

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/21914> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Khmelinskii, Artem

Title: Multi-modal small-animal imaging: image processing challenges and applications

Issue Date: 2013-10-09

Samenvatting en conclusies

Voor de *in vivo* visualisatie van functionele en anatomische informatie wordt in preklinisch onderzoek veel gebruik gemaakt van het afbeelden van het hele lichaam van diermodellen. Hiermee kunnen ziektes zoals kanker, neurologische en cardiovasculaire ziekten worden bestudeerd, met als doel het sneller ontwikkelen en testen van nieuwe medicaties. Functionele informatie kan worden verkregen met beeldmodaliteiten zoals PET, SPECT en speciale MRI sequenties. Structurele beeldmodaliteiten zoals röntgenfotografie, CT, MRI en ultrageluid geven gedetailleerde afbeeldingen van de anatomie. Optische afbeeldingsmodaliteiten, zoals BLI en nabij-infrarood fluorescentie imaging leveren een hoge sensitiviteit als het gaat om het afbeelden van moleculaire processen. Door deze modaliteiten te combineren wordt het mogelijk om zowel het subject als zijn moleculaire processen te volgen in de tijd, in levende dieren.

Door de snelle ontwikkelingen in beeldacquisitie is de verwerking van al deze data een groeiend probleem. De organisatie, analyse en interpretatie van deze heterogene whole-body imaging data is een veeleisende taak geworden.

In dit proefschrift is een nieuwe opzet voor dataverwerking van pre-klinische imaging studies onderzocht, zoals die afgebeeld in Figuur 1.1. Deze benadering is gebaseerd op een gearticuleerd atlas van een compleet lichaam, als een gemeenschappelijke referentiekader om de geometrische heterogeniteit te normaliseren, die wordt veroorzaakt door de posturele en anatomische verschillen tussen individuen en de geometrische verschillen tussen beeldmodaliteiten. postuurvariëaties kunnen worden gecorrigeerd, en verschillen tussen dieren kunnen navenant geschaald worden; hierdoor wordt een coherente analyse mogelijk van deze high-throughput data van het complete lichaam.

In dit proefschrift hebben we ons gericht op drie complementaire aspecten van de benadering zoals beschreven in Figuur 1.1, en hebben we een geautomatiseerde analyse pipeline ontwikkeld voor de kwantitatieve analyse van kleine dieren. De specifieke doelen van dit proefschrift waren:

- (i) Het verder generaliseren van de gearticuleerde atlas-gebaseerde registratiemethode naar de multimodale component van de globale benadering zoals beschreven in Figuur 1.1, gefocusseerd op SPECT en MRI data van de gehele muis
- (ii) Het uitbreiden van het “Articulated Planar Reformation” algoritme door het te verbinden met een recent geïntroduceerde MR reconstructie techniek die de beeldresolutie verhoogt. Dit maakt het mogelijk om in te zoomen op kleine anatomische details die niet zichtbaar zijn met conventionele MRI
- (iii) Het aantonen van de toegevoegde waarde van atlas gebaseerde analyse van multimodale follow-up data in een biologische studie naar verouderingsprocessen in het brein, met een speciale focus op multi-contrast MR rat brein data

In **Hoofdstuk 2** hebben we drie realistische gearticuleerde skelet fantomen beschreven, die zijn afgeleid van publiek beschikbare atlassen van diermodellen. Een aantal voorbeeldtoepassingen werden gepresenteerd, die gebruik maken van de MOBY gearticuleerde atlas. Hiermee hebben we aangetoond dat gearticuleerde atlassen gebruikt kunnen worden voor de correctie van posturele variëaties, bij de gecombineerde analyse van optische en CT data en in de benadering van orgaan

locaties. Door de atlas te combineren met een hiërarchisch anatomisch model en gearticuleerde registratie, was het mogelijk om compleet-lichaam skelet registratie robuust uit te voeren, zelfs in de aanwezigheid van grote posturele variaties.

