

OPTIKAI KOHERENCIA TOMOGRÁFIA BIOMARKEREK NEDVES TÍPUSÚ IDŐSKORI MAKULA DEGENERÁCIÓBAN

PhD Tézis

Dr. Kovács Attila

Szegedi Tudományegyetem, Szemészeti Klinika

PhD Témavezető: Dr. Dégi Rózsa



Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

PhD Program: Klinikai és Kísérletes kutatás a helyreállító és szervkímélő
sebészetben

Programvezető: Prof. Dr. Lázár György, PhD

Szeged

2021

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK:

- I. **Kovacs A, Kiss T, Rarosi F, Somfai GM, Facsko A, Degi R. The effect of ranibizumab and aflibercept treatment on the prevalence of outer retinal tubulation and its influence on retreatment in neovascular age-related macular degeneration. *BMC Ophthalmol.* 2018 Nov 14;18(1):298.**
IF (2018): 1.431

- II. Varga L, **Kovacs A**, Grosz T, Thury G, Hadarits F, Degi R, Dombi J. **Automatic segmentation of hyperreflective foci in OCT images.** *Comput Methods Programs Biomed.* 2019 Sep; 178:91-103.
IF (2019): 3.632

- III. Katona M, **Kovacs A**, Degi R, Nyul LG. **Automatic Detection of Subretinal Fluid and Cyst in Retinal Images.** In: Battiato S., Gallo G., Schettini R., Stanco F. (eds) *Image Analysis and Processing - ICIAP 2017.* Lecture Notes in Computer Science, vol 10484. pp.: 606-616, Springer, Cham.

- IV. Katona M, **Kovacs A**, Varga L, Grosz T, Dombi J, Degi R, Nyul LG. **Automatic Detection and Characterization of Biomarkers in OCT Images.** In: Campilho A., Karray F., ter Haar Romeny B. (eds) *Image Analysis and Recognition. ICIAR 2018.* Lecture Notes in Computer Science, vol 10882. pp.: 706-714, Springer, Cham.

- V. Katona M, **Kovacs A**, Degi R, Nyul LG. **Segmentation of Subretinal Hyperreflective Material and Pigment Epithelial Detachment Using Kernel Graph Cut.** In: Burduk R., Kurzynski M., Wozniak M. (eds) *Progress in Computer Recognition Systems. CORES 2019.* Advances in Intelligent Systems and Computing, vol 977. pp.: 98-106, Springer, Cham.

BEVEZETÉS

A várható élettartam világszerte tapasztalt növekedése az életkorral összefüggő betegségek növekedését vonta maga után, aminek következtében az időskori makula degeneráció (AMD) a nyugati társadalmak vezető vaksági okává, és világszintű egészségügyi problémává vált. Az AMD megfelelő kezelése a robbanásszerűen megemelkedett gyakoriság tükrében vált kiemelkedően fontossá.

Két típusa ismert: az esetek 90%-át kitevő száraz forma (nonexudatív), és a súlyos látásromlásért felelős, de ritkább, kb. 10%-ot képviselő nedves forma (exudatív, neovaszkuláris). Bár a betegség pontos patomechanizmusa nem ismert, de azt tudjuk, hogy a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) kulcsszerepet játszik a nedves forma kialakulásában. A nedves AMD kezelésének elsődlegesen választandó terápiája az anti-VEGF intravitreális injekció, melyet a betegség krónikus jellege miatt folyamatosan ismételni kell. Az AMD sikeres kezelésének kulcsa a korai felismerésében és a szigorú monitorizálásában rejlik, melyet az optikai koherencia tomográfia (OCT) segítségével érhetünk el. Az OCT képalkotás láthatóvá teszi számunkra a retina rétegeit, valamint a betegség következményeit, melyeket összefoglalva OCT biomarkereknek nevezünk. Ezek a következők: a szubretinális / intraretinális folyadékgyülem (SRF/IRF), a pigmentepithel leválás (PED), a külső retinális tubuláció (ORT), hiperreflektív pontok (HF), illetve a szubretinális hiperreflektív anyag (SHRM). Tekintettel arra, hogy a biomarkerek jelenléte határozza meg a betegség aktivitását, vizsgálatuk kulcsfontosságú szerepet játszik a betegek kezelésének, vagy éppen megfigyelésének eldöntésében.

Habár gazdag ismeretekkel rendelkezünk az OCT biomarkerekkel kapcsolatban, még bőven találunk megválaszolatlan kérdéseket. Kutatásunk az OCT biomarkerek klinikai fontosságára koncentrált. Először egy relatíve új biomarkerrel, az ORT-vel foglalkoztunk; vizsgáltuk annak tulajdonságait és a kezelés prognózisában betöltött szerepét. Emellett a biomarkerek automatikus felismerése és kvantifikálása is célunk volt, ezért automata algoritmusokat fejlesztettünk. Az algoritmusok a mesterséges intelligencia közreműködésével segíthetnek a biomarkerek gyorsabb és pontosabb értékelésében, feltárva a közöttük lévő kapcsolatokat, terápiás válaszaikat és terápiára gyakorolt hatásukat, így előmozdítva a nedves típusú AMD megértését.

I. RÉSZ: KÜLSŐ RETINÁLIS TUBULÁCIÓ (ORT)

BEVEZETŐ

Az ORT egy hiporeflektív lumenű, hiperreflektív fallal rendelkező csőszerűen elágazódó struktúra, mely a retina külső magvas rétegében alakul ki. Különböző retina betegségben írtak már le ORT-t, köztük nedves típusú AMD-ben is. Feloszthatók nyitott (nem teljesen záródott,

keresztmetszetben vízszintesen nyújtott alakú) vagy zárt (teljesen záródott, keresztmetszeti képen ovális alakú) formákra. Az ORT összetéveszhető az intraretinális cisztákkal vagy a szubretinális folyadékkal, ezáltal sajnos a nedves AMD túlkezelését eredményezheti. A nedves AMD diagnózisának felállításakor még alacsony az előfordulási gyakorisága, de anti-VEGF kezelés mellett az idővel növekszik. Mivel az ORT a fotoreceptorok degenerációját jelenti, fontossága abban rejlik, hogy megjelenése csökkent látásélességgel jár együtt. Kutatási eredményekből szintén ismert, hogy SHRM (II típusú chorioideális neovaszkularizáció, vagy annak következménye) vagy pigmentepithel atrófia felett jön létre.

