Baiker, M. (2011, November 17). *Automated analysis and visualization of preclinical whole-body microCT data*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/18101>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/18101>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

# Samenvatting en Aanbevelingen

## Samenvatting en Conclusies

IN DIT PROEFSCHRIFT worden verschillende strategieën gepresenteerd met als doel de analyse en de visualisering van in vivo data van kleine proefdieren gemakkelijker te maken. Gebaseerd op de specifieke uitdagingen, die het werken met dit soort data met zich meebrengt, zijn we in dit proefschrift op verschillende aspecten ingegaan. De gepresenteerde methoden zijn gericht op het verwerken van data van lichamen die sterk in postuur verschillen en we houden er rekening mee dat een proefdier uit veel uiteenlopende weefseltypes bestaat. Bovendien richten we ons op het compenseren van ontbrekend weefselcontrast in de data door middel van het benaderen van organen met behulp van een anatomisch model van een proefdier. Verder stellen we een oplossing voor om het combineren van data van meerdere modaliteiten en meerdere dimensies te automatiseren.

Hoofdstuk 1 geeft een algemene introductie tot ‘molecular imaging’ en benoemt de uitdagingen voor de beeldverwerking. Bovendien wordt een overzicht van gepubliceerd werk gegeven, dat zou kunnen bijdragen aan het oplossen van de uitdagingen. We maken duidelijk dat cruciale aspecten zoals het omgaan met grote verschillen in postuur, de veel uiteenlopende weefseltypes en het ontbreken van weefselcontrast in data van hele lichamen, nog steeds problemen vormen en het bijdragen aan oplossingen voor deze aspecten, wordt als doelstelling van dit proefschrift gedefinieerd. Het hoofdstuk wordt met een overzicht van dit proefschrift afgerond.

Hoofdstuk 2 beschrijft de constructie van gearticuleerde modellen van het bottensstelsel, op basis van openbaar beschikbare modellen van hele lichamen van proefdieren (MOBY mouse [59], Digimouse [36], SD Rat [60, 61]). Het proces omvat de manuele segmentatie, de lokalisatie van gewrichten en de definitie van anatomisch realistische, kinematische gewricht modellen. Het hoofdstuk bevat ook een aantal voorbeelden van mogelijke toepassingen van de gearticuleerde modellen.

Het gearticuleerde muis model MOBY wordt in Hoofdstuk 3 gebruikt voor het segmenteren van hele muislichamen uit in vivo MicroCT data. De methode is gebaseerd op een registratie van het gearticuleerd MOBY bottensstelsel op het bottensstelsel van de target data. Door de combinatie van een hiërarchisch model en het opleggen van beperkingen van de hoeveelheid vrijheidsgraden die voor de registratie van enkele botten toegestaan zijn, is het mogelijk de methode robuust te maken ten opzichte van posturele verschillen en pathologische veranderingen van botweefsel, veroorzaakt door bijvoorbeeld osteolyse. Daarna worden de longen en de huid van de MOBY op de target data gereg-

## Samenvatting en Aanbevelingen

istreed en de locatie en de grootte van verschillende organen geschat door middel van TPS interpolatie. We zijn in staat om een registratiefout (Euclidische afstand tussen oppervlakten) onder de twee voxeldimensies voor het bottenstelsel en de longen en onder één voxeldimensie voor de huid te bereiken. De Dice coëfficiënten, die een indicatie van de orgaanoverlap geven, variëren tussen  $0.47 \pm 0.08$  voor de nieren en  $0.73 \pm 0.04$  voor het brein. Gegeven de grote posturele verschillen, die in de data aanwezig zijn, zijn de verkregen resultaten veelbelovend en vergelijkbaar met eerder gepubliceerde resultaten. Indien subvoxel nauwkeurigheid voor het bottenstelsel en de huid noodzakelijk zijn voor een bepaalde toepassing, zijn de behaalde resultaten niet voldoende nauwkeurig. Maar het registratieresultaat kan worden gebruikt om een nauwkeurigere intensiteit-gebaseerde methode te initialiseren. Dit wordt in Hoofdstuk 6 gepresenteerd. De meest geschikte modaliteit voor het toepassen van de gearticuleerde registratie methode, die in dit hoofdstuk wordt besproken, is MicroCT, omdat het bottenstelsel relatief gemakkelijk uit de data kan worden gesegmenteerd. De methode kan echter ook op data van andere modaliteiten zoals MicroSPECT [165] worden toegepast, indien een benadering van het bottenstelsel kan worden bepaald.

