



Karlsruher Institut für Technologie

Fakultät für Maschinenbau

Institut für Automation and angewandte Informatik

Segmentierung und Merkmalsextraktion in 3D-Mikroskopiedaten

Masterarbeit in Elektrotechnik und Informationstechnik

eingereicht von

David Exler

Erstprüfer: Prof. Dr. Gerardo Hernandez-Sosa

Zweitprüfer: apl. Prof. Dr. Markus Reischl

2025

Abstract Abstract.

Zusammenfassung Deutscher Abstract.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
2 Theorie	3
2.1 Überblick	3
2.2 Methoden	3
2.2.1 Benchmark	3
2.2.2 Segmentierung	4
2.2.3 Klassifikation	5
2.3 Literaturrecherche	10
2.3.1 Benchmark	10
2.3.2 Segmentierungsmodelle	11
2.3.3 Klassifikator	12
2.4 Offene Probleme	14
2.5 Zielsetzung	14
3 Neues Konzept	17
3.1 Daten	18
3.2 Injektive Panoptische Qualität	20
3.3 Klassifikatormethoden	22
3.3.1 Übersicht	22
3.3.2 Encoder	23
3.3.3 Vorverarbeitung	23
3.3.4 Vortraining	25
3.3.5 Klassifikations-Kopf	27
3.4 Segmentierung	28
3.4.1 Modelle	28
3.4.2 Nachverarbeitungsmethoden	28
4 Implementierung	31
4.1 Überblick	31
4.2 Segmentierungsmodelle	31
4.3 Klassifikatoren	32
4.4 3D-Zelldaten-Pipeline	34
4.4.1 Übersicht	34
4.4.2 Segmentierung	34

4.4.3	Labeling-App	37
4.4.4	Methodenvergleich	39
4.4.5	Training	40
4.4.6	Visualisierung	40
4.5	Umsetzung	41
5	Ergebnisse	43
5.1	Überblick	43
5.2	Hardware	43
5.3	Segmentierung	43
5.4	Klassifikation	47
5.4.1	Überblick	47
5.4.2	Encoder	49
5.4.3	Vortraining	49
5.4.4	Klassifikations-Kopf	53
5.4.5	Vorverarbeitung	54
5.4.6	Wichtigkeit der Marker	56
6	Diskussion	59
6.1	Überblick	59
6.2	Segmentierung	59
6.3	Klassifikation	61
7	Zusammenfassung	69
7.1	Überblick	69
7.2	Zusammenfassung	69
7.3	Ausblick	70
A	Appendix	73
A.1	SWINV2 Architektur	73
A.2	Injective Panoptische Qualität (IPQ)-Ergebnisse	74
A.3	Einzelne Ergebnisse aller Klassifikator Kombinationen	80
	References	83

Einleitung 1

Myotuben sind mehrkernige Muskelzellfäden [1, 2]. Sie repräsentieren ein intermediäres Stadium der Muskelentwicklung, in dem sich die grundlegende Organisation der Muskelfaser bildet [3]. Menschliche Myotube-Kulturen [4] können für diverse Forschungszwecke als Modellsystem eingesetzt werden. Sie werden beispielsweise verwendet, um Muskelkrankheiten zu modellieren [5], Antworten auf neue Medikamente vorherzusagen [6] oder synthetische Muskeln [7] sowie Muskelregeneration [8] zu erforschen. In den meisten Fällen werden die Myotuben, ihre Zellkerne und zugehörige, umliegende Strukturen eingefärbt und unter dem Mikroskop analysiert [9, 10, 11]. Die Bilddaten entstehen dabei mit unterschiedlichen Herstellungsbedingungen, Färbungen und Aufnahmegeräten, was eine generalisierte Automatisierung erschwert [12, 13, 14, 15].

Im Zuge der vorliegenden Arbeit werden nach dem Protokoll von Couturier et al. [16] beschriebenen Protokoll hergestellte in-vitro-Kulturen von Myotuben analysiert und die Ergebnisse automatisiert ausgewertet. Aus den Daten werden interpretierbare Merkmale wie die Zellkernanzahl, die Verteilung der Zellkernklassen und das Myotubenvolumen extrahiert. Diese Merkmale ermöglichen es, die Entwicklung der Myotuben ohne manuellen Aufwand zu vermessen und zu überwachen. Alle hierzu angewandten Methoden sind auf Basis quantitativer Vergleiche aktueller Forschung gewählt und bestmöglich auf die Anforderungen angepasst.

Um die Analyse biologischer Daten effizient und in großem Umfang durchführen zu können, sind Bildverarbeitungsprogramme notwendig [17], da die manuelle Auswertung sowohl anspruchsvoll als auch zeitintensiv ist [5]. Myotuben in Forschungsumgebungen ordnen sich in chaotischen Netzen mit Verschränkungen und Überkreuzungen an [18]. Aktuell sind Bildverarbeitungsmethoden nicht in der Lage, zuverlässig einzelne Myotuben in einem dreidimensionalen Bild zu erkennen und von ihrem Anfang bis zum Ende zu verfolgen [19]. Besonders die Bündel, die in der Entwicklung der Myotuben häufig entstehen, verhindern oft die getrennte Segmentierung der einzelnen Myotuben [7]. Außerdem stellen die dreidimensionalen Daten eine große Herausforderung für Hard- und Software dar [20, 21, 22, 23]. Besonders herausfordernd sind dabei die stark erhöhten Speicher- und GPU-Anforderungen und dass weniger Methoden sowie Datensätze etabliert sind [24, 25, 26]. Der Mehrwert einer dritten räumlichen Dimension kann allerdings die Ergebnisse wesentlich verbessern, was die Verarbeitung von 3D-Daten daher zu einem zentralen Forschungsaspekt macht [27, 28].

Das übergeordnete Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Segmentierung einzelner Myotuben in dreidimensionalen Mikroskopiedaten zu ermöglichen. Aus den Segmentierungsmasken werden daraufhin morphologische Eigenschaften der einzelnen Myotuben gewon-

nen. Außerdem können die Ergebnisse genutzt werden, um den Status der Entwicklung einzelner Myotuben, unter anderem, anhand der darin enthaltenen Zellkerne zu ermitteln. Deshalb ist ein weiteres Ziel, die Zellkerne zu segmentieren und zu klassifizieren. Für die Klassifikation soll im Rahmen dieser Arbeit Expertenwissen zeiteffizient erfasst und genutzt werden. In einer Applikation die keine Programmierkenntnisse benötigt sollen sowohl die Segmentierung, als auch die Annotation durch Expert*Innen, der Klassifikator-Methodenvergleich zur Anpassung an neue Daten und das Klassifikatortraining durchführbar sein. Aus diesen Zielen ergeben sich die folgenden Mehrwerte der vorliegenden Arbeit:

- Ein Vergleich etablierter Segmentierungsmodelle für Nuclei auf vorher ungesenen, dreidimensionalen Daten.
- Eine Labeling App, die zeiteffizient Expertenwissen über die Klassen von Nuclei in dreidimensionalen Daten erfasst.
- Ein neues Kriterium zum Vergleich von Segmentierungsmodellen im Hinblick auf die Eignung der entstehenden Segmentierungsmasken zur Extraktion interpretierbarer Merkmale.
- Ein Vergleich von Methoden des Vortraining, der Vorverarbeitung sowie etablierter Encoder und neuer Decoder für die Klassifikation von dreidimensionalen Zellkernen.
- Ein optimaler Klassifikator für die Nuclei der vorliegenden Arbeit.
- Eine Applikation mit automatischem Ablauf, die Nutzer*Innen durch die Annotation und das Training von Klassifikatoren leitet und einen Methodenvergleich für den Klassifikator ermöglicht.
- Eine Methode, um das Klassifikationsergebnis zu nutzen, um die Instanzsegmentierung von Myotuben zu verbessern. (*NOTIZ: Das klappt sehr schlecht, soll das dann raus?*)

Die nachfolgende Ausarbeitung ist wie folgt strukturiert. In Kapitel 2 sind Grundlagen, relevante Literatur und der Stand der Technik beschrieben. Außerdem sind dort offene Probleme, sowie die Ansätze, die die vorliegende Arbeit verfolgt um sie zu lösen, dargestellt. Die Methodik (Kapitel 3) beschreibt das neue, praktische Konzept, das die Arbeit einführt, und das Kapitel 4 (Implementierung), wie diese Methoden umgesetzt werden. Im Kapitel (5) (Ergebnisse) werden ungewertet die Ergebnisse der durchgeführten Experimente dargestellt, im Kapitel 6 (Diskussion) werden dann diese Ergebnisse ausgewertet. Mit dem Kapitel 7 (Zusammenfassung) schließt die Ausarbeitung ab, legt kurz die gesamte Arbeit dar und liefert einen Ausblick für zukünftige Ziele. Der Code dieser Arbeit ist verfügbar unter: github.com/DavidExler/Masterarbeit.

Theorie 2

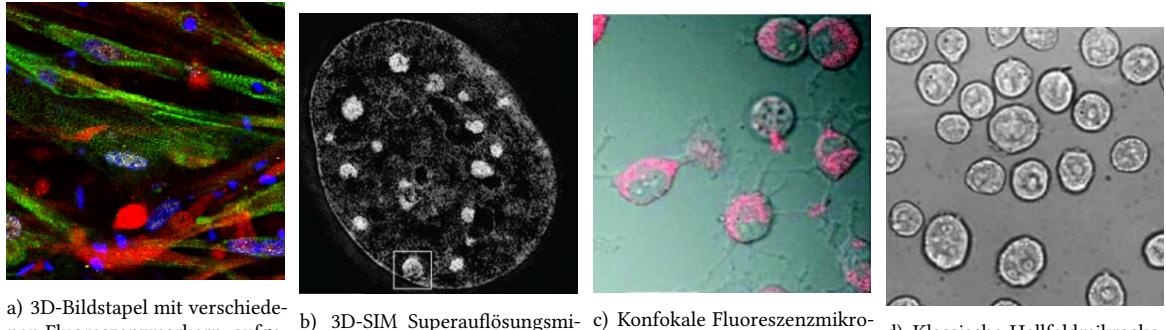
2.1 Überblick

Im nachfolgenden Kapitel wird der theoretische Hintergrund der vorliegenden Thesis behandelt. Hierzu werden sowohl für die Arbeit relevante Methoden als auch die Literatur verwandter Projekte und Studien zum aktuellen Stand der Technik beleuchtet. Da die Arbeit im Kern die panoptische Segmentierung von Zelldaten behandelt werden hier Methoden zur Instanzsegmentierung und zu Klassifikation angeführt. Die Methoden zu Instanzsegmentierung sind konzentriert auf Künstliche Intelligenz ([KI](#))-Methoden, von klassischen Ansätzen wird abgesehen. Für die Klassifikation wird von grundlegenden Erklärungen von Deep-Learning-Methoden abgesehen und moderne Ansätze sowie relevante Methoden zur Visualisierung oder Optimierung von Klassifikatoren angeführt. Um die Methoden in einem vergleichbaren und reproduzierbaren Aufbau zu demonstrieren werden außerdem Benchmark-Methoden beleuchtet. Dem theoretischen Hintergrund wird der Neuheitswert der Arbeit gegenübergestellt, um den Beitrag des vorliegenden Projekts zur Forschung zu verdeutlichen.

2.2 Methoden

2.2.1 Benchmark

Um die Leistungsfähigkeit der Applikation, die im Rahmen der vorliegenden Thesis erstellt wird, zu prüfen, sind umfangreiche Datensätze notwendig. Für jede isolierbare Aufgabe muss ein Datensatz gewählt werden, der Annotationen entsprechend dieser Aufgabe mitbringt. Die Herausforderung bei der Auswahl eines Datensatzes ist, dass die darin enthaltenen Daten (Quelldaten) den Daten, für die die Anwendung entworfen wird (Zieldaten), *ähnlich* sein müssen. So wird sichergestellt, dass sich die auf den Quelldaten gemessene Qualität der Anwendung sinnvoll auf die Zieldaten übertragen lässt [29]. Der Begriff *Ähnlichkeit* ist mehrdeutig und das Definieren von Merkmalen in Daten, die das Messen von *Ähnlichkeit* ermöglichen, ist anspruchsvoll. Metriken, die als Maß für *Ähnlichkeit* genutzt werden müssen, müssen maßgeschneidert zur Anwendung passen und sind bereits breit erforscht [30, 31, 32]. Daten können mithilfe passender Metriken *Ähnlichkeits*-gruppen, sogenannten *Domänen*, zugeordnet werden [33]. Beispiele für Domänenunterschiede in biomedizinischen Bildaufnahmen sind verschiedene Farb-Marker, Aufnahmegeräte oder Zoom-Stufen. In Abb. 2.1 sind Zellkerne in verschiedenen Darstellungen angebildet.



a) 3D-Bildstapel mit verschiedenen Fluoreszenzmarkern, aufgenommen mit einem Leica TCS SP8 Konfokalmikroskop.
 b) 3D-SIM Superauflösungsmikroskopie mit DAPI-Färbung [34].
 c) Konfokale Fluoreszenzmikroskopie mit antikörperbasierten Farbstoffen [35].
 d) Klassische Hellfeldmikroskopie [36].

Abb. 2.1 | Vier Aufnahmen von Zellen. Die Bilddomänen sind durch die verschiedenen Marker und Aufnahmetechniken klar zu unterscheiden [34, 35, 36].

Intuitiv gehören die sichtbaren Objekte zur Klasse *Zellkern*, aber der Stil unterscheidet sich stark. Sie unterscheiden sich also in ihrer Domäne. In der Bildverarbeitung ist es essenziell, die Domäne der Quelldaten im Hinblick auf die Aufgabe der Applikation zu beachten [37, 38]. Hierzu kann ein Datensatz mit passender Domäne gewählt werden oder eine Domänenanpassung durchgeführt werden [39, 40, 41].

Ghosh et al. definieren Domänenanpassung: „Gegeben Quell- und Ziel-Domänen D_s und D_t sowie die Aufgaben τ_s und τ_t , zielen Domänenadaptations-basierte Verfahren darauf ab, ein Modell mit Parametern θ zu erlernen, das für die Zielaufgabe geeignet ist, wenn $D_s \neq D_t$ und $\tau_s = \tau_t$.“ [42].

2.2.2 Segmentierung

Segmentierung ist die Aufgabe, Pixel mit semantischen Annotationen zu klassifizieren (semantische Segmentierung [43]), einzelne Objekte voneinander abzugrenzen (Instanzsegmentierung [44]) oder beides zu kombinieren (panoptische Segmentierung [45]) [46]. In Abb. 2.2 sind beispielhaft Annotationen der verschiedenen Arten von Segmentierung zu sehen [45].

Links zu sehen ist ein exemplarisches Originalbild, daneben sind von links nach rechts Segmentierungsmasken einer semantischen-, Instanz- und panoptischen Segmentierung zu sehen. In der semantischen- sowie in der panoptischen Maske sind die Farben der Objekte mit einer interpretierbaren Objektklasse verknüpft.

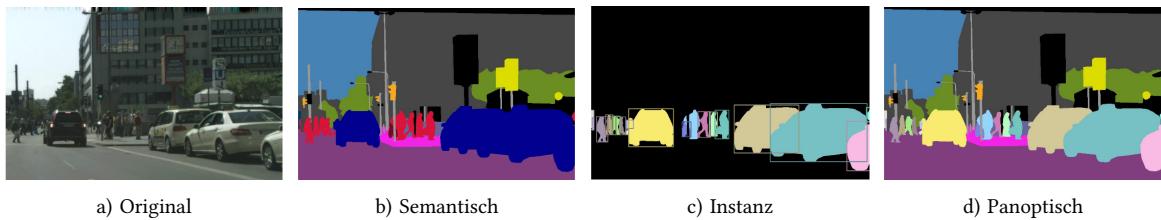


Abb. 2.2 | Die verschiedenen Arten der Segmentierung. Links ist das Originalbild zu sehen, rechts folgend sind die zugeordneten pixelweisen Annotationen farblich eingezeichnet. Gleiche Farben bedeuten gleiche Annotationen. In der semantischen Maske sind gleiche Annotationen mehrerer Objekte von semantisch gleichen Klassen zu finden. In der Instanz-Maske ist jedem Objekt eine individuelle Annotation zugeordnet, ungeachtet der Klasse des Objekts. In der panoptischen Maske sind auch einzelne Objekte getrennt, den Annotationen verschiedener Klassen werden allerdings noch semantische Klassen zugeordnet [45].

Für die verschiedenen Segmentierungsarten werden Architekturen an die Aufgabe angepasst [47, 48]. Modelle sind dabei in der Regel nach dem Vorbild des *U-Net* [49] aus einem Merkmalsextraktor (Encoder) und einem Vorhersagenetz (Decoder) aufgebaut [50]. Der Encoder nutzt beispielsweise Bildfaltungen mit Kernen, deren optimale Gewichte anhand von annotierten Daten gelernt werden, zur Merkmalsextraktion [51]. Dabei verringert der Encoder iterativ die Größe der Eingabe jeder Schicht des Netzes in X, Y und im dreidimensionalen Fall in Z Richtung, erhöht dabei aber die Informationstiefe pro verbleibendem Pixel, bis ein hochdimensionaler Merkmalsvektor übrig bleibt. Der Decoder hebt, meist durch transponierte Bildfaltungen [52, 53], die räumliche Auflösung schrittweise wieder an, indem er die Bilddimensionen vergrößert und die Merkmalskanäle gleichzeitig reduziert [54]. Über sogenannte Skip-Connections [49] werden dabei Merkmale aus den entsprechenden Encoder-Schichten mit den Decoder-Stufen verknüpft, sodass sowohl globale Kontextinformationen als auch feine Strukturen für die Segmentierung erhalten bleiben [55, 56].

Biologische und medizinische Bilddaten sind oft dreidimensionale Volumen. Dreidimensionale Daten erhöhen sowohl den Rechenaufwand für die Segmentierung, als auch die Komplexität von Segmentationmodellen und stellen damit eine besondere Herausforderung dar [57, 58, 59]. Methoden für zweidimensionale Segmentierung können angepasst werden, um direkt mit dreidimensionalen Daten zu operieren [60]. Es sind auch explizite 3D-Segmentierungsmethoden erforscht [61, 62]. Da die Auflösung in Z-Richtung oft geringer ist, als die räumliche Auflösung werden stattdessen of 2.5D-Methoden verwendet, die die Beziehungen zwischen Volumenschichten gesondert modellieren [63]. Auch 2D-Methoden werden für 3D-Segmentierung eingesetzt, indem einzelne 2D-Schichten des Volumens segmentiert werden und durch anschließende Nachverarbeitung zusammengefügt werden [64]. Die besten Ergebnisse liefern in der Regel 3D-Methoden [65].

2.2.3 Klassifikation

Klassifikation beschreibt das Zuordnen einer Kategorie oder Klasse zu der eine gegebene Stichprobe gehört [66]. Hierzu werden die Merkmale des Objekts, das in der Stichprobe präsentiert wird, durch Beobachtung oder Messung gewonnen [67]. Nach wiederhol-

ter Extraktion der Merkmale von Objekten verschiedener Klassen werden Muster in den Merkmalen gesucht, um Regeln für die Zuweisung von Objekten zu Klassen auf Basis der Muster festzulegen [68, 69]. Sowohl die Algorithmen zur Merkmalsextraktion als auch zum Ableiten der Muster und Regeln können mit unterschiedlich hohem Rechenaufwand, Abstraktionsgrad und Maß an Generalisierbarkeit implementiert werden [70]. Zur Merkmalsextraktion werden klassisch beschreibende Eigenschaften des Objekts berechnet und kombiniert [71]. Als Eigenschaften eignen sich beispielsweise die Verteilung der Farbkäne, eine Charakterisierung der Textur, die Fläche des Objekts [72, 73]. Eine weitere verbreitete Eigenschaft ist eine Kombination von Parametern der Fourier-Entwicklung einer Kontur, die aus der diskreten komplexen Zahlenfolge

$$c[n] = x[n] + i \cdot y[n], n = 0, \dots, N - 1 \quad (2.1)$$

mithilfe der diskreten Fourier-Transformation

$$F[k] = \sum_{n=0}^{N-1} c[n] \cdot e^{-2\pi i \frac{kn}{N}}, k=0, \dots, N-1 \quad (2.2)$$

gebildet werden [74, 75]. Hierbei sind $x[n]$ und $y[n]$ die Koordinaten des n -ten von N equidistanten Stützpunkten entlang der Kontur des Objekts, $c[n]$ ihre komplexe Darstellung und $F[k]$ die Fourier-Transformation der komplexen Darstellungen ist. Die Ergebnisse der Fourier-Transformationen mehrerer Stützpunkte werden dann als Eigenschaft verwendet. Merkmalsvektoren werden häufig abstrahiert und in ihrer Dimension reduziert, beispielsweise durch eine Principal Component Analysis [76, 77]. Sind keine Annotationen verfügbar, werden diese Metriken zum Clustering verwendet [68, 78]. Wenn nur wenige Annotationen vorhanden sind, können semi-supervised-Verfahren angewandt werden, die besonders die Ähnlichkeit der Stichproben ohne Annotationen herausarbeiten [79, 80]. Eine prominente Methode des semi-supervised-Lernens ist das label spreading, das mithilfe einer Kernfunktion [81, 82] die Dimension von Merkmalsvektoren ändert und in einen alternativen Merkmalsraum transformiert [83]. Verschiedene Kernfunktionen wie die Radiale-Basis-Funktion [84]

$$\phi(x, y) = \exp(-\gamma \|x - y\|^2), \quad \gamma > 0 \quad (2.3)$$

werden für das label spreading eingesetzt [85]. Hierbei sind $x, y \in \mathbb{R}^d$ die Koordinaten der Stichprobe im Merkmalsraum, γ ein Parameter, der die Breite der Radialbasisfunktion steuert und $\phi(x, y)$ der Wert der Radialen-Basis-Funktion. Die meist genutzten Methoden der Klassifikation sind logik-basierte Ansätze wie Entscheidungsbäume, Perzepron-basierte Ansätze wie neuronale Netze, statistische Ansätze wie Bayes'sche Netzwerke oder Nächster-Nachbar-Verfahren und Support Vector Maschinen [86]. Diese Methoden basieren direkt auf Ähnlichkeiten zwischen den Merkmalen von unbekannten Stichproben und Stichproben mit bekannter Klasse [87]. Moderne Anwendungen nutzen zur Merkmalsextraktion verschiedene Deep-Learning-basierte Methoden [88]. Vor allem Convolutional Neural Networks (CNNs) [89] und Vision Transformers (ViTs) [90] sind in der Lage, aus

Bildern aussagekräftige, abstrakte Merkmale zu generieren [91]. Ein Netz, das zur Merkmalsextraktion eingesetzt wird, wird als **Encoder** bezeichnet. Als **Klassifikations-Kopf** wird der zusammenfassende Teil des Klassifikators bezeichnet, er gibt einen Zuverlässigkeitswert für jede Klasse aus. Der State-of-the-Art für den Klassifikations-Kopf ist ein neuronales Netz, das auf Basis der abstrakten Merkmale des Encoders eine Zuverlässigkeit für jede Klasse ausgibt [92]. Hierzu lernt in der Regel ein Multi-Layer-Perzepron auf Basis von Trainingsdaten mit zugehöriger Annotation den Zusammenhang zwischen den Merkmalen und der assoziierten Klasse [93].

Für das Training von Klassifikatoren sind ein Loss-Funktion und häufig Vorverarbeitungsmethoden notwendig. Der Cross-Entropy Loss [94]

$$\mathcal{L}(\theta) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N -\log p(\tilde{y} = \tilde{y}_n | x_n, \theta) \quad (2.4)$$

ist die etablierte Loss Funktion für das Training von Klassifikatoren [95, 96]. Hierbei ist Loss L abhängig von der Annotation \tilde{y} und der Vorhersage \tilde{y}_n , die von den Eingangsdaten x_n und den Parametern des Modells θ bestimmt wird. Ein Problem der Cross-Entropy Loss Minimierung ist ihre Anfälligkeit für Rauschen der Annotationen. Viele verschiedene Ansätze in der Forschung gehen dieses Problem an [97, 98, 99]. Eine häufig genutzte Methode ist die Minimierung des Generalized Cross Entropy Loss [100]

$$\arg \min_{\theta, w \in [0, 1]^n} \sum_{i=1}^n w_i \mathcal{L}_q(f(x_i; \theta), y_i) - \mathcal{L}_q(k) \sum_{i=1}^n w_i, \quad (2.5)$$

wobei \mathcal{L}_q die generalisierte Form des Cross-Entropy Loss beschreibt, die durch den Parameter q reguliert wird. Dieser kontrolliert den Einfluss fehlerhafter oder unsicherer Trainingsbeispiele. Die Gewichte $w_i \in [0, 1]$ dienen der Gewichtung einzelner, besonders unsicherer Trainingsinstanzen. Das Modell $f(x_i; \theta)$ gibt die Vorhersage für die Eingabe x_i basierend auf den Modellparametern θ aus, während y_i die entsprechende Zielannotation ist.

Bilineare Interpolation ist ein Verfahren zur Bildvorverarbeitung, das die Dimension eines Bilds erhöht, indem Werte für neue Pixel zwischen bestehenden geschätzt werden [101]. Zur Schätzung des neuen Wert wird dabei ein gewichtetes Mittel aus den Vier benachbarten Pixeln genommen:

$$\hat{f}(x, y) = (1-p)(1-q)f_{i,j} + p(1-q)f_{i+1,j} + (1-p)qf_{i,j+1} + pqf_{i+1,j+1}, \quad (2.6)$$

wobei $\hat{f}(x, y)$ der neue Wert, $p, q \in [0, 1]$ die relativen Abstände zu den Nachbarpixeln, i, j die Indizes der Nachbarpixel und f die Intensität der Nachbarpixel sind.

Normierungsmethoden werden während dem Training eingesetzt, um die Daten zu regulieren und Signale nicht unverhältnismäßig groß oder verschwindend klein werden zu

lassen. Batch Normalization normalisiert die Eingaben einer Schicht über ein Mini-Batch, indem für jedes abstrakte Merkmal der Schicht, das bei der Dimensionsreduktion des Bilds entsteht, eine Transformation durchgeführt wird [102]. Für die Transformation wird der Mittelwert des Mini-Batches vom Wert abgezogen und durch die Standardabweichung geteilt. Layer Normalization verfolgt einen ähnlichen Ansatz, berechnet Mittelwert und Varianz aber pro Schicht von allen Neuronen [103]. Beide stabilisieren das Training tiefer neuronaler Netze und lassen die Normalisierung als Bestandteil der Modellarchitektur lernen, statt sie nur als Vorverarbeitungsschritt durchzuführen [104, 105].

Als Vergleichsmetrik der Klassifikation wird für gewöhnlich die Genauigkeit des getesteten Netz auf dem annotierten Daten verwendet:

$$\text{Genauigkeit} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \mathbf{1}\{\hat{y}_i = y_i\}, \quad (2.7)$$

wobei N die Anzahl der Vorhersagen, \hat{y}_i die Vorhersage des Klassifikators und y_i die Annotation ist.

Um das Verhalten von Klassifikatoren zu visualisieren gibt es verschiedene Methoden. Eine dieser Methoden ist Grad-CAM [106]. Grad-CAM steht für Gradient-weighted Class Activation Mapping und ist eine Methode um räumlich aufgelöste Relevanzkarten aus tiefen neuronalen Netzen zu erzeugen. Dabei werden die Gradienten einer bestimmten Klasse in Bezug auf die Aktivierungen einer Schicht des Modells verwendet, um Regionen des Eingabebildes zu finden, die besonders stark zur Vorhersage beitragen. Die resultierende „Wichtigkeits“-Karte wird auf die Eingabe zurückprojiziert und typischerweise als farbige Heatmap dargestellt. Abb. 2.3 zeigt zwei Beispiele einer solchen Heatmap [106].

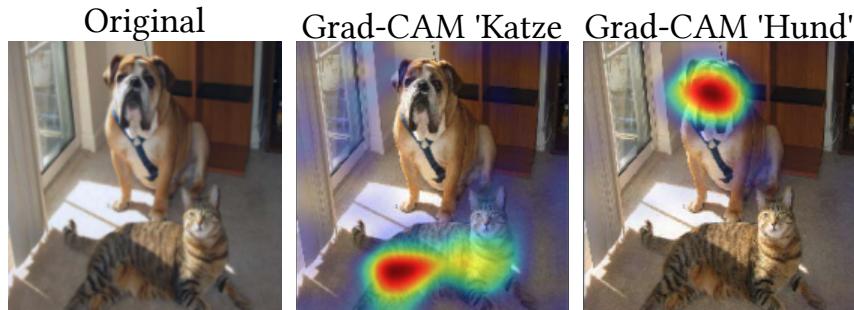


Abb. 2.3 | Die Abbildung zeigt links ein Bild. Daneben sind zwei Heatmaps platziert, die mit Grad-CAM die Wichtigkeit räumlicher Regionen des Bilds für die Klassen „Katze“ und „Hund“ visualisieren.

Mithilfe der extrahierten Gradientenkarten lassen sich neben der Wichtigkeit bestimmter räumlicher Regionen der Eingangsdaten auch relative Wichtigkeiten der Eingangskanäle bestimmen. Durch Integration des Gradientenfelds werden stabilere und interpretierbare Aussagen getroffen. Die Integration gleicht lokale Schwankungen der Gradienten aus. Mithilfe der Kosinus-Ähnlichkeit, welche den Winkel zwischen zwei Vektoren im Merkmalsraum beschreibt und somit die Übereinstimmung ihrer Richtung quantifiziert,

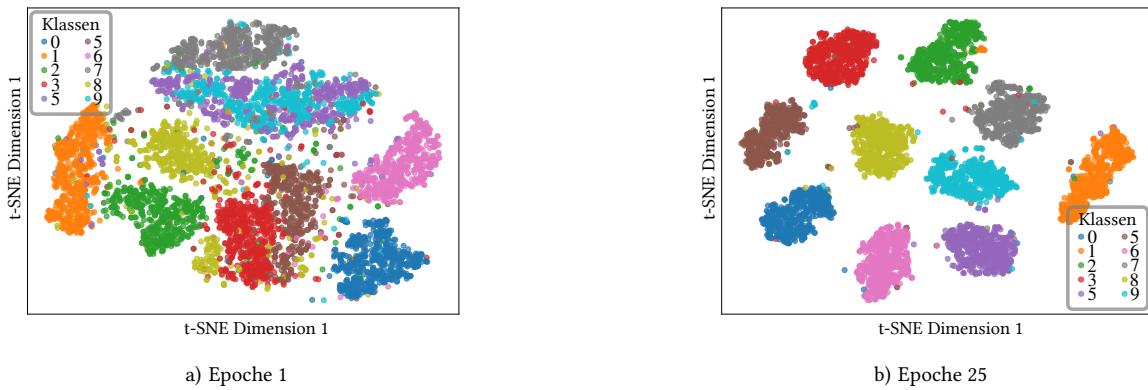


Abb. 2.4 | Die Abbildung zeigt zwei Scatterplots. Beide Scatterplots visualisieren den Merkmalsraum eines Klassifikators, links nach der ersten Epoche des Trainings, rechts nach 25 Epochen. Mithilfe der **t-SNE** ist die hochdimensionale interne Repräsentation der Merkmale in eine zweidimensionale Ansicht projiziert. Einige Stichproben des MNIST-Datensatz sind in dieser zweidimensionalen Ansicht platziert und ihre Klassen sind farbig markiert.

werden die integrierte- und die nicht-integrierte Karte auf Konsitenz geprüft. Eine hohe Kosinus-Ähnlichkeit weist darauf hin, dass beide Karten auf ähnliche Eingabemuster reagieren und das Modell intern konsistente Repräsentationen der relevanten Merkmale gelernt hat.

Eine weitere Möglichkeit die Effizienz eines Klassifikators zu visualisieren ist ein Scatter-Plot, der den Merkmalsraum, in den der Klassifikator die Eingangsdaten abbildet, niederdimensional darstellt. In dem Scatter-Plot werden dann Stichproben von verschiedenen Klassen eingetragen. Die Cluster-Bildung in dem Scatterplot visualisiert, wie gut die Klassen im Merkmalsraum getrennt sind und gibt eine Schätzung für die Güte des Klassifikators auf den vorliegenden Daten. Um den Merkmalsraum in eine visualisierbar niedrige Dimension zu projizieren wird häufig die t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding (**t-SNE**) genutzt [107, 108]. Die **t-SNE** ist eine nicht-lineare Methode zu Dimensionsreduktion, speziell für die Visualisierung hoch-dimensionaler Daten in zwei oder drei Dimensionen. Die Methode modelliert die Abstände der Datenrepräsentationen im hochdimensionalen Raum als Wahrscheinlichkeitsverteilungen und definiert eine Transformation in eine niederdimensionale Repräsentation mit entsprechenden Wahrscheinlichkeitsverteilungen. Mit einem Optimierungsalgorithmus minimiert die **t-SNE** dann die Kullback-Leibler-Divergenz der beiden Wahrscheinlichkeitsverteilungen, um die Entfernung der Datenpunkte in beiden Räumen möglichst ähnlich zu machen. Abb. 2.4 zeigt exemplarisch zwei solcher Scatterplots für dem MNIST-Datensatz [109]. Die Scatterplots visualisieren den Merkmalsraum des selben Klassifikators nach einer Epoche Training (links) und nach 25 Epochen Training (rechts). Links sind die Klassen-Cluster schlechter getrennt als rechts. *TODO: 3D-bzw 2.5D - Welche Methoden werden speziell für 3D-genutzt, gibt es Methoden zur Anpassung?*

2.3 Literaturrecherche

2.3.1 Benchmark

Da das manuelle Erstellen der Annotationen für die Segmentierung von Zelldaten mit erheblichem manuellem Aufwand verbunden ist und zusätzlich Expertenwissen voraussetzt, sind Datensätze hierfür selten. Einige prominente Datensätze mit Annotationen für eine Instanzsegmentierung, deren Domänen zu den Zieldaten der Anwendung dieser Arbeit ähnlich sind, sind:

- LiveCell [110], ein manuell annotierter und Expert*Innen-validierter Datensatz aus 5.239 2D-Bildern. Die Daten sind mit Phasenkontrastmikroskopie gesammelt und enthalten 1.686.352 individuelle Zellen von acht verschiedenen Zelltypen.
- Yeaz [111], ein zweiteiliger Datensatz von Hefe-Zellen aus 87 Phasenkontrast-Bildern mit insgesamt 10.422 Zellen und 614 Hellfeld-Bildern mit insgesamt 3.841 Zellen in 6 Beleuchtungsstufen aufgenommen. Die Annotationen sind semi-maniuell erstellt, da die Phasenkontrast-Bilder manuell, und die Lichtfeld-Bilder aus den Phasenkontrast-Segmentierungsmasken annotiert wurden.
- DeepBas [112, 113], ein Datensatz von *B. subtilis strain SH130* Bakterien. Er besteht aus Weitfeldaufnahmen (Fluoreszenz), aufgenommen mit einem inversen Mikroskop, bestehend aus sieben manuell annotierten Bildern mit je zwischen 46 und 335 Zellen.
- die Cell Tracking Challenge [114], eine Sammlung aus 13 Datensätzen verschiedener Mikroskopiemodalitäten, die sich zum Messen der Segmentierungs- und Verfolgungsfähigkeiten für verschiedene Zelltypen eignen.
- MoNuSeg [115], eine Zusammenstellung manuell annotierter Gewebeschnitte von sieben verschiedenen Organen. Über 21.000 Zellen sind pro Bild in den 30 Bildern mit verschiedenen Färbungen und Aufnahmetechniken verteilt.
- TissueNet [116] ein umfassender Datensatz mit über 1.000.000 Zellen mit diversen Gewebearten und unterschiedlichen Aufnahmetechniken.
- S-BIAD1518 [117, 118], ein Datensatz der neben manuell annotierten Bildern von acht verschiedenen Zellarten sind synthetisch erzeugte Daten enthält. Mit Hilfe von SpCycleGAN [119] wurden dazu auf Basis von simulierten Annotationen Bildern generiert, die anstreben die Merkmale der realen Bilder zu reproduzieren. Es handelt sich hierbei um 3D-multispektrale Daten, aufgenommen mittels Fluoreszenzbildgebung.

Aufgrund des geringen Volumens frei zugänglicher Daten sind diese Sammlungen auch für das Training von Segmentierungsnetzen begehrte. Neben annotierten Datensätzen bietet die Literatur auch Methoden zum eigenständigen Erzeugen domänenspezifischer Datensätze [120, 121, 122, 123, 124]. Beispielsweise können 3D-Trainingsdaten mit realistischer

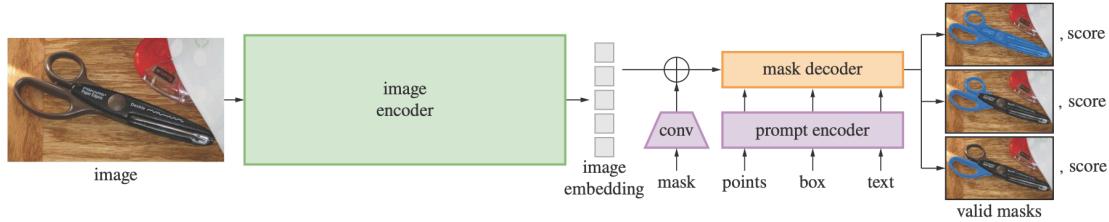


Abb. 2.5 | [133]. Architektur des **SAM**. Eingabebilder werden durch einen Bildencoder zu Repräsentationen umgeformt. Zusätzliche optionale Hinweise auf das zu segmentierende Objekt werden durch Bildfaltungen oder einen Prompt Encoder repräsentiert. Anschließend prädiziert der Decoder mehrere mögliche Masken und zugehörige Zuversichtlichkeiten.

Zellform und -ausrichtung und umgebenden Markern synthetisch erzeugt und durch ein Generative Adversarial Network an eine gewünschte Bilddomäne angepasst werden [125].

