

DIPLOMAMUNKA

Automatikus szegmentáció és diagnosztikai eljárások
kidolgozása preklinikai káplkotó rendszerekben

Vermes Anna

Témavezető: Dr. Szigeti Krisztián
Laborvezető
Semmelweis Egyetem, EOK,
Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

BME

2012

Fizikus MSc :: Diplomatóma :: Kiírás

Konzulens:

Neve: Czifrus Szabolcs

Tanszéke: Nukleáris Technikai Tanszék

E-mail címe: czifrus@reak.bme.hu

Telefonszáma: 2552

Azonosító: DM-2011-99	
Diplomatóma címe:	Automatikus szegmentáció és diagnosztikai eljárások kidolgozása preklinikai képalkotó rendszerekben
Melyik szakiránynak ajánlott?	"Orvosi fizika"
A jelentkezővel szemben támasztott elvárások:	interdiszciplináris megközelítés, programozási ismeretek, orvosi képalkotási ismeretek, olvasási szintű angol nyelvtudás
Témavezető neve:	Dr. Szigeti Krisztián
Témavezető Intézménye:	Semmelweis Egyetem, EOK, Nanobiotechnológiai és InVivo Képalkotó Központ
Témavezető Intézményének a címe:	
Témavezető e-mail címe:	
Témavezető telefonszáma:	
Leírása:	Az elmúlt években az invivo képalkotás jelentős teret nyert a preklinikai gyógyszerkísérletekben és az egyetemi élettani kutatásokban. A NanoSPECT/CT-nek köszönhetően a kutatók kisállatokban a molekuláris folyamatokat nanoliteres felbontással tudják vizsgálni - pontos anatómiai lokalizációval. A kisállatokon végzett kísérletek során kapott nagy mennyiségű képi információ feldolgozásában nagyon fontos a hatékony és gyors automatikus orvosdiagnosztikai célú adatkiértékelés. A feladat a multimodális képalkotó rendszerek segítségével kapott 3D rekonstrukciók feldolgozása és diagnosztikai értékű algoritmusok fejlesztése. Cél a multimodális rendszerek előnyeit kihasználó, a manuális képfeldolgozás helyettesítésére szolgáló automatikus vagy szemiautomatikus szegmentációs eljárások kidolgozása és validálása. A feladat másik része automatikus kvantifikációs eljárások kidolgozása nagy áteresztőképességű diagnosztikai mérések céljára.

Tartalom

Bevezetés.....	4
NanoSPECT/CT.....	5
Morfometria.....	6
Célkitűzés.....	7
A biológiai probléma: csontregeneráció.....	7
A csontregenerációs modellállat előkészítése.....	9
Képalkotás.....	10
A csontregenerációs kísérlet eredménye.....	11
Szegmentáció.....	12
Morfometriai paraméterek.....	17
Masírozó kockák algoritmus	18
Háromdimenziós morfolometriai paraméterek.....	19
Teljes térfogat, objektum térfogat, százalékos objektum térfogat.....	20
Teljes felület, objektum felület, fajlagos felület, felületsűrűség.....	21
Fragmentációs index, szerkezeti modell index, fraktáldimenzió.....	22
Zárt pórustérfogat, nyílt pórustérfogat, teljes pórustérfogat.....	24
Zárt pórusfelszín, nyílt pórusfelszín, teljes pórusfelszín.....	25
Zárt porozitás, nyílt porozitás, teljes porozitás.....	25
Objektumszám, zárt póruszám, nyílt póruszám, összes póruszám.....	26
Középpont koordinátái.....	27
Szerkezeti vastagság, szerkezeti szeparáció, lineáris szerkezeti sűrűség.....	28
Kétdimenziós morfolometriai paraméterek.....	31
Teljes térfogat, objektum térfogat, százalékos objektum térfogat.....	31
Teljes felület, objektum felület, fajlagos felület.....	32
Átlagos ROI kerület, átlagos objektum kerület, átlagos ROI terület, átlagos objektum terület.....	33
Átlagos objektumszám, átlagos objektumterület, átlagos ekvivalens körátmérő. .	34
Szerkezeti vastagság.....	34
Szerkezeti szeparáció, lineáris szerkezeti sűrűség.....	35
Középpont koordinátái.....	36
Fragmentációs index, átlagos excentricitás, keresztmetszeti vastagság, porozitás.	37
Kvantitatív máj SPECT morfolometria.....	39
Szegmentáció.....	39
Összefoglalás.....	42
Irodalomjegyzék.....	43
Mellékletek jegyzéke.....	44

Bevezetés

Az elmúlt években a kisállatokon végzett in vivo képalkotás jelentős teret nyert az élettani kutatásokban. A humán betegségek jelentős része megtalálható rágcsálókban, melyek a laboratóriumokban kontrollált körülmények között vizsgálhatók. A hagyományos kisállat-vizsgáló módszerek az állatok elpusztítását és szövettani preparációját igénylik, ami főleg az élettani, funkcionális oldalról vizsgálható jelenségek körét leszűkíti, az időbeli változásokról kapható információt pedig egy-egy állatcsoporton belüli statisztikai átlagokra korlátozza. Napjainkban az új tomográfiai képalkotó berendezéseknek köszönhetően lehetőség nyílik nagyszámú in vivo állatkísérlet lefolytatására, és elérhetővé váltak a hosszú távú, dinamikus vizsgálatok, mivel ugyanazon egyedről számos alkalommal készíthetők tomográfias rekonstrukciók, így a terápiás választ hosszabb távon, teljes folyamatában nyomon tudjuk követni. A kapott nagymennyiségű képi adat gyors és automatikus kiértékelése feltétele annak, hogy a fejlett képalkotó berendezés által szolgáltatott jelentős többletinformációt megfelelő hatékonysággal tudjuk kihasználni. Számos szoftvercsomag áll a kutatók rendelkezésére a különböző modalitásokkal készült felvételek szegmentációjára és diagnosztikai célú kiértékelésére, azonban maradtak egyelőre feltérképezetlen lehetőségek. Ilyen az anatómiai modalitásoknál sikerrel alkalmazható morfometriai analízis kiterjesztése funkcionális képalkotással kapott rekonstrukciókra. Munkám során egy a legmodernebb multimodális NanoSPECT/CT berendezés segítségével kapott háromdimenziós rekonstrukciók morfometriai kiértékelését végző programcsomagot fejlesztettem, azt egy ismert biológiai kísérletet leíró CT adatsorra validáltam, majd vizsgáltam az eljárás SPECT-felvételek kiértékelésében való alkalmazhatóságát.

NanoSPECT/CT

A NanoSPECT/CT kisállatok vizsgálatára alkalmas duál-modalitású in vivo képalkotó rendszer, mely a funkcionális (SPECT) és anatómiai (CT) képalkotó eljárásokat egyesíti. A funkcionális és a morfológiai képalkotás időben rögtön egymást követi, ami lényegesen leegyszerűsíti a vizsgálatok végzését, a rekonstruált képek fúzióját, értékelését, és megnöveli a diagnózis pontosságát. A világon az első olyan funkcionális tomográfiai berendezés, amivel a radiofarmakonok eloszlása tizedmilliméteres tartományban vizsgálható. A NanoSPECT/CT négy nagyfelbontású, gamma-detektort tartalmaz, melyek tíz apertúrás multi-pinhole kollimátorokkal vannak felszerelve. A multi-pinhole képalkotás egyesíti a single-pinhole rendszerek felbontását és a párhuzamos kollimátorral szerelt rendszerek érzékenységét. A berendezés egyedülálló módon lehetőséget nyújt helikális SPECT gyűjtésre a CT-berendezéseknél már ismert módon, a detektorok forgásával egyidőben egy nagy pontosságú, finom léptetésű motorral léptetve a vizsgálati ágyat. A helikális adatgyűjtés kiküszöböli az axiális irányú műtermékeket, és megnöveli a forgási tengely irányú látómezőt 27 cm-re, így lehetővé teszi akár a patkány egésztest vizsgálatokat is. [1] A humán klinikumban használt SPECT-berendezésektől eltérően a helikális mozgású adatgyűjtésnek és többszörös túlyukú technológiának köszönhetően a SPECT-felvételek kvantitatívan kiértékelhetőek. Pár százalékos pontossággal, abszolút értékben meg lehet határozni, hogy a vizsgált egyed célszervében mennyi az aktivitás, a teljes beadott mennyiség hány százaléka halmozódott fel. A funkcionális képalkotás során kapott információ általában korlátozott anatómiai-morfológiai információkat nyújt. A nagy felbontású (akár 100 μm rekonstruált felbontású) röntgen CT ugyanazon a gantry-n helyezkedik el, mint a SPECT, ami lehetővé teszi az automatikus képfúziót. A funkcionális és anatómiai információ együttes megjelenítése a humán diagnosztikában már megismert előnyöket nyújtja. Az integrált kialakításnak köszönhetően a berendezés könnyen használható és kis helyfoglalású.

Morfometria

A biológiai morfológia (alaktan) az élő szervezetek, szervek és az ezekből származó szövettani minták külső megjelenését írja le. Foglalkozik a minta geometriai tulajdonságaival, ideértve a méretet, az alakot, a tagozódást és a belső szerkezetet, de a szín, tapintás, felületi mintázat is a morfológiai leírás része lehet. Azzal összhangban, hogy a morfológiai kutatások egyre inkább funkcionális célokat szolgálnak, állandóan növekszik a morfológiai kép kvantitatív kiértékelésének igénye is. A morfológiai jellemzők kvantitatív leírásával a morfometria foglalkozik, melyet különbözőképpen definiált geometriai paraméterek mérésével illetve számításával valósít meg. A hagyományos morfometriai vizsgálat a biológiai anyag előkészítését igényli (anyagpreparálás, fixálás, kimosás, víztelenítés, beágyazás, metszetkészítés, metszet festése), melyet hisztológiai vizsgálat követ. A háromdimenziós jellemzők meghatározása sztereológiai módszerekkel történik, ami azt jelenti, hogy a Delesse-elv alapján a térbeli viszonyokat a kétdimenziós metszeteken megjelenő struktúrák mennyiségi viszonyaiból számítják. [2] Mindez a gyakorlatban azt jelenti, hogy a morfometriai jellemzők megállapításakor relatíve nagy pontatlansággal terhelt, a mérést végző személy módszerétől is függő eredményekhez jutunk, ráadásul igen körülményes módon.

Az *in vivo* képkalkotáson alapuló morfometriai analízis háromdimenziós rekonstrukciókat értékel ki algoritmikus úton. A háromdimenziós paraméterek roncsolásmentesen, jó térbeli felbontás mellett közvetlenül mérhetőek. Az élettani kutatásokban óriási jelentőségű eredmény, hogy a folyamatok időbeli lefolyását az élő kísérleti állatban tudjuk nyomonkövetni, melynek egy gyakorlati következménye, hogy a módszer az *in vitro* vizsgálatokban felhasználnál sokkal kevesebb állatmodellt igényel, ugyanis nincs szükség az egyes időpontokban leölt állatmintán belüli szórás kompenzálására. A háromdimenziós kvantitatív morfometria kézenfekvő alkalmazási területe az anatómiai képkalkotással kapott rekonstrukciók kiértékelése, ugyanakkor nem

zárható ki a funkcionális képalkotásban való alkalmazhatóság sem, mely azonban még részletes vizsgálatra szorul.