Célkitűzéseink:

- **Az ORT prevalenciájának vizsgálata ranibizumabbal vagy aflibercepttel kezelt nedves AMD-s betegeknél**
- **Az ORT megjelenése előtti és utáni injekciószám tanulmányozása**
- **Az SHRM jelenlétének és ORT-vel való kapcsolatának további vizsgálata**

MÓDSZEREK

Retrospektív vizsgálatunk a Szegedi Tudományegyetem Szemészeti Klinikájának Medical Retina egységében zajlott. A tanulmány összhangban volt a Helsinki deklaráció irányelveivel, melyet az egyetem etikai bizottsága is jóváhagyott. Kezelés előtt álló nedves AMD-s betegeket vizsgáltunk, akiket két csoportba soroltunk attól függően, hogy kezelésük ranibizumabbal vagy aflibercepttel történt. A ranibizumab csoport esetén a kezelés elindítása 2014 októbere és 2016 augusztusa közé esett, az aflibercept csoportban ugyanez 2015 áprilisa és 2016 áprilisa között történt. Az átlagos követési idő 16,3 hónap volt a ranibizumab (6-24 hó között) és 9,2 hónap az aflibercept (6-12 hó között) csoport esetén. Minden vizit alkalmával meghatároztuk a legjobb korrigált látásélességet (best corrected visual acuity, BCVA, melyhez ETDRS táblát használtunk), réslámpás vizsgálatot, tágított pupilla melletti fundusvizsgálatot, valamint SD-OCT vizsgálatot végeztünk (Heidelberg Spectralis, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). Mind a ranibizumab (0.5 mg), mind az aflibercept (2 mg) csoport esetén a terápiás rezsimet 3 hónapon át havonta alkalmazott injekcióval kezdtük. Ezt az úgynevezett telítő fázist követően a ranibizumab csoport betegeit pro re nata (PRN) rezsim szerint kezeltük és követtük havi rendszerességgel. A PRN időszakban az újramezelés kritériumai a következők voltak: az OCT-n bármilyen mennyiségű SRF vagy IRF jelenléte, valamint új vérzés megjelenése fundusvizsgálat során. Az aflibercept csoport betegeit a telítő fázist követően kéthavonta kezeltük és követtük. Ezek a terápiás rezsimok a vizsgálat idején érvényes magyarországi kezelési ajánlásoknak feleltek meg.

Az OCT képalkotás során 5.8 x 5.8 mm nagyságú, 25 B-scant tartalmazó mintázatot használtunk, a „follow-up” funkció bekapcsolása mellett. A képek utólagos áttekintésekor az ORT első megjelenésének idejét határoztuk meg. Ugyanakkor, előre meghatározott időpontokban is leírtuk az ORT jelenlétét vagy hiányát: a kezelés elindulásakor (baseline), a 6. és 12. hónapban mindkét

kezelési csoport esetén, valamint a ranibizumabbal kezelt csoportnál a 18. és 24. hónapban úgyszintén. A képeket két retina specialista egymástól függetlenül elemezte. Amennyiben nem volt egyöntetű véleményük egy-egy képről, akkor egy harmadik retina specialista hozott döntést. Az értékelésben ORT pozitív esetnek nyilvánítottuk mind a zárt, mind a nyitott formájú ORT-t. A képelemzők a terápia kezdetén az SHRM jelenlétét vagy hiányát is lejegyezték.

Statisztikai elemzések

A két kezelési csoport BCVA értékeit Mann-Whitney U teszttel hasonlítottuk össze. Az ORT kialakulását túlélés analízissel vizsgáltuk, Cox-arányos veszélyességi modellt használva a két csoport összehasonlítására. A terápia kezdetéig jelenlévő SHRM és az ORT kialakulása közötti összefüggést khi-négyzet próbával elemeztük, relatív kockázatot számolva. Tekintettel arra, hogy az aflibercept csoport 2 havonta biztosan terápiában részesült, az injekciós arányt csak a ranibizumabbal kezelt (PRN rezsim) csoportban határoztuk meg. Az injekciós arány meghatározása az ORT kialakulás előtti és utáni injekciószám összehasonlítását jelentette, elemzéséhez Mann-Whitney U tesztet használtunk. Az egyenlőtlen követési időből fakadó hibás injekciószám értékek korrigálása érdekében (bizonyos betegeknek a hosszabb követési időből fakadóan magasabb volt az injekciók száma), havi injekciószámmal kalkuláltunk, melyet úgy kaptunk meg, hogy a követési időt elosztottuk az adott követési időben beadott injekciók számával. A $p < 0.05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

EREDMÉNYEK

A ranibizumab csoportban 179 beteg 184 szemét vizsgáltuk, a medián életkor ebben a csoportban 74 év volt (51 és 88 év között). Az aflibercept csoportban 51 beteg 52 szemét elemeztük, a medián életkor itt 75 év volt (58 és 87 év között). A BCVA átlaga ETDRS betűszámmal kifejezve a ranibizumab és aflibercept csoportban (átlag \pm SD) 59.16 ± 13.9 (medián 61), illetve 53.96 ± 13.54 (medián 55.5) volt külön-külön (Mann-Whitney U-teszt $p=0.083$). A követési idő végén az ETDRS betűszámok a következőképpen alakultak: 57.19 ± 20.19 (medián 63) and 59.46 ± 15.54 (medián 64) a ranibizumab és aflibercept csoportokban (Mann-Whitney U-teszt $p=0.69$).