2.3.2 Segmentierungsmodelle

Foundation-models sind für viele moderne KI-Anwendungen unerlässlich [126]. Sie werden zunächst für allgemeine Aufgaben vortrainiert und anschließend auf spezifische Anwendungen angepasst (fine-tuning), meist unter Einfrieren von Teilen der Gewichte [127]. Auch Segmentierungsmodelle profitieren stark von umfangreichem Vortraining [128]. In der aktuellen Forschung werden verschiedene foundation-models für Segmentierung angewandt [129, 130, 131, 132]. Ein prominentes Exemplar ist das Segment Anything Model (**SAM**) von Meta AI [133] (siehe Abb. 2.5). Es besteht aus einem Bild-Encoder, einem Prompt-Encoder und einem Masken-Decoder. Als Bild-Encoder dient ein Vision Transformer [134], mit Vortraining als Masked Auto Encoder [135] und zusätzlichem Training für höhere Bildauflösung. Der Prompt Encoder ist mehrstufig. Ein angelernter Positional Encoder generiert Repräsentationen aus Positions-Nutzereingaben wie Punkten und Boxen. Für textuelle Prompts wird der Encoder des CLIP [136] Models genutzt. Außerdem werden Bildfaltungen als Encoder auf Masken-Nutzereingaben angewandt. Mithilfe dieser Encoder wird dem Modell eine Repräsentation von dem zu segmentierenden Bild und optionalen, manuellen Hinweisen auf das erwünschte Ergebnis gegeben, die bereits semantische Informationen und abstrakte Bildmerkmale beinhalten. Aus diesen Repräsentationen generiert dann der Decoder mehrere mögliche Masken mit zugehörigen Zuversichtlichkeiten, aus denen ein finales Segmentierungsergebnis ausgewählt wird.

SAM wurde bereits für viele explizite Mikroskopie-Zelldaten Anwendungen angepasst [137, 138, 139]. Auch für bestehende biologische Segmentierungsanwendungen, wie etwa Cellpose[140], wurde **SAM** auf Zelldaten angepasst [141]. Dieser *Fine-tune* nennt sich CellposeSAM. Er kombiniert den Bild-Encoder von **SAM** mit dem *Flow*-Segmentierungsansatz von Cellpose. Dabei generiert der Bild-Encoder direkt Vekotoren, die Zwischenrepräsentationen, die sogenannten *Flows*, darstellen. Diese *Flows* werden pixelweise zu einem Gradientenfeld überführt. Mithilfe der Gradienten werden Objektinstanzen vorhergesagt. Abb. 2.6 zeigt diesen Ablauf als Diagramm.

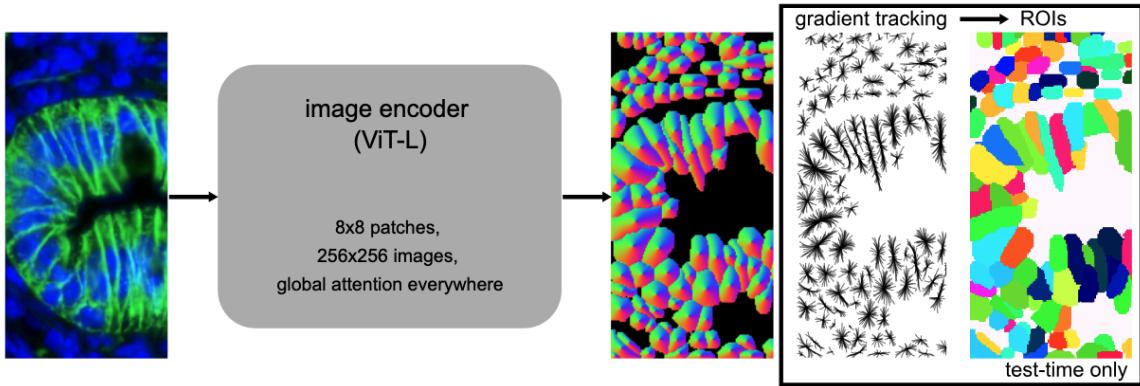


Abb. 2.6 | Ablauf des CellposeSAM-Modells. Eingabebilder werden durch einen Bild-Encoder (ViT-L) direkt zu sogenannten *Flows* umgeformt, einer Repräsentation von vorhergesagten Objektmerkmalen, deren Wert von der relativen Position innerhalb des detektierten Objekts abhängt. Die Gradienten der Flows werden verfolgt (gradient tracking) und aus dem daraus entstehenden Gradientenfeld werden Segmentierungsinstanzen (ROIs) vorhergesagt [141].

Deepcell [142, 143, 144] bietet weitere Zellsegmentierungsmodelle. Das Deepcell-Caliban-Modell [145] nutzt als Encoder eine EfficientNetV2L-Architektur [146], an deren Ausgabeschichten (C1C5) eine Pyramiden-Struktur zur Merkmalsfusion (P1P7) angeschlossen ist. Eine Besonderheit des Netzes ist, dass Eingabebildern zusätzlich Koordinatenkarten hinzugefügt werden. Als Decoder dienen drei Segmentierungsköpfe, die verschiedene Transformationen der gelabelten Trainingsmasken vorhersagen.

In der Literatur sehr verbreitet ist außerdem das nnU-Net [147], ein Segmentierungsframework, das sich automatisch an neue biomedizinische Aufgaben anpasst. Es konfiguriert Vorverarbeitung, Netzwerkarchitektur, Training und Nachbearbeitung dynamisch auf Basis der Eigenschaften des jeweiligen Datensatzes. Die Leistungsfähigkeit des Ansatzes ergibt sich nicht aus einer neuen Architektur oder Lernmethode, sondern aus der konsequenten Automatisierung und Systematisierung von Entwurfsentscheidungen.

2.3.3 Klassifikator

Für Klassifikatoren werden in der Regel nur Encoder vorgenommen, der Klassifikations-Kopf muss an die Klassen des vorliegenden Problems angepasst werden [91, 127, 148]. State-of-the-Art für Bild-Encoder sind **CNNs** oder **ViTs**, die auf dem ImageNet [149] Datensatz vorgenommen werden [150, 151]. Klassifikatoren profitieren stark von ImageNet-Vortraining [152, 153].

ResNet ist ein Residual Neural Network, ein **CNN** mit sogenannten residual connections [154]. Diese residual connections verbinden den Ein- und Ausgang modularer Faltungsschichten und verbessern die Leistungsfähigkeit tiefer neuronaler Netze [155, 154, 156] (siehe Abb. 2.7a). In ihrem Paper stellen die Autoren fünf unterschiedlich tiefe Varianten der **ResNet**-Architektur vor. Jede Variante enthält fünf Blöcke mit residual connections. Die Blöcke bestehen aus Faltungen mit verschiedenen Kernelgrößen und Strides, Batch normalization [157] und der ReLU [158] Aktivierungsfunktion.

EfficientNetV2 ist ein Nachfolger der EfficientNet-Modellfamilie [159, 146]. Die Architektur basiert auf modularen Blöcken von Bildfaltungsoperatoren mit besonders kleinen Faltungskernen und Squeeze-and-Excitations, genannt MBConv [160, 159] und Fused-MBConv [161] (siehe Abb. 2.7b).

ConvNeXt [162] ist eine CNN-Modellfamilie mit besonders großen Faltungskernen. Die

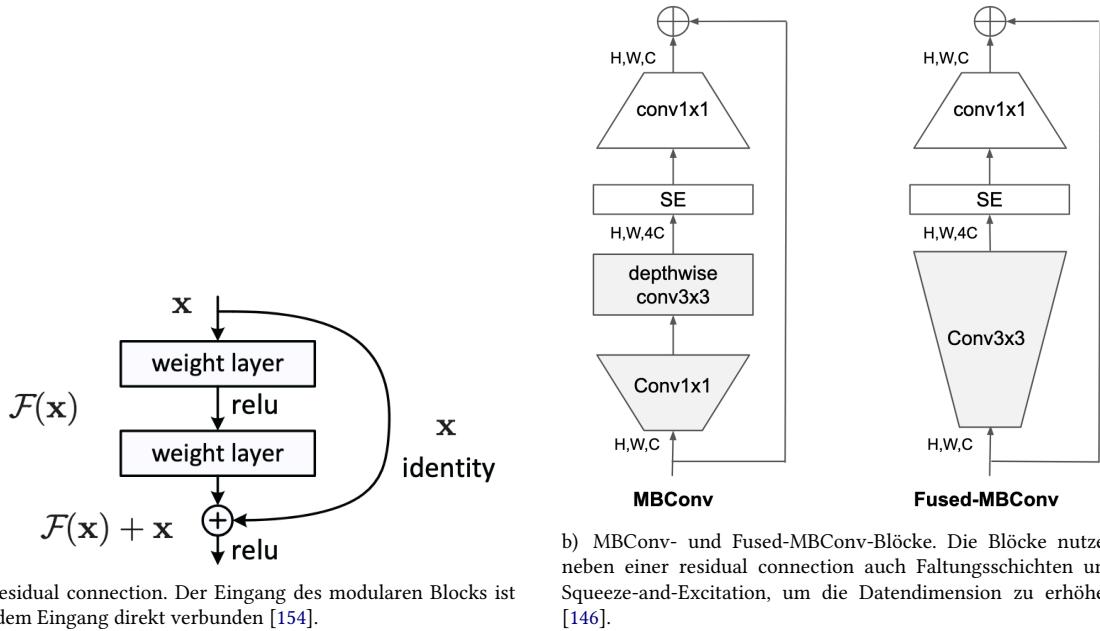


Abb. 2.7 | Diagramme a) der Residual Connections und b) MBConv-Blöcke und Fused-MBConv-Blöcke.

ConvNeXt-Architektur umfasst fünf modulare Blöcke mit Faltungen und residual connections, wie die ResNet-Architektur [154]. Allerdings verändert dabei **ConvNeXt** einige Details der ResNet Architektur, wie beispielsweise die GeLU Aktivierungsfunktion [163] und Layer normalization [103].

Swin Transformer [24] ist eine beliebte Modellfamilie von ViTs. Ihr Nachfolger, die **Swin Transformer V2** [164], vergrößert die Modelle noch. Die Architektur kombiniert Bildausschnitte mit einem Positions-Bias. Hierzu werden ein Bildfenster z und dessen relativen Koordinaten im Bild Δx und Δy in einem Attention-Mechanismus zusammengeführt. Die Positionen werden in einem MLP-Netz verarbeitet, während das Bildfenster mit drei verschiedenen Gewichtsmatrizen multipliziert wird. Mithilfe einer Kosinus-Ähnlichkeitsfunktion, der Softmax-Funktion [165] und elementweiser Multiplikation sowie Addition werden diese Ergebnisse in einen Merkmalsraum überführt. Zwei Layer normalization [103] Schichten, ein weiteres MLP-Netz und residual connections vervollständigen anschließend den modularen **Swin Transformer V2** Block. Dieser Aufbau ist in Abb. A.1 dargestellt. Der Abschnitt A.1 des Anhangs zeigt die Architektur als Diagramm.

2.4 Offene Probleme

Einzelne Myotuben können durch kein Segmentierungsmodell der Literatur instanzsegmentiert werden. Selbst für Expert*Innen sind in dichten Strukturen Instanzen von Myotuben nicht immer eindeutig trennbar. Nicht viele Segmentierungsmodelle für Nuclei sind erhältlich, besonders für dreidimensionale Daten. Die verfügbaren Modelle verhalten sich unterschiedlich bei verschiedenen Datensätzen und ihre Eignung für bestimmte Aufgaben muss für jede Anwendung individuell geprüft werden. Die Daten der vorliegenden Arbeit sind nach dem Protokoll in Couturier et al., [16] erstellt und umfassen Myotubenkulturen und ihre Nuclei mit insgesamt fünf verschiedenen Fluoreszenzmarkern. Für die spezifischen Aufnahmebedingungen und Marker der vorliegenden Daten gibt es keinen angepassten Klassifikator. Der Erfolg von einem Übertrag verschiedener vortrainierter Encoder und etablierter Methoden auf die vorliegenden Daten ist unvorhersehbar, da sich die gelernten Merkmalsräume eventuell nicht für die Klassifikation der neuartigen dreidimensionalen Daten eignen. Eine weitere Fragestellung ist deshalb, wie Methoden der Klassifikation mit der Kombination der Marker umgehen. Für jeden Datensatz mit neuen Zellkernklassen und Aufnahmebedingungen muss für optimale Klassifikatorleistung nicht nur ein neues Modell trainiert werden, sondern auch Methoden- und Hyperparameteroptimierung durchgeführt werden. Des Weiteren ist der Umgang mit dreidimensionalen Daten, besonders in Umgebungen ohne große Rechenleistung ein offenes Problem. Diverse Lösungen existieren, um dreidimensionale Daten mit Expertenwissen zu versehen. Diesen Lösungen fehlt bislang, ein Arbeitsablauf der Daten unmittelbar segmentiert und vorbereitet, um relevante Bildausschnitte direkt aus dem Datensatz zu extrahieren, sodass Expert*Innen ausschließlich annotieren müssen.

2.5 Zielsetzung

Im Zuge der vorliegenden Arbeit soll die automatische Extraktion von interpretierbaren Eigenschaften der Myotubenkulturen ermöglicht werden. Zu diesem Ziel bearbeitet die vorliegende Arbeit Zwischenziele und liefert Folgendes:

- Es soll ein Segmentierungsmodell gefunden werden, das die Eigenschaften der Nuclei in den vorliegenden, dreidimensionalen Daten besonders wenig durch Segmentierungsfehler verfälscht. Dazu wird ein neues Bewertungskriterium für Instanzsegmentierung eingeführt und auf einige etablierte Modelle angewandt.
- Das Segmentierungsmodell soll dann genutzt werden, um außerdem einen Ablauf zu schaffen, in dem Expert*Innen die Klassen der Nuclei besonders zeiteffizient annotieren können, um einen Klassifikator zu trainieren. Durch das Anreichern der dreidimensionalen Daten durch die Segmentierungsmasken und durch automatisches Fokussieren einzelner Nuclei soll sowohl die Rechenzeit optimiert werden als auch der Aufwand einzelne Nuclei entlang drei Dimensionen zu suchen, eliminiert werden. Hierzu wird eine neue Anwendung entwickelt, die 3D-Zelldaten liest und dann eine Oberfläche zum Annotieren bereitstellt.

- Die entstehenden Annotationen sollen direkt in einen Trainingsablauf für Klassifikatoren eingebunden sein. Hierbei müssen Klassifikatoren mit dreidimensionalen Daten von varierender Tiefe umgehen können. Ein ausführlicher Methodenvergleich verschiedener Encoder, Klassifikations-Köpfe, Vorverarbeitungsmethoden und auch Vortrainingsmethoden soll für Nutzer*Innen ohne Programmierkenntnisse ermöglicht werden. Dazu wird eine neue Anwendung entwickelt, die die zuvor erstellten Annotationen und Segmentierungsmasken nutzt um einen Klassifikator zu trainieren. Nutzer*Innen können in einer grafischen Oberfläche verschiedene Methoden zum Vergleich auswählen und in einem automatischen Prozess werden Klassifikatoren aller Kombinationen trainiert und verglichen.
- Außerdem sollen die ausgelesenen Eigenschaften der eingegebenen Zelldaten leicht zugänglich sein. In einer weiteren neuen Anwendung werden automatisch die Voraussagen des Klassifikators mit dem besten Ergebnis im Methodenvergleich genutzt, um Nutzer*Innen Graphen mit den Eigenschaften der Zellkultur darzubieten.
- Zuletzt sollen alle neu entwickelten Module zu einer Gesamtanwendung zusammengefasst und getestet werden. In einer Parameterbestimmung wird das Optimum explizit für die vorliegenden Aufnahmen mithilfe der neuen Anwendung bestimmt.

Neues Konzept 3

Das nachfolgende Kapitel beschreibt und diskutiert das angewandte Konzept der vorliegenden Thesis im Detail. Es behandelt die selbstentwickelten Beiträge zu den Methoden. Die Methodik wird in einer modularen Anwendung umgesetzt die 3D-Daten als Eingabe annimmt und interpretierbare Eigenschaften wie die Verteilung der Klassen und Volumen der anwesenden Nuclei ausgibt. Diese Anwendung wird hier 3D-Zelldaten-Pipeline genannt. In Kapitel 4.4 ist die praktische Umsetzung dieser 3D-Zelldaten-Pipeline beschrieben. Diese Anwendung kann regulär angewandt (Inferenz) oder optimiert werden (Optimierung). Zur Optimierung werden die 3D-Daten einem Ablauf für den Vergleich der Segmentierungsmodelle oder der Klassifikatormethoden zur Verfügung gestellt. Zuerst wird dazu das neu eingeführte Bewertungskriterium für Segmentierungsmodelle IPQ für verschiedene Modelle berechnet (siehe Kapitel 3.2). Dieses Bewertungskriterium quantifiziert die Eignung der Segmentierungsmodelle zur Extraktion der gewünschten Eigenschaften. Mithilfe der IPQ-Werte wird das beste Segmentierungsmodell für die Anwendung gewählt. Die Architektur und die Parameter des optimalen Model werden in den Inferenzablauf eingesetzt. Um die Klassifikatormethoden zu optimieren werden die Daten und die Segmente in die neu entwickelte Labeling-App eingegeben. Die Labeling-App ermöglicht das zeiteffiziente Annotieren von Nuclei, indem die relevanten Bildausschnitte automatisch anhand der Segmente extrahiert werden. In Kapitel 4.4.3 ist die Umsetzung der Labeling-App beschrieben. Mit den erstellten Annotationen und den 3D-Daten werden verschiedene Klassifikatoren trainiert. Diese Klassifikatoren ergeben sich aus Kombinationen der verfügbaren Klassifikatormethoden. Die Klassifikatormethoden sind beschrieben in Kapitel 3.3 und umfassen 1. Encoderarchitekturen, 2. Klassifikations-Kopf-Architekturen, 3. Vorverarbeitungsmethoden und 4. Vortrainingsmethoden. Unter den Methoden sind sowohl etablierte, als auch neu entwickelte Ansätze. Anhand der Genauigkeit der trainierten Klassifikatoren auf einem separaten Validierungsanteil des Datensatz werden die Methoden verglichen und eine optimale Konfiguration ausgegeben. Die Architektur und die Parameter dieser Konfiguration werden dann in den Inferenzablauf der Applikation eingesetzt. Am Ende des Ablaufs werden die klassifizierten Segmente genutzt, um verschiedene Grafiken zu erzeugen, die die interpretierbaren Eigenschaften visualisieren. Dieses Kriterium wird eingeführt, um die Eignung von Segmentierungsmodellen zum Extrahieren interpretierbarer Merkmale, wie Zellkernanzahlen oder -volumina zu bewerten. Darauf folgen Beschreibungen von Klassifikatormethoden. Die Methoden umfassen Architekturen von Encodern und Klassifikations-Köpfen, sowie Methoden der Vorverarbeitung und des Vortrainings. Es werden sowohl Anwendungen bestehender Methoden, als auch neu entwickelte Ansätze eingeführt. Ziel dieser Methoden ist es, die Optimierung eines Klassi-

fikatoren für individuelle, dreidimensionale Zelldaten in einem standardisierten Ablauf zu ermöglichen. Verschiedene Kombinationen der eingeführten Methoden werden beispielhaft auf die Daten der vorliegenden Arbeit angewandt und die dabei entstehenden Klassifikatoren werden bezüglich ihrer Genauigkeit auf einem separaten Validierungsanteil des Datensatzes verglichen.

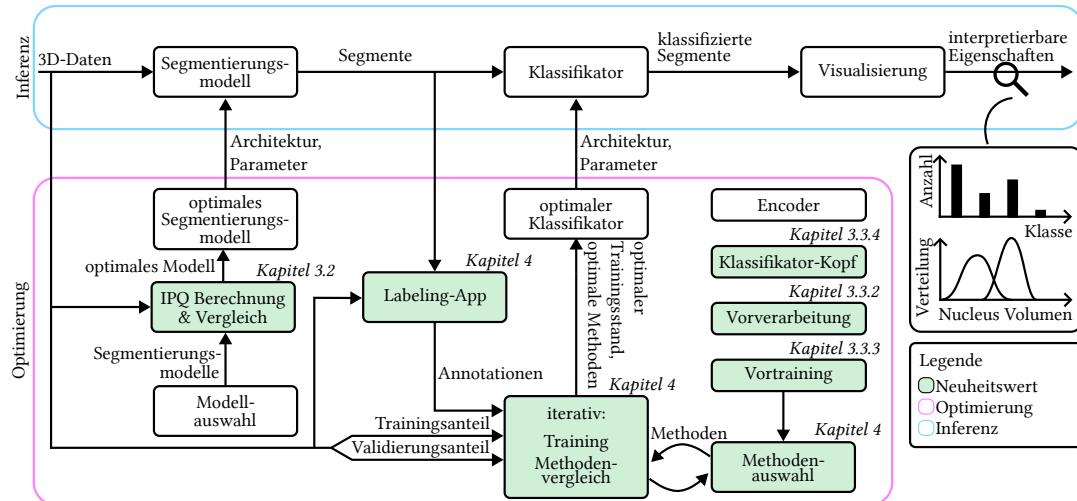


Abb. 3.1 | Aufbau der Anwendung der vorliegenden Arbeit. Die Anwendung kann regulär angewandt (Inferenz) oder optimiert werden (Optimierung). Die Optimierung ist zweiteilig. Zur Optimierung der Segmentierungsmodelle wird das neu entwickelte Injektive Panoptische Qualität (IPQ) Bewertungskriterium eingesetzt. Für den Klassifikator werden Kombinationen verschiedener Encoder, Klassifikations-Köpfe, Vorverarbeitungsmethoden und Vortrainingsmethoden iterativ trainiert und verglichen.

3.1 Daten

Die zugrunde liegenden Bilddaten der vorliegenden Arbeit stammen aus in-vitro-Kulturen von Myotuben, die aus humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPSC) differenziert wurden. Diese Zellen wurden nach dem in Couturier et al. [16] beschriebenen Protokoll hergestellt und anschließend mittels Immunfluoreszenzfärbung markiert. Von den Zellen wurden 3D-Bildstapel mit voxelbasierten Intensitätswerten, die jeweils einem Fluoreszenzkanal zugeordnet sind, mit einem Konfokalmikroskop aufgenommen. Die Kulturen enthalten Myotuben und deren Nuclei in fünf Fluoreszenzkanälen, die entsprechend mit fünf unterschiedlichen Fluoreszenzmarkern angefärbt wurden:

- DAPI (Nuclei),
- α -Actinin (sarcomerisches Strukturprotein),
- Dystrophin (Membran-assoziiertes Muskelprotein),

- Synaptophysin (präsynaptisches Vesikelprotein),
- α -Bungarotoxin (Bindung an nikotinische Acetylcholinrezeptoren, nAChR) und
- S100 β (Schwannzellmarker).

Jeder dieser Marker färbt einen anderen Zellbestandteil an, sodass unter dem Mikroskop sichtbar ist, wo sich Kerne, Muskelfasern und synaptische Strukturen befinden. Die Bildaufnahme erfolgte mit einem Leica TCS SP8 Konfokalmikroskop, unter Verwendung von 405 nm, 488 nm, 561 nm und 633 nm Lasern und einem 20x-Objektiv. Je Kanal ergibt sich eine räumliche Auflösung von 1024 x 1024 Pixeln mit 568nm pro Pixel. Die Anzahl der Z-Schichten beträgt zwischen 24 und 64. Die Proben wurden in Matrikel eingebettet und unter physiologisch relevanten Kulturbedingungen (37 °C, 5% CO₂) im maturierenden Medium kultiviert, das u. a. Wachstums- und Differenzierungsfaktoren wie BDNF, GDNF, IGF-1, CHIR99021, DMH1, SB431542, Retinsäure und Purmorphamin enthielt. Das resultierende Material stellt ein menschliches in-vitro-Modell der neuromuskulären Verbindung dar. Abb. 3.2 zeigt exemplarisch je eine 2D-Schicht von einem der Marker-Kanäle.

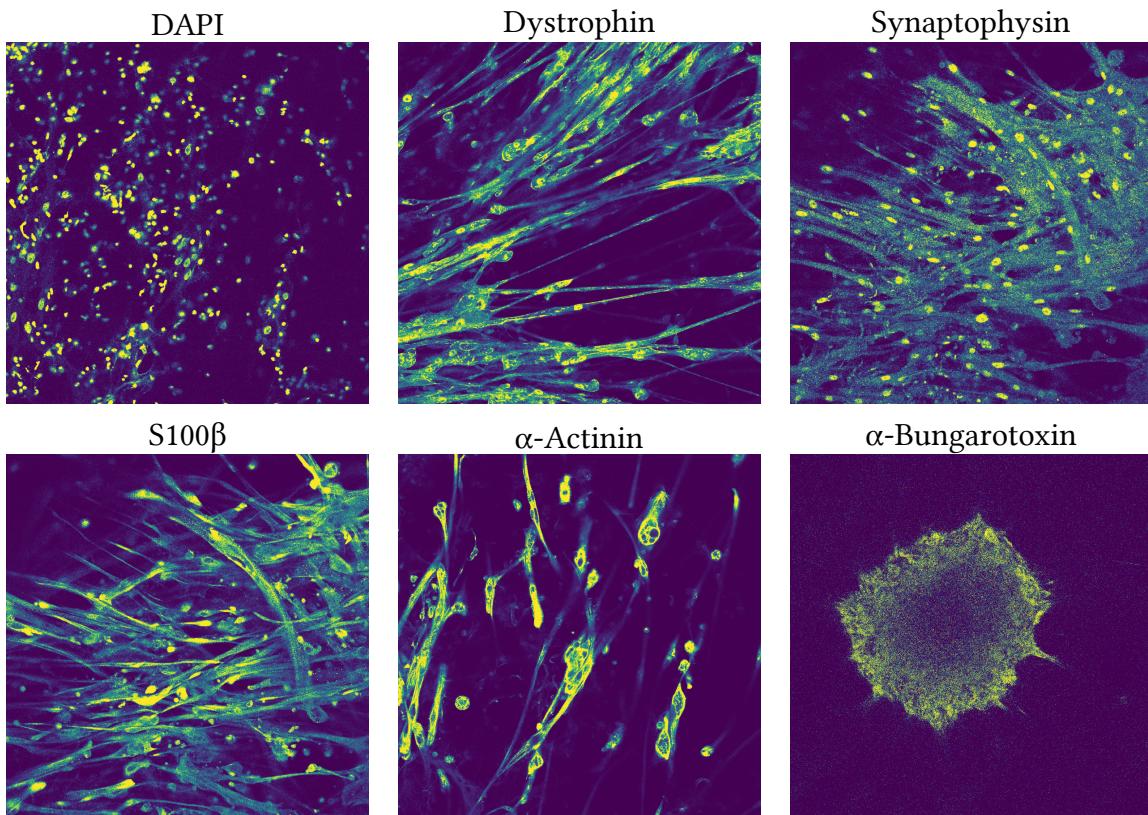


Abb. 3.2 |

Die eingeführten Methoden werden als Experiment auf diese Daten angewandt, sie sind aber explizit entworfen, um Anpassungen an neue Datensätze nahtlos zu ermöglichen.

Alle Experimente auf diesen Daten dienen der vorliegenden Arbeit als Fallstudie, um die Effizienz der vorgestellten Methoden zu demonstrieren.

3.2 Injektive Panoptische Qualität

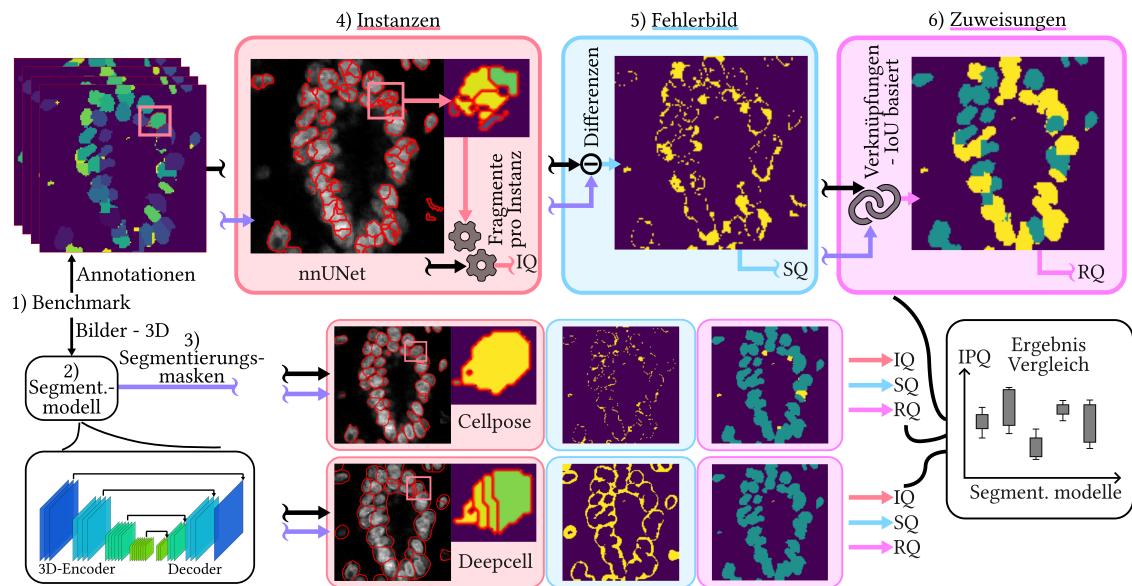


Abb. 3.3 | IPQ Visualisierung - Das obere Ablaufdiagramm stellt den Prozess dar, durch den das Segmentierungsnetz gewählt wird, das für die Anwendung der vorliegenden Arbeit eingesetzt wird. Ein peer-reviewed Benchmark-Datensatz aus dreidimensionalen Bildern (1) von diversen Zellkulturen mit dazugehörigen Ground Truths wird links eingegeben. Das zu bewertende Segmentierungsmodell (2) führt eine Inferenz für die Bilder des Benchmark aus, um Segmentierungsmasken (3) bereitzustellen. Die entstehenden Masken werden dann zur Berechnung der neu eingeführten IPQ (siehe Kapitel 3.2) eingesetzt. Der Ablauf der Bewertung ist dreigeteilt. Aus jeder Maske werden zuerst die einzelnen Fragmente extrahiert, die sich mit einer einzelnen Instanz der Annotation überlagern (4). Außerdem wird ein Fehlerbild als die logische XOR-Fläche der Maske und der Annotation dargestellt (5), als Platzhalter für die Berechnung der Intersection over Union. Zuletzt wird ein Zuweisungsbild erstellt, das die True Positives (TPs), False Positives (FPs) und False Negatives (FNs) festhält (6). Durch Vergleiche der Ergebnisse verschiedener Modelle kann dann das optimale Segmentierungsnetz für die Anwendung gewählt werden.

Zur Wahl des Segmentierungsmodells wird ein neues Bewertungskriterium eingeführt und auf einem annotierten Datensatz getestet. Als Datensatz wird aus den in Kapitel 2.3.1 vorgestellten Benchmarks der S-BIAD1518 [117, 118] genutzt, da dieser nicht in den Trainingsdaten eines zu testenden Segmentierungsnetz vorkommt. Im Gegensatz zu selbstentwickelten synthetischen Daten weicht die Bilddomäne dieses Benchmarks zwar stärker von der Domäne der Zieldaten ab, aber dafür sind die Daten an eine Veröffentlichung mit standardisiertem Peer-Review-Prozess gebunden. Die Aufgabe des Bewertungskriteriums ist es, zu quantifizieren, wie gut sich eine vorliegende Instanzsegmentierung eignet, um reale Eigenschaften einer Aufnahme, wie die Zellkernanzahl, Größe der Zellkerne und Verteilung der Zellkernarten auszuwerten. Das neu

entwickelte Kriterium ist eine Abwandlung der Panoptic Quality (**PQ**) [45], die hier **IPQ** genannt wird. Durch standard **PQ** wird die Intersection over Union (**IoU**) für individuelle Instanzen bewertet und es werden **FP** sowie **FN** Detektionen bestraft. Zusätzlich sollen durch einen neuen Faktor Verletzungen der injektiven Abbildung von segmentierten Nuclei auf die Instanzen der Annotation negativ bewertet werden, da die genaue Anzahl der Nuclei eine bedeutungsvolle Metrik für Nutzer*Innen ist. Für die Berechnung wird im ersten Schritt der nachfolgende Brute Force Algorithmus angewandt, der die Zuordnung von Segmentierungsinstanzen zu Annotationsinstanzen durchführt.

Algorithm 1 Beste Annotation-Zuordnung für jede Segmentierungsinstanz

Eingabe: $maske_{Vorhersage}$, $maske_{Annotation}$

Ausgabe: $annotation_{opt}$, IoU_{opt}

Für $id_{Instanz}$ in $|maske_{Vorhersage}|$ tue:

$Instanz \leftarrow maske_{prediction}[id_{Instanz}]$

Für $annotation$ in $maske_{Annotation}$ tue:

$IoU \leftarrow IoU(annotation, Instanz)$

Wenn $IoU > IoU_{opt}[id_{Instanz}]$ dann:

$IoU_{opt}[id_{Instanz}] \leftarrow iou$

$annotation_{opt}[id_{Instanz}] \leftarrow annotation_id$

EndeWenn

EndeFür

EndeFür

Rückgabe gt_{opt} , IoU_{opt}

Die nachfolgende Formel zeigt das **IPQ** Bewertungskriterium unterteilt in die 3 Aufgaben:

$$IPQ = \underbrace{\frac{k_1 \times \sum_{(p,g) \in TP} \text{IoU}\left(\bigcup_{p_i \in p} p_i, g\right)}{|TP|}}_{\text{Segmentation-Quality (SQ)}} \times \underbrace{\frac{k_2 \times |TP|}{|TP| + \frac{1}{2}|FP| + \frac{1}{2}|FN|}}_{\text{Recognition-Quality (RQ)}} \times \underbrace{\frac{k_3 \times |GT|}{\sum_{p \in P} (\max(1, n_p - 1))}}_{\text{Injective-Quality (IQ) (neu)}}, \quad (3.1)$$

wobei:

- k_1, k_2, k_3 Optionale Vorfaktoren zur Gewichtung der drei Teile der Metrik sind,
- TP die Menge aller **TP**-Tupel (p, g) ist, wobei g eine Annotationeninstanz und p der Vektor aller zugehörigen Segmentierungsinstanzen ist,
- $|TP| \in \mathbb{Z}$ die Anzahl an korrekt erkannten Instanzen bezeichnet, also Annotationsinstanzen mit $\text{IoU} > 0,5$,

- $\text{IoU}(\bigcup_{p_i \in p} p_i, g) \in [0, 1]$ die **IoU** zwischen allen Segmentierungsinstanzen p_i in der TP-Instanz p und der zugehörigen Annotationsinstanz g beschreibt,
- $|FP| \in \mathbb{Z}$ die Anzahl an falsch-positiven Segmentierungen ist, d. h. vorhergesagte Instanzen ohne Annotationsentsprechung,
- $|FN| \in \mathbb{Z}$ die Anzahl an nicht erkannten Annotationsinstanzen ist, also Annotationsinstanzen ohne zugehörige Vorhersage,
- $|GT| \in \mathbb{Z}$ die Anzahl der Annotationsinstanzen ist,
- P die Menge aller Segmentierungsinstanzen ist, ungeachtet der Annotationszuordnung,
- $p \subseteq P$ ein Vektor aller Segmentierungsinstanzen, die der gleichen Annotationsinstanz zugeordnet sind, ist,
- n_p die Dimension des Vektors p ist,
- $SQ \in [0, 1]$ ein Faktor ist, der die Qualität der Segmentierung anhand der **IoU** von der segmentierten und der erwarteten Instanz vergleicht,
- $RQ \in [0, 1]$ ein Faktor ist, der bewertet, wie vollständig und fehlerfrei das Segmentierungsmodell die vorhandenen Nuclei findet und, ob es dabei zu Halluzinationen kam,
- $IQ \in [0, 1]$ ein Faktor ist, der das Unterteilen von Nuclei durch das Segmentierungsmodell zu bestrafen. Wird ein Nucleus durch mehrere Instanzen der Segmentierungsmaske dargestellt, wird n_p größer als eins und der Faktor sinkt,
- $IPQ \in [0, 1]$ ein Maß für die panoptische Segmentierungsqualität mit der Voraussetzung von injektiver Abbildung der Segmentierungsmasken-Instanzen auf die Annotationsinstanzen darstellt, wobei höhere Werte bessere Übereinstimmung bedeuten,

3.3 Klassifikatormethoden

3.3.1 Übersicht

Jedem instanzsegmentierten Nucleus muss eine Klasse zugewiesen werden, um die Ausgabe zur panoptischen Segmentierungsmaske zu erweitern. Erst die panoptische Segmentierungsmaske ermöglicht das automatische Extrahieren interpretierbarer Eigenschaften aus den Daten. Nuter*Innen der vorgestellten Methoden wird mit dieser panoptischen Maske und den extrahierten Eigenschaften der Kultur ein klarer Überblick über den Status der Zellkultur geboten.

Für die Klassenzuweisung ist ein Klassifikator notwendig, der einen Bildausschnitt mit

einer Nucleus-Instanz als Eingabe annimmt und ihr eine der vier Klassen als Ausgabe zuweist. Um diesen Klassifikator optimal zu entwerfen, wird ein umfangreicher Benchmark aus den Zieldaten erstellt, mit dem die vorgestellten Methoden verglichen werden. Benchmarks aus der Literatur umfassen weder dieselben Klassen noch dieselben Objektmerkmale, deshalb wird ein eigener, kein etablierter Benchmark verwendet. Für das Training wird einheitlich der Adam-Algorithmus [166] mit einer Lernrate von 0.0001 eingesetzt. Außerdem wird der Cross-Entropy-Loss [94] verwendet. Aus den annotierten Bilddaten werden für jede Anwendung ein Test- und ein Trainingsanteil im Verhältnis eins zu neun extrahiert. Alle betrachteten Variationen des Klassifikators werden ausschließlich mit den Trainingsdaten trainiert und ihre Leistung ausschließlich mithilfe der Testdaten getestet. Beide Anteile des Datensatzes werden durch Augmentierung erweitert und in Batches zusammengefasst. Zur Datenaugmentierung werden die folgenden Methoden eingesetzt:

- **Rotation:** Mit einer Wahrscheinlichkeit von 50% werden die Eingabedaten um 90° in der XY-Ebene rotiert.
- **Spiegelung:** Ebenfalls mit einer Wahrscheinlichkeit von 50% erfolgt eine Spiegelung entlang der Z-Achse.
- **Gaußsches Rauschen:** Mit einer Wahrscheinlichkeit von 20% wird Rauschen mit einem Mittelwert von 0 und einer Standardabweichung von 0,01 hinzugefügt.