De in Hoofdstuk 2 gepresenteerde gearticuleerde modellen vormden de basis van de methodes gepresenteerd in de Hoofdstukken 3, 4 en 5 en zijn publiek beschikbaar gemaakt.

In **Hoofdstuk 3** toonden we de haalbaarheid aan van een techniek voor skelet segmentatie in SPECT beelden op basis van het gearticuleerde atlas, in combinatie met het “articulated planar reformation” algoritme voor whole-body skeletimaging.

Kwantitatieve evaluatie werd gedaan door het berekenen van de Euclidische punt-vlak afstand tussen de geregistreerde atlas en de corresponderende CT dataset. De aldus verkregen gemiddelde afstand van 2.6 ± 2.2 voxels liet zien dat de nauwkeurigheid van de registratie voor de SPECT data van dezelfde orde is als eerder gepubliceerde resultaten voor μ CT, nl. 1.8 ± 0.1 voxels [1]. Het grote verschil in standaard deviatie tussen de μ CT resultaten en die gepresenteerd in dit artikel zou kunnen liggen aan de grotere variabiliteit in de SPECT data (tracer absorptie en verdeling, waar de tracer is gericht op bot groei en niet op het gehele bot, en partieel-volume effecten) versus het meer robuuste bot contrast in CT. Door deze factoren zou de extractie van het skelet uit de data kunnen resulteren in of een gedeeltelijk of een veel dunner of dikker skelet dan waargenomen in de μ CT. Door data te verzamelen uit verschillende imaging studies, was een van de doelen van deze studie om de robuustheid aan te tonen van de atlas-gebaseerde segmentatie met betrekking tot de verschillende SPECT scan afstellingen. Afhankelijk van de onderzoeksvraag, de hoeveelheid geïnjecteerde tracer, de pinhole grootte en scantijd, moet er een compromis gesloten worden tussen resolutie en signaal. Desalniettemin, zolang er een skeletschatting mogelijk is, kan de gepresenteerde methodologie worden toegepast.

In [1] werd gedemonstreerd dat de voorgestelde atlas-gebaseerde segmentatiemethode robuust is met betrekking tot osteolytische laesies. Hier hebben we laten zien dat het gebruik van de gearticuleerde muis atlas, met gedefinieerde vrijheidsgraden en beperkingen op de grootte van elk bot, robuuster bleek te zijn voor incomplete data (bijv. beelden waar grote delen van de ledematen missen). De voorgestelde benadering compenseerde effectief voor de grote variaties in houding die aanwezig waren in de data, en gaf segmentatieresultaten die minimale gebruikersinterventie nodig hadden. De resultaten waren van voldoende kwaliteit om de data naar de referentie standaard te projecteren voor een zij-aan-zij visualisatie. De toepassing van het APR algoritme op de multi-modale cross-sectionele data bleek nuttig voor vergelijkende visualisatie ten behoeve van een intuïtieve inspectie en vergelijking van whole-body μ CT en SPECT data.

In **Hoofdstuk 4** werd een semiautomatische atlas-gebaseerde approximatie methode voorgesteld voor μ MRI muis data. Een manueel geëxtraheerde verzameling van gewichts- en botpunten en de automatisch geëxtraheerde huid werden gebruikt om correspondentie op de huid te bepalen, die vervolgens werden gebruikt voor de “Thin-Plate Spline” benadering van de locatie van de belangrijkste organen (hart, longen, lever, milt, maag, nieren). De behaalde resultaten waren vergelijkbaar met de manuele segmentatie voor het hart, de nieren en de lever, terwijl voor de andere organen de atlas benaderingen meer varieerden (organen met intrinsieke vorm variabiliteit zoals de maag en milt), en met grotere fout. De berekende Dice coëfficiënten laten gemiddelde overeenkomsten (0.41–0.60 [2])

