Fachbereich Medizintechnik und Technomathematik Studiengang Biomedizinische Technik

Bachelorarbeit

Konzeption einer Methodik zur makroskopischen Bestimmung des intramuskulären Bindegewebes

> Lukas Arndt Matr.-Nr.: 3185606

Betreuer: Prof. Dr. rer. nat. Ilya Digel Institut für Bioengineering FH Aachen

Externer Betreuer:Prof. Dr. RittwegerInstitut für Luft- und RaumfahrtmedizinDeutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt

4. April 2020

In Zusammenarbeit mit: Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt, 51147 Köln

Erklärung

Erklärung

Ich versichere hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die im Literaturverzeichnis angegebenen Quellen benutzt habe.

Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder noch nicht veröffentlichten Quellen entnommen sind, sind als solche kenntlich gemacht.

Die Zeichnungen oder Abbildungen in dieser Arbeit sind von mir selbst erstellt worden oder mit einem entsprechenden Quellennachweis versehen.

Diese Arbeit ist in gleicher oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen Prüfungsbehörde eingereicht worden.

Aachen, 4. April 2020

Inhalt

1.	Einleitung					
1.1. Einfuhrung und Aufgabenstellung 1.2. Vorgehensweise						
2.	Gru	rundlagen				
	2.1.	Aufbau der Skelettmuskulatur	7			
	2.2.	Intramuskuläres Bindegewebe	8			
	2.3.	Bildanalyse mit optischer Methode	8			
3.	Mate	erial und Methoden der makroskopischen Analyse	10			
	3.1.	Proben	10			
	3.2.	Optische Methode	12			
		3.2.1. ISO	12			
		3.2.2. Blende	13			
		3.2.3. Verschlusszeit	14			
		3.2.4. Digital single-lens reflex (DSLR) versus Digital single-lens mirrorless	15			
		(DSLM)	10			
	33	Teststand	18			
	3.4	Softwareanalyse	20			
	0	3.4.1. <i>ilastik</i>	21			
		3.4.2. <i>R</i> Routine	24			
	3.5.	Parameterfindung der Segmentierung	31			
	3.6.	Methodenvergleich <i>ilastik</i> und <i>R</i>	35			
	3.7.	. Statistische Analyse des Methodenvergleichs				
4.	Erge	ebnisse, mögliche Fehlerquellen und Fazit	39			
	4.1.	Ergebnisse	39			
	4.2.	Mögliche Fehlerquellen	44			
	4.3.	Fazit	48			
	4.4.	Ausblick	48			
Qu	lellen	verzeichnis	54			
Abkürzungsverzeichnis						
Abbildungsverzeichnis						
Tabellenverzeichnis 59						

An	Anhang				
Α.	Standard Operating Procedure	60			
Β.	Code	62			
	B.1. HSV Segmentierung	62			
	B.2. RGB zu HSV Konvertierung	67			
	B.3. Histogramm Analyse	69			
	B.4. Bland-Altman-Plot	71			
C.	Tabellen	73			
	C.1. Rindermuskel Zuordnung	73			
	C.2. Gezählte Pixel	75			

1. Einleitung

1. Einleitung

1.1. Einführung und Aufgabenstellung

"Der Körper kann große Lasten tragen, wenn man ihn strafft. Mit der Seele ist es ebenso." (Michel de Montaigne, 1533-1592).

Um diese Lasten tragen zu können, dient dem Menschen sein Skelett und seine Muskulatur, die sich über die Jahre der Evolution gebildet haben. Im Alter eines Menschenlebens erschwächen diese Bestandteile oftmals. Jedoch zu völlig unterschiedlichen Zeitpunkten. Das Erbringen verminderter Leistungen kann unter anderem mit Krankheit, Altersschwäche oder Fremdeinwirkungen zusammenhängen. Verantwortlich für die strukturelle Stabilität der Muskulatur ist das Binde- oder auch Fasziengewebe. Bindegewebe ist in der Medizin eine nicht eindeutig definierte Einheit des menschlichen Körpers. Forscher sind sich allerdings einig, dass im medizinischen Kontext das Bindegewebe jede Struktur im menschlichen Körper bedeckt, welche strukturelle Kontinuität schafft (Bordoni u. a., 2019).

Das Fasziengewebe hat eine omnipräsente Verteilung im Körpersystem; es ist in der Lage die Blutbahn, das Knochengewebe, das meningeale Gewebe, die Organe und die Skelettmuskulatur zu umhüllen, zu durchdringen, zu unterstützen und zu bilden. Die Faszien bilden verschiedene, voneinander abhängige Schichten mit mehreren Tiefen, von der Haut bis zum Periost, die eine dreidimensionale mechano-metabolische Struktur bilden (Bordoni u. a., 2019).