Prominente Encoder aus der Literatur werden vergleichend eingesetzt. Darüber hinaus werden hier verschiedene Methoden der Vorverarbeitung, des Vortraining und der Klassifikations-Kopf-Architektur eingeführt und verglichen. Im Folgenden sind diese Methoden einzeln beschrieben. Da jede mögliche Kombination mit jedem Netz zu trainieren einen unausführbar hohen Rechenaufwand bedeutet, wird eine Vorauswahl von Kombinationen getroffen.

3.3.2 Encoder

Tab. 3.1 zeigt die verschiedenen Encoder, die hier eingesetzt werden. Bis auf das Segmentierungsmodell CellposeSAM handelt es sich dabei um Encodern, die aus Klassifikatoranwendungen, die auf dem ImageNet-Datensatz [149] vorgenommen wurden, stammen. In der Tabelle sind die Namen, Anzahl der Parameter und, falls vorhanden, die Top-1-Genauigkeit (Acc@1) und die Top-5-Genauigkeit (Acc@5) auf dem ImageNet Datensatz angegeben.

3.3.3 Vorverarbeitung

Da in vielen Bildausschnitten Nuclei sehr nah aneinander liegen werden zwei Vorverarbeitungsmethoden eingeführt, die dem Klassifikator signalisieren, welcher der sichtbaren Nuclei klassifiziert werden soll. Diese Methoden unterscheiden sich darin, wie die Segmentierungsmaske des Nucleus dem Klassifikator zugänglich gemacht wird. Die erste Methode, hier Masken-Methode genannt, ersetzt den Nucleus-Kanal mit der Segmentierungsmaske des gesuchten Nucleus. Das Ziel ist dabei, das Risiko zu minimieren, dass umliegende

Tab. 3.1 | Vergleich der sechs vortrainierten Netze hinsichtlich Genauigkeit auf dem ImageNet-Datensatz [149] und der Anzahl an Parametern. Angegeben sind sowohl die Top-1-Genauigkeit (Acc@1) als auch die Top-5-Genauigkeit (Acc@5), also ob die korrekte Klasse unter den besten 1 bzw. 5 Vorhersagen enthalten ist.

Name	Acc@1 (ImageNet)	Acc@5 (ImageNet)	Params (M)
ResNet18	69.76%	89.08%	11.7
ResNet101	77.37%	93.55%	44.5
Swin V2	84.11%	96.87%	87.9
ConvNeXt	84.41%	96.98%	197.8
EfficientNet V2	85.81%	97.79%	118.5
CellposeSAM	-	-	305

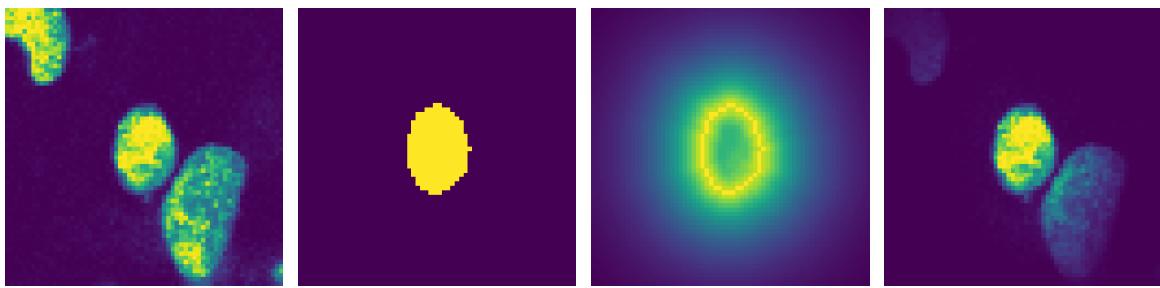
Nuclei das Klassifikationsergebnis verfälschen. Mit dieser Risikominimierung geht allerdings der Verlust der Oberflächenmerkmale einher. Außerdem ist das Klassifikationsergebnis bei dieser Vorverarbeitungsart von der Qualität der Segmentierung abhängig. Für die zweite Methode wird hier Distanz-Methode gennant. Mit der Distanz-Methode wird der Nucleus-Kanal mit einer Entfernungsmaske skaliert. Hierzu wird pixelweise der originale Nucleus-Kanal mit einer Transformation des Abstand aller Pixel außerhalb der Segmentierungsmaske wie folgt multipliziert:

$$I'(x) = I(x) \cdot \exp\left(-\frac{1}{\sigma} \min_{y \in \neg M} \|x - y\|_2\right), \quad (3.2)$$

wobei:

- $I(x) \in [0, 1]$ der Intensitätswert des Nucleus Kanal an der Position x ist,
- $I'(x) \in [0, 1]$ der Intensitätswert des neuen, transformierten Nucleus Kanal an der Position x ist,
- $x \in \Omega \subset \mathbb{N}^3$ die Position eines Voxels im diskreten Bildraum ist,
- $M \subseteq \Omega$ die Segmentierungsmaske und $\neg M = \Omega \setminus M$ deren Komplement im Bildraum sind,
- und $\sigma \in \mathbb{R}^+$ ein Parameter zur Steuerung des exponentiellen Abfalls ist.

Die Verwendung der Distanz-Methode hat zum Ziel, dass die Oberflächenmerkmale des Nucleus erhalten bleiben. Außerdem wird mit der Vorverarbeitungsmethode der Einfluss der eventuell fehlerhaften Segmentierungsmasken durch die kontinuierliche Abstandstransformation minimiert. Allerdings ist hierdurch auch das Risiko von Einflussnahme auf das Klassifikationsergebnis durch umliegende Nuclei nicht vollständig eliminiert, sondern nur vermindert. In Abb. 3.4 sind die Nuclei-Kanäle der verschiedenen Methoden dargestellt.



a) Ausgeschnittener Bereich des originalen Nucleus-Kanals mit mehreren, intuitiv trennbaren Nuclei.
 b) Segmentierungsmaske des Nucleus. Die Masken-Methode ersetzt den originalen Nucleus-Kanal mit dieser Maske. Die binäre Maske zeigt keine Oberflächenmerkmale des Nucleus, lediglich die geometrischen Merkmale.
 c) Entfernungsmaske des Nucleus. Diese wird pixelweise mit dem Nucleus-Kanal multipliziert für die Distanz-Methode.
 d) Darstellung der Distanz-Methode, die durch die Multiplikation des Nucleus-Kanal mit der Entfernungsmaske entsteht. Zu sehen ist, dass der nahegelegene ungewünschte Nucleus noch stellenweise mit hoher Intensität vertreten ist.

Abb. 3.4 | Darstellungen der verschiedenen Vorverarbeitungsmethoden.

Je nach Modellarchitektur müssen die Bilddaten noch skaliert werden, bevor sie den vortrainierten Modellen übergeben werden können, da die Klassifikatoren Eingaben konstanter Größe benötigen. Dazu wird einfache bilineare Interpolation verwendet (siehe Kap. 2.2.3). Um einen Einfluss auf die Ergebnisse durch ungleiche Verteilung der Annotationen auf die vorhandenen Klassen zu vermeiden, extrahiert der Retreiver außerdem vor dem Training, bei der Initialisierung, die Anzahl der Stichproben pro Klasse. Mithilfe dieser Verteilung der Anzahlen werden dann die Gradienten stärker gewichtet, die zu unterrepräsentierten Klassen gehören. Weil hier mit Rechenzeit-intensiven dreidimensionalen Daten umgegangen werden muss, ist auch ein dynamisches Speichermanagement Teil der Vorverarbeitungsmethoden. Die Anwendung der beschriebenen Methoden wird dazu zusammengefasst in einem neu entwickelten 'Retreiver'. Dieser Retreiver versieht die aktuell gewünschten Bildausschnitte mit der Vorverarbeitungsmethode und verschiebt dann ausschließlich diese Daten auf die GPU.

3.3.4 Vortraining

Aus der Literatur sind verschiedene Methoden des Vortraining bekannt. Hier werden:

- Kein Vortraining,
- semi-supervised, und
- fully-supervised Vortraining

betrachtet. Die Abb. 3.5 zeigt die hier umgesetzten Methoden.

Kein Vortraining Ohne Vortraining startet der Encoder, der den Großteil der Gewichte umfasst, mit zufällig initialisierten Werten. Da diese zufälligen Werte keine sinnvollen Merkmale extrahieren, wird ein besonders langes Training mit den Zeildaten durchgeführt. Jedes Modell wird jeweils für 75 Epochen trainiert.

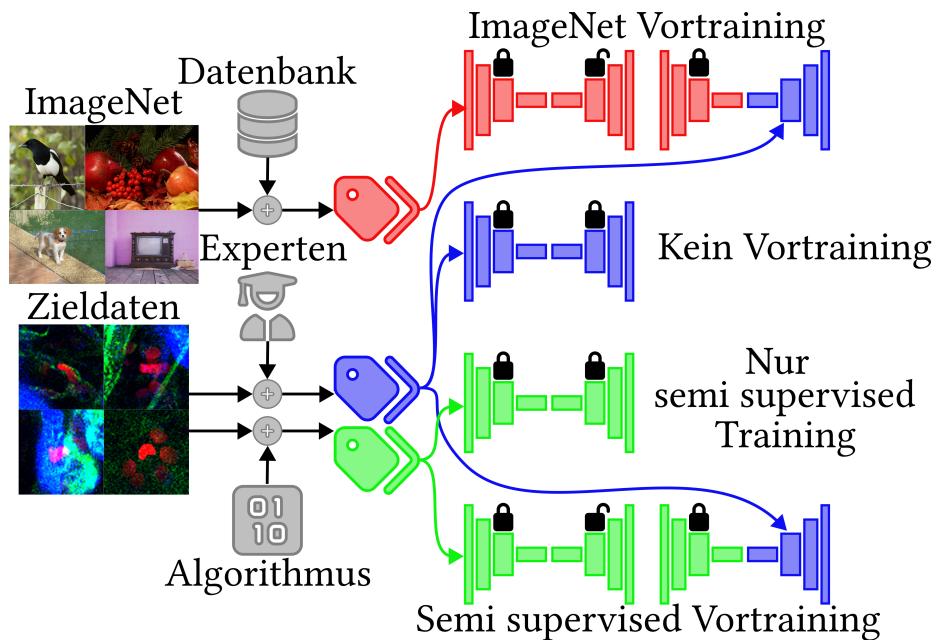


Abb. 3.5 | Übersicht über die Vortrainingsmethoden. Links zu sehen sind die beiden verfügbaren Bildermen gen, ImageNet und die Zieldaten. Rechts von diesen Bildermengen werden diesen Bildern Annotationen hinzugefügt, entweder durch die ImageNet-Datenbank, Expert*Innen oder einen Algorithmus. Jeder Encoder (linke Seite eines Netzwerks) und jeder Klassifikations-Kopf (rechte Seite eines Netzwerks) wird mit einer dieser drei Label-Mengen trainiert. Die Farbe der Label und des Netzwerks zeigt dabei die Zuordnung. Mit offenen oder geschlossenen Schlössern über den Encodern und Klassifikations-Köpfen ist dargestellt, ob die Gewichte eingefroren werden. Vier verschiedene Versionen jedes Klassifikators werden hier trainiert. Das erste Netzwerk wird auf den ImageNet-Daten vorgenommen. Anschließend wird mit Expert*Innen-Labels der Klassifikations-Kopf neu trainiert. Das Zweite erhält kein Vortraining, es ist komplett mit den Zieldaten trainiert. Für das dritte Netzwerk werden lediglich die Label des semi supervised Algorithmus eingesetzt. Die letzte Variante wird semi supervised vorgenommen und anschließend mit den Zieldaten fine-tuned.

Semi supervised Die semi supervised Annotationen werden mithilfe eines few-shot gestützten Cluster Algorithmus erstellt, der hier 'Pseudo-Labler' genannt wird. Ein*e Expert*In erstellt hierzu Annotationen von wenigen Nuclei. Danach werden aus den restlichen Segmentierungsmasken einige Merkmale generiert und zu einem Vektor zusammengefasst. Zuerst werden das Volumen, die Oberfläche und die Achsenlängen jedes Nucleus direkt bestimmt. Außerdem wird die Exzentrizität aus dem Verhältnis der längsten und der kürzesten Achse berechnet. Für die Kompaktheit wird das Volumen der Maske durch die kleinste mögliche Begrenzungsbox geteilt. Darüber hinaus wird aus der Z-Schicht, in der die Segmentierungsmaske am größten ist, die 2D-Kontur erfasst. Aus dieser Kontur wird eine komplexe Zahlenfolge berechnet und der Absolutwert der ersten zehn Koeffizienten als einzelne, weitere Merkmale dem Merkmalsvektor hinzugefügt.

Der Pseudo-Labler normalisiert die Werte des Merkmalsvektoren zu einem Mittelwert von Null und einer Varianz von Eins und wendet eine Principal Component Analysis [76] an, um redundante Informationen zu entfernen. Das Ziel dabei ist es, einen Mittelweg zwischen Informationserhalt und Overfitting-Gefahr sowie Rechenaufwand zu erzielen. Mit-

hilfe des Label-Spreading-Algorithmus [83], mit einer Radial Basis Funktion [84] als Kernefunktion, werden die Expert*Innen-Annotationen über die Struktur der Daten auf alle Stichproben ausgebreitet. Durch den Pseudo-Labler entstehen Annotationen für die Daten ohne Expert*Innen-Annotationen. Diese neuen Annotationen werden dann eingesetzt, um in 25 Epochen sowohl die Encoder, als auch die Klassifikations-Köpfe zu trainieren, mit dem Ziel unter geringem Aufwand für die Expert*Innen umfangreiche Klassifikatoren zu trainieren. Optional werden die Gewichte des Encoder hiernach, bis auf die letzten beiden Schichten eingefroren und nur der Encoder wird in weiteren 35 Epochen mit dem Trainingsdatensatz der Zieldaten trainiert. Das Ziel dieses Vorgehens ist es, eine stärkere Generalisierung zu erreichen, indem Overfitting bei der Merkmalsextraktion vermieden wird. Da der Encoder mit anderen Daten vortrainiert wird, ist zu erwarten, dass er eine sinnvolle Merkmalsextraktion lernt, ohne auf die expliziten Merkmale der individuellen Stichproben im Trainingsdatensatz angewiesen zu sein. Dadurch sind die Beziehungen zwischen Merkmalen und Klassen, die der Klassifikations-Kopf lernt, nicht nur auf die Merkmale des Trainingsdatensatzes beschränkt.

Fully-supervised Das Fully-supervised Vortraining bezieht sich hier auf das initialisieren eines Encoders mit den Gewichten einer entsprechenden Veröffentlichung. Diese Gewichte sind durch Vortaining auf dem ImageNet-Datensatz entstanden oder stammen aus dem [SAM](#)-Encoder. Bis auf die letzten 20 bis 30 Prozent der Schichten werden alle Gewichte des Encoders während dem Training eingefroren. **Kommentar: Ist '20 bis 30' okay? Ich habe alles 3 mal trainiert, mit 20, 25 und 30 und dann das beste genommen.** In 50 Epochen werden dann die verbleibenden Encoder-Schichten und der Klassifikations-Kopf trainiert. Die Merkmalsextraktion ist aus einem Datensatz einer anderen Domäne gelernt, was Overfitting verhindert. Nur der Klassifikations-Kopf wird auf Zieldaten trainiert, wobei aufgrund der diversifizierten Merkmale eine hohe Generalisierbarkeit angestrebt wird.

3.3.5 Klassifikations-Kopf

An die Encoder werden verschiedene Klassifikations-Köpfe angehängt. Hier werden dazu zwei neue Klassifikations-Kopf-Architekturen nach dem Vorbild vergleichbarer Anwendungen in der Literatur eingeführt. Abb. 3.6 zeigt die beiden Architekturen systematisch. Der erste Klassifikator wird hier *Volumen-Klassifikator* genannt. Er interpretiert die Merkmale, die der Encoder generiert, als Volumen und generiert mithilfe von 3D-Faltungen und Pooling eine Repräsentation daraus. Diese Repräsentation wird dann durch Linear Layers zu vier Ausgabe-Klassen umgeformt. Die Idee des *Volumen-Klassifikators* ist es, die Merkmale, die der Encoder generiert, möglichst vollständig zu erfassen und alle räumlichen Beziehungen, auch in Z-Richtung, festzustellen. Hierbei ist das Ziel, dass durch die 3D-Faltungen eine domänenspezifische Interpretation der Merkmale gelernt wird, sodass die neuen Merkmale nach dem anschließenden Pooling aussagekräftig und niederdimensional sind. Daneben wird hier der *Schichten-Klassifikator* eingeführt. Der *Schichten-Klassifikator* betrachtet die einzelnen Schichten des Bilds anhand der individuellen Schichten, die der

Encoder ausgibt. Dazu werden die räumlichen X- und Y-Dimensionen durch einen spatial-average zusammengefasst. Durch eine multihead Attention mit vier Attention-Köpfen und Embedding-Dimension 256 wird dann eine Repräsentation aus den individuellen Schichten der Merkmale erstellt. Lineare Layers formen anschließend die Repräsentation zu den vier Klassen um. Für den textitSchichten-Klassifikator ist das Ziel, dass durch die Vereinfachung der Daten aussagekräftige, schichtenweise Merkmale entstehen und, dass diese räumlich invariant sind, da der betrachtete Nucleus in den Bildfenstern zentriert sind.

Auf einem geringfügigen Datensatz werden alle angeführten Methoden in den möglichen Kombinationen umgesetzt, um Vergleiche zu ermöglichen. Dieser geringfügige Datensatz besteht aus Bildern der Zieldomäne und halb automatisch generierten Annotationen. Anschließend werden die besten Methoden ausgewählt und auf den finalen Datensatz trainiert.

3.4 Segmentierung

3.4.1 Modelle

Für die Instanzsegmentierung der Nuclei werden die folgenden drei Modelle eingesetzt:

- Ein Modell des nnU-Net Framework, das selbstkonfigurierte Modelle auf der U-Net-Architektur basiert [147].
- Das DeepCell-Caliban-Modell, das Bildfaltungen und speziell entwickelten Nachverarbeitungsstrategien vereint.
- Cellpose-SAM, das die Architekturen der Cellpose-Modelle mit der Architektur und den Gewichten vom Foundation-Model [SAM](#) vereint.

3.4.2 Nachverarbeitungsmethoden

Zur Nachbearbeitung der Instanzsegmentierungsmasken wird der Instanz-Trenner eingeführt. Diese Methode ist dazu da, separate Instanzen mit gleichem Label zu trennen und mit einzigartigen Labels zu versehen. Pro Instanz werden hierzu ein zufälliges Pixel betrachtet und davon ausgehend alle Pixel mit direkter Verbindung über die Segmentierungsmaske gesucht. Diese verbundenen Pixel werden als neue einzigartige Instanz abgelegt, bis keine Pixel ohne Verbindung übrig sind. Eine weitere Methode der Nachbearbeitung die auf die Segmentierungsmasken eingesetzt werden kann ist der Watershed-Algorithmus (siehe 2). Der Algorithmus trennt überlagerte Instanzen, die das Modell als einzelne Instanz segmentiert hat.

Algorithm 2 Watershed-Nachbearbeitung zur Trennung überlappender Instanzen

Eingabe: $maske_{instanz}$

Ausgabe: $maske_{refined}$

$distanz \leftarrow$ DistanzTransformation($maske_{instanz}$)

$marker \leftarrow$ LokaleMaxima($distanz$)

$gradient \leftarrow -distance$

$maske_{refined} \leftarrow$ Watershed($gradient, marker$)

Für Region r_i in $maske_{refined}$ tue:

 Wenn $Flaeche(r_i) < \tau$ dann:

 Wenn r_i grenzt an größere Nachberregion r_n dann:

 Vereinige r_i mit r_n

 Sonst:

 Entferne r_i

 EndeWenn

EndeWenn

EndeFür

Rückgabe $maske_{refined}$

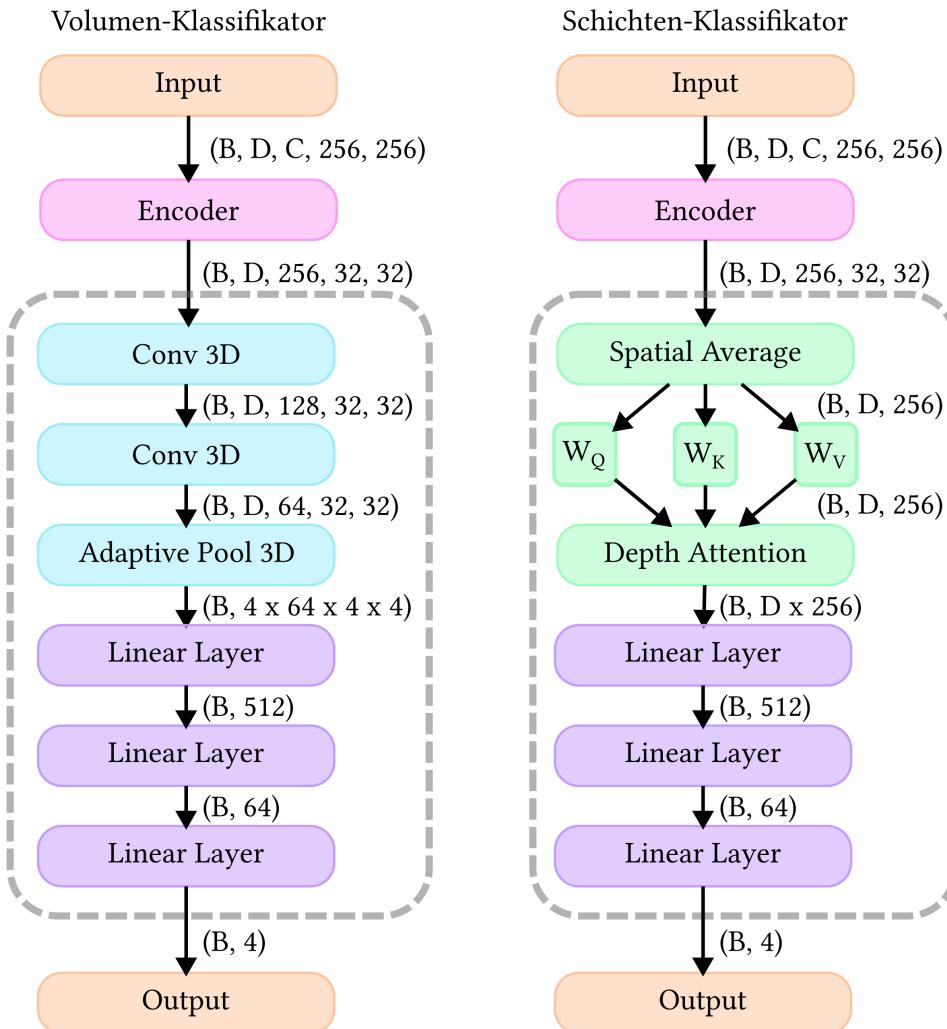


Abb. 3.6 | Architektur der beiden Klassifikatoren. Der Encoder wird bei beiden modular ausgetauscht. Links zu sehen ist die Architektur des *Volumen-Klassifikators*, der die Merkmale, die der Encoder generiert, als Volumen interpretiert und mithilfe von 3D-Faltungen und Pooling daraus eine Repräsentation generiert. Diese Repräsentation wird dann durch Linear Layers zu vier Ausgabe-Klassen umgeformt. Rechts zu sehen ist der *Schichten-Klassifikator*. Die räumlichen X- und Y-Dimensionen werden im *Schichten-Klassifikator* durch einen spatial-average zusammengefasst. Durch eine multihead Attention mit vier Attention-Köpfen und Embedding-Dimension 256 wird dann eine Repräsentation aus den individuellen Schichten der Merkmale erstellt. Lineare Layers formen anschließend die Repräsentation zu den vier Klassen um.

Implementierung 4

4.1 Überblick

Im nachfolgenden Kapitel wird die Implementierung aller relevanten Methoden erklärt mit Fokus auf die praktische Anwendung dieser Methoden in Form von Nutzerschnittstellen oder als Entwicklerskript auf ausgewiesener Hardware. Eine neu entwickelte Anwendung, die 3D-Zelldaten-Pipeline, vereint verschiedene Software-Module, die jeweils ein Zwischenziel der vorliegenden Arbeit umsetzen. Die Anwendung wird mit einer grafischen Nutzeroberfläche bedient, die auch ohne Programmierkenntnisse genutzt werden kann. Die beschriebenen Funktionen sind im bereitgestellten Repository zu finden.

4.2 Segmentierungsmodelle

Abb. 4.1 zeigt den Signalfluss der Anwendung der Segmentierungsmodelle und ihrer Bewertung. Die Segmentierungsmodelle werden zur Evaluation in einfachen Entwicklerskripten über die Kommandozeile oder als Jupyter Notebook ausgeführt. Die Eingabedaten werden in einem Python-Entwicklerskript vorab normalisiert. Für das nnU-Net-Modell (siehe Kap. 3.4.1) wird auf die Eingabedaten zuerst eine Konvertierung angewandt, die sie durch Padding in die geforderte Größe gebracht und zu .nni.gz-Dateien umgeformt werden. Eine Parameterbestimmung für die Anzahl der Wiederholungen, Normalisierungsart und Datensatz-Eigenschaften wird anhand der Parameter Vorlage der Autoren erstellt. Das Modell wird direkt mit der Architektur und den Gewichten der Veröffentlichung initialisiert und über die Kommandozeile auf alle Daten angewandt. Die entstehenden Instanzen werden in einen Instanztrenner gegeben (siehe Kap. 3.4.2), um den Instanzen einzigartige Labels zu vergeben.

Für das Deepcell-Modell (siehe Kap. 3.4.1) wird direkt das bereitgestellte Jupyter-Notebook der Deepcell-Veröffentlichung auf die Benchmarkdaten angewandt [145]. Die Ergebnisse werden daraufhin mit dem Watershed-Algorithmus der OpenCV-Bibliothek nachbearbeitet (siehe Kap. 3.4.2).

Das CellposeSAM-Modell (siehe Kap. 3.4.1) wird als Entwicklerskript weitgehend mit der Architektur, den Gewichten und den vorgeschlagenen Parametern der Autoren angewandt. In einer Parameterbestimmung wird der durchschnittliche Durchmesser der Nuclei an die eingegebenen Daten angepasst. Auf die Ergebnisse wird keine Nachbearbeitung angewandt.

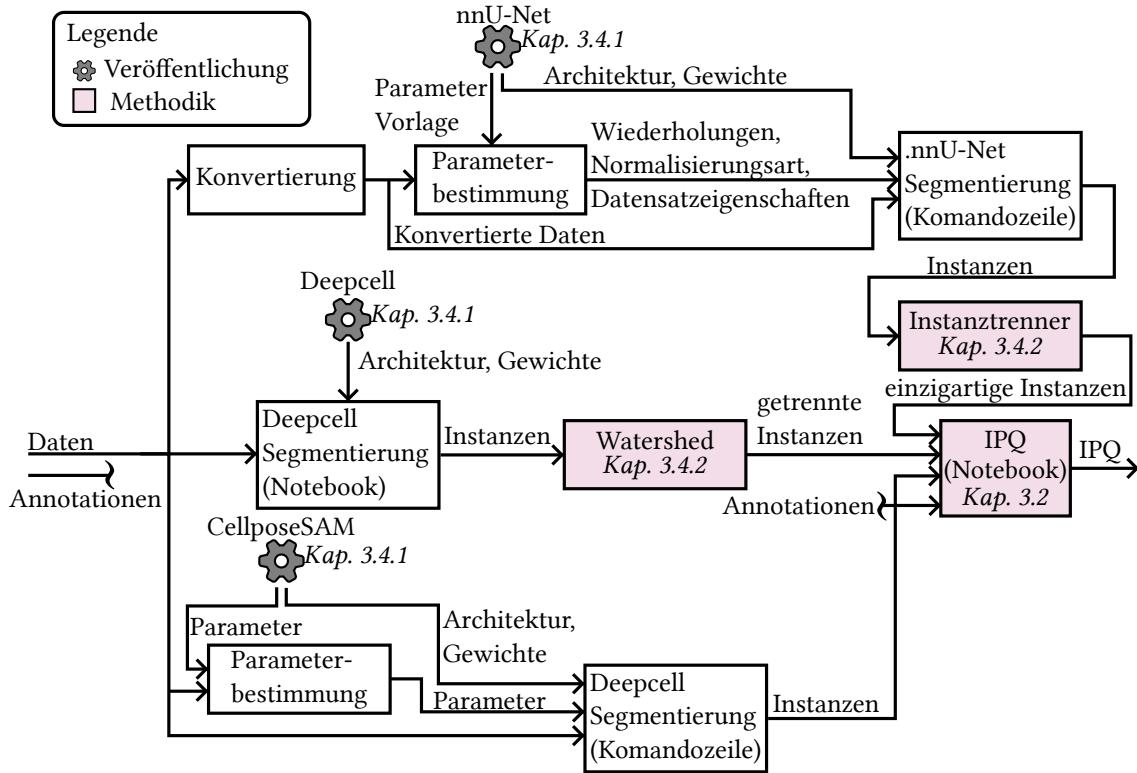


Abb. 4.1 | Signalflussdiagramm der praktischen Umsetzung der Segmentierungsmodelle.

Die Instanzen von jedem der drei Modelle und die Annotationen werden in einem Jupyter Notebook zur Berechnung der IPQ eingegeben (siehe Kap. 3.2). Mithilfe einer neu entwickelten Funktion werden hier die Ergebnisse mit der IPQ-Metrik bewertet.

4.3 Klassifikatoren

Für die Klassifikatoren werden vier Software-Module entwickelt, wie in Abb. 4.2 dargestellt. Das erste Modul nimmt als Eingabe eine Methodenauswahl (siehe Kap. 3.3), die verwendet werden sollen, und gibt einen Klassifikator zurück. Mithilfe der Pytorch-Bibliothek werden entsprechende Encoder und, abhängig von der Vortrainingsmethode, entsprechende Gewichte geladen. Außerdem werden neu entwickelte Klassen von PyTorch-Modellen für das Erstellen der Klassifikations-Kopf aufgerufen (siehe Kap. 3.3.5).

In das zweite Modul wird auch eine Methodenauswahl eingegeben und abhängig von der Vortrainings- und Vorverarbeitungsmethode wird ein entsprechender Datensatz zurückgegeben (siehe Kap. 3.3.4 und Kap. 3.3.3). Dieser Datensatz wird als Pytorch Dataloader erstellt und mit einer Batch-Größe und mit Augmentierungen der Monai-Bibliothek versehen. In diesen Dataloader wird eine neu entwickelte Retriever-Instanz (siehe Kap. 3.3.3) eingebettet. Der Retriever ermöglicht es, die großen, dreidimensionalen Daten nicht alle

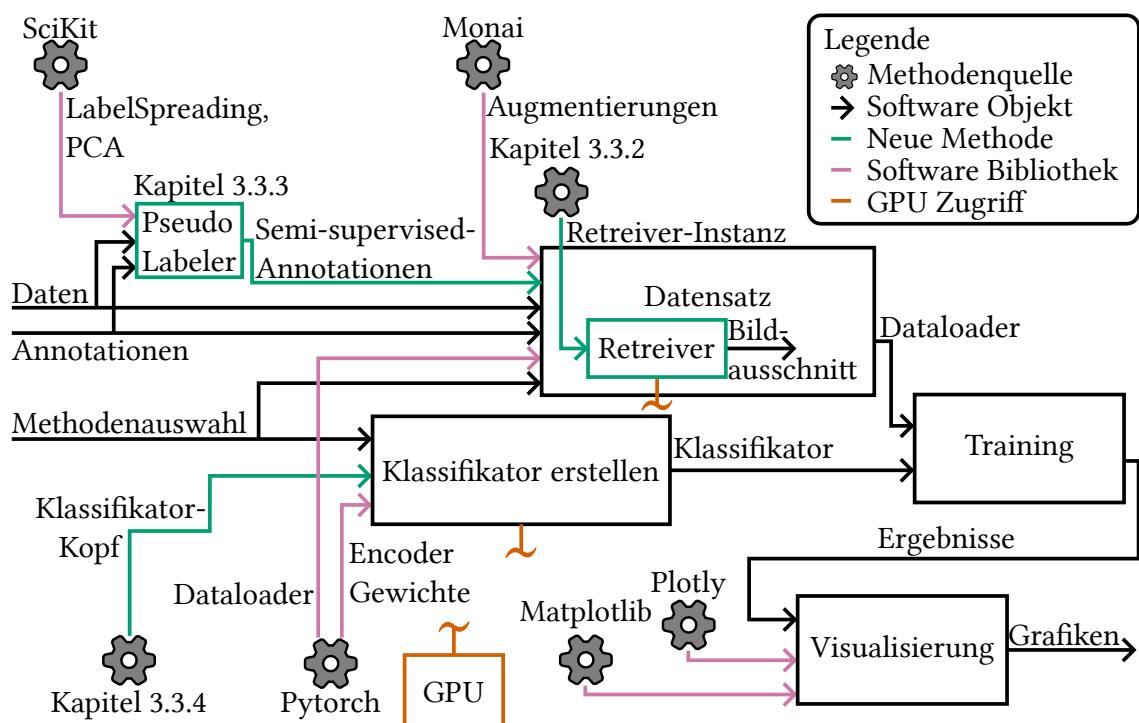


Abb. 4.2 | Signalflossdiagramm der praktischen Umsetzung der Klassifikatoren. Zu sehen sind die Module, aus denen sich die Anwendung der Klassifikatoren zusammensetzt. Links sind als Eingabe Daten mit zugehörigen Annotationen und eine Kombination von Methoden und Rechts Grafiken, die die Ergebnisse visualisieren als Ausgabe zu sehen. Verschiedene Python-Bibliotheken werden genutzt (Rosa), aber auch neue Methoden werden eingesetzt (Grün). Der Klassifikator und der Retriever, der dynamisch Bildausschnitte lädt, greifen auf die GPU zu (Orange).

auf einmal als Variablen im Datensatz unterzubringen, sondern nur die Indizes von Bildern und Instanzen. Diese Indizes werden dann genutzt, um dynamisch nur die gewünschten Bildausschnitte auf die GPU zu laden. In einem Pseudo-Labeller-Modul werden zusätzlich Semi-supervised-Annotationen mithilfe der PCA und der Label-Spreading-Funktion der SciKit-Bibliothek erstellt (siehe Kap. 3.3.4).

Das dritte Modul erhält einen Klassifikator und einen Datensatz und führt einen Trainingsdurchlauf durch. Es speichert die Ergebnisse und die Gewichte der neu trainierten Klassifikatoren in automatisch benannten Dateien.

Im vierten Modul werden mithilfe der plotly-Bibliothek Grafiken aus den eingegebenen Ergebnissen erstellt und, mithilfe der Matplotlib-Bibliothek, separat als .png gespeichert.

4.4 3D-Zelldaten-Pipeline

4.4.1 Übersicht

In Abb. 4.3 ist die Software-Architektur der 3D-Zelldaten-Pipeline als Signalflussdiagramm dargestellt. Die Anwendung vereint die eingeführten Methoden der vorliegenden Arbeit (siehe Kap. 3). Oben zentral zu sehen ist das Graphical User Interface (**GUI**), die grafische Schnittstelle mit Bedienelementen und Visualisierungen für Interaktionen mit Nutzer*Innen. Von der **GUI** gehen Start- und Stop-Signale an die wichtigsten Module aus (Segmentierung,

Labeling-App, Visualisierung und Methodenvergleich). Diese vier Module werden direkt von Nutzer*Innen bedient. Das Segmentierung-Modul greift auf lokale Dateien zu, um Bilder einzulesen und startet dann die Segmentierung für diese Daten mit verschiedenen Modellen (siehe Kap. 4.2). Die gefundenen Segmente werden dann an das **IPQ**-Modul gegeben, das die **IPQ**-Metrik für die gefundenen Segmente zurückgibt, insofern Annotationen zu den Daten existieren (siehe Kapitel 3.2). Das Labeling-App-Modul beinhaltet eine Schleife aus einer Retriever-Instanz und einer Eingabeaufforderung (siehe Kap. 3.3.3). Diese Retriever-Instanz greift auf lokale Dateien zu, um abhängig von der Nutzereingabe einen Bildausschnitt zu laden. Dem Bildausschnitt weisen Nutzer*Innen dann Annotationen zu, die anschließend lokal gespeichert werden. Im Methodenvergleich werden die Annotationen und Segmentierungsmasken eingelesen. In einer Schleife werden mit Hilfe eines Klassifikator-Helfer Klassifikatoren aus verschiedenen Methoden-Kombinationen erstellt und trainiert. Der Datensatz hierzu wird von einem Datensatz-Helfer-Modul erstellt und beinhaltet eine Retriever Instanz (siehe Kap. 3.3.3). Ein Pseudo-Labler-Modul erstellt Semi-supervised-Annotationen für den Datensatz, die je nach Vortrainingsmethode in der Schleife genutzt werden können (siehe Kap. 3.3.4). Die Ergebnisse der verschiedenen Klassifikatoren werden anschließend verglichen und gespeichert. Das Visualisierung-Modul liest die Ergebnisse des Klassifikators und stellt diese in Grafiken dar.

Abb. 4.4 zeigt die **GUI** der 3D-Zelldaten-Pipeline. In den fünf Tabs (Segmentierung, Labeling-App, Methodenvergleich, Training und Visualisierung) werden die Aufgaben der Anwendung ausgeführt. Als Frontend der App dient eine Dash-Anwendung, die eine einfache HTML-Seite bereitstellt. Das Backend ist mit Python erstellt, und die gesammelten Daten werden als JSON gespeichert. Zwischenergebnisse wie trainierte Modelle und verarbeitete Daten werden als nicht interpretierbare Python-spezifische Datentypen abgelegt. Hierzu ist ein Docker mit Zugriff auf das lokale Dateiensystem versehen und über Kubernetes betrieben.