Célkitűzés

A diplomamunkám során elsődleges célom volt egy morfometriai kiértékelést végző programcsomag fejlesztése, távlati célként pedig annak funkcionális képalkotással nyert rekonstrukciók kiértékelésében való alkalmazhatóságának vizsgálata. A megvalósított kiértékelő függvények validálásához szükségem volt egy ismert, más módon kvantifikálható biológiai folyamatot leíró adatsorra. A kvantifikált jellemzők összevetéséről azonban éppen a hagyományos kiértékelési módszerek ismertett korlátozottságai és eltérő megközelítése miatt a jelen munkában le kellett mondanom. A validálásnál tehát kvalitatív összehasonlításra szorítkoztam: megegyezik-e a folyamatok módszerünk által jelzett iránya és nagyságrendje a biológiai problémáról szóló előismereteink és a korábbi leírások alapján várttal? Konzisztensek-e a kiértékelő módszer által szolgáltatott egyes jellemzők egymással? Melyek azok a jellemzők, amelyek a legmegbízhatóbban írják le a folyamatot, és melyek azok, amelyeket nem alkalmazhatunk az adott folyamat leírására?

A biológiai probléma: csontregeneráció

Az egyre általánosabbá váló civilizációs és környezeti ártalmak hatására ma már népbetegségnek számítanak a különböző súlyosságú szájnyálkahártya sérülések, szájüregi gyulladások, szuvas leziók és fogágybetegségek. Ezek az idő előrehaladtával nagymértékű lágyszöveti és csontszöveti veszteséget idéznek elő, és végül a fogak eltávolítását indikálják, de ezen túl súlyos, az egész szervezetet fenyegető állapotokat is kiválthatnak. Mindez gyors fejlődésnek indította a különböző dentális implantációs technikákat,

melyek sikerességének közös alappillére az implantátum összeintegrációja, más szóval a csont regenerálódása oly módon, hogy közte és az implantátum felülete között direkt strukturális és funkcionális kapcsolat jöjjön létre. A fogazati rehabilitáció sikerének további feltétele a csontregeneráció gyorsasága, ugyanis szájüregi sérüléseknél a csontregenerációval párhuzamosan egy vele versengő - és ezt meghiúsító - másik életfontosságú folyamat is lejátszódik: a sérülés hatására a nyálmirigyekben megnő az epithelsejt növekedési faktor (EGF) szekréciója, mely a fedő epithelsejtréteg stimulációjával gyors sejtburjánzását idéz elő, ilyen módon elzárva a sérülést a külvilágtól. A csontra felkúszó epithelsejt réteg elválasztja a csont és az implantátum felszínét, mely csökkent rögzülést vagy az implantátum kilökődését eredményezi. Az implantátum stabilitása tehát attól függ, képes-e az implantátum felé haladó csontregeneráció megelőzni az implantátum körüli nyálkahártya epithelsejt burjánzást. A bonyolult és sokáig tartó (6-10 hónap) konzolidációs folyamat gyorsításának érdekében a figyelem olyan bioaktív anyagokra és szöveti regulátorokra irányult, melyek in vitro sejtleletani kutatások eredményei alapján alkalmasak lehetnek in vivo körülmények között adaptálva a csontregeneráció hatékony meggyorsítására. Felmerült tehát az igény egy olcsó, könnyen kivitelezhető experimentális csontregeneráció vizsgáló módszer kifejlesztésére, mellyel egységes rendszerben vizsgálhatók a csontképződés, a csontképződésre in situ és/vagy szisztémásan ható faktorok, gyógyszerek hatásai, valamint az implantátum anyagösszetétel, felszíni struktúra variánsai.

A munkám során kiértékelt adatok dr. Blazsek József csontregeneráció- és implantátum beépülési kísérletéből származnak, aki a fenti igényeket megfogalmazva saját csontregenerációs modellt állított fel. A kísérleti célra leggyakrabban alkalmazott állatoknál (egér, patkány) az eredeti célterület, az állkapocs csontok nehezen hozzáférhetőek, és csekély térfogatuk miatt implantációs alapkísérletekre praktikusán nem használhatóak. A csontkutatásban, így a dentál-implantológiai kísérletekben is a leggyakrabban alkalmazott modell az egér femur, tibia illetve calvaria, melyek azonban -

a fogágyat alkotó csontokkal ellentétben - jelentős mennyiségben tartalmaznak hematopoetikus szövetet. [4] Figyelembe véve, hogy a vérképzés és a csontszöveti regeneráció élettanilag szorosan összefonódó funkciók, szükségessé vált egy, az állkapocscsont hematopoetikus aktivitását jobban megközelítő, de anatómiai méretek tekintetében kedvezőbb modell megkeresése. Dr. Blazsek József a fenti megfontolások, valamint a csontos fogágy morfológiai szerkezete alapján a patkányfarok csigolyát találta a legalkalmasabb modellnek a szájüregi csontregeneráció vizsgálatára. [3] Kutatásában a csontregeneráció morfológiája és az összeintegráció kvantitatív biomechanikai mérőszámai (pl. húzószilárdság) közötti összefüggést vizsgálta, valamint arra a kérdésre kereste a választ, hogy szisztémás gyógyszeres kezeléssel hogyan befolyásolhatók a fenti jellemzők.

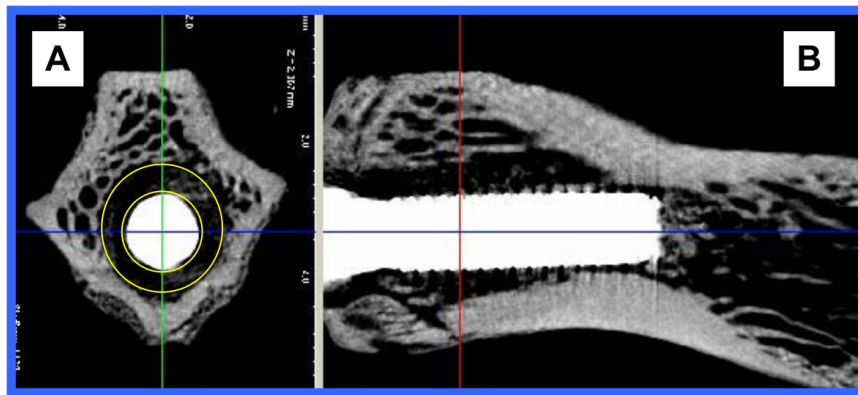
A csontregenerációs modellállat előkészítése

A kísérletet Charles River vonalú 250-370 g testsúlyú Crl(Wi)Br Wistar nőstény patkányokon végezték, melyeket a Semmelweis Egyetem NET központi, légkondicionált állatházában tartottak, fordított fényciklusban ad libitum folyadék- és tápfelvételen (LATI standard patkánytáp). A kísérleti anesztéziát intraperitoneális injekcióban nátrium pentobarbitallal (Nembutal 40mg/tskg) végezték. A patkányfarok bőrét felületi vizes lemosással és sebészi fertőtlenítő oldatos áztatással megtisztították, majd a faroktőnél kettős ligatúrával felfüggesztették a keringést a műtét idejére. Steril eszközökkel és környezetben a 4/5 farki csigolya ízesülésétől disztálisan 5-6 mm-re körbemetsztették a bőrt, majd az ízületnél elválasztották csigolyákat. A szabaddá váló csigolya disztális, porcszövettel borított ízfelszínét centrálisan tengelyirányban egy 2 mm átmérőjű fúróval 5 mm mélységig kifúrták kialakítva egy „művi csontosodási kazettát”. Ebbe az üregbe helyezték az osseointegráció fizikális mérésére szolgáló speciális mini-implantátumot, mely egy 1 mm átmérőjű csavarmentes, homokfúvással kezelt felületű titán-stift. Szintén a művi csontkazettába helyezhetők a csontosodási

folyamat regulálására kiválasztott lokális biológiai faktorok illetve kristályképző/bioadhezív kémiai anyagok. Az implantátum behelyezése után a farok bőrének atraumatikus suturájával zárták a sebet. A varrat után a bőrfelületet újból fertőtlenítették, és egy vékony fedőhártyával bevonva izolálták.

Képkalkotás

A csontállományban kialakított kazetta csontosodási stádiumát, a regenerálódás mineralizálódási folyamatát az implantátum-stiftek beültetését követő 3. és 8. héten készült, 50 μm -es felbontású kúpsugaras microCT felvételeken követték nyomon. A fém implantátumokat tartalmazó patkányfarok mintákat teljes fordulattal 0,7 fokoskénti lépés-intervallumokkal szkennelték. A sugárkeményedés korrekciójára egy 0,5 mm vastagságú alumínium filtert alkalmaztak. A fémfelszín/csont határán keletkezett zajt fizikai és szoftveres módszerrel eliminálták.



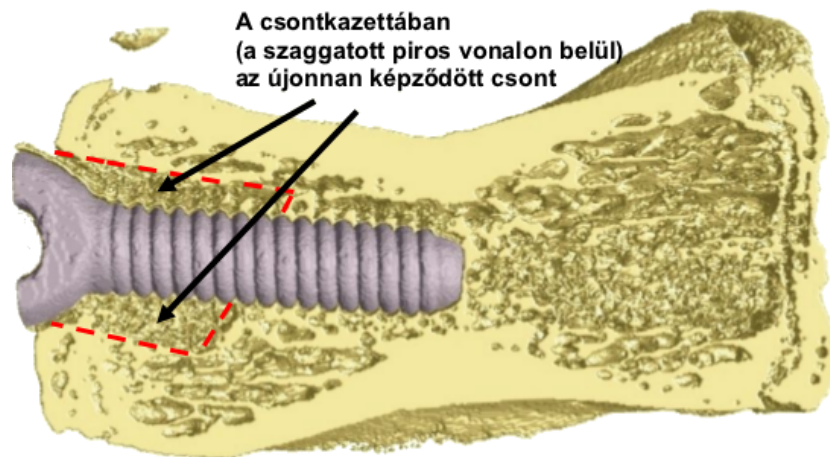
1. ábra: Patkány farokcsigolya az implantátum behelyezése után 3 héttel: **A)** horizontális metszet, **B)** medián szagittális metszet

Az alsó preparált csigolya feletti csigolya (C4) referenciaként szolgált, melyet a munkám további részében "kontroll"-nak nevezek. Ez a megnevezés tehát nem a kezeletlen és szisztémásan kezelt preparált csigolyák megkülönböztetésére szolgál, hanem az egészséges, beavatkozástól mentes csigolyát jelöli. Az előbbi két csoportot

nem különböztetem meg, mert amint a továbbiakban kiderül, a bennük lezajló folyamatok iránya megegyezik, a kvalitatív vizsgálat szempontjából közös értékelésük helyes eredményre vezethet.

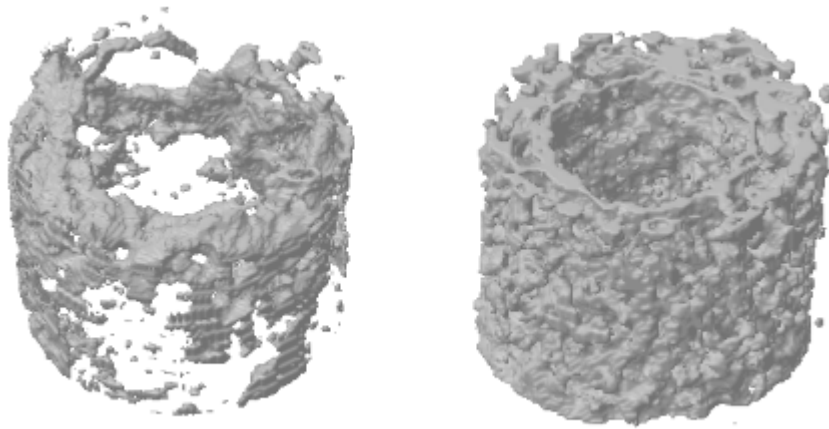
A csontregenerációs kísérlet eredménye

A hisztológiai vizsgálat és a CT felvételek azt mutatták, hogy a csontosodási kazettában változó intenzitással megindult a csontképzés, a trabekulák száma és denzitása nőtt. Az implantátum körüli szivacsos, finomszerkezetű, regenerálódott új csontállomány az implantátum felületénél szorosan érintkező csontlemezt képez, ami az osseointegráció létrejöttét bizonyítja.