Die Skelettmuskulatur besteht in erster Linie aus kontraktilem Material. Dennoch ist der Muskel eine Zusammensetzung aus Bindegewebe, Blutgefäßen, Nerven und dem eben genannten kontraktilen Material. Diese weiteren und im Bezug auf ihre relative Masse eher "kleinen" Gewebearten können die Muskelfunktion stark beeinflussen (Gillies u. a., 2011).

1.2. Vorgehensweise

In dieser Arbeit soll eine Methodik entworfen werden, mit der das intramuskuläre Bindegewebe durch eine makroskopische Analyse bestimmt werden kann. Dazu werden in Kapitel 2 die Grundlagen der biologischen Beschaffenheit der Skelettmuskulatur und des intramuskulären Bindegewebes bzw. der extrazellulären Matrix erklärt. Mit Hilfe der vorgestellten

1. Einleitung

Methodik soll es möglich sein, eine genauere Vorstellung davon zu bekommen, welchen Anteil das Bindegewebe an der Muskelfunktion und -struktur hat. Um die Methodik zu entwickeln wurde in Kooperation mit der Abteilung der Weltraumphysiologie des Deutschen Luft- und Raumfahrtzentrums in Kapitel 3 ein Teststand entworfen, der eine makroskopische Analyse der Muskeln mit sichtbarem Licht ermöglicht. Anschließend wurden Software Routinen entwickelt, um eine computergestützte Messauswertung der Analyse vorzunehmen. Zur Einordnung der benutzten Methoden wurde in Kapitel 3.6 ein Methodenvergleich erstellt und durchgeführt. Die Ergebnisse, die in Kapitel 4.1 präsentiert werden, sollen in weiteren Arbeiten dazu genutzt werden, eine vereinfachte, quantitative Untersuchung des intramuskulären Bindegewebes zu ermöglichen. Eine anschließende Fehlerdiskussion in Kapitel 4.2 erörtert Punkte, die zu möglichen Verfälschungen geführt haben können und die in weiteren Arbeiten verbessert werden sollten. Den Schluss bildet das Kapitel 4.3 in dem ein Fazit gezogen und ein Ausblick gegeben werden.

2. Grundlagen





(Prometheus LernAtlas. Thieme, 4. Aufl.)

- a Skelettmuskel, quer angeschnitten
- b mit Ausschnittsvergrößerungen im Querschnittc und Längsschnitt
- d sowie zur Darstellung einer einzelnen Muskelfaser (= Muskelzelle,
- e und einer Myofibrille.

Abbildung 1.: Aufbau eines Skelettmuskels (Aumüller u. a., 2017)

Die Skelettmuskulatur dient der Bewegung des Körpers und wird in der Anatomie in bestimmte Strukturen der Größe nach aufgeteilt. Die kleinste funktionelle Einheit bildet das Sarkomer (siehe Abbildung 1e), welches aus Aktin- und Myosinfilamenten besteht. Durch die Verzahnung dieser Filamente entsteht eine Kontraktion der Muskulatur. Sarkomere liegen aneinandergereiht und bilden zusammen eine Myofibrille. Mehrere Myofibrillen werden, wie in Abbildung 1d zu sehen ist, zu einer Muskelfaser gebündelt und von der ersten wichtigen Bindegewebsschicht, dem Endomysium, umschlossen. Einige Muskelfaserbündel bilden zusammengefasst ein Primär- und weitergehend ein Sekundärbündel, welche mit der zweiten Bindegewebsschicht, dem Perimysium, umgeben ist. Der Zusammenschluss der Sekundärbündel wird vom Epimysium umgeben und eingebettet in die Bindegewebsschicht der Muskelfaszie (siehe Abbildung 1b). Dieser Zusammenschluss ist das, was man im Allgemeinen unter einem Skelettmuskel verstehen (siehe Abbildung 1a). In der vorliegenden Arbeit werden für die Methodik Rindermuskeln genutzt, da diese auf der makroskopischen Ebene eine größere Oberfläche als z.B. menschliche oder Mäusemuskeln darstellen. Infolgedessen wird die makroskopische Analyse vereinfacht.

2.2. Intramuskuläres Bindegewebe

Das intramuskuläre Bindegewebe – Intramuscular Connective Tissue, IMCT – wird in der Literatur meist in die in Kapitel 2.1 genannten Bestandteile Endo-, Peri- und Epimysium unterteilt, dennoch werden oft unterschiedliche Definitionen bereitgestellt (Gillies u. a., 2011; Schleip u. a., 2012; Takala u. a., 2000), in denen die Zusammensetzung der Proteine Kollagen und Elastin und das kontraktile Material in die Konkretisierung des IMCT einfließen (Purslow; Duance, 1990; Purslow, 2005). Das Material, welches dem Bindegewebe und damit einhergehend auch dem Muskel seine physiologischen Eigenschaften verleiht und ein Netzwerk bildet, wird in der Literatur als die muskuläre extrazellular Matrix – Extra Cellular Matrix, ECM – beschrieben (Alberts, 2015; Purslow; Duance, 1990). Die ECM ist ein Bestandteil des IMCT und besteht im menschlichen Körper aus denselben Bestandteilen wie das Bindegewebe; namentlich aus Wasser, Proteinen und Polysacchariden (McKee u.a., 2019). Bei den Proteinen handelt es sich hauptsächlich um verschiedene Typen von Kollagen und Elastin. Des Weiteren sind Proteoglycane ein essentieller Bestandteil der ECM, da diese den strukturellen Aufbau des Netzwerks gestalten (Bhagavan u. a., 2015). In dieser Arbeit wird das IMCT als Beschreibung des Zusammenschluss von Endo-, Peri- und Epimysium aufgefasst.