4.4.2 Segmentierung

Abb. 4.4 zeigt den Tab der 3D-Zelldaten-Pipeline, in dem die Segmentierung der Zellkerne vorgenommen wird. Im Eingabefeld 'Eingabe Ordner' wird ein Ordner, relativ zu dem Speicherort der Anwendung, angegeben, aus dem TIF-Bilder gelesen werden. Unter 'Ausgabe Ordner' wird angegeben, wohin die Instanzsegmentierungsmasken gespeichert werden.

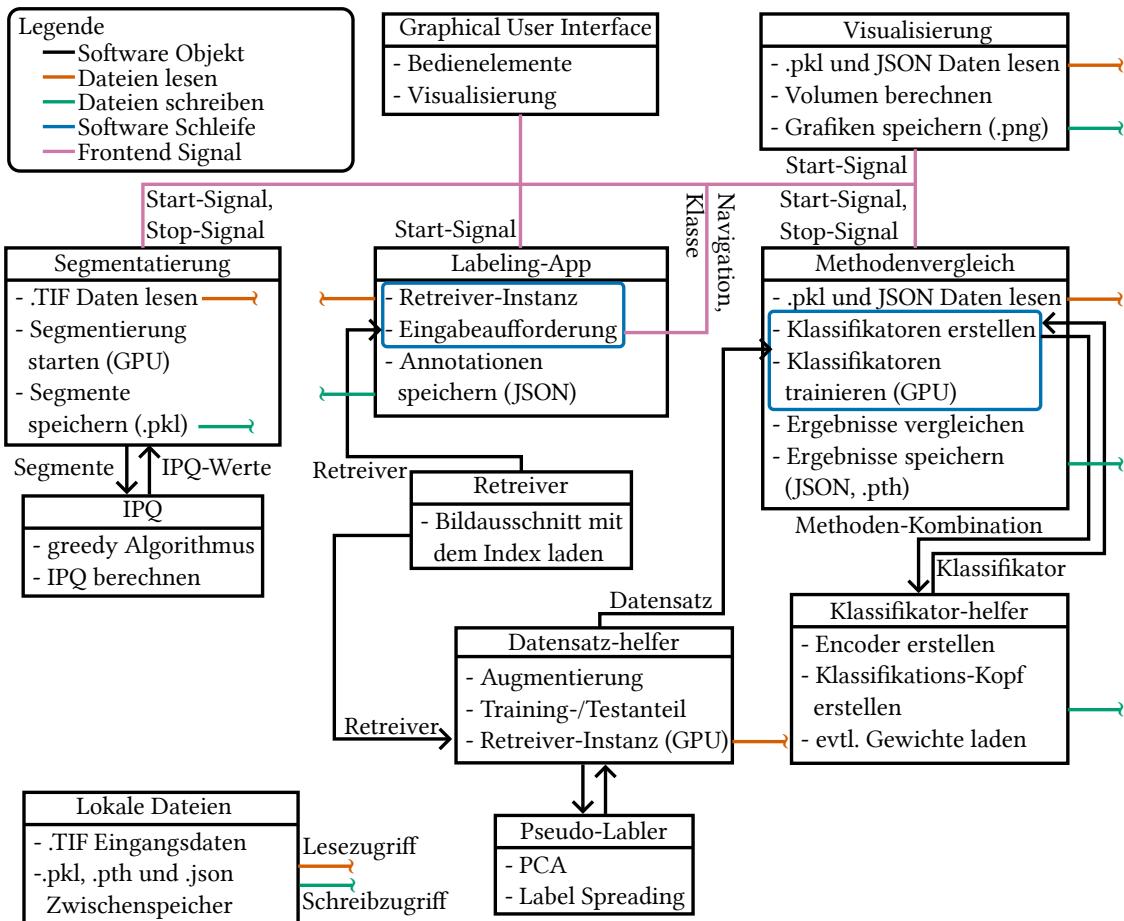
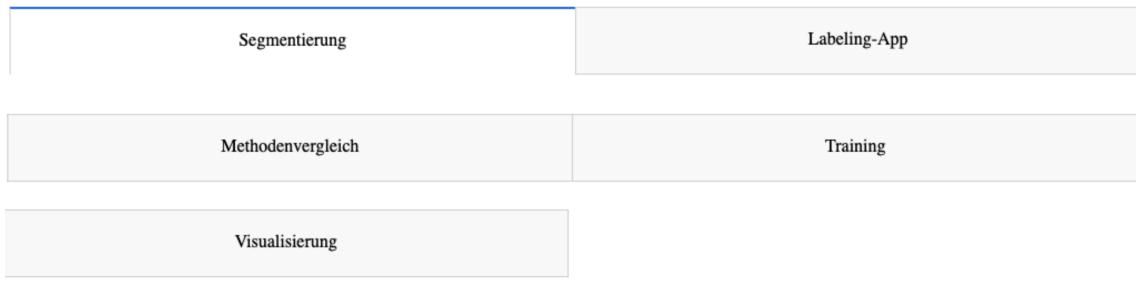


Abb. 4.3 | Übersicht der Architektur der neu entwickelten 3D-Zelldaten-Pipeline. Als Kästen sehen sind die Module die die 3D-Zelldaten-Pipeline bilden. Schwarze Pfeile stellen die Weitergabe von Software Objekten zwischen den Modulen dar. In Orange und Grün sind Zugriffe auf lokale Dateien dargestellt, Orange ist Dateien lesen und Grün Dateien schreiben. Software Schleifen sind als Blaue Kästen dargestellt. Rosa Verbindungen stellen die Signale von und an die GUI dar.

3D-Zelldaten-Pipeline



1) Segmentierung

Eingabe Ordner
Auszabe Ordner

Eingabe Ordner: Demo/Segmentation
 Output folder: Demo/Methodenvergleich

Segmentation running...

Abb. 4.4 | Die Abbildung zeigt einen Ausschnitt der 3D-Zelldaten-Pipeline. Oben sind fünf Tabs zu sehen, mit denen die auszuführende Aufgabe gewählt werden kann. Diese Tabs sind zur besseren Darstellung untereinander statt nebeneinander platziert. Darunter ist ein Ausschnitt des ausgewählten 'Segmentierung' Tab zu sehen.

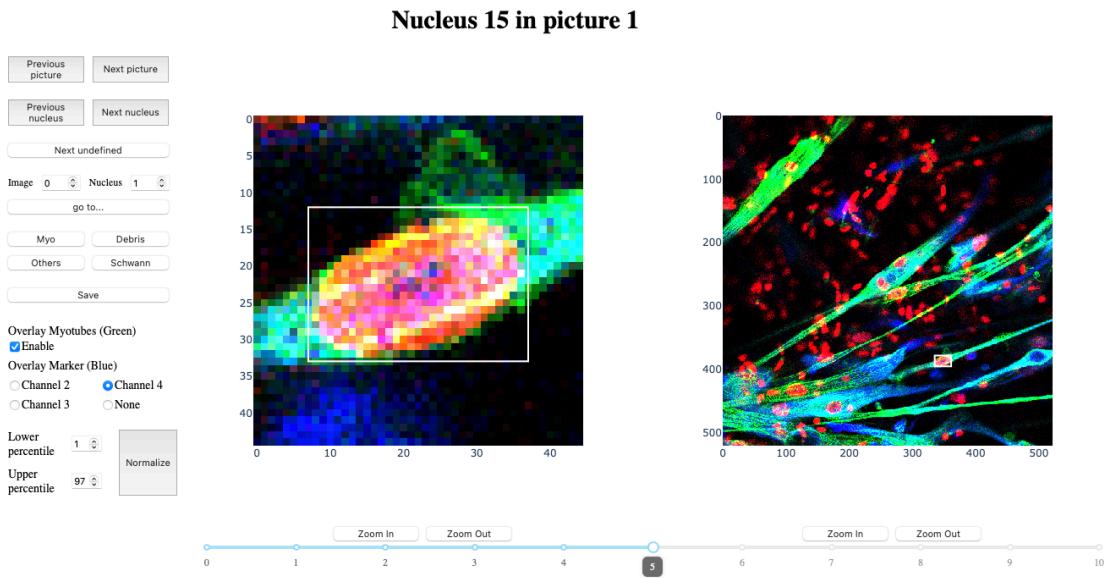


Abb. 4.5 | Die Abbildung zeigt die **GUI** der neu entwickelten Labeling-App. In der Mitte wird die Zelle angezeigt, die gelabelt werden soll, und links sind Bedienelemente zu sehen. Unter der dargestellten Zelle befindet sich ein Schieberegler, der die Navigation entlang der Z-Achse ermöglicht. Über die Bedienelemente kann der/die Nutzer*In zwischen Bildern und Zellen umschalten, die Klasse der Zelle bestimmen, den gezeigten Ausschnitt mit prozentualen Schwellenwerten normalisieren und die Fenstergröße ändern.

Mit dem Knopf 'Starte Segmentierung' wird die Segmentierung gestartet und mit dem 'Abbrechen'-Knopf wieder abgebrochen. Das Textfeld 'Segmentation running...' blinkt im Takt von einer Sekunde, solange die Segmentierung durchgeführt wird.

4.4.3 Labeling-App

Um den Klassifikator zu trainieren, werden einige Zieldaten mithilfe der neu entwickelten Labeling-App-Annotationen hinzugefügt. Die Anforderungen an die Labeling-App sind ein nutzerfreundlicher, zeiteffizienter Ablauf und Zugänglichkeit für Nutzer*Innen ohne Programmiererfahrung. Funktional muss die Labeling-App imstande sein, die zu klassifizierenden Nuclei zu visualisieren und Eingabemöglichkeiten zu bieten, mit denen die Expert*Innen die Klasse des Nucleus eintragen können. Diese eingetragenen Annotationen müssen sinnvoll gespeichert werden. Abb. 4.5 zeigt die neu entwickelte **GUI** der Labeling-App. Mit den Bedienelementen werden die Anforderungen an die Funktionalität umgesetzt. Zentral zu sehen sind zwei Fenster, die je einen 2D-Schnitt des ausgewählten Nucleus anzeigen. Diese Schnitte werden von einem neu entwickelten Retreiver dynamisch geladen (siehe Kap. 3.3.4). Das linke Bild zeigt den Nucleus stark vergrößert, das rechte Bild zeigt die Umgebung des Nucleus. Auf den Bildern ist jeweils ein Kasten gezeichnet, der den ausgewählten Nucleus umrandet, um Nuclei, die dicht aneinander liegen, zu unterscheiden. Mit dem Schieberegler unter den Fenstern wird ausgewählt, welche der Schichten, in denen der Nucleus anwesend ist, gezeigt werden soll. Über dem Fenster ist der Index des aktuell dargestellten Nucleus und des Bildes angegeben. Links neben dem

Fenster befinden sich Bedienelemente mit den folgenden Funktionen:

- *Previous picture*: Vorheriges Bild auswählen,
- *Next picture*: Nächstes Bild auswählen,
- *Previous nucleus*: Vorherigen Nucleus auswählen,
- *Next nucleus*: Nächsten Nucleus auswählen,
- *Next undefined*: Nächsten Nucleus ohne eingetragene Annotation auswählen,
- *Image*: Eingabefeld für das auszuwählende Bild,
- *Nucleus*: Eingabefeld für den auszuwählenden Nucleus,
- *go to...*: Bild und Nucleus auswählen, wie in den Eingabefeldern,
- *Myo*: 'Myotuben-Zellkern'-Klasse als Annotation des ausgewählten Nucleus definieren,
- *Debris*: 'Überreste'-Klasse als Annotation des ausgewählten Nucleus definieren,
- *Other*: 'Andere'-Klasse als Annotation des ausgewählten Nucleus definieren,
- *Schwann*: 'Schwannzellen-Zellkern'-Klasse als Annotation des ausgewählten Nucleus definieren,
- *Save*: Manuell die festgelegten Annotations speichern. Die Labeling-App speichert außerdem eigenständig periodisch,
- *Overlay Myotubes (Green)*: Mit einem Haken bei 'Enable' wird der Marker, der die Myotuben einfärbt, in Grün eingeblendet,
- *Overlay Marker (Blue)*: Einer oder keiner der restlichen vorhandenen Marker wird in Blau eingeblendet,
- *Lower Percentile*: Unteren prozentualen Schwellwert wählen, der bei der nächsten Normalisierung angewandt werden soll,
- *Upper Percentile*: Oberen prozentualen Schwellwert wählen, der bei der nächsten Normalisierung angewandt werden soll,
- *Normalize*: Normalisierung lokal auf den Ausschnitt des aktuell ausgewählten Nucleus anwenden. Intensitätswerte, die im beziehungsweise über dem Perzentil der eingetragenen Schwellwerte, werden hierbei zusammengefasst,
- *Zoom In*: Verkleinert den anzuzeigenden Ausschnitt und
- *Zoom Out*: Vergrößert den anzuzeigenden Ausschnitt.

3) Methodenvergleich

Eingabe Ordner	<input type="text" value="Demo/Methodenvergleich"/>
Ausgabe Ordner	<input type="text" value="Demo/Training"/>

Eingabe Ordner: Demo/Methodenvergleich
 Ausgabe Ordner: Demo/Training

Methoden Optimierung (Mindestens eine Methode je Gruppe)

Encoder	Vorverarbeitung (Nucleus Kanal)
<input type="checkbox"/> CellposeSAM	<input type="checkbox"/> Volumen-Klassifikator
<input type="checkbox"/> ResNet18	<input type="checkbox"/> Distanztransformation
<input type="checkbox"/> ResNet101	<input type="checkbox"/> Segmentierungsmaske
<input type="checkbox"/> SwinV2	Vortraining
<input type="checkbox"/> ConvNeXt	<input type="checkbox"/> Kein Vortraining
<input type="checkbox"/> EfficientNetV2	<input type="checkbox"/> Semi-supervised
Decoder	<input type="checkbox"/> Fully-supervised
<input type="checkbox"/> Schichten-Klassifikator	

Abb. 4.6 | Die Abbildung zeigt einen Ausschnitt des Tabs der 3D-Zelldaten-Pipeline der den Vergleich der Klassifikatormethoden ermöglicht. Methoden der Kategorien Encoder, Klassifikations-Kopf, Vorverarbeitung und Vortraining können ausgewählt werden, um einen Vergleich aller Kombinationen der Methoden zu starten.

Aufgrund der Anforderung einer nutzerfreundlichen, zeiteffizienten Bedienung sind alle Berechnungen, die während der Nutzung der Labeling-App ausgeführt werden, darauf ausgelegt, die Rechenzeit zu minimieren. Hierzu werden alle Bilder und Masken bei der Initialisierung der App in den Cache geladen. Des Weiteren ist eine Python-Klasse angelegt, die separat noch das aktuell ausgewählte Bild und die ausgewählte Zelle speichert. Erst wenn eine Änderung der Auswahl ausgeführt wird, wird eine neue Zelle oder ein neues gesamtes Bild geladen und selbst dann lediglich aus dem Cache.

4.4.4 Methodenvergleich

Der Tab 'Methodenvergleich' ist in Abb. 4.6 dargestellt. Die Eingabefelder 'Eingabe Ordner' und 'Ausgabe Ordner' bestimmen, aus welchem und in welchen Ordner, relativ zum Speicherort der Anwendung, die Daten gelesen oder geschrieben werden. Im Eingabe Ordner müssen dreidimensionale Bilder, Segmentierungsmasken und Annotationen vorhanden sein. Die vorangegangenen Tabs speichern die Daten direkt im erwarteten Format ab. Unter der Anzeige für die gewählten Ordner sind einige Checkbox-Felder gegeben. Diese sind in die vier Gruppen Encoder, Klassifikations-Kopf, Vorverarbeitung (Nucleus-Kanal) und Vortraining unterteilt. Alle hier gewählten Methoden werden nachfolgend genutzt und in jeder Kombination trainiert. Die verfügbaren Methoden sind in Kapitel 3.3 beschrieben. Mit dem 'Start'-Knopf wird der Methodenvergleich gestartet und mit dem 'Abbrechen'-Knopf wieder abgebrochen. Nach Abschluss des Vergleichs werden die Voraussagen des Modells mit der höchsten Genauigkeit auf dem Validierungsanteil der Eingangsdaten für alle Nuclei im Datensatz abgelegt, auch für die Daten ohne Annotationen. Außerdem wird die Kombination von Methoden gespeichert, mit der die höchste Genauigkeit erzielt wurde.

4) Finales Training

Eingabe Ordner	<input type="text" value="Demo/Training"/>
Ausgabe Ordner	<input type="text" value="Demo/Vis"/>
<input type="button" value="Starte Training"/>	

Abb. 4.7 | Die Abbildung zeigt einen Ausschnitt des Tabs der 3D-Zelldaten-Pipeline, der das finale Training des Klassifikators durchführt. Hier wird ein Ordner gewählt, aus dem die beste Kombination von Methoden gelesen werden soll, und anschließend wird ein längeres Training gestartet.

4.4.5 Training

Im 'Training'-Tab (Abb. 4.7) wird der Klassifikator mit der zuvor ermittelten optimalen Kombination von Methoden erneut trainiert in mehr Epochen. Dabei können auch mehr Annotationen eingesetzt werden, die während des Methodenvergleichs nachgeliefert wurden. Dieser Tab ist optional, das Training während dem Methodenvergleich kann das intensivere Training in diesem Tab ersetzen, wenn die Genauigkeit bereits zufriedenstellend war. In den Eingabefeldern 'Eingabe Ordner' und 'Ausgabe Ordner' wird angegeben, welche Ordner genutzt werden sollen. Im Eingabe Ordner muss eine Datei vorhanden sein, die die beste Kombination der Methoden auszeichnet. Nachdem das Training mit dem 'Starte Training'-Knopf gestartet und vollendet wurde, werden die Vorhersagen für alle Nuclei der Eingabedaten im Ausgabe Ordner abgelegt. Sind hier keine Annotationen verfügbar, wird eine einfache Inferenz mit dem trainierten Modell im Eingabe Ordner durchgeführt und die Vorhersagen gespeichert.

4.4.6 Visualisierung

In dem letzten Tab werden die Ergebnisse der Anwendung dargestellt (siehe Abb. 4.8). Mithilfe der beiden Eingabefelder wird festgelegt, aus welchen Ordnern die Ergebnisse stammen sollen und wohin die erstellten Grafiken gespeichert werden. Mit dem 'Starte Visualisierung'-Knopf wird der Algorithmus gestartet, der die interpretierbaren Eigenschaften aus den Ergebnissen ausliest. Daraufhin werden unten auf der Seite drei Grafiken dargestellt. Links wird beispielhaft eine Instanzsegmentierungsmaske von einer Schicht eines der 3D-Bilder gezeigt. In der Mitte wird ein Balkendiagramm dargestellt, das die Anzahl der Nuclei jeder Klasse angibt. Das rechte Balkendiagramm zeigt die Verteilung der Nucleus-Volumen in Pixeln hoch drei. Um dieses Volumen zu interpretieren, muss die Umrechnung von Pixeln in Micrometer abhängig von der Auflösung des Aufnahmegeräts und der Zoom-Stufe manuell durchgeführt werden.

5) Visualisierung

Eingabe Ordner
 Ausgabe Ordner



Abb. 4.8 | Die Abbildung zeigt den 'Visualisierung'-Tab der 3D-Zelldaten-Pipeline. Hier werden die Ergebnisse der Anwendung in interpretierbaren Grafiken dargeboten.

4.5 Umsetzung

Die Tabelle 4.1 stellt den Umfang des Codes der einzelnen Module dar.

Tab. 4.1 | Übersicht der Implementierungskomponenten mit Codeumfang und genutzten Bibliotheken

Modul	Beschreibung	Zeilen Code	Verwendete Bibliotheken
Segmentierung			
Vorverarbeitung	Vorverarbeitung der 3D-Bildstapel	40	tqdm, Numpy
Deepcell	Deepcell Segmentierung	125	SciKit-Image, Numpy, de- epcell, deep- cell_toolbox
nnU-Net	nnU-Net Segmentierung	107	nnunetv2
CellposeSAM	CellposeSAM Segmentierung	45	Numpy, cellpo- se
Nachbearbeitung und Bewertung	Nachbearbeitung der Segmentie- rungsmasken, greedy-Algorithmus und IPQ-Berechnung	600	Numpy, Open- CV, SciKit- Image, SciPy
Klassifi- kation			
midrule Retreiver	Dynamisches Laden von Bildaus- schnitten auf die GPU	100	dash, plotly

Modul	Beschreibung	Zeilen Code	Verwendete Bibliotheken
Pseudo-Labler	Semi-supervised-Annotationen erstellen	215	SciKit-Image, Numpy
Visualisierungen	Kontur-Bilder, gradCAM, Scatter-plots, etc	650	SciKit-Image, Numpy, Matplotlib, SciPy, Torch
Klassifikator erstellen	Encoder- und Klassifikations-Kopf-Code	300	Torch, cellpose
Datensatz	Vorverarbeitungsmethoden, Datensatz erstellen	200	Torch, Numpy
3D-Zelldaten-Pipeline			
Frontend	GUI der 3D-Zelldaten-Pipeline, Webserver, Threading	800	dash, plotly
Webserver backend	Unterstützende Funktionen für das Frontend-serving	100	-
Training	Klassifikator-Training, Management von Modellcheckpoints und aktiven Trainings-Threads	380	Monai, tqdm, Pytorch, SciKit-Learn
Methodenauswahl	Auswahl der Methoden	60	-
Inferenz	Inferenz mit einem trainierten Klassifikator	160	Torch, SciKit-Learn
Labeling-App	Backend für die Labeling-App	360	umpy
Visualisierung	Frontend Grafiken erstellen und speichern	190	plotly, pandas, Numpy, Matplotlib
Gesamt		4325	

Ergebnisse 5

5.1 Überblick

Das nachfolgende Kapitel beschreibt die Ergebnisse der durchgeführten Experimente. Die Experimente werden in mehreren Durchläufen des neu entwickelten Konzepts „3D-Zelldaten-Pipeline“ zur Auswertung von 3D-Zelldaten durchgeführt. Auf Grundlage der Messergebnisse der 3D-Zelldaten-Pipeline wird eine statistische Auswertung vorgenommen. Zuerst werden die Bewertungen der Instanzsegmentierungsmasken anhand der [IPQ](#)-Metrik und anschließend die der Klassifikatoren anhand ihrer Genauigkeit betrachtet. Die [IPQ](#)-Ergebnisse werden in die drei Faktoren: Segmentation-Quality ([SQ](#)), Recognition-Quality ([RQ](#)) und die neu eingeführte Injective-Quality ([IQ](#)) gegliedert (siehe Kap. 3.2). Daraus wird ersichtlich, dass jedes der Segmentierungsmodelle in einem der Faktoren dominiert, insgesamt aber CellposeSAM den anderen Modellen signifikant überlegen ist. Auch die Ergebnisse der Klassifikation werden unterteilt, um den Einfluss einzelner Methoden auf die Genauigkeit des Klassifikators zu identifizieren. Vergleiche der Ergebnisse verschiedener Methoden zeigen, dass die neu eingeführten Methoden wie der Pseudo-Labler (siehe Kap. 3.3.4) je nach Anforderung dem Stand der Technik überlegen sind. Außerdem zeigen die Ergebnisse, dass das Anwenden der 3D-Zelldaten-Pipeline optimale Methoden für die Segmentierung und Klassifikation von Zelldaten effizient findet und gegenüber nicht-optimalen Methoden einen signifikanten Qualitätsunterschied bringt. Mithilfe ausführlicher Analysen sind des Weiteren grundlegende Erkenntnisse über das Verhalten von Klassifikatoren im Umgang mit biologischen 3D-Bildstapeln möglich.

5.2 Hardware

Für die Anwendung wird eine NVIDIA GeForce RTX 3090 Ti mit 24 GB VRAM verwendet. Der verwendete Server verfügt über eine 12th-Gen-Intel(R) Core(TM) i9-12900KF-CPU mit 16 Kernen und 64 GB RAM.

5.3 Segmentierung

Für die Wahl eines Segmentierungsmodells wird in Kapitel 3 das Bewertungskriterium [IPQ](#) eingeführt. Außerdem wird in Kapitel 3 der annotierte S_BIAD1518-Datensatz vorgestellt. Die [IPQ](#) wird auf dem Datensatz mit den Masken der drei vortrainierten Segmentierungsmodelle und zur Validierung mit den Annotationen durchgeführt. Alle Annotationen

erreichen einen **IPQ**-Wert von genau Eins. Abb. 5.1 zeigt exemplarisch einen 2D-Schnitt eines 3D-Bildes mit roten Linien als Konturen der Annotation oder der vorhergesagten Segmentierungsmaske je Modell. Die prädizierten Instanzsegmentierungsmasken für die dreidimensionalen Benchmarkdaten der drei Segmentierungsmodelle unterscheiden sich optisch deutlich (siehe Abb. 5.1). Masken des nnUNet-Modells sehen kantiger aus als die Masken anderer Modelle und weisen oft eine raue Kontur mit hervorstehenden Extremitäten oder Einkerbungen auf. Deepcell-Masken sehen glatt und ausgebreitet aus. Durch die Watershed-Nachverarbeitung sind teilweise sichtbare Artefakte entstanden, an Stellen, an denen das Trennen der Instanzen für Watershed nicht möglich ist. Die CellposeSAM-Masken sehen intuitiv am besten aus, sie haben oft nahezu elliptische Konturen und trennen Instanzen so wie es für das menschliche Auge sinnvoll erscheint. Das spiegelt sich auch in deutlichen Unterschieden in der **IPQ** wider.

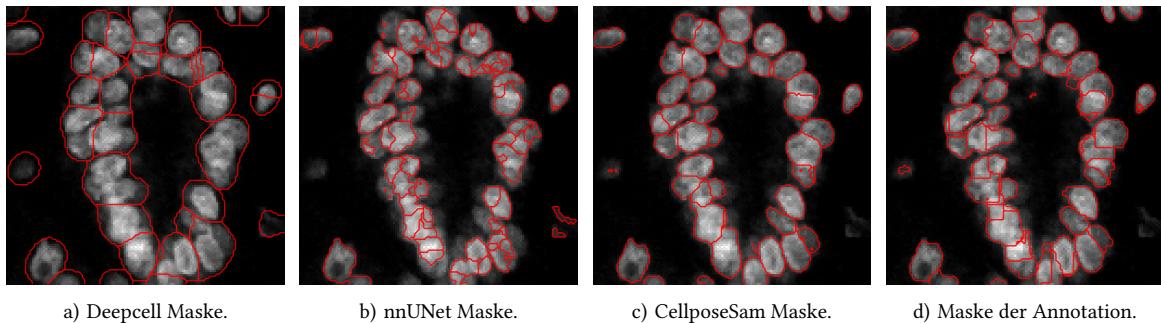


Abb. 5.1 | Darstellung der Segmentierungsmasken der verschiedenen Segmentierungsmodelle sowie der Annotation als Konturen auf einem zweidimensionalen Durchschnitt einer dreidimensionalen Stichprobe des S_BIAD1518-Datensatzes.

Die Ergebnisse jedes Segmentierungsmodell sind einzeln und für jedes Bild im Anhang A.2 angehängt. Eine Zusammenfassung der **IPQ**-Ergebnisse ist in den Boxplots in Abb. 5.2 gegeben. Das zentrale Ergebnis ist, dass CellposeSAM die besten **IPQ**-Werte liefert. Mit einem Mittelwert von 0,64 ist die **IPQ** von CellposeSAM höher als der Mittelwert bei nnUNet (0,04) und Deepcell (0,02), bestätigt durch höchst signifikante einseitige t-Tests. Dennoch zeigt sich, dass CellposeSAM lediglich in der Kategorie **SQ** den höchsten Mittelwert aufweist. Die **RQ** der nnUNet-Masken ist höher als die der CellposeSAM-Masken. Ebenso ist die **IQ** der Deepcell-Masken höher als die **IQ** der CellposeSAM-Maske. Beide Beobachtungen sind durch höchst signifikante t-Tests gestützt.

Obwohl nnUNet und Deepcell jeweils eine Metrik dominieren, wird ihr **IPQ**-Wert durch die beiden niedrigsten Faktoren stark heruntergezogen, während CellposeSAM in jeder Metrik gut, wenn auch nicht am besten, abschneidet. Außerdem zeigen die Boxplots viele Ausreißer in den Daten, was den Unterschieden zwischen den Bildkategorien, die der Datensatz enthält, geschuldet sein kann.

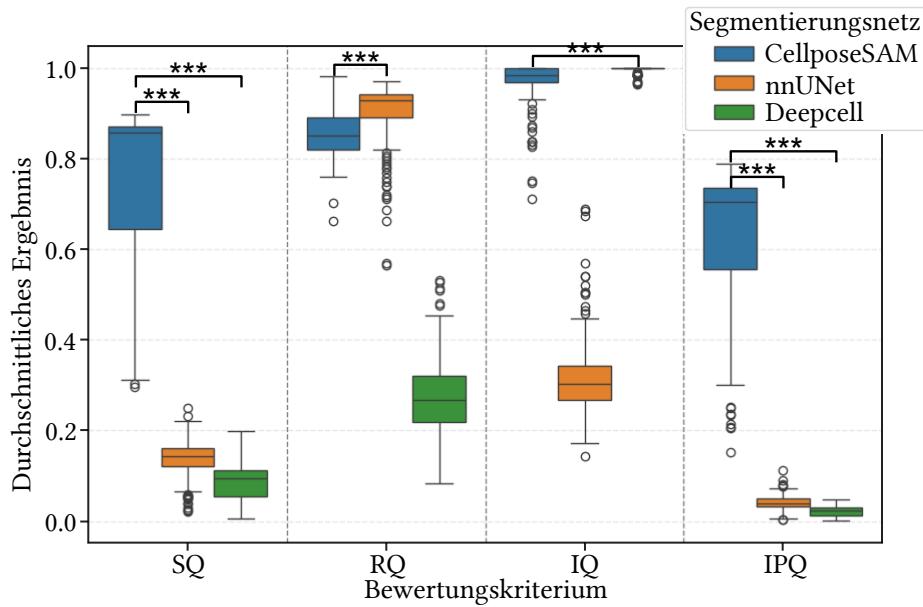


Abb. 5.2 | Ergebnisse der IPQ-Berechnungen mit den Faktoren $k_i = 1$ (siehe Formel (3.2)). Die X-Achse unterteilt die Daten in die Kriterien Segmentation-Quality (SQ), Recognition-Quality (RQ), Injectve-Quality (IQ) und Injektive Panoptische Qualität (IPQ), wie in der Formel (3.2) beschrieben. Für jede Metrik sind drei farbige Boxplots zu sehen, jeweils einer pro Segmentierungsmodell. Die Sterne zeigen die Signifikanz relevanter t-Tests.

In Abb. 5.3 sind Beispiele für die einzelnen Fehlerarten zu sehen. Das IQ-Beispiel zeigt die Verletzung injektiver Abbildung der Nuclei auf die Annotation anhand einer nnUNet-Maske. Zentral ist hier ein nicht-eliptischer Nucleus zu sehen.

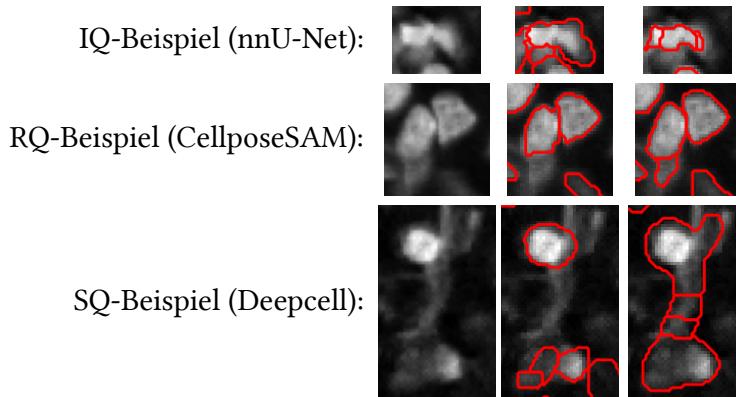


Abb. 5.3 | Exemplische Darstellung einzelner Ausprägungen verschiedener Fehlerarten. Hierzu sind jeweils, in dieser Reihenfolge von links nach rechts, ein Ausschnitt eines 2D-Durchschnitts einer Stichprobe, die Annotation als Kontur und die vorhergesagte Maske eines Modells zu sehen. Die erste Zeile zeigt ein Beispiel für einen schlechten IQ-Wert anhand einer nnUNet-Maske. In der zweiten Zeile ist ein RQ-Fehler anhand einer CellposeSAM-Maske zu sehen und unten ist ein Beispiel für einen schlechten SQ-Wert anhand einer Deepcell-Maske zu sehen.

Dieser Nucleus wird vom nnUNet-Modell in mehrere Segmente unterteilt, wodurch die räumliche Konzentration der Nuclei überschätzt wird. Nicht-eliptische Nuclei führen häufig zu dieser Art von Fehlern.

Mit dem Fehler gehen **RQ**-Fehler einher, weil zwei der Segmente im Vergleich zur Annotation zu klein sind, um als **TP** erkannt zu werden. In der zweiten Zeile ist anhand einer CellposeSAM-Maske ein **RQ**-Beispiel gegeben. Das Segmentierungsmodell hat hier einen Nucleus halluziniert. Der Nucleus unten links, direkt unter dem Linken der beiden großen Nuclei, ist in der Annotation nicht zu finden. Dieser Fehler geht nicht mit einem schlechteren **SQ**- oder **IQ**-Wert einher. Durch den Fehler wird die Anzahl der Nuclei überschätzt.

Zuletzt ist ein **SQ**-Beispiel dargestellt. Neben und unter dem sichtbaren Nucleus oben sind vermutlich Schatten von Nuclei aus anderen Z-Ebenen zu sehen, die vom Deepcell-Modell als Nuclei erfasst wurden. Dadurch ist das Segment, das den sichtbaren Nucleus abbildet, deutlich zu groß, was die **IoU**-Werte beeinträchtigt. Mit diesem Fehler geht auch ein schlechterer **RQ**-Wert einher, da der Schatten zu mehreren Halluzinationen geführt hat. Da diese Halluzinationen nicht mit den Annotationssegmenten überschneiden, ist der **IQ**-Wert hier nicht betroffen. Der Fehler führt zu einer Fehleinschätzung des Nucleivolumens.

Abb. 5.4 zeigt ein Beispiel für eine Instanzsegmentierungsmaske der Zieldaten mit dem CellposeSAM-Modell.

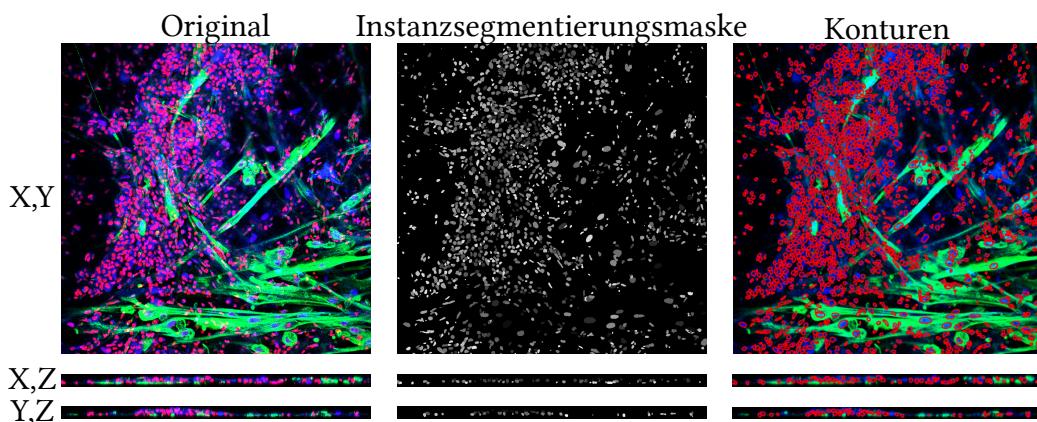


Abb. 5.4 | Exemplarische Darstellung einer Zieldaten-Instanzsegmentierungsmaske des CellposeSAM-Modells. Links ist eine 2D-Schicht des Original-Bildes zu sehen, daneben die Instanzsegmentierungsmaske und rechts eine Überlagerung von den Konturen der Instanzen über die Marker-Kanäle des Original. Zu jeder der drei Ansichten sind auch ein 2D-Schnitt der X-Z-Ebene und der Y-Z-Ebene gegeben.

Links sind exemplarisch 2D-Schichten eines 3D-Eingabe-Volumens zu sehen. Die Schichten sind Schnitte der drei Koordinaten-Ebenen des Volumens. Daneben ist die Instanzsegmentierungsmaske dargestellt als Maskenbild und als Konturen auf den Marker-Kanälen des Eingabebilds. Zu sehen ist, dass die CellposeSAM-Masken auch intuitiv sehr gut zur Eingabe passen.

5.4 Klassifikation

5.4.1 Überblick

Die in Abschnitt 3.3 eingeführten Methoden zur Klassifikation werden anhand eines separaten Anteils des manuell annotierten Datensatzes durch die neu entwickelte 3D-Zelldaten-Pipeline getestet. Der manuell annotierte Datensatz enthält 125 Stichproben von Myotuben-Zellkernen, 95 Stichproben von der Klasse Debris, 148 Stichproben der Klasse „Andere“ und nur 16 Stichproben der Klasse Schwannzellen-Nucleus. Die Klassen Eins bis Vier sind hier der Reihe nach Myotuben-Kerne, Debris, Andere und Schwannzellen-Kerne. Der Abschnitt A.3 des Anhang zeigt alle Ergebnisse der verschiedenen Methodenkombinationen tabellarisch. Um die Genauigkeit der Klassifikatoren anhand des Test-Anteil möglichst repräsentativ zu bestimmen, werden manuell 50% statt 20% der Schwannzellen-Nuclei in den Test-Anteil der Daten eingesetzt. Die Genauigkeit, also der prozentuale Anteil richtiger Vorhersagen, auf dem Test-Anteil des Zieldatensatzes wird als Kriterium verwendet.

Da die Modelle während des Trainings rauschbehaftete Verläufe der Genauigkeit aufweisen und es zu Overfitting kommen kann, wird Early-Stopping implementiert, mit der mittleren Genauigkeit des Klassifikators auf dem Test-Anteil der manuell annotierten Daten über fünf Epochen. Dazu wird die geglättete Genauigkeit betrachtet. Wenn diese Vier mal in Folge sinkt oder gleich bleibt, wird das Training unterbrochen. Abb. 5.5 zeigt exemplarisch zwei Trainingsverläufe, die dieses Phänomen belegen.

