

**Evaluation der Eignung von KI-gestützter Quantifizierung und
Klassifizierung von Kollagenfasern im Hodgkin-Lymphom als
Prognosemarker**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Dr. med. dent.
Motmaen, Ila
aus Rosenheim

Gießen 2024

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Institut für Pathologie

Gutachter: Prof. Dr. Stefan Gattenlöhner

Gutachter: Prof. Dr. Keywan Sohrabi

Tag der Disputation: 19.11.2024

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	- 1 -
2	Literaturübersicht.....	- 2 -
2.1	Hodgkin-Lymphom	- 2 -
2.1.1	Epidemiologie des Hodgkin-Lymphoms.....	- 2 -
2.1.2	Therapie des Hodgkin-Lymphoms	- 4 -
2.1.3	Evaluierung des Therapieerfolgs	- 5 -
2.1.4	Aufbau und Synthese des Kollagens	- 6 -
2.1.5	Kollagene beim Hodgkin-Lymphom.....	- 6 -
2.1.6	Kollagene als potentieller Prognosefaktor	- 7 -
2.2	Digitale Pathologie.....	- 8 -
2.2.1	Digitalisierung der Diagnostik.....	- 8 -
2.2.2	Automatisierte Bilderkennung	- 8 -
2.2.3	Geschichte der automatisierten Bilderkennung	- 9 -
2.3	Grundlagen zu faltenden neuronalen Netzwerken (CNN)	- 9 -
2.3.1	Tensoren	- 9 -
2.3.2	Faltungsschicht (Convolutional Layer)	- 9 -
2.3.3	Pooling-Schicht	- 11 -
2.3.4	Vollverbindende Schicht (Fully-connected Layer).....	- 12 -
2.4	Training des Netzwerks	- 12 -
2.4.1	Overfitting und Underfitting	- 14 -
2.4.2	Detektionsprozess bei YOLOv4	- 16 -
3	Material and Methoden	- 17 -
3.1	Datensatz	- 17 -
3.2	CNN-Training.....	- 19 -
3.3	Finale Analyse und Entwicklung der Methode zur Faser-Quantifizierung.....	- 23 -
3.4	Statistik.....	- 26 -
4	Ergebnisse	- 28 -
5	Diskussion	- 31 -
6	Zusammenfassung.....	- 33 -
7	Summary.....	- 34 -
8	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis	- 36 -
9	Abkürzungsverzeichnis.....	- 37 -
10	Literaturverzeichnis.....	- 39 -
11	Anhang.....	- 48 -

1 Einleitung

Das Hodgkin-Lymphom gehört zur Klasse der malignen Lymphome [100]. Diese Erkrankung geht bei einer zweigipfligen Erkrankungsaltersverteilung mit einem ersten Gipfel im Alter von 15 – 35 Jahren sowie einem Zweiten im Bereich von 55 – 65 Jahren einher [100]. Zusätzlich handelt es sich bei diesem Lymphom um die häufigste maligne Neoplasie des Kindes- und Jugendalters in Europa [100]. Charakteristisch für die Krankheit sind vorkommende große Blasten (Hodgkin-Zellen) sowie aus diesen Zellen zusammengelagerte mehrkernige Riesenzellen (Sternberg-Reed-Zellen) begleitend mit einem umgebenden entzündlichen Infiltrat [100]. Die pathogenetischen Ursachen zur Entstehung des Hodgkin-Lymphoms sind zwar noch unklar, es besteht jedoch ein starker Zusammenhang mit einer Infektion mit dem Epstein-Barr-Virus [61]. Das Virus ist in der Hälfte der Fälle im Tumorgewebe selbst nachweisbar. Zusätzlich bekannt ist, dass eine induzierte Zellimmortalisierung durch das Epstein-Barr-Virus zu einer massiven Zytokinexpression führt [16]. Dieser Effekt ist mindestens für die Tumorumgebung des Hodgkin-Lymphoms verantwortlich. Das klassische Hodgkin-Lymphom wird morphologisch in vier Subtypen und dem lymphozytenprädominanten Typ als Sonderform eingeteilt [91]. In der Vergangenheit hat es sich als große Herausforderung dargestellt prognostisch günstige Fälle gegenüber ungünstig verlaufende Krankheitsverläufe adäquat anhand des histologischen Erscheinungsbildes vorherzusagen. Dies ist jedoch von äußerster Wichtigkeit, um ein geeignetes Therapieregime auswählen und durchführen zu können [22]. In einer Vorstudie mit 9 Fällen konnte anhand des Färbeverhaltens mit Piko-Siriusrot zwischen prognostisch günstigen und ungünstigen Fällen unterschieden werden. Aus diesen Erkenntnissen heraus wurde die Hypothese aufgestellt, dass mit Piko-Siriusrot gefärbte Gewebeschnitte von Patientenfällen mit günstigem Krankheitsverlauf und Fälle mit ungünstigem Verlauf unterschiedliche Färbeverhalten aufweisen. Im Rahmen einer Vorstudie mit 9 Fällen ließen sich anhand von Piko-Siriusrot gefärbten Gewebeschnitten unterschiedliche Färbegrade des Kollagens zwischen prognostisch günstigen und ungünstigen Patientenfällen unterscheiden. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde die Hypothese aufgestellt, dass sich der Färbegrad des Kollagens mit Piko-Siriusrot gefärbten Gewebeschnitten als Prognosemarker eignet, um zwischen günstigen und ungünstigen Krankheitsverläufen zu unterscheiden. Die Rolle des Kollagens sowie dessen Modifikation im Rahmen des Pathomechanismus beim Morbus Hodgkin ist weitreichend

beschrieben. Die Erkenntnisse reichen von rein morphologischen Beschreibungen bis hin zu Beobachtungen über immunhistochemische Färbungen [14, 20, 26, 51, 73, 97]. Aufgrund der Vorerfahrungen anderer Studien als Anhaltspunkt sowie der vielversprechenden Ergebnisse aus der Vorstudie wurde eine weitreichende Studie vorbereitet, um die gestellte Hypothese zu testen. Die Untersuchungen wurden auf Basis des Patientenkollektivs aus der Euronet PHL C2-Studie erstellt, einer multizentrischen, internationalen und randomisierten Studie mit 2200 unter 18-jährigen Patienten mit einem neudiagnostizierten Hodgkin-Lymphom. Hierbei wurde geprüft, ob eine Reduktion des ereignisfreien Überlebens bei Verzicht auf eine Radiotherapie durch eine Intensivierung der Chemotherapie kompensiert werden kann. Anhand dieses Patientenkollektivs wurden im Rahmen einer randomisierten, verblindeten Bestätigungsstudie 84 Patienten selektiert, um einen Zusammenhang zwischen dem Färbegrad des Kollagens auf histologischen Schnitten mit Piko-Siriusrot und einer erhöhten Chemotherapieresistenz bei Patienten mit pädiatrischem Hodgkin-Lymphom zu untersuchen. Die Auswahl des Patientenkollektivs geschah gewichtet nach dem klinischen qPET-Score zur gleichmäßigen Verteilung von positiven sowie negativen Fällen bezüglich einer erhöhten Chemotherapieresistenz. Im Rahmen der Untersuchungen wurde die gestellte Hypothese untersucht, indem die schwach gefärbten Kollagenfasern quantifiziert wurden. Eine morphologische Korrelation zu den schwach gefärbten Kollagenfasern wurde analog anhand von immunhistochemisch gefärbten Schnitten mit MMP9-Antikörpern bestätigt. Ein Zusammenhang zwischen der Prognose von Patienten mit Hodgkin-Lymphom und der Anzahl von MMP9-positiven Zellen ist in der Literatur bereits beschrieben [44, 56]. Zielsetzung dieser Arbeit ist die Untersuchung, ob anhand der Quantifizierung von schwach gefärbten Kollagenfasern beim Hodgkin-Lymphom Prädiktionen bezüglich einer erhöhten Chemotherapieresistenz durchgeführt werden können.

2 Literaturübersicht

2.1 Hodgkin-Lymphom

2.1.1 Epidemiologie des Hodgkin-Lymphoms

Das Hodgkin-Lymphom gehört zu den malignen Lymphomen mit einer Erkrankungsaltersverteilung in zwei Gipfeln bei 15 – 35 Jahren sowie 55 – 65 Jahren, was in der Einleitung bereits erwähnt wurde [100]. Außerdem stellt es die häufigste maligne Neoplasie im Kindes- sowie Jugendalter in Europa dar [100]. Histologisch von

charakteristischer Bedeutung für die Erkrankung sind große Blasten, sogenannte Hodgkin-Zellen, sowie aus diesen Zellen bestehende mehrkernige Riesenzellen, welche als Sternberg-Reed-Zellen bekannt sind und mit einem umgebenden entzündlichen Infiltrat vergesellschaftet sind [100]. Die eindeutigen pathogenetischen Ursachen zur Krankheitsentstehung beim Hodgkin-Lymphom sind zwar noch unklar, Es wird jedoch ein starker Zusammenhang mit einer Epstein-Barr-Virusinfektion beschrieben [61]. Das klassische Hodgkin-Lymphom wird morphologisch in vier Subtypen und dem lymphozytenprädominanten Typ als Sonderform eingeteilt [91].

Tabelle 1 Einteilung des Hodgkin-Lymphoms

Hodgkin-Subtyp	Infiltrat-Zusammensetzung					Bevorzugte Lymphknoten-region	Bevorzugtes Alter
	Hodgkin/Sternberg-Reed-Zellen	Lymphozyten	Neutrophile Granulozyten	Eosinophile Granulozyten	Nekrosen		
Nodulär-lymphozyten-Prädominantes Hodgkin-Lymphom	+ (atypisch, L- und H-Zellen)	++++	-	(+)	-	zervikal	30-60 Jahre
Klassisch, nodulär sklerosierend	++	++	+	+	+	Mediastinal supra-klavikulär	15-30 Jahre
Klassisch, gemischtzellig	+++	+++	+	+	-	Zervikal und abdominal	30-60 Jahre
Klassisch, lymphozytenreich	++	+++	-	-	-	Periphere Lymphknoten	30-60 Jahre
Klassisch, lymphozytenarm	++++	+	-	-	++	abdominal	60-70 Jahre

Die Verteilung der Zelltypen bestimmt den morphologischen Subtyp (+ steht für erhöhten, - für verminderten Zellanteil) [100]

Ein primärer Befall der Lymphknoten ist typisch mit späterer Ausbreitung auf weitere Lymphknotenstationen. Sekundär ist auch ein Befall von Milz, Leber und Knochenmark möglich [100]. Besonders bei jüngeren Patienten mit nodulär sklerosierender Form kann sich das Mediastinum als Manifestationsort darstellen. Prognostisch stellt sich der noduläre lymphozytenprädominante Subtyp als günstigste Form dar mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 95 % [30, 100]. Es ist jedoch zu erwähnen, dass die Prognose des

Hodgkin-Lymphoms primär stadienabhängig ist und die morphologische Klassifikation eine untergeordnete Rolle spielt. Die Einteilung nach Stadien und klinischer Symptomatik erfolgt nach Ann Arbor [5].

Tabelle 2 Stadieneinteilung nach Ann Arbor

Stadium I	Befall einer Lymphknotenregion oder einer extralymphatischen Lokalisation
Stadium II	Befall von 2 benachbarten Lymphknotenregionen auf einer Seite des Zwerchfells, zusätzlicher Befall einer extralymphatischen Lokalisation
Stadium III	Befall von Lymphknotenstationen oder extralymphatischen Lokalisationen ober- und unterhalb des Zwerchfells
Stadium IV	Disseminierter extralymphatischer Befall mit oder ohne Lymphknotenbefall
Kategorie A	Kategorie B
Keine Symptome	B-Symptomatik: <ul style="list-style-type: none"> - Ungewollter Gewichtsverlust > 10 % innerhalb eines Jahres - Unklares Fieber über 38 °C - Nachtschweiß

Die prognostische Einschätzung des Hodgkin-Lymphoms erfolgt über den Ausbreitungsgrad und zusätzlich über das Vorhandensein einer klinischen Symptomatik [5]

2.1.2 Therapie des Hodgkin-Lymphoms

2.1.2.1 Frühe Stadien

Standardmäßig wird in frühen Stadien eine Kombination aus Chemotherapie sowie einer Involved-Site-Radiotherapie durchgeführt. Der Standard zur Chemotherapie besteht aus 2 Zyklen des ABVD-Regimes und 20 Gy zur Strahlentherapie [33]. Diese Kombination wird der alleinigen Strahlen- oder Chemotherapie gegenüber als überlegen betrachtet [27, 33].

2.1.2.2 Intermediäre Stadien

Auch im intermediären Stadium erfolgt die Therapiekombination bestehend aus Chemo- sowie Involved-Site-Radiotherapie. Derzeitiger Standard sind 2 Zyklen BEACOPPeskaliert, welche ergänzt werden durch 2 Zyklen ABVD nach dem sogenannten „2+2“ Schema sowie 30 Gy Involved-Field Radiotherapie [25, 98]

2.1.2.3 Fortgeschrittene Stadien

Der Therapiestandard besteht bei fortgeschrittenem Erkrankungsstadium in Form von BEACOPPeskaliert als Chemotherapie sowie einer folgenden Bestrahlung PET-positiver Tumorrreste [23, 88] in sechs Zyklen [28].

2.1.2.4 Therapie bei Rezidiv

In der Regel erfolgt beim ersten Rezidiv die Reinduktionstherapie sowie Hochdosischemotherapie mit anschließender autologer Stammzelltransplantation [85]. Primär refraktäre Patienten sowie solche mit Rezidiv können von einer Erhaltungstherapie mit dem Antikörper-Drug-Konjugat Brentuximab Vedotin profitieren [66, 102]. Bei Rezidiven nach bereits durchgeführter Hochdosischemotherapie oder autologer Stammzelltransplantation besteht regulär eine palliative Situation. In diesem Fall existiert derzeit keine Standardtherapie, weshalb die Behandlung bei noch kurativer Intention individuell angepasst werden muss. Mögliche Therapieoptionen wären Brentuximab Vedotin [66, 102], PD1-Inhibitoren wie Pembrolizumab (Off-Label-Use) [57] oder allogene Stammzelltransplantationen [50, 90].

2.1.3 Evaluierung des Therapieerfolgs

Die Bewertung der Krankheitsaktivität wird beim Hodgkin-Lymphom radiologisch per FDG-PET-CT durchgeführt. Initial wurde hierfür die so genannte Deauville-Skala [35, 65] herangezogen. Diese definieren fünf Kategorien der residualen FDG-Aufnahme: 1 = kein residuales Signal, 2 = residuales Aufnahmesignal unterhalb des mediastinalen Blutpool-Signals (MBP), 3 = Aufnahmesignal zwischen MBP und Leber, 4 = Anreicherungssignal oberhalb des Lebersignals und 5 = Anreicherung deutlich über dem Lebersignal [35, 65]. Deauville 3 oder höher und Deauville 4 oder höher wurden in klinischen Studien verwendet, um zu eine abnorme PET-Antwort zu definieren, die therapeutische Konsequenzen auslöst. Als Weiterentwicklung dieser Kriterien aus einem ordinalen zu einem quantitativen System wurde die qPET-Skala eingeführt [42]. Hierbei wird der Quotient des Standard Uptake Value (SUV) des Residuums mit dem stärksten FDG-Signal und dem durchschnittlichen SUV der Leber als qPET-Wert bestimmt. Die Cut-Offs der qPET-Werte 0,95, 1,3 sowie 2,0 lassen sich analog in Bezug setzen zu den Kategorien 3, 4 und 5 der Deauville-Skala [42].

2.1.4 Aufbau und Synthese des Kollagens

Kollagenfasern und deren Synthese spielen in der Pathologie des Hodgkin-Lymphoms eine große Rolle mit einer Anzahl von derzeit 28 (Stand 2022) unterschiedlichen Typen [100]. Der Grundaufbau besteht in der Primärstruktur aus G-X-Y-Sequenzen, welche sich zu linksgängigen Kollagen-Helices in Alpha-Formation (Sekundärstruktur) anordnen. Die linksgängigen Helices bestimmen die Tertiärstruktur des Kollagenmoleküls, indem sich diese in einer rechtsgängigen Tripelhelix bestehend aus drei Polypeptidketten konfigurieren. Diese rechtsgängigen Helices bilden weiter die Grundlage der Quartärstruktur in Form von (Mikro)-Fibrillen und Kollagenfasern [9, 76]. Im Rahmen der Kollagenbiosynthese erfolgt als erster Schritt die Transkription des mRNA-Abschnitts zur Synthese des relevanten Kollagentyps, woraufhin die Translation im endoplasmatischen Retikulum in Form von Präpropeptiden erfolgt [9, 68]. Die weitere Prozessierung des Präpropeptids zum Prokollagen erfolgt zunächst über die Abspaltung der N-terminalen Signalsequenz, wodurch aus der Präpro-alpha-Kette eine Pro-alpha-Kette entsteht [68]. Im nächsten Schritt werden einzelne Prolin- sowie Lysinreste hydroxyliert und glykosyliert mit Bildung einer Kollagen-alpha-Kette [41, 52]. Das Prokollagen entsteht daraufhin über Disulfidbindung sowie Wasserstoffbrücken in Form von Tripelhelices [68]. Das Prokollagen wird in den Golgi-Apparat transportiert und posttranslational modifiziert [54]. Nach erfolgter posttranslationaler Modifikation wird das Prokollagen in die Extrazellulärmatrix transportiert. Über Prokollagenpeptidasen werden amino- und carboxyterminale Prokollagensequenzen abgespalten und Tropokollagen gebildet [58]. Nun lagern sich die Tropokollagenmoleküle zu Fibrillen zusammen (Fibrillogenese), welche sich weiterhin durch Oxidierung von Hydroxylysinresten quervernetzen. Diese quervernetzten Fibrillen bilden letztendlich die Kollagenfasern [71, 75].