A ranibizumab csoportban a terápia indításakor 17.4%-ban volt jelen ORT, mely a 6. hónapra 33.7%-ot, 12. hónapra 45.3%-ot ért el, azután a 18. hónapban tovább nőtt 55,3%-ra, míg a 24. hónapban a szemek 60.8%-ára. Az aflibercept csoportban az ORT előfordulási gyakorisága kiinduláskor 23.1%, a 6. hónapban 40.4%, a 12. hónapban pedig már 50% volt.

A túlélés analízis nem mutatott szignifikáns különbséget az ORT kialakulása tekintetében a ranibizumabbal és aflibercepttel kezelt betegek között ($p=0.79$, kockázati arány 0.92).

Az injekciószám aránya kapcsán az ORT kialakulás előtti, hónapra lebontott átlagos injekciószám 0.37 ± 0.17 volt, míg ORT kialakulás után ez 0.21 ± 0.17 -re csökkent (Mann-Whitney U-test $p=0.004$).

A ranibizumab csoportban az SHRM pozitív szemek 61.15%-ában (139 szemből 85 esetében) alakult ki ORT, míg SHRM nélküli esetekben 22.2%-ban (45 szemből 10 szem esetén). Mindez 2.75-szörös relatív kockázatot jelentett ($p < 0.01$). Az aflibercepttel kezelt csoportban az eredmény a következőképpen alakult: SHRM pozitív szemeknél 55.81%-ban alakul ki ORT (43-ból 24 szem esetén), míg SHRM nélküli szemek esetén nem tapasztaltunk ORT kialakulást (9 esetből egynél sem), azaz az SHRM jelenléte 11.14-szeres relatív kockázatot képviselt ($p < 0.01$).

MEGBESZÉLÉS

Vizsgálatunkban ranibizumabbal vagy aflibercepttel kezelt nedves AMD-s betegeket vizsgáltunk az ORT kialakulásának függvényében. A két csoportban összesen 236 szemet analizáltunk. A csoportok között életkor és legjobb korrigált látásélesség tekintetében nem volt szignifikáns különbség.

Az ORT prevalenciája a követési idő előrehaladtával folyamatosan emelkedett mindkét csoportban. A ranibizumab csoportban az előfordulás gyakorisága majdnem megnégyszereződött a 24. hónap végére, míg az aflibercept csoportban a 12. hónapra duplájára emelkedett az ORT pozitív szemek száma. Vizsgálatunkra úttörő tanulmányként tekinthetünk, hiszen először közölt eredményeket ORT kialakulásának vonatkozásában az aflibercepttel kezelt betegek esetében. A Cox-arányos veszélyességi modell pedig azt mutatta meg, hogy nem volt különbség a két „label” injekciós kezelés, azaz a ranibizumab és az aflibercept között, ORT kialakulás tekintetében.

Statisztikailag szignifikáns különbség mutatkozott azonban a havi injekciós szám ORT kialakulása előtti és utáni arányában. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy ORT kialakulását követően az újkezelések csökkenésére számíthat mind a beteg, mind a kezelőorvos, ami egy igen fontos klinikai prognosztikai mutató.

SHRM és ORT vonatkozásában statisztikailag szignifikáns kapcsolat mutatkozott a két biomarker között, amennyiben SHRM jelen volt a terápia indításakor, az növelte az ORT kialakulásának esélyét, a ranibizumabbal kezelt csoportban a kialakulás kockázatát 2.75-szeresére, míg az aflibercepttel kezelt csoportban 11.14-szeresére.

II. RÉSZ: BIOMARKEREK AUTOMATIKUS FELISMERÉSE

BEVEZETŐ

A nedves AMD kezelésének indokoltsága elsősorban az OCT felvétel alapján határozható meg. Az újkezelés legfontosabb kritériumát az OCT képeken látható visszatérő folyadékgyülem jelenti (SRF, IRF). Azonban a legjobb eredmény érdekében más biomarkereket is fontos figyelembe venni és értékelni. Kutatási eredmények alapján például a PED méretének növekedése

mihamarabbi anti-VEGF terápiát sürget, ezért kulcsfontosságú azt precízen követni. Az SHRM jelentőségét a látásélességgel való kapcsolata adja, miszerint az SHRM vastagságának növekedése és a következményes hegképződés a látásélesség csökkenéshez és/vagy hosszútávú látásvesztéshez vezet. Amennyiben ORT jelenik meg a betegség során, számíthatunk az újakezelések csökkenésére. 2009-ben egy új OCT biomarkert írtak le nedves AMD-ben, nevezetesen a hiperreflektív pontokat (HF). A vizsgálatok szerint a HF gyorsan reagál az anti-VEGF kezelésre, ugyanakkor még a folyadékgyülemek megjelenése előtt emelkedik a száma, így pontos kvantifikálásuk egy sokkal érzékenyebb biomarkerré teheti őket az aktivitás előrejelzésében, mint a folyadék visszatérése. Hangsúlyozandó, hogy ezek a következtetések olyan vizsgálatokon nyugszanak, amelyekben a HF mennyiségi meghatározása manuálisan történt, csak egyetlenegy B-scan-en.

Ugyanakkor be kell látni, hogy ez olyan mennyiségű adatot és elemzést igényel, amely egy szemorvosnak már nem kivitelezhető minden beteg minden egyes OCT felvétele esetén. Éppen ezért segítségül kell hívnunk klasszikus képfeldolgozáson és mesterséges intelligencián alapuló módszereket.

Pontosan emiatt tűztük ki célul olyan algoritmusok fejlesztését, melyek képesek automatikusan felismerni a biomarkereket, úgy mint: SRF/IRF, PED, SHRM, ORT és HF.