zien voor de longen, en meestal substantiële (0.61–0.80) of excellente (> 0.7 [3]) prestaties voor hart, lever en nieren. De vergelijking van de berekende Dice coëfficiënten met eerder gepubliceerd resultaten van anderen laat zien dat hoewel beter presterend dan [4] en op een vergelijkbaar niveau als [5], de voorgestelde methode minder goede resultaten voor de longen behaalt als de methode in [6] (zie Tabel 4.1). Desalniettemin, het voorbeeld in Figuur 4.4 laat zien dat de voorgestelde TPS mapping van de belangrijkste organen tot een realistische benadering leidt en gebruikt kan worden door biologen als kwantitatief anatomisch referentiekader.

In **Hoofdstuk 5** werd een lokale Super-Resolutie Reconstructie (SRR) in MRI van het hele lichaam beschreven, en werd gevalideerd in hoeverre tumoren beter zichtbaar kunnen worden gemaakt met behulp van deze techniek. We combineerden een aantal state-of-the-art beeldverwerkingstechnieken op de gebieden van gearticuleerde atlas-gebaseerde segmentatie van whole-body data van kleine dieren en van “planar reformation”, om lokale interessegebieden te bepalen voor de daaropvolgende SRR. De benadering werd gevalideerd in twee case studies met betrekking tot CT, BLI en MRI data van bot- en niertumoren in een muismodel. Gebruikmakend van slechts twee laag-resolutie beelden, met een totale acquisitietijd vergelijkbaar met *in vivo* experimenten, konden we SRR MR beelden produceren met meer detailinformatie over kleine metastasen. Dit kan niet worden verkregen uit een directe MR acquisitie binnen een uitvoerbare acquisitietijd. We hebben laten zien dat lokale SRR MRI een excellente aanvullende imaging modaliteit is voor de beschrijving van tumor metastases, en een hoog-resolutie alternatief verschaft voor conventionele MRI.

Een bijkomend punt is de mogelijkheid om BLI samen met SRR-MRI te gebruiken als een alternatief voor de anatomische referentie gebaseerd op CT, specifiek in longitudinale studies waar de herhaalde blootstelling aan straling in een CT scan een beperkende factor kan worden of een nadelig effect kan veroorzaken [7].

Hoofdstuk 6 en 7 waren gewijd aan een verkennende studie van de ontwikkeling van het brein. In **Hoofdstuk 6** was er een intuïtieve en makkelijk te gebruiken, specifieke visualisatie tool gebouwd die zij-aan-zij exploratie mogelijk maakt van heterogene, gecoregistreerde multi-contrast follow-up cross-sectionele MRI data. Het deformatieveld uit de registratiestap, werd gebruikt om automatisch corresponderende voxels in de getoonde datasets te linken. De determinant van de Jacobiaan ($\det Jac$) werd gebruikt voor een snellere en meer accurate visuele beoordeling en vergelijking van breindeformaties tussen de follow-up scans. Dit werd gecombineerd met een efficiënt data management schema. We onderzochten de functionaliteit en bruikbaarheid van onze tool in het onderzoeksgebied van de neuro imaging, door middel van een case study evaluatie met drie ervaren domein experts, gebruikmakend van longitudinale, cross-sectionele multi-contrast MRI rat brein data. Op basis van de uitgevoerde case study evaluatie concludeerden we dat de voorgestelde tool de visuele beoordeling van high-throughput_data verbetert, en zeer nuttig is bij kwantitatieve studies.