2.1.5 Kollagene beim Hodgkin-Lymphom

Kollagene spielen beim Hodgkin-Lymphom eine vordergründige Rolle wie beispielsweise bei der histologischen Einteilung [5]. Zu den bereits beschriebenen pathologisch relevanten Kollagentypen gehören unter anderem das fibrilläre Kollagen Typ III sowie Typ IV als Bestandteil der Basalmembran [20, 70]. Beim nodulär sklerosierenden Typ wurde eine verstärkte Vaskularisierung beobachtet, welche mit dem Kollagen Typ IV assoziiert sind [81]. Eine pathophysiologische Relevanz besteht im Eindringen von Lymphozyten in den Lymphknoten ausschließlich über Blutgefäße [89].

Weiterhin wurde zwar ein vermehrtes Vorkommen von hochendothelialen Venolen, Venen und Arterien bei der nodulär sklerosierenden Form des Hodgkin-Lymphoms in den fibrotischen Arealen beschrieben, welche allesamt assoziiert mit Kollagen Typ IV waren. Im Bereich von Zellherden kamen diese Gefäße jedoch in weitaus geringerer Anzahl vor [20]. Blutgefäße sowie Lymphgefäße aller Kaliber und Typen lassen sich bei identischer Intensität auf Typ-IV-Kollagen anfärben [20]. Außerdem wurden bei diesem Subtyp vermehrt unterbrochene Gefäßwandareale festgestellt, welche bei anderen Hodgkin-Lymphom-Typen nicht zu beobachten waren [20]. Weiterhin ließen sich Kollagen Typ III und IV mit den anderen Typen des Hodgkin-Lymphoms in Verbindung bringen. Neben dem nodulär sklerosierenden Typ wurden auch in den anderen Typen des Hodgkin-Lymphoms korrelierend zum Vorkommen von fibrotischen Knoten, retikulären Fasern und Blutgefäßen Kollagen Typ III und IV nachgewiesen [51].

2.1.6 Kollagene als potentieller Prognosefaktor

Aufgrund der Epidemiologie des Hodgkin-Lymphoms im jugendlichen Alter stellen prognostische Aussagen zum Verlauf der Erkrankung einen wichtigen Baustein zur Planung zukünftiger Behandlungsstrategien dar [99]. Schwere Verläufe des Hodgkin-Lymphoms sind selten und anhand der histologischen Schnittbilder durch den Pathologen selbst schwer vorherzusagen [30]. Es existieren zudem keine Marker beim Hodgkin-Lymphom zur Bestimmung der Prognose. Daher wird in dieser Arbeit der Versuch unternommen eine atypische Kollagenexpression als möglichen prognostischen Faktor zu untersuchen. Es existieren bereits Untersuchungen zu anderen Malignomen, die einen Zusammenhang zwischen dem exprimierten Kollagenmuster und dem Krankheitsverlauf herstellen [17, 39, 47, 69, 74, 95]. Zur Unterscheidung zwischen prognostisch günstigen und schweren Verläufen muss der potentielle Marker quantifiziert werden können. Dies wäre beispielsweise über eine manuelle Quantifizierung durch den Untersucher möglich, was in der Realität jedoch nicht praktikabel ist. Weitere Möglichkeiten bestehen in der maschinellen Quantifizierung. Eine Möglichkeit wäre die Erkennung des Markers über Pixel-Farbgrenzwerte anhand von Entscheidungsbäumen (Pixel Classifier) [7, 31]. Eine weitere und aktuellere Methode stellt die Verarbeitung und Detektion von Bildern über faltende neuronale Netzwerke (Convolutional Neural Networks) dar [36, 48, 49, 63, 93]. Durch die aktuell entwickelten Grafikkarten, die inzwischen auch für Rechenoperationen geeignet sind, ist diese Methode auch mit handelsüblichen Computern realisierbar [40]. Beide erwähnten maschinellen Ansätze werden als mögliche Kandidaten zur

Quantifizierung des atypischen Kollagens als potentieller Marker näher untersucht. Die Bilder zur Durchführung der Untersuchungen stammen aus histologischen Schnitten der Studie EuroNet-PHL-C2. Diese stellt den größten Datensatz an Hodgkin-Lymphomen mit allen klinischen Daten und Informationen zum Krankheitsverlauf an Kindern sowie Jugendlichen bis zum 18. Lebensjahr in ganz Europa dar.

2.2 Digitale Pathologie

2.2.1 Digitalisierung der Diagnostik

Die Einteilung von Erkrankungen und deren Schweregrade zur Planung eines weiteren Vorgehens und Behandlung des Patienten sind von größter Relevanz [38]. Zur verbesserten Entscheidungsfindung und für einen effizienteren Informationsaustausch haben sich diverse Klassifikationssysteme zur Standardisierung der Informationen etabliert [5, 91]. Besonders in der Pathologie sind Klassifikationssysteme zur Histomorphologie fester Bestandteil der Diagnostik [5, 91]. Anhand dieser Muster lassen sich optische Eigenschaften und Merkmale aus Gewebeschnitten einheitlich darstellen und interpretieren. Diese vereinfachte Informationseinteilung ermöglicht zusätzlich eine verbesserte Diagnosefindung [5, 91]. Da die visuellen Daten zur Diagnose für den Pathologen essentiell sind, wurden diese bereits im frühen 20. Jahrhundert anhand von Fotoplaten konserviert [3]. Dies ermöglichte zusätzlich einen Datenaustausch zwischen Experten und zur Ausbildung von angehenden Kollegen. Die zugrundeliegende Problematik hierbei lag in einer Vorselektion von relevanten Arealen durch den Untersucher, da eine Erfassung des gesamten Gewebeschnittes zu diesem Zeitpunkt nicht möglich war [3]. Dies änderte sich in den 90er Jahren schlagartig mit kommerziell erwerbbaaren Whole-Slide-Image Scannern, die den vollständigen histologischen Schnitt als digitalen Bilddatensatz erfassen konnten [21, 77, 87]. Aufgrund weiterer Fortschritte auf dem Gebiet der Computer-Hardware und der Entwicklung benutzerfreundlicher Software wurde auch der Austausch von Schnittbildern ermöglicht [32]. Nach der Jahrtausendwende erhöhten sich die Rechenkapazitäten so weit, dass Bestrebungen zur Interpretation der optischen Informationen aus den histologischen Scans durch maschinelle Algorithmen entstanden [36, 48, 49, 63, 93].

2.2.2 Automatisierte Bilderkennung

Das maschinelle Lernen sowie das Deep Learning hat in der heutigen Zeit eine enorme Bandbreite an Anwendungsgebieten. Dazu gehören Sprach-, Text- sowie die

Bildererkennung. Der Fokus dieses Abschnittes soll auf den visuellen Systemen liegen [34, 48, 53].

2.2.3 Geschichte der automatisierten Bildererkennung

Die Idee der automatisierten Erkennung von Strukturen lässt sich bis in die 40er Jahre des 20. Jahrhunderts zurückverfolgen mit der Kybernetik und des McCulloch-Pitts-Neuron [64]. Einige Jahre später folgte in den 50ern Frank Rosenblatts Konstrukt des Perzeptrons, einem System zur Bildererkennung über Photozellen, die mit mehreren Neuronen verknüpft sind [83]. In den 80er Jahren folgte eine weitere Welle an Entwicklungen in Form des Konnektionismus. Hierbei wurde die Meinung vertreten, dass ein Netzwerk aus mehreren individuellen Neuronen ein intelligentes Verhalten reproduzieren kann [72]. Der erhoffte Durchbruch blieb aufgrund unzureichender Rechenkapazitäten bis 2006 aus. In diesem Jahr entwickelte zudem Geoffrey Hinton das Deep-Belief-Network, einem probabilistischen Modell zur Bildererkennung, das als Prototyp für die heutigen verwendeten deutlich komplexeren neuronalen Netzwerke diente [45].

2.3 Grundlagen zu faltenden neuronalen Netzwerken (CNN)

2.3.1 Tensoren

Die elementare Datenstruktur der neuronalen Netzwerke ist der Tensor, einem Gerüst für meist numerische Daten und ein elementares Objekt aus der linearen Algebra. Hiermit lassen sich Vektoren numerisch zusammenfassen [18]. Ein Tensor besteht aus Achsen und Dimensionen, wobei jede Achse die Anzahl der darin befindlichen Dimension der Datenwerte enthält. Tensoren werden nach Anzahl ihrer Achsen eingeteilt [18]. Im Bereich der Bildererkennung dienen 4D-Tensoren als Grundeinheit mit den Achsen Höhe, Breite, Farbkanal und der Probenanzahl. Die Verrechnung der Tensoren innerhalb der Netzwerke geschieht unter Rechenoperationen aus der linearen Algebra wie Skalar- und Kreuzprodukt [18].

2.3.2 Faltungsschicht (Convolutional Layer)

Die Arbeitsmodule eines neuronalen Netzwerks werden in Schichten eingeteilt. Eine Schicht besteht aus einer Reihe künstlicher Neuronen, die repräsentierend für die Rechenfunktionen innerhalb der Schicht stehen [2, 18]. Diese Schichten extrahieren relevante Merkmale aus den eingefügten Bildern [2, 18]. Somit stellen die Schichten Datenfilter dar, die den Dateninput konsekutiv reduzieren. In einer Faltungsschicht wird

der Input anhand einer diskreten Faltung verarbeitet. Dies geschieht über das Abfahren des eingespeisten Bildbereichs mit einer Faltungsmatrix, auch Kernel genannt, dessen Skalarprodukt als Eingabe für das zugehörige Neuron entspricht [18].

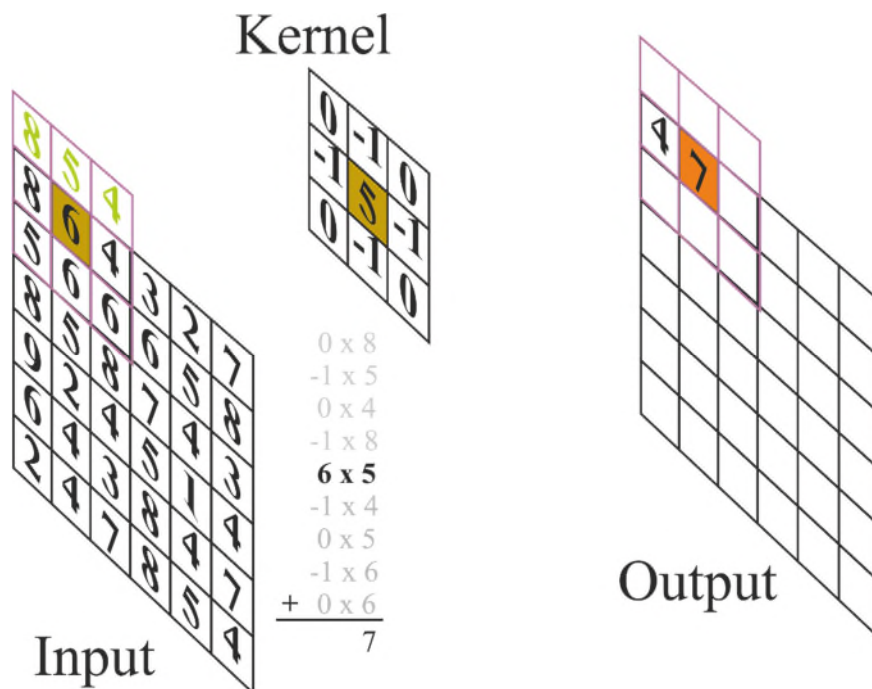


Abbildung 1 Faltung

Die Verarbeitung des Input innerhalb der Faltungsschicht geschieht durch Bildung des Skalarprodukts aus der Faltungsmatrix (Kernel) und dem darunter positionierten Bildausschnitt anhand der mathematischen Operation der diskreten Faltung. Die Inputwerte werden mit dem korrespondierenden Kernelwert multipliziert und alle Produkte innerhalb der Kernelmatrix addiert. Bei Übertreten des Bildrandes durch das Kernel werden die Bildrandwerte durch Padding ergänzt (purpur). Dieser Faltungswert wird auf die Position der Output-Feature-Map (orange) projiziert, die mit dem Kernel-Zentrum (gold) korrespondiert [55].

Die Faltungsmatrix fährt schrittweise horizontal unter einer festen Schrittgröße (Stride) von links nach rechts bis zum Bildrand ab, bewegt sich um diesen Wert vertikal nach unten und beginnt einen erneuten horizontalen Zyklus von links startend bis das gesamte Bild abgefahren ist [18, 55]. Der gefaltete Wert wird auf das Kernelzentrum projiziert. Bei Überschreiten des Bildrandes durch die Kernel-Matrix werden Platzhalterwerte auf dem Bildausschnitt generiert, damit die Faltung auch in den Randbereichen ausführbar ist [18, 55]. Meist geschieht dies über Duplikation der Bildwerte am Rand. Dieses Vorgehen wird als Padding bezeichnet [18, 55]. Außerdem ist anzumerken, dass ein Neuron nur auf Aktivierungen von Neuronen in lokal korrespondierenden Arealen der vorgeschalteten Schicht reagiert. Dies entspricht dem biologischen Korrelat des

rezeptiven Feldes [1, 10]. Zusätzlich besitzt jede Schicht spezifische Gewichtungen, nach der die Intensität der Neuroneneingaben reguliert wird [18]. Bei faltenden Schichten liegen geteilte Gewichtungen vor, demnach wird derselbe Gewichtungswert für jedes Neuron der gesamten Schicht zugeteilt [1]. Der unter diskreter Faltung kalkulierte Input wird letztlich anhand einer Aktivierungsfunktion in den Output-Tensor, in diesem Fall auch Feature Map genannt, umgewandelt [18]. Aufgrund einer besseren Recheneffizienz wird als Aktivierungsfunktion meist die Rectified Linear Unit (ReLU) angewandt [37].

2.3.3 Pooling-Schicht

Das Ziel eines neuronalen Netzwerks zur Bilderkennung ist das Selektieren robuster Merkmale und Muster, um Objekte möglichst korrekt klassifizieren zu können [18]. Zu viele Merkmale würden ein Overfitting provozieren und die Generalisierbarkeit des Modells in Mitleidenschaft ziehen [18]. Dazu müssen Merkmale, die nicht fundamental zur Unterscheidung und Erkennung beitragen können oder gar als Störfaktor fungieren, aussortiert werden. Zusätzlich muss ein Modell generalisierend funktionieren, um letztlich aus den Trainingsbildern heraus fremde und unbekannte Bilder klassifizieren zu können [18]. Daher müssen die nach diskreter Faltung entstandenen Feature Maps einem Downsampling (Heruntertaktung) unterzogen werden [18]. Hierbei werden die zuvor durch Faltung generierten Feature Maps durch eine Pooling-Funktion heruntergerechnet und die damit relevantesten Merkmale aus der vorangegangenen Schicht isoliert [84]. Es kann mit dem Average-Pooling heruntergetaktet werden, bei dem der Pooling-Kernel die Feature Map abfährt und jeweils den Durchschnittswert aus seiner momentanen Kernel-Matrix selektiert [84]. Durchgesetzt hat sich aufgrund seiner Recheneffizienz jedoch das Max-Pooling. Dabei wird lediglich der höchste Wert aus der Kernel-Matrix beim Abfahren des Bildes beibehalten und die restliche Aktivität im Bereich des Kernels verworfen [84].

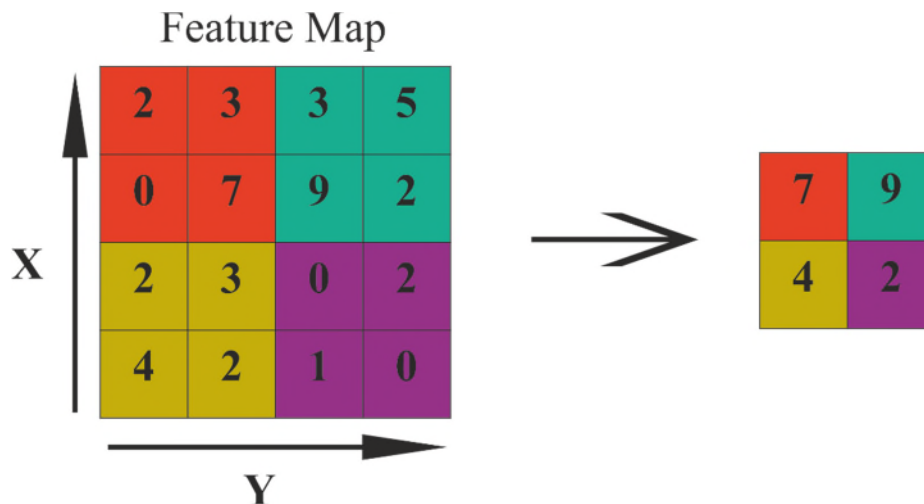


Abbildung 2 Max-Pooling

Der Pooling-Kernel (hier mit 2x2 Größe) fährt mit einer definierten Schrittgröße (in diesem Fall Stride = 2) die Feature Map ab. Die Maximalwerte aus den Kernel-Matrizen (orange, grün, blau, grau) werden beibehalten und der Rest verworfen [84]

Sobald das Pooling-Kernel die gesamte Feature Map dem Downsampling unterzogen hat, liegt eine neue heruntergerechnete Feature Map vor. Diese reduzierte Version aus der vorigen faltenden Schicht besteht nur noch aus den Maximalwerten der Kernel-Matrix. Durch das Pooling erhöht sich die Translationsinvarianz des Netzwerks, womit die erlernten Muster auch unter veränderten Bedingungen robust anwendbar werden [84].