2. ábra: Osseointegrált csigolyatest, az implantátum kimozdítása előtt, egy medián szagittális művi metszési síkban

A kezelt állatokban markánsan több és robosztusabb csonttömeg fejlődött, mint a preparált kezeletlen csoportokban, de az osseointegráció minden esetben megindult, a stiftek kihullására nem volt példa.

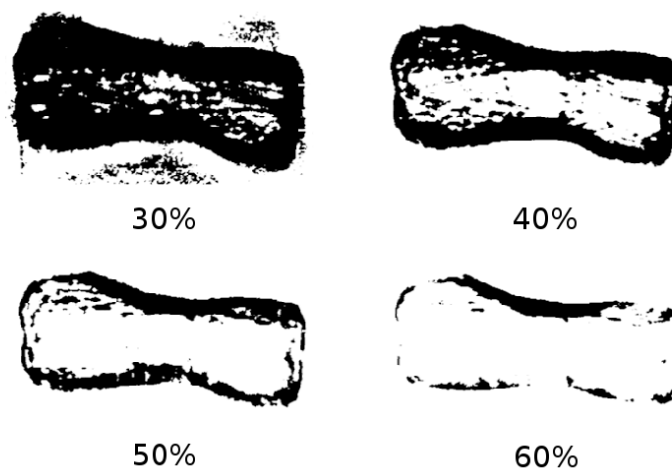


3. ábra: Patkány farokcsigolyák csontosodási kazettájában létrejött új csontszövet microCT rekonstruált képe kontroll placebo kezelt és amino-biszfoszfónát (Zometa) kezelt állatokban

Szegmentáció

A diagnosztikai célú digitális képfeldolgozás egyik legfontosabb lépése a szegmentáció, mely a kép pixeleinek különböző osztályokba sorolását, csoportosítását jelenti. A cél tipikusan egy-egy valós objektumnak a képen való elkülönítése, vagyis egy valós objektum - képi osztály megfeleltetés létrehozása. Az elkülönítendő képi objektumok jellegétől és a feladat megfogalmazásától függően ez egy igen összetett feladat lehet, azonban néhány esetben már egészen egyszerű eljárásokkal sikeres megfeleltetést érhetünk el. Néhány egyszerűsítő feltételt téve ilyen esetnek tekinthető a csontnak a lágyszöveti háttértől való elkülönítése. A Bioscan NanoSPECT/CT szkennerekben elérhető 50 keV energiájú röntgen fotonokra egy 2 g/cm^3 sűrűségű kortikális csontállomány lineáris gyengítési együtthatója 0.4242 1/cm , míg a vízé 0.2269 1/cm . Hounsfield-skálára átszámolva ez 2739 HU gyengítést jelent (a víz 0 HU gyengítéséhez képest). Ha a lágyszövetek elnyelését a vízzel tekintjük közelítőleg azonosnak, akkor ez azt jelenti, hogy két igen eltérő intenzitási tartományba leképező fázist kell elkülönítenünk a képen, más szóval jó negatív kontrasztot kapunk. Természetesen a szivacsos csontvelő lineáris

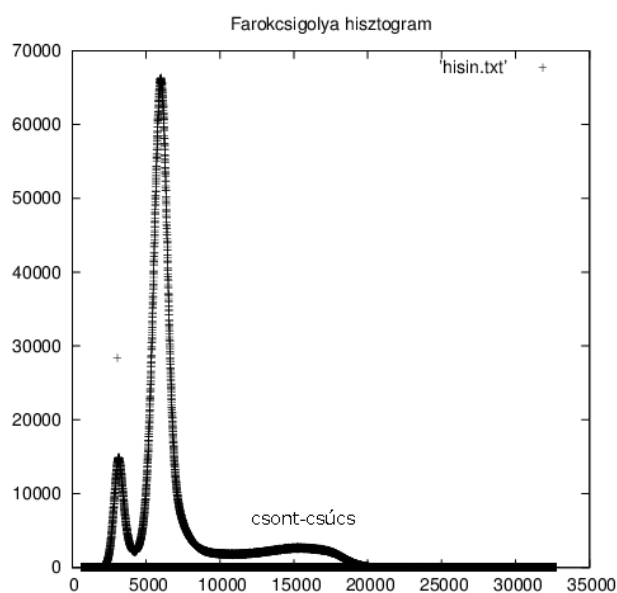
gyengítése kisebb (~1000 HU) mint a jóval kompaktabb kérgi állományé, ugyanúgy ahogy a kötőszövetek elnyelése is a valóságban nagyobb (~50 HU), mint a vízé. Ezen elnyelési adatok azonban még mindig elegendően távoli tartományokba esnek ahhoz, hogy kijelenthessük: a leképezett tartomány, amennyiben a csontszövetet szeretnénk elkülöníteni, két fázisra esik szét, amelyekhez rendelt intenzitások eléggé különböznek ahhoz, hogy az elkülönítés egyedüli alapját képezzék. A szegmentáció e megfontolás alapján választott módszere a szürkeszín thresholding, mely nem más, mint egy kontans fényességértéknél sötétebb és fényesebb voxelek különválasztása. [5] A gyakorlatban nem abszolút, hanem a kép legfényesebb pixeléhez viszonyított százalékos threshold szintet (a továbbiakban: cutoff) adunk meg. Ennek oka az, hogy a rekonstruált képeken végrehajtott korrekciós algoritmusok a szürkeszín diagramot (5. ábra) felvételenként különböző mértékben eltolják, átskálázzák. A 4. ábra bal felső része például egy "30%-os levágást" szemléltet: ez annyit jelent, hogy a képen található legfényesebb voxelnél 30%-kal fényesebb képpontokat az elkülönítendő objektumhoz (csonthoz) tartozónak tekintjük, az ennél sötétebbeket pedig egyéb szövetnek illetve háttérnek.



4. ábra: Különböző százaléértéknél történő levágásokkal szegmentált szagittális metszeti képek

Arra a kérdésre, hogy hol is húzzuk meg a levágási küszöböt, a képről készült hisztogram alapján adhatunk legegyszerűbben választ. Ezen a grafikonon, mely az egyes szürkeárnyalatokhoz az adott árnyalatot hordozó voxelek számát rendeli, a csontra

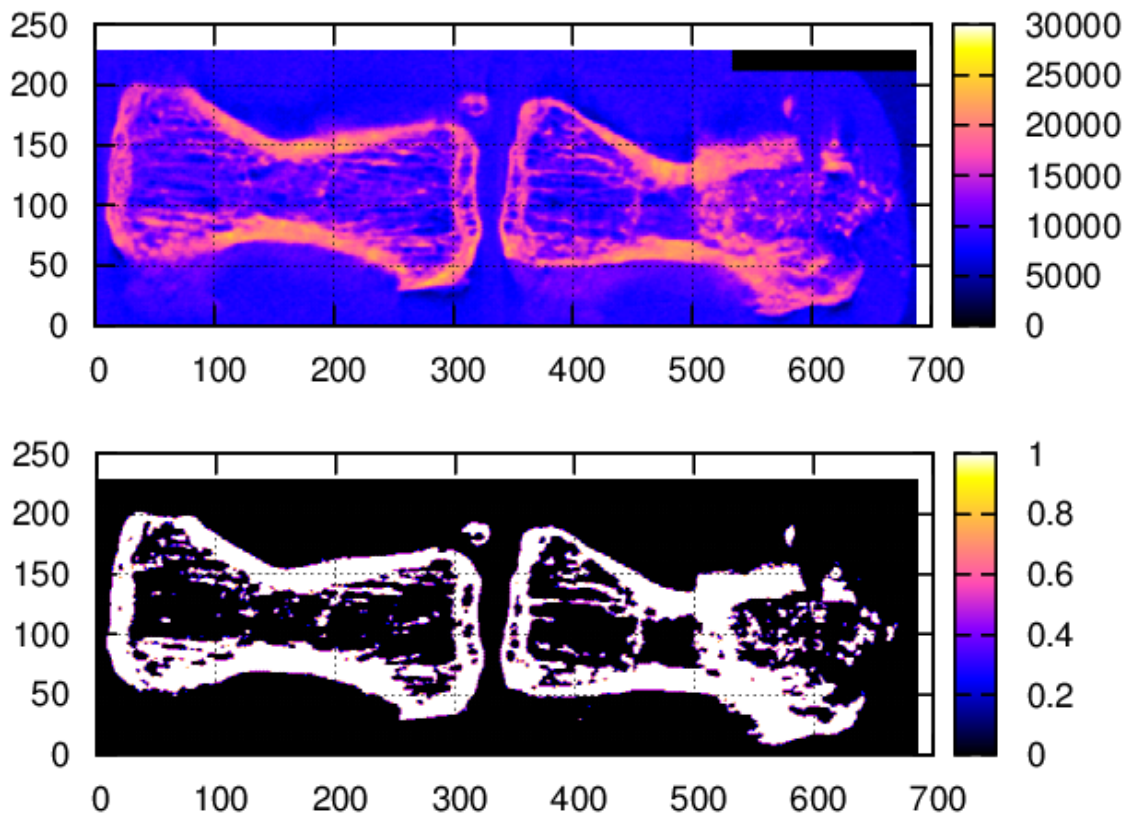
jellemző fényesség-tartomány felett egy jellegzetes csúcsot látunk. Ez a csúcs szabad szemmel nem mindegyik grafikonon felismerhető, és általában véve megállapíthatjuk, hogy a hisztogram nem látszik alátámasztani a fázisok éles elkülönüléséről tett fejtegetésünket. Szerencsére azonban algoritmikusan egy vizsgált esetben sem okozott nehézséget a csúcs alsó határának megállapítása, és az ez alatti fényességű voxelek kioltása után a várt burkolófelületű objekumokat kaptuk. Ahogy arra már utaltam, a csúcs helyzete az eltérő szöveti elnyelés - voxelérték kalibráció miatt képről-képre különbözött, azonban a csúcs alakja jó hasonlóságot mutatott az egyes felvételekről készített hisztogramokon. Emiatt elmondhatjuk, hogy ha a hisztogramon történő csúcskiválasztáson alapuló szegmentáció nem is lenne optimális megoldás, ezzel csak egy valamennyi képre jó közelítéssel állandó, rendszeres hibával terheljük az eljárást.