2.3. Bildanalyse mit optischer Methode

Die wichtigsten Schritte der Bildanalyse sind die Bildaufnahme, -speicherung (Kompression), Korrektur von Abbildungsfehlern (z.B. ungleichmäßige Beleuchtung, elektronisches Rauschen, Blendeffekt), Segmentierung von Objekten im Bild und Bildmessungen (Oberholzer u. a., 1996). In dieser Arbeit wird mit Hilfe einer handelsüblichen Digitalkamera ein Bild mit Rohdaten (RAW-Image) erstellt, um eine Kompression, bei der gleichzeitig ein Verlust von Informationen stattfindet, zu vermeiden. Die Bildaufnahme erfolgt mit dem Spektrum des sichtbaren Lichts – VIS welches über die Wellenlänge von 380 *nm* bis 750 *nm* definiert ist (Starr u. a., 2006). Dies stellt einen Gegensatz zu verschiedenen in der Medizin genutzten bildgebenden Verfahren wie z.B. Ultraschall, Röntgenstrahlung, Fluoreszenzmikroskopie, Magnetresonanztomographie oder anderen dar. Es entstehen dabei unter anderem die Vorteile, dass geringe Kosten für die gewählte Methode entstehen und keine intensive Schulung an den Geräten benötigt wird. Außerdem lässt sich durch eine visuelle Kontrolle leicht überprüfen, ob die erstellten Daten (das Ausgabebild) mit dem aufgenommenen Bild übereinstimmen. Nach erfolgter Aufnahme wird das Bild mit Hilfe von computergestützten Berechnungen weiter verarbeitet, um schlussendlich eine quantitative Aussage über den IMCT-Gehalt zu treffen. Diese Aussage wird über einen Methodenvergleich bewertet.

3. Material und Methoden der makroskopischen Analyse

3. Material und Methoden der makroskopischen Analyse

3.1. Proben

In dieser Arbeit wurden bereits vorhandene Proben aus vorhergehenden Arbeiten verwendet. Die Proben wurden fachmännisch und nach Vorgabe der Ethikkommission von Rindern entnommen. Die Muskeln wurden als ganzes Stück entfernt. Eine detaillierte Auflistung der Anzahl der Muskeln von einzelnen Rindern ist der Tabelle 7 im Anhang zu entnehmen. Hier werden kurz die entnommenen Muskeln aufgezeigt:

- Extensor Carpi Radialis ECR
- Flexor Carpi Radialis FCR
- Extensor Digitorum Communis EDC
- Flexor Carpi Ulnaris FCU
- Extensor Digitorum Lateralis EDL
- Fibularis Longus FL
- Fibularis Tertius FT
- Flexor Hallucis Longus FHL
- Supraspinatus SSP
- Schaufelstück SCH
- Ileopsoas PSO

Um für den Testablauf standardisierte Bedingungen zu schaffen, wurde ein Protokoll entworfen, mit dem sichergestellt wurde, dass die Muskeln die gleiche Prozedur durchlaufen und vergleichbare Ergebnisse liefern (siehe Anhang A). Das Protokoll sah vor, dass die Muskeln in etwa drei gleich große Stücke geschnitten und anschließend zur Aufbewahrung bei $-25 \ ^{\circ}C$ tiefgefroren wurden. Für die Anfertigung geeigneter Probengröße wurde jeweils ein Muskelstück angetaut, bis nur noch der Muskelkern gefroren war (Antauzeit: 10 Minuten). Daraufhin wurden mit einer handelsüblichen Schneidemaschine (Slicer Master M20, Graef (B) mehrere Querschnitte eines spezifischen Muskels mit einer Dicke von einem Millimeter angefertigt. Ein angefertigter Schnitt wurde sofort nach dem Schneiden in eine markierte Petrischale mit einer 1:10 Lösung aus 37 %igem Formaldehyd und zehnfacher phosphatgepufferter Salzlösung (10-fach PBS) gegeben, um für vier Stunden darin gelöst zu werden. Durch diese Prozedur erreicht man eine Fixierung der gesamten Probe (Wood u. a., 2011). Im Anschluss an die Fixierung des ersten Schnitts wurde die markierte Petrischale in den Testaufbau der makroskopischen Analyse (siehe Kapitel 3.3) gegeben. Ein zweiter Schnitt desselben Muskels wurde während der Fixierung weiterverarbeitet und klein geschnitten. Der so entstandene Muskelbrei wurde in ein markiertes Probenröhrchen gegeben, um dann bei $-80 \,^{\circ}C$ gefriergetrocknet zu werden und später in weiteren Arbeiten bei einer mikroskopischen Analyse Verwendung zu finden (siehe Kapitel 4.3).