2.3.4 Voll-verbundene Schicht (Fully-connected Layer)

Nach dem Durchlauf in mehreren Faltungs- und Pooling-Schichten, kann das Netzwerk durch Voll-verbundene (Fully-connected) Schichten abgeschlossen werden. In diesen Schichten sind die Neuronen mit Gewichtungen zu sämtlichen Neuronen in den vorangegangenen als auch folgenden Schichten verknüpft [18, 84]. Die Anordnung der Neuronen in diesen Schichten ist abhängig von der Anzahl der zu erkennenden Klassen. Dadurch lassen sich alle Merkmale und Eigenschaften aus den vorigen Schichten verbinden und abhängig von der Anzahl zu erkennenden Klassen beziehungsweise Objekten zum endgültigen Output zusammensetzen. Somit entsteht der eigentliche Objekt-Detektor [18, 55].

2.4 Training des Netzwerks

Ein neuronales Netzwerk benötigt Daten, um autonom Funktionen wie Klassifikationen nach bestimmten Klassen durchführen zu können. Dazu müssen dem Netzwerk Bilder mit den zu erkennenden Markierungen zugeführt werden. Der Vorgang der

Klassenzuweisung wird Labeling genannt [18, 59]. Dieses gelabelte Kollektiv an Bilddaten wird zum Training des Netzwerks herangezogen. Die erlernten Muster werden den Schichten assoziiert in Form von Gewichtungen gespeichert und stellen damit das erlernte „Wissen“ des neuronalen Netzwerks dar [1, 18]. Der Lernvorgang entspricht in diesem Sinne dem Auffinden der richtigen Gewichtungs-Werte, um Input-Bildern die korrekten Klassen aus dem Trainingskontingent zuzuordnen zu können [18, 55].

Es wird jedoch nicht das gesamte gelabelte Bilderkollektiv als Trainingsdatensatz verwendet. Ein kleiner Teil der Daten, meist 20 % des Gesamtsatzes, wird als sogenannter Validierungssatz zugeordnet. Dieser Anteil wird nicht dem Trainingsprozess unterzogen und dient dem Überprüfen des Zwischenstandes der Klassifizierungs-Präzision des Netzwerks [18, 59]. Der Validierungssatz kann daher zur Feinabstimmung der Klassifizierungs-Leistung herangezogen werden [18, 59].

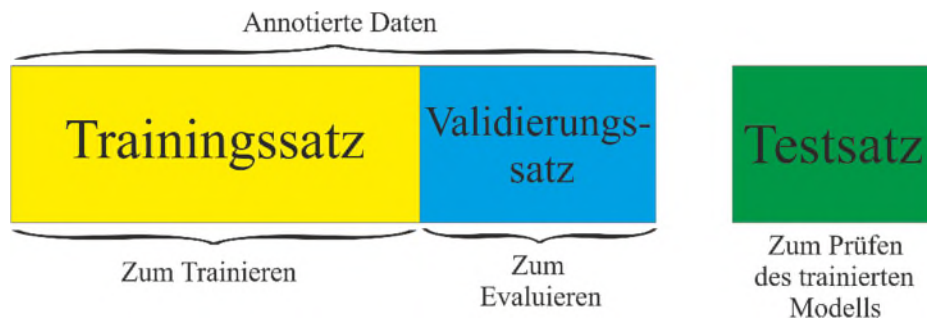


Abbildung 3 Trainings-, Validierungs- und Test-Datensatz

Der Trainingsdatensatz (gelb) und der Validierungsdatensatz (blau) werden im Rahmen des Trainings verwendet. Der vom Training unberührte Testdatensatz (grün) wird exklusiv zur Leistungsprüfung des trainierten Modells angewandt [18].

Die Prüfung des finalen Modells geschieht letztlich an einem nicht gelabelten Datensatz, der dem Netzwerk nie zuvor eingespeist wurde. Diesen bezeichnet man als Test-Datensatz [18, 59]. Das Training läuft über zahlreiche Zyklen ab. Jeder Zyklus geht mit einem Status-Update einher, indem die Abweichung der Klassifizierungen von der Realität (Ground Truth) im Trainingsmaterial berücksichtigt wird. Diese Abweichung wird über eine Funktion ermittelt und als sogenannter Loss Score ermittelt und stellt ein Maß für die Ausgabequalität des Netzwerks dar [1, 18]. Der Loss Score dient einem Optimizer als Rückkopplungssignal, welcher Gewichtungen des Netzwerks zugunsten einer Loss-Score-Reduktion modifiziert [1, 18].

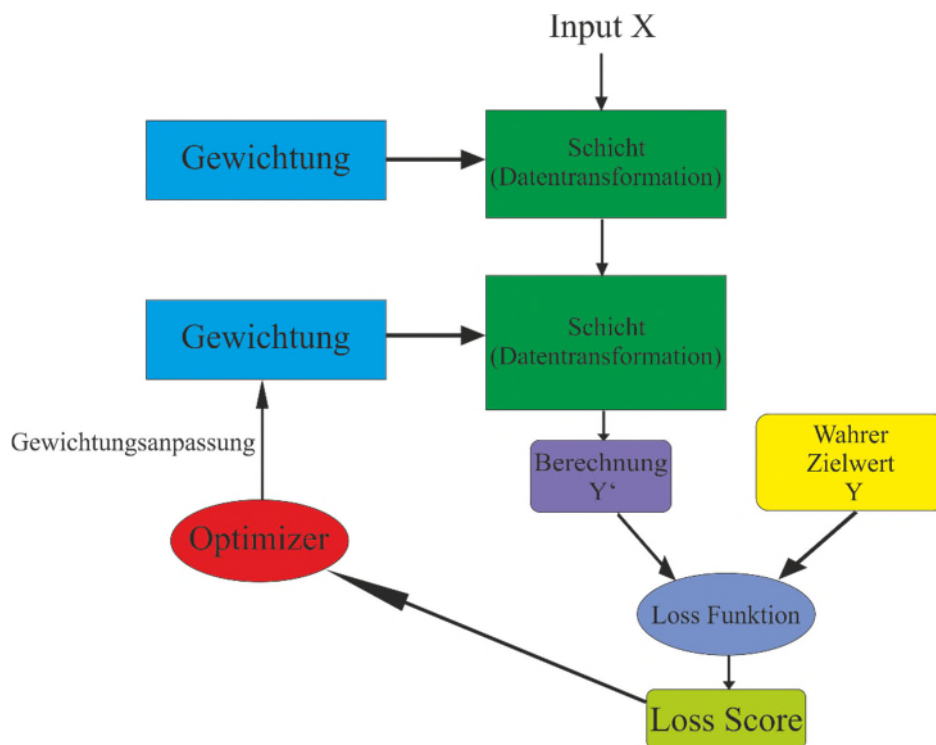


Abbildung 4 Trainingsoptimierung

Die Vorhersagen des Netzwerks sollen so nah wie möglich an den wahren Werten liegen. Nach jedem Trainingszyklus wird die Abweichung der Vorhersage vom wahren Wert (Loss score) ermittelt und über einen Optimizer im nächsten Trainingszyklus durch Anpassung der Gewichtungen verringert [18].

Meist wird für die Optimizer-Funktion eine Variante des stochastischen Gradientenabstiegs (stochastic gradient descent, SGD) benutzt [12]. Diese Funktion wird von den obersten Schichten beginnend auf die tieferen Schichten konsekutiv angewandt (Backpropagation) und der anteilige Loss Score jeder Schicht auf den Gesamtwert ermittelt, um vorteilhafte Gewichtungsveränderungen zu bestimmen [1, 12, 84].

Beim SGD wird über das aktuelle Trainingsobjekt ein Fehlergradient berechnet. Dieser Gradient dient als Wegweiser zur Aktualisierung der Gewichtungen für den nächsten Trainingszyklus, um den Loss Score weiter zu verringern [1, 12, 84].

2.4.1 Overfitting und Underfitting

Die Hauptaufgabe eines neuronalen Netzwerks zur Klassifikation ist das Anwenden von erlernten Merkmalen aus Trainingsdaten auf fremdes Datenmaterial, um dieses möglichst korrekt zu klassifizieren. Der Trainingsablauf besteht bei faltenden Netzwerken aus mehreren Faltungs- und Poolingsequenzen, um den ursprünglichen Bilder-Input in immer abstraktere Formen zu „destillieren“. Dieser Filterprozess dient dazu, dass das Netzwerk lediglich relevante Merkmale zur Erkennung gezielter Klassen erlernt [55, 84].

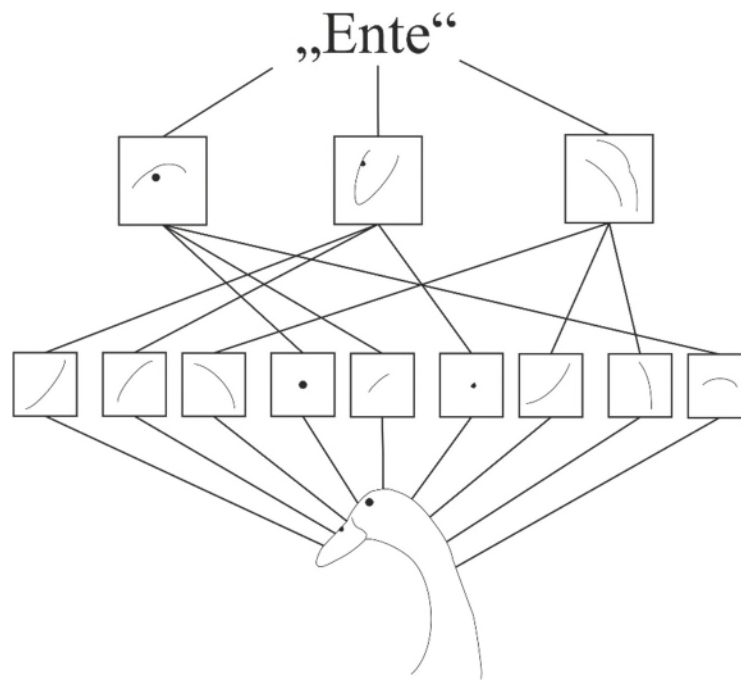


Abbildung 5 Lernvorgang des CNN

Das visuelle System besteht aus einer räumlichen Hierarchie visueller Module. Diese noch allgemeinen Strukturen (untere Reihe) aus niederen Netzwerkschichten setzen sich in höheren Schichten zu spezifischen Objekten (obere Reihe) wie zum Beispiel Augen, Schnabel oder Hals zusammen. Die erkannten Merkmale dienen in diesem Beispiel zur Klassifikation als Ente [18].

Dieses Auswieben unspezifischer und damit für die Klassifikationsleistung unwichtige Attribute trägt damit zur Generalisierbarkeit eines Modells bei [18, 55]. Ein Netzwerk, das zu viele Eigenschaften aus dem Trainingsmaterial erlernt, kann fremde Daten nicht mehr zuverlässig erkennen. Dies nennt man Overfitting, ein zu stark an die Trainingsdaten angepasstes Klassifizierungsverhalten [18, 59]. Ein Modell, das nicht auf unbekannte Daten generalisierbar ist, hat dadurch keinen praktischen Nutzen. Andererseits ist ein zu starkes Reduzieren der erlernten Merkmale ebenso kontraproduktiv, denn in solch einem Falle erhält das Netzwerk nicht genügend Informationen zur Erkennung und Differenzierung der antrainierten Klassen [18, 55]. Dieser Effekt wird als Underfitting bezeichnet [18, 55]. Das Optimum für die Detektionsleistung eines neuronalen Netzwerks ist demnach die goldene Mitte zwischen beiden Effekten. Im Idealfall lernt ein Netzwerk eine Konstellation an Merkmalen, dessen Leistung knapp unterhalb des Overfittings liegt [18, 55].

2.4.2 Detektionsprozess bei YOLOv4

Die Detektionen werden innerhalb von Begrenzungsrahmen (Bounding Boxes) erfasst. Diese Rahmen repräsentieren über ihre Höhe und Breite das Ausmaß sowie über ihre Position das Zentrum des erkannten Objekts [78].

$$b_x = \sigma(t_x) + c_x$$

$$b_y = \sigma(t_y) + c_y$$

$$b_w = p_w e^{t_w}$$

$$b_h = p_h e^{t_h}$$

Die Maße der Bounding Box errechnen sich nicht allein aus den Netzwerkausgaben der Höhe und Breite [80]. Es wird zusätzlich ein passender Ankerrahmen (Anchor Box) als Orientierungs- und Entscheidungshilfe hinzugezogen [80]. Ankerrahmen stellen eine Auswahl an Idealformen von Bounding Boxes eines zu erkennenden Objektes dar. Die Selektion erfolgt über den höchsten IoU-Wert aus einem der Ankerrahmen und dem Output-Maßen. Die Bildung des Begrenzungsrahmens erfolgt daher über eine Modifikation des naheliegendsten Ankerrahmens anhand der ausgegebenen Rahmenmaße aus dem Netzwerk [80].

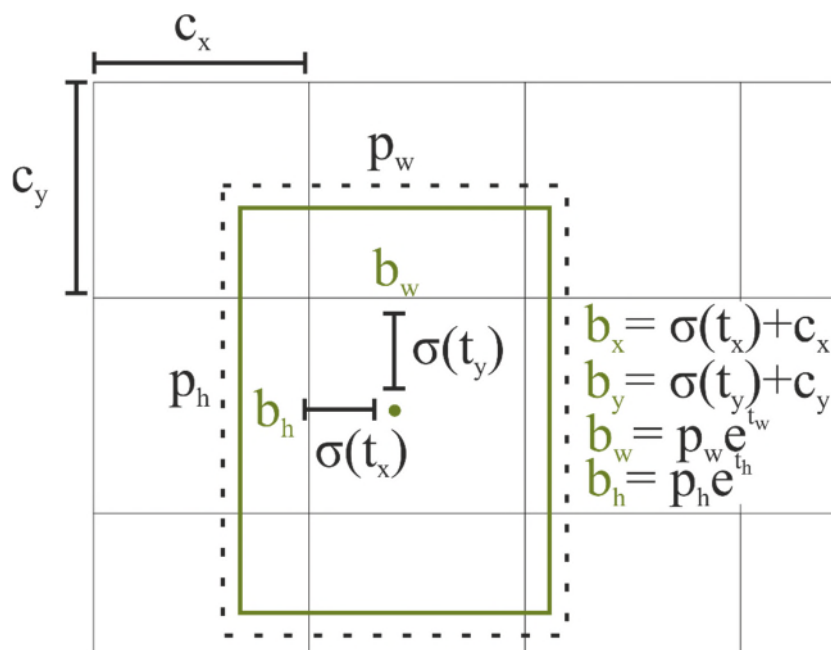


Abbildung 6 Begrenzungsrahmen

Die Mittelpunktkoordinaten des Begrenzungsrahmens (b_x, b_y) werden über eine sigmoidale Transformation des Netzwerkoutputs (t_x, t_y) und Addition mit den Koordinaten des linken oberen Randes des Koordinatennetzes (c_x, c_y) bestimmt. Aus dem errechneten Mittelpunkt ergibt sich die Position des

Begrenzungsrahmens. Die Höhe und Breite (b_w, b_h) des Rahmens errechnet sich aus der log-space-Funktion des Höhen- und Breitenoutput des Netzwerks multipliziert mit den Maßen des Ankerrahmens (p_w, p_h) mit dem höchsten IoU-Wert [79].

Der IoU-Wert (Intersection over Union) dient YOLOv4 als Loss Score zur Optimierung der Trainingsleistung [11, 78]. Es werden die Position des errechneten Begrenzungsrahmens mit der des von Menschenhand annotierten (Ground Truth) Begrenzungsrahmens zueinander verglichen. Der IoU ergibt sich als Quotient aus der Schnitt- und Vereinigungsmenge beider Bounding Boxes [11, 78].

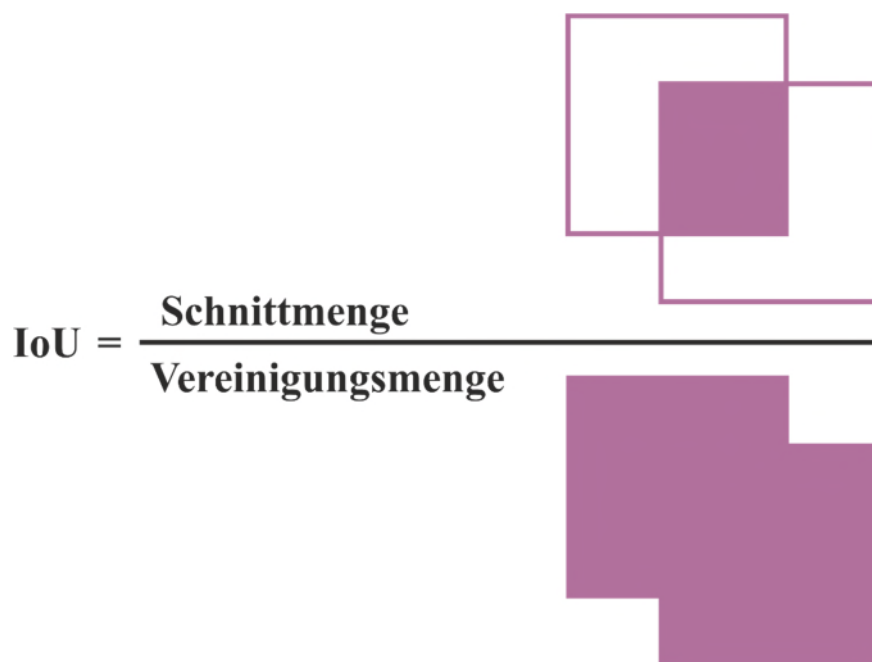


Abbildung 7 IoU

Die überlappenden Begrenzungsrahmen aus Detektion und Ground Truth werden zur Berechnung des IoU-Werts herangezogen. Dazu werden dessen Schnitt- und Vereinigungsmenge miteinander dividiert [78].