5. ábra: Farokcsigolya hisztogram

Amint az a fentiekből már kiderült, nincsenek teljesen határozott fogalmaink arról, hogy mi számít optimális szegmentációnak. Tökéletes biológiai klasszifikációra több okból sem törekedhetünk: ezek egyike a felbontási határ alatti szerkezeteket, csontos és nem-csontos állományt egyaránt tartalmazó voxelek jelenléte. A másik ok magának a csontos állománynak a definiálatlansága, amennyiben a csontosodási telepeknél létrejövő legfinomabb mikroszkópos architektúraszerkezetre gondolunk: ezeken a területeken a

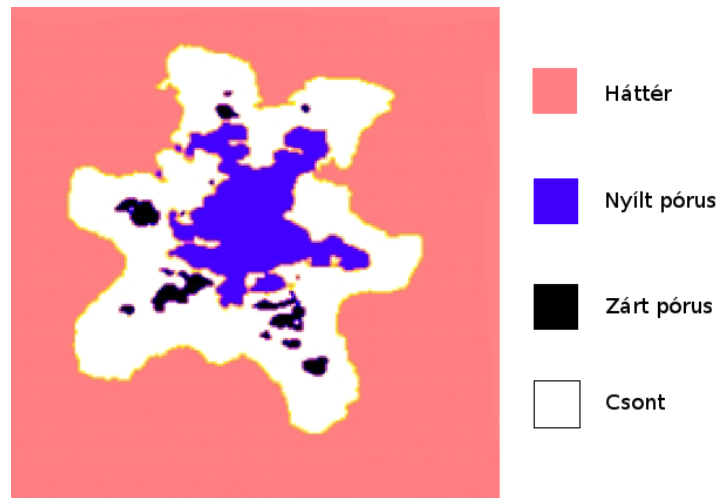
kötőszöveti rostok sejtközötti állományában már megindult a mészsók lerakása és a csontgerendák hálózatának kialakulása, összefüggő csontállomány azonban még nincs.



6. ábra: C4 és C5 csigolyák eredeti és hisztogram alapján szegmentált képe szagittális metszeten

A morfolometriai parametrizáció során egy-egy kivételtől eltekintve nem kerülnek számításba a szegmentált objektum konkrét voxelfényességei, ugyanakkor, amint majd látni fogjuk, bizonyos esetekben lényeges könnyebbséget jelent a bináris tárgyalásmód (ez esetünkben nem jelentett aritmetikailag bináris ábrázolást). Ezért a szegmentáció során a képet "binarizáltuk": a csontnak minősített voxeleknek 1, a háttérnek pedig 0 értéket adtunk. Szintén a későbbi számításokat megkönnyítendő a "csont" és "háttér" osztályok mellé bevezettünk két további osztályt, amelyek a függvények nagy részében "háttér" minőségben kerülnek számításba: ezek a zárt (-2) és nyílt pórus (-1) osztályok. Zárt pórusnak tekintünk minden olyan csonttal körülhatárolt nem-csontos térrészt mely

nem áll direkt összeköttetésben (nem átjárható) a kép tulajdonképpeni háttérével, a nyílt pórusok pedig a csontos objektum 1 voxel nagyságrendi átmérőjű nem-csontos betüremkedései. Mindkét típusú térrészt szükséges külön osztályozni, ha a volume of interestet mint az objektum külső burkolója által határolt teljes - csontos és nem-csontos - területet definiáljuk. Az alábbi ábrán egy csigolya transzverzális metszén bejelölt osztályokat láthatjuk.

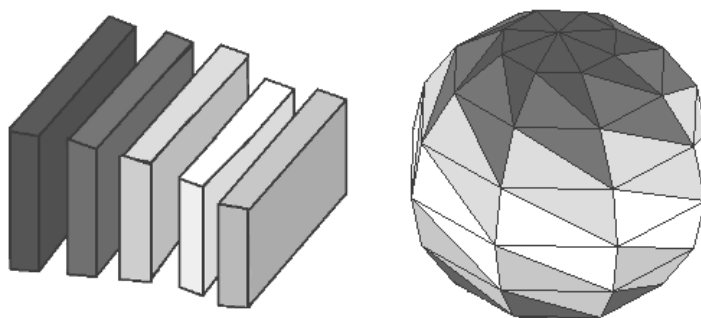


7. ábra: Szegmentációs osztályok transzverzális metszeten

A zárt pórusok azonosítása a definíció alapján könnyen megtehető: minden olyan voxel idetartozik, amely nem "folyasztható össze" a külső térrel. A nyílt pórusok keresésekor a csontot egy voxelrel dilatáltuk és újra elvégeztük a zárt pórus keresést. Azok a pórusok, melyek a dilatált csontban zárt pórusként, az eredetiben pedig külső térként jelentkeztek, nyílt pórus jelölést kaptak. A dilatáció miatt a nyílt pórus belső, ~1 voxel vastag szegélyén ez az azonosítási mód hibás eredményt ad, amelyet ezúttal a nyílt pórus területének a külső tér ellenében való dilatációjával kompenzátunk.

Morfometriai paraméterek

A morfometriai paraméterek számításakor két eltérő geometriai megközelítést alkalmaztam. A paraméterek egy részét a kép egy irányban vett valamennyi keresztmetszeti szintjére egyenként számítottam, és az így kapott eredményeket a teljes képre átlagoltam (kétdimenziós vagy szeletenkénti, "slice-by-slice" analízis). Az alkalmazott irány a NanoSPECT/CT készülék axiális iránya, mely az eddig vizsgált anatómiai elrendezések esetén kedvező vagy közömbös volt. A második megközelítés egy háromdimenziós térfogati modellt alkalmaz, mely a tárgy alakját háromszögletű oldallappal határolt poliéderrel közelíti (háromdimenziós analízis). Ez utóbbi modell bevezetése legfőképpen azon paraméterek esetében indokolt, melyeknél a digitalizáció jelentős hibát okoz (ilyen paraméter pl. a felület, ahol a voxelizáció okozta felületi egyenetlenségek összeadódnak).



8. ábra: A két geometriai megközelítés szemléltetése

A háromdimenziós analízis során a program lehetőséget ad az egyes diszkrét (más szegmentációs osztállyal teljesen körülhatárolt) objektumok paramétereinek külön számolására (ezt a lehetőséget a jelen tanulmányban nem tudtam hasznosítani, de több szegmentációs osztályt tartalmazó kép, pl. több különálló anatómiai képlet vizsgálata esetén szükségessé válhat). A szeletenkénti analízis során pedig lehetőség van az egyes keresztmetszeteken számolt paraméterek külön kiexportálására.

Valamennyi számolás az előzetesen kiválasztott (szegmentált) képterületeken történik, ezért a jelentéssel bíró, értelmes eredmények érdekében kulcsfontosságú a pontos és a mintán belül konzisztens szegmentáció.

Masírozó kockák algoritmus

A háromdimenziós térfogati modell a masírozó kockák (marching cubes) algoritmuson alapul. [6] A probléma, amelyre ezt az algoritmust kifejlesztették egy diszkrét mintákból álló háromdimenziós függvény szintfelületének kirajzolása. Legyen adott az $f(x_k, y_k, z_k)$ függvény, ami a 3D tér diszkrét pontjaihoz egy-egy értéket rendel. Szeretnénk kirajzolni azt az implicit felületet, ahol a függvény egy adott küszöbértékkel egyenlő, ha $f(x_k, y_k, z_k)$ egy 3D tömbbel (vagyis egyenlő térközönként vett mintáival) adott. A térre ráteszünk egy kockarácsot, és mindegyik kocka-csúcsponttól eldöntjük, hogy a felület melyik oldalán van (vagyis $f(x_k, y_k, z_k)$ ottani értéke nagyobb vagy kisebb, mint a küszöbérték). Ha egy él két végpontja különböző oldalán van a felületnek, akkor ott egy metszéspont van (a metszéspont helye a konkrét függvényértékek alapján interpolálható), ha azonos oldalon vannak, akkor nincs metszéspont. (Itt elhanyagoltuk azt a lehetőséget, hogy egynél többször is metszhet egy élet a felület.) Mindegyik kockába kis felület-darabokat rajzolunk, az alapján, hogy melyik élén van metszéspont. Azt, hogy milyen metszéspont-elrendezések esetén milyen felület-darabokat kell rajzolni, táblázatból állapítják meg az erre írt programok. Az összes kockába rajzolt felületelemek együtt kiadják a felület közelítő képét.

A jelen munkában a masírozó kockák algoritmus alapelvét nem térfogati vizualizációra használtam, hanem a paraméterek számításához (pl. egy háromdimenziós objektum felszíne a háromszögletű felületdarabok felületösszegével, térfogata az általuk határolt elemi poliéderek térfogat-összegével egyenlő). A vizualizáció mellőzése azzal az

előnyvel jár, hogy a metszéspontok konkrét elhelyezkedése érdektelenné válik, amint "a kocka elmasírozott" az adott helyről, elég az éppen számított paraméter értékét inkrementálni. Az algoritmus eredeti formájához képest további egyszerűsítést jelent az, hogy a binarizált képen a metszéspontok helyét nem szükséges interpolálni, hiszen az mindig az adott él felezőpontjában van. Emiatt a legtöbb (később bemutatandó) paraméter alapjául szolgáló elemi felszín- és térfogat értékeket a program táblázatokból veszi, ami nagyban meggyorsítja az eljárást.

Háromdimenziós morfolometriai paraméterek

Az alábbi táblázatokban feltüntettem valamennyi számolt paraméter nevét és két elterjedt nevezéktan szerinti szimbólumát: a "paraméter szimbólum" sorban első helyen az "általános tudományos", a második helyen az ASBMR (American Society for Bone and Mineral Research) által javasolt jelölés olvasható. [7] A számított paraméterértékek megadásától eltekintettem, csak a folyamatokról kvalitatív tájékoztatást nyújtó relatív megváltozások átlagát tüntettem fel az alábbi formula szerint:

$$\Delta(\%) = \frac{1}{11} \sum_{i=1}^{11} \Delta_i(\%) = \frac{100}{11} \sum_{i=1}^{11} \frac{P_i^8 - P_i^3}{P_i^3}$$

ahol 11 állatból álló mintára átlagoltunk, a P_i^3 a P paraméter értéke az i . állatban a 3. heti felvétel alapján, P_i^8 pedig ugyanez a 8. heti felvétel alapján számolva. Szintén lényeges információt hordoz a relatív megváltozások mintán belüli szórása, melyet ugyancsak relatív, százalékos formában adtam meg:

$$\sigma(\%) = \frac{100}{\Delta} \sqrt{\frac{1}{11} \sum_{i=1}^{11} (\Delta_i)^2 - \left(\frac{1}{11} \sum_{i=1}^{11} \Delta_i \right)^2}$$

ahol Δ_i a P paraméter i . állatban bekövetkezett relatív megváltozása, Δ pedig P átlagos relatív megváltozását jelöli (ezúttal nem százalékos értéket helyettesítünk be). A relatív megváltozás relatív szórása ugyan első ránézésre körülményesen definiált fogalomnak tűnik, de bevezetésével megengedhető a konkrét paraméterértékek (helyhiány miatti)

mellőzése, így a jelen leírás csak az öt hét alatt bekövetkezett változás mértékéről ad számot, és annak szórását jellemzi.

A paraméterek definiálása után röviden összevetem a kapott eredményeket a csontregenerációs kísérlet eredményeiről szóló fejezetben tárgyaltakkal, és megindoklom, ha az adott paramétert alkalmasnak találom a csontregenerációs folyamat leírására.

Teljes térfogat, objektum térfogat, százalékos objektum térfogat

Paraméter neve	Teljes térfogat	Objektum térfogat	Százalékos objektum térfogat
Paraméter szimbólum	TV TV	Obj.V BV	Obj.V/TV BV/TV
Egység	mm ³	mm ³	%
Kontroll $\Delta\%$	-3.483	1.081	4.988
Kezelt $\Delta\%$	9.185	6.983	-1.910
Kontroll $\sigma\%$	24.300	33.876	17.379
Kezelt $\sigma\%$	12.196	14.641	25.984

A teljes térfogat az összes nem háttér osztályú régió térfogatát jelenti, vagyis a jelen tanulmányban a keményszövet, a nyílt és zárt pórusok térfogat-összegét. Az objektum térfogat csak a keményszövet térfogatát számítja, míg a százalékos objektum térfogat a kettő százalékos arányát fejezi ki.