MÓDSZEREK

Munkánk nem valósulhatott volna meg a Szegedi Tudományegyetem Képfeldolgozás és Számítógépes Grafika Tanszékének informatikusaival kialakított szoros együttműködése nélkül. Vizsgálataink a Helsinkii irányelvekkel összhangban történtek, amelyeket az egyetem etikai bizottsága engedélyezett. Első lépésként adatokra, pontosabban OCT képekre volt szükségünk. A vizsgálatok 4 évet öleltek fel, mialatt összesen 28 nedves típusú AMD-s beteg 28 szemének adatát használtuk, melyeket retrospektíven választottunk ki a Szegedi Tudományegyetem Szemészeti Klinikáján. A felvételek olyan nedves AMD-s betegektől származtak, akik vagy kezelés előtt álltak, vagy már anti-VEGF kezelésben részesültek. A felhasznált SD-OCT felvételek Heidelberg Spectralis készülékkel készültek és képminőségi pontszámuk 16 feletti volt. A 28 betegtől összesen 36 felvétel állt rendelkezésünkre, melyek a mindennapokban használt klinikai gyakorlatnak megfelelő paraméterezéssel bírtak, azaz: 14 szekvencia 49 B-scant tartalmazott, míg 22 felvétel 25 B-scant, így összesen 1236 B-scannel dolgoztunk. Az OCT felvétel dimenziói a következők voltak: 6 x 6 mm, 512 x 496 pixel felbontással, 11.45 és 3.87 μm pixel mérettel.

A biomarkereket 2 képelemző (szemész rezidens) egymástól függetlenül jelölte meg. A szemész rezidenseket megelőzően retina specialisták képezték ki, mely során a vizsgált OCT biomarkerek megfelelő definícióit is lefektették. A jelöléshez a Medical Imaging Interaction Toolkit nevű szoftvert használták. A képek jelölését követően, a biomarkerek sajátosságait figyelembe véve képfeldolgozó technikákkal különféle átalakításokat végeztünk, melyek a lentebb ismertett új

ötleteken alapuló, egyrészt klasszikus képfeldolgozó műveleteket, másrészt mély tanuláson megközelítéseket tartalmaztak.

Mielőtt a biomarkerekkel foglalkozhattunk volna, először a retina határainak kijelölésére volt szükség, nevezetesen a belső határhártya (ILM) és a retinális pigment epithelium (RPE) azonosítására. Ezt követően megoldást kellett találnunk egy általunk bevezetett új, nem-biomarker abnormalitás felismerésére, amit réteg torzulásnak nevezünk el. A réteg torzulás oka nem más, mint az SRF felhalmozódása, PED okozta bedomborodás, SHRM kialakulása, vagy mindezek együttesen.

A réteghatárok azonosítása: ILM/RPE

Két megközelítést fejlesztettünk a vizsgálatunk során:

1. Függőleges profilanalízisre épülő algoritmus

A képeken zajcsökkentést és kontraszt-erősítést végeztünk egy ún. fuzzy operátor segítségével. A retina ereinek árnyékolásából eredő hibás detektálást elkerülve a képet 10 pixelnyi szélességű oszlopokra szabdtuk fel (megfigyelésünk alapján az érárnnyékok maximális szélessége 10 pixel). A következő fontos lépés ezen képoszlopok függőleges profiljainak analízise volt, mivel a pixelsűrűségben tapasztalható intenzitás változások a szövet változásának (rétegeinek) eredményei. A jel további finomításához a Savitzky-Golay szűrőt alkalmaztuk. Az algoritmus kiválasztotta a két szélső lokális minimumot az adott oszlopon belül, ami vélhetőleg az ILM-nek és RPE-nek felelt meg. Ezután az oszlopokat ismét egymás mellé rendezve kiszűrte a kiugró értékeket, majd görbét illesztett a megmaradt pontokra, kirajzolva az ILM-et és RPE-t.

2. Gráf vágásra épülő megközelítés

Az előző metodika különösen a PED és/vagy SHRM okozta réteg torzulás eseteiben nem volt pontos, ezért felhasználva az előző módszer bizonyos lépéseit továbbfejlesztettük azt. A gráf vágás egy félautomata módszer, mely egy kapcsolati háléhoz hasonlóan működik. Ún. mag-pontokat használ, amiket klaszterezéssel hozhatunk létre automatikusan. A pixelklaszterek alapját azok intenzitása és egymáshoz való közelsége határozza meg. Jobb minőségű képeken empirikusan 5 klasztert különítettünk el, míg gyengébb minőség esetén a klaszterek számát növeltük. Gráf vágás segítségével ezt a felosztást optimalizálni tudtuk. Ezt követően az ILM egy Otsu küszöbölés segítségével meghatározhatóvá vált, annak köszönhetően, hogy a képeken jól elkülöníthetővé vált az üvegtest és a retina. Az RPE meghatározásához az előző metodikát, azaz a függőleges profilanalízist alkalmaztuk, melynek végén a kiugró pontok kiszűrését követően egy harmadfokú egyenlet segítségével görbét illesztettünk, kirajzolva az RPE lefutását.

Értékelés és eredmények

Az algoritmus értékeléséhez összehasonlítottuk az általa kijelölt réteghatárokat a képelemzők kézi jelölésével (7 felvétel, azaz összesen 343 B-scan állt rendelkezésre). Mindkét felszínre minden egyes felvétel esetén kiszámoltuk az átlagos és maximális eltérést, valamint a standard deviációt,

és az eredményeket átlagoltuk. Számításunk alapján az átlagos eltérés 1.98 pixel volt, a maximális 16.57 pixel, míg a standard deviáció 0.94 pixel értékű. A legtöbb esetben az átlagos hibák 2 pixel alatt voltak, melyek elhanyagolhatónak tekinthetők. Módszerünk legnagyobb előnye annak egyszerűségében rejlik, mivel nagyon világos és párhuzamosan futó képfeldolgozó műveletekkel dolgozik, ellentétben más, sok paraméteres megoldással, amelyeket nehéz összehangolni.

A retina réteg torzulásának mérése

A biomarkerek későbbi meghatározásához fontos előzetes információt nyújthat a torzult régiók kezdeti és végpontjának identifikálása. Az előzőekben meghatározott ILM pontjainak segítségével, megkerestük a legmagasabb ILM pontot. Ezt a pontot felhasználva a képet jobb és bal retinárészre osztottuk. Ezután megkerestük a legmélyebben fekvő ILM pontokat mind a bal, mind a jobb oldali retinárészen, majd egyeneseket illesztünk hozzájuk, összekötve őket a korábban meghatározott, alattuk lévő RPE pontokkal, így megtalálva a torzult régió kezdeti és végpontjait.