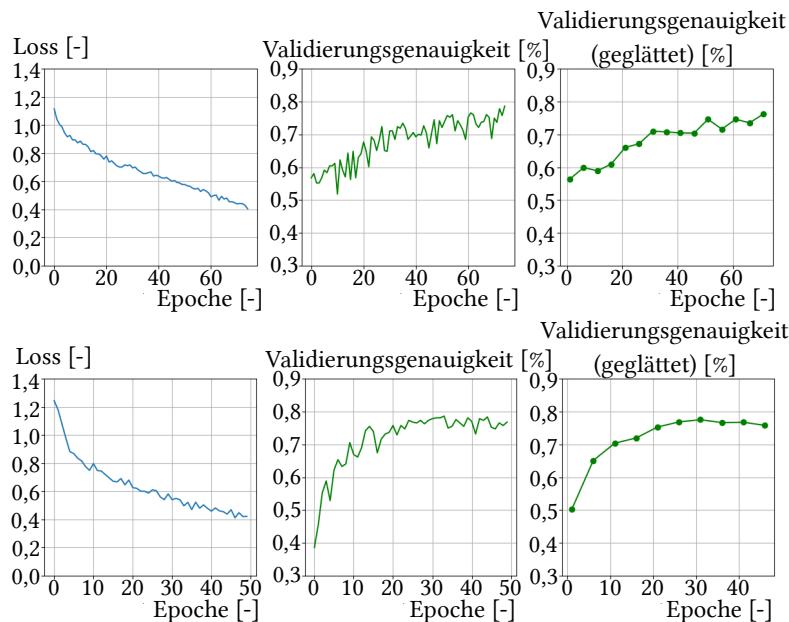


Abb. 5.5 | Die Diagramme zeigen den Trainingsverlauf eines Klassifikators. Links ist der Verlauf des Loss zu sehen. In der Mitte und rechts sind die Verläufe der Validierungsgenauigkeit zu sehen. Rechts ist die Kurve zur Anschaulichkeit durch Mittelung von je fünf Werten geglättet. Der obere Verlauf zeigt einen Klassifikator ohne Overfitting, im unteren Verlauf ist Overfitting zu erkennen.

Im oberen Verlauf ist zu sehen, dass die Genauigkeit des Klassifikators tendenziell steigt. Die geglättete Genauigkeit zeigt hier zwar rauschbehaftetes Verhalten mit einigen lokalen Minima, aber nach ein bis zwei Berechnungsschritten steigt der Wert wieder. Der Verlauf ist also zwar nicht monoton steigend, aber es liegt nahe, dass bei Fortsetzung des Trainings weitere Verbesserungen zu erwarten sind. Im unteren Verlauf ist Overfitting zu erkennen, da die geglättete Genauigkeit über vier Berechnungsschritte hinweg gesunken oder gleich geblieben ist. Der Trainings-Loss nimmt in den selben Epochen weiter ab, das Modell passt sich also weiter an die Trainingsdaten an, ohne dass es besser darin wird, ungesehene Nuclei zu erkennen. Die Genauigkeit auf dem Test-Anteil des Datensatzes sinkt etwa ab Epoche 30 und erreicht ihr Maximum in Epoche 32. Dementsprechend wird die Genauigkeit des Klassifikators in Epoche 32 für den Vergleich herangezogen.

Mit der Prädiktion erweitern die Klassifikatoren die Instanzsegmentierungsmasken zu panoptischen Segmentierungsmasken. Abb. 5.6 zeigt exemplarisch eine panoptische Maske. Die Klassen der Nuclei sind als Farben der Konturen gegeben.

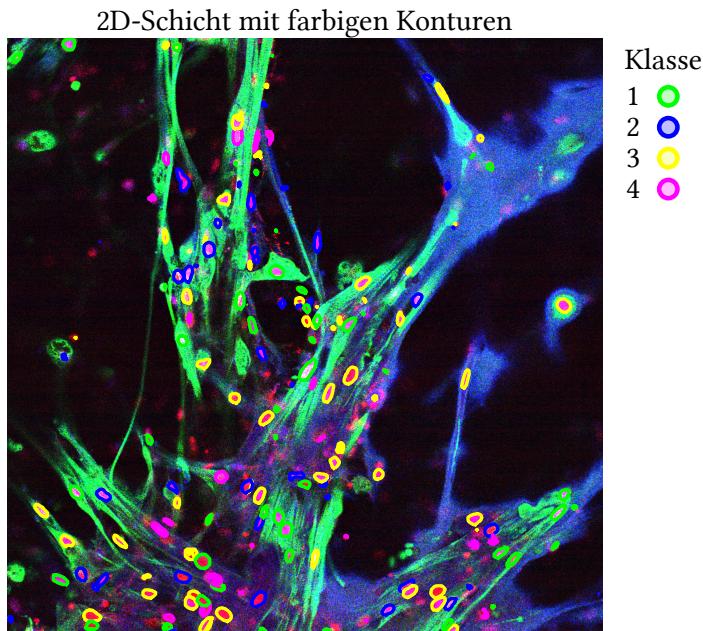


Abb. 5.6 | Panoptische Segmentierungsmaske, erstellt durch die Kombination der Instanzsegmentierungsmaske des CellposeSAM-Segmentierungsmodell und den prädizierten Klassen eines Klassifikators.

5.4.2 Encoder

In Abb. 5.7 ist die Genauigkeit der Klassifikatoren pro Encoder gegeben. Zu sehen ist sowohl das Maximum, als auch der Durchschnitt der Genauigkeitswerte der verschiedenen Methodenkombinationen jedes Klassifikators. Die Klassifikatoren sind nach dem aufsteigenden Maximalwert sortiert.

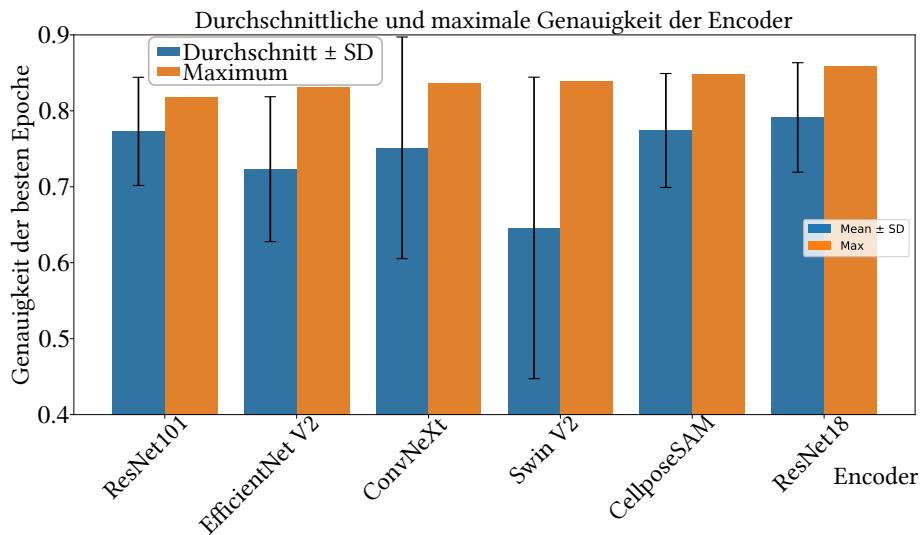


Abb. 5.7 | Das Balkendiagramm zeigt an der Y-Achse die Genauigkeit der Klassifikatoren bei Verwendung der verschiedenen Encoder. Auf der X-Achse sind die Encoder in Gruppen aufgetragen. Jede Gruppe enthält einen Maximalwert (Orange) und einen Durchschnittswert (Blau), da jeder Encoder mit verschiedenen Kombinationen von Methoden getestet wird. Die Encoder sind nach aufsteigendem Maximalwert von links nach rechts sortiert.

Zu sehen ist, dass der beste Wert vom ResNet18-Encoder stammt. Mit 85,9% Genauigkeit auf dem Test-Anteil des Datensatzes ist diese Kombination das gefundene Optimum. Auch im Mittelwert haben die Klassifikatoren mit dem ResNet18-Encoder mit 79,1% die höchste Genauigkeit. CellposeSAM und ResNet101 haben als Encoder die zweit- und dritthöchste durchschnittliche Genauigkeit mit 77,4% und 77,3%, jeweils. Während CellposeSAM allerdings die zweithöchste maximale Genauigkeit aufweist, hat ResNet101 die geringste. Besonders auffällig ist Swin V2. Mit 64,6% hat es die niedrigste durchschnittliche Genauigkeit, aber der Maximalwert von 83,9% ist der dritthöchste.

5.4.3 Vortraining

Abb. 5.8 zeigt eine Übersicht über die Effektivität der verwendeten Vortrainingsmethoden.

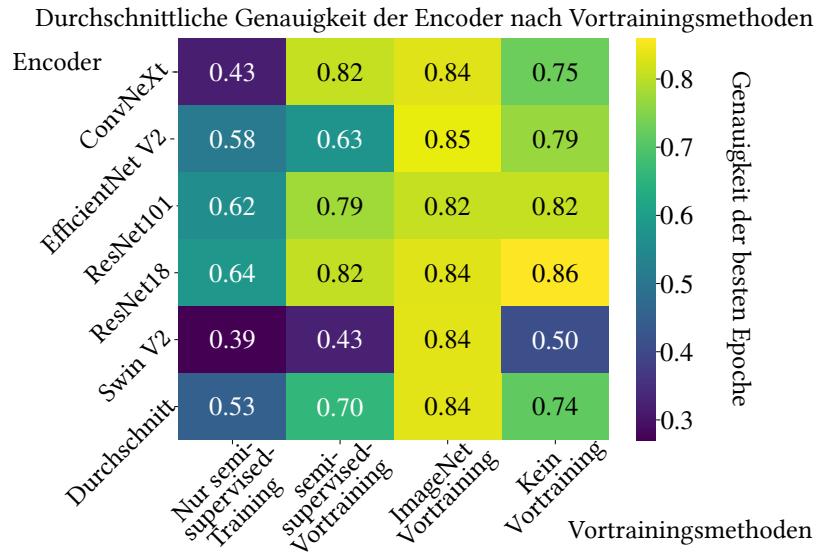


Abb. 5.8 | Die Heatmap zeigt die Genauigkeiten der Klassifikatoren bei Verwendung der verschiedenen Vortrainingsmethoden. Auf der Y-Achse sind die verschiedenen Encoder aufgeführt. Die X-Achse zeigt die getesteten Methoden des Vortrainings an. Die Farbe der Felder und der Wert darin zeigen die Durchschnittsgenauigkeiten aller Klassifikatoren, die die entsprechende Vortrainingsmethode nutzen. Die letzte Zeile zeigt den Durchschnitt der Werte aller Encoder, abhängig von der Vortrainingsmethode.

Um die Ergebnisse möglichst unabhängig von den anderen Klassifikatormethoden zu betrachten, werden hier nur die Klassifikatoren mit der besten Vorverarbeitungsmethode für den Encoder und dem Volumen-Klassifikator als Klassifikations-Kopf betrachtet. Auf der vertikalen Achse sind die verschiedenen Encoder sowie der Durchschnitt aller Encoder zu sehen. Auf der horizontalen Achse sind die vier Vortrainingsmethoden aufgeführt. Links ist nur semi-supervised-Training zu sehen. Daneben steht das semi-supervised-Vortraining, also das Vortraining mit den Pseudo-Labler-Annotationen, Einfrieren der Encoder-Gewichte und Fortsetzen des Trainings mit vollständig annotierten Daten. Rechts ist das fully-supervised ImageNet-Vortraining mit eingefrorenen Encoder-Gewichten und kein Vortraining aufgetragen (siehe Kap. 3.3.4). Zu sehen ist, dass das Vortraining mit semi-supervised-Daten durchschnittlich deutlich schlechtere Ergebnisse liefert als das fully-supervised ImageNet-Vortraining und etwas schlechtere Ergebnisse als kein Vortraining. Im Durchschnitt führt das Fortführen des Trainings mit den annotierten Daten nach dem semi-supervised-Training zu einer Steigerung der Genauigkeit um 13 Prozentpunkte. Für den ConvNeXt-Encoder ist der Vorteil des fortgesetzten Trainings besonders hoch mit 39 Prozentpunkten. Der ConvNeXt-Encoder ist außerdem mit dem semi-supervised-Vortraining um sieben Prozentpunkte genauer als ohne Vortraining. Auch die beiden ResNet-Modelle erzielen mit dem semi-supervised-Vortraining ähnlich gute Ergebnisse wie mit anderen Vortrainingsmethoden. Gegenüber dem ImageNet-Vortraining, das deutlich mehr Rechenaufwand erfordert, sind die Klassifikatoren mit ResNet18 und ResNet101 nur um zwei bzw. drei Prozentpunkte schlechter, wenn sie die Annotationen des Pseudo-Lablers als Vortraining nutzen. Beide haben außerdem eine höhere Genauigkeit als der Durchschnitt ohne Vortraining. Sie sind beide auch ohne Fortsetzung des Trainings nach dem semi-

supervised-Vortraining bereits 64% und 62% genau.

Besonders auffällig ist auch hier das Swin V2-Modell, das ohne fully-supervised-Vortraining nur eine durchschnittliche Genauigkeit von 44,0% erreicht. Vortraining auf dem ImageNet-Datensatz führt im Vergleich dazu bei diesem Encoder zu einer Steigerung der Genauigkeit um 40 Prozentpunkte. Wie in Abschnitt 5.4.2 beschrieben hat die Genauigkeit des Swin V2-Encoder einen hohen Maximalwert, aber einen geringen Durchschnittswert. Der Vergleich der Vortrainingsmethoden zeigt, dass das an der schlechten Leistung des Swin V2-Encoder ohne ImageNet-Vortraining liegt. Abb. 5.9 zeigt zwei Scatterplots. Beide visualisieren Projektionen des Merkmalsraums des Swin V2-Encoders auf zwei Dimensionen mittels t-SNE. Die linke Abbildung zeigt den Merkmalsraum des Encoders ohne Vortraining und die Rechte den Merkmalsraum nach ImageNet-Vortraining. Zu sehen ist, dass der Swin V2-Encoder keinen sinnvollen Merkmalsraum lernt. Das Vortraining auf dem ImageNet-Datensatz ist umfangreicher und diverser als auf den Zieldaten und führt dadurch zu einem generalisierten Merkmalsraum.

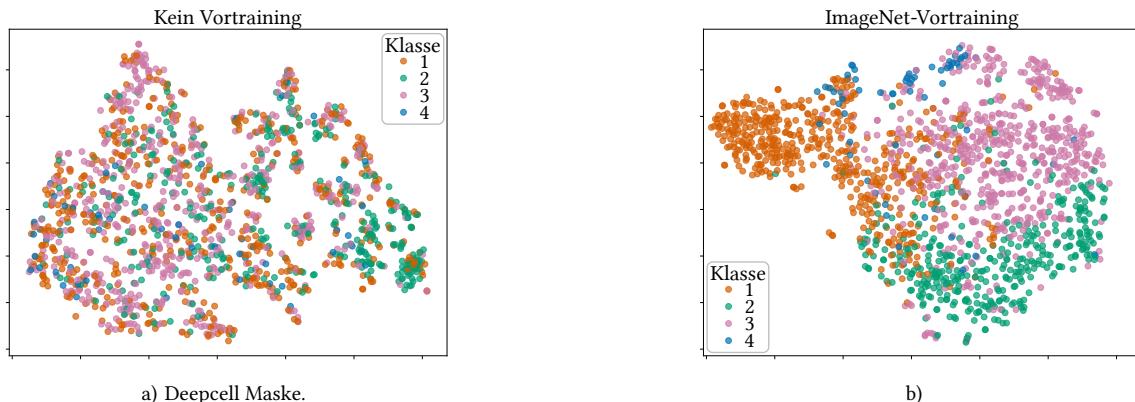


Abb. 5.9 | 2D-Projektionen des Merkmalsraums von zwei Klassifikatoren durch t-SNE. Der linke Scatterplot zeigt den Merkmalsraum eines Swin V2-Encoders ohne Vortraining, der Rechte den eines ImageNet-vortrainierten Swin V2-Encoders. Die Werte der X- und Y-Achse sind arbiträre Aktivierungsintensitäten ohne physische Interpretation.

ImageNet-Vortraining liefert im Durchschnitt die besten Ergebnisse mit einer Genauigkeit von 84%. Außerdem ist die Varianz entlang der Encoder mit dem ImageNet-Vortraining ($5,6 \cdot 10^{-5}$) deutlich geringer als ohne Vortraining (0,016). Dennoch erreicht ResNet18 ohne Vortraining die beste Genauigkeit von 86%. Des Weiteren wird hier die durchschnittliche Genauigkeit pro Klasse betrachtet. Abb. 5.10 zeigt die durchschnittliche Genauigkeit pro Klasse und Sterne als Hinweise auf signifikante Ergebnisse von paarweisen t-Tests. Wie eingangs beschrieben, sind nur 16 Beispiele der Klasse Schwannzellen-Nucleus im Datensatz enthalten, acht hiervon im Trainings- und acht im Test-Anteil. Zu sehen ist, dass insbesondere die Schwannzellen-Kerne schlecht erkannt werden. Wie in Kap. 3.3.3 beschrieben, wird dieses Problem der ungleichen Verteilung der Klassen durch den Retriever durch eine Gewichtung der Gradienten unterrepräsentierter Klassen angegangen. In der Abbildung ist jedoch zu sehen, dass dieser Ansatz das Problem nicht vollständig

gelöst hat. Die unterrepräsentierte Klasse der Schwannzellen-Nuclei wird höchst signifikant schlechter erkannt als alle anderen Klassen. Beinahe alle Methoden ergeben isoliert betrachtet eine ähnliche Verteilung der Genauigkeit pro Klassen, nur das Vortraining hat einen Einfluss. Vortraining mit semi-supervised-Annotationen und anschließendes Fortsetzen des Trainings mit manuell annotierten Daten führen zu Klassifikatoren, die teilweise wesentlich ausgeglichener die Klassen erkennen. Mit dem Volumen-Klassifikator und der Masken-Methode zur Vorverarbeitung erreichen der ResNet101-Encoder 83,2%, der ResNet18-Encoder 73,5% und der ConvNeXt-Encoder 56,3% Genauigkeit für die Klasse der Schwannzellen-Nuclei. Das ist im Vergleich zu den 21,7% durchschnittlicher Genauigkeit für die Schwannzellen-Klasse ein starker Gewinn.

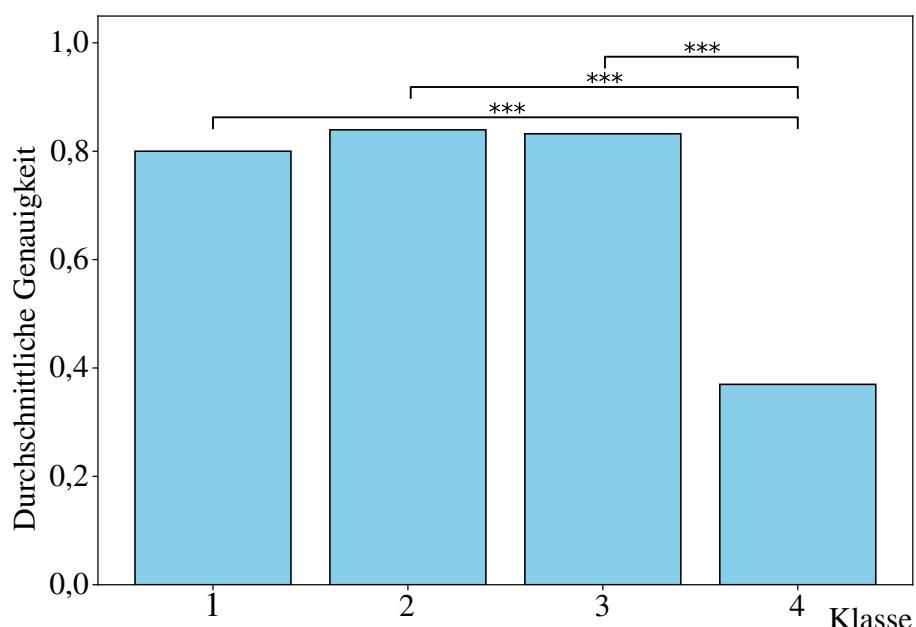


Abb. 5.10 | Durchschnittliche Genauigkeit pro Klasse für alle Klassifikatoren. Die Klassen Eins bis Vier sind der Reihe nach Myotuben-Kerne, Debris, Andere und Schwannzellen-Kerne.

Abb. 5.11 zeigt je ein Beispiel der Klassen, ohne Vorverarbeitung.

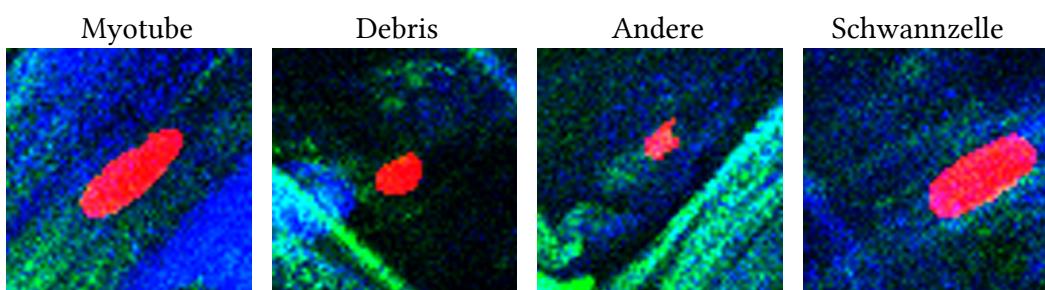


Abb. 5.11 | Beispiele der Nucleus-Klassen. Die Klassen Eins bis Vier sind der Reihe nach Myotuben-Kerne, Debris, „Andere“ und Schwannzellen-Kerne.

In Rot sind die Nucleus-Kanäle dargestellt, Grün und Blau sind Marker-Kanäle. Die Nuclei der Klasse Eins (Myotuben-Kern) und Vier (Schwannzellen-Kern) sind optisch sehr ähnlich, beide sind lang und dünn. Die Unterscheidung ist nur durch die Betrachtung umliegender Strukturen möglich.

Für den ResNet18-, ResNet101- und ConvNeXt-Encoder, die drei Encoder die erfolgreich mit dem semi-supervised-Vortraining trainiert sind, ist die durchschnittliche Genauigkeit für die Schwannzellen-Klasse 71%. Die durchschnittliche Genauigkeit ist nach dem semi-supervised-Vortraining also geringer, aber dafür wird die unterrepräsentierte Klasse der Schwannzellen-Kerne nicht wie bei anderen Vortrainingsmethoden schlechter erkannt.

5.4.4 Klassifikations-Kopf

Abb. 5.12 zeigt eine Gegenüberstellung der Genauigkeit beider Klassifikations-Köpfe in einem Balkendiagramm mit Fehlerbalken.

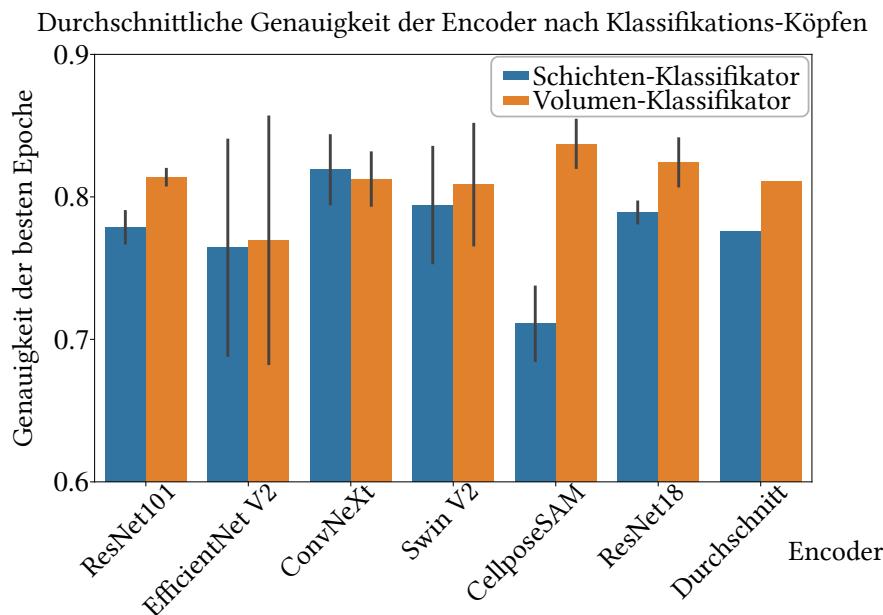


Abb. 5.12 | Genauigkeitswert der Klassifikatoren unter Verwendung eines bestimmten Klassifikations-Kopfes. Auf der Y-Achse ist der Durchschnitt der Genauigkeiten der besten Trainingsepochen aller Klassifikatoren, die diesen Klassifikations-Kopf nutzen, aufgetragen. Die X-Achse zeigt Gruppen von Encodern, jeweils besetzt mit einem Wert für den Schichten- und den Volumen-Klassifikator. Rechts zu sehen sind Balken, die den Durchschnitt der Werte aller Encoder, abhängig von dem Klassifikations-Kopf, zeigen.

Dabei werden nur die Klassifikatoren berücksichtigt, bei denen sich die Methodenkomposition ausschließlich im verwendeten Klassifikations-Kopf unterscheidet. Das ist notwendig, da nicht alle möglichen Kombinationen trainiert wurden und ein Vergleich mit unvollständigen Kombinationen keine aussagekräftigen Ergebnisse liefert. Die blauen Balken des Balkendiagramms zeigen jeweils die Ergebnisse der Architekturen, die den Schichten-Klassifikator nutzen, die orangenen Balken die Ergebnisse des Volumen-Klassifikators.

Auf der X-Achse sind als Gruppen zuerst die Encoder und zuletzt der Durchschnitt aufgetragen, und auf der Y-Achse die durchschnittliche Genauigkeit der Modelle mit dem jeweiligen Klassifikations-Kopf. An den Daten lässt sich erkennen, dass der Einfluss des Klassifikations-Kopfes nicht homogen ist. Mit dem ConvNeXt-Encoder ist der Schichten-Klassifikator performanter als der Volumen-Klassifikator, während es bei allen anderen Encodern umgekehrt ist. Für den CellposeSAM Encoder ist der Genauigkeitsunterschied 12,6 Prozentpunkte groß, für EfficientNetV2 einen halben Prozentpunkt. Die Daten zeigen also, dass die Intensität des Unterschieds in der Genauigkeit der beiden Klassifikations-Köpfe stark vom Encoder abhängt. Die Balken rechts, die je den Durchschnitt aller Modelle mit einem Klassifikations-Kopf darstellen, zeigen mit einem signifikant, dass der Volumen-Klassifikator insgesamt bessere Ergebnisse liefert.

5.4.5 Vorverarbeitung

In Abb. 5.13 sind die durchschnittlichen Genauigkeiten der Modelle gezeigt, die jeweils eine der Vorverarbeitungsmethoden nutzen.

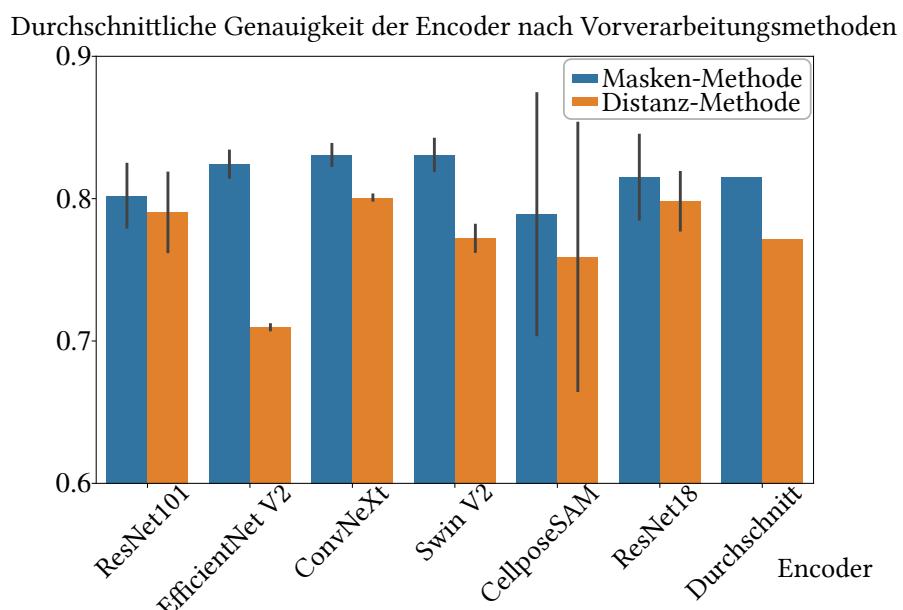


Abb. 5.13 | Genauigkeitswert der Klassifikatoren bei Verwendung einer bestimmten Vorverarbeitungsart. Auf der Y-Achse ist der Durchschnitt der Genauigkeiten der besten Trainingsepochen aller Klassifikatoren, die diese Vorverarbeitungsart nutzen, aufgetragen. Die X-Achse zeigt Gruppen von Encodern, jeweils besetzt mit einem Wert für die Masken-Methode, die den Nucleus-Kanal des Bildes durch die Segmentierungsmaske ersetzt, und die Distanz-Methode, die eine Distanztransformation auf den Nucleus-Kanal anwendet. Rechts zu sehen sind Balken, die den Durchschnitt der Werte aller Encoder, abhängig von der Vorverarbeitungsmethode, zeigen.

Wie für den Klassifikations-Kopf-Vergleich sind auch hier die Klassifikatoren ausgeschlossen, deren Methodenkombination mit nur einer der beiden Vorverarbeitungsmethoden

trainiert wurde. Auf der Y-Achse ist die Genauigkeit aufgetragen, auf der X-Achse sind die Encoder und der Durchschnitt aller Encoder als Gruppen. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die Masken-Methode, also das Ersetzen des Nucleus-Kanals mit der Segmentierungsmaske, zu einer höheren Genauigkeit führt. Mit der Distanz-Methode, also dem Anwenden einer Distanztransformation von der Segmentierungsmaske auf den Nucleus-Kanal, beträgt die Genauigkeit durchschnittlich 77,2%, mit der Masken-Methode sind es 81,5%. Die Differenz ist hoch signifikant. Zu sehen ist aber, dass der Einfluss der Vorverarbeitung unterschiedlich stark ist, je nach Encoder. Während die Genauigkeit für Modelle mit dem ResNet101-Encoder mit der Masken-Methode um 0,8 Prozentpunkte gegenüber der Verwendung von der Distanz-Methode steigt, macht die Vorverarbeitung beim EfficientNetV2 Encoders 11,5 Prozentpunkte aus.

Mithilfe von GradCAM [106] wird außerdem das Verhalten der Klassifikatoren exemplarisch visualisiert. Abb. 5.14 zeigt den Nucleus-Kanal und einen Marker-Kanal von zwei 2D-Schichten.

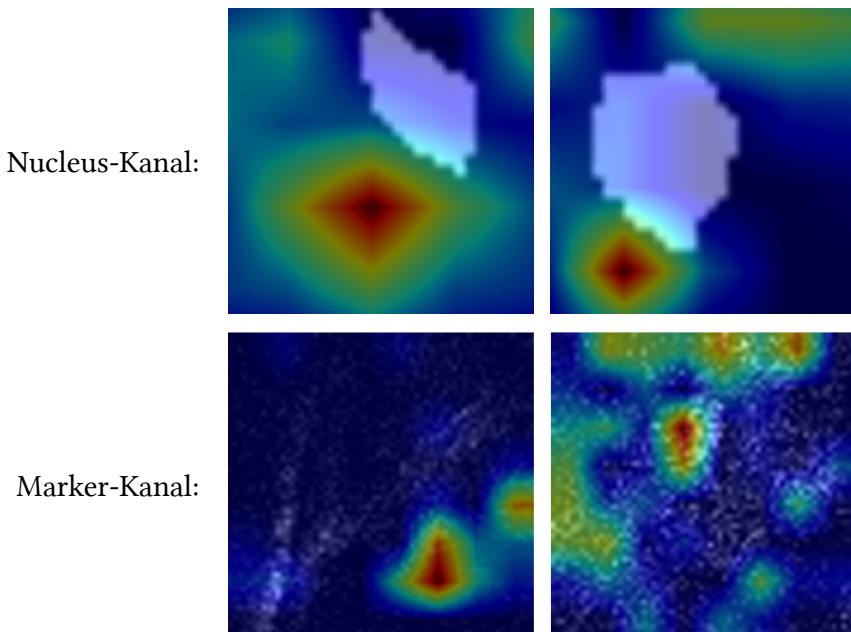


Abb. 5.14 | GradCAM-Visualisierung für zwei exemplarische 2D-Schichten, jeweils mit einem Nucleus-Kanal und einem Marker-Kanal. Links ist ein Beispiel einer Stichprobe gegeben, die mit der Masken-Methode trainiert wurde, rechts mit der Distanz-Methode. Die Nucleus-Kanäle zeigen die Segmentierungsmasken der Nukleien in weiß, überlagert mit der gradientenbasierten Heatmap, die die Wichtigkeit räumlicher Regionen für die Klassifikation darstellen. In beiden Nucleus-Kanälen ist die Wichtigkeit der Nucleus-Oberfläche nur sehr gering. In den Marker-Kanälen ist zu sehen, dass Regionen mit erkennbaren Strukturen besonders wichtig sind.

Die beiden 2D-Schichten sind aus unterschiedlichen 3D-Stapeln, links einer der mit der Masken-Methode, und rechts einer der mit der Distanz-Methode vorverarbeitet wurde. Zu sehen ist jeweils eine Heatmap für zwei Klassifikatoren. Beide Heatmaps zeigen gradientenbasiert die Aktivierungen in einer Schicht des Merkmalsraums zurück auf die Eingangsda-

ten projiziert. Die Heatmaps sind jeweils zur besseren Interpretierbarkeit einer 2D-Schicht der Segmentierungsmaske des Nucleus und einem Marker-Kanal überlagert. Dadurch wird räumlich aufgezeigt, welche Regionen der Eingangsdaten zur Entscheidung für eine bestimmte Klasse besonders beigetragen haben. Die beiden Nucleus-Kanal-Ansichten zeigen, dass Regionen direkt um den Nucleus herum für die Klassifikationsentscheidung wichtiger sind als die Oberfläche des Nucleus. Selbst unter Verwendung der Distanz-Methode, die zum Ziel hat, Oberflächen-Merkmale zu erhalten und dafür klare Kanten und eine eindeutige Geometrie der Segmentierungsmaske augibt, wird die Oberfläche kaum betrachtet. Des Weiteren sind in den Heatmaps der Marker-Kanäle zu sehen, dass auch abseits des Nucleus-Kanals eine intuitiv sinnvolle Lokalisierung der Aufmerksamkeit des Klassifikators erfolgt. Die Maxima der Heatmaps sind auf sichtbare Strukturen im Marker-Kanal platziert.

5.4.6 Wichtigkeit der Marker

Eine weitere angestellte Untersuchung ist die Quantifizierung der Wichtigkeiten der verschiedenen Marker-Kanäle. Auch für Expert*Innen ist es schwer, eindeutige Beziehungen zwischen den Strukturen, die durch bestimmte Marker gefärbt werden, und den verschiedenen Klassen der Nuclei herzustellen. Zur Abschätzung der globalen Markerrelevanz werden die Gradienten der Modellvorhersage bis auf die Eingangsebene zurückprojiziert und die betragsmäßigen Gradienten über die räumlichen Dimensionen gemittelt. Die Wichtigkeitswerte, die sich ergeben, sind nahezu gleich verteilt.

Abb. 5.15 zeigt exemplarisch Gradientenfelder einer 2D-Schicht aus einer Stichprobe der dreidimensionalen Zieldaten und deren Kosinus-Ähnlichkeit. In den rohen Gradienten sind die sensitivsten Bereiche des Modells direkt aus den Ableitungen der Vorhersage bezüglich der Eingabe ablesbar. Diese Sensitivitäten zeigen intensives Rauschen, weil die Effekte von punktweisen Variationen für jeden Pixel der Eingabedaten dargestellt sind. In der mittleren Darstellung sind die integrierten Gradienten dargestellt. Durch die Integration sind Rauscheffekte deutlich reduziert, und eine stabilere, interpretierbarere Verteilung der relevanten Regionen im Gradientenfeld ist sichtbar. Zur Beurteilung der Konsistenz des Klassifikators werden die Ähnlichkeiten zwischen den Gradienten-Feldern quantitativ verglichen. Die Felder haben eine Kosinus-Ähnlichkeit von 0,913 und damit eine hohe Übereinstimmung in der Richtung der Wichtigkeitsverteilungen. Der Klassifikator reagiert also auf ähnliche Muster in beiden Feldern. Die Region mit besonders dichten Maxima im Gradientenfeld ist durch rote Pfeile gekennzeichnet. Die Kosinus-Ähnlichkeit ist pixelweise in der rechten Abbildung dem Eingabebild überlagert. Der hohe Wert spricht für eine stabile und konsistente Aufmerksamkeitslokalisierung des Klassifikators, was wiederum auf eine robuste interne Repräsentation der relevanten Merkmale hindeutet.