Mind a teljes, mind a keményszöveti térfogat többet nőtt a kezelt csigolyákban, ami igazolja azt a feltevést, hogy az egészséges csontban normálisan bekövetkező növekedésnél intenzívebb regenerációs folyamat ment végbe a kezelt csigolyákban. Fel kell, hogy tűnjön a kontroll csigolya teljes térfogatának negatív irányú változása, ami

nehezen magyarázható másképp, mint a szegmentáció okozta hibával. Ezzel a kézenfekvő paraméterrel tulajdonképpen jellemezhetjük a szegmentáció hibáját a vizsgált mintára: ha a felnőtt állatok csigolya-térfogatát öt hét alatt állandónak tekintjük, akkor a szegmentáció ebben a paraméterben ~3.5%-os hibát okozott. Az adatok szórásából arra következtethetünk, hogy amíg a kezelt csont regenerációja egy a mintán belül meglehetősen konzisztens jelenség, addig a kontroll csigolya térfogatváltozásai a különböző egyedekben nagyobb eltéréseket mutatnak.

Teljes felület, objektum felület, fajlagos felület, felületsűrűség

Paraméter neve	Teljes felület	Objektum felület	Fajlagos felület	Felületsűrűség
Paraméter szimbólum	TS TS	Obj.S BS	Obj.S/Obj.V BS/BV	Obj.S/TV BS/BV
Egység	mm ²	mm ²	mm ⁻¹	mm ⁻¹
Kontroll Δ%	11.445	2.648	0.640	5.096
Kezelt Δ%	-14.595	-10.152	-15.858	-17.147
Kontroll σ%	20.551	33.287	157.579	25.880
Kezelt σ%	6.369	7.330	6.579	6.312

A teljes felület az összes nem háttér osztályú régió által meghatározott objektum felületét jelenti, vagyis a VOI tulajdonképpeni burkolójának felületét. Az objektum felület a keményszövet felületét számítja, azaz a burkolón kívül a pórusok és a keményszövet határfeleületeit is tartalmazza. A fajlagos felületet az objektum felszín és objektum térfogat hányadosa, míg a felületsűrűséget az objektum felszín és teljes térfogat hányadosa adja meg.

A kontroll csontnál a teljes felület növekedése a csont külső burkolófelületének barázdálódására utal, ami egészséges csontban normálisan végbemenő folyamat. Az

objektum felület kisebb növekedése a későbbiekben bemutatott pórústérfogat csökkenéssel áll összefüggésben: azaz a csont felülete részletgazdagabb, belseje tömörebb lett. A kezelt csontban a kezdeti nagy burkolófelületet az okozta, hogy az implantátum eltávolítása után a csontosodási kazettának még nem alakult ki szabályos burkolófelülete, töredezett, izolált csontdarabok találhatóak a csontosodási üregben. Mind a teljes, mind az objektum felület csökkenése arra utal, hogy a kazettában összefüggő, egységes külső felülettel rendelkező állomány fejlődött ki. Ezt az elképzelést ugyancsak megerősíti a pórústérfogatok és a diszkrét objektumszámok változása is.

Fragmentációs index, szerkezeti modell index, fraktáldimenzió

Paraméter neve	Fragmentációs index	Szerkezeti modell index	Fraktáldimenzió
Paraméter szimbólum	Fr.I Tb.Pf	SMI SMI	FD FD
Egység	mm ⁻¹	-	-
Kontroll $\Delta\%$	-2.901	-13.724	3.717
Kezelt $\Delta\%$	12.355	46.038	4.324
Kontroll $\sigma\%$	214.963	52.772	12.606
Kezelt $\sigma\%$	26.594	10.116	12.596

A **fragmentációs index** a konnektivitással arányos paraméter. Ez utóbbin a csontfelület összeköttetésekkel való ellátottságát értjük, amit az objektum relatív konvexitása alapján állapítunk meg. Ha egy csontfelület konvex alakzatokat tartalmaz, az arra utal, hogy kevésbé kapcsolódik a környezetéhez, izolált struktúrák, nódusok jellemzik. Ha viszont nagyrészt konkáv alakzatokkal írható le, az az összeköttéseket biztosító trabekularendszer jelenlétére utal. A fragmentációs indexet a következőképpen definiáljuk:

$$Tb.Pf = \frac{S_1 - S_2}{V_1 - V_2}$$

A fenti képlet a keményszövet eredeti (1-es index) és egy voxelrel dilatált (2-es index) felület- és térfogatkülönbségeit hasonlítja össze. A dilatáció során valamennyi keményszövetet tartalmazó voxel nem-csontos első-, másod-, és harmadszomszédait is csontként vettük számításba, ilyen módon egy voxel vastag réteggel képzeletben megnövelve a csontot. Az összeköttetésekben gazdag területeken a trabekulák felszínének ilyen módon való kitolása a köztük bezárt nem-csontos tér eltűnéséhez vezet, tehát a felszín csökken (kevésbé nő), a fragmentációs index nagyobb. A konvex alakzatokban gazdag területeken ez a jelenség nem számottevő, a felszín növekedés nagyobb, a fragmentációs index következőképpen kisebb.

A **szerkezeti modell index** a pálcikás és síkszerű alakzatok arányát írja le kiterjedt szerkezetekben. Felhasználási területei közé tartozik a csont degradálódási folyamatainak leírása (pl. osteoporózisban síkszerűből pálcika-szerűvé váló architektúra). Az ideális sík, a henger és a gömb szerkezeti modell indexei rendre 0, 3 és 4 értékűek. A szerkezeti modell index számítása a fragmentációs indexhez hasonlóan a konvexitás mérésére vezethető vissza. Definíciója:

$$SMI = 6 \frac{(\Delta S) V}{S^2}$$

ahol S és V a (dilatálatlan) objektum felület illetve térfogat, ΔS pedig a dilatáció hatására bekövetkező felszínváltozás (a dilatációt a *Tb.Pf* paraméternél leírtak szerint végezve).

A **fraktáldimenzió** a vizsgálatunk fogalmi keretein belül maradván a felület térkitöltésének mérőszáma. A fraktálok tetszőlegesen kis skálán vizsgálva "finom" szerkezetet mutatnak (az önhasonlóság értelmében valamennyi skálán "ugyanazt" a szerkezetet), de a szerkezet finomodásának a felbontás növelésével való kapcsolata fraktálonként különbözik. Ezt a tulajdonságot ragadja meg a fraktáldimenzió box-counting definíciója [8], amely hétköznapi objektumokra is általánosítható. Számítása

esetünkben a következőképpen történik: vegyünk fel egy kockarácsot a képre, a rácsosztás (a) legyen a kép legrövidebb oldalának fele. Ezután a rácsosztást lépésenként csökkentjük egy-egy voxel oldalhosszúsággal, minden lépésben megszámlálva, hogy hány dobozban található keményszövet-háttér fázishatár ($N(a)$). A felbontás növelésével utolsó lépésben egy doboz egy voxelnek felel meg. Az objektum fraktáldimenziója az $\ln N - \ln 1/a$ adatsorra (Theil-Sen becslővel) illesztett egyenes meredeksége.

A fragmentációs index, a szerkezeti modell index és a fraktáldimenzió növekedése a kezelt csigolyában összhangban áll azzal a megfigyeléssel, hogy a frissen regenerálódott, szivacsos csontállomány finomabb mikroszerkezetű, mint az egészséges csigolyatest hasonló anatómiai helyzetű, normálisan fejlett állománya. A konnektivitás növekedése azt támasztja alá, hogy a töredezett, különálló nódusok helyét összefüggő csontszerkezet vette át.

Zárt pórustérfogat, nyílt pórustérfogat, teljes pórustérfogat

Paraméter neve	Zárt pórustérfogat	Nyílt pórustérfogat	Teljes pórustérfogat
Paraméter szimbólum	Po.V(cl) Po.V(cl)	Po.V(op) Po.V(op)	Po.V(tot) Po.V(tot)
Egység	mm ³	mm ³	mm ³
Kontroll $\Delta\%$	-19.409	-41.107	-34.607
Kezelt $\Delta\%$	68.373	46.540	47.275
Kontroll $\sigma\%$	88.944	24.478	17.512
Kezelt $\sigma\%$	17.649	24.712	23.637

A különbözőképpen definiált pórusok térfogatai. A kontroll csontbeli csökkenésük azt jelenti, hogy a normál csontszerkezet fejlettebbé, tömörebbé vált a két felvétel között eltelt öt hét alatt. A kezelt csontban tapasztalt jelentős pórustérfogat növekedés okát abban kereshetjük, hogy a csonttérfogat növekmény nagy részét nem teljesen

kalcifikálódott, vékony lamellákból és trabekulákból álló szivacsos állomány teszi ki, melyben sok a bezárt nem-keményszövetes tér. Ezt támasztja alá az az eredményünk is, hogy a kezelt csontban a keményszövet térfogatnövekedése elmaradt a teljes térfogatnövekedéstől.

Zárt pórusfelszín, nyílt pórusfelszín, teljes pórusfelszín

Paraméter neve	Zárt pórusfelszín	Nyílt pórusfelszín	Teljes pórusfelszín
Paraméter szimbólum	Po.S(cl) Po.S(cl)	Po.S(op) Po.S(op)	Po.S(tot) Po.S(tot)
Egység	mm ²	mm ²	mm ²
Kontroll $\Delta\%$	-7.443	-31.208	-20.876
Kezelt $\Delta\%$	26.705	25.104	25.440
Kontroll $\sigma\%$	162.317	27.419	19.797
Kezelt $\sigma\%$	17.564	28.022	23.183

A különbözőképpen definiált pórusok felszínei. Az előző pontban leírt feltevések itt is helytállónak tűnnek.

Zárt porozitás, nyílt porozitás, teljes porozitás

Paraméter neve	Zárt porozitás	Nyílt porozitás	Teljes porozitás
Paraméter szimbólum	Po(cl) Po(cl)	Po(op) Po(op)	Po(tot) Po(tot)
Egység	%	%	%
Kontroll $\Delta\%$	-20.548	-42.487	-36.246
Kezelt $\Delta\%$	44.246	37.825	38.067
Kontroll $\sigma\%$	79.307	24.081	17.257
Kezelt $\sigma\%$	21.634	28.232	26.935

A különbözőképpen definiált pórusok térfogatának és a teljes VOI térfogat százalékos aránya. Az eredmények nagymértékben megegyeznek a pórustérfogatnál kapott értékekkel, ami annak köszönhető, hogy míg a pórustérfogat jelentősen megváltozott, addig a teljes térfogat nagyjából állandó maradt mindkét csoportban.

Objektumszám, zárt pórusszám, nyílt pórusszám, összes pórusszám

Paraméter neve	Objektumszám	Zárt pórusszám	Nyílt pórusszám	Összes pórusszám
Paraméter szimbólum	N.Obj N.Obj	Po.N(cl) Po.N(cl)	Po.N(op) Po.N(op)	Po.N(tot) Po.N(tot)
Egység	-	-	-	-
Kontroll $\Delta\%$	2.869	6.825	29.666	10.685
Kezelt $\Delta\%$	-14.260	14.061	-6.564	8.142
Kontroll $\sigma\%$	147.600	53.922	21.328	32.500
Kezelt $\sigma\%$	24.888	37.289	55.177	53.049

Az objektumszám a nem-keményszöveti voxelekkel teljesen körülhatárolt, diszkrét objektumok számát jelöli. A pórusszámok ugyanilyen logika szerint vannak definiálva: pl. a nyílt pórusszám a keményszöveti vagy háttér osztályú voxelekkel teljesen körülvevett nyílt pórusok száma. Az összefüggőségi vizsgálat a szegmentációban alkalmazott algoritmus alap gondolatát viszi tovább, de nem négy "osztályt" különböztet meg, hanem annyit, ahány diszkrét objektum található a képen. Ennek megfelelően valamennyi függvény közül ez a legszámításigényesebb, futásideje kevésbé összefüggő (pl. több ezer diszkrét objektumot tartalmazó) képek esetén percekben mérhető.