In Hoofdstuk 3 lieten we zien, hoe het bottenstelsel van een muis in individuele botten kan worden gesegmenteerd. De echte toegevoegde waarde, om dit geautomatiseerd te doen, wordt in Hoofdstuk 4 duidelijk gemaakt. In dit hoofdstuk wordt een methode met de naam ‘Articulated Planar Reformation’ voorgesteld, die subvolumes vanuit de originele MicroCT data naar een gestandaardiseerd referentiestelsel verplaatst. Met dit raamwerk kan een bepaalde structuur, zoals een specifiek bot, vanuit verschillende MicroCT datasets van verschillende proefdieren of hetzelfde proefdier op verschillende tijdpunten, gemakkelijk worden vergeleken door middel van een side-by-side visualisatie. Het gebruik van een gestandaardiseerd referentiestelsel waarborgt dat een specifieke structuur in alle datasets aan elkaar uitgelijnd is. Dusdanig worden morfologische verschillen, die bijvoorbeeld uit een bepaalde ziekte of een bepaalde behandeling voortkomen, onmiddellijk duidelijk. Zodoende is het met deze methode mogelijk, om gemakkelijk en automatisch door datasets van hele lichamen te navigeren, en follow-up datasets op een intuïtieve manier te onderzoeken. Om de datasets bovendien ook kwantitatief te kunnen vergelijken, worden meerdere meet- en visualisatiestrategieën gepresenteerd, onder andere een visualisatie van bot verandering, een overlay visualisatie en een checkerboard visualisatie. Een representatie van de registratie fout in een visualisatie van een bepaalde structuur, door middel van kleuren, maakt het mogelijk om de betrouwbaarheid van de resultaten in te schatten. Verder heeft het focussen op een bepaalde structuur in een dataset van een heel lichaam het voordeel, dat niet de hele data in het werkgeheugen moet worden geladen. Dit is een heel belangrijk aspect, vooral als meerdere tijdpunten moeten worden vergeleken. De datasets kunnen dus met hogere resolutie worden geopend, omdat de Volume of Interest erg beperkt kan worden. De methodes werden geëvalueerd door twee experts uit het vak en deze vonden ze erg nuttig in het onderzoeken van follow-up data van hele muislichamen.

In Hoofdstuk 5 wordt het APR raamwerk uitgebreid door een concreet voorbeeld, waar nauwkeurige kwantificatie nodig is voor het volgen van door kanker veroorzaakte osteolyse over de tijd. Eerst wordt een bepaalde structuur automatisch gesegmenteerd uit datasets