Durch diesen Score wird die Abweichung des errechneten Begrenzungsrahmens anhand des Lernstandes von der Wahrheitssituation ermittelt und kann vom Netzwerkmodell als Hinweis zur Überprüfung und gegebenenfalls Korrektur des Lernfortschritts genutzt werden.

3 Material and Methoden

3.1 Datensatz

Alle 83 für die Untersuchungen verwendeten Fälle wurden aus der EuroNet-PHL-C2-Studie ausgesucht, einer internationalen gruppenübergreifenden Studie zum klassischen Hodgkin-Lymphom bei Kindern und Jugendlichen. Vor Studienbeginn wurde bereits eine

zustimmende Bewertung durch die Ethik-Kommission der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg erteilt (Bearbeitungs-Nr. 2015-12). Das Therapieregime wurde bezüglich Ansprechverhalten sowie Auftreten von Nebenwirkungen angepasst. Alle Patienten erhielten zwei Zyklen einer Induktionschemotherapie mit Vincristin, Etoposid, Prednisolon und Doxorubicin (OEPA), gefolgt von einer frühen Einschätzung des Therapieansprechens (ERA), einschließlich Ganzkörper-CT oder MRT und FDG-PET-Scan [86]. Bei Patienten, die eine komplette Remission erreichten, wurde entweder die weitere Therapie abgesetzt oder erhielten weiterhin Chemotherapie, je nach diagnostischem Stadium und Stratifizierung der Behandlungsrisikogruppe [62]. Bei allen anderen Patienten wurde nach Abschluss der geplanten Chemotherapie eine Bestrahlung der betroffenen Stelle (ISRT) durchgeführt. Es wurde qPET verwendet, eine quantitative Erweiterung der Deauville-Skala, die bei der Bewertung des Behandlungsansprechens anhand von FDG-PET-Scans bei Lymphompatienten Anwendung findet. Nach der ersten primären Chemotherapie wird qPET als Indikator für einen abnormen Tumormetabolismus angewandt. Die Fälle wurden nach den von Hasenclever et al. (2014) vorgeschlagenen qPET-Schwellenwerten stratifiziert [42]. Dementsprechend wurden die Fälle in vier qPET-Gruppen ("D 1-4") eingeteilt (Tabelle 1). Für einige Analysen wurden die D-Gruppen in jeweils einer qPET-negativen Gruppe (D1 + D2 als qPET-Neg., $qPET < 1,3$) sowie einer qPET-positiven Gruppe (D3 + D4 als qPET-Pos., $qPET > 1,3$) entsprechend dem qPET-Schwellenwert von 1,3 zusammengefasst (Tabelle 1). Anhand des formalinfixierten und in Paraffin eingebetteten Biopsiematerials (FFPE) wurden mit dem Gleitmikrotom Leica SM 2000R (Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland) Schnitte von etwa 5 μm Dicke hergestellt. Ausgewählte Schnitte wurden entparaffiniert, mit einem primären Antikörper gegen MMP9 (monoklonaler Maus-Anti-Human-Antikörper, Klon 5G3, Verdünnung 1: 5000, Antigenrückgewinnung mit EDTA, Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Waltham MA, USA) versetzt und mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) unter Verwendung des Bond Polymer Refine Detection Kits (DS9800, Leica Biosystems, Newcastle, UK) auf einer automatisierten Leica BOND-MAX Färbepattform (Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland) gemäß dem Herstellerprotokoll visualisiert. Ein weiterer Satz entparaffinierter Objektträger aus denselben Fällen wurde mit Picro Sirius Red (ab150681 - Picro Sirius Red Stain Kit (Connective Tissue Stain), Abcam, Cambridge, UK) gemäß dem Herstellerprotokoll gefärbt. Anschließend wurden die gefärbten Objektträger mit einem Panoramic SCAN II-Diascanner (3DHISTECH, Budapest, Ungarn) gescannt, der mit einem

apochromatischen 20x-Plan-Objektiv und einer 5-Megapixel-CMOS-Kamera auf einem 0,63x-C-Mount-Adapter ausgestattet war.



Abbildung 8 Pannoramic Scan II Slide Scanner

Die Gewebeschnitte werden mit einer Probenkassette in den Scanner platziert und als Whole Slide Image digital gespeichert.

Die im MRSX-Format erstellten vollständig digitalisierten Gewebeschnitte (WSI) hatten eine Auflösung von $0,2749 * 0,2749 \mu\text{m}/\text{Pixel}$.

3.2 CNN-Training

Von den 83 ausgewählten Fällen wurden 30 WSIs als Trainingsdaten für ein neuronales Netzwerk und 53 WSIs zur Bewertung der prognostischen Bedeutung des Biomarker-Kandidaten herangezogen. Die gesamten Objektträgerbilder wurden zunächst mit der Open-Source-Software QuPath 0.3.2 [8] in 320×320 -Pixel-Kacheln unterteilt, um ein geeignetes Eingabeformat für das neuronale Netzwerk YOLOv4 [11] zu erhalten. Die Annotation der Trainingsdaten erfolgte mit LabelImg [94], indem Rechtecke um die gewünschten Objekte gezogen und sogenannte Bounding Boxes gebildet wurden. Bei den

annotierten Objekten handelte es sich um schwach und stark gefärbte Fasern im Falle der Pikro-Siriusrot-Färbung sowie um MMP9-positive und -negative Zellen für die MMP9-Färbung.

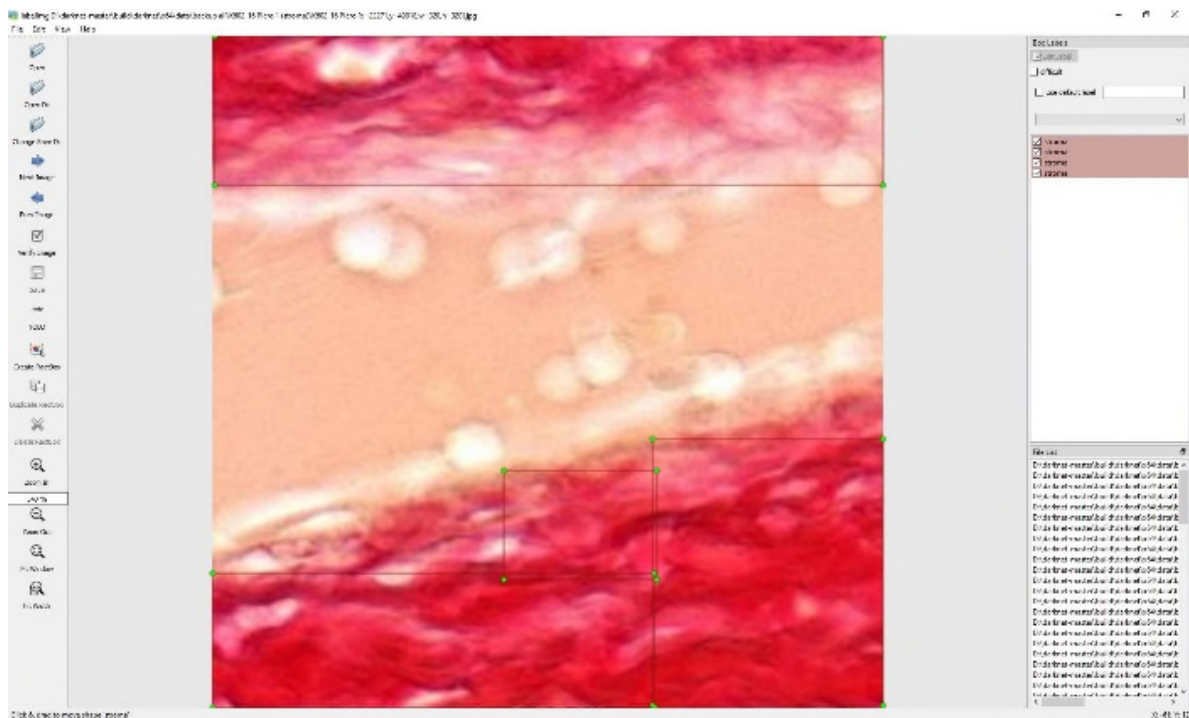
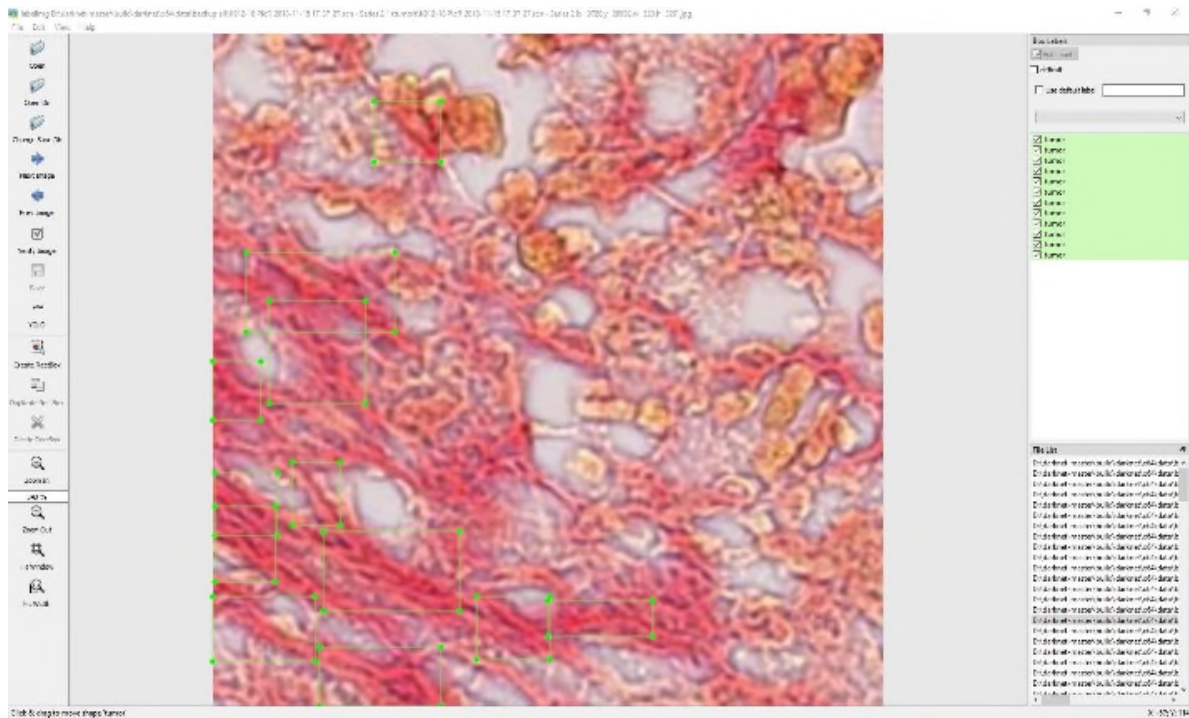


Abbildung 9 Annotationen mit Labellmg

Zum Training des Convolutional Neural Networks wurden zuvor erstellte Bilderkacheln in Form von Begrenzungsrahmen (Bounding Boxes) annotiert mit den Labels „PicLow“ für schwach gefärbte Fasern (oben) und „PicHigh“ für stark gefärbte Fasern (unten).

Das Transfer-Learning-basierte Training des Modells YOLOv4 wurde mit vortrainierten Gewichtungen (MS-COCO) durchgeführt [60]. Der vollständige Trainingsatz für Piko-Siriusrot umfasste 7134 Kacheln. Für MMP9 bestand der vollständige Trainingsatz aus 5788 Kacheln. Die Datensätze wurden in beiden Fällen (Piko-Siriusrot und MMP9) in einen Trainings- und einen Validierungssatz im Verhältnis 80:20 aufgeteilt.

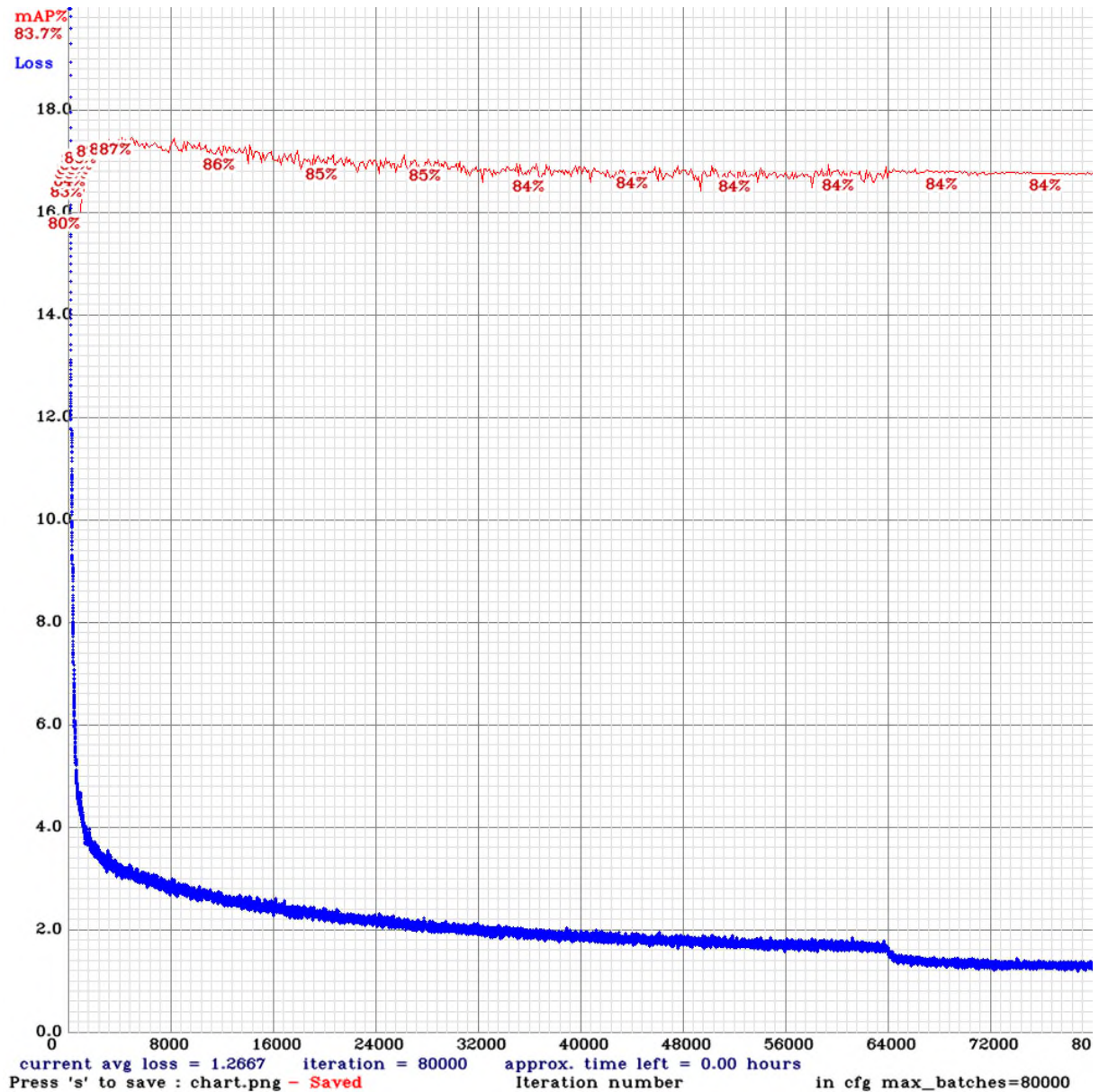


Abbildung 10 Training des YOLOv4-Netzwerks mit MMP9

Anhand der annotierten Kacheln wurde das Netzwerk zur Detektion der beiden Klassen trainiert. Die Trainingsoptimierung wurde mit dem Ziel der Minimierung des Loss Scores (blaue Kurve) durchgeführt und die zum Trainingszeitpunkt erreichte Detektionsleistung abgeglichen mit dem Validierungsdatensatz (mAP) als Lernfortschritt des Modells dargestellt. Es wurden die Gewichtungen nach 40000 Iterationen ausgewählt.

Die höchste erzielte durchschnittliche Genauigkeit (mean Average Precision, mAP) während des durchgeführten Trainings betrug 71,4 % für Pikro-Siriusrot und 87,6 % für die MMP9 gefärbten Schnitte.