3.2. Optische Methode

Für die makroskopische Analyse mit der optischen Methode, welche hier als eine Aufnahme des VIS definiert wird, wurde ein Teststand entworfen. Es galt dabei eine möglichst gute Ausleuchtung der fixierten Probe zu erreichen sowie mögliche Störfaktoren wie Verwackelungen, Schattenbildung, Bildrauschen und Kompression zu vermeiden.

Um geeignete Bedingungen für diese Art der makroskopischen Untersuchung zu schaffen, wurden verschiedene Richtlinien berücksichtigt, welche den Aufbau eines Fotos und dessen Umgebung bei wissenschaftlichen Studien repräsentieren (Bae u. a., 2008; Cromey, 2010; Hamza u. a., 2004; Khavkin u. a., 2011; Meijer u. a., 2012; Oberholzer u. a., 1996; Wells u. a., 2007). So schreiben Khavkin u. a. (2011), dass die Fotografie-Ausrüstung eine wichtige Rolle spielt. Unter anderem sollte auf die Auswahl der Kamera und des Objektivs geachtet werden. Die Kamera sollte einen niedrigen ISO-Bereich aufweisen sowie einen gut auflösenden CCD-Sensor (ladungsgekoppeltes Bauteil – Chargecoupled Device, CCD). Außerdem sollte die Kamera über die Möglichkeit verfügen die Blende, den Fokus sowie die Verschlusszeit manuell und separat einzustellen. Auf die genannten Optionen wird in den folgenden Kapiteln näher eingegangen.

3.2.1. ISO

Der ISO-Wert, im Zusammenspiel mit der Blende und der Verschlusszeit, bestimmt die Belichtung einer Fotografie. Der ISO-Wert gibt dabei die Lichtempfindlichkeit des CCD-Sensors an. Je höher der Wert, desto empfindlicher ist der Sensor für Licht (es wird weniger Licht benötigt, um ein Bild auszuleuchten). Der ISO-Wert sollte jedoch gering gehalten werden, da er zu einem sichtbaren Bildrauschen führt, je höher der Wert eingestellt ist (Nikon USA, 2019). Der Name ISO wurde als vereinfachte Abkürzung für einen Berechnungsstandard in der analogen Fotografie genutzt. Hier gab es verschiedene Negativ-Filme mit unterschiedlichen ISO-Werten zu erwerben. Der Name ISO leitet sich aus der namensgebenden Internationalen Organisation für Normen ab. Diese hat mit der Norm ISO 12232:2019 (International Organisation for Standardisation, 2019) festgelegt, wie der gleichnamige ISO-Wert eines Negativ-Films zu berechnen ist. Der Name hat sich bis heute, in das Zeitalter der digitalen Fotografie, als ein Kürzel für die Lichtempfindlichkeit eines Bildsensors gehalten.

3.2.2. Blende

Die Blende ist eine mechanische Vorrichtung am Objektiv, welche durch einen Lamellenverschluss den Lichteinfall während der Belichtung auf den CCD-Sensor bestimmt. Die Blende ist im Zusammenspiel mit dem gewählten Objektiv maßgeblich dafür verantwortlich, wie scharf und ausgeleuchtet ein aufgenommenes Objekt auf einer Fotografie erscheint. Für tiefergehende Informationen bezüglich der Qualität eines Bildes sei an dieser Stelle auf das Buch von Phillips u. a. (2017) *Camera image quality benchmarking* verwiesen.



Abbildung 2.: Verschiedene Kamerablenden (Wikimedia Common, 2019)

Die Blende ist in ihrer Funktionsweise ähnlich der Pupille eines menschlichen Auges, welche sich ebenfalls erweitern oder verringern kann, um so die einfallende Lichtmenge zu regulieren (Khavkin u. a., 2011). Die häufig genutzte Bezeichnung zur Klassifizierung verschiedener Objektive von z.B. f/1, 4 lässt sich in der Fotografie aus dem Verhältnis der Brennweite -f zur Apertur -D (welche die Öffnungsweite oder den Durchmesser der freien Öffnung beschreibt) ableiten. Dieses Verhältnis wird als die Blendenzahl -k beschrieben. Es gilt dabei:

$$k = \frac{f}{D} \tag{1}$$

Da das Verhältnis der Gleichung (1), bestehend aus zwei Längen, dimensionslos ist, wird es oft in der im Zähler auf Eins normierten Form 1:k angegeben. So hat ein Makroobjektiv mit einer Brennweite f von 30 mm und einer normierten Blendenzahl k von 1:3,5 eine

maximale Apertur D = f : 3, 5 = 8, 57 mm.