Az objektumszám csökkenése a kezelt csigolyában az új, szivacsos csontszövet összefüggő szerkezetének következménye. A pórusszám növekedését értelemszerűen az

okozza, hogy a szivacsos szerkezetek tömörebbé válásával párhuzamosan a pórusok konnektivitása csökken, a trabekulák között különálló terek jönnek létre.

Középpont koordinátái

Paraméter neve	Centroid X	Centroid Y	Centroid Z
Paraméter szimbólum	Crd.X Crd.X	Crd.Y Crd.Y	Crd.Z Crd.Z
Egység	mm	mm	mm
Kontroll $\Delta\%$	-11.260	-17.371	-0.865
Kezelt $\Delta\%$	-15.966	-4.514	-3.443
Kontroll $\sigma\%$	8.552	11.487	26.063
Kezelt $\sigma\%$	9.056	46.809	23.301

A középpont koordinátái a kép középpontjából, mint a derékszögű koordinátarendszer origójából a keményszöveti pontokba mutató vektorok koordinátáinak átlagai irányonként. Az elnevezés értelmét az adja, hogy homogén sűrűségű szövetben az így kapott pont az objektum tömegközéppontjával egyezne meg. A csontregenerációs kísérlet adatsorából számított paraméternek nincsen jelentősége, ugyanis a CT készülékben az állatok elhelyezkedése esetleges volt, nem alkalmaztak referencia rögzítést.

Szerkezeti vastagság, szerkezeti szeparáció, lineáris szerkezeti sűrűség

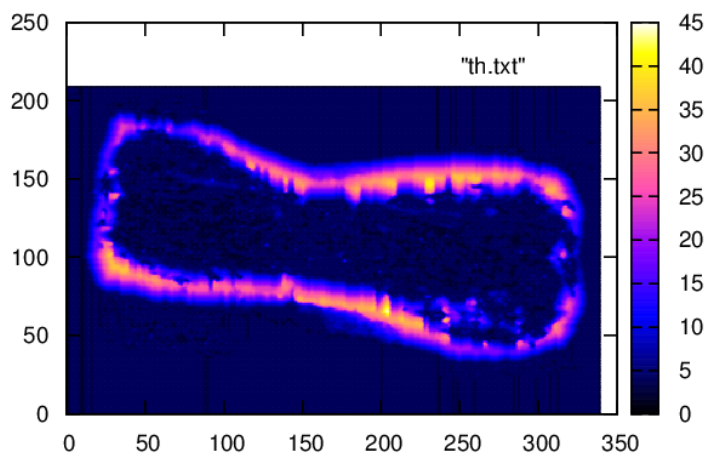
Paraméter neve	Szerkezeti vastagság	Szerkezeti szeparáció	Lineáris szerkezeti sűrűség
Paraméter szimbólum	St.Th Tb.Th	Sr.Sp Tb.Sp	St.Li.Dn Tb.N
Egység	mm	mm	mm ⁻¹
Kontroll $\Delta\%$	9.858	-3.904	-4.700
Kezelt $\Delta\%$	23.935	5.606	-8.282
Kontroll $\sigma\%$	6.220	34.173	17.946
Kezelt $\sigma\%$	3.910	16.949	4.709

A keményszövet bármely pontjában a lokális **szerkezeti vastagság** vagy **trabekula vastagság** azon legnagyobb gömb átmérője, mely az alábbi két feltételt teljesíti:

- a gömb tartalmazza a pontot (de az nem feltétlenül a gömb középpontja)
- a gömb minden pontja keményszöveten belül helyezkedik el

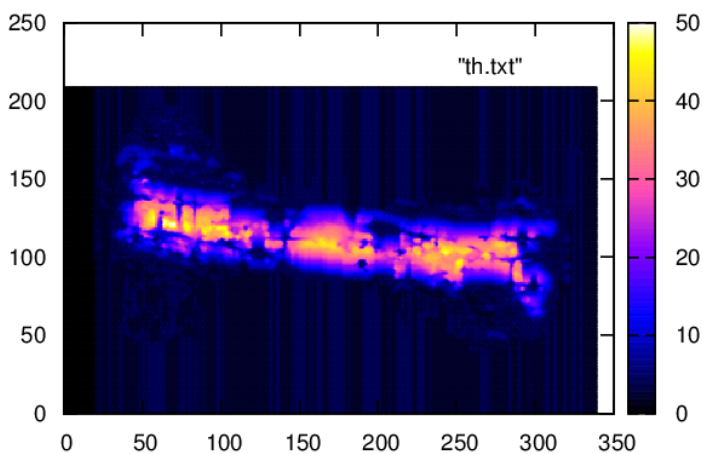
A megvalósító algoritmus az elméleti definícióhoz képest tartalmaz némi egyszerűsítést. Az algoritmus egyik részfeladata annak vizsgálata, hogy egy adott C középpont és r sugár kombináció esetén az általuk definiált gömböt teljes egészében tartalmazza-e a keményszöveti állomány. Ennek érdekében a teljes 4π térszög minden irányában "el kellene nézni" r távolságba és megnézni, hogy az ott található pont keményszövet-e. (A középpont és a gömbfelület közé eső pontokat nem kell ellenőrizni, mivel a gömb növesztéséről van szó, ezeket tehát a korábbi lépésekben keményszövetnek találtuk.) Az általam bevezetett egyszerűsítés értelmében ez az ellenőrzés csak hat irányban történik meg (a derékszögű koordináta-rendszer féltengelyeinek megfelelő irányokban). Belátható, hogy lamellás és nem "tüskés" szerkezetekben ez az egyszerűsítés megtehető anélkül, hogy súlyosan torzítaná az eredményeket, habár a paraméter definíció szerű izotrópiája sérül. A paraméter számítása azonban még így is relatíve futásidő-igényes, ezért ezt a pontatlanságot megengedtem a gyorsabb használat érdekében. A

hisztomorfometriában alkalmazott gyakorlat szerint a lokális értékeket az egész képre átlagolva egy közepes szerkezeti vastagságot adtam meg, azonban a trabekuláris csontállomány (vagy bármilyen kétfázisú térfogat) a szerkezeti vastagság értékek eloszlásával is jellemezhető.



9. ábra: Szerkezeti vastagság eloszlása szagittális metszeten

A **szerkezeti vagy trabekula szeparáción** a nem keményszöveti területek szerkezeti vastagságát értjük. A szerkezeti vastagságnál megadott módon számolható a kép invertálása után.

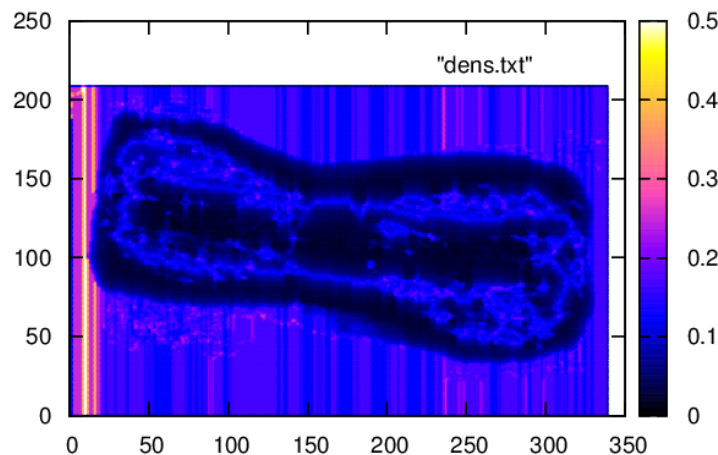


10. ábra: Szerkezeti szeparáció eloszlása szagittális metszeten

A **lineáris szerkezeti sűrűség** vagy trabekulaszám a keményszöveten belül véletlenszerű irányban egységnyi úthosszat (egyenes útvonalon) megtéve keresztezett fázishatárok számát jelöli. Alternatív definíciója, mely a számítás alapját képezte:

$$St.Li.Dn = \frac{1}{St.Th + St.Sp}$$

Ahogy a fenti paraméterek esetében, a lineáris szerkezeti sűrűségből is számolható teljes képre vett átlag és eloszlás is.



11. ábra: Lineáris szerkezeti sűrűség eloszlása szagittális metszeten

A három paraméter közül a szerkezeti vastagság mutatja a legjelentősebb változást, méghozzá igen kis szórással: a kezelt csigolyákban tehát általánosnak mondható a trabekulák vastagodása. Némi ellentmondást jelent a korábbi, mikroszerkezetről tett feltevéseinkkel a lineáris szerkezeti sűrűség negatív irányú változása. Megfontolandó ugyanakkor az a tény, hogy az állatok egy része a csontképző intenzitást fokozó bifoszfonát kezelést kapott, amiről tudjuk, hogy jelentősen növeli a trabekulavastagságot. Elképzelhető ez alapján, hogy a csigolyatest normál állományában a trabekulák megvastagodásával a belső terek megszűnése, a csont tömörödése elnyomhatta a szerkezeti sűrűség csontosodási kazettában várható járulékát.

Kétdimenziós morfometriai paraméterek

A kétdimenziós paramétereknél ugyanazokat a jellemzőket (relatív megváltozás, ennek relatív szórása) adom meg táblázatos formában, amiket a háromdimenziós paraméterekről szóló alfejezetben. Ezek rövid leírását az alfejezet elején találja meg az olvasó. A paraméterek összevetését a kísérleti eredményekkel csak abban az esetben teszem meg, ha az eredmények eltérnek a háromdimenziós analízis megfelelő paramétereire alapján várttal, azaz ha a két geometriai megközelítés eltérő eredményt ad.

Teljes térfogat, objektum térfogat, százalékos objektum térfogat

Paraméter neve	Teljes térfogat	Objektum térfogat	Százalékos objektum térfogat
Paraméter szimbólum	TV TV	Obj.V BV	Obj.V/TV BV/TV
Egység	mm ³	mm ³	%
Kontroll $\Delta\%$	-2.486	1.253	4.012
Kezelt $\Delta\%$	6.634	4.826	-1.649
Kontroll $\sigma\%$	25.184	22.195	17.279
Kezelt $\sigma\%$	15.330	19.375	25.276

A teljes térfogat az összes nem háttér osztályú régió térfogatát jelenti, vagyis a jelen tanulmányban a keményszövet, a nyílt és zárt pórusok térfogat-összegét. Az objektum térfogat csak a keményszövet térfogatát számítja, míg a százalékos objektum térfogat a kettő százalékos arányát fejezi ki. A háromdimenziós analízisben kapott eredményektől való 20% körüli eltérés az eltérő számítási módszerből adódik.