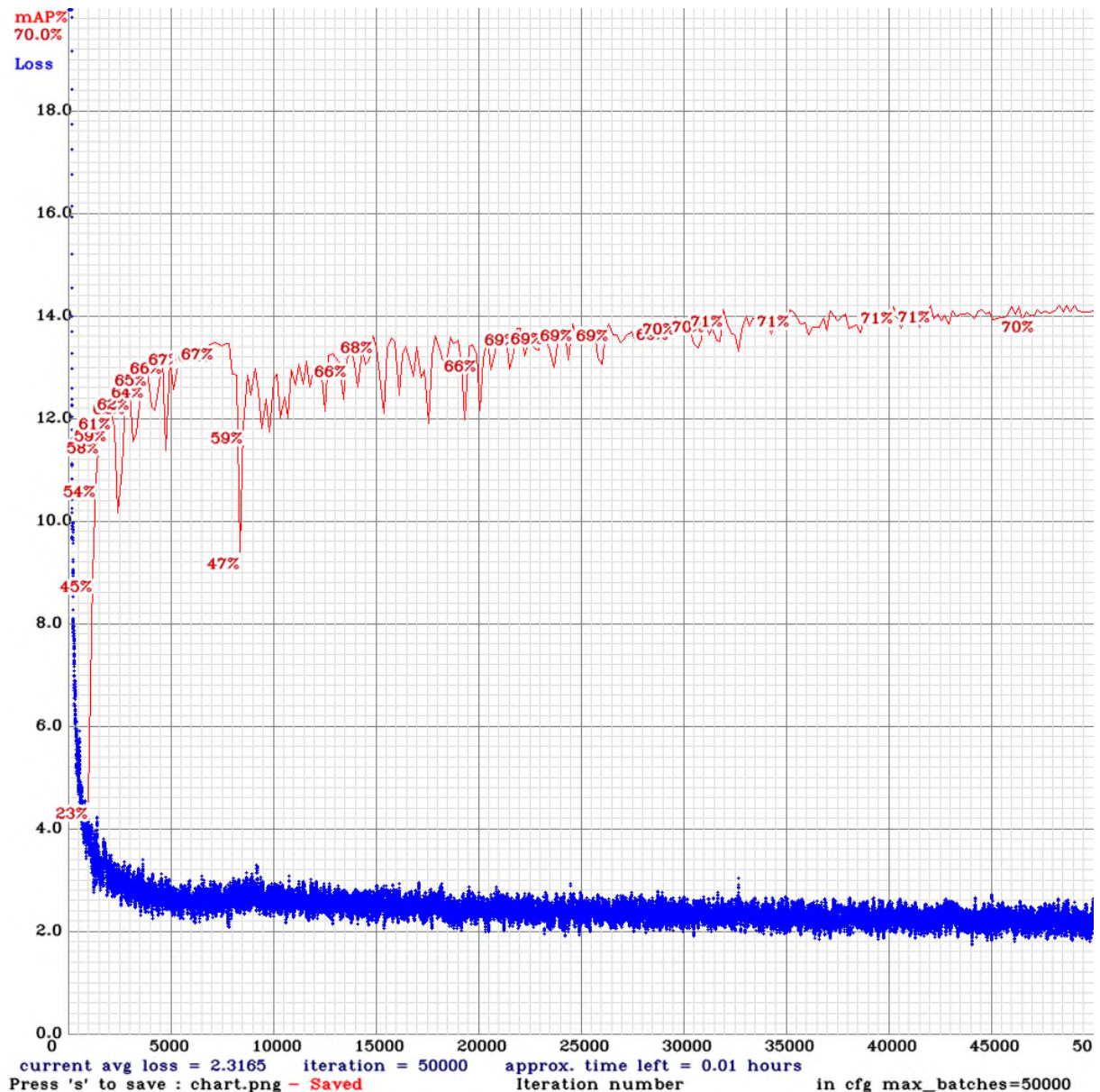


Abbildung 11 Training des YOLOv4-Netzwerks mit Pikro-Siriusrot

Anhand der annotierten Kacheln wurde das Netzwerk zur Detektion der beiden Klassen trainiert. Die Trainingsoptimierung wurde mit dem Ziel der Minimierung des Loss Scores (blaue Kurve) durchgeführt und die zum Trainingszeitpunkt erreichte Detektionsleistung (rote Kurve) als Erfolgsparameter dargestellt. Es wurden die Gewichtungen nach 42000 Iterationen ausgewählt.

Das trainierte neuronale Netzwerk wurde verwendet, um den potentiellen Biomarker als geeignete prognostische Instanz unter Verwendung der vorausgewählten 53 WSIs und

ihrer klinischen Daten mit 953.068 Kacheln aus Picro-Siriusrot und 409.406 Kacheln aus den MMP9 WSIs zu verifizieren.

3.3 Finale Analyse und Entwicklung der Methode zur Faser-Quantifizierung

Die trainierten YOLOv4-Modelle wurden zur Auswertung der Kacheln von 53 WSI verwendet, die für die endgültige Analyse bestimmt waren. Im Falle von MMP9 bestand das Ergebnis der Analyse aus den Koordinaten der Bounding Boxes - vom Netzwerk generierte Rahmen, die die erkannten Objekte umschließen. Für die weitere Analyse wurde die Anzahl der Bounding Boxes quantifiziert (gezählt), die den entdeckten (MMP9-positiven) Zellen pro WSI entsprachen. Im Falle der Picrosirius-Rot-Färbung waren die umschließenden erkannten Objekte schwach oder stark gefärbte Fasern. Da die Länge der detektierten Fasern innerhalb der einzelnen WSI und zwischen den WSI unterschiedlich war, wurde beschlossen, die Länge der von den Begrenzungsboxen eingeschlossenen Fasern und nicht die Anzahl der Boxen an sich zu quantifizieren. Zum Zeitpunkt der Erstellung des Manuskripts gab es keine etablierte Methode zur zuverlässigen Quantifizierung der Faserlängen auf WSIs. Es wurde daher beschlossen, die Diagonalen der Bounding Boxes der schwach gefärbten Fasern kumulativ (in Pixeln) zu messen.

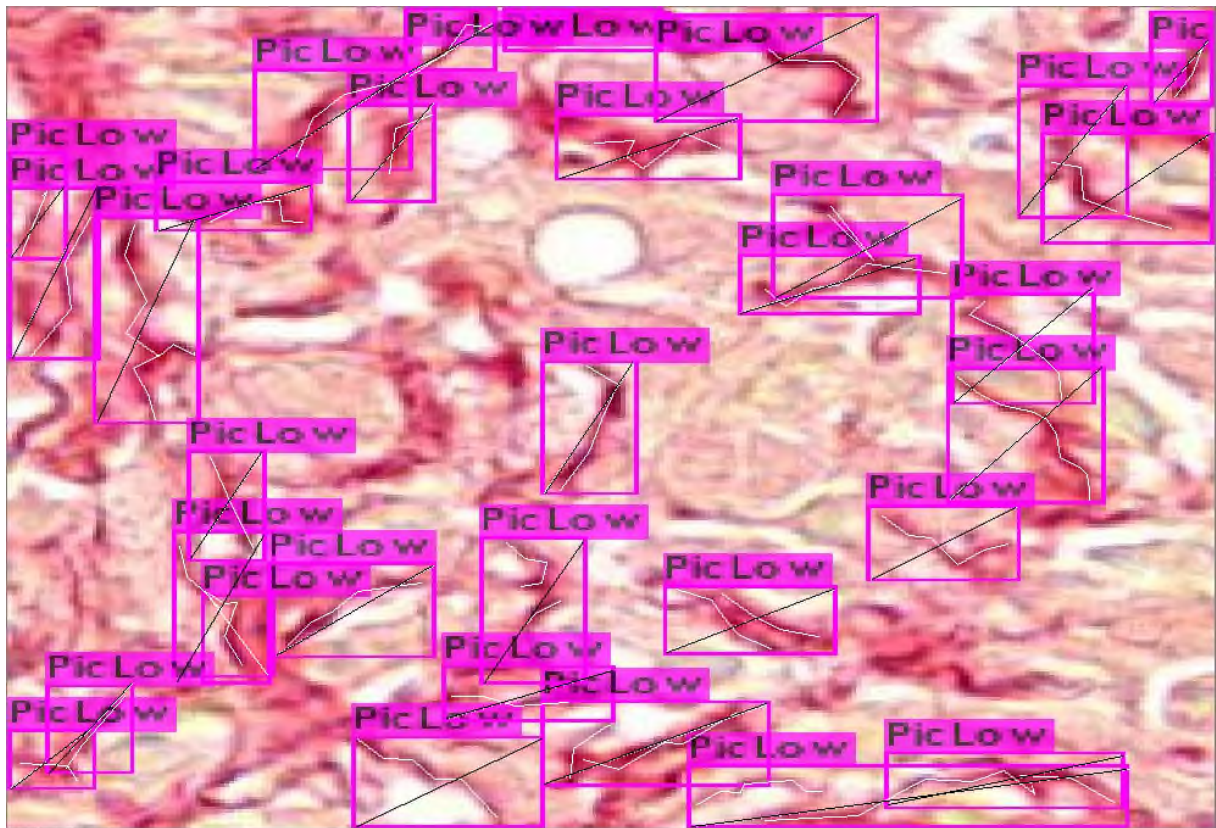


Abbildung 12 Bounding Box Diagonale und Ground Truth

Es erfolgte eine Messung der tatsächlichen Tumorfaserlängen (gelb) und der Diagonalen (schwarz) aus den korrespondierenden Bounding Boxes (magenta). Die Längenunterschiede zueinander wurden auf statistische Signifikanz geprüft, um die Diagonalen als geeignetes iteratives Maß zur Ground Truth bestimmen [67].

In einer Voruntersuchung wurden die tatsächlichen Faserlängen (Ground Truth) in Pixeln, gemessen mit dem Linealwerkzeug in QuPath, innerhalb der Bounding Boxes jeder Kachel mit der Länge der Diagonalen der Bounding Boxes verglichen. Jedes Paar von Faserlängen innerhalb einer Bounding Box und ihrer Diagonalenlänge (Abb. 12) wurde mit einem T-Test ($p > 0,05$) verglichen. Die Diagonale erwies sich somit als geeigneter Näherungswert für die Faserlänge. Nach abgeschlossenem Training mit dem gesamten Datensatz samt Validierungssatz an den annotierten Trainingsbildern wurden die finalen Gewichtungen für die Detektionen am Testdatensatz durchgeführt.

```

Darknet - darknet_detector test data/test.data yolo-obj.cfg yolov4.weights -dont_show -ext_output
[yolo] params: iou loss: ciou (4), iou_norm: 0.07, cls_norm: 1.00, scale_x_y: 1.20
140 route 136 -> 40 x 40 x 128
141 conv 256 3 x 3/ 2 40 x 40 x 128 -> 20 x 20 x 256 0.236 BF
142 route 141 126 -> 20 x 20 x 512
143 conv 256 1 x 1/ 1 20 x 20 x 512 -> 20 x 20 x 256 0.105 BF
144 conv 512 3 x 3/ 1 20 x 20 x 256 -> 20 x 20 x 512 0.944 BF
145 conv 256 1 x 1/ 1 20 x 20 x 512 -> 20 x 20 x 256 0.105 BF
146 conv 512 3 x 3/ 1 20 x 20 x 256 -> 20 x 20 x 512 0.944 BF
147 conv 256 1 x 1/ 1 20 x 20 x 512 -> 20 x 20 x 256 0.105 BF
148 conv 512 3 x 3/ 1 20 x 20 x 256 -> 20 x 20 x 512 0.944 BF
149 conv 21 1 x 1/ 1 20 x 20 x 512 -> 20 x 20 x 21 0.009 BF
150 yolo
[yolo] params: iou loss: ciou (4), iou_norm: 0.07, cls_norm: 1.00, scale_x_y: 1.10
151 route 147 -> 20 x 20 x 256
152 conv 512 3 x 3/ 2 20 x 20 x 256 -> 10 x 10 x 512 0.236 BF
153 route 152 116 -> 10 x 10 x1024
154 conv 512 1 x 1/ 1 10 x 10 x1024 -> 10 x 10 x 512 0.105 BF
155 conv 1024 3 x 3/ 1 10 x 10 x 512 -> 10 x 10 x1024 0.944 BF
156 conv 512 1 x 1/ 1 10 x 10 x1024 -> 10 x 10 x 512 0.105 BF
157 conv 1024 3 x 3/ 1 10 x 10 x 512 -> 10 x 10 x1024 0.944 BF
158 conv 512 1 x 1/ 1 10 x 10 x1024 -> 10 x 10 x 512 0.105 BF
159 conv 1024 3 x 3/ 1 10 x 10 x 512 -> 10 x 10 x1024 0.944 BF
160 conv 21 1 x 1/ 1 10 x 10 x1024 -> 10 x 10 x 21 0.004 BF
161 yolo
[yolo] params: iou loss: ciou (4), iou_norm: 0.07, cls_norm: 1.00, scale_x_y: 1.05
Total BFLOPS 35.249
avg_outputs = 289887
Allocate additional workspace_size = 52.43 MB
Loading weights from yolov4.weights...Done! Loaded 162 layers from weights-file

```

Abbildung 13 Detektion mit dem trainierten Netzwerk

Mithilfe des Trainings-Datensatz angepassten Gewichtungen aus dem Training wurde die Detektion der Kollagenfasern (Pikro-Siriusrot) bzw. der Zellen (MMP9) durchgeführt.

Die ausgegebenen Resultate wurden als txt.-Datei gespeichert. Zur Quantifizierung der Diagonalen aus den Bounding Boxes kam ein selbstgeschriebenes Programm in der Programmiersprache Python zum Einsatz. Hierdurch wurden die Maße der Begrenzungsrahmen aus der Ergebnisdatei isoliert, anhand des Pythagoras-Satzes dessen Diagonalen ermittelt und aufsummiert.

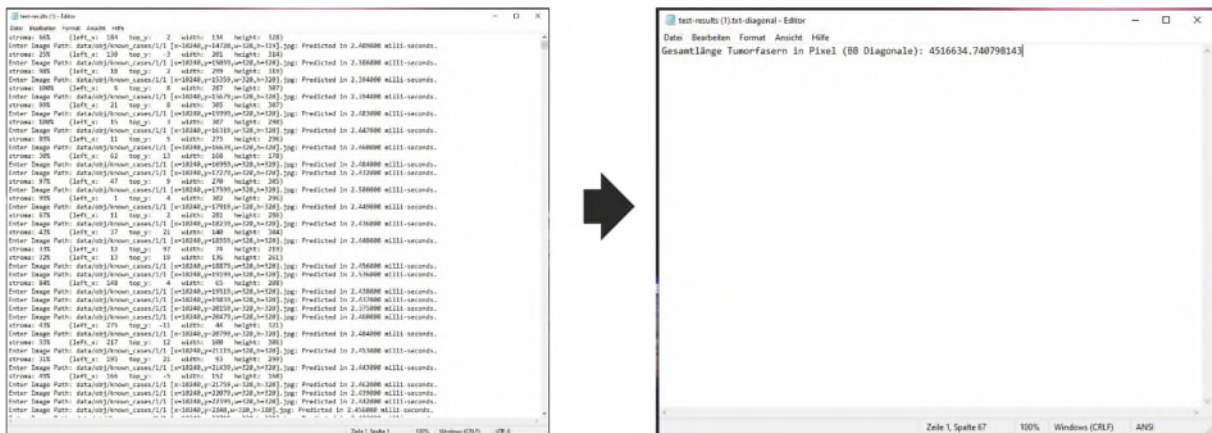
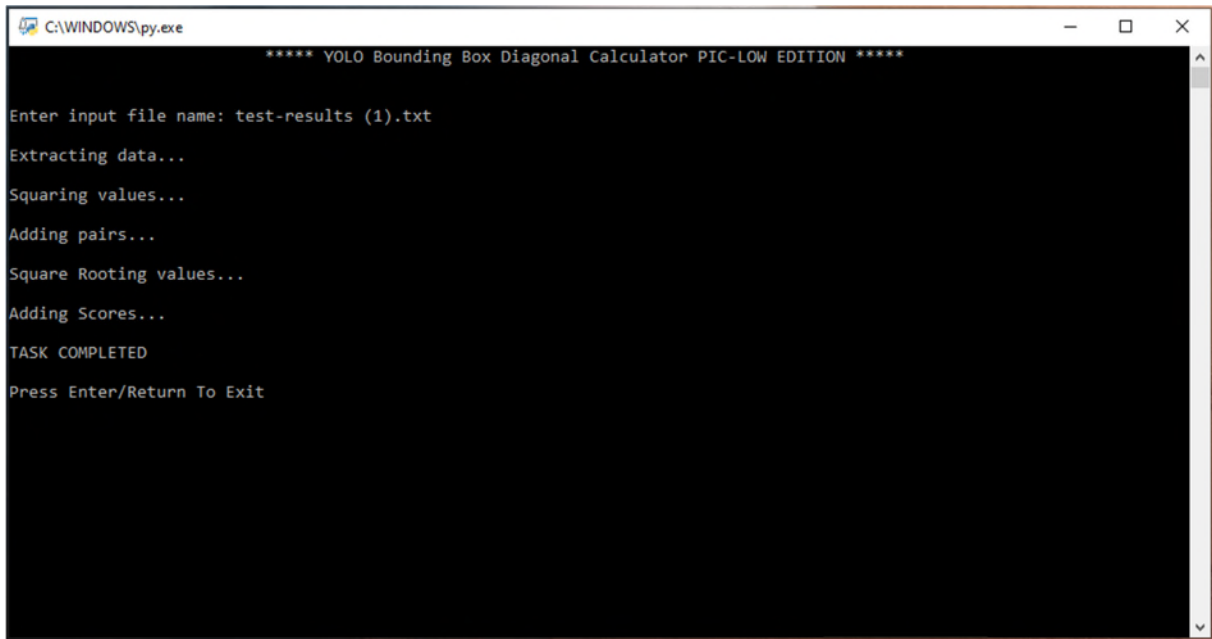


Abbildung 14 Bounding Box Diagonal Calculator

Nach Isolation der Begrenzungsrahmenmaße erfolgte nach dem Satz des Pythagoras die Quadrierung, paarweise Addition sowie die Berechnung der Quadratwurzel aus den Quadratsummen. Aus den entstandenen Diagonalen wurde zur Quantifizierung des Tumorkollagens schließlich die Gesamtlänge an Fasern gebildet.

