

Workflow:

1. Einladen eines Datensatzes (wie gehabt)

Wichtig: der Workspace unterstützt z.Zt. nicht die Benutzung des Channel Shift (das würde derzeit falsche Ergebnisse in der Quantifizierung und Segmentierung liefern)

2. Erzeuge eine niedriger aufgelöste Version des Datensatzes für die Segmentierung

- Property Gruppe “Create Downsampling for Segmentation”
- Stelle “Maximum Edge Length” auf 512 (sollte Standardeinstellung sein)
- Button “Create Volume”
- Sollte es später Probleme mit der Segmentierung geben, kann es sein, dass der GPU-Speicher voll ist. In diesem Fall kann man die “Maximum Edge Length” auf 256 stellen (erzeugt eine niedriger aufgelöste Version des Volumens für die Segmentierung) und nochmal auf “Create Volume” klicken (und alle nachfolgenden Schritte wiederholen). Falls dann gar nichts mehr segmentiert wird: Workspace speichern und neu laden, dann sollte es wieder gehen

3. Segmentiere die äußere Begrenzung

- Selektiere oben den Tab “Segmentation Outer Boundary”
- Gehe auf die Property Gruppe “Segmentation of Outer Boundary:
- Selektiere den gewünschten Kanal (Standard: Kanal 3)
- Stelle die Color Map für die Segmentierung ein
- Verwende Button “Clear ROIs”, um evtl. vorhandene alte Seed Points zu entfernen
- Zeichne in den Slice Viewern des Tabs die Seed Points ein:
 - Strg + Linke Maustaste: markiere als “innerhalb” (rot)
 - Strg + Rechtsklick: lösche letzten Linienzug der inneren Region
 - Shift + Linke Maustaste: markiere als “außerhalb” (türkis)
 - Shift + Rechtsklick: lösche letzten Linienzug der äußeren Region
 - falls alle Markierungen gelöscht werden sollen: Button “Clear ROIs”
- Drücke Button “Compute”, um die Segmentierung zu berechnen (kann danach mit zusätzlichen Seeds verfeinert werden und dann wieder mit dem Button neu berechnet werden)

4. Segmentiere die innere Struktur (Plaque)

- analog zu oben. Verwende Tab “Segmentation Inner Structure” und Property Gruppe “Segmentation of Inner Structure”, Standard-Kanal ist Kanal 1

- Die “Clear ROIs” Buttons und Seed Points der beiden Segmentierungen sind komplett unabhängig voneinander, man kann also den Plaque segmentieren und z.B. nachher trotzdem die Segmentierung der äußeren Struktur komplett neu machen, ohne die Plaque-Segmentierung zu verlieren / verändern
5. Tab “Threshold Settings” und Property-Gruppen “Threshold Visualization” und “Quantification and Threshold Settings” erlauben die **Visualisierung und Veränderung der Threshold-Einstellungen und Quantifizierungskanäle** (im Prinzip wie vorher, nur dass es untere und obere Thresholds gibt). Die Thresholds können aber auch nach der Berechnung der Quantifizierung angepasst werden, dann werden die Plots der Daten entsprechend angepasst, ohne dass neu quantifiziert werden muss.

6. Starte die Quantifizierung

- Property-Gruppe “Quantification Computation”
- “Segmentation Voxel Interpolation” sollte auf “Linear” gestellt werden (falls man nur schnell vorläufige Ergebnisse sehen möchte kann man dort auch “Nearest” wählen, das reduziert die Genauigkeit der Ergebnisse, beschleunigt aber die Quantifizierung. Danach sollte man aber wieder zurückstellen und neu quantifizieren)
- “Compute Quantification” startet dann die Quantifizierung