Longitudinale studies naar brein pathologie en de beoordeling van therapeutische strategieën gaan ervanuit dat het brein volledig is volgroeid. Daarom is kennis over het exacte tijdstip van het bereiken van volwassenheid essentieel om het onderscheid te kunnen maken tussen ontwikkelingsfase en volwassenheid, en zo confounders in cerebrale ontwikkeling te excluseren. In **Hoofdstuk 7** was er een temporeel profiel van de postnatale brein ontwikkeling afgeleid, door longitudinale MRI metingen te combineren met histologisch weefselanalyses. Verschillende

hersensstructuren lieten een specifiek postnataal ontwikkelingspad zien. Waar het striatum volledig ontwikkeld leek bij drie maanden, was de cortex nog veranderlijk tot op zijn minst zes maanden. De gepresenteerde resultaten lieten overtuigend zien dat brein volume een betrouwbare indicator is voor stabilisatie van de hersenexpansie, terwijl het meten van de corticale dikte misleidend is bij ratten van twee tot drie maanden oud. Er waren duidelijke aanwijzingen voor aanhoudende ontwikkeling van het rattenbrein tot een leeftijd van drie maanden; in het bijzonder maken aanhoudende myelinatie in de cortex en het striatum het raadzaam om slechts te spreken van “volwassen dieren” vanaf een leeftijd van drie maanden. Toekomstig onderzoek naar ziektemodellen of laesies moeten deze drie maanden in beschouwing nemen als een veilige drempel, waarmee kan worden voorkomen dat aanhoudende hersenontwikkeling interfereert met de studie naar pathologische mechanismen.

Op basis van de in dit proefschrift gepresenteerde resultaten kunnen we concluderen dat al de geformuleerde doelen in zekere mate behaald zijn. Er is echter zeker ruimte voor verbetering en uitbreiding van dit werk in de toekomst. In **Hoofdstuk 2** werd een strategie geschetst om de atlasen gearticuleerd te maken, die kan omgaan met de belangrijkste posturele veranderingen (met betrekking tot lange botten of grote botstructuren); deze strategie kan echter uitgebreid worden naar het hele skelet om zo om te gaan met kleinere anatomische variaties. Men kan bijvoorbeeld een kinematisch model definiëren voor iedere ruggenwervel (waar we in dit werk de complete ruggengraat als een enkele botstructuur definiëren), en zelfs voor een aantal niet-rigide organen.

Hoofdstuk 3 beschrijft een segmentatietechniek die was ontwikkeld om om te gaan met een scenario wanneer een gecombineerde whole-body SPECT/CT botscan niet altijd geschikt of beschikbaar is. Dus, een van de beperkingen van de voorgestelde benadering is het gegeven dat het skelet voldoende tracer absorptie moet laten zien. Als dat niet het geval is, kan de registratie worden toegepast op de whole-body anatomische CT scan, gevolgd door een projectie van het CT geregistreerde model naar de SPECT data. Voorts, als de methode direct wordt toegepast op de SPECT scan en de corresponderende CT data niet beschikbaar is, dan heeft deze methode (minimale) gebruikers input nodig op het moment dat het skelet uit de data wordt geëxtraheerd. Wanneer whole-body CT data beschikbaar is, is deze gebruikersinput niet meer nodig, zoals aangetoond en uitgebreid gevalideerd in [1]. De gepresenteerde benadering kan worden toegepast op andere dieren, zolang er een adequate atlas beschikbaar is.

Hoofdstuk 4 presenteerde een eerste stap in de richting van een gearticuleerde atlas-gebaseerde skelet- en orgaanmapping voor MRI data, die op dit moment nog uitgebreide gebruikersinteractie nodig heeft om de rotatiepunten van de gewrichten te identificeren. Verdere automatisering van het atlas registratie proces kan bereikt worden door bijvoorbeeld een atlas-gebaseerde niet-rigide registratie toe te passen, gebruikmakend van mutual information as similariteitsmaat.

Hoofdstuk 5 beschreef een pilot studie naar de interactieve super-resolutie reconstructie in post mortem beelddata. Desalniettemin hebben we goede redenen om aan te nemen dat deze resultaten over te zetten zijn naar *in vivo* imaging. SRR is naar verwachting het meest succesvol voor relatief rigide structuren, zoals brein,

botweefsel en weefsel rondom botten: gevallen waar rigide registratie een accurate registratie geeft van de laag-resolute beelden.