Anhand der detektierten Tumorfasermenge wurde schließlich der prozentuelle Anteil am gesamten histologischen Schnitt ermittelt.

3.4 Statistik

Mit der Programmiersprache R [92] wurde eine parametrische ANOVA durchgeführt, um die Mittelwerte des prozentualen Anteils schwach gefärbter Fasern in den nach qPET-Schwellenwerten (D 1-4) stratifizierten Gruppen zu vergleichen. Es wurde eine logistische Regression mit einer binarisierten abhängigen Variable ($qPET \geq 1,3 = 1$, $qPET < 1,3 = 0$) und dem Prozentsatz der schwach gefärbten Fasern als unabhängige

Variable durchgeführt. Die qPET-Schwellenwerte wurden in den Ergebnissen als PET-positive Gruppe ($qPET \geq 1,3$) und als PET-negative Gruppe ($qPET < 1,3 = 0$) dargestellt. Zur Messung der Detektionsleistung für die Unterscheidung von klinisch günstigen und ungünstigen Fällen auf Grundlage des Prozentsatzes der schwach gefärbten Fasern wurde eine Grenzwertoptimierungskurve (ROC) und die Fläche unter der Kurve (AUC) der Regression erstellt. Die Anpassungsgüte des Modells wurde anhand des McFadden-Pseudo- R^2 und des Chi-Quadrat-Wertes (X^2) bewertet. Für die ROC wurde das Konfidenzintervall auf der Grundlage von Bootstrapping mit 2000 Replikationen bei einem Konfidenzniveau von 95 % erstellt. Eine AUC von 69 % oder mehr wurde als statistisch signifikant angesehen. Das Seaborn-Paket [101], Matplotlib [46] und das pROC-Paket [82] wurden für die grafische Darstellung verwendet. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet.

4 Ergebnisse

Die parametrische ANOVA zeigte, dass eine schwach monoton steigende Korrelation zwischen den Gruppen D1-D4 (Tabelle 3)

Tabelle 3 qPET-Gruppen

Gruppe	Anzahl	Alter in Jahren [Median (Umfang)]	Geschlecht (männlich/ weiblich)	qPET Bereich	qPET Mittelwert (SD)	PicLow Mittelwert in Prozent (SD)
D1	19	14 (3 – 17)	12/7	< 0.95	0.52 (0.41)	9.86 (4.91)
D2	15	14 (4 – 17)	11/4	0.95 – 1.3	1.12 (0.09)	12.41 (5.71)
qPET-Neg.	34	14 (3 – 17)	23/11	< 1.3	0.78 (0.43)	10.98 (5.35)
D3	12	15 (6 – 17)	9/3	1.3 – 3.0	1.64 (0.41)	14.09 (3.86)
D4	7	15 (10 – 17)	4/3	> 3	5.43 (3.43)	18.12 (6.15)
qPET-Pos.	19	15 (6 – 17)	13/6	> 1.3	3.04 (2.74)	15.58 (5.06)

Die Gruppen wurden anhand der qPET-Bereiche von D1 bis D4 erstellt. Die D-Gruppen wurden zusätzlich nach dem qPET-Schwellenwert 1,3 in eine qPET-negative (qPET-Neg.) und eine qPET-positive (qPET-Pos.) Gruppe zusammengefasst.

und dem prozentuellen Anteil der schwach gefärbten Kollagenfasern vorlag ($p = 0,0185$) (Abb. 15). Unter den vereinheitlichten qPET-Gruppen wiesen die qPET-positiven Fälle (ungünstige Prognose) durchschnittlich 18 % schwach gefärbte Fasern auf, die qPET-negativen Fälle (günstige Prognose) 10-14 %.

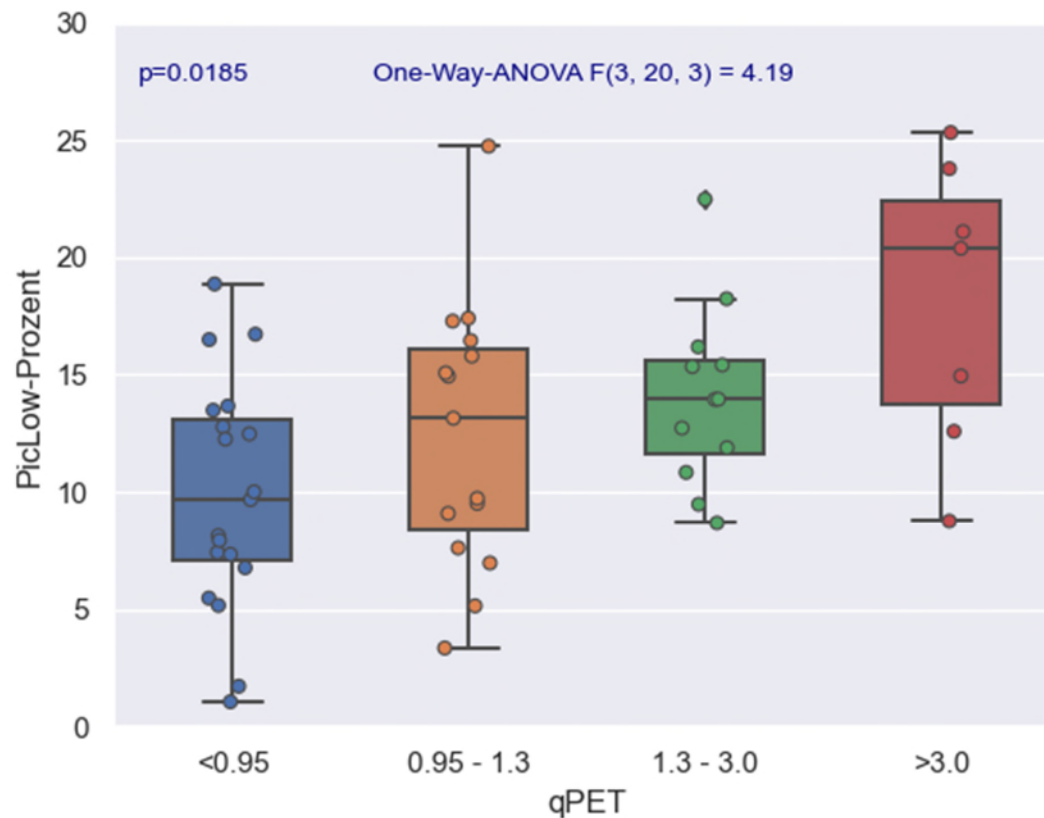


Abbildung 15 Boxplot und Ergebnisse der Varianzanalyse der 53 Fälle, gruppiert nach qPET-Messbereichen

Farbige Punkte = Einzelmessungen, schwarze Balken in den Boxen = Median der Gruppen, Boxen = oberes und unteres Quartil, Whisker = Datenextreme innerhalb des 1,5-fachen der Quartile. Es bestanden signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der qPET-Bereiche [67].

Auf Grundlage der logistischen Regression, die für die einheitlichen qPET-Gruppen durchgeführt wurde, ergaben sich Koeffizienten für den Mittelwert "PicLow-Prozent" mit einem Wert von 0,256 (Standardfehler: 1,39, $p=0,006$) und einem Achsenabschnitt von -4,14 (Standardfehler: 0,09, $p = 0,003$). Der McFadden-Pseudo- R^2 -Wert betrug 0,255 und der Chi-Quadrat-Wert (X^2) 11,698 mit $p = 0,0006$. Die ROC-Analyse (Receiver Operating Characteristic) ergab eine Fläche unter der Kurve (AUC) von 79,2 % mit einem Konfidenzintervall von 67,3 - 91,2 %, das mit 2000 Bootstraps ermittelt wurde (Abb. 16).

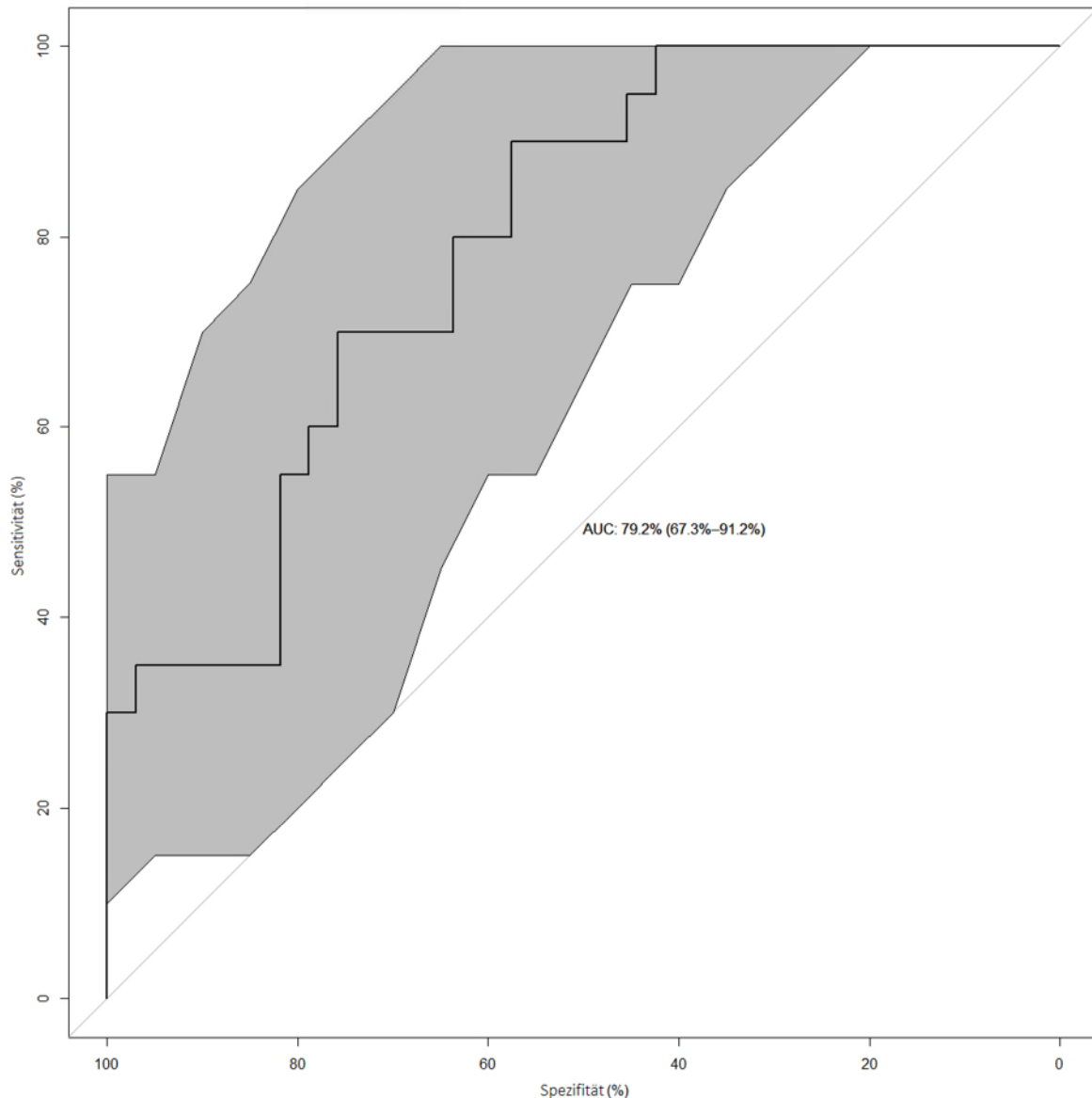


Abbildung 16 Receiver Operating Characteristic Curve

Receiver Operating Characteristic Curve (ROC; dicke abgestufte Linie) der logistischen Regression von PicLow auf qPET-Gruppen (negativ = D1, 2; positiv = D3, D4) [67]. Die schmale diagonale Linie als Begrenzung stellt einen Algorithmus dar, der nur zufallsbasierte Entscheidungen treffen würde (AUC 0,5). Die Fläche unter der Kurve (AUC) beträgt 79,2 % mit einem Konfidenzintervall von 67,3 - 91,2 % (graue Fläche), ermittelt durch Bootstrapping, bei einem Konfidenzniveau von 95 %, was auf eine zufriedenstellende Evaluationsleistung bei einem qPET-Schwellenwert von 1,3 hinweist [67].

Der Vergleich von qPET-negativen Fällen (D1, D2) und qPET-positiven Fällen (D3, D4) zeigte in den untersuchten Bereichen nicht nur Unterschiede in der Färbeintensität zwischen Fällen mit hohem Anteil an schwach gefärbten Fasern (qPET-positiv) und solchen mit nur wenigen schwach gefärbten, aber einem höheren Anteil an stark gefärbten Fasern (qPET-negativ). Darüber hinaus zeigten stark gefärbte Fasern eine homogenere,

glattere Textur mit gleichmäßiger hellroter Färbung, während schwach gefärbte Fasern eine ausgefranste Textur mit inhomogener Farbverteilung im rosa bis violetten Bereich aufwiesen. Darüber hinaus konnte auf den Piko-Siriusrot-Objekträgern analog zu den MMP9-WSI eine deutlich höhere Anzahl sowie Dichte von MMP9-positiven Zellen in unmittelbarer Nähe der schwach gefärbten Fasern beobachtet werden (Abb. 17).

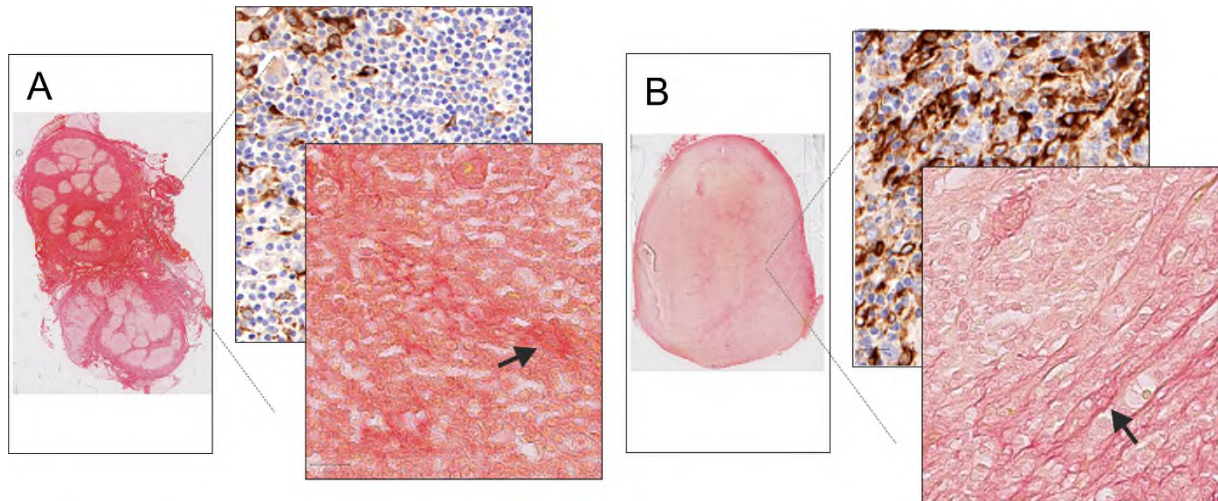


Abbildung 17 Zusammenhang zwischen der Menge mit Picosiriusrot schwach gefärbten Kollagenfasern und den qPET-Gruppen

A) Fall K620-16, ein Patient mit vollständiger Remission ($qPET < 1,3$). Detailbild Mitte oben: histologische MMP9-Färbung. Detailbild Mitte unten: Piko-Siriusrot-Färbung. Der schwarze Pfeil zeigt eine stark (hellrot) gefärbte Kollagenfaser. B) Fall K600-16, ein Patient mit Rezidiv ($qPET > 1,3$). Detailbild Mitte oben: MMP9-Färbung. Detailbild Mitte unten: Piko-Siriusrot-Färbung. Der schwarze Pfeil zeigt eine schwach (rosa-violett) gefärbte Kollagenfaser an [67].