Teljes felület, objektum felület, fajlagos felület

Paraméter neve	Teljes felület	Objektum felület	Fajlagos felület
Paraméter szimbólum	TS TS	Obj.S BS	Obj.S/Obj.V BS/BV
Egység	mm ²	mm ²	mm ⁻¹
Kontroll $\Delta\%$	10.521	2.379	0.497
Kezelt $\Delta\%$	-14.184	-10.153	-14.149
Kontroll $\sigma\%$	21.805	37.490	183.588
Kezelt $\sigma\%$	6.358	7.363	6.438

A teljes felület az összes nem háttér osztályú régió által meghatározott objektum felületét jelenti, vagyis a VOI tulajdonképpeni burkolójának felületét. Az objektum felület a keményszövet felületét számítja, azaz a burkolón kívül a pórusok és a keményszövet határfeületeit is tartalmazza. A felületek két komponensből tevődnek össze: egyrészt egy adott keresztmetszet síkjában az objektum kerülete mentén mérhető "vízszintes" felületekből, másrészt azokból a "függőleges" felületekből, melyeket a keresztmetszetek közötti pixel eltolódások hoznak létre. A fajlagos felületet az objektum felszín és objektum térfogat hányadosa. A háromdimenziós analízishez képest itt sem tapasztalható jelentősebb eltérés. Elmondhatjuk, hogy háromdimenziós térfogati modell nélkül is jól használható információ nyerhető.

Átlagos ROI kerület, átlagos objektum kerület, átlagos ROI terület, átlagos objektum terület

Paraméter neve	Átl. ROI kerület	Átl. objektum kerület	Átl. ROI terület	Átl. objektum terület
Paraméter szimbólum	T.Pm T.Pm	Obj.Pm B.Pm	T.Ar T.Ar	Obj.Ar B.Pm
Egység	mm	mm	mm ²	mm ²
Kontroll $\Delta\%$	11.058	-2.685	2.057	1.088
Kezelt $\Delta\%$	-5.135	17.469	-0.885	15.656
Kontroll $\sigma\%$	20.078	25.686	40.754	32.417
Kezelt $\sigma\%$	19.184	5.640	96.202	5.148

Az átlagos keresztmetszeti ROI kerület valamennyi keresztmetszeten mért kerület átlaga a teljes képre. A ROI kerületet shrink-wrap típusú algoritmussal számítjuk, ezért ebben a paraméterben csak a külső burkoló kerülete ad járulékot. Az átlagos objektum kerület ezzel szemben minden keményszövet kerületét számítja, így a pórusok belső kerületei is adhatnak járulékot. Az átlagos ROI terület a teljes ROI (keményszövet és pórusok) területét átlagolja az egyes keresztmetszeti értékekből, míg az átlagos objektum terület csak a keményszövetet tartalmazó területeket átlagolja.

Átlagos objektumszám, átlagos objektumterület, átlagos ekvivalens körátmérő

Paraméter neve	Átl. objektum szám	Átl. objektum terület	Átl. ekvivalens körátmérő
Paraméter szimbólum	Obj.N Obj.N	Av.Obj.Ar Av.Obj.Ar	Av.Obj.ECD Av.Obj.ECD
Egység	-	mm ²	mm
Kontroll $\Delta\%$	3.895	-3.328	-1.625
Kezelt $\Delta\%$	-11.402	24.173	13.651
Kontroll $\sigma\%$	67.801	83.061	90.517
Kezelt $\sigma\%$	20.251	13.876	11.360

Az átlagos szeletenkénti objektumszám az egy keresztmetszeten megtalálható különálló objektumok számának átlaga. Az átlagos objektumterület ezen különálló objektumok területének átlaga, míg az objektum ekvivalens körátmérő annak a körnek az átmérőjét adja meg, melynek területe megegyezik a diszkrét objektum területével.

Szerkezeti vastagság

Paraméter neve	Szerkezeti vastagság (sík)	Szerkezeti vastagság (henger)	Szerkezeti vastagság (gömb)
Paraméter szimbólum	St.Th(pl) Tb.Th(pl)	St.Th(rd) Tb.Th(rd)	St.Th(sp) Tb.Th(sp)
Egység	mm	mm	mm
Kontroll $\Delta\%$	-2.112	-10.211	-2.112
Kezelt $\Delta\%$	17.059	23.352	17.059
Kontroll $\sigma\%$	53.195	24.873	53.193
Kezelt $\sigma\%$	6.409	7.015	6.409

A szerkezeti- vagy trabekulavastagság becsléséhez két dimenzióban szükségünk van a leírt szerkezet egy modelljére. Három egyszerű szerkezeti modell van használatban: a sík, a henger és a gömb modell. Ezekkel a trabekulavastagság definíciója rendre:

Sík-modell:

$$Tb.Th(pl) = \frac{2}{BS/BV}$$

Henger-modell:

$$Tb.Th(rd) = \frac{4}{BS/BV}$$

Gömb-modell:

$$Tb.Th(sp) = \frac{6}{BS/BV}$$

ahol *BS* az objektum felszín, *BV* az objektum térfogat.

Szerkezeti szeparáció, lineáris szerkezeti sűrűség

Paraméter neve	Szerkezeti szeparáció (sík)	Szerkezeti szeparáció (henger)	Lineáris szerkezeti sűrűség (sík)	Lineáris szerkezeti sűrűség (henger)
Paraméter szimbólum	Sr.Sp(pl) Tb.Sp(pl)	Sr.Sp(rd) Tb.Sp(rd)	St.Li.Dn(pl) Tb.N(pl)	St.Li.Dn(rd) Tb.N(rd)
Egység	mm	mm	mm ⁻¹	mm ⁻¹
Kontroll Δ%	-2.068	-1.908	4.207	2.351
Kezelt Δ%	17.034	16.944	-15.327	-14.743
Kontroll σ%	54.394	59.170	26.460	40.767
Kezelt σ%	6.421	6.465	6.171	6.188

A **lineáris szerkezeti sűrűség** vagy trabekulaszám a keményszöveten belül véletlenszerű irányban egységnyi úthosszat (egyenes útvonalon) megtéve keresztezett fázishatárok számát jelöli. Definíciója a sík és henger modellel rendre:

Sík-modell:

$$Tb.N(pl) = \frac{BV/TV}{Tb.Th(pl)}$$

Henger-modell:

$$Tb.N(rd) = \frac{\sqrt{\frac{4}{\pi} \cdot \frac{BV}{TV}}}{Tb.Th(rd)}$$

ahol BV az objektum térfogat, TV a teljes VOI térfogat, Tb.Th(pl), Tb.Th(rd) pedig rendre az adott modell szerint definiált szerkezeti vastagságok.

A **szerkezeti vagy trabekula szeparáció** a nem keményszöveti területek szerkezeti vastagságát jelöli. Két dimenziós képekből a sík- és henger-modellek segítségével számolható:

Sík-modell:

$$Tb.Sp(pl) = \frac{1}{Tb.N(pl)} - Tb.Th(pl)$$

Henger-modell:

$$Tb.Sp(rd) = Tb.Th(rd) \cdot \left(\sqrt{\frac{\pi}{4} \cdot \frac{TV}{BV}} - 1 \right)$$

Középpont koordinátái

Paraméter neve	Centroid X	Centroid Y	Centroid Y
Paraméter szimbólum	Crd.X Crd.X	Crd.Y Crd.Y	Crd.Z Crd.Z
Egység	mm	mm	mm
Kontroll $\Delta\%$	-11.221	-17.343	-0.182
Kezelt $\Delta\%$	-15.998	-4.558	-2.696
Kontroll $\sigma\%$	8.614	11.547	134.532
Kezelt $\sigma\%$	9.104	46.744	28.728

A középpont koordinátáinak definíciója azonos a háromdimenziós analízisnél megadottal. A paraméter értékei - az állatok különböző elhelyezkedése miatt az egyes felvételeknél - itt sem bírnak jelentéstartalommal.

Fragmentációs index, átlagos excentricitás, keresztmetszeti vastagság, porozitás

Paraméter neve	Fragmentációs index	Átl. excentricitás	Keresztmetszeti vastagság	Porozitás
Paraméter szimbólum	Fr.I Tb.Pf	Ecc Ecc	Cs.Th Cs.Th	Po(cl) Po(cl)
Egység	-	-	mm	%
Kontroll $\Delta\%$	-14.892	-0.903	-14.034	-16.731
Kezelt $\Delta\%$	15.342	-1.077	27.564	29.498
Kontroll $\sigma\%$	45.644	33.967	22.861	88.521
Kezelt $\sigma\%$	22.516	75.328	7.266	19.588

A **fragmentációs index** részletes leírása megtalálható a háromdimenziós analízisről szóló alfejezetben. Két dimenzióba a következőképpen terjeszthető ki a definíciós képlet:

$$Tb.Pf = \frac{P_1 - P_2}{A_1 - A_2}$$

azaz a számlálóban az eredeti és dilatált felszínnek helyét az eredeti és dilatált kerületek, a nevezőben a térfogatok helyét pedig a területek veszik át.

Az **excentricitás** egy ellipszis nyúltságának jellemzésére szolgáló paraméter. Az általam implementált definíciója a következő:

$$e = \sqrt{\frac{a^2 - b^2}{a^2 + b^2}}$$

ahol a az ellipszis nagytengelyének, b a kistengelyének hossza. Ezzel a paraméterrel

természetesen csak olyan objektumokat lehet jól leírni, amelyek keresztmetszeti képe valóban modellezhető ellipszissel. Ilyenkor a "nagytengety" hossza (a keresztmetszeti kép középpontjában felvett derékszögű koordinátarendszerben) a nagyobb tengelyirányú kiterjedést jelenti, a "kistengely" hossza pedig a kisebbet. A definíció értelmében a jó közelítéssel kör keresztmetszetű objektumok excentricitása nulla, míg a hosszúkás, megnyúlt alakzatoké 1-hez közeli. Ebben a paraméterben nem vártunk, és nem is tapasztaltunk érdemleges változást egyik csoportban sem.

A **keresztmetszeti vastagságot** a kétdimenziós keresztmetszeti képekből a sík-modell szerint becsüljük (lásd: szerkezet vastagság paraméternél):

$$Cs.Th = 2 \frac{TV}{Obj.S'}$$

ahol TV a teljes VOI térfogat, Obj.S' pedig az objektum felszín, ha csak az adott keresztmetszeti síkban, az objektum kerületéből adódó felszíneket számoljuk össze, és a keresztmetszetek között eltolódásból származó "függőleges" felületeket elhagyjuk. Ez a definíció megszünteti a képről kilógó objektumok által okozott, a VOI tetején és alján megjelenő nagy, mesterségesen levágott felületek okozta hibát.

A **porozitás** bezárt pórusok és a teljes térfogat arányát fejezi ki.

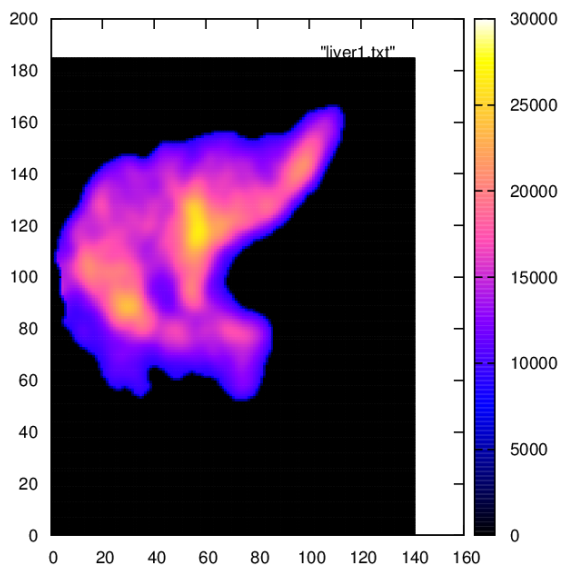
Kvantitatív máj SPECT morfometria

A jelen munka keretében elkészült kiértékelő programcsomag helytálló eredményeket szolgáltatott a csontregenerációs kísérletben készült CT-rekonstrukciókon alkalmazva. Mind a módszer kidolgozásakor, mind az eredmények értelmezése közben sok, a speciális területre vonatkozó megfontolással éltünk. Megfontolásaink közül a legspecifikusabbak a csontszöveti regeneráció sajátosságaival kapcsolatosak, a legáltalánosabbak pedig bármely anatómiai modalitású felvételre érvényesek. Nincs azonban elméleti akadálya annak, hogy az eljárást funkcionális modalitással készült rekonstrukciókra alkalmazzuk. Az egyes szerkezeti paraméterek jelentése ezúttal nem kézenfekvő, jelentésük megfontolás tárgyát kell, hogy képezze. A következő szakaszban csupán néhány előzetes feltevést tettem, és ezek alapján megpróbáltam felmérni, hogy egyáltalán van-e kinyerhető diagnosztikai információértéke a funkcionális képi adatoknak morfometriai módszerekkel vizsgálva. A kiértékelést a NanoSPECT/CT készülékkel kapott egér máj SPECT rekonstrukciókon végeztem, mely tíz állatból álló mintáról készült. Az egerek mája különböző méretű és számú diffúz daganatot tartalmazott, melyekről a boncolási jegyzőkönyv készült.