## Samenvatting en Aanbevelingen

die op drie verschillende tijdpunten zijn opgenomen, door middel van de methodes die in de voorafgaande hoofdstukken zijn geïntroduceerd. Omdat de gearticuleerde registratie van het bottenstelsel segmentaties van enkele botten met beperkte nauwkeurigheid oplevert (de vrijheidsgraden van de individuele registraties zijn beperkt), stellen we in het vervolg een methode voor om verschillende botten met hoge nauwkeurigheid te segmenteren. In dit hoofdstuk gaat het om de tibia, die we van de femur scheiden. Echter kan onze benadering ook voor een segmentatie van andere botten of het hele bottenstelsel worden gebruikt. Gebaseerd op de segmentatie van de tibia, meten we het bot volume op verschillende tijdpunten en vergelijken de meetwaarden van de geautomatiseerde methode met meetwaarden, die door twee experts zijn bepaald. Uit een grondige statistische analyse blijkt dat de automatische methode niet significant verschilt van de twee experts ( $p = .10$ ). De meetwaarden van de twee experts hebben een hoge correlatie ( $r = 0.9996$ ), net zoals de meetwaarden van de experts ten opzichte van de geautomatiseerde methode ( $r = 0.9939$  en  $r = 0.9937$ ). Bovendien laten Bland-Altman plots een uitstekende overeenkomst tussen de metingen van de experts en de geautomatiseerde methode zien (Interobserver variabiliteit:  $0.59 \pm 0.64\%$ , Obs1 vs. Auto:  $0.26 \pm 2.53\%$  en Obs2 vs. Auto:  $-0.33 \pm 2.61\%$ ). Dusdanig kunnen we concluderen dat de methode een expert kan vervangen als het om het volgen van osteolyse over de tijd gaat. Verder wordt in het hoofdstuk een automatische methode gepresenteerd om de corticale bot dikte te bepalen. De gemeten waarden kunnen in een visualisatie van de oppervlakte van de tibia worden gebruikt door deze aan verschillende kleuren te koppelen. Daarmee wordt het volgen van bot dikte variaties over de tijd een heel stuk makkelijker gemaakt.

Zoals eerder vermeld kan een heel nauwkeurige segmentatie van het bottenstelsel niet met de gearticuleerde bottenstelsel registratie methode uit Hoofdstuk 3 bereikt worden. Echter zijn intensiteit-gebaseerde benaderingen voor registratie, waarmee in principe een grote nauwkeurigheid kan worden bereikt, niet voldoende robuust om met data van proefdieren met grote posturele verschillen om te kunnen gaan. In Hoofdstuk 6 stellen we voor om de robuustheid van de gearticuleerde registratie met de nauwkeurigheid van een intensiteit-gebaseerde registratie te combineren. Om dit te bereiken, beschouwen we de registratie tussen twee datasets als een optimalisatieprobleem. Het registratie criterium is aan de ene kant gebaseerd op de overeenkomst van de intensiteit en aan de andere kant op de Euclidische afstand tussen corresponderende landmark sets. Deze zijn bepaald in de twee datasets door de registratie van het MOBY muismodel op de twee datasets zoals beschreven in Hoofdstuk 6. De optimalisatie kan heel efficiënt en snel worden doorgevoerd met behulp van de `elastix` [154] software. We waren daarmee in staat om een even goede nauwkeurigheid te behalen als in eerder gepubliceerd werk, maar in significant kortere tijd. De combinatie van de twee termen in de optimalisatie leidt in vergelijking tot het gebruik van alleen één van de twee termen apart tot een beter resultaat en we zijn in staat om subvoxel nauwkeurigheid voor het bottenstelsel en voxel nauwkeurigheid voor de huid, gemeten op basis van de Euclidische afstand tussen twee oppervlakten, te behalen.

In Hoofdstuk 7 besteden we aandacht aan een veel voorkomend probleem in de praktijk van de preklinische moleculaire beeldvorming: de fusie van 2D bioluminescence imaging data en 3D MicroCT data. Onze strategie is om eerst een benadering van de huid van een

## Samenvatting en Aanbevelingen

proefdier in 3D te reconstrueren, op basis van twee of meerdere silhouetten van de huid op 2D foto's, en dan een 3D distance map te berekenen. Daarop volgend gebruiken we deze distance map om de uit de MicroCT data gesegmenteerde huid van het proefdier te registreren. Meerdere penalty termen worden geïntroduceerd om met de vorm verschillen tussen de twee representaties van de huid om te kunnen gaan. Met deze methode is het mogelijk om subvoxel nauwkeurigheid voor synthetische data te bereiken (Euclidische afstand tussen de huidoppervlakten), waardoor het potentieel van de methode duidelijk wordt. De resultaten van experimenten met echte data zijn met een gemiddelde afstand tussen de oppervlakten van rond de twee voxels minder nauwkeurig. We denken dat dit voornamelijk met de verschillen tussen de twee representaties van de huid te maken heeft. De oren van een proefdier zijn bijvoorbeeld duidelijk op de 2D foto's te zien, maar omdat ze erg dun zijn, is het erg lastig om ze uit de MicroCT dataset te segmenteren. Ondanks de beperkingen zijn de behaalde resultaten vergelijkbaar met de resultaten die door registraties op basis van handmatig geselecteerde landmarks bereikt kunnen worden.