5 Diskussion

Unsere Voruntersuchungen an einer begrenzten Anzahl von 9 Fällen ergab, dass Patienten mit ungünstigem Therapieansprechen und/oder Rückfall ein anderes mikroskopisches Erscheinungsbild der mit Piko-Siriusrot gefärbten Kollagenfasern aufwiesen als Fälle mit günstigem Therapieansprechen: Gewebeschnitte von Patienten mit schlechterem Therapie-Outcome wiesen höhere Mengen an Kollagenfasern mit schwächerer Färbung und ungleichmäßigem Farbverlauf auf als ihre Pendanten mit günstigerem Therapieergebnis. Die Ergebnisse der durchgeführten Analyse könnten potentiell durch einen nicht konsistenten oder ungenauen Algorithmus zur Erkennung von Fasern abgeschwächt werden. Ein entscheidender Schritt zur Vorbeugung besteht darin, das Trainingsmaterial so gut wie möglich zu annotieren [43, 104]. Die Annotation der Trainingsbilder hängt von der Wahrnehmung der Person ab, die das Training durchführt

und von dessen Fachwissen physiologische Kollagenfasern von abnormen Fasern zu unterscheiden. Diese Aufgabe wurde einem gut ausgebildeten Mediziner zuteil [18]. Die vorliegenden Ergebnisse waren statistisch signifikant in Bezug auf die unterschiedlichen Anteile an schwach gefärbten Piko-Siriusrot-Kollagenfasern, die mittels ANOVA bei Gruppierung der Fälle nach qPET-Werten festgestellt wurden. Außerdem ließ sich eine positive Korrelation zwischen den qPET-Werten und dem Anteil der schwach gefärbten Kollagenfasern darstellen. Der statistische Zusammenhang zwischen beiden Parametern erwies sich jedoch nicht als stark genug, um eine sichere Prognose zum klinischen Verlauf beim Hodgkin-Lymphom zu stellen. Allerdings könnte die festgestellte Wechselbeziehung einen für den Krankheitsverlauf relevanten Zusammenhang zwischen den Färbemustern der Fasern und dem klinischen Therapieverlauf der einzelnen Fälle darstellen. Dieser Zusammenhang könnte auf den Unterschieden im Kollagenstoffwechsel in den qPET-positiven Fällen beruhen, die mit einem schlechteren klinischen Ergebnis assoziiert sind: Eine zusätzliche Untersuchung ergab, dass das kollagenmodulierende Enzym MMP9 in den Fällen mit erhöhtem Anteil schwach gefärbter Fasern stärker exprimiert wurde als in Fällen mit einem verminderten Anteil solcher Fasern. In einer Studie korrelierte eine erhöhte MMP9-Expression mit einer reduzierten Gesamtüberlebenszeit bei 148 jungen Erwachsenen [15]. Andere Arbeiten wiesen auf MMP9 als Korrelat zu Kollagenveränderungen in Lymphomen hin [6, 13, 19]. MMP9 gehört zu einer Familie von Enzymen, die am Abbau der extrazellulären Matrix und infolgedessen an den Prozessen der Invasion sowie der Metastasierung vieler menschlicher Tumoren beteiligt sind [96]. Die vorliegenden Ergebnisse bestärken unsere Annahme, dass die schwach gefärbten Fasern keine Artefakte, sondern vielmehr das Ergebnis von biologischen Prozessen im Rahmen der Modulierung von Kollagenfasern darstellen. In der Literatur sind weitere Studien veröffentlicht, die Kollagenmodifikationen in Lymphomen mit dem klinischen Verlauf in Einklang bringen [4, 29]. Darüber hinaus sollte erwähnt werden, dass insbesondere das neuronale Netzwerk YOLOv4 bereits in anderen Bereichen, z. B. in der Textilindustrie, erfolgreich zur Erkennung von Fasern eingesetzt wurde, sodass dieses Netzwerk auch für die Erkennung von Kollagenfasern geeignet ist [24, 103]. Unsere Ergebnisse sind vielversprechend und deuten wahrscheinlich auf eine Korrelation zwischen dem Prozentsatz der schwach gefärbten Kollagenfasern auf Gewebeschnitten mit Piko-Siriusrot-Färbung und dem klinischen Therapieverlauf hin. Zur Bestärkung der Ergebnisse ist eine Bestätigung dieser Beobachtungen in einer größeren Kohorte erforderlich.

6 Zusammenfassung

Hintergrund

Der Morbus Hodgkin ist eine häufig vorkommende bösartige Erkrankung bei jugendlichen Patienten. Obwohl die meisten Patienten geheilt werden können, erleiden etwa 10-15 % der Patienten einen Rückfall oder weisen Therapieresistenzen auf. Darüber hinaus gibt es keine definitiven molekularen Prädiktoren für die frühzeitige Identifizierung von Patienten, bei denen ein hohes Risiko besteht, dass die Erstlinientherapie versagt. Ziel dieser Arbeit war es, ein auf Deep-Learning basierendes Modell für medizinische Bilder zu evaluieren, um klinische Ergebnisse vorherzusagen, die bei der adäquaten therapeutischen Entscheidungsfindung helfen könnten.

Methoden

83 FFPE-Proben von Patienten mit Morbus Hodgkin wurden nach den qPET-Scores der Patienten stratifiziert, mit Pikro-Siriusrot angefärbt und durch Scannen der gesamten Objektträger digitalisiert. Die so entstandenen Whole Slide Images wurden in Kacheln aufgeteilt und nach dem Grad der Färbung der Kollagenfasern mit Pikro-Siriusrot in zwei Klassen eingeteilt. Das neuronale Netz (YOLOv4) wurde dann mit den annotierten Daten trainiert. Das Training wurde mit 30 Fällen durchgeführt. Die prognostische Aussagekraft der schwach gefärbten Pikro-Siriusrot-Fasern wurde anhand von 53 Fällen evaluiert. Dasselbe neuronale Netz wurde mit MMP9-gefärbten Gewebeschnitten aus denselben Fällen trainiert und die Quantifizierungsergebnisse wurden mit der Variante aus den Pikro-Siriusrot-Fällen verglichen.

Ergebnisse

Die parametrische ANOVA ergab eine schwach monoton ansteigende Beziehung zwischen den qPET-Gruppen und dem Prozentsatz der schwach gefärbten Fasern ($p=0.0185$). Die qPET-positiven Fälle wiesen durchschnittlich 18% schwach gefärbte Fasern auf, die qPET-negativen Fälle 10%-14%. Die Detektionsleistung wies eine AUC von 0,79 auf.

Schlussfolgerungen

Pikro-Siriusrot zeigt deutliche Assoziationen als prognostische Messgröße für das Fortschreiten der Erkrankung bei Morbus Hodgkin unter Verwendung von Whole Slide Images, jedoch nicht stark genug, um als alleiniges prognostisches Maß geeignet zu sein.

7 Summary

Purpose

Hodgkin's disease is a common malignant disorder in adolescent patients. Although most patients are cured, approximately 10%–15% of patients experience a relapse or have resistant disease. Furthermore, there are no definitive molecular predictors for early identification of patients at high risk of treatment failure to first line therapy. The aim of this study was to evaluate the deep learning-based model of medical image object detection to predict clinical outcome that may help in appropriate therapeutic decisions.

Methods

Eighty-three FFPE biopsy specimens from patients with Hodgkin's disease were stratified according to the patient's qPET scores, stained with picosirius red dye and digitalized by whole slide image scanning. The resulting whole slide images were cut into tiles and annotated by two classes based on the collagen fibers' degree of coloring with picosirius red. The neural network (YOLOv4) was then trained with the annotated data. Training was performed with 30 cases. Prognostic power of the weakly stained picosirius red fibers was evaluated with 53 cases. The same neural network was trained with MMP9 stained tissue slides from the same cases and the quantification results were compared with the variant from the picosirius red cases.

Results

There was a weak monotonically increasing relationship by parametric ANOVA between the qPET groups and the percentages of weakly stained fibers ($p=.0185$). The qPET-positive cases showed an average of 18% of weakly stained fibers, and the qPET-negative cases 10%–14%. Detection performance showed an AUC of 0.79.

Conclusions

Picrosirius red shows distinct associations as a prognostic metric candidate of disease progression in Hodgkin's disease cases using whole slide images but not sufficiently as a sole prognostic device.

8 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1 Einteilung des Hodgkin-Lymphoms	- 3 -
Tabelle 2 Stadieneinteilung nach Ann Arbor	- 4 -
Tabelle 3 qPET-Gruppen	- 28 -
Abbildung 1 Faltung.....	- 10 -
Abbildung 2 Max-Pooling.....	- 12 -
Abbildung 3 Trainings-, Validierungs- und Test-Datensatz	- 13 -
Abbildung 4 Trainingsoptimierung	- 14 -
Abbildung 5 Lernvorgang des CNN	- 15 -
Abbildung 6 Begrenzungsrahmen	- 16 -
Abbildung 7 IoU.....	- 17 -
Abbildung 8 Panoramic Scan II Slide Scanner	- 19 -
Abbildung 9 Annotationen mit LabelImg	- 20 -
Abbildung 10 Training des YOLOv4-Netzwerks mit MMP9	- 21 -
Abbildung 11 Training des YOLOv4-Netzwerks mit Picro-Siriusrot	- 22 -
Abbildung 12 Bounding Box Diagonale und Ground Truth.....	- 24 -
Abbildung 13 Detektion mit dem trainierten Netzwerk.....	- 25 -
Abbildung 14 Bounding Box Diagonal Calculator	- 26 -
Abbildung 15 Boxplot und Ergebnisse der Varianzanalyse der 53 Fälle, gruppiert nach qPET-Messbereichen	- 29 -
Abbildung 16 Receiver Operating Characteristic Curve.....	- 30 -
Abbildung 17 Zusammenhang zwischen der Menge mit Picrosiriusrot schwach gefärbten Kollagenfasern und den qPET-Gruppen	- 31 -

9 Abkürzungsverzeichnis

EuroNet-PHL-C2	European Network-Paediatric Hodgkin Lymphoma Study Group; Second International Inter-Group Study for Classical Hodgkin Lymphoma in Children and Adolescents
qPET	quantitativer Positronen-Emissions-Tomographie Score
qPET-Neg.	qPET-Negativ
qPET-Pos.	qPET-Positiv
PicLow	Picosirius Low
PicHigh	Picosirius High
ISRT	Involved-Site-Radiotherapie
BEACOPP	Bleomycin, Etoposid, Adriamycin, Cyclophosphamid, Vincristin (Oncovin), Procarbazin
ABVD	Adriamycin, Bleomycin, Vinblastin, Dacarbacin
FDG	Fluorodesoxyglukose
SUV	Standard Uptake Value
MBP	Mediastinal Blood Pool
mRNA	messenger-RNA
CT	Computer-Tomographie
CNN	Convolutional Neural Network
ReLu	Rectified Linear Unit
SGD	Stochastic Gradient Descent
IoU	Intersection Over Union
FFPE	Formalin Fixed Paraffin Embedded
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
CMOS	Complementary Metal-Oxide-Semiconductor

WSI	Whole Slide Image
MMP9	Matrix metalloproteinase 9
MS COCO	Microsoft Common Objects in Context
mAP	Mean Average Precision
ROC	Receiver Operating Characteristic Curve
AUC	Area Under the Curve
Abb.	Abbildung
SD	Standardabweichung

10 Literaturverzeichnis

1. Affonso C, Rossi ALD, Vieira FHA, de Leon Ferreira ACP. Deep learning for biological image classification. *Expert Systems with Applications*. 2017;85:114-22.
2. Albawi S, Mohammed TA, Al-Zawi S, editors. Understanding of a convolutional neural network. 2017 International Conference on Engineering and Technology (ICET); 2017 21-23 Aug. 2017.
3. Albert S, Leblond CP. The distribution of the Feulgen and 2,4-dinitrophenylhydrazine reactions in normal, castrated, adrenalectomized and hormonally treated rats. *Endocrinology*. 1946;39(6):386-400.
4. Alfano M, Locatelli I, D'Arrigo C, Mora M, Vozzi G, De Acutis A, et al. Lysyl-Oxidase Dependent Extracellular Matrix Stiffness in Hodgkin Lymphomas: Mechanical and Topographical Evidence. *Cancers (Basel)*. 2022;14(1).
5. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershewald JE, Brookland RK, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2017;67(2):93-9.
6. Aoudjit F, Masure S, Opdenakker G, Potworowski EF, St-Pierre Y. Gelatinase B (MMP-9), but not its inhibitor (TIMP-1), dictates the growth rate of experimental thymic lymphoma. *Int J Cancer*. 1999;82(5):743-7.
7. Bach S, Binder A, Montavon G, Klauschen F, Muller KR, Samek W. On Pixel-Wise Explanations for Non-Linear Classifier Decisions by Layer-Wise Relevance Propagation. *PLoS One*. 2015;10(7):e0130140.
8. Bankhead P, Loughrey MB, Fernandez JA, Dombrowski Y, McArt DG, Dunne PD, et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep*. 2017;7(1):16878.
9. Beck K, Brodsky B. Supercoiled protein motifs: the collagen triple-helix and the alpha-helical coiled coil. *J Struct Biol*. 1998;122(1-2):17-29.
10. Bengio Y, Lee D-H, Bornschein J, Mesnard T, Lin Z. Towards biologically plausible deep learning. *arXiv preprint arXiv:150204156*. 2015.
11. Bochkovskiy A, Wang C-Y, Liao H-YM. YOLOv4: Optimal Speed and Accuracy of Object Detection. *arXiv preprint arXiv:200410934*. 2020.
12. Bottou L. Stochastic gradient learning in neural networks. *Proceedings of Neuro-Nimes*. 1991;91(8):12.

13. Bouchard F, Belanger SD, Biron-Pain K, St-Pierre Y. EGR-1 activation by EGF inhibits MMP-9 expression and lymphoma growth. *Blood*. 2010;116(5):759-66.
14. Cader FZ, Vockerodt M, Bose S, Nagy E, Brundler MA, Kearns P, et al. The EBV oncogene LMP1 protects lymphoma cells from cell death through the collagen-mediated activation of DDR1. *Blood*. 2013;122(26):4237-45.
15. Campos AH, Vassallo J, Soares FA. Matrix metalloproteinase-9 expression by Hodgkin-Reed-Sternberg cells is associated with reduced overall survival in young adult patients with classical Hodgkin lymphoma. *PLoS One*. 2013;8(9):e74793.
16. Chang KC, Chen PC, Chang Y, Wu YH, Chen YP, Lai CH, et al. Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 up-regulates cytokines and correlates with older age and poorer prognosis in Hodgkin lymphoma. *Histopathology*. 2017;70(3):442-55.
17. Chen D, Chen G, Jiang W, Fu M, Liu W, Sui J, et al. Association of the Collagen Signature in the Tumor Microenvironment With Lymph Node Metastasis in Early Gastric Cancer. *JAMA Surgery*. 2019;154(3):e185249-e.
18. Chollet F. Deep learning with Python. Manning Publications Company; 2017.
19. Citak EC, Oguz A, Karadeniz C, Akyurek N. Role of gelatinases (MMP-2 and MMP-9), TIMP-1, vascular endothelial growth factor (VEGF), and microvessel density on the clinicopathological behavior of childhood non-Hodgkin lymphoma. *Pediatr Hematol Oncol*. 2008;25(1):55-66.
20. Crocker J, Overton SP, Smith PJ. Type IV collagen in Hodgkin's disease. An immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol*. 1988;89(1):57-62.
21. Danielsen HE, Kildal W, Sudbo J. [Digital image analysis in pathology--exemplified in prostatic cancer]. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2000;120(4):479-88.
22. deAndres-Galiana EJ, Fernandez-Martinez JL, Luaces O, Del Coz JJ, Fernandez R, Solano J, et al. On the prediction of Hodgkin lymphoma treatment response. *Clin Transl Oncol*. 2015;17(8):612-9.
23. Diehl V, Franklin J, Pfreundschuh M, Lathan B, Paulus U, Hasenclever D, et al. Standard and increased-dose BEACOPP chemotherapy compared with COPP-ABVD for advanced Hodgkin's disease. *N Engl J Med*. 2003;348(24):2386-95.
24. Dlamini S, Kao C-Y, Su S-L, Jeffrey Kuo C-F. Development of a real-time machine vision system for functional textile fabric defect detection using a deep YOLOv4 model. *Textile Research Journal*. 2021;92(5-6):675-90.
25. Eich HT, Diehl V, Gorgen H, Pabst T, Markova J, Debus J, et al. Intensified chemotherapy and dose-reduced involved-field radiotherapy in patients with early

unfavorable Hodgkin's lymphoma: final analysis of the German Hodgkin Study Group HD11 trial. *J Clin Oncol*. 2010;28(27):4199-206.

26. Enblad G, Molin D, Glimelius I, Fischer M, Nilsson G. The potential role of innate immunity in the pathogenesis of Hodgkin's lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2007;21(5):805-23.

27. Engert A, Franklin J, Eich HT, Brillant C, Sehlen S, Cartoni C, et al. Two cycles of doxorubicin, bleomycin, vinblastine, and dacarbazine plus extended-field radiotherapy is superior to radiotherapy alone in early favorable Hodgkin's lymphoma: final results of the GHSG HD7 trial. *J Clin Oncol*. 2007;25(23):3495-502.

28. Engert A, Haverkamp H, Kobe C, Markova J, Renner C, Ho A, et al. Reduced-intensity chemotherapy and PET-guided radiotherapy in patients with advanced stage Hodgkin's lymphoma (HD15 trial): a randomised, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet*. 2012;379(9828):1791-9.

29. Esteve-Puig R, Climent F, Pineyro D, Domingo-Domenech E, Davalos V, Encuentra M, et al. Epigenetic loss of m1A RNA demethylase ALKBH3 in Hodgkin lymphoma targets collagen, conferring poor clinical outcome. *Blood*. 2021;137(7):994-9.

30. Evens AM, Kostakoglu L. The role of FDG-PET in defining prognosis of Hodgkin lymphoma for early-stage disease. *Blood*. 2014;124(23):3356-64.

31. Fang Y, Zhang H, Mao Q, Li Z. Land Cover Classification with GF-3 Polarimetric Synthetic Aperture Radar Data by Random Forest Classifier and Fast Super-Pixel Segmentation. *Sensors (Basel)*. 2018;18(7).

32. Farahani N, Pantanowitz L. Overview of Telepathology. *Surg Pathol Clin*. 2015;8(2):223-31.

33. Ferme C, Eghbali H, Meerwaldt JH, Rieux C, Bosq J, Berger F, et al. Chemotherapy plus involved-field radiation in early-stage Hodgkin's disease. *N Engl J Med*. 2007;357(19):1916-27.

34. Gajendran S, D M, Sugumaran V. Character level and word level embedding with bidirectional LSTM - Dynamic recurrent neural network for biomedical named entity recognition from literature. *J Biomed Inform*. 2020;112:103609.

35. Gallamini A, Fiore F, Sorasio R, Meignan M. Interim positron emission tomography scan in Hodgkin lymphoma: definitions, interpretation rules, and clinical validation. *Leuk Lymphoma*. 2009;50(11):1761-4.