In der wissenschaftlichen Fotografie werden für die korrekte Schärfeeinstellung, welche maßgeblich durch die Blende bestimmt wird, verschiedene Anhaltspunkte gegeben. Khavkin u. a. (2011) empfehlen für die Aufnahme eines Gesichtsportraits eine Blende von f/16, während Meijer u. a. (2012) für den klinischen Gebrauch eine Blende von f/3,5 bis f/8 und im chirurgischen Umfeld eine Blende von f/5,6 bis f/16 vorschlagen. Diese Blendenwerte beziehen sich auf eine Digitalkamera mit einem CCD-Sensor im Vollformat. Dieser wird mit den Dimensionen 36,00 mm x 24,00 mm beziffert.

3.2.3. Verschlusszeit



Abbildung 3.: Funktionsweise einer DSLR Kamera: 1. Objektiv, 2. Schwingspiegel, 3. Verschluss, 4. Film/Sensor, 5. Mattscheibe, 6. Kondensorlinse, 7. Pentaprisma, 8. Okular (Wikimedia Common, 2007b)

Als letzte einstellbare Variable ist bei der Fotografie die Verschlusszeit aufzuführen. Als Verschlusszeit bezeichnet man die Zeit, in welcher Licht auf den CCD-Sensor (siehe Abbildung 3 Bauteil 4) einfällt. In den meisten sogenannten Digital Single-Lens Reflex – DSLR Kameras (siehe Kapitel 3.2.4) – geschieht dies über eine mechanische Vorrichtung, die den Schwingspiegel (Abbildung 3 Bauteil 2) nach oben klappt und so den Weg für das Licht auf den Sensor freigibt. Dabei muss auf die korrekt eingestellte Verschlusszeit geachtet werden, da es zu entweder zu einer Über- oder Unterbelichtung führen kann, bei der wichtige Details innerhalb der Fotografie verloren gehen.

3.2.4. Digital single-lens reflex (DSLR) versus Digital single-lens mirrorless (DSLM)

Seit einigen Jahren ist in der Fotografie der Trend zu erkennen, das mechanisch viel beanspruchte Bauteile, wie zum Beispiel der Schwingspiegel, durch digitale ersetzt oder sogar weggelassen werden. Hierbei half die Entwicklung der sogenannten Digital Single-Lens Mirrorless – DSLM-Kameras, welche je nach Hersteller mit einem elektronischen Sucher und einem "Live-View"-Monitor ausgestattet sind.



Abbildung 4.: Vergleich zwischen einer Digital Single-Lens Reflex – DSLR Kamera links und einer Digital Single-Lens Mirrorless – DSLM Kamera rechts, (Zitt, 2018)

Sie verfügen zudem, ähnlich wie eine DSLR Kamera, über die Möglichkeit, das Objektiv zu wechseln. Einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Kamera-Formaten bildet unter anderem der Sensor. Dieser ist bei den meisten DSLM Kameras zwar ebenfalls ein CCD-Sensor, besitzt jedoch häufig ein kleineres Format. Einer der weit verbreitetsten Sensoren ist der sogenannte Micro-Four-Thirds – MFT-Sensor, welcher das Format 17, 3 mm x 13, 0 mm aufweist. Dies entspricht knapp der Hälfte eines Vollformatsensors und resultiert darin, dass ein Objektiv mit einer festen Brennweite von f = 60, 0 mm, welches an einer Vollformatkamera montiert wird, mit einem Umrechnungsfaktor oder auch Crop-Factor von etwa 2,0 auf eine MFT Kamera umgerechnet werden muss. Für die beispielhaft genannte Festbrennweite resultiert die umgerechnete Brennweite in f = 30, 0 mm bei einer MFT Kamera. Dies macht Objektive oftmals günstiger und leichter, da sie kleinere Linsengruppen benötigen.

$$f_{Vollformat} = 2,0 * f_{MFT}$$
⁽²⁾

3.2.5. Beleuchtung

Bei der Beleuchtung des zu fotografierenden Objekts ist auf den so genannten Farbwiedergabeindex des Leuchtmittels zu achten. Der Farbwiedergabeindex R_a , oder auch Colour Rendering Index – CRI –, ist ein Maß für die Effizienz einer Leuchtquelle bei einer gegebenen Farbtemperatur, das "wahre" Erscheinungsbild von Munsell Farben (Erläuterung folgt) wiederzugeben (Gulrajani, 2010). Der Farbwiedergabeindex wird auf einer Skala von 1 bis 100 aufgetragen, wobei 100 dem Licht einer idealen Lichtquelle entspricht.