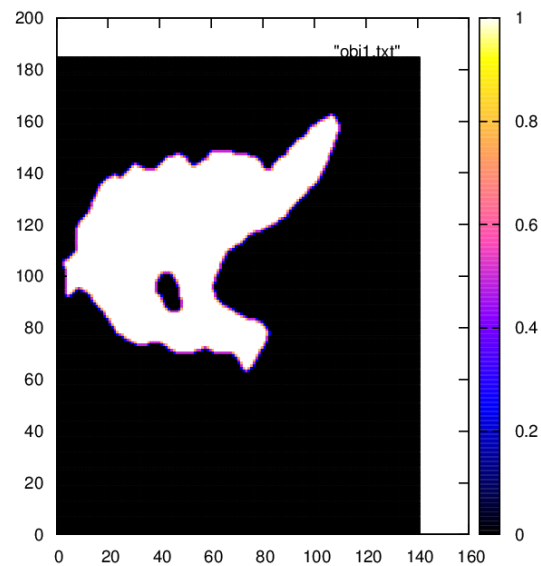
Szegmentáció

A csont CT-felvételek esetén a szegmentáció szürkeszín thresholding technikával történt, melynek az adta az alapját, hogy a képi denzitáseloszlást két eltérő (fázisonként homogén) denzitású fázisból álló eloszlással modelleztük. Ugyanez nem tehető meg az izotópeloszlást reprezentáló képek esetén, hiszen a daganatos májsejtek diffúzan helyezkednek el a májtérfogatban, a nagyobb dúsulású helyek nem különülnek el élesen a térfogat többi részétől. Ennek ellenére első közelítésként a kétfázisú modell alapján elvégeztünk egy bináris szegmentációt, melynek során megállapítottuk, hogy a SPECT rekonstrukciók kontrasztja nem elégséges a dúsulási helyek "kivágásához", a

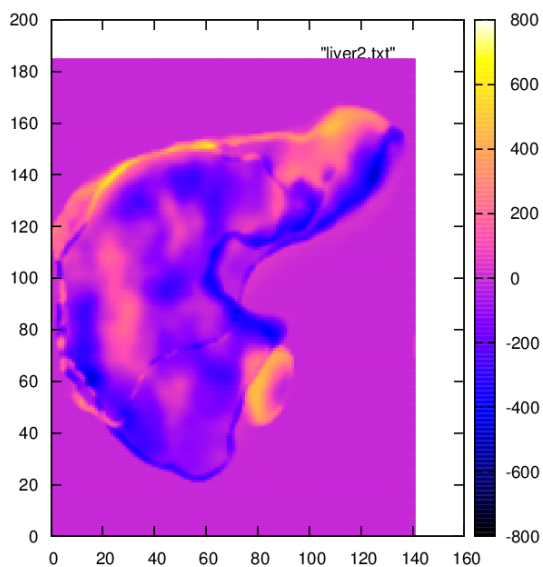
szegmentáció nagy kiterjedésű, homogén objektumokat eredményezett, melyekben nem jelentek meg az eloszlás metszeti képein szemmel is látható részletek. A figyelmünk ezután a kontrasztnövelő eljárások felé fordult, melyek közül a hisztogramkiegyenlítést [4] és a különböző frekvenciatérbeli szűréseket próbáltuk ki.



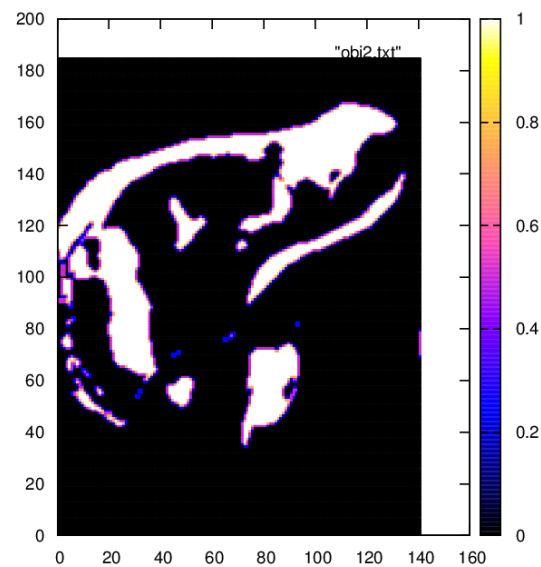
12. ábra: Máj SPECT metszet



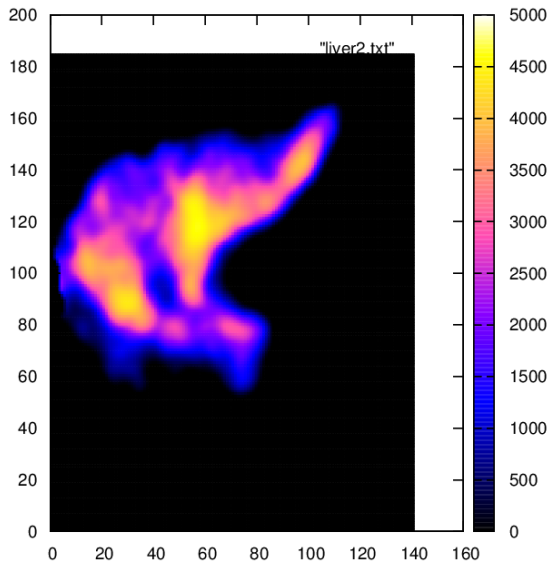
13. ábra: Szegmentált metszet



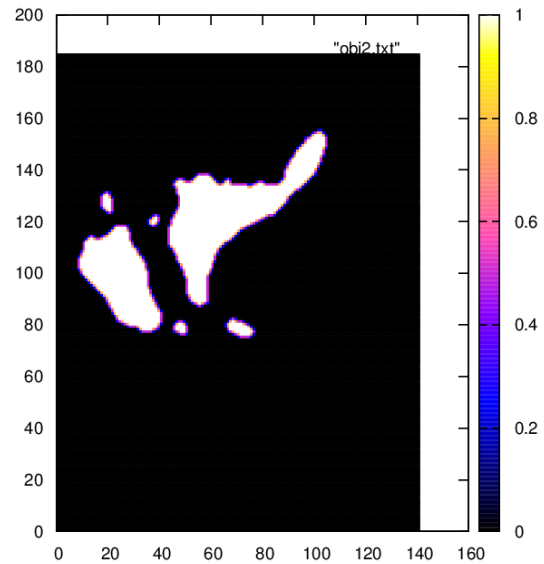
14. ábra: Szűrt máj SPECT metszet



15. ábra: Szűrt szegmentált metszet



16. ábra: *Hisztogramkiegyenlített máj SPECT metszet*



17. ábra: *Hisztogramkiegyenlített szegmentált metszet*

A két módszer közül a hisztogramkiegyenlítés felelt meg jobban a céljainkra, ezért a kiértékelést az így módosított képeken is elvégeztük, de az eredmények a kontrasztnövelés előtti eredményekhez hasonlóan alakultak, és nem mutattak érdemi összefüggést a boncolás során találtakkal. Ez előrevetíti a kép további előfeldolgozásának, esetleg a kétfázisú modellnél összetettebb modellre való áttérésnek a szükségességét. A felmerülő lehetőségek megvizsgálása és a működőképes módszer kidolgozása jövőbeli feladatok közé tartozik.

Összefoglalás

A munkám eredménye egy automatikus, gyors és a felhasználó jártassági szintjétől független kiértékelő program, amely alkalmasnak bizonyult a csontokról készült CT-felvételek morfológiai elemzésével a csont regenerációs folyamatainak parametrizálására. – az algoritmusok megfelelő változtatásával – alkalmassá tehető bármely funkcionális (SPECT, PET) vagy morfológiai (MRI, CT) modalitással nyert kép parametrizációjára.

A szerkezeti paraméterek számítását két eltérő geometriai megközelítéssel, egyrészt kétdimenziós szeletenként, másrészt egy háromdimenziós térfogati modell alapján végeztem. Mindkét megközelítéssel, találtam olyan szerkezeti jellemzőket, amelyek jól egyezésben állnak a csontregenerációs folyamatokról rendelkezésünkre álló kísérleti eredmények, és alkalmasnak bizonyulnak a gyógyulási folyamat kvantifikációjára. Ilyen paraméterek többek között a csonttér fogat, a csontfelület részletgazdagságát leíró fraktáldimenzió, a belső konnektivitást leíró fragmentációs index és diszkrét objektumszám; a csontszövettel körülhatárolt lágyszövet mennyiségét megadó bezárt és külső térrel összefüggő porozitás.

A máj SPECT morfológia kidolgozásában kiinduló lépéseket tettem, melynek során kiderült, hogy a csont morfológia egyszerű kontrasztnövelő eljárásokkal nem adaptálható az izotópeloszlást megjelenítő SPECT felvételekre, a módszer kidolgozása további megfontolásokat igényel.

Irodalomjegyzék

1. Müller Illés: Szubmilliméteres felbontású molekuláris képalkotás. *IME VI. évfolyam képalkotó diagnosztikai különszám 2007*
2. Gácsi Zoltán, Sárközi Gábor, Réti Tamás: Sztereológia és képelemzés. *Well-Press, 2001*
3. Blazsek J, Dobó Nagy Cs, Blazsek I, Varga R, Vecsei B, Fejérdy P and Varga G.: Amino-bisphosphonate stimulates bone regeneration and enforces consolidation of titanium implant into a new rat caudal vertebrae model. *Pathology and Oncology Research, 2008*
4. Blazsek I, Clay D, Blazsek J, Pierre-Louis O, Leclerc P, Le Bousse-Kerdilès MC and Uzan G.: Haematopoietic stem cell niches are complex, self-organizing, topological units providing autonomy and tissue robustness . *Letter to Nature/2008*
5. Milan Sonka, Vaclav Hlavac, Roger Boyle: Image Processing, Analysis and Machine Vision. *Thomson Learning 2008*
6. Szirmay-Kalos László, Antal György, Csonka Ferenc: Háromdimenziós grafika, animáció és játékfejlesztés. *ComputerBooks, 2003*
7. SkyScan X-Ray Microtomography, X-Ray Nanotomography, In-Vivo Small Animal Imaging: Morphometric parameters in CT-analyser 2009
8. Philip M Iannaccone: Fractal geometry in biological systems. *Boca Raton, 1996*

Mellékletek jegyzéke

A CD mellékleten megtalálható a morfolometriai analízist végző programcsomag, melyben a függvények nevei az általános tudományos nevezéktan jelöléseit követik, valamint a csontregenerációs kísérletben készült CT-felvételek alapján számolt morfolometriai paraméterek.