SRF/IRF

Olyan módszert fejlesztettünk, mely egyidőben képes elkülöníteni a kétféle folyadék-kompartmentet. Először is, a zavaró műtermékeket és a zajt egy él-megtartó **anizotrópiás diffúziós szűrő** segítségével eltávolítottuk. **Kvantálással** a képpontokat 5 intenzitáscsoportba soroltuk, majd **binarizáció** felhasználásával a legintenzívebb pontokat tartottuk meg, amelyek megfeleltek a folyadéktereknek. Lezárásként egy él alapú finomító szűrőt, azaz **aktív kontúrt** használtunk. Ezeket a lépéseket követően már csak a kiszűrt és lehetséges SRF-et és IRF-et kellett elkülöníteni egymástól, valamint a hibásan megmaradt szegmentumoktól. Ehhez egy 3 kritériumos osztályozási rendszert alkalmaztunk, mégpedig: hol helyezkedik el az adott szegmentum (közel a külső reflektív réteghez, azaz az RPE-hez, vagy SHRM-hez) → SRF, vagy távolabb az RPE-től → IRF; jelen van-e rétegtorzulás, igen → SRF, vagy nem → IRF; a méret és kiterjedés (kisebb ovális → IRF). Legutolsó lépésként az általában árnyékok okozta, hibásan kiszűrt szegmentumokat szelektáltuk ki egy egyszerű, terület alapú filter segítségével.

Eredmények

Kutatásunk ezen korai fázisában a jelölt képek nem voltak még elérhetőek, ezért eredményeinket vizuálisan vetettük össze két másik, alapvetően IRF-et szegmentáló irodalmi módszerrel, melyeket a kutatócsapatunk implementált újra. Mindkét irodalmi módszer, csakúgy, mint a mi megközelítésünk, különböző, de alapvetően egyszerű klasszikus képfeldolgozó megoldásokat használt. Közös pont volt, hogy mindegyik módszer a réteghatárok kijelölésével kezdte a meghatározást, ugyanakkor a részletmegoldások teljesen eltértek egymástól. A Wieclawek és mtsa. által publikált technika kevesebb IRF-t talált, míg Wilkins megoldása sok hibás területet is megőrzött. Ezzel szemben a mi módszerünk dinamikus követelményeken nyugszik, éppen ezért ezek a hibák kiküszöbölhetőek voltak. Ezen felül képes volt elkülöníteni egymástól az SRF-et és IRF-et.

PED

A PED az RPE elemelkedése az alatta fekvő Bruch membrántól. A gráf vágás módszer segítségével meghatároztuk a réteghatárokat (az elemelkedett RPE-t is azonosította). Ezt követően megállapítottuk a torzulást, esetünkben a PED kezdeti és végpontját, a retina réteg torzulás mérési megoldásunk segítségével. Ahhoz, hogy a PED-et behatároljuk, ismernünk kell az RPE eredeti helyét a torzult régióban. Ehhez a torzult szakasz előtti és utáni RPE pontokat vettük alapul, amelyekre egy másodfokú görbét illesztettünk, kirajzolva az RPE normál helyzetét. A PED magassága ettől kezdve meghatározható, mint a torzult régió maximuma és hozzá tartozó minimuma (normál RPE vonal) közötti távolság. Kiterjedése a bezárt területből számítható.

SHRM

A betegség korai fázisában a PED határa (vagyis az RPE) tisztán elkülöníthető az SHRM-től, ezáltal szétválaszthatók egymástól. A betegség előrehaladása ugyanakkor fibrosist okoz az ereződött szövetben, aminek következményeként az SHRM és a vaszkularizált PED izoreflektívekké válnak, így a korábban elkülönítő RPE már nem lesz felismerhető. Ezekben az esetekben a két struktúra összeolvad, és egyként azonosítható (PED+SHRM).

A PED vs. SHRM osztályozása

A módszerünk alapját a gráf vágás klaszterezéssel kombinált technikája jelentette. Mivel ezek a biomarkerek az RPE körül helyezkednek el, a torzult régió mentén, illetve közelében meghatároztuk a torzult régiót előző módszerünkkel, és az így nyert területen végeztünk klaszterezést. SRF/IRF meghatározó technikánkat alkalmazva kizártuk azokat, ezáltal szűkítve a fókuszot. Mivel az SHRM a szubretinális térben helyezkedik el, vizsgálatunkat az RPE réteg körüli meghatározott tartományban folytattuk, amihez a retina vastagsága alapján határoztunk meg egy küszöböt. Ezek után azok az egységes klaszterek, amelyek az RPE felett helyezkedtek el, SHRM régióként detektálódtak, míg az RPE alattiak PED-ként szegmentálódtak.

Eredmények

18 szekvencia 594 B-scan-jén hasonlítottuk össze az algoritmust a képelemzők jelöléseivel. Eredményeink kiértékeléséhez Dice együttható és recall metrikát alkalmaztunk. A legtöbb hibát ott észleltük, ahol PED+SHRM nem volt elkülöníthető, azaz egy struktúraként jelölték a képelemzők is. Emellett az átlagos Dice együttható 0.75 felett volt mind a PED, mind az SHRM azonosítása esetén, a recall pedig 0.93 volt a PED és 0.77 az SHRM esetén. Eredményeink igazolják, hogy nem feltétlenül szükséges komplex rendszert létrehozni hatalmas adatbázissal ahhoz, hogy megfelelően elkülönítsük a keresett biomarkereket.

ORT

Tudomásunk szerint, vizsgálatunk volt az első, mely automata módszert dolgozott ki az ORT felismerésére. Kétféle megközelítést alkalmaztunk: klasszikus képfeldolgozó technikát és gépi tanulási módszert.