Gebaseerd op de focus van dit onderzoek, die in Sec. 1.4 geformuleerd is, en de observaties in dit hoofdstuk denken we dat we onze doelen in grote mate bereikt hebben. De automatische analyse van datasets van proefdieren met grote posturele verschillen, die bijvoorbeeld in follow-up studies optreden, wordt mogelijk gemaakt door de gearticuleerde registratie (Hoofdstuk 3), de daarop volgende verplaatsing naar een gestandaardiseerd referentie stelsel voor visualisatie en kwantificatie (Hoofdstuk 4) en de nauwkeurige registratie van het hele lichaam (Hoofdstuk 6). Met verschillende weefseltypes wordt gedeeltelijk rekening gehouden, omdat we in Hoofdstuk 3 specifiek eerst het bottenstelsel en dan de longen registreren en door de regularisatie van de registratie in Hoofdstuk 6. Tussen andere organen worden echter door de interpolatie van het zachte weefsel geen verschil gemaakt. Niet realistische deformaties kunnen het gevolg hiervan zijn. Het probleem van het ontbrekende weefselcontrast in datasets van hele lichamen wordt benaderd door het gebruiken van een anatomisch model van het proefdier. We hebben deze oplossing gepresenteerd voor MicroCT data, maar benaderingen voor de analyse voor datasets van andere modaliteiten zouden eveneens baat kunnen hebben van het gebruik van een model. Vanwege een gebrek aan tijd voor dit onderzoek, kon het probleem van het combineren van data van meerdere modaliteiten maar gedeeltelijk worden behandeld. De initiële resultaten zijn echter veelbelovend.

## Aanbevelingen

Er zijn meerdere mogelijkheden voor toekomstig werk op basis van de resultaten in dit proefschrift. Wat de gearticuleerde registratie van het bottenstelsel betreft, zou het interessant zijn om de registratie van meerdere botten tegelijkertijd door te voeren, waarbij met de beperkingen van het gewricht types waarmee deze met elkaar verbonden zijn rekening gehouden moet worden. In principe houdt de sequentiële bot voor bot registratie methode de mogelijkheid in dat registratiefouten doorgeschoven worden. Wel houden we hiermee rekening, maar het zou interessant zijn om te zien hoe een simultane registratie van botten werkt, vergeleken met onze methode. Echter is voor deze optie een optimalisatie strategie nodig, die met veel meer registratieparameters tegelijkertijd om kan gaan

## Samenvatting en Aanbevelingen

als die die wij gebruiken. Een verbetering van de methode zou het meenemen van corresponderende landmarks op de ledematen zijn, voor de registratie van de huid. Op dit moment worden alleen corresponderende landmarks op de huid van de romp meegenomen, omdat de locaties en de afmetingen van de organen niet of nauwelijks van de positie van de ledematen afhangt. Verder zouden de locaties en de afmetingen van de organen op een geavanceerdere manier kunnen worden geschat als dit met TPS interpolatie mogelijk is. Om verschillende stijfheden aan verschillende organen toe te kennen, zou een Finite Element Model van het MOBY model kunnen worden gemaakt. De correspondenties op het bottenstelsel, de longen en de huid zouden dan ervoor kunnen worden gebruikt een inschatting van externe krachten op het lichaam te maken en dan de organen op een realistische manier te deformeren. Een dusdanige methode zou echter vrij rekenintensief zijn.