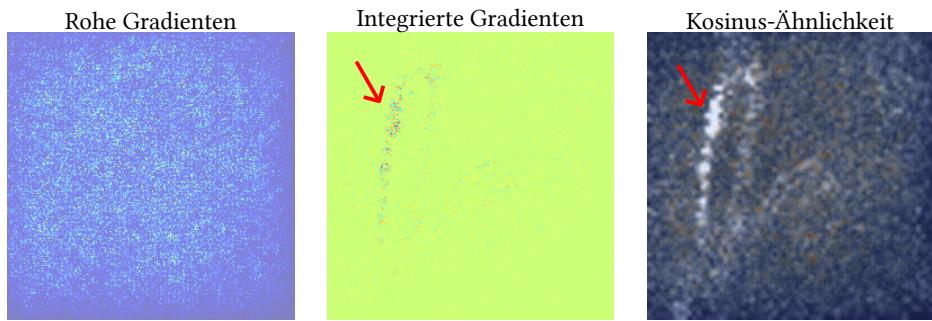


Abb. 5.15 | Die Abbildung zeigt zwei Gradienten-Felder einer 2D-Schicht einer Stichprobe der dreidimensionalen Zieldaten und deren Kosinus-Ähnlichkeit. Die Kosinus-Ähnlichkeit ist em der 2D-Schicht überlagert. Das rechte Gradientenfeld ist integriert, um hochfrequente lokale Unterschiede zu entfernen. Die Untersuchung der Kosinus-Ähnlichkeit soll zeigen, ob der Klassifikator konsistent auf bestimmte Strukturen der Eingabe reagiert. Mit den roten Pfeilen ist die Region mit besonders dichten lokalen Maxima der integrierten Maxima gekennzeichnet. Diese Region stellt eine Struktur dar, die für den Klassifikator konsistent zur Entscheidung beiträgt.

Diskussion 6

6.1 Überblick

Die nachfolgenden Abschnitte diskutieren die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit. Dabei wird sowohl auf die quantitative Auswertung der durchgeführten Experimente eingegangen, als auch auf die Bewertung der angewandten Methoden. Es wird gezeigt, dass die neu entwickelte IPQ-Metrik geeignet ist, um Instanzsegmentierungsmodelle, im Bezug auf ihre Eignung interpretierbare Merkmale zu extrahieren zu bewerten. Außerdem wird gezeigt, dass die neu entwickelte Methode des Vortraining einen positiven Einfluss auf die Klassifizierungsgenauigkeit haben kann und, dass die 3D-Zelldaten-Pipeline effizient optimale Deep-Learning-Methoden für neue Bilddomänen identifiziert.

6.2 Segmentierung

Durch einen Vergleich der Masken mit den Annotationen in Abb. 5.2 und ihren zugehörigen Ergebnissen der einzelnen Bewertungskriterien sind die Schwächen und Stärken der individuellen Modelle ersichtlich. Die nnUNet-Masken sind sichtbar kleiner als die Nucleus-Instanzen, was eine schlechte Segmentation-Quality (SQ) bedingt. Oft zerteilen mehrere nnuNet-Masken eine Nucleus-Instanz, was von der Injectiv-Quality (IQ) bestraft wird. Wie auch die gute Recognition-Quality (RQ) zeigt, findet dafür nnUNet sehr zuverlässig die vorhandenen Nuclei mit mindestens einer Maske. Mit dem nnUNet-Modell sind außerdem aufgrund der kleinen Segmente, die das Modell vorhersagt, Überschneidungen zwischen Annotationsmaske und Segmentierungsmaske gering. Ein Weg die Leistung des Modells im Bezug auf die IPQ-Metrik zu verbessern, ist deshalb vermutlich das Modell, beispielsweise durch fine-tuning, auf größere Segmente anzupassen. Eingangsdaten, beispielsweise durch einen Mittelwert-Filter, kleiner zu dimensionieren und mehrere Bilder aneinandergereiht einzugeben kann auch zu Verbesserungen führen, dabei besteht allerdings das Risiko, dass der Informationsverlust durch den Filter das Ergebnis negativ beeinflusst.

Die Instanzen können in der Nachbearbeitung auch durch eine Dilatation vergrößert werden, um die SQ Deepcell (siehe Abb. 5.9a) überschätzt die Nuclei, wodurch die SQ stark abnimmt. Das Ergebnis sind Masken, die intuitiv zu groß sind und oft mehr als einen Nucleus enthalten. Das bedeutet auch, dass einige Nuclei nicht von einer eigenen Maske gefunden werden, was sie als FN-Instanzen kategorisiert und eine schlechte RQ bedingt. Durch diese Übersegmentierung wird vermieden, dass Instanzen der Annotation durch

die Deepcell-Masken geteilt werden, was zu einer guten **IQ** führt. Außerdem ist durch die großen Segmente die **SQ** besonders schlecht, weil die Größe der Segmente den Nenner der **IoU** erhöht. Die Deepcell-Masken können in Bezug auf die **IPQ** von weiterer Nachverarbeitung profitieren. Mithilfe einer Erosion können die Masken kleiner gemacht werden, was auch zu einer besseren Leistung der Watershed-Nachverarbeitung führen kann. Umgekehrt kann nach der Erosion die Maske aber auch Kerben an der Kontur einzelner Instanzen aufweisen, die zur Spaltung der Instanz durch die Watershed-Nachverarbeitung führen. Auch für das Deepcell-Modell ist fine-tuning zu Anpassung an die Größe der Nuclei vermutlich ein Weg die Qualität zu verbessern.

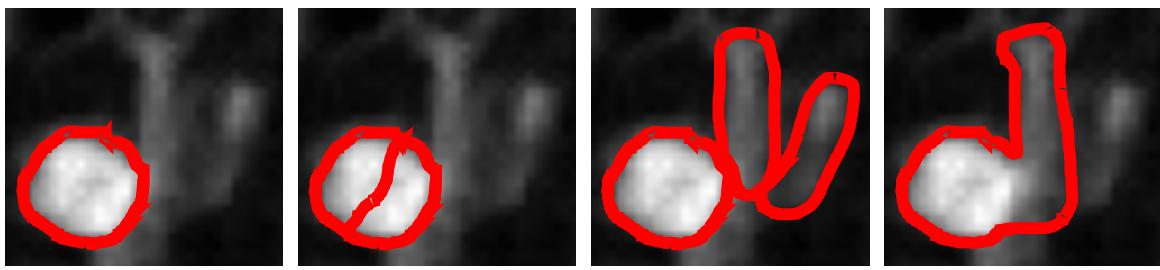
Sowohl für das nnUNet-, als auch für das Deepcell-Modell gibt es zwar Vorschläge für Methoden zur Verbesserung der **IPQ** auf dem Benchmark-Datensatz, aber der Übertrag der Effektivität dieser Methoden auf die Zieldaten ist fraglich. Die Bilddomäne und auch die Eigenschaften wie Größe, Exzentrizität und Rundheit der Zieldaten unterscheiden sich von denen des Benchmark. Da keine Annotationen für die Instanzsegmentierung der Zieldaten verfügbar sind, wird von der Anwenden der Methoden im Zuge dieser Arbeit abgesehen, um kein Overfitting auf den Benchmark-Datensatz zu riskieren.

Anhand der Interpretation der Werte und der exemplarischen Fehler in Abb. 5.3 wird die Effektivität der neu entwickelten **IPQ**-Metrik ersichtlich. Verschiedene Fehlerarten, die zu unterschiedlichen Verfälschungen der interpretierbaren Merkmale der Daten führen werden gezielt von der Metrik erfasst. Die adressierten Fehlerarten umfassen:

- Linien auf der Oberfläche eines Nucleus die als Kontur des Nucleus interpretiert werden. Der Nucleus wird geteilt und zwei getrennte Instanzen werden prädiziert,
- Schatten von Strukturen in anderen Z-Ebenen des 3D-Volumen oder sonstige Artefakte im Nucleus Kanal, die einem Nucleus überlagert sind, werden als Teil des Nucleus prädiziert und
- Artefakte im Nucleus Kanal, die als ein seperater Nucleus prädiziert werden.

In der Praxis gehen die Fehler oft mit Fehlern einer anderen Art einher, was daran liegt, dass die Modelle nicht demselben Denkverhalten folgen wie ein menschlicher Betrachter. Abb. 6.1 zeigt idealisiert die Fehlerarten, die mit der **IPQ**-Metrik erkannt werden. Alle Fehler führen für den betrachteten Nucleus zu einem Faktor von 0,5 in ihrer Kategorie und einem optimalen Wert von 1 in den anderen Kategorien. Hier wird deutlich, dass die Metrik geeignet ist um:

- Fehleinschätzungen der Konzentration von Nuclei durch den neu eingeführten **IQ**-Wert zu bestrafen,
- Fehleinschätzungen des Volumens der Nuclei durch einen geringen **SQ**-Wert zu bestrafen und
- Fehleinschätzungen der Anzahl der Nuclei durch einen geringen **RQ**-Wert zu bestrafen.



a) Annotationsmaske als Kontur.
b) Idealer IQ-Fehler. Ein optimal segmentierter Nucleus wird in zwei Segmente gespalten.
c) Idealer RQ-Fehler. Es werden zusätzliche Nuclei halluziniert.
d) Idealer SQ-Fehler. Der Nucleus wird in doppelter Größe vorhergesagt.

Abb. 6.1 | Darstellung der Segmentierungsmasken verschiedener idealer Fehler und der Annotation als Kontur.

Von der Metrik wird allerdings nicht erfasst, wie sehr die Geometrie mit der Geometrie der Annotation übereinstimmt. Die **SQ** erfasst zwar, ob die Fläche der Segmentierungsmaske sich mit der Annotation deckt, aber Veränderung der geometrischen Eigenschaften werden nicht gezielt bestraft. Änderungen der Geometrie sind gegenüber einfachen Änderungen der Fläche besonders zu bestrafen, da der Klassifikator anhand der Segmentierungsmaske im Anschluss die Klasse des Nucleus hervorsagt und bei der Klassifikation ist die Form des Nucleus besonders wichtig.

6.3 Klassifikation

Die Interpretation der Ergebnisse der Genauigkeit von Klassifikatoren mit verschiedenen Encodern, Klassifikations-Köpfen, Vorverarbeitungsmethoden und Vortrainingsmethoden zeigt, dass die 3D-Zelldaten-Pipeline effizient optimale Klassifikator-Methoden identifiziert. Wie die Ergebnisse zeigen, ermöglicht die Anwendung der 3D-Zelldaten-Pipeline das Training eines Klassifikators, der deutlich leistungsfähiger ist als ein Klassifikator mit zufällig gewählten Methoden – und das ganz ohne Programmierkenntnisse oder Vorerfahrung mit Deep-Learning-Methoden seitens der Anwender*innen

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die beiden ResNet-Encoder besonders hohe Genauigkeiten im Durchschnitt haben. Da die ResNet-Encoder auch die Encoder mit der geringsten Parameteranzahl sind liegt die Vermutung nahe, dass die gewählten Encoder zu groß sind und schlechte Ergebnisse einem Architektur-bedingtem Overfitting geschuldet sind. Abb. 6.2 zeigt die durchschnittliche Genauigkeit aller Klassifikatoren abhängig von der Parameteranzahl des genutzten Encoders.

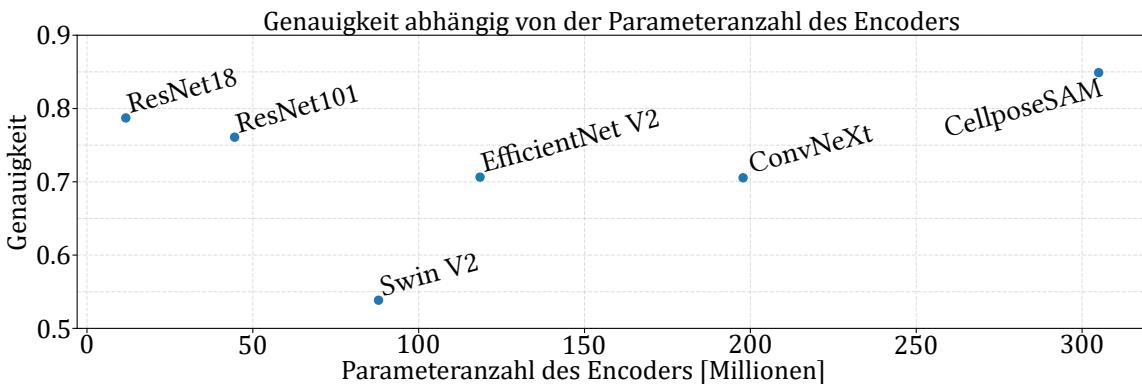


Abb. 6.2 | Durchschnittliche Genauigkeit aller Klassifikatoren abhängig von der Parameteranzahl ihres Encoders. Die X-Achse zeigt die Parameteranzahl, skaliert mit einer Millionen und die Y-Achse die durchschnittliche Genauigkeit.

Große Modelle sind anfälliger für Overfitting. Intuitiv ist aber kein Zusammenhang zwischen der Parameteranzahl und der durchschnittlichen Genauigkeit zu erkennen und auch die Spearman-Korrelationsanalyse deutet nicht auf einen Zusammenhang hin. Das bedeutet, der Hauptgrund warum Swin V2, EfficientNet V2 und ConvNeXt unter dem Durchschnitt abschneiden ist nicht, dass der Umfang der Daten zu gering ist, um die Parameter ausreichend zu trainieren. Da ResNet18 der genaueste Encoder ist, liegt dennoch die Vermutung nahe, dass noch kleinere Encoder die Genauigkeit noch erhöhen können.

Die Architektur und die Gewichte der Encoder bestimmen den Merkmalsraum, den die Encoder mit der internen Repräsentation der Eingangsdaten aufspannen. Dieser Merkmalsraum muss für eine genaue Klassifikation relevante Merkmale des klassifizierten Objekts abbilden. Der Swin V2-Encoder hat eine Transformer-Architektur und schneidet im Durchschnitt besonders schlecht ab. Vermutlich sind die Ansprüche an den Trainingsumfang für Transformer-Architekturen besonders hoch, und in den relativ kurzen Trainingsabläufen wird kein ausreichender Merkmalsraum gelernt. Für die CNN-Architekturen ist das relativ kurze Training weniger problematisch. Bei Betrachtung ausschließlich der CNN zeigt sich ein negativer Zusammenhang zwischen Parameteranzahl des Encoders und der durchschnittlichen Genauigkeit, allerdings ist die Stichprobenanzahl für eine Korrelationsanalyse sehr gering.

Der Volumen-Klassifikator ist signifikant besser als der Schichten-Klassifikator (siehe Kapitel 5.4). Dieses Erkenntnis legt nahe, dass die dreidimensionalen Faltungsschichten besser den Zusammenhang der Merkmale erfassen können, als der Attention-Mechanismus des Schichten-Klassifikators. Das kann daran liegen, dass die dreidimensionale Faltung räumliche Mittlungen nur mit gelernten Gewichten durchführt, während die Spatial Average Operation großflächig die räumliche Beziehung der Merkmale vernachlässigt. Außerdem ist es möglich, dass die für die Klassifikation ausschlaggebenden Informationen nicht ausreichend entlang der Z-Dimension erhalten sind, was zu einer schlechten Leistung des tiefen fokussierten Schichten-Klassifikators führt. Stattdessen können auch die Kombination räumlicher Merkmale und der Merkmale entlang der Z-Achse wichtig sein, was die

gute Leistung des Volumen-Klassifikators bedingen kann. Da der Schichten-Klassifikator mit dem ConvNeXt Encoder im Durchschnitt höhere Genauigkeiten erzielt, als mit dem Volumen-Klassifikator, ist die Abwägung zwischen den beiden Methoden dennoch für zukünftige Anwendungen sinnvoll. Bestimmte Encoder erfassen die relevanten Merkmale auf unterschiedliche Weise und beide Klassifikations-Köpfe haben das Potential Zusammenhänge aus bestimmten Merkmalsräumen besonders gut zu erfassen. Besonders da die ImageNet-Encoder nicht auf dreidimensionale Eingabedaten vorgenommen werden ist die Abwägung zwischen einem Fokus auf die Merkmale entlang der Z-Achse und räumlichen Merkmalen essenziell. Auch für zukünftige Encoder besteht die Möglichkeit, dass sie Beziehungen von Merkmalen innerhalb einer 2D-Schicht der Eingabedaten so effizient und einheitlich zusammenfassen, dass der Attention-Mechanismus des Schichten-Klassifikators die Informationen besser als der Volumen-Klassifikator erhalten kann.

Auch für Vorverarbeitung ist eine der Methoden im Durchschnitt deutlich überlegen. Die durchschnittliche Genauigkeit von Klassifikatoren mit Masken-Methode ist signifikant höher als die Genauigkeit von Klassifikatoren mit der Distanz-Methode. Kapitel 3.3 beschreibt den Vorteil und das Risiko der Methoden. Insbesondere der Vorteil der Masken-Methode wird an den Ergebnissen sichtbar. Anhand der GradCAM-Heatmap in Abb. 5.14 wird abgeleitet, dass die Oberflächenmerkmale der Nuclei für die Klassifikation keine Rolle spielen. Ein Risiko der Masken-Methode ist ein Qualitäts-Verlust aufgrund der Eliminierung der Oberflächenmerkmale, aber selbst mit der Distanz-Methode werden diese Merkmale nicht betrachtet. Die Masken-Methode hebt die Geometrie der Nuclei besonders hervor und sowohl die statistische Betrachtung der Ergebnisse als auch die GradCAM-Heatmaps legen nahe, dass diese Geometrie besonders wichtig für die Klassifikation der Nuclei ist. Mit der Distanz-Methode wird die Geometrie nicht besonders hervorgehoben. Unter Umständen wird die Geometrie sogar durch direkt umliegende Nuclei beeinträchtigt. Abb. 6.3 zeigt diesen Fall in zwei Beispielen. Links ist ein Beispiel besonders starker Überlappung gegeben. Die Geometrie des Nucleus ist hier nicht ohne die angedeutete Kontur ersichtlich.

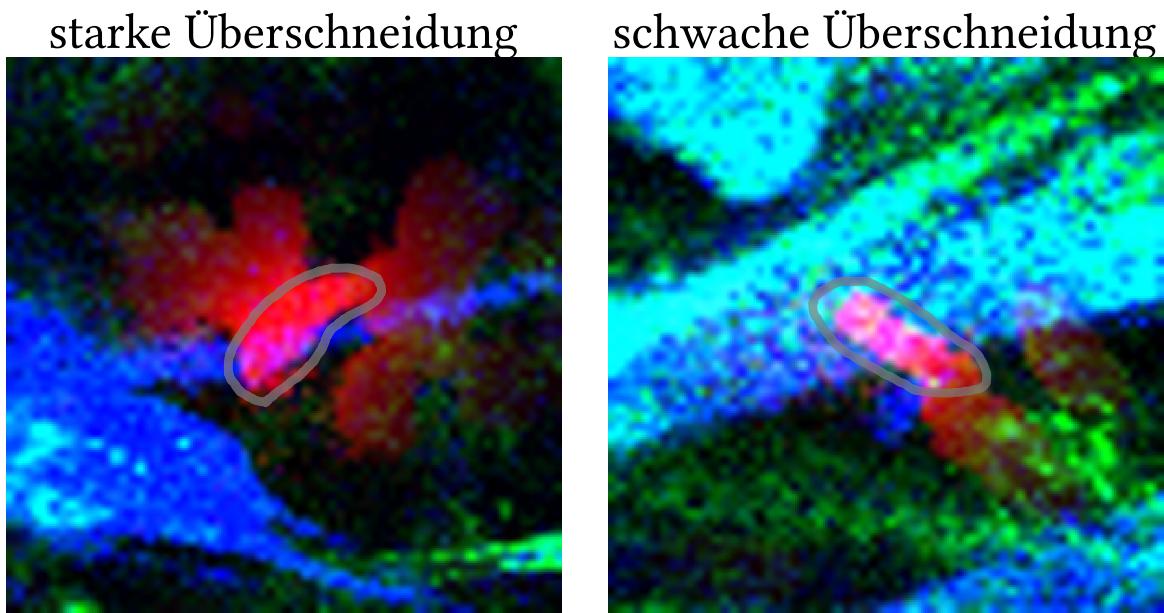


Abb. 6.3 | Beispiele für eine starke und eine schwache Überlappung von Nuclei nach Anwendung der Distanzmethode. In grau ist je eine Umrandung der betrachteten Nuclei angedeutet.

Bei der Distanz-Methode wird die Segmentierungs-Maske nur für eine Distanztransformation genutzt. Die Information über die prädizierte Kontur geht hierbei verloren, wenn umliegende Nuclei den betrachteten Nucleus direkt berühren. Die Intensität des berührenden Nucleus wird zwar gedämpft, aber die Kante des betrachteten Nucleus ist an der Berührungsstelle trotzdem verschwommen. Der berührende Nucleus wird in diesem Fall als Teil des betrachteten Objekts interpretiert. Der Einfluss der Vortrainingsmethoden ist besonders bedeutsam. Mit dem fully-supervised Vortraining ist die durchschnittliche Genauigkeit höher und auch konsistenter als mit anderen Vortrainingsmethoden. Das legt nahe, dass das rechenaufwändige Vortraining auf dem ImageNet-Datensatz mit den diversen Klassen und zahlreichen Stichproben für jede Klasse einen stark generalisierten Merkmalsraum erzeugt. Obwohl die Bilddomäne biologischer Zelldaten stark von den Bildern des ImageNet-Datensatz abweicht, werden bedeutsame Bildmerkmale extrahiert. Auch bei der Adaption von 2D-Encodern zu 3D-Encodern bleibt der Merkmalsraum der fully-supervised-vortrainierten Encoder sinnvoll. Da die Zieldaten niemals vom Encoder gesehen werden, ist Overfitting weitgehend ausgeschlossen, was die geringe Varianz der Genauigkeiten innerhalb der fully-supervised-vortrainierten Klassifikatoren erklärt.

Auch komplett ohne Vortraining wird ein sinnvoller Merkmalsraum gelernt, und die Klassifikatoren erreichen teilweise hohe Genauigkeitswerte. Der Swin V2-Encoder hat ohne Vortraining nur 50% Genauigkeit erreicht, was vermutlich daran liegt, dass die aufwändige Transformer-Architektur nicht ausreichend mit dem geringen Trainingsumfang der Zieldaten lernen kann. Es wird keine sinnvolle Merkmalsextraktion gelernt, bevor der Encoder mit dem Overfitting beginnt. Das legt auch nahe, dass Encoder mit besonders hoher Parameteranzahl nicht ohne ImageNet-Vortraining auskommen. Die Beobachtung, dass der kleinste Encoder, der ResNet18-Encoder ohne Vortraining, das beste Ergebnis liefert

hat unterstützt diese Aussage noch. Abb. 6.4 zeigt die Genauigkeiten der verschiedenen Vortrainingsmethoden abhängig von der Parameteranzahl des genutzten Encoders.

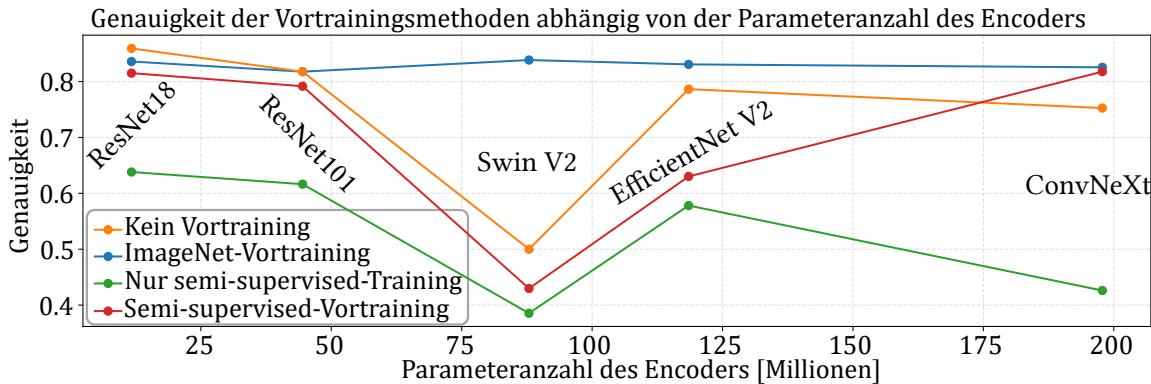


Abb. 6.4 | Die Abbildung zeigt die Genauigkeiten der verschiedenen Vortrainingsmethoden abhängig von der Parameteranzahl des genutzten Encoders.

Die Abbildung zeigt, dass der Zusammenhang zwischen der Effizienz der Vortrainingsmethoden und der Parameteranzahl nicht trivial darzustellen ist. Mit den ResNet-Encodern ist es möglich, das ImageNet-Vortraining auszulassen und die Merkmalsextraktion direkt durch die Zieldaten zu lernen. Sowohl ohne Vortraining, als auch mit dem semi-supervised-Vortraining ist die Genauigkeit der Klassifikatoren vergleichbar zum ImageNet-Vortraining. In Anbetracht des hohen Rechenaufwands, den das ImageNet-Vortraining beansprucht, ist dieses Ergebnis besonders interessant. Beide Methoden erhöhen den Rechenaufwand für das fine-tuning eines Klassifikators auf eine neue Domäne, machen dafür aber das exzessive Vortraining überflüssig. Insgesamt ergibt sich hierdurch vermutlich eine geringere Generalisierbarkeit, aber für den angewandten Datensatz wird dafür die Genauigkeit besser. Auch die anderen beiden CNN-Encoder können ohne ImageNet-Vortraining genutzt werden. Der EfficientNet V2-Encoder ist, ohne Vortraining, in der Lage eine vergleichbare Genauigkeit zu erzielen wie mit dem fully-supervised-Vortraining. Dass das semi-supervised-Vortraining ein schlechtes Ergebnis erzielt, ist demnach vermutlich dem kurzen Training geschuldet. Da der EfficientNet V2-Encoder ohne Vortraining einen sinnvollen Merkmalsraum direkt auf den Zieldaten lernen kann liegt nahe, dass zu wenige Epochen mit den semi-supervised-Annotationen gelernt wurde um diesen Merkmalsraum zu erfassen. Es ist auch möglich, dass der Klassifikator-Kopf zu kurz auf dem neu geschaffenen Merkmalsraum trainiert wurde, um die Klassifikationsentscheidung darin optimal zu lernen. Der ConvNeXt-Encoder hingegen hat in den gegebenen Epochen eine sinnvolle Repräsentation gelernt und ist durch das semi-supervised-Vortraining besser, als ohne Vortraining. Vermutlich liegt das daran, dass der Encoder im umfangreichen semi-supervised-Vortraining eine besser generalisierte Repräsentation gelernt hat. Außerdem liegt es nahe, dass der ConvNeXt-Encoder ohne Vortraining den Merkmalsraum auf die Trainingdaten overfitted.

Die durchschnittliche Genauigkeit des Swin V2-Encoder ImageNet-Vortraining ist 44%, mit ImageNet-Vortraining ist sie 84 %. Das liegt vermutlich daran, dass der relativ große

Encoder mit der komplexen ViT-Architektur aus den wenigen Stützvektoren der Repräsentation der Eingangsdaten keinen ausreichenden Merkmalsraum aufspannen kann. Außerdem ist es möglich, dass der Klassifikator-Kopf nur schwach generalisiert die Beziehung zwischen Merkmalen und Entscheidung lernen kann, weil der finale Merkmalsvektor der ViT-Architektur eine viel höhere Dimension hat.

Die Genauigkeit der meisten Encoder ist auch ohne ImageNet-Vortraining annehmbar, vor allem da mithilfe der 3D-Zelldaten-Pipeline auch ein optimaler Encoder passend zur Vortrainingsmethode gewählt wird. Eine geringe Durchschnittsgenauigkeit ist nicht problematisch, wenn die maximale gefundene Genauigkeit hoch ist.

Trotz der hohen durchschnittlichen Genauigkeit sowohl des fully-supervised-Vortrainings als auch des Modells ohne Vortraining ist der resultierende Merkmalsraum nicht geeignet, um Myotuben-Kerne und Schwannzellen-Kerne zu unterscheiden. Die Unterscheidung dieser Klassen ist für die vorliegenden Daten wichtiger, als die Unterscheidung der „Andere“-Klasse und der Debris-Klasse. Die Myotuben- und Schwannzellen-Klassen sind optisch sehr ähnlich und nur durch Expert*Innen unter Berücksichtigung umliegender Strukturen trennbar. Abb. 6.5 zeigt jeweils zwei Beispiele der beiden Klassen. Zu sehen sind die Nuclei in Rot und Myotuben in Grün, sowie der S100 β Marker. Die beiden Beispiele aus derselben Reihe sind visuell kaum voneinander zu unterscheiden.

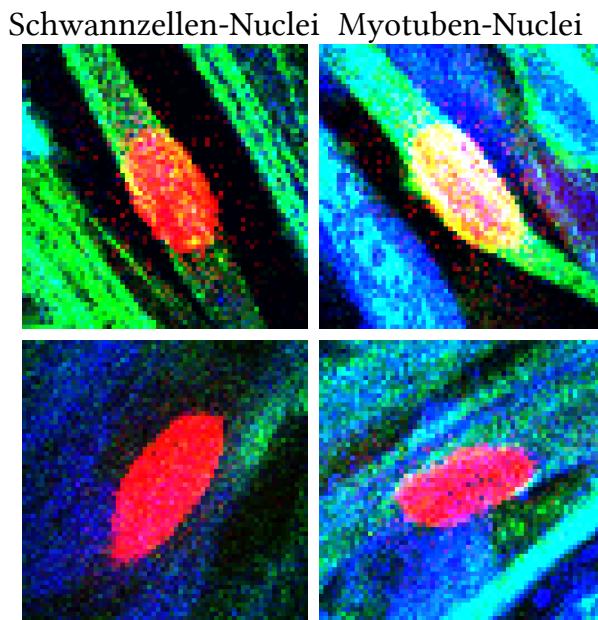


Abb. 6.5 | Beispiele von Nuclei der Schwannzellen-Klasse (links) und der Myotuben-Klasse (rechts). Die beiden Klassen werden von Klassifikatoren ohne semi-supervised-Vortraining schlecht voneinander getrennt. In den Reihen sind jeweils zwei Nuclei zu sehen die visuell besonders ähnlich sind.

Die Schwannzellen-Klasse wird mit einer höchst signifikant geringeren Genauigkeit erkannt (siehe Kap. 5.4.6). Auch für die Klassifikatoren sind die beiden Klassen also schwer trennbar. Wie in 5.4.3 beschrieben sind nur Klassifikatoren die mit der semi-supervised-

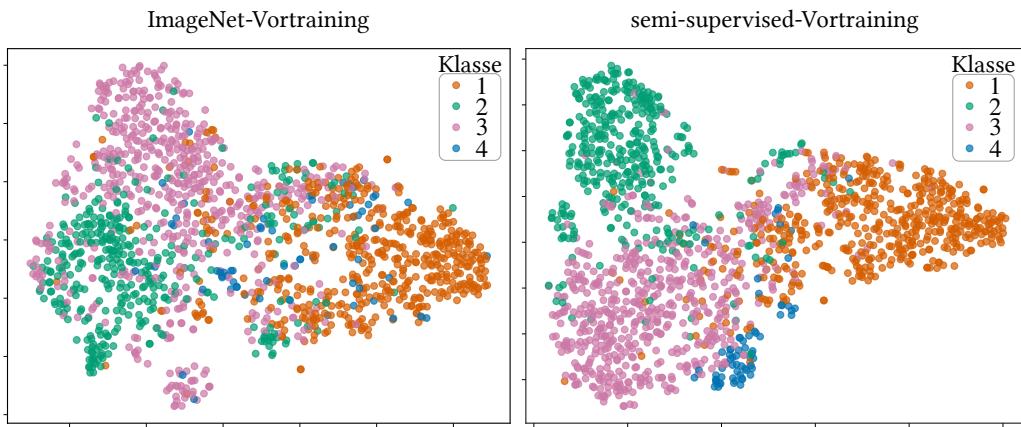


Abb. 6.6 | 2D-Projektionen des Merkmalraums von zwei Klassifikatoren durch t-SNE. Der linke Scatterplot zeigt den Merkmalsraum eines ImageNet-vortrainierten Klassifikators, der rechte eines semi-supervised-vortrainierten Klassifikators. Die Werte der X- und Y-Achse sind arbiträre Aktivierungsintensitäten ohne physische Interpretation.

Vortrainingsmethode trainiert wurden in der Lage, die beiden Klassen zuverlässig zu trennen. Die neu entwickelte Vortrainingsmethode und der neu entwickelte Pseudo-Labler sind demnach wichtige Beiträge der vorliegenden Arbeit. Die Effizienz der Vortrainingsmethode zeigt insbesondere auch die Projektion der Klassenentscheidungen der Klassifikatoren auf einen niederdimensionalen, visualisierbaren Merkmalsraum. In Abb. 6.6 sind zwei exemplarische Merkmalsräume als 2D-Projektion zu sehen. Durch die Projektion gehen Distanzen zwischen den Stichproben entlang der vielen Dimensionen des Merkmalsvektors verloren, aber mithilfe der t-SNE ist die Abbildung als Übersicht dennoch geeignet. Der linke Merkmalsraum ist aus einem ImageNet-Vortraining entstanden, der rechte durch ein semi-supervised-Vortraining. Zu sehen ist, dass im linken Scatterplot die Klassen Eins und Vier, also Myotuben- und Schwannzellen-Nuclei eine besonders starke Überschneidung haben. Für die Klassen „Andere“ und Debris sind dagegen separate Cluster erkennbar. Im rechten Scatterplot ist das Schwannzellen-Klassen-Cluster zwar immernoch nicht weit entfernt von anderen Clustern, aber wesentlich kompakter, als in der linken Abbildung.

Für die Unterscheidung der Myotuben- und Schwannzellen-Nuclei ist also das Vortraining mit semi-supervised-Annotationen besonders hilfreich. Vermutlich wird durch das umfangreiche Vortraining auf den Zieldaten dem Encoder ein so gut generalisierter Merkmalsraum antrainiert, dass der Klassifikations-Kopf die beiden Klassen trotz der Überschneidungen ihrer Merkmale trennen kann. In den Zieldaten hingegen sind diese Merkmale häufig vertreten und werden deshalb so hochauflösend extrahiert, dass es zur Trennung der Klassen reicht. Die Auflösung genau der Merkmale die für das Trennen der beiden Klassen nötig sind, ist nach dem ImageNet-Datensatz-Vortraining vermutlich nicht sehr hoch.

Die durchschnittliche Genauigkeit der semi-supervised-vortrainierten Klassifikatoren ist zwar geringer, als die der anderen Vortrainingsmethoden, dafür ist der entstandene Klas-

sifikator aber besser generalisiert. Da im Test-Anteil der annotierten Daten nur acht der 81 Stichproben die Klasse Schwannzellen-Nucleus besitzen, ist die Genauigkeit der semi-supervised-vortrainierten Klassifikatoren nicht zwingend repräsentativ für die tatsächliche Leistung. Für die Wahl einer Vortrainingsmethode müssen demnach die genauen Ziele der Anwendung feststehen. Wenn einzelne Klassen besonders wichtig für die Interpretation der Ergebnisse sind, aber nicht häufig vorkommen, lohnt es sich den semi-supervised-Ansatz zu testen, um eventuell durch die hohe Generalisierungsfähigkeit einen besseren Klassifikator zu erhalten.

Zusammenfassung 7

7.1 Überblick

Die nachfolgenden Abschnitte fassen die vorliegende Arbeit zusammen und geben einen Ausblick für mögliche kommende Forschung.

7.2 Zusammenfassung

Die Arbeit befasst sich mit der automatisierten Optimierung von Deep-Learning-Methoden. In der theoretischen Grundlage sind etablierte Deep-Learning-Methoden für die Instanzsegmentierung und Klassifikation gegeben. Vor allem Methoden die für biologische 3D-Daten geeignet sind werden beleuchtet. Zusätzlich sind Methoden zusammengefasst, die für die Anwendung, Auswertung und Visualisierung der vorgestellten Methoden wichtig sind. Zu den Methoden aus der Literatur wird außerdem eine Literaturrecherche angestellt, die explizit aktuelle Forschung in dem Bereich darstellt. Hiernach wird dargestellt, was bisher die Lücken in der Literatur sind. Für dreidimensionale Bilddaten sind zwar sowohl Methoden zur Segmentierung als auch zur Klassifikation verfügbar, aber kein umfassendes Framework, dass die Anwendung, den Vergleich und die Optimierung automatisiert. Dementsprechend wird das Ziel der vorliegenden Arbeit definiert. Durch die Arbeit soll der Aufwand ständig wiederkehrender Überlegungen und Vergleiche eliminiert werden, indem die Methodenauswahl und Evaluation von Deep-Learning-Methoden zur panoptischen Segmentierung von biologischen 3D-Daten automatisiert wird.

In der Methodik der Arbeit werden hierzu einige neu entwickelte Methoden eingeführt. Die Injektive Panoptische Qualität ([IPQ](#)) ist eine Metrik zur Bewertung von Instanzsegmentierungsmodellen in Bezug auf ihre Eignung interpretierbare Eigenschaften zu extrahieren. Durch die Ergebnisse der durchgeföhrten Experimente wird deutlich, dass die [IPQ](#) effizient die Leistung von Modellen erfasst und interpretierbare Ergebnisse bietet. Des Weiteren werden verschiedene Encoder, Klassifikations-Köpfe, Vorverarbeitungsmethoden und Vortrainingsmethoden eingeföhrt. Diese Methoden sind in der 3D-Zelldaten-Pipeline implementiert, einer automatisierten Anwendung zum Vergleich der Leistungen der Methoden. Die Anwendung umfasst außerdem die neu eingeföhrte Labeling-App, eine Methode zur zeiteffizienten Annotation von dreimensionalen Bild-Datensätzen. Mithilfe der 3D-Zelldaten-Pipeline werden Experimente an einem Datensatz von dreidimensionalen Myotuben-Zellkultur-Aufnahmen durchgeföhrt. Die Ergebnisse dieser Experimente belegen die Effizienz der 3D-Zelldaten-Pipeline. Außerdem zeigen sie, dass die Anwen-

dung der semi-supervised-Vortrainingsmethode mit dem neu eingeführten Pseudo-Labler zwar zu einer geringeren Durchschnittsgenauigkeit, aber auch zu einer stärkeren Generalisierung des Klassifikators führt.

In den Ergebnissen sind des Weiteren grundlegende Erkenntnisse zu den Nuclei von Myotubenzellkulturen ersichtlich. Oberflächenmerkmale von Nuclei sind nicht hilfreich für die Unterscheidung von Nucleus-Klassen. Nur anhand ihrer Geometrie wird eine konsistente Klassenentscheidung gelernt. Außerdem sind die Marker-Kanäle für die Klassenentscheidung genauso wichtig wie der Nucleus-Kanal.