7. Visualisierung der Ergebnisse

- Neben der oberen Tab-Bar gibt es auch noch eine untere Tab-Bar. Diese schaltet zwischen Oberkategorien hin und her. Der erste Punkt “Rendering and Segmentation” enthält die Tabs in der oberen Leiste, die wir bisher verwendet haben
- Umschalten der unteren Tabs auf “Quantification Histograms” schaltet die obere Tableiste auf vier verschiedene Plot-Tabs um.
 - “Absolute Histograms” enthält die absoluten Histogramme für jeden Kanal in jeder der Regionen (ganzes Volumen, innerhalb der äußeren Begrenzung, innerhalb der Plaque-Struktur)
 - “Thresholded Histograms” schränkt den Plot für jeden Kanal auf die Werte innerhalb des eingestellten Thresholds ein. Durch Anpassen des Thresholds aktualisiert sich auch dieses Histogramm
 - “Relative Histograms” und “Thresholded Relative Histograms” enthalten die Information wie oben, aber anstatt in absoluten Voxelzahlen zeigen sie ein Histogramm relativ zur Anzahl Voxel der entspr. Region (aus den oberen Histogrammen zu berechnen, indem jeder Wert des Histogramms durch die Gesamtzahl Voxel der gesamten Region geteilt wird und dann mit 100 multipliziert, um die Anzeige in Prozent zu haben)
- Unterer Tab “Channel Correlation – Surface Plot: zeigt die Korrelation von Werten zwischen den Kanälen A-B bzw. C-B. Dabei sind die Achsen in der Ebene die Intensitätswerte der entspr. Kanäle (in % des Maximums, nicht wie bei den

Histogrammen in absoluten Intensitätswerten). Die Höhe zeigt an, wieviele Voxels mit genau dieser Kombination von Intensitätswerten der beiden Kanäle vorkommen. Unter “Tab Bar and Surface Plot Visualization” kann gewählt werden, für welche Region(en) der Surface Plot angezeigt werden soll (selektieren und “Delete” zum Entfernen, “Add” zum Hinzufügen). Die unteren beiden Surface Plots zeigen nur die entspr. Threshold-Region der Kanäle. Auch hier wird der Plot aktualisiert, wenn man die Threshold-Werte ändert. Allerdings gehen dann die Einstellungen, welche Region visualisiert wird, leider momentan verloren

- “Relative Channel Correlation – Surface Plot” funktioniert analog zu oben, die Höhe ist aber nicht die absolute Voxel-Anzahl, sondern wie bei den relativen Histogrammen der prozentuale Anteil bezogen auf die Gesamtzahl Voxel in der entspr. Region

8. Exportieren der Quantifizierungs-Daten

- Property-Gruppe “Quantification Data Export”
- Wähle einen Ordner
- Drücke Button “Export Data”
- Es wird ein Unterordner mit dem Namen des Datensatzes erzeugt. Dieser enthält ein paar Quantifizierungs- und Threshold-Informationen als Text sowie eine CSV-Datei, die diese Infos enthält (Anzahl Voxel in den drei Regionen, gewählte Kanalnummern der Quantifizierungskanäle, maximale Intensitätswerte der Kanäle, gewählte Thresholds), einen Unterordner mit den Segmentierungen sowie einen Unterordner mit den eigentlichen Quantifizierungsdaten:
 - HistogramChannel<A/B/C>.csv
Histogramme des entspr. Kanals für alle Regionen. Format:
Intensitätswert | Anzahl Voxels im Volumen | Anzahl Voxel in äußerer Region
| Anzahl Voxel in innerer Region
(entspricht den absoluten Histogramm-Plots, die relativen können durch Teilen der Voxel-Anzahlen der entspr. Region (und multiplizieren mit 100 für Prozent) hieraus berechnet werden)
 - ThresholdedHistogramChannel<A/B/C>.csv
Analog zu oben, enthält aber nur die Intensitätswerte innerhalb des Threshold-Bereichs des entspr. Kanals
 - CorrelationChannel<AB/CB>.csv
Enthält die Daten der Surface Plots. Format:
Intensität Kanal A/C | Intensität Kanal B | Anzahl Voxels im Volumen |
Anzahl Voxel in äußerer Region | Anzahl Voxel in innerer Region

ACHTUNG: Hierbei sind aufgrund der Datenmenge keine absoluten Intensitätswerte gespeichert, sondern Werte von 0-100: Angabe ist Prozent des Maximalwertes des entspr. Kanals (es gibt also 101*101 Zeilen für alle

Kombinationen von jeweils zwei Kanälen), dafür werden die absoluten Intensitätswerte bei der Quantifizierung entspr. gerundet, um in diese Ganze-Prozent-Kategorien zu passen, weil sonst die Datenmenge explodiert. Die Anzahl Voxel ist aber absolut (relative wieder errechenbar durch Teilen durch Gesamtzahl Voxel der entspr. Region und evtl. multiplizieren mit 100)\

- ThresholdedCorrelationChannel<AB/CB>.csv
Analog zu oben, enthält aber nur den Threshold-Bereich der jeweiligen Kanäle

Sonstiges

- Unter der Property-Gruppe “Tab Bar and Surface Plot Visualization” kann man die Tabs-Bars komplett verstecken mittels der Checkbox “Hide all Tab-bars”, z.B. für Screenshots / Videos etc.