Das Munsell-System besteht aus 10 Hauptfarbtönen - Rot (R), Gelb (Y), Grün (G), Blau (B), Lila (P), Gelb-Rot (YR), Grün-Gelb (GY), Blau-Grün (BG), Lila-Blau (PB) und Rot-Violett (RP). Jeder dieser Haupttöne wird weiter in zehn Untertöne unterteilt, was insgesamt 100 Farbtöne ergibt (Gulrajani, 2010).

Das Erscheinungsbild einer Farbe auf einer Oberfläche hängt von dem auf sie einfallenden Licht ab. Daher ist es notwendig, auf eine Charakterisierung von standardisiertem Licht zurückzugreifen (Gulrajani, 2010). Die Commission Internationale de l'Eclairage – CIE – hat hierzu ein Verfahren entwickelt, mit dem Lichtquellen basierend auf ihrer Farbtemperatur eingeordnet werden können. Die Farbtemperatur wird dabei definiert als die Temperatur eines schwarzen Körpers, bei der das Licht des schwarzen Körpers mit dem Licht der Lichtquelle übereinstimmt (Gulrajani, 2010). Diese Temperatur wird in Kelvin ausgedrückt.

Lichtquelle	Farbtemperatur			
Kerzenlicht	ca . 1900 <i>K</i>			
Glühlampe	ca. 2400 K			
Mondlicht	ca. 4100 K			
Sonnenlicht	ca . 5600 <i>K</i> – 6500 <i>K</i>			
bedeckter Himmel	ca . 6500 <i>K</i> – 7000 <i>K</i>			
blauer Himmel	ca . 12000 <i>K</i> – 27000 <i>K</i>			

Tabelle 1.: Farbtemperaturen verschiedener Lichtquellen (Bühler u. a., 2018)

Die in dieser Arbeit verwendete Lichtquelle hat einen CRI von 95. Dies bedeutet, dass sie in der Lage ist, Farben bei einer einstellbaren Farbtemperatur zwischen 3200 *K* und 5600 *K*

nahezu gleich einer natürlichen Lichtquelle wiederzugeben. Die Tabelle 1 zeigt Beispiele von natürlichen Lichtquellen und deren zugehörige Farbtemperatur.

3.3. Teststand

Unter Bezugnahme auf die in den vorherigen Kapiteln beschriebenen Aspekte, wurde für diese Arbeit ein Teststand entworfen, bei dem eine handelsübliche DSLM mit dem MFT Sensor Format (Lumix DMC-G70, Panasonic ®) montiert werden kann. Um eine gleichmäßige Ausleuchtung des Objektes zu gewährleisten, wurde ein in der Foto- und Videografie verwendeter Leuchtring (Venus V29c, NanGuang) installiert. An der Kamera wurde ein Makroobjektiv (M.Zuiko Premium ED30mm f/3.5 Macro, Olympus ®) befestigt, mit dem bei einer ISO-Zahl von 100 eine makroskopische Aufnahme der Probe angefertigt wurde. Außerdem wurden Auslöseverzögerung und Fernauslöser genutzt. Die Abbildung 5 zeigt den Aufbau des Teststandes.

Durch eine manuelle Fokussierung und Abdunklung des Hintergrundes wurde sichergestellt, dass nur die zu fotografierende Probe im Bildausschnitt scharf zu erkennen ist. Um eine ausreichende Bildschärfe zu erreichen, wurde eine Blende von f/8 genutzt. Weiterhin wurde die Verschlusszeit manuell auf 30 *ms* gesetzt, da dies zur besten Ausleuchtung führte. Der interne Weißabgleich der Kamera wurde auf die Farbtemperatur des einstellbaren Leuchtrings gesetzt (5600 *K*). Mit der Festlegung dieser Parameter konnte sichergestellt werden, dass die Fotografien unter gleichbleibenden Bedingungen angefertigt wurden.



(a) Teststand: 1) Stativ, 2) Kamera, 3) Leuchtring, 4) abgedunkelte Box



(b) Detailaufnahme: 1) Probenträger, 2) Kamera, 3) LeuchtringAbbildung 5.: Aufbau des Teststandes, eigene Darstellung

3.4. Softwareanalyse

Die Bildaufnahmen wurden mit Hilfe von zwei verschiedenen Softwareprogrammen ausgewertet. Zunächst musste das für Panasonic-Kameras typische Rohbild in ein für die Programme lesbares Format umgewandelt werden. Damit bei dieser Umwandlung im Bild keine Verluste an Informationen entstehen, wurde das kompressionslose Tagged Image File Format – TIFF – genutzt. Dieser Prozess wurde mit der Software *Silkypix Developer Studio 8SE: Developer Studio* in der Version 8.0.3.2 (Ichikawa Soft Laboratory, 2004-2019) durchgeführt. Anschließend konnten die Bilder im TIFF Format weiterverarbeitet werden.