De interactieve benadering om lokale VOIs te reconstrueren, heft de tijd- en geheugenbeperkingen op van SRR technieken in grote VOIs. Zoals te zien in Tabel 5.1 is de gemiddelde rekentijd voor het beste SRR resultaat, dus met 4 laag-resolutie beelden, toch nog in de orde van minuten—91.3 s. Deze resultaten zijn nog ver van de real-time doelstelling van deze aanpak. Een her-implementatie van het algoritme in een combinatie van C/C++ en GPU programmeeromgevingen zouden deze resultaten kunnen verbeteren.

De gepresenteerde workflow kan naast de gepresenteerde oncologische toepassing, ook van waarde zijn in veel andere onderzoeksgebieden waar whole-body verificatie van lokale ((sub-) plakdikte groot) effecten nodig zijn. Voorbeelden zijn de migratie van gelabelde stamcellen na een systemische injectie, of het afbeelden van systemische ontstekingsziekten.

Het platform voor intuïtieve, geïntegreerde visualisatie en exploratie van high-throughput, geregistreerde multi-modale, cross-sectionele follow-up data zoals gepresenteerd in **Hoofdstuk 6** zou gebaat zijn bij van de combinatie met een beeldregistratiepakket zoals bijvoorbeeld `elastix`, en ook van functies die het mogelijk maken om ROIs in te tekenen en te kwantificeren. De voorgestelde tool zal publiek beschikbaar worden gemaakt voor download via www.lkeb.nl

Referenties

- [1]. Baiker M., Milles J., Dijkstra J. *et al.* *Atlas-based whole-body segmentation of mice from low-contrast micro-CT data* *Med Image Anal* 14(6): 723–737 2010
- [2]. Landis J. R. and Koch G. G. *The measurement of observer agreement for categorical data* *Biometrics* 33(1): 159–174 1977
- [3]. Bartko J. J. *Measurement and reliability: statistical thinking considerations* *Schizophrenia Bulletin* 17(3): 483–489 1991
- [4]. Chaudhari A. J., Joshi A. A., Darvas F. *et al.* *A method for atlas-based volumetric registration with surface constraints for optical bioluminescence tomography in small animal imaging* *Proc SPIE Medical Imaging* 6510 Part 2: 651024 2007
- [5]. Joshi A. A., Chaudhari A. J., Shattuck D. W. *et al.* *Posture Matching and Elastic Registration of a Mouse Atlas to Surface Topography Range Data* *Proc IEEE Intl Symp on Biomedical Imaging* 366–369 2009
- [6]. Baiker M., Dijkstra J., Que I. *et al.* *Organ approximation in μ CT data with low soft tissue contrast using an articulated whole-body atlas* *Proc IEEE Intl Symp on Biomedical Imaging* 1267–1270 2008
- [7]. Hindorf C., Rodrigues J., Boutaleb S. *et al.* *Total absorbed dose to a mouse during microPET/CT imaging* *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 37: S274 2010

ACKNOWLEDGEMENTSMARTINBAKER
PETERKOKOLEHDZYUBACHYKMARINUS
STARINGPIETERKITSLAARESSENLENG
ELUAMMENGLERMATHASHOEHNTHO
MASSNOEKSHARALD GROENMARIONDE
JONGDIRKPOOTERNSTSUIDGEESTLE
MENSLOWIKCHARLBOTHABIGLOUISE
VANDERWEERDDIEWERTJEERIKMELE
RINGWIRONIESENERIKKALZELJOSET
TECHENDEKONINGMARINUSVANDEGIE
SSENVIKASGUPTANORABAKACEMART
ALECOAHMEDMICHELFRÉNYBEREND
ALEXANDERBRROERSENBERTEPAULINE
ERNAJULIENJORIKALZESCHEENSTRAS
ANCHESMARCELOCORNELISDEKKERJO
SIASPERJEROENMICHELE