36. Ghazvinian Zanjani F, Zinger S, Piepers B, Mahmoudpour S, Schelkens P, de With PHN. Impact of JPEG 2000 compression on deep convolutional neural networks for metastatic cancer detection in histopathological images. *J Med Imaging (Bellingham)*. 2019;6(2):027501.
37. Glorot X, Bordes A, Bengio Y. Deep Sparse Rectifier Neural Networks. In: Geoffrey G, David D, Miroslav D, editors. *Proceedings of the Fourteenth International Conference on Artificial Intelligence and Statistics; Proceedings of Machine Learning Research: PMLR*; 2011. p. 315--23.
38. Guo X, Wang J, Jin J, Chen H, Zhen Z, Jiang W, et al. High Serum Level of Soluble Programmed Death Ligand 1 is Associated With a Poor Prognosis in Hodgkin Lymphoma. *Transl Oncol*. 2018;11(3):779-85.
39. Hadzi-Pecova L, Petrusavska G, Panovska I, Stankovic S, Stojanovic A. Collagen Type IV as Independent Prognostic Factor for Non-Hodgkin's Lymphoma. *American Society of Hematology*; 2005.
40. Han B, Taha TM. Acceleration of spiking neural network based pattern recognition on NVIDIA graphics processors. *Appl Opt*. 2010;49(10):B83-91.
41. Harwood R, Grant ME, Jackson DS. Studies on the glycosylation of hydroxylysine residues during collagen biosynthesis and the subcellular localization of collagen galactosyltransferase and collagen glucosyltransferase in tendon and cartilage cells. *Biochem J*. 1975;152(2):291-302.
42. Hasenclever D, Kurch L, Mauz-Korholz C, Elsner A, Georgi T, Wallace H, et al. qPET - a quantitative extension of the Deauville scale to assess response in interim FDG-PET scans in lymphoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;41(7):1301-8.
43. Hawkins DM. The problem of overfitting. *J Chem Inf Comput Sci*. 2004;44(1):1-12.
44. Hazar B, Polat G, Seyrek E, Bagdatoglu O, Kanik A, Tiftik N. Prognostic value of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma. *Int J Clin Pract*. 2004;58(2):139-43.
45. Hinton GE, Osindero S, Teh Y-W. A Fast Learning Algorithm for Deep Belief Nets. *Neural Computation*. 2006;18(7):1527-54.
46. Hunter JD. Matplotlib: A 2D Graphics Environment. *Computing in Science & Engineering*. 2007;9(03):90-5.
47. Iizasa T, Chang H, Suzuki M, Otsuji M, Yokoi S, Chiyo M, et al. Overexpression of Collagen XVIII Is Associated with Poor Outcome and Elevated Levels of Circulating

Serum Endostatin in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research*. 2004;10(16):5361.

48. Jeyaraj PR, Samuel Nadar ER. Computer-assisted medical image classification for early diagnosis of oral cancer employing deep learning algorithm. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2019;145(4):829-37.

49. Jimenez G, Racoceanu D. Deep Learning for Semantic Segmentation vs. Classification in Computational Pathology: Application to Mitosis Analysis in Breast Cancer Grading. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019;7:145.

50. Josting A, Muller H, Borchmann P, Baars JW, Metzner B, Dohner H, et al. Dose intensity of chemotherapy in patients with relapsed Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2010;28(34):5074-80.

51. Karttunen T, Alavaikko M, Apaja-Sarkkinen M, Autio-Harminen H. An immunohistochemical study of laminin, type-IV collagen and type-III pN-collagen with relation to reticular fibres in Hodgkin's disease. *Int J Cancer*. 1988;41(1):52-8.

52. Kellokumpu S, Sormunen R, Heikkinen J, Myllyla R. Lysyl hydroxylase, a collagen processing enzyme, exemplifies a novel class of lumenally-oriented peripheral membrane proteins in the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem*. 1994;269(48):30524-9.

53. Kim H, Jeon J, Han YJ, Joo Y, Lee J, Lee S, et al. Convolutional Neural Network Classifies Pathological Voice Change in Laryngeal Cancer with High Accuracy. *J Clin Med*. 2020;9(11).

54. Kornfeld R, Kornfeld S. Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. *Annu Rev Biochem*. 1985;54:631-64.

55. Krizhevsky A, Sutskever I, Hinton G, editors. Imagenet classification with deep convolutional networks. *Proceedings of the Conference Neural Information Processing Systems (NIPS)*.

56. Kuittinen O, Soini Y, Turpeenniemi-Hujanen T. Diverse role of MMP-2 and MMP-9 in the clinicopathological behavior of Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol*. 2002;69(4):205-12.

57. Kuruvilla J, Ramchandren R, Santoro A, Paszkiewicz-Kozik E, Gasiorowski R, Johnson NA, et al. Pembrolizumab versus brentuximab vedotin in relapsed or refractory classical Hodgkin lymphoma (KEYNOTE-204): an interim analysis of a multicentre, randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2021;22(4):512-24.

58. Lapiere CM, Lenaers A, Kohn LD. Procollagen peptidase: an enzyme excising the coordination peptides of procollagen. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1971;68(12):3054-8.

59. LeCun Y, Bengio Y, Hinton G. Deep learning. *nature*. 2015;521(7553):436-44.
60. Lin TY, Maire M, Belongie S, Hays J, Perona P, Ramanan D, et al. Microsoft COCO: Common Objects in Context. *Computer Vision - Eccv 2014, Pt V*. 2014;8693:740-55.
61. Liu TY, Wu SJ, Huang MH, Lo FY, Tsai MH, Tsai CH, et al. EBV-positive Hodgkin lymphoma is associated with suppression of p21cip1/waf1 and a worse prognosis. *Mol Cancer*. 2010;9:32.
62. Lo AC, Dieckmann K, Pelz T, Gallop-Evans E, Engenhardt-Cabillic R, Vordermark D, et al. Pediatric classical Hodgkin lymphoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2021;68 Suppl 2:e28562.
63. Ma L, Lu G, Wang D, Wang X, Chen ZG, Muller S, et al. Deep Learning based Classification for Head and Neck Cancer Detection with Hyperspectral Imaging in an Animal Model. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng*. 2017;10137.
64. McCulloch WS, Pitts W. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *The bulletin of mathematical biophysics*. 1943;5(4):115-33.
65. Meignan M, Gallamini A, Meignan M, Gallamini A, Haioun C. Report on the First International Workshop on Interim-PET-Scan in Lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2009;50(8):1257-60.
66. Moskowitz CH, Nademanee A, Masszi T, Agura E, Holowiecki J, Abidi MH, et al. Brentuximab vedotin as consolidation therapy after autologous stem-cell transplantation in patients with Hodgkin's lymphoma at risk of relapse or progression (AETHERA): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2015;385(9980):1853-62.
67. Motmaen I, Sereda S, Brobeil A, Shankar A, Braeuninger A, Hasenclever D, et al. Deep-learning based classification of a tumor marker for prognosis on Hodgkin's disease. *Eur J Haematol*. 2023.
68. Myllyharju J. Intracellular Post-Translational Modifications of Collagens. In: Brinckmann J, Notbohm H, Müller PK, editors. *Collagen: Primer in Structure, Processing and Assembly*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2005. p. 115-47.
69. Natal RdA, Paiva GR, Pelegati VB, Marengo L, Alvarenga CA, Vargas RF, et al. Exploring Collagen Parameters in Pure Special Types of Invasive Breast Cancer. *Scientific Reports*. 2019;9(1):7715.

70. Niitsu N, Umeda M. [Type III procollagen N-terminal peptide and type IV collagen-7S level in the serum and BALF of patients with non-Hodgkin's lymphoma before and after chemotherapy]. *Rinsho Ketsueki*. 1994;35(11):1267-75.
71. Oldberg A, Antonsson P, Lindblom K, Heinegard D. A collagen-binding 59-kd protein (fibromodulin) is structurally related to the small interstitial proteoglycans PG-S1 and PG-S2 (decorin). *EMBO J*. 1989;8(9):2601-4.
72. Pollack JB. Connectionism: past, present, and future. *Artificial Intelligence Review*. 1989;3(1):3-20.
73. Poppema S, Potters M, Emmens R, Visser L, van den Berg A. Immune reactions in classical Hodgkin's lymphoma. *Semin Hematol*. 1999;36(3):253-9.
74. Qaiser T, Pugh M, Margielewska S, Hollows R, Murray P, Rajpoot N, editors. *Digital Tumor-Collagen Proximity Signature Predicts Survival in Diffuse Large B-Cell Lymphoma2019*; Cham: Springer International Publishing.
75. Rada JA, Cornuet PK, Hassell JR. Regulation of corneal collagen fibrillogenesis in vitro by corneal proteoglycan (lumican and decorin) core proteins. *Exp Eye Res*. 1993;56(6):635-48.
76. Ramshaw JA, Shah NK, Brodsky B. Gly-X-Y tripeptide frequencies in collagen: a context for host-guest triple-helical peptides. *J Struct Biol*. 1998;122(1-2):86-91.
77. Rathore S, Iftikhar MA, Chaddad A, Niazi T, Karasic T, Bilello M. Segmentation and Grade Prediction of Colon Cancer Digital Pathology Images Across Multiple Institutions. *Cancers (Basel)*. 2019;11(11).
78. Redmon J, Divvala S, Girshick R, Farhadi A, editors. *You Only Look Once: Unified, Real-Time Object Detection*. 2016 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR); 2016 27-30 June 2016.
79. Redmon J, Farhadi A, editors. *YOLO9000: better, faster, stronger*. Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition; 2017.
80. Redmon J, Farhadi A. *Yolov3: An incremental improvement*. arXiv preprint arXiv:180402767. 2018.
81. Reilly JT, Nash JR, Mackie MJ, McVerry BA. Distribution of fibronectin and laminin in normal and pathological lymphoid tissue. *J Clin Pathol*. 1985;38(8):849-54.
82. Robin X, Turck N, Hainard A, Tiberti N, Lisacek F, Sanchez JC, et al. pROC: an open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves. *BMC Bioinformatics*. 2011;12:77.

83. Rosenblatt F. The perceptron: a probabilistic model for information storage and organization in the brain. *Psychological review*. 1958;65(6):386-408.
84. Scherer D, Müller A, Behnke S, editors. Evaluation of pooling operations in convolutional architectures for object recognition. *International conference on artificial neural networks*; 2010: Springer.
85. Schmitz N, Pfistner B, Sextro M, Sieber M, Carella AM, Haenel M, et al. Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *Lancet*. 2002;359(9323):2065-71.
86. Schulte M, Brecht-Krauss D, Heymer B, Guhlmann A, Hartwig E, Sarkar MR, et al. Grading of tumors and tumorlike lesions of bone: evaluation by FDG PET. *J Nucl Med*. 2000;41(10):1695-701.
87. Simonyan K, Zisserman A. Very Deep Convolutional Networks for Large-Scale Image Recognition. *arXiv e-prints*. 2014:arXiv:1409.556.
88. Skoetz N, Trelle S, Rancea M, Haverkamp H, Diehl V, Engert A, et al. Effect of initial treatment strategy on survival of patients with advanced-stage Hodgkin's lymphoma: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2013;14(10):943-52.
89. Stamper HB, Jr., Woodruff JJ. Lymphocyte homing into lymph nodes: in vitro demonstration of the selective affinity of recirculating lymphocytes for high-endothelial venules. *J Exp Med*. 1976;144(3):828-33.
90. Sureda A, Robinson S, Canals C, Carella AM, Boogaerts MA, Caballero D, et al. Reduced-intensity conditioning compared with conventional allogeneic stem-cell transplantation in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma: an analysis from the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol*. 2008;26(3):455-62.
91. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-90.
92. Team RC. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2012. 2021.
93. Thillaikkarasi R, Saravanan S. An Enhancement of Deep Learning Algorithm for Brain Tumor Segmentation Using Kernel Based CNN with M-SVM. *J Med Syst*. 2019;43(4):84.

94. Tzutalin D. LabelImg Is a Graphical Image Annotation Tool and Label Object Bounding Boxes in Images. URL <https://github.com/tzutalin/labelImg>. 2015.
95. Vellinga TT, den Uil S, Rinkes IHB, Marvin D, Ponsioen B, Alvarez-Varela A, et al. Collagen-rich stroma in aggressive colon tumors induces mesenchymal gene expression and tumor cell invasion. *Oncogene*. 2016;35(40):5263-71.
96. Vihinen P, Kahari VM. Matrix metalloproteinases in cancer: prognostic markers and therapeutic targets. *Int J Cancer*. 2002;99(2):157-66.
97. Vockerodt M, Cader FZ, Shannon-Lowe C, Murray P. Epstein-Barr virus and the origin of Hodgkin lymphoma. *Chin J Cancer*. 2014;33(12):591-7.
98. von Tresckow B, Plutschow A, Fuchs M, Klimm B, Markova J, Lohri A, et al. Dose-intensification in early unfavorable Hodgkin's lymphoma: final analysis of the German Hodgkin Study Group HD14 trial. *J Clin Oncol*. 2012;30(9):907-13.
99. von Wasielewski S, Franklin J, Fischer R, Hubner K, Hansmann ML, Diehl V, et al. Nodular sclerosing Hodgkin disease: new grading predicts prognosis in intermediate and advanced stages. *Blood*. 2003;101(10):4063-9.
100. W. Böcker HD, P.U. Heitz, H. Moch, G. Höfler, H. Kreipe. *Pathologie: Urban & Fischer in Elsevier*; 2012.
101. Waskom M. seaborn: statistical data visualization. *J. Open Source Softw*. 6 (60), 3021 (2021).
102. Younes A, Bartlett NL, Leonard JP, Kennedy DA, Lynch CM, Sievers EL, et al. Brentuximab vedotin (SGN-35) for relapsed CD30-positive lymphomas. *N Engl J Med*. 2010;363(19):1812-21.
103. Zhang C, Li T, Zhang W. The Detection of Impurity Content in Machine-Picked Seed Cotton Based on Image Processing and Improved YOLO V4. *Agronomy*. 2021;12(1).
104. Zhang WL, Li RJ, Zeng T, Sun Q, Kumar S, Ye JP, et al. Deep Model Based Transfer and Multi-Task Learning for Biological Image Analysis. *Kdd'15: Proceedings of the 21st Acm Sigkdd International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining*. 2015:1475-84.

11 Anhang

Publikationsverzeichnis

Motmaen I, Sereda S, Brobeil A, Shankar A, Braeuninger A, Hasenclever D, et al. Deep-learning based classification of a tumor marker for prognosis on Hodgkin's disease. Eur J Haematol. 2023;111(5):722-728.



Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 06097 Halle (Saale)

Herrn Prof. Dr. D. Körholz
Universitätsklinik und Poliklinik
für Kinder- und Jugendmedizin
Universitätsklinikum Halle (Saale)
Ernst-Grube-Straße 40
06120 Halle

Ihre Zeichen

Ihr Schreiben vom

Unsere Zeichen

Datum

hm-di

01.07.2015

Postanschrift:
06097 Halle (Saale)

EudraCT-Nr.: 2012-004053-88

**Titel: Second International Inter-Group Study for Classical Hodgkin's
Lymphoma in Children and Adolescents.**

**Sponsor: Deutsche Krebshilfe e.V./ Dr. Mildred Scheel
Foundation**

Internes Aktenzeichen: 2015-12

Hausanschrift:
Magdeburger Straße 16
06112 Halle (Saale)

Geschäftsstelle:
Tel 0345 557-4476
Fax 0345 557-4477
E-Mail ethik-kommission@uk-halle.de
Internet: www.medizin.uni-halle.de/

Sehr geehrter Herr Professor Körholz,

hiermit bestätige ich Eingang und Kenntnisnahme Ihres Schreibens vom
23.06.2015 sowie der folgenden Dokumente:

- E-Mail von Prof. Dr. Körholz an Frau Neugebauer vom 22.05.2015,
18.05 Uhr und 17.33 Uhr,
- Antwortschreiben bezüglich AIO Studien gGmbH von Frau Neuge-
bauer vom 27.05.2015, 9.45 Uhr,
- E-Mail von Frau Neugebauer vom 22.06.2015, 16.43 Uhr inklusive
Versicherungsschein,
- Patienteninformation für Sorgeberechtigte Version final vom
19.05.2015 mit markierten Änderungen,
- Patienteninformation für Patienten zwischen 15 und 18 Jahren Ver-
sion final 1.0 vom 19.05.2015.

Bankverbindung:
Deutsche Bundesbank,
Filiale Magdeburg
IBAN:
DE3781000000080001530
BIC:
MARKDEF1810

Steuernummer: 111/144/02550
(Finanzamt Halle-Nord)

Die aufschiebende Bedingung des Bewertungsschreibens vom
11.05.2015 ist erfüllt. Die Ethik-Kommission erteilt eine zustimmende Be-
wertung.

Mit freundlichen Grüßen


Prof. Dr. med. Hermann M. Behre
Vorsitzender der Ethik-Kommission

Nachrichtlich:
Beteiligte Ethik-Kommissionen
Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bonn

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinem Betreuer Prof. Dr. Stefan Gattenlöhner für das Bereitstellen sowie der Möglichkeit zur Realisierung dieses Themas danken. Seine stets verständnisvolle Art und Weise erleichterte mir die Durchführung dieser Arbeit außerordentlich.

Außerdem danke ich Herrn Dr. Sergej Sereda für die allseits vorhandene Unterstützung sowie Betreuung bei Fragen unter anderem zur Methodik und Auswertung im Rahmen der Arbeit.

Zusätzlich möchte ich mich bei Herrn Dr. Alexander Brobeil für die fortdauernde Hilfe bei Rückfragen im Rahmen dieser Arbeit bedanken.

Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Ort/Datum

Unterschrift