Das Bindegewebe lässt sich in der makroskopischen Analyse als das weiße Gewebe innerhalb des Muskels (Perimysium) und am Rand des Muskels (Epimysium) zusammenfassen (siehe Kapitel 2.2 und Abbildung 6). Das Endomysium ist so fein strukturiert, dass es mit bloßem Auge auf einer Fotografie nicht zu erkennen ist.



Abbildung 6.: Beispiel eines Muskelschnitts mit sichtbarem Bindegewebe, eigene Darstellung

Um den Anteil des Bindegewebes zu bestimmen, wurden zwei verschiedene Methoden angewandt. Zum einen kam die Software *ilastik: Interactive Learning and Segmentation Toolkit* (ilastik Team, 2011) zum Einsatz, welche den Ansatz des Maschinellen Lernens bei einer Segmentierung verfolgt. Es ist "ein einfaches, benutzerfreundliches Werkzeug zur interaktiven Bildklassifizierung, Segmentierung und Analyse" (Sommer u. a., 2011). Zum anderen wurden neu entwickelte Routinen in *R* mit Hilfe von *RStudio* (RStudio Team, 2015) geschrieben. In den kommenden Kapiteln werden diese beschrieben.

3.4.1. ilastik

Die Software *ilastik* lernt über sogenannte Labels, welche der Benutzer über ein graphisches Interface auf den Bildern markiert (siehe Abbildung 8a). Basierend auf diesen Labels leitet *ilastik* eine problemspezifische Segmentierung, also eine Unterscheidung von Objekten im Bild, ab. Um das maschinelle Lernen für die Segmentierung zu nutzen, wird in *ilastik* ein Random Forest Classifier – RFC – verwendet, bei dem die Nachbarschaft jedes Pixels durch eine Reihe von generischen (nichtlinearen) Merkmalen gekennzeichnet ist. Sobald der Klassifikator auf einer Reihe von repräsentativen Bildern geschult wurde, kann er exportiert und zur automatischen Verarbeitung von Bildern verwendet werden.

Der RFC ist ein Algorithmus, der im Bereich des maschinellen Lernens zum Einsatz kommt. Der RFC erstellt sogenannte *decision trees* (dt. Entscheidungsbäume) auf der Basis von zufällig ausgewählten Datenproben. Aus jedem *decision tree* wird eine Vorhersage abgegeben, ob die Datenprobe einem Merkmal oder Ergebnis entspricht. Die beste Vorhersage wird dann mittels Abstimmung unter Einbezug aller *decision trees* als die beste und wahrscheinlichste Lösung ausgewählt.



Abbildung 7.: Flussdiagramm eines Random Forest Classifier, eigene Darstellung

Auf die hier vorliegende Bildanalyse angewandt bedeutet das, dass randomisierte Daten innerhalb eines Bildes mit unterschiedlichen Merkmalen als *decision trees* fungieren und mit den durch den Benutzer gesetzten Labels verglichen werden. Es wurde in dieser Arbeit ein Trainingsset ausgewählt, anhand dessen ein RFC im Programm *ilastik* mit dem vorgegebenen Workflow *Pixel Classification and Object Classification* trainiert wurde. Die

Labels wurden manuell in das Trainingsset eingefügt und unterschieden in "Bindegewebe", "Muskel", "Fett", und "Hintergrund". Nach dem Training des RFC konnte mittels Thresholding eine Objektklassifizierung des Eingangskanals "Bindegewebe" vorgenommen werden. Thresholding oder auch das Schwellenwertverfahren beschreibt dabei den Prozess der Segmentierung eines Bildes. Das Bild liegt im Ergebnis als ein Binärbild vor, bei denen die gewünschten Segmente einer binären 1 entsprechen, beziehungsweise weiß (Pixelintensität von 255) gefärbt sind. Der unerwünschte Bereich ist folgerichtig eine binäre 0, bzw. schwarz (ein beispielhaftes Ergebnis ist in Abbildung 8c dargestellt). Um zu diesem Ergebnis zu kommen, wird ein Schwellenwert basierend auf einem ausgewählten Eingangskanal definiert. Pixelintensitäten, die oberhalb dieses Schwellenwertes liegen, erhalten die binäre 1, Intensitäten unterhalb die binäre 0. Die Festlegung dieses Schwellenwertes wird im zweiten Arbeitsschritt in *ilastik* angewandt (siehe Abbildung 8b). Weiterhin wurden in diesem Schritt sogenannte "False Flags" eingeführt. Die False Flags stellen eine Möglichkeit dar, herausstechende, fehlerhaft erkannte Bereiche manuell als solche zu kennzeichnen. Diese werden ebenfalls in *ilastik* angelernt. Abschließend wurde auf jedes Trainingsset der Prozess des Thresholding angewandt. Der Workflow wurde dann mit dem trainierten Random Forest Classifier inklusive des Thresholdings auf jede Probe automatisiert angewandt (sogenanntes Batch processing, siehe Abbildung 8d).