Detektálás klasszikus képfeldolgozás módszerrel

Mivel az ORT fala hiperreflektív, módszerünk a fal hiperreflektív pontjainak megtalálását célozta meg. Wiener filter segítségével zajcsökkentést végeztünk, majd Hessian detektorral meghatároztuk a hiperreflektív pontokat. Mivel az ORT a külső magvas rétegben, a torzult régióban vagy annak szomszédságában helyezkedik el, egyrészt megállapítottuk a torzult régió helyzetét korábban ismerttetett technikáinkkal, másrészt a retina vastagságának ismeretében a retina külső harmadára koncentráltuk a fenti lépéseket. Felhasználva felismerési technikáinkat, az SRF/IRF komponenseket kizártuk. Az így megmaradt hiperreflektív pontokra távolságtérképet számítottunk, küszöböltük azt és meghatároztuk azok konvex burkát.

Detektálás neurális hálózattal – azaz gépi tanulással módszerrel

A klasszikus képfeldolgozó módszer túlságosan aprólékos lehet, ezért konvolúciós neurális hálózatot (CNN) használva egy általánosabb megoldást is fejlesztettünk. 8 OCT felvétel 320 B képét jelölte meg mindkét képelemző, ebből viszont csak az ORT-t tartalmazó szeleteket tudtuk használni, ami 132 B-scan jelentett. Ez viszonylag kis adatnak számít a neurális hálózatok tekintetében, ezért valós idejű adatbővítő technikákat alkalmaztunk, hogy az ún. túltanulást csökkentsük. Az adatnövelés technikái a következők voltak: forgatás, vízszintes tükrözés, vágás, valamint függőleges és vízszintes eltolás. A kalkulációs idő csökkentése érdekében a képeket átméreteztük (220 x 256 pixelre), valamint az intenzitásukat [0, 1] tartományba normalizáltuk, majd standardizáltuk. A hiperparaméter hangolásához és a tesztelési hiba méréséhez beágyazott keresztvalidációt alkalmaztunk. A CNN-ek közül az eredeti U-Net struktúrával dolgoztunk, némi módosítást követően: a tanítás felgyorsításáért csökkentettük a rétegek számát; megkésztettük a szűrők számát az egyes rétegekben, hogy modellünk nagyobb legyen; minden konvolúciós réteg között Dropout-ot használtunk az utolsó két réteg kivételével a túltanulás elkerüléséért. A veszteségfüggvény optimalizálására a sztochasztikus grádiens módszert alkalmaztuk.

Eredmények

A statisztikai vizsgálatok elvégzéséhez a két képelemző jelöléseit kombináltuk, létrehozva jelöléseik únióját. Az egyes ORT-re, mint objektumra számított Dice együttható jobb volt, mint a globális Dice érték, ami alapján elmondható, hogy amennyiben modellünk megtalálta az ORT-t, azt sikeresen körberajzolta. Az ORT szintű recall érték 0.847 volt, mely elérte a képelemzők teljesítményét, tehát azonos hatékonysággal találta meg az ORT-eket, mint az elemzők. Hiba leggyakrabban a nyitott típusú (nyújtott) ORT-k detektálásánál történt.

HIPERREFLEKTÍV PONTOK (HF)

A HF automatikus felismeréséhez 8 különböző gépi tanulással módszert (neurális hálózatot) fejlesztettünk, melyek a következők voltak, 4 alap típus: mesterséges neurális hálózat (ANN), mély „rectifier” neurális hálózat (DRN), konvolúciós neurális hálózat (CNN), teljesen konvolúciós neurális hálózat (FCN), illetve 4 módosított típus: pixel ANN és pixel DRN (csak a nyers pixeladatokat használta képi jellemzők nélkül, a képi jellemzők hasznosságát tudtuk így

visszaellenőrizni, mivel az ANN és DRN azokat is használta), split DRN (az első neuronréteg rejtett és kettéosztott, a neuronok egyik fele a nyers pixeladatokhoz kapcsolt, másik fele a képi jellemző vektorokhoz), Dice DRN (tanításánál ugyanazt a hibaérték mérést alkalmaztuk, mint amit a végső értékelésnél használtunk). Az automatikus képelemzés során az adatok feldolgozása 4 lépcsőben történt: adatok előkészítése, képi jellemzők kinyerése, tanítás és értékelés. A 8 különböző neurális hálózat különféle elő- és utófeldolgozó lépéseken ment át.

Az adatok előkészítése

Az OCT képek két adatkészletét használtuk fel a vizsgálatban. Az első adatkészletben 16 beteg 16 szemérről készült felvétel szerepelt (23 szekvencia, mely összesen 911 B képet tartalmazott), melyeken a képelemzők megjelölték a HF-et. Ezt az első adatkészletet további két részre osztottuk: 19 szekvenciát a módszerek előkészítéséhez használtunk fel, azaz a képi jellemzők kinyerésének tervezésére, valamint a hálózatok tanítására. A maradék 4 felvételt (mindegyike 49 B képet tartalmazott) teszt adatkészletnek neveztük el, és a hálók értékeléséhez használtuk. A második adatkészlet a másodlagos teszt adatkészlet nevet kapta, mely a legjobban teljesítő neuronháló további validálását szolgálta, és 7 beteg 8 szekvenciáját tartalmazta, azaz összesen 200 B képet.

A CNN és FCN bemenetét maguk a B képek adták, míg a többi hálózat esetén a bemenetet pixelenként bocsátottuk rendelkezésükre. Minden egyes pixel saját képi jellemzőiből származtatott vektort hoztunk létre, amiket azok osztályozásában használtunk fel. Ezek a jellemzők tulajdonképpen a HF indikátorai, melyeket különféle képfeldolgozó technika segítségével nyertünk ki.