7.3 Ausblick

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die Geometrie der Nuclei für die Klassifikation essenziell ist. Dementsprechend ist ein mögliches Anliegen kommender Forschung die Erweiterung der IPQ-Metrik, um Veränderungen der Geometrie durch das Segmentierungsmodell explizit zu bestrafen. In Anbetracht der Ergebnisse der Klassifikator-Methoden kann zukünftige Forschung weitere, kleinere CNN-Encoder in Betracht ziehen, um die Hypothese zu prüfen, dass die Encoder zu groß sind um eine sinnvolle Repäsentation der räumlich relativ kleinen Nuclei zu finden. Mit neuen Datensätzen kann außerdem die Hypothese geprüft werden, dass die Oberflächenmerkmale von Nuclei egal und die Geometrie ausschlaggebend sind, indem die neu eingeführten Vorverarbeitungsmethoden weiter verglichen werden. Besonders interessant ist für kommende Forschung eine fortgeführte Analyse der vorgestellten Vortrainingsmethoden. Das semi-supervised-Vortraining führt zu einer geringeren Durchschnittsgenauigkeit, aber zu einer stärkeren Generalisierungsfähigkeit des Klassifikators. Kommende Forschung kann die Methode weiter Optimieren, um die Durchschnittsgenauigkeit möglicherweise zu erhöhen und die Vorteile der Methode so besser anwendbar zu machen.

KI Künstliche Intelligenz

GUI Graphical User Interface

SAM Segment Anything Model

t-SNE t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding

IoU Intersection over Union

PQ Panoptic Quality

IPQ Injektive Panoptische Qualität

SQ Segmentation-Quality

RQ Recognition-Quality

IQ Injective-Quality

TP True Positive

FP False Positive

FN False Negative

CNN Convolutional Neural Network

ViT Vision Transformer

Appendix A

A.1 SWINV2 Architektur

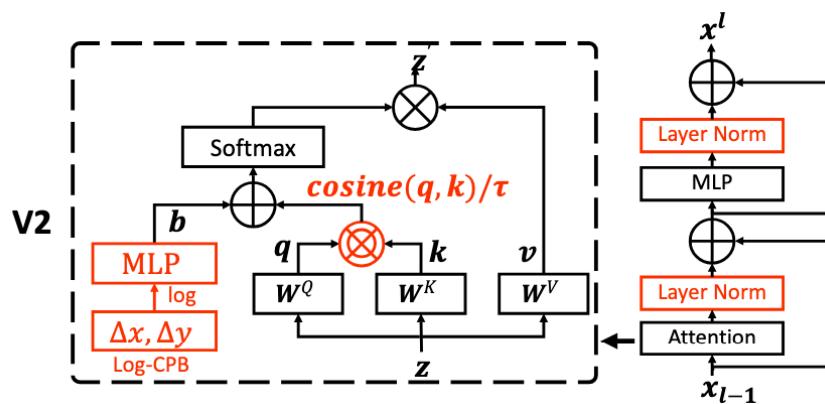


Abb. A.1 | Swin Transformer V2 Architektur [164]. Ein Bildfenster z und dessen relative Koordinaten im Bild Δx und Δy werden in einem Attention-Mechanismus zusammengeführt. Mithilfe einer Kosinus-Ähnlichkeitsfunktion, der Softmax-Funktion [165] und elementweiser Multiplikation sowie Addition werden diese Ergebnisse in einen Merkmalsraum überführt. Zwei Layer normalization [103] Schichten, ein weiteres MLP-Netz und residual connections vervollständigen anschließend den modularen **Swin Transformer V2** Block.

A.2 IPQ-Ergebnisse

Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell	Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell
1	0.315	0.082	0.010	2	0.349	0.066	0.015
3	0.326	0.139	0.008	4	0.405	0.138	0.017
5	0.313	0.082	0.006	6	0.323	0.139	0.008
7	0.349	0.066	0.015	8	0.406	0.139	0.018
9	0.656	0.249	0.013	10	0.449	0.052	0.026
11	0.500	0.056	0.022	12	0.500	0.056	0.025
13	0.452	0.052	0.026	14	0.645	0.039	0.063
15	0.529	0.056	0.112	16	0.645	0.039	0.063
17	0.529	0.056	0.112	18	0.670	0.148	0.058
19	0.304	0.048	0.015	20	0.297	0.197	0.013
21	0.464	0.058	0.077	22	0.604	0.086	0.021
23	0.516	0.114	0.029	24	0.585	0.151	0.057
25	0.544	0.115	0.029	26	0.507	0.097	0.017
27	0.576	0.172	0.030	28	0.502	0.118	0.030
29	0.697	0.022	0.040	30	0.627	0.025	0.014
31	0.646	0.023	0.031	32	0.613	0.029	0.030
33	0.586	0.143	0.022	34	0.874	0.149	0.141
35	0.862	0.159	0.054	36	0.868	0.180	0.080
37	0.879	0.148	0.079	38	0.854	0.131	0.154
39	0.852	0.167	0.121	40	0.874	0.210	0.044
41	0.846	0.222	0.095	42	0.881	0.143	0.096
43	0.876	0.160	0.109	44	0.880	0.139	0.067
45	0.860	0.149	0.104	46	0.838	0.121	0.099
47	0.872	0.146	0.113	48	0.852	0.138	0.080
49	0.863	0.174	0.098	50	0.867	0.162	0.094
51	0.854	0.142	0.091	52	0.872	0.199	0.118
53	0.871	0.134	0.121	54	0.873	0.154	0.076
55	0.877	0.157	0.114	56	0.880	0.135	0.126
57	0.857	0.148	0.075	58	0.861	0.183	0.099
59	0.865	0.151	0.085	60	0.850	0.184	0.085
61	0.857	0.170	0.154	62	0.881	0.160	0.097
63	0.851	0.113	0.102	64	0.861	0.173	0.170
65	0.885	0.119	0.105	66	0.875	0.185	0.144
67	0.863	0.169	0.084	68	0.853	0.171	0.129
69	0.850	0.154	0.158	70	0.867	0.146	0.110
71	0.859	0.139	0.132	72	0.856	0.133	0.153
73	0.898	0.114	0.094	74	0.879	0.123	0.098
75	0.860	0.233	0.117	76	0.879	0.162	0.138
77	0.855	0.133	0.099	78	0.842	0.185	0.137

Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell	Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell
79	0.876	0.167	0.137	80	0.872	0.154	0.117
81	0.880	0.161	0.088	82	0.879	0.160	0.142
83	0.879	0.124	0.106	84	0.869	0.141	0.096
85	0.856	0.158	0.100	86	0.837	0.163	0.062
87	0.863	0.149	0.108	88	0.867	0.187	0.119
89	0.874	0.135	0.086	90	0.845	0.141	0.099
91	0.860	0.181	0.199	92	0.868	0.168	0.111
93	0.828	0.139	0.131	94	0.858	0.146	0.084
95	0.886	0.144	0.093	96	0.863	0.115	0.102
97	0.862	0.139	0.112	98	0.863	0.123	0.133
99	0.856	0.168	0.130	100	0.875	0.129	0.111
101	0.870	0.150	0.077	102	0.863	0.142	0.092
103	0.843	0.145	0.125	104	0.856	0.161	0.197
105	0.879	0.143	0.091	106	0.873	0.135	0.142
107	0.870	0.148	0.105	108	0.845	0.143	0.055
109	0.869	0.177	0.097	110	0.855	0.171	0.112
111	0.894	0.143	0.118	112	0.865	0.130	0.051
113	0.863	0.175	0.112	114	0.884	0.154	0.116
115	0.848	0.137	0.099	116	0.874	0.154	0.104
117	0.857	0.171	0.061	118	0.876	0.137	0.091
119	0.871	0.143	0.050	120	0.872	0.151	0.111
121	0.876	0.128	0.138	122	0.873	0.180	0.104
123	0.857	0.170	0.108	124	0.870	0.185	0.131
125	0.861	0.183	0.085	126	0.577	0.050	0.078
127	0.560	0.107	0.037	128	0.572	0.090	0.037
129	0.585	0.113	0.059	130	0.591	0.088	0.013

Tab. A.1 | Einzelne SQ-Ergebnisse von jedem Segmentierungsnetz

Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell	Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell
1	0.794	0.741	0.271	2	0.958	0.872	0.176
3	0.808	0.722	0.212	4	0.946	0.845	0.225
5	0.797	0.739	0.275	6	0.814	0.716	0.222
7	0.961	0.868	0.179	8	0.950	0.839	0.225
9	0.844	0.664	0.347	10	0.942	0.565	0.509
11	0.862	0.760	0.430	12	0.862	0.769	0.382
13	0.937	0.570	0.514	14	0.902	0.892	0.306
15	0.953	0.921	0.347	16	0.902	0.892	0.306
17	0.953	0.921	0.347	18	0.663	0.688	0.453
19	0.702	0.751	0.308	20	0.773	0.712	0.184

A Appendix

Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell	Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell
21	0.773	0.825	0.144	22	0.956	0.930	0.167
23	0.947	0.813	0.341	24	0.922	0.789	0.452
25	0.945	0.879	0.346	26	0.935	0.821	0.348
27	0.964	0.824	0.329	28	0.904	0.783	0.418
29	0.937	0.948	0.323	30	0.947	0.870	0.346
31	0.930	0.918	0.381	32	0.938	0.903	0.321
33	0.980	0.804	0.532	34	0.847	0.937	0.261
35	0.872	0.909	0.300	36	0.833	0.927	0.218
37	0.813	0.943	0.295	38	0.862	0.957	0.289
39	0.816	0.951	0.229	40	0.820	0.940	0.196
41	0.819	0.914	0.259	42	0.826	0.951	0.308
43	0.820	0.953	0.330	44	0.794	0.881	0.168
45	0.823	0.944	0.206	46	0.867	0.890	0.158
47	0.862	0.930	0.283	48	0.843	0.940	0.364
49	0.870	0.909	0.149	50	0.813	0.906	0.263
51	0.761	0.945	0.294	52	0.813	0.901	0.323
53	0.826	0.947	0.227	54	0.877	0.935	0.178
55	0.877	0.940	0.275	56	0.847	0.961	0.168
57	0.864	0.935	0.265	58	0.833	0.950	0.224
59	0.813	0.943	0.250	60	0.829	0.908	0.267
61	0.872	0.941	0.283	62	0.826	0.960	0.226
63	0.816	0.943	0.082	64	0.857	0.950	0.289
65	0.800	0.910	0.263	66	0.840	0.937	0.330
67	0.855	0.952	0.317	68	0.816	0.942	0.176
69	0.872	0.945	0.200	70	0.794	0.933	0.235
71	0.864	0.943	0.294	72	0.836	0.933	0.217
73	0.840	0.973	0.272	74	0.800	0.947	0.286
75	0.862	0.931	0.182	76	0.893	0.943	0.220
77	0.833	0.928	0.238	78	0.911	0.935	0.222
79	0.862	0.919	0.174	80	0.847	0.908	0.229
81	0.794	0.945	0.224	82	0.893	0.963	0.323
83	0.870	0.952	0.206	84	0.791	0.908	0.240
85	0.887	0.935	0.272	86	0.847	0.936	0.218
87	0.909	0.937	0.162	88	0.909	0.927	0.348
89	0.806	0.933	0.289	90	0.773	0.920	0.168
91	0.806	0.924	0.152	92	0.840	0.933	0.289
93	0.852	0.927	0.271	94	0.813	0.917	0.118
95	0.820	0.962	0.296	96	0.833	0.966	0.268
97	0.823	0.950	0.351	98	0.895	0.945	0.326
99	0.872	0.939	0.217	100	0.870	0.938	0.377
101	0.813	0.937	0.240	102	0.829	0.934	0.245
103	0.926	0.940	0.240	104	0.850	0.927	0.220

Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell	Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell
105	0.877	0.942	0.204	106	0.877	0.935	0.213
107	0.820	0.943	0.215	108	0.812	0.952	0.320
109	0.781	0.929	0.255	110	0.872	0.948	0.275
111	0.847	0.949	0.261	112	0.826	0.939	0.278
113	0.862	0.951	0.214	114	0.820	0.941	0.365
115	0.864	0.933	0.220	116	0.840	0.922	0.317
117	0.885	0.941	0.216	118	0.847	0.908	0.305
119	0.862	0.927	0.226	120	0.847	0.913	0.237
121	0.800	0.909	0.235	122	0.820	0.935	0.274
123	0.864	0.937	0.267	124	0.862	0.938	0.364
125	0.840	0.893	0.280	126	0.984	0.876	0.267
127	0.922	0.797	0.305	128	0.958	0.808	0.476
129	0.934	0.780	0.528	130	0.922	0.832	0.481

Tab. A.2 | Einzelne RQ-Ergebnisse von jedem Segmentierungsnetz

Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell	Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell
1	0.826	0.429	1.000	2	0.748	0.389	1.000
3	0.894	0.506	1.000	4	0.861	0.458	1.000
5	0.832	0.439	1.000	6	0.900	0.520	1.000
7	0.753	0.395	1.000	8	0.869	0.474	1.000
9	0.992	0.673	1.000	10	0.991	0.689	1.000
11	0.957	0.401	1.000	12	0.954	0.385	1.000
13	0.991	0.685	1.000	14	0.966	0.320	0.991
15	0.840	0.242	0.986	16	0.966	0.320	0.991
17	0.840	0.242	0.986	18	0.986	0.405	1.000
19	0.712	0.334	0.987	20	0.932	0.570	1.000
21	0.838	0.171	0.985	22	0.875	0.233	1.000
23	0.950	0.505	1.000	24	0.944	0.400	0.987
25	0.933	0.447	1.000	26	0.909	0.427	1.000
27	0.959	0.541	1.000	28	0.940	0.501	1.000
29	0.957	0.143	1.000	30	0.954	0.307	1.000
31	0.954	0.201	1.000	32	0.935	0.277	1.000
33	0.935	0.416	1.000	34	1.000	0.261	1.000
35	0.985	0.324	1.000	36	1.000	0.326	0.968
37	1.000	0.301	1.000	38	1.000	0.261	0.985
39	0.986	0.321	1.000	40	1.000	0.365	1.000
41	0.972	0.405	0.986	42	1.000	0.280	1.000
43	1.000	0.308	1.000	44	1.000	0.283	1.000
45	0.986	0.279	1.000	46	0.968	0.238	1.000

A Appendix

Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell	Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell
47	1.000	0.281	1.000	48	0.985	0.261	1.000
49	1.000	0.307	1.000	50	1.000	0.308	1.000
51	0.985	0.275	1.000	52	1.000	0.368	0.984
53	1.000	0.251	1.000	54	1.000	0.281	1.000
55	1.000	0.302	0.986	56	1.000	0.253	1.000
57	0.984	0.272	1.000	58	1.000	0.339	1.000
59	1.000	0.316	1.000	60	0.986	0.363	1.000
61	0.985	0.309	1.000	62	1.000	0.330	1.000
63	0.983	0.211	1.000	64	0.986	0.312	0.971
65	1.000	0.235	1.000	66	1.000	0.343	1.000
67	1.000	0.324	1.000	68	0.984	0.311	1.000
69	0.984	0.286	1.000	70	1.000	0.267	1.000
71	0.985	0.265	0.985	72	0.983	0.244	1.000
73	1.000	0.213	0.985	74	1.000	0.240	1.000
75	1.000	0.420	1.000	76	1.000	0.291	0.984
77	0.986	0.264	1.000	78	0.985	0.340	1.000
79	1.000	0.304	1.000	80	1.000	0.305	1.000
81	1.000	0.311	1.000	82	1.000	0.302	0.986
83	1.000	0.234	1.000	84	0.984	0.256	1.000
85	0.986	0.323	0.986	86	0.970	0.322	1.000
87	1.000	0.278	0.984	88	1.000	0.335	1.000
89	1.000	0.271	1.000	90	0.983	0.267	1.000
91	0.984	0.331	1.000	92	1.000	0.278	1.000
93	0.970	0.276	0.985	94	1.000	0.275	1.000
95	1.000	0.269	0.986	96	1.000	0.228	1.000
97	0.985	0.262	1.000	98	0.983	0.239	1.000
99	0.984	0.293	1.000	100	1.000	0.258	0.985
101	1.000	0.284	1.000	102	0.984	0.258	1.000
103	0.985	0.281	1.000	104	0.983	0.278	1.000
105	1.000	0.276	1.000	106	1.000	0.245	0.966
107	1.000	0.275	1.000	108	0.971	0.282	1.000
109	1.000	0.325	0.985	110	0.985	0.328	0.985
111	1.000	0.249	1.000	112	1.000	0.263	1.000
113	1.000	0.320	1.000	114	1.000	0.300	0.985
115	0.985	0.256	0.970	116	1.000	0.303	0.986
117	1.000	0.306	1.000	118	1.000	0.288	0.986
119	1.000	0.278	1.000	120	1.000	0.296	1.000
121	1.000	0.256	1.000	122	1.000	0.316	1.000
123	0.986	0.342	1.000	124	1.000	0.325	1.000
125	1.000	0.349	1.000	126	0.979	0.287	1.000
127	0.923	0.361	1.000	128	0.975	0.465	1.000

Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell	Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell
129	0.969	0.540	1.000	130	0.938	0.442	1.000

Tab. A.3 | Einzelne IQ-Ergebnisse von jedem Segmentierungsnetz

Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell	Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell
1	0.207	0.026	0.003	2	0.250	0.022	0.003
3	0.235	0.051	0.002	4	0.330	0.053	0.004
5	0.207	0.027	0.002	6	0.237	0.052	0.002
7	0.253	0.023	0.003	8	0.335	0.055	0.004
9	0.549	0.112	0.005	10	0.419	0.020	0.013
11	0.412	0.017	0.009	12	0.411	0.016	0.010
13	0.419	0.020	0.013	14	0.563	0.011	0.019
15	0.424	0.013	0.038	16	0.563	0.011	0.019
17	0.424	0.013	0.038	18	0.438	0.041	0.026
19	0.152	0.012	0.005	20	0.214	0.080	0.002
21	0.300	0.008	0.011	22	0.505	0.019	0.003
23	0.464	0.047	0.010	24	0.509	0.048	0.025
25	0.480	0.045	0.010	26	0.431	0.034	0.006
27	0.532	0.077	0.010	28	0.426	0.046	0.012
29	0.625	0.003	0.013	30	0.566	0.007	0.005
31	0.573	0.004	0.012	32	0.537	0.007	0.010
33	0.537	0.048	0.012	34	0.741	0.036	0.037
35	0.741	0.047	0.016	36	0.724	0.054	0.017
37	0.714	0.042	0.023	38	0.736	0.033	0.044
39	0.685	0.051	0.028	40	0.717	0.072	0.009
41	0.673	0.082	0.024	42	0.728	0.038	0.030
43	0.718	0.047	0.036	44	0.699	0.035	0.011
45	0.697	0.039	0.021	46	0.703	0.026	0.016
47	0.752	0.038	0.032	48	0.708	0.034	0.029
49	0.751	0.049	0.015	50	0.705	0.045	0.025
51	0.640	0.037	0.027	52	0.709	0.066	0.038
53	0.720	0.032	0.027	54	0.765	0.040	0.014
55	0.769	0.045	0.031	56	0.746	0.033	0.021
57	0.729	0.038	0.020	58	0.717	0.059	0.022
59	0.703	0.045	0.021	60	0.695	0.061	0.023
61	0.736	0.049	0.043	62	0.728	0.051	0.022
63	0.683	0.022	0.008	64	0.728	0.051	0.048
65	0.708	0.026	0.027	66	0.736	0.059	0.048
67	0.737	0.052	0.027	68	0.684	0.050	0.023
69	0.729	0.042	0.032	70	0.688	0.036	0.026

Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell	Bild	CellposeSAM	nnUNet	Deepcell
71	0.731	0.035	0.038	72	0.704	0.030	0.033
73	0.754	0.024	0.025	74	0.703	0.028	0.028
75	0.741	0.091	0.021	76	0.785	0.044	0.030
77	0.703	0.033	0.023	78	0.755	0.059	0.030
79	0.755	0.047	0.024	80	0.739	0.043	0.027
81	0.698	0.047	0.020	82	0.785	0.047	0.045
83	0.764	0.028	0.022	84	0.676	0.033	0.023
85	0.749	0.048	0.027	86	0.688	0.049	0.014
87	0.785	0.039	0.017	88	0.789	0.058	0.041
89	0.705	0.034	0.025	90	0.642	0.035	0.017
91	0.682	0.055	0.030	92	0.730	0.044	0.032
93	0.684	0.036	0.035	94	0.698	0.037	0.010
95	0.726	0.037	0.027	96	0.719	0.025	0.027
97	0.699	0.035	0.039	98	0.759	0.028	0.043
99	0.734	0.046	0.028	100	0.761	0.031	0.041
101	0.707	0.040	0.019	102	0.704	0.034	0.022
103	0.769	0.038	0.030	104	0.715	0.042	0.043
105	0.771	0.037	0.019	106	0.765	0.031	0.029
107	0.714	0.038	0.023	108	0.666	0.038	0.018
109	0.679	0.053	0.024	110	0.735	0.053	0.030
111	0.758	0.034	0.031	112	0.715	0.032	0.014
113	0.744	0.053	0.024	114	0.724	0.044	0.042
115	0.722	0.033	0.021	116	0.734	0.043	0.032
117	0.758	0.049	0.013	118	0.742	0.036	0.027
119	0.751	0.037	0.011	120	0.739	0.041	0.026
121	0.701	0.030	0.032	122	0.716	0.053	0.029
123	0.730	0.054	0.029	124	0.750	0.056	0.048
125	0.724	0.057	0.024	126	0.555	0.012	0.021
127	0.476	0.031	0.011	128	0.534	0.034	0.018
129	0.530	0.048	0.031	130	0.511	0.032	0.006

Tab. A.4 | Einzelne ipq-Ergebnisse von jedem Segmentierungsnetz

A.3 Einzelne Ergebnisse aller Klassifikator Kombinationen

Encoder	Klassifikations-Kopf	Vortraining	Mask Channel	Best accuracy
CellposeSAM	Schichten-Klassifikator	Fully-supervised	Masken-Methode	72,9%
CellposeSAM	Volumen-Klassifikator	Fully-supervised	Masken-Methode	84,9%
ResNet18	Schichten-Klassifikator	Fully-supervised	Masken-Methode	79,4%
ResNet18	Volumen-Klassifikator	Fully-supervised	Masken-Methode	83,6%
ResNet101	Schichten-Klassifikator	Fully-supervised	Masken-Methode	78,6%
ResNet101	Volumen-Klassifikator	Fully-supervised	Masken-Methode	81,8%
Efficientnet V2	Schichten-Klassifikator	Fully-supervised	Masken-Methode	81,8%
Efficientnet V2	Volumen-Klassifikator	Fully-supervised	Masken-Methode	83,1%
ConvNeXt	Schichten-Klassifikator	Fully-supervised	Masken-Methode	83,6%
ConvNeXt	Volumen-Klassifikator	Fully-supervised	Masken-Methode	82,6%
Swin V2	Schichten-Klassifikator	Fully-supervised	Masken-Methode	82,3%
Swin V2	Volumen-Klassifikator	Fully-supervised	Masken-Methode	83,9%
CellposeSAM	Schichten-Klassifikator	Fully-supervised	Distanz-Methode	69,3%
CellposeSAM	Volumen-Klassifikator	Fully-supervised	Distanz-Methode	82,6%
ResNet18	Schichten-Klassifikator	Fully-supervised	Distanz-Methode	78,4%
ResNet18	Volumen-Klassifikator	Fully-supervised	Distanz-Methode	81,2%
ResNet101	Schichten-Klassifikator	Fully-supervised	Distanz-Methode	77,1%
ResNet101	Volumen-Klassifikator	Fully-supervised	Distanz-Methode	81,0%
Efficientnet V2	Schichten-Klassifikator	Fully-supervised	Distanz-Methode	71,1%
Efficientnet V2	Volumen-Klassifikator	Fully-supervised	Distanz-Methode	70,8%
ConvNeXt	Schichten-Klassifikator	Fully-supervised	Distanz-Methode	80,2%
ConvNeXt	Volumen-Klassifikator	Fully-supervised	Distanz-Methode	79,9%
Swin V2	Schichten-Klassifikator	Fully-supervised	Distanz-Methode	76,6%
Swin V2	Volumen-Klassifikator	Fully-supervised	Distanz-Methode	77,9%
ResNet18	Volumen-Klassifikator	Kein Vortraining	Masken-Methode	85,9%
ResNet101	Volumen-Klassifikator	Kein Vortraining	Masken-Methode	81,8%
Efficientnet V2	Volumen-Klassifikator	Kein Vortraining	Masken-Methode	78,6%
ConvNeXt	Volumen-Klassifikator	Kein Vortraining	Masken-Methode	75,3%
Swin V2	Volumen-Klassifikator	Kein Vortraining	Masken-Methode	50,0%
ResNet18	Volumen-Klassifikator	Nur semi-supervised	Masken-Methode	63,8%
ResNet101	Volumen-Klassifikator	Nur semi-supervised	Masken-Methode	61,6%
Efficientnet V2	Volumen-Klassifikator	Nur semi-supervised	Masken-Methode	57,8%
ConvNeXt	Volumen-Klassifikator	Nur semi-supervised	Masken-Methode	42,6%
Swin V2	Volumen-Klassifikator	Nur semi-supervised	Masken-Methode	38,5%
ResNet18	Volumen-Klassifikator	Semi-supervised und Transfer	Masken-Methode	81,5%
ResNet101	Volumen-Klassifikator	Semi-supervised und Transfer	Masken-Methode	79,2%
Efficientnet V2	Volumen-Klassifikator	Semi-supervised und Transfer	Masken-Methode	63,0%
ConvNeXt	Volumen-Klassifikator	Semi-supervised und Transfer	Masken-Methode	81,8%
Swin V2	Volumen-Klassifikator	Semi-supervised und Transfer	Masken-Methode	43,0%

Tab. A.5 | Ergebnisse der einzelnen Methodenkombinationen der trainierten Klassifikatoren

References

- [1] Warren H Lewis und Margaret R Lewis. „Behavior of cross striated muscle in tissue cultures“. In: *American Journal of Anatomy* 22.2 (1917), S. 169–194.
- [2] Emeka Enwere et al. „Role of the TWEAK-Fn14-cIAP1-NF-κB Signaling Axis in the Regulation of Myogenesis and Muscle Homeostasis“. In: *Frontiers in Immunology* 5 (Feb. 2014), S. 34. doi: [10.3389/fimmu.2014.00034](https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00034).
- [3] Scott F Gilbert. *Developmental biology*. Englisch. 10. Aufl. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 2014.
- [4] Irene A. Pogogeff und Margaret R. Murray. „Form and behavior of adult mammalian skeletal muscle in vitro“. en. In: *The Anatomical Record* 95.3 (1946), S. 321–335. ISSN: 1097-0185. doi: [10.1002/ar.1090950308](https://doi.org/10.1002/ar.1090950308). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ar.1090950308> (besucht am 16.07.2025).
- [5] Antoine Weisrock et al. „MyoFInDer: An AI-Based Tool for Myotube Fusion Index Determination“. In: *Tissue Engineering Part A* 30.19-20 (Okt. 2024), S. 652–661. ISSN: 1937-3341. doi: [10.1089/ten.tea.2024.0049](https://doi.org/10.1089/ten.tea.2024.0049). URL: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ten.tea.2024.0049> (besucht am 16.07.2025).
- [6] Benjamin Lair et al. *MyoFuse: A fully AI-based workflow for automated quantification of skeletal muscle cell fusion in vitro*. en. Techn. Ber. Type: article. bioRxiv, Feb. 2025. Kap. New Results, S. 2025.02.17.638596. doi: [10.1101/2025.02.17.638596](https://doi.org/10.1101/2025.02.17.638596). URL: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2025.02.17.638596v1> (besucht am 16.07.2025).
- [7] Kyungchang Jeong et al. „SEPO-FI: Deep-learning based software to calculate fusion index of muscle cells“. In: *Computers in Biology and Medicine* 186 (März 2025), S. 109706. ISSN: 0010-4825. doi: [10.1016/j.combiomed.2025.109706](https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2025.109706). URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010482525000563> (besucht am 16.07.2025).
- [8] Juergen Scharner und Peter S Zammit. „The muscle satellite cell at 50: the formative years“. In: *Skeletal Muscle* 1 (Aug. 2011), S. 28. ISSN: 2044-5040. doi: [10.1186/2044-5040-1-28](https://doi.org/10.1186/2044-5040-1-28). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3177780/> (besucht am 16.07.2025).

- [9] Pedro Veliça und Chris M. Bunce. „A quick, simple and unbiased method to quantify C2C12 myogenic differentiation“. eng. In: *Muscle & Nerve* 44.3 (Sep. 2011), S. 366–370. ISSN: 1097-4598. doi: [10.1002/mus.22056](https://doi.org/10.1002/mus.22056).
- [10] Andy Nolan et al. „Fluorescent characterization of differentiated myotubes using flow cytometry“. eng. In: *Cytometry. Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology* 105.5 (Mai 2024), S. 332–344. ISSN: 1552-4930. doi: [10.1002/cyto.a.24822](https://doi.org/10.1002/cyto.a.24822).
- [11] Chibeza C. Agley et al. „An Image Analysis Method for the Precise Selection and Quantitation of Fluorescently Labeled Cellular Constituents“. In: *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 60.6 (Juni 2012), S. 428–438. ISSN: 0022-1554. doi: [10.1369/0022155412442897](https://doi.org/10.1369/0022155412442897). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3393072/> (besucht am 16.07.2025).
- [12] Min-Wen Jason Chua et al. „Assessment of different strategies for scalable production and proliferation of human myoblasts“. In: *Cell Proliferation* 52.3 (März 2019), e12602. ISSN: 0960-7722. doi: [10.1111/cpr.12602](https://doi.org/10.1111/cpr.12602). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6536385/> (besucht am 16.07.2025).
- [13] Aref Shahini et al. „Efficient and high yield isolation of myoblasts from skeletal muscle“. In: *Stem cell research* 30 (Juli 2018), S. 122–129. ISSN: 1873-5061. doi: [10.1016/j.scr.2018.05.017](https://doi.org/10.1016/j.scr.2018.05.017). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6090567/> (besucht am 16.07.2025).
- [14] Jessica Brunetti et al. „Nanopattern surface improves cultured human myotube maturation“. In: *Skeletal Muscle* 11.1 (Mai 2021), S. 12. ISSN: 2044-5040. doi: [10.1186/s13395-021-00268-3](https://doi.org/10.1186/s13395-021-00268-3). URL: <https://doi.org/10.1186/s13395-021-00268-3> (besucht am 16.07.2025).
- [15] Gisela Nogales-Gadea et al. „Expression of Glycogen Phosphorylase Isoforms in Cultured Muscle from Patients with McArdle’s Disease Carrying the p.R771PfsX33 PYGM Mutation“. en. In: *PLOS ONE* 5.10 (Okt. 2010), e13164. ISSN: 1932-6203. doi: [10.1371/journal.pone.0013164](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013164). URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0013164> (besucht am 16.07.2025).
- [16] Nathalie Couturier et al. „Aberrant evoked calcium signaling and nAChR cluster morphology in a SOD1 D90A hiPSC-derived neuromuscular model“. In: *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 12 (20. Juni 2024), S. 1429759. doi: [10.3389/fcell.2024.1429759](https://doi.org/10.3389/fcell.2024.1429759).
- [17] Simon Noë et al. „The Myotube Analyzer: how to assess myogenic features in muscle stem cells“. en. In: *Skeletal Muscle* 12.1 (Juni 2022), S. 12. ISSN: 2044-5040. doi: [10.1186/s13395-022-00297-6](https://doi.org/10.1186/s13395-022-00297-6). URL: <https://doi.org/10.1186/s13395-022-00297-6> (besucht am 16.07.2025).

- [18] Ahmed M. Abdelmoez et al. „Comparative profiling of skeletal muscle models reveals heterogeneity of transcriptome and metabolism“. In: *American Journal of Physiology - Cell Physiology* 318.3 (März 2020), S. C615–C626. ISSN: 0363-6143. doi: [10.1152/ajpcell.00540.2019](https://doi.org/10.1152/ajpcell.00540.2019). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7099524/> (besucht am 16.07.2025).
- [19] Haruki Inoue et al. „Automatic Quantitative Segmentation of Myotubes Reveals Single-cell Dynamics of S6 Kinase Activation“. eng. In: *Cell Structure and Function* 43.2 (Aug. 2018), S. 153–169. ISSN: 1347-3700. doi: [10.1247/csf.18012](https://doi.org/10.1247/csf.18012).
- [20] Josh Moore et al. „OME-NGFF: a next-generation file format for expanding bioimaging data-access strategies“. en. In: *Nature Methods* 18.12 (Dez. 2021), S. 1496–1498. ISSN: 1548-7105. doi: [10.1038/s41592-021-01326-w](https://doi.org/10.1038/s41592-021-01326-w). URL: <https://www.nature.com/articles/s41592-021-01326-w> (besucht am 03.09.2025).
- [21] Mingjie Pan et al. „DiffuseIR: diffusion models for isotropic reconstruction of 3D microscopic images“. In: *International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*. Springer. 2023, S. 323–332.
- [22] Xuesong Li et al. „Three-dimensional structured illumination microscopy with enhanced axial resolution“. In: *Nature Biotechnology* 41.9 (2023), S. 1307–1319. ISSN: 1087-0156. doi: [10.1038/s41587-022-01651-1](https://doi.org/10.1038/s41587-022-01651-1). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10497409/> (besucht am 03.09.2025).
- [23] Neda Bagheri et al. „The new era of quantitative cell imaging—challenges and opportunities“. In: *Molecular cell* 82.2 (Jan. 2022), S. 241–247. ISSN: 1097-2765. doi: [10.1016/j.molcel.2021.12.024](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.12.024). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10339817/> (besucht am 03.09.2025).
- [24] Ze Liu et al. „Swin transformer: Hierarchical vision transformer using shifted windows“. In: *Proceedings of the IEEE/CVF international conference on computer vision*. 2021, S. 10012–10022.
- [25] Jim James et al. „Segmentation of tomography datasets using 3D convolutional neural networks“. In: *Computational Materials Science* 216 (Jan. 2023), S. 111847. ISSN: 0927-0256. doi: [10.1016/j.commatsci.2022.111847](https://doi.org/10.1016/j.commatsci.2022.111847). URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927025622005584> (besucht am 03.09.2025).
- [26] Henry Chan et al. „Machine learning enabled autonomous microstructural characterization in 3D samples“. en. In: *npj Computational Materials* 6.1 (Jan. 2020), S. 1. ISSN: 2057-3960. doi: [10.1038/s41524-019-0267-z](https://doi.org/10.1038/s41524-019-0267-z). URL: <https://www.nature.com/articles/s41524-019-0267-z> (besucht am 03.09.2025).

- [27] Yu Hirabayashi et al. „Deep learning for three-dimensional segmentation of electron microscopy images of complex ceramic materials“. en. In: *npj Computational Materials* 10.1 (März 2024), S. 46. ISSN: 2057-3960. doi: [10.1038/s41524-024-01226-5](https://doi.org/10.1038/s41524-024-01226-5). URL: <https://www.nature.com/articles/s41524-024-01226-5> (besucht am 03.09.2025).
- [28] P. A. Midgley und M. Weyland. „3D electron microscopy in the physical sciences: the development of Z-contrast and EFTEM tomography“. In: *Ultramicroscopy*. Proceedings of the International Workshop on Strategies and Advances in Atomic Level Spectroscopy and Analysis 96.3 (Sep. 2003), S. 413–431. ISSN: 0304-3991. doi: [10.1016/S0304-3991\(03\)00105-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3991(03)00105-0). URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304399103001050> (besucht am 03.09.2025).
- [29] Yaroslav Ganin und Victor Lempitsky. „Unsupervised domain adaptation by back-propagation“. In: *International conference on machine learning*. PMLR. 2015, S. 1180–1189.
- [30] Han Zhu et al. „Domain adaptation using class similarity for robust speech recognition“. In: *arXiv preprint arXiv:2011.02782* (2020).
- [31] Tahereh Koohi-Var und Morteza Zahedi. „Cross-domain graph based similarity measurement of workflows“. In: *Journal of Big Data* 5 (2018), S. 1–16.
- [32] Yuanzhe Cai et al. „Efficient algorithm for computing link-based similarity in real world networks“. In: *2009 Ninth IEEE International Conference on Data Mining*. IEEE. 2009, S. 734–739.
- [33] Wei Yuan, Jianfeng Gao und Hisami Suzuki. „An empirical study on language model adaptation using a metric of domain similarity“. In: *International Conference on Natural Language Processing*. Springer. 2005, S. 957–968.
- [34] Lothar Schermelleh et al. „Subdiffraction multicolor imaging of the nuclear periphery with 3D structured illumination microscopy“. eng. In: *Science (New York, N.Y.)* 320.5881 (Juni 2008), S. 1332–1336. ISSN: 1095-9203. doi: [10.1126/science.1156947](https://doi.org/10.1126/science.1156947).
- [35] Hong-Shang Peng und Daniel T. Chiu. „Soft fluorescent nanomaterials for biological and biomedical imaging“. en. In: *Chemical Society Reviews* 44.14 (2015), S. 4699–4722. doi: [10.1039/C4CS00294F](https://doi.org/10.1039/C4CS00294F). URL: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/cs/c4cs00294f> (besucht am 03.09.2025).
- [36] Rehan Ali et al. „Automatic segmentation of adherent biological cell boundaries and nuclei from brightfield microscopy images“. en. In: *Machine Vision and Applications* 23.4 (Juli 2012), S. 607–621. ISSN: 1432-1769. doi: [10.1007/s00138-011-0337-9](https://doi.org/10.1007/s00138-011-0337-9). URL: <https://doi.org/10.1007/s00138-011-0337-9> (besucht am 03.09.2025).