Een erg interessant experiment zou zijn om aan een heterogeen weefselmodel na de segmentatie van een proefdier met een geïmplanteerde lichtbron, realistische optische weefseleigenschappen toe te kennen. Dit zou heel nuttig kunnen zijn voor het reconstrueren van de lichtbron door middel van Bioluminescence Tomography omdat deze methodes recent voor in vivo toepassingen beschikbaar zijn gekomen [166, 167]. Er bestaat een grote behoefte aan heterogene weefselmodellen, om nauwkeurige resultaten te kunnen bereiken [90] en het lijkt erop dat de begrenzingen van de organen niet heel nauwkeurig bekend hoeven zijn om alsnog goede resultaten te verkrijgen [9].

Het gestandaardiseerde referentiestelsel van het ‘Articulated Planar Reformation’ raamwerk is op dit moment toegepast op MicroCT data en dus gespecialiseerd op bot. Maar in feite zou het mogelijk zijn om op basis van een benadering van een orgaan een Volume of Interest om dat orgaan te genereren op een manier die lijkt op automatische scan planning strategieën zoals bijvoorbeeld voorgesteld in [10]. Door dit voor meerdere tijdpunten te doen zou het mogelijk zijn om ook organen naar het gestandaardiseerde referentiestelsel te verplaatsen. Dit zou echter voor MicroCT niet veel opleveren, door het ontbrekende contrast van zacht weefsel.

De nauwkeurige botsegmentatiemethode uit Hoofdstuk 5 werd toegepast op de tibia, de femur en de pelvis. De methode zou echter ook op de andere botten van het bottenstelsel kunnen worden toegepast, mits het bot in het gearticuleerde MOBY model is opgenomen. Dit zou een nauwkeurige botsegmentatie van het hele lichaam opleveren. Verder wordt het botvolume tegenwoordig gemeten op basis van thresholded data. Het zou echter een betere keuze kunnen zijn om de botmassa door middel van de grijswaardeverdeling in de data te meten in plaats van het botvolume in het geval van osteolyse.

De registratie van het hele lichaam werd uitsluitend op niet-contrast-verbeterde MicroCT data geëvalueerd. De overeenkomst van de intensiteit wordt gemeten met Normalized Cross Correlation, maar bijvoorbeeld Mutual Information zou ook kunnen worden gebruikt. Daarom zou het interessant zijn om de methode met contrast-verbeterd MicroCT data, die verschillende orgaan contrast kan bevatten, te testen. Hoe meer contrast beschikbaar is, hoe beter zou de methode moeten werken.

Een interessante uitbreiding van de 2D/3D registratie methode zou zijn om ze onafhankelijk van de MicroCT dataset te maken. Dit zou kunnen worden gedaan door een gearticuleerd muismodel met het bottenstelsel en de huid te gebruiken. Het bottens-

## Samenvatting en Aanbevelingen

telsel zou kunnen worden gearticuleerd, waarbij met de beperkingen door de gewrichten rekening wordt gehouden, en daarop volgend zou de vorm van het lichaam van het proefdier, dus de huid, kunnen worden geschat. Dit zou bijvoorbeeld kunnen worden gedaan door een gewogen combinatie van de bot transformaties [92], door bijzonder aandacht te schenken aan de omkeerbaarheid van de transformaties [35] of door ‘skinning’ technieken uit de computer animatie literatuur (bijvoorbeeld [168,169]) te gebruiken. Het resultaat zou een benadering van de interne structuur van het proefdier zijn, die puur op basis van twee of meerdere foto’s van het proefdier zijn bepaald.

Ten slotte zouden de genoemde beperkingen van de 2D/3D registratie methode uit Hoofdstuk 7 moeten worden aangepakt door de segmentatie van de silhouet in de 2D foto’s te automatiseren. Aan een dergelijke benadering zou a priori informatie van de vorm van het proefdier moeten worden toegevoegd, omdat de huidoppervlakte van de MicroCT data niet alles bevat dat op de foto’s te zien is (zoals de oren). De combinatie van geautomatiseerde silhouetextractie en een heterogeen weefselmodel van het proefdier zou een belangrijke stap zijn op de weg naar een volledig geautomatiseerd Bioluminescence Tomography systeem voor in vivo applicaties.

## Samenvatting en Aanbevelingen