Képfeldolgozás és képi jellemzők kinyerése

A HF átmérőjét tekintve 20 és 40 μm közötti reflektív pontokat jelent, melyek reflektivitása magasabb, mint az RPE reflektivitása. Az egyes pixelek jellemző képi vektora további információ kinyerése nélkül nyers marad. Az első jellemző az egyes pixelek intenzitása (reflektivitása) volt, valamint egymáshoz való közelsége 23 x 23 pixelterületen belül. Ezután létrehoztunk 11 képi jellemző értéket a képeken alkalmazott különböző Laplacian of Gaussian (LoG) szűrőkkel és konvolúcióval. A HF térbeli tulajdonságait szintén felhasználtuk, mivel tudtuk, hogy leginkább a külső retina rétegekben helyezkednek el, folyadékgyülemek körül. Ezért meghatároztuk az ILM és RPE rétegeket, valamint az SRF-et is, felhasználva a korábban ismertetett módszereinket. Távolságtérképeket hoztunk létre, és minden pixel képi jellemző vektorához három távolsági értéket adtunk (az adott pixel távolsága az ILM-től, RPE-től és SRF-től). Ezt követően a HF detektálását zavaró pigment partikulumok, valamint érkeresztmetszetek közötti különbségeket számszerűsítettük. A két utóbbi szintén hiperreflektív, viszont a HF-fel ellentétben jobban árnyékolnak az OCT képeken, melyek 20-40 pixel hosszúságú függőleges sötét sávként jelennek meg. Ezért a HF, pigment partikulumok és érkeresztmetszetek elkülönítéséhez minden pixelnél kikalkuláltuk az alatta lévő pixelértékek átlagát.

A hálózatok tanítása

A tanításra szánt képek, valamint a kinyert képi jellemzők segítségével létrehoztuk a hálózatokat. Feladatuk az volt, hogy osztályozzák a pixeleket háttérpixelként vagy HF pixelként. Mivel a tanítóadatok csupán nagyon kis százaléka volt HF (a pixelek kevesebb, mint 1 ezreléke), a hálózatok optimalizálásához az adatok újraelosztását végeztük valószínűségi mintavétel felhasználásával.

Értékelés

A tanítás után a teszt adatkészleten futtattuk le a hálózatokat, és összehasonlítottuk azt a képelemzők jelöléseivel. Az összehasonlítás alapjául a két képelemző egymáshoz viszonyított teljesítménye szolgált, statisztikai analízishez Dice együtthatót alkalmaztuk.

Eredmények és megbeszélés

Az eredmények közel azonosak voltak a képelemzők közötti átfedéshez képest (Dice együttható > 95 % volt). A legjobb eredményt az FCN hozta, a legtöbb esetben megközelítette, vagy akár meg is haladta a képelemzők egymáshoz viszonyított eredményét. Az FCN-en kívül jól szerepelt a Dice DRN, illetve a DRN; utóbbi előnye a képi jellemzők felhasználásából eredt. A Dice DRN jó teljesítménye viszont annak veszteségfüggvényével volt magyarázható. A részletes eredmények alapján elmondható, hogy az FCN, a Dice DRN, valamint a Full DRN megfelelő pontossággal tudja meghatározni a HF-et, mely a képelemzők közötti manuális szegmentációt közelíti.

A legjobban működő FCN további validálásához a másodlagos teszt adatkészletet használtuk fel, ahol megfigyelhettük, hogy az alkalmazott metrikák (Dice, recall, precision, AUC) eredményei a képelemzők manuális szegmentálását ugyanúgy elérték, mint az elsődleges adatkészlet esetén.

Kutatásunk újdonságaként elmondhatjuk, hogy a HF identifikálására többféle módszert is kidolgoztunk és kipróbáltunk. Megelőző vizsgálatokban a hálózat tanítása pusztán a nyers pixeladatok alapján történt, esetünkben ugyanakkor előzetes képfeldolgozással kinyert képi jellemzőket is alkalmaztunk. A két elemző közötti összehasonlítást tekintettük a hálózatok összehasonlításának kiindulópontjaként, és ahhoz mértük a neurális hálózatok teljesítményét. Kutatásunk jól példázza, hogy ellentétben a jelen trendekkel, a kisebb hálózatok is jó eredményeket tudnak elérni óriási mennyiségű tanítóadat nélkül is.

ÖSSZEGZÉS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A szemészet többi ágához képest a retina területén jelentős technikai és tudományos fejlődésnek lehettünk szemtanúi. Az OCT segítségével oly mértékű felbontásban vizsgálhatjuk a szem szöveteit, mely újraértelmezte a képalkotás definícióját. A technika által a rendelkezésünkre álló finom részletek felismerése, kvantifikálása és értelmezése ugyanakkor olyan mennyiségű információt jelent, amelynek feldolgozása nem kivitelezhető a szemorvos munkájának mindennapjaiban. Ezt az ellentmondást egy tudományágak közötti együttműködéssel orvosolhatjuk, ahol a klinikus szakértelmét a modern informatika vívmányaival kombináljuk, felhasználva a klasszikus képfeldolgozás és mesterséges intelligencia területeit. Tekintettel az AMD magas prevalenciájára, kritikus fontosságú, hogy azt a lehető legmegfelelőbbben menedzseljük/szervezzük/irányítsuk. A betegek kezelésének eldöntésében az OCT biomarkerek finom változásai döntő fontosságúak, éppen ezért van szükség szerteágazó és mélyreható tudásra a kifinomult döntéshozatal érdekében, így a terápia hatása maximalizálható, és az elkerülhető költségek csökkenthetők.

PhD tézisemben bemutattam eddigi munkánkat az OCT biomarkerekről nedves típusú időskori makula degenerációban. A biomarkerek közül először az ORT-t vizsgáltuk egy retrospektív „real-life” vizsgálat keretein belül. Megállapításaink:

1.) Vizsgálatunk nem talált szignifikáns különbséget a ranibizumabbal és aflibercepttel kezelt csoport között az ORT kialakulása tekintetében, amely azt jelenti, hogy az ORT kialakulása független a választott anti-VEGF gyógyszertől, vagy annak adagolási ritmusától. Legjobb tudomásunk szerint vizsgálatunk mutatott be először eredményeket aflibercepttel kezelt nedves AMD-s betegekről ORT kialakulás vonatkozásában.