-
- [37] Mei Wang und Weihong Deng. „Deep visual domain adaptation: A survey“. In: *Neurocomputing* 312 (2018), S. 135–153.
 - [38] Xingchao Peng et al. „Visda: The visual domain adaptation challenge“. In: *arXiv preprint arXiv:1710.06924* (2017).
 - [39] Tianyu Han, Lifeng Zhang und Shixiang Jia. „Bin similarity-based domain adaptation for fine-grained image classification“. In: *International Journal of Intelligent Systems* 37.3 (2022), S. 2319–2334.
 - [40] Pedro O Pinheiro. „Unsupervised domain adaptation with similarity learning“. In: *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*. 2018, S. 8004–8013.
 - [41] Yaroslav Ganin et al. „Domain-adversarial training of neural networks“. In: *Journal of machine learning research* 17.59 (2016), S. 1–35.
 - [42] Soumyadeep Ghosh et al. „Domain Adaptation for Visual Understanding“. en. In: Hrsg. von Richa Singh et al. Cham: Springer International Publishing, 2020, S. 1–15. ISBN: 9783030306717. doi: [10.1007/978-3-030-30671-7_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-30671-7_1). URL: https://doi.org/10.1007/978-3-030-30671-7_1 (besucht am 05.09.2025).
 - [43] Bharath Hariharan et al. „Simultaneous Detection and Segmentation“. en. In: Hrsg. von David Fleet et al. Bd. 8695. Cham: Springer International Publishing, 2014, S. 297–312. ISBN: 9783319105833 9783319105840. doi: [10.1007/978-3-319-10584-0_20](https://doi.org/10.1007/978-3-319-10584-0_20). URL: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-10584-0_20 (besucht am 05.08.2025).
 - [44] John Winn und Jamie Shotton. „The layout consistent random field for recognizing and segmenting partially occluded objects“. In: *2006 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR'06)*. Bd. 1. IEEE, 2006, S. 37–44. URL: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/1640739/> (besucht am 05.08.2025).
 - [45] Alexander Kirillov et al. „Panoptic segmentation“. In: *Proceedings of the IEEE/CVF conference on computer vision and pattern recognition*. 2019, S. 9404–9413. URL: https://openaccess.thecvf.com/content_CVPR_2019/html/Kirillov_Panoptic_Segmentation_CVPR_2019_paper.html (besucht am 05.08.2025).
 - [46] Shervin Minaee et al. „Image segmentation using deep learning: A survey“. In: *IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence* 44.7 (2021), S. 3523–3542. URL: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/9356353/> (besucht am 05.08.2025).

- [47] Anurag Arnab und Philip HS Torr. „Pixelwise instance segmentation with a dynamically instantiated network“. In: *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*. 2017, S. 441–450. URL: http://openaccess.thecvf.com/content_cvpr_2017/html/Arnab_Pixelwise_Instance_Segmentation_CVPR_2017_paper.html (besucht am 05.08.2025).
- [48] Liang-Chieh Chen et al. „Masklab: Instance segmentation by refining object detection with semantic and direction features“. In: *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*. 2018, S. 4013–4022. URL: http://openaccess.thecvf.com/content_cvpr_2018/html/Chen_MaskLab_Instance_Segmentation_CVPR_2018_paper.html (besucht am 05.08.2025).
- [49] Olaf Ronneberger, Philipp Fischer und Thomas Brox. „U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation“. en. In: Hrsg. von Nassir Navab et al. Bd. 9351. Cham: Springer International Publishing, 2015, S. 234–241. ISBN: 9783319245737 9783319245744. doi: [10.1007/978-3-319-24574-4_28](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24574-4_28). URL: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-24574-4_28 (besucht am 05.08.2025).
- [50] Ross Girshick et al. „Rich feature hierarchies for accurate object detection and semantic segmentation“. In: *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*. 2014, S. 580–587. URL: http://openaccess.thecvf.com/content_cvpr_2014/html/Girshick_Rich_Feature_Hierarchies_2014_CVPR_paper.html (besucht am 05.08.2025).
- [51] Jonathan Long, Evan Shelhamer und Trevor Darrell. „Fully convolutional networks for semantic segmentation“. In: *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*. 2015, S. 3431–3440. URL: http://openaccess.thecvf.com/content_cvpr_2015/html/Long_Fully_Convolutional_Networks_2015_CVPR_paper.html (besucht am 05.08.2025).
- [52] Matthew D. Zeiler et al. „Deconvolutional networks“. In: ISSN: 1063-6919. Juni 2010, S. 2528–2535. doi: [10.1109/CVPR.2010.5539957](https://doi.org/10.1109/CVPR.2010.5539957). URL: <https://ieeexplore.ieee.org/document/5539957> (besucht am 27.08.2025).
- [53] Matthew D. Zeiler und Rob Fergus. „Visualizing and Understanding Convolutional Networks“. en. In: *Computer Vision – ECCV 2014*. Hrsg. von David Fleet et al. Cham: Springer International Publishing, 2014, S. 818–833. ISBN: 9783319105901. doi: [10.1007/978-3-319-10590-1_53](https://doi.org/10.1007/978-3-319-10590-1_53).
- [54] Hyeonwoo Noh, Seunghoon Hong und Bohyung Han. „Learning Deconvolution Network for Semantic Segmentation“. In: ISSN: 2380-7504. Dez. 2015, S. 1520–1528. doi: [10.1109/ICCV.2015.178](https://doi.org/10.1109/ICCV.2015.178). URL: <https://ieeexplore.ieee.org/document/7410535> (besucht am 27.08.2025).

- [55] Mohammadreza Mostajabi, Payman Yadollahpour und Gregory Shakhnarovich. „Feed-forward semantic segmentation with zoom-out features“. In: *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*. 2015, S. 3376–3385. URL: http://openaccess.thecvf.com/content_cvpr_2015/html/Mostajabi_Feedforward_Semantic_Segmentation_2015_CVPR_paper.html (besucht am 27.08.2025).
- [56] Juxiang Gu et al. „Recent advances in convolutional neural networks“. In: *Pattern recognition* 77 (2018), S. 354–377. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031320317304120> (besucht am 27.08.2025).
- [57] Abdel Aziz Taha und Allan Hanbury. „Metrics for evaluating 3D medical image segmentation: analysis, selection, and tool“. In: *BMC Medical Imaging* 15.1 (Aug. 2015), S. 29. ISSN: 1471-2342. DOI: [10.1186/s12880-015-0068-x](https://doi.org/10.1186/s12880-015-0068-x). URL: <https://doi.org/10.1186/s12880-015-0068-x> (besucht am 31.10.2025).
- [58] Yichi Zhang et al. „Bridging 2D and 3D segmentation networks for computation-efficient volumetric medical image segmentation: An empirical study of 2.5D solutions“. In: *Computerized Medical Imaging and Graphics* 99 (Juli 2022), S. 102088. DOI: [10.1016/j.compmedimag.2022.102088](https://doi.org/10.1016/j.compmedimag.2022.102088).
- [59] A. Avesta et al. „3D Capsule Networks for Brain Image Segmentation“. In: *American Journal of Neuroradiology* 44.5 (Apr. 2023), S. 562–568. ISSN: 1936-959X. DOI: [10.3174/ajnr.a7845](https://doi.org/10.3174/ajnr.a7845).
- [60] Jiancheng Yang et al. „Reinventing 2D Convolutions for 3D Images“. In: *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics* 25.8 (Aug. 2021), S. 3009–3018. DOI: [10.1109/jbhi.2021.3049452](https://doi.org/10.1109/jbhi.2021.3049452).
- [61] Anurag Arnab et al. „ViViT: A Video Vision Transformer“. In: *2021 IEEE/CVF International Conference on Computer Vision (ICCV)*. IEEE, Okt. 2021, S. 6816–6826. DOI: [10.1109/iccv48922.2021.00676](https://doi.org/10.1109/iccv48922.2021.00676).
- [62] Yaoli Wang et al. „Vision Transformers for Image Classification: A Comparative Survey“. en. In: *Technologies* 13.1 (Jan. 2025), S. 32. ISSN: 2227-7080. DOI: [10.3390/technologies13010032](https://doi.org/10.3390/technologies13010032). URL: <https://www.mdpi.com/2227-7080/13/1/32> (besucht am 31.10.2025).
- [63] Alex Ling Yu Hung et al. „Csam: A 2.5 d cross-slice attention module for anisotropic volumetric medical image segmentation“. In: *Proceedings of the IEEE/CVF Winter Conference on Applications of Computer Vision*. 2024, S. 5923–5932.
- [64] Hamed Karimi und Mohammad Hamghalam. „Segmentation of 3D MRI Using 2D Convolutional Neural Networks in Infants’ Brain“. en. In: *Multimedia Tools and Applications* 83.11 (März 2024), S. 33511–33526. ISSN: 1573-7721. DOI: [10.1007/s11042-023-16790-z](https://doi.org/10.1007/s11042-023-16790-z). URL: <https://doi.org/10.1007/s11042-023-16790-z> (besucht am 31.10.2025).

- [65] Arman Avesta et al. „Comparing 3D, 2.5D, and 2D Approaches to Brain Image Auto-Segmentation“. en. In: *Bioengineering* 10.2 (Feb. 2023), S. 181. ISSN: 2306-5354. doi: [10.3390/bioengineering10020181](https://doi.org/10.3390/bioengineering10020181). URL: <https://www.mdpi.com/2306-5354/10/2/181> (besucht am 31.10.2025).
- [66] Keinosuke Fukunaga. „Statistical pattern recognition“. In: WORLD SCIENTIFIC, Aug. 1993, S. 33–60. ISBN: 9789810211363. doi: [10.1142/9789814343138_0002](https://doi.org/10.1142/9789814343138_0002). URL: https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/9789814343138_0002 (besucht am 31.07.2025).
- [67] S.R. Kulkarni, G. Lugosi und S.S. Venkatesh. „Learning pattern classification-a survey“. In: *IEEE Transactions on Information Theory* 44.6 (Okt. 1998), S. 2178–2206. ISSN: 1557-9654. doi: [10.1109/18.720536](https://doi.org/10.1109/18.720536). URL: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/720536> (besucht am 31.07.2025).
- [68] A. K. Jain, M. N. Murty und P. J. Flynn. „Data clustering: a review“. In: *ACM Comput. Surv.* 31.3 (Sep. 1999), S. 264–323. ISSN: 0360-0300. doi: [10.1145/331499.331504](https://doi.org/10.1145/331499.331504). URL: <https://doi.acm.org/doi/10.1145/331499.331504> (besucht am 28.08.2025).
- [69] Shai Shalev-Shwartz und Shai Ben-David. *Understanding Machine Learning: From Theory to Algorithms*. en. Google-Books-ID: Hf6QAwAAQBAJ. Cambridge University Press, Mai 2014. ISBN: 9781139952743.
- [70] Marco Loog. „Supervised classification: Quite a brief overview“. In: *Machine Learning Techniques for Space Weather* (2018), S. 113–145. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128117880000056> (besucht am 31.07.2025).
- [71] Isabelle Guyon und André Elisseeff. „An Introduction to Feature Extraction“. en. In: Hrsg. von Isabelle Guyon et al. Berlin, Heidelberg: Springer, 2006, S. 1–25. ISBN: 9783540354888. doi: [10.1007/978-3-540-35488-8_1](https://doi.org/10.1007/978-3-540-35488-8_1). URL: https://doi.org/10.1007/978-3-540-35488-8_1 (besucht am 31.07.2025).
- [72] M. Kunaver und J.F. Tasic. „Image feature extraction - an overview“. In: Bd. 1. Nov. 2005, S. 183–186. doi: [10.1109/EURCON.2005.1629889](https://doi.org/10.1109/EURCON.2005.1629889). URL: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/1629889> (besucht am 04.08.2025).
- [73] Wamidh K. Mutlag et al. „Feature Extraction Methods: A Review“. en. In: *Journal of Physics: Conference Series* 1591.1 (Juli 2020), S. 012028. ISSN: 1742-6596. doi: [10.1088/1742-6596/1591/1/012028](https://doi.org/10.1088/1742-6596/1591/1/012028). URL: <https://dx.doi.org/10.1088/1742-6596/1591/1/012028> (besucht am 31.07.2025).
- [74] Charles T. Zahn und Ralph Z. Roskies. „Fourier Descriptors for Plane Closed Curves“. In: *IEEE Transactions on Computers* C-21.3 (März 1972), S. 269–281. ISSN: 1557-9956. doi: [10.1109/TC.1972.5008949](https://doi.org/10.1109/TC.1972.5008949). URL: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/5008949> (besucht am 28.08.2025).

- [75] Frank P Kuhl und Charles R Giardina. „Elliptic Fourier features of a closed contour“. In: *Computer Graphics and Image Processing* 18.3 (März 1982), S. 236–258. ISSN: 0146-664X. doi: [10.1016/0146-664X\(82\)90034-X](https://doi.org/10.1016/0146-664X(82)90034-X). url: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0146664X8290034X> (besucht am 28.08.2025).
- [76] Karl Pearson. „LIII. On lines and planes of closest fit to systems of points in space“. In: *The London, Edinburgh, and Dublin philosophical magazine and journal of science* 2.11 (1901), S. 559–572.
- [77] H. Hotelling. „Analysis of a complex of statistical variables into principal components“. In: *Journal of Educational Psychology* 24.6 (1933), S. 417–441. ISSN: 1939-2176. doi: [10.1037/h0071325](https://doi.org/10.1037/h0071325).
- [78] Rui Xu und D. Wunsch. „Survey of clustering algorithms“. In: *IEEE Transactions on Neural Networks* 16.3 (Mai 2005), S. 645–678. ISSN: 1941-0093. doi: [10.1109/TNN.2005.845141](https://doi.org/10.1109/TNN.2005.845141). url: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/1427769> (besucht am 28.08.2025).
- [79] Bernhard E. Boser, Isabelle M. Guyon und Vladimir N. Vapnik. „A training algorithm for optimal margin classifiers“. In: *Proceedings of the fifth annual workshop on Computational learning theory*. COLT '92. New York, NY, USA: Association for Computing Machinery, Juli 1992, S. 144–152. ISBN: 9780897914970. doi: [10.1145/130385.130401](https://doi.org/10.1145/130385.130401). url: <https://dl.acm.org/doi/10.1145/130385.130401> (besucht am 28.08.2025).
- [80] David Yarowsky. „Unsupervised word sense disambiguation rivaling supervised methods“. In: *Proceedings of the 33rd annual meeting on Association for Computational Linguistics*. ACL '95. USA: Association for Computational Linguistics, Juni 1995, S. 189–196. doi: [10.3115/981658.981684](https://doi.org/10.3115/981658.981684). url: <https://dl.acm.org/doi/10.3115/981658.981684> (besucht am 28.08.2025).
- [81] Bernhard Schölkopf. „Support vector learning“. PhD Thesis. Oldenbourg München, Germany, 1997. url: https://pure.mpg.de/rest/items/item_1794215/component/file_3214422/content (besucht am 28.08.2025).
- [82] Alexander J. Smola und Bernhard Schölkopf. *Learning with kernels*. Bd. 4. Citeseer, 1998. url: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=1655f14b601fe6ff80ca935091e3cd78c9733d86> (besucht am 28.08.2025).
- [83] Dengyong Zhou et al. „Learning with Local and Global Consistency“. In: *Advances in Neural Information Processing Systems*. Bd. 16. MIT Press, 2003. url: <https://proceedings.neurips.cc/paper/2003/hash/87682805257e619d49b8e0dfAbstract.html> (besucht am 28.08.2025).
- [84] David Lowe und D. Broomhead. „Multivariable functional interpolation and adaptive networks“. In: *Complex systems* 2.3 (1988), S. 321–355. url: <http://wpmedia.wolfram.com/uploads/sites/13/2018/02/02-3-5.pdf> (besucht am 28.08.2025).

- [85] Olivier Delalleau, Yoshua Bengio und Nicolas Le Roux. „Efficient non-parametric function induction in semi-supervised learning“. In: *International Workshop on Artificial Intelligence and Statistics*. PMLR, 2005, S. 96–103. URL: <http://proceedings.mlr.press/r5/delalleau05a/delalleau05a.pdf> (besucht am 28. 08. 2025).
- [86] Sotiris B. Kotsiantis, Ioannis Zaharakis und P. Pintelas. „Supervised machine learning: A review of classification techniques“. In: *Emerging artificial intelligence applications in computer engineering* 160.1 (2007), S. 3–24. URL: [https://books.google.com/books?hl=de&lr=&id=vLiTXDhr_sYC&oi=fnd&pg=PA3&dq=Kotsiantis+\(2007\)+Supervised+machine+learning:+A+review+of+classification+techniques&ots=C_pvsyXHon&sig=cptgUhNhe2RQAWGK255Kwyt10R4](https://books.google.com/books?hl=de&lr=&id=vLiTXDhr_sYC&oi=fnd&pg=PA3&dq=Kotsiantis+(2007)+Supervised+machine+learning:+A+review+of+classification+techniques&ots=C_pvsyXHon&sig=cptgUhNhe2RQAWGK255Kwyt10R4) (besucht am 31. 07. 2025).
- [87] G. Hughes. „On the mean accuracy of statistical pattern recognizers“. In: *IEEE Transactions on Information Theory* 14.1 (Jan. 1968), S. 55–63. ISSN: 1557-9654. doi: [10.1109/TIT.1968.1054102](https://doi.org/10.1109/TIT.1968.1054102). URL: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/1054102> (besucht am 29. 08. 2025).
- [88] Asifullah Khan et al. „A survey of the vision transformers and their CNN-transformer based variants“. en. In: *Artificial Intelligence Review* 56.3 (Dez. 2023), S. 2917–2970. ISSN: 1573-7462. doi: [10.1007/s10462-023-10595-0](https://doi.org/10.1007/s10462-023-10595-0). URL: <https://doi.org/10.1007/s10462-023-10595-0> (besucht am 04. 08. 2025).
- [89] Alex Krizhevsky, Ilya Sutskever und Geoffrey E Hinton. „ImageNet Classification with Deep Convolutional Neural Networks“. In: *Advances in Neural Information Processing Systems*. Bd. 25. Curran Associates, Inc., 2012. URL: <https://proceedings.neurips.cc/paper/2012/hash/c399862d3b9d6b76c8436e9Abstract.html> (besucht am 04. 08. 2025).
- [90] Max Bain et al. „Frozen in Time: A Joint Video and Image Encoder for End-to-End Retrieval“. en. In: 2021, S. 1728–1738. URL: https://openaccess.thecvf.com/content/ICCV2021/html/Bain_Frozen_in_Time_A_Joint_Video_and_Image_Encoder_for_ICCV_2021_paper.html (besucht am 04. 08. 2025).
- [91] Jo Plested und Tom Gedeon. „Deep transfer learning for image classification: a survey“. In: *arXiv preprint arXiv:2205.09904* (Mai 2022). arXiv:2205.09904 [cs]. doi: [10.48550/arXiv.2205.09904](https://doi.org/10.48550/arXiv.2205.09904). URL: [http://arxiv.org/abs/2205.09904](https://arxiv.org/abs/2205.09904) (besucht am 04. 08. 2025).
- [92] Alireza Ghods und Diane J Cook. „A Survey of Techniques All Classifiers Can Learn from Deep Networks: Models, Optimizations, and Regularization“. In: *arXiv preprint arXiv:1909.04791* (Sep. 2019). arXiv:1909.04791 [cs]. doi: [10.48550/arXiv.1909.04791](https://doi.org/10.48550/arXiv.1909.04791). URL: [http://arxiv.org/abs/1909.04791](https://arxiv.org/abs/1909.04791) (besucht am 04. 08. 2025).

- [93] Jürgen Schmidhuber. „Deep learning in neural networks: An overview“. In: *Neural Networks* 61 (Jan. 2015), S. 85–117. ISSN: 0893-6080. doi: [10.1016/j.neunet.2014.09.003](https://doi.org/10.1016/j.neunet.2014.09.003). URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0893608014002135> (besucht am 04.08.2025).
- [94] Sainbayar Sukhbaatar et al. „Training convolutional networks with noisy labels“. In: *arXiv preprint arXiv:1406.2080* (2014).
- [95] Elliott Gordon-Rodriguez et al. „Uses and Abuses of the Cross-Entropy Loss: Case Studies in Modern Deep Learning“. en. In: PMLR, Feb. 2020, S. 1–10. URL: <https://proceedings.mlr.press/v137/gordon-rodriguez20a.html> (besucht am 17.09.2025).
- [96] Anqi Mao, Mehryar Mohri und Yutao Zhong. „Cross-Entropy Loss Functions: Theoretical Analysis and Applications“. en. In: PMLR, Juli 2023, S. 23803–23828. URL: <https://proceedings.mlr.press/v202/mao23b.html> (besucht am 17.09.2025).
- [97] Jacob Goldberger und Ehud Ben-Reuven. „Training deep neural-networks using a noise adaptation layer“. In: *International conference on learning representations*. 2017. URL: <https://openreview.net/forum?id=H12GRgcxg> (besucht am 17.09.2025).
- [98] Bo Han et al. „Masking: A New Perspective of Noisy Supervision“. In: *Advances in Neural Information Processing Systems*. Bd. 31. Curran Associates, Inc., 2018. URL: https://proceedings.neurips.cc/paper_files/paper/2018/hash/aee92f16efd522b9326c25cc3237ac15-Abstract.html (besucht am 17.09.2025).
- [99] Dan Hendrycks et al. „Using Trusted Data to Train Deep Networks on Labels Corrupted by Severe Noise“. In: *Advances in Neural Information Processing Systems*. Bd. 31. Curran Associates, Inc., 2018. URL: https://proceedings.neurips.cc/paper_files/paper/2018/hash/ad554d8c3b06d6b97ee76a2448bd7913-Abstract.html (besucht am 17.09.2025).
- [100] Zhilu Zhang und Mert Sabuncu. „Generalized Cross Entropy Loss for Training Deep Neural Networks with Noisy Labels“. In: *Advances in Neural Information Processing Systems*. Bd. 31. Curran Associates, Inc., 2018. URL: <https://proceedings.neurips.cc/paper/2018/hash/f2925f97bc13ad2852a7a551802feea0-Abstract.html> (besucht am 17.09.2025).
- [101] P. R. Smith. „Bilinear interpolation of digital images“. In: *Ultramicroscopy* 6.2 (Jan. 1981), S. 201–204. ISSN: 0304-3991. doi: [10.1016/0304-3991\(81\)90061-9](https://doi.org/10.1016/0304-3991(81)90061-9). URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0304399181900619> (besucht am 05.09.2025).
- [102] Sergey Ioffe und Christian Szegedy. „Batch normalization: Accelerating deep network training by reducing internal covariate shift“. In: *International conference on machine learning*. pmlr, 2015, S. 448–456. URL: <http://proceedings.mlr.press/v37/ioffe15.html> (besucht am 05.09.2025).

- [103] Jimmy Lei Ba, Jamie Ryan Kiros und Geoffrey E Hinton. „Layer normalization“. In: *arXiv preprint arXiv:1607.06450* (2016).
- [104] Shibani Santurkar et al. „How Does Batch Normalization Help Optimization?“ In: *Advances in Neural Information Processing Systems*. Bd. 31. Curran Associates, Inc., 2018. URL: <https://proceedings.neurips.cc/paper/2018/hash/905056c1ac1dad141560467e0a99e1cf-Abstract.html> (besucht am 05.09.2025).
- [105] Jingjing Xu et al. „Understanding and Improving Layer Normalization“. In: *Advances in Neural Information Processing Systems*. Bd. 32. Curran Associates, Inc., 2019. URL: <https://proceedings.neurips.cc/paper/2019/hash/2f4fe03d77724a7217006e5d16728874-Abstract.html> (besucht am 05.09.2025).
- [106] Ramprasaath R. Selvaraju et al. „Grad-CAM: Visual Explanations From Deep Networks via Gradient-Based Localization“. In: *Proceedings of the IEEE International Conference on Computer Vision (ICCV)*. Okt. 2017.
- [107] Laurens van der Maaten und Geoffrey Hinton. „Visualizing Data using t-SNE“. In: *Journal of Machine Learning Research* 9.86 (2008), S. 2579–2605. URL: <http://jmlr.org/papers/v9/vandermaaten08a.html>.
- [108] T. Tony Cai und Rong Ma. „Theoretical Foundations of t-SNE for Visualizing High-Dimensional Clustered Data“. In: *Journal of Machine Learning Research* 23.301 (2022), S. 1–54. ISSN: 1533-7928. URL: <http://jmlr.org/papers/v23/21-0524.html> (besucht am 31.10.2025).
- [109] Y. Lecun et al. „Gradient-based learning applied to document recognition“. In: *Proceedings of the IEEE* 86.11 (Nov. 1998), S. 2278–2324. ISSN: 1558-2256. doi: [10.1109/5.726791](https://doi.org/10.1109/5.726791). URL: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/726791> (besucht am 04.08.2025).
- [110] Christoffer Edlund et al. „LIVECell—A large-scale dataset for label-free live cell segmentation“. In: *Nature methods* 18.9 (2021), S. 1038–1045.
- [111] Nicola Dietler et al. „A convolutional neural network segments yeast microscopy images with high accuracy“. In: *Nature communications* 11.1 (2020), S. 5723.
- [112] S. Holden und M. Conduit. *DeepBacs – Bacillus subtilis fluorescence segmentation dataset*. Data set. 2021. doi: [10.5281/zenodo.5550968](https://doi.org/10.5281/zenodo.5550968). URL: <https://doi.org/10.5281/zenodo.5550968>.
- [113] Christoph Spahn et al. „DeepBacs: Bacterial image analysis using open-source deep learning approaches“. In: *bioRxiv* (2021). doi: [10.1101/2021.11.03.467152](https://doi.org/10.1101/2021.11.03.467152). URL: <https://www.biorxiv.org/content/early/2021/11/03/2021.11.03.467152>.
- [114] Vladimír Ulman et al. „An objective comparison of cell-tracking algorithms“. In: *Nature methods* 14.12 (2017), S. 1141–1152.

- [115] Neeraj Kumar et al. „A dataset and a technique for generalized nuclear segmentation for computational pathology“. In: *IEEE transactions on medical imaging* 36.7 (2017), S. 1550–1560.
- [116] Noah F Greenwald et al. „Whole-cell segmentation of tissue images with human-level performance using large-scale data annotation and deep learning“. In: *Nature biotechnology* 40.4 (2022), S. 555–565.
- [117] Florian Kromp et al. „An annotated fluorescence image dataset for training nuclear segmentation methods“. In: *Nature Scientific Data* 7.262 (2020), S. 1–8. doi: [10.1038/s41597-020-00608-w](https://doi.org/10.1038/s41597-020-00608-w).
- [118] Alain Chen et al. „3d ground truth annotations of nuclei in 3d microscopy volumes“. In: *bioRxiv* (2022), S. 2022–09.
- [119] Chichen Fu et al. „Three dimensional fluorescence microscopy image synthesis and segmentation“. In: *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition workshops*. 2018, S. 2221–2229.
- [120] Nazmiye Ceren Abay et al. „Privacy Preserving Synthetic Data Release Using Deep Learning“. en. In: *Joint European Conference on Machine Learning and Knowledge Discovery in Databases*. Hrsg. von Michele Berlingario et al. Bd. 11051. Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 510–526. ISBN: 9783030109240 9783030109257. doi: [10.1007/978-3-030-10925-7_31](https://doi.org/10.1007/978-3-030-10925-7_31). URL: https://link.springer.com/10.1007/978-3-030-10925-7_31 (besucht am 27.08.2025).
- [121] Trivellore E. Raghunathan. „Synthetic Data“. en. In: *Annual Review of Statistics and Its Application* 8.1 (März 2021), S. 129–140. ISSN: 2326-8298, 2326-831X. doi: [10.1146/annurev-statistics-040720-031848](https://doi.org/10.1146/annurev-statistics-040720-031848). URL: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-statistics-040720-031848> (besucht am 27.08.2025).
- [122] Sergey I Nikolenko et al. *Synthetic data for deep learning*. Bd. 174. Springer, 2021.
- [123] Edward Choi et al. „Generating multi-label discrete patient records using generative adversarial networks“. In: *Machine learning for healthcare conference*. PMLR, 2017, S. 286–305. URL: <http://proceedings.mlr.press/v68/choi17a> (besucht am 27.08.2025).
- [124] Yingzhou Lu et al. „Machine learning for synthetic data generation: a review“. In: *arXiv preprint arXiv:2302.04062* (2023).
- [125] Roman Bruch et al. „Improving 3D deep learning segmentation with biophysically motivated cell synthesis“. In: *Communications Biology* 8.1 (2025), S. 43.
- [126] Rishi Bommasani et al. „On the opportunities and risks of foundation models“. In: *arXiv preprint arXiv:2108.07258* (2021).

- [127] Jason Yosinski et al. „How transferable are features in deep neural networks?“ In: *Advances in neural information processing systems* 27 (2014). URL: https://proceedings.neurips.cc/paper_files/paper/2014/file/375c71349b295fbe2dcda9206f20a06 - Paper.pdf (besucht am 05.08.2025).
- [128] Jonas Dippel et al. „Transfer Learning for Segmentation Problems: Choose the Right Encoder and Skip the Decoder“. In: *arXiv preprint arXiv:2207.14508* (2022).
- [129] Huiyu Wang et al. „Max-deeplab: End-to-end panoptic segmentation with mask transformers“. In: *Proceedings of the IEEE/CVF conference on computer vision and pattern recognition*. 2021, S. 5463–5474.
- [130] Xueyan Zou et al. „Segment everything everywhere all at once“. In: *Advances in neural information processing systems* 36 (2023), S. 19769–19782.
- [131] Jitesh Jain et al. „Oneformer: One transformer to rule universal image segmentation“. In: *Proceedings of the IEEE/CVF conference on computer vision and pattern recognition*. 2023, S. 2989–2998.
- [132] Feng Li et al. „Mask dino: Towards a unified transformer-based framework for object detection and segmentation“. In: *Proceedings of the IEEE/CVF conference on computer vision and pattern recognition*. 2023, S. 3041–3050.
- [133] Alexander Kirillov et al. „Segment anything“. In: *Proceedings of the IEEE/CVF international conference on computer vision*. 2023, S. 4015–4026.
- [134] Alexey Dosovitskiy et al. „An image is worth 16x16 words: Transformers for image recognition at scale“. In: *arXiv preprint arXiv:2010.11929* (2020).
- [135] Kaiming He et al. „Masked autoencoders are scalable vision learners“. In: *Proceedings of the IEEE/CVF conference on computer vision and pattern recognition*. 2022, S. 16000–16009.
- [136] Alec Radford et al. „Learning Transferable Visual Models From Natural Language Supervision“. en. In: PMLR, Juli 2021, S. 8748–8763. URL: <https://proceedings.mlr.press/v139/radford21a.html> (besucht am 10.07.2025).
- [137] Anwai Archit et al. „Segment anything for microscopy“. In: *Nature Methods* (2025), S. 1–13.
- [138] Uriah Israel et al. „A foundation model for cell segmentation“. In: *arXiv preprint arXiv:2311.11004* (2023).
- [139] Alexandra D VandeLoo et al. „SAMCell: Generalized Label-Free Biological Cell Segmentation with Segment Anything“. In: *bioRxiv* (2025).
- [140] Carsen Stringer et al. „Cellpose: a generalist algorithm for cellular segmentation“. In: *Nature methods* 18.1 (2021), S. 100–106.
- [141] Marius Pachitariu, Michael Rariden und Carsen Stringer. „Cellpose-SAM: superhuman generalization for cellular segmentation“. In: *bioRxiv* (2025), S. 2025–04.

- [142] David A Van Valen et al. „Deep learning automates the quantitative analysis of individual cells in live-cell imaging experiments“. In: *PLoS computational biology* 12.11 (2016), e1005177.
- [143] Dylan Bannon et al. „DeepCell Kiosk: scaling deep learning–enabled cellular image analysis with Kubernetes“. In: *Nature methods* 18.1 (2021), S. 43–45.
- [144] Noah F Greenwald et al. „Whole-cell segmentation of tissue images with human-level performance using large-scale data annotation and deep learning“. In: *Nature biotechnology* 40.4 (2022), S. 555–565.
- [145] Erick Moen et al. „Accurate cell tracking and lineage construction in live-cell imaging experiments with deep learning“. In: *Biorxiv* (2019), S. 803205.
- [146] Mingxing Tan und Quoc Le. „Efficientnetv2: Smaller models and faster training“. In: *International conference on machine learning*. PMLR, 2021, S. 10096–10106. URL: <http://proceedings.mlr.press/v139/tan21a.html> (besucht am 05.08.2025).
- [147] Fabian Isensee et al. „nnU-Net: a self-configuring method for deep learning-based biomedical image segmentation“. In: *Nature methods* 18.2 (2021), S. 203–211.
- [148] Jonas Dippel et al. „Transfer Learning for Segmentation Problems: Choose the Right Encoder and Skip the Decoder“. In: *arXiv preprint arXiv:2207.14508* (2022).
- [149] Olga Russakovsky et al. „ImageNet Large Scale Visual Recognition Challenge“. en. In: *International Journal of Computer Vision* 115.3 (Dez. 2015), S. 211–252. ISSN: 0920-5691, 1573-1405. doi: [10.1007/s11263-015-0816-y](https://doi.org/10.1007/s11263-015-0816-y). URL: <http://link.springer.com/10.1007/s11263-015-0816-y> (besucht am 18.08.2025).
- [150] Yang You et al. „ImageNet Training in Minutes“. en. In: *Proceedings of the 47th International Conference on Parallel Processing*. Eugene OR USA: ACM, Aug. 2018, S. 1–10. ISBN: 9781450365109. doi: [10.1145/3225058.3225069](https://doi.org/10.1145/3225058.3225069). URL: <https://doi.acm.org/doi/10.1145/3225058.3225069> (besucht am 18.08.2025).
- [151] Simon Kornblith, Jonathon Shlens und Quoc V. Le. „Do Better ImageNet Models Transfer Better?“ In: *Proceedings of the IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*. Juni 2019, S. 2661–2671. URL: https://openaccess.thecvf.com/content_CVPR_2019/html/Kornblith_Do_Better_ImageNet_Models_Transfer_Better_CVPR_2019_paper.html (besucht am 18.08.2025).
- [152] Lucas Beyer et al. „Are we done with ImageNet?“ In: *arXiv preprint arXiv:2006.07159* (Juni 2020). arXiv:2006.07159 [cs]. doi: [10.48550/arXiv.2006.07159](https://doi.org/10.48550/arXiv.2006.07159). URL: [http://arxiv.org/abs/2006.07159](https://arxiv.org/abs/2006.07159) (besucht am 18.08.2025).

- [153] Benjamin Recht et al. „Do imagenet classifiers generalize to imagenet?“ In: *International conference on machine learning*. PMLR, 2019, S. 5389–5400. URL: <http://proceedings.mlr.press/v97/recht19a.html> (besucht am 18.08.2025).
- [154] Kaiming He et al. „Deep residual learning for image recognition“. In: *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*. 2016, S. 770–778. URL: http://openaccess.thecvf.com/content_cvpr_2016/html/He_Deep_Residual_Learning_CVPR_2016_paper.html (besucht am 11.08.2025).
- [155] Kaiming He und Jian Sun. „Convolutional neural networks at constrained time cost“. In: *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*. 2015, S. 5353–5360. URL: https://www.cv-foundation.org/openaccess/content_cvpr_2015/html/He_Convolutional_Neural_Networks_2015_CVPR_paper.html (besucht am 18.08.2025).
- [156] Rupesh Kumar Srivastava, Klaus Greff und Jürgen Schmidhuber. „Highway networks“. In: *arXiv preprint arXiv:1505.00387* (2015).
- [157] Sergey Ioffe. „Batch renormalization: Towards reducing minibatch dependence in batch-normalized models“. In: *Advances in neural information processing systems* 30 (2017). URL: <https://proceedings.neurips.cc/paper/2017/hash/c54e7837e0cd0ced286cb5995327d1ab-Abstract.html> (besucht am 18.08.2025).
- [158] Vinod Nair und Geoffrey E Hinton. „Rectified linear units improve restricted boltzmann machines“. In: *Proceedings of the 27th international conference on machine learning (ICML-10)*. 2010, S. 807–814.
- [159] Mingxing Tan und Quoc Le. „Efficientnet: Rethinking model scaling for convolutional neural networks“. In: *International conference on machine learning*. PMLR, 2019, S. 6105–6114. URL: <https://proceedings.mlr.press/v97/tan19a.html?ref=ji> (besucht am 12.08.2025).
- [160] Mark Sandler et al. „MobileNetv2: Inverted residuals and linear bottlenecks“. In: *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*. 2018, S. 4510–4520. URL: http://openaccess.thecvf.com/content_cvpr_2018/html/Sandler_MobileNetV2_Inverted_Residuals_CVPR_2018_paper.html (besucht am 18.08.2025).
- [161] Suyog Gupta und Mingxing Tan. „EfficientNet-EdgeTPU: Creating accelerator-optimized neural networks with AutoML“. In: *Google AI Blog* 2.1 (2019).
- [162] Zhuang Liu et al. „A convnet for the 2020s“. In: *Proceedings of the IEEE/CVF conference on computer vision and pattern recognition*. 2022, S. 11976–11986. URL: http://openaccess.thecvf.com/content/CVPR2022/html/Liu_A_ConvNet_for_the_2020s_CVPR_2022_paper.html (besucht am 11.08.2025).

-
- [163] Dan Hendrycks und Kevin Gimpel. „Gaussian error linear units (gelus)“. In: *arXiv preprint arXiv:1606.08415* (2016).
 - [164] Ze Liu et al. „Swin transformer v2: Scaling up capacity and resolution“. In: *Proceedings of the IEEE/CVF conference on computer vision and pattern recognition*. 2022, S. 12009–12019. URL: http://openaccess.thecvf.com/content_CVPR2022/html/Liu_Swin_Transformer_V2_Scaling_Up_Capacity_and_Resolution_CVPR_2022_paper.html (besucht am 11.08.2025).
 - [165] John Bridle. „Training stochastic model recognition algorithms as networks can lead to maximum mutual information estimation of parameters“. In: *Advances in neural information processing systems* 2 (1989). URL: <https://proceedings.neurips.cc/paper/1989/hash/0336dcbab05b9d5ad24f4333c7658a0e-Abstract.html> (besucht am 19.08.2025).
 - [166] Diederik Kinga, Jimmy Ba Adam et al. „A method for stochastic optimization“. In: *International conference on learning representations (ICLR)*. Bd. 5. 6. California; 2015.

Erklärung

Ich versichere, dass ich diese Arbeit selbstständig verfasst habe und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Karlsruhe, den 2. November 2025

.....