2.) A pro re nata ranibizumabbal kezelt csoportban statisztikailag szignifikáns különbség mutatkozott az ORT megjelenése előtti és utáni injekciószámban, azaz az ORT megjelenése esetén az injekciósám csökkenésére számíthat a kezelőorvos. A rögzített, két havonta alkalmazott aflibercept kezelés nem tette lehetővé, hogy meghatározzuk az aflibercepttel kezelt csoportban az injekciók ORT kialakulás előtti és utáni arányát. Vizsgálatunk elsőként közölt eredményeket az ORT és injekciósám közötti kapcsolatáról.

3.) A terápia kezdetekor jelenlévő SHRM statisztikailag szignifikáns módon korrelált az ORT kialakulással mindkét kezelési csoportban. Számszerűen, a ranibizumab csoportban 2.75-szörös, míg az aflibercept csoportban 11.14-szeres rizikót jelentett az SHRM jelenléte. Nem találtunk korábbi eredményeket, ahol aflibercepttel kezelt betegeknél ezt vizsgálták volna.

Tézisem második részében képfeldolgozással foglalkozó informatikusokkal való együttműködésünk eredményeit mutattam be, ismertetve az egyes OCT biomarkerek (úgy mint: SRF, IRF, PED, SHRM, ORT, HF) automatikus felismerésére és kvantifikálására fejlesztett többféle új algoritmust, melyek mind klasszikus képfeldolgozást, mind mesterséges intelligenciát

alkalmaznak. A kifejlesztett algoritmuskészlet elengedhetetlen az OCT-vel kapcsolatos orvosi kérdések további vizsgálatához.

4.) Kulcsfontosságú orvos-szakértői szerepem volt egy OCT képelemző algoritmuskészlet fejlesztésében. Hozzájárulásom a következő pontokból állt: a probléma felvetése; a képek kiválasztása; a tanításhoz, illetve validáláshoz szükséges annotálás elvégzése/felügyelése; a biomarkerek sajátosságainak, így képi jellemzőinek elmagyarázása; az eredmények orvosi értékelése.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Először is szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Dégi Rózsának a türelmes iránymutatásáért, állandó támogatásáért, mely végigkísért eddigi pályámon V. éves orvostanhallgató koromtól kezdve. Nem vagyok biztos benne, hogy nélküle is a szemészetet választottam volna, amiért örökké hálás leszek.

Köszönettel tartozom a Szemészeti Klinika intézetvezetőjének, Dr. Tóth-Molnár Editnek, hogy biztosította számomra a kutatáshoz és a tézis megírásához szükséges mennyiségű időt.

Külön köszönöm a csodálatos csapatnak, akikkel együtt dolgozom a képfeldolgozó munkacsoportban: Dr. Hadarits Flórának és Dr. Thury Gézának a Szemészeti Klinikáról, valamint Dr. Varga Lászlónak, Dr. Katona Melindának, Dr. Grósz Tamásnak, Prof. Dr. Nyúl Lászlónak és Prof. Dr. Dombi Józsefnek a Képfeldolgozás és Számítógépes Grafika Tanszékről.

Végül, de nem utolsó sorban hálámat szeretném kifejezni feleségemnek, szüleimnek és családomnak a szeretetükért és folyamatos támogatásukért, ami nélkül nem lehetnék most itt.

Társszerzői lemondó nyilatkozat

Co-author certification

Alulírott, Dr. Varga László Gábor (felelős társszerző) kijelentem, hogy Dr. Kovács Attila (pályázó) PhD értekezésének tézispontjaiban bemutatott - közösen publikált - tudományos eredmények elérésében a pályázónak meghatározó szerepe volt, ezért ezeket a téziseket más a PhD fokozat megszerzését célzó minősítési eljárásban nem használta fel, illetve nem kívánja felhasználni.

Szeved 2020.12.10
.....
dátum


.....
szerző

A pályázó tézispontjaiban érintett, közösen publikált közlemények:

László Varga, **Attila Kovács**, Tamás Grósz, Géza Thury, Flóra Hadarits, Rózsa Dégi, József Dombi.
Automatic segmentation of hyperreflective foci in OCT images. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 2019 Sep;178:91-103. doi: 10.1016/j.cmpb.2019.06.019. Epub 2019 Jun 17.

IF (2019): 3.632

1.sz. melléklet

Társszerzői lemondó nyilatkozat

Co-author certification

Alulírott Dr. Katona Melinda (felelős társszerző) kijelentem, hogy Dr. Kovács Attila (pályázó) PhD értekezésének tézispontjaiban bemutatott - közösen publikált - tudományos eredmények elérésében a pályázónak meghatározó szerepe volt, ezért ezeket a téziseket más a PhD fokozat megszerzését célzó minősítési eljárásban nem használta fel, illetve nem kívánja felhasználni.

2020. december 11
.....
dátum

Katona Melinda
.....
szerző

A pályázó tézispontjaiban érintett, közösen publikált közlemények:

Konferenciakiadványok (mindhárom IF nélküli):

Katona M., Kovács A., Dégi R., Nyúl L.G. (2017) **Automatic Detection of Subretinal Fluid and Cyst in Retinal Images**. In: Battiato S., Gallo G., Schettini R., Stanco F. (eds) *Image Analysis and Processing - ICIAP 2017*. Lecture Notes in Computer Science, vol 10484. pp.: 606-616, Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-68560-1_54

Melinda Katona, Attila Kovács, László Varga, Tamás Grósz, József Dombi, Rózsa Dégi, László G Nyúl. (2018) **Automatic Detection and Characterization of Biomarkers in OCT Images**. In: Campilho A., Karray F., ter Haar Romeny B. (eds) *Image Analysis and Recognition. ICIAR 2018*. Lecture Notes in Computer Science, vol 10882. pp.: 706-714, Springer, Cham. pp 706-714, https://doi.org/10.1007/978-3-319-93000-8_80

Katona M., Kovács A., Dégi R., Nyúl L.G. (2020) **Segmentation of Subretinal Hyperreflective Material and Pigment Epithelial Detachment Using Kernel Graph Cut.** In: Burduk R., Kurzynski M., Wozniak M. (eds) *Progress in Computer Recognition Systems. CORES 2019.* Advances in Intelligent Systems and Computing, vol 977. pp.: 98-106, Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-19738-4_11