(a) Labels



(b) Thresholding



(c) Binäres Bild



(d) Automatisierung

Abbildung 8.: Workflow in *ilastik*, eigene Darstellung

3.4.2. *R* Routine

Die zweite Methode den Muskel innerhalb des Fotos auf seinen Bindegewebsanteil zu untersuchen, wurde in der Programmiersprache *R* geschrieben. Die Sprache *R* ist eine freie Programmiersprache, welche meist in der Analyse und Auswertung von Statistiken und Grafiken genutzt wird. Zur besseren visuellen Verarbeitung wurde in dieser Arbeit das Programm *R Studio* (RStudio Team, 2015) genutzt. Als Übersicht für den Algorithmus wurde das in Abbildung 9 dargestellte Flussdiagramm entworfen.



Abbildung 9.: Flussdiagramm R Algorithmus, eigene Darstellung

Als Vorbereitung für die *R*-Routine wurde jedes Rohbild mit Hilfe des Objekt-Selektierung-Tools in *Adobe® Photoshop®*, in der Version 21.0.2 (Adobe®, 2019), aufbereitet. Hier wurde das Muskelstück manuell maskiert und anschließend mit einem schwarzen Hintergrund versehen (siehe Abbildung 9). Das Bild wurde im verlustfrei komprimierten Portable Network Graphics – PNG – Format gespeichert und konnte anschließend analysiert werden.

Im ersten Schritt der Routine B.1 (siehe Anhang B.1) wurden die zu benutzenden Bibliotheken oder auch Packages eingebunden und die Arbeitsbreiche (engl. *working directory*) mit der Verzeichnisstruktur definiert. Für die medizinische Bildverarbeitung wurden bereits Bibliotheken für *R* entwickelt. Für diese Arbeit wurden speziell die Bibliotheken *EBImage* (Pau u. a., 2010) und *CRImage* (Failmezger u. a., 2017) genutzt. Diese bieten einige nützliche Funktionen, die auf die vorliegende Analyse anwendbar sind und im weiteren erläutert werden.

RGB-Farbraum

Für den nächsten Arbeitsschritt wurde überlegt, wie man die Regionen des zu untersuchenden Muskels, die so genannten Regions Of Interest – ROIs –, im Bild analysiert. Die vorliegenden Bilder wurden im RGB-Farbraum aufgenommen. Dieser beschreibt die additive Zusammensetzung einer Farbe durch die Grundfarben Rot, Grün und Blau. Dabei kann jeder einzelnen Farbe ein Wert von 0 bis 255 zugewiesen werden. Um den RGB-Farbraum zu veranschaulichen, kann an dieser Stelle das Bild eines Farbwürfels (siehe Abbildung 10) hinzugezogen werden. Es wird veranschaulicht, wie die Farben additiv im Raum miteinander wirken. Man kann deutlich erkennen, dass ein RGB-Wert von *R*, *G*, *B* = (255, 255, 255) der Farbe Weiß entspricht, *R*, *G*, *B* = 255, 0, 0 einem reinen Rot und *R*, *G*, *B* = 0, 0, 0 der Farbe Schwarz entspricht.



Abbildung 10.: Drei dimensionaler RGB Farbraum (Wikimedia Common, 2004)

Um das Bindegewebe zu segmentieren, soll vorerst die ROI auf den Muskel beschränkt werden. Die gesuchte ROI ist vorrangig von einer roten Farbe durchzogen, welche dem Muskel entspricht. Um diesen Bereich exakter einzugrenzen und eine Abhebung zwischen dem Vorder- und Hintergrund zu erreichen, wurde in dieser Arbeit die Konvertierung des RGB-Farbraum in den HSV-Farbraum durchgeführt.

HSV-Farbraum

Der HSV-Farbraum setzt sich ebenfalls aus drei Koordinaten, nämlich *Hue, Saturation* und *Value* zusammen, welche die Position einer Farbe beschreiben. Der *Hue*-Wert entspricht dabei dem Farbton, die *Saturation* der Farbsättigung und der *Value* dem Hellwert (auch Dunkelstufe genannt). Die Überführung in den HSV-Farbraum ist aus dem Grunde sinnvoll, da so nicht nach Zusammensetzungen aus RGB-Tönen gesucht werden muss, um eine ROI

zu identifizieren, sondern ausschließlich der *Hue*-Wert eines jeden Pixels als Farbidentifizierung ausreichend ist.



Anhand der Abbildung 11 können die Koordinaten erklärt werden:

Abbildung 11.: HSV Farbraum (Wikimedia Common, 2006)

Zu sehen ist hier der Grundfarbkreis, ebenfalls bestehend aus den Farben Rot, Grün und Blau. Der *Hue*-Wert oder auch Farbton kann durch eine Position auf dem Kreisrand, dem Winkel des Kreisradius, beschrieben werden. Er wird in Grad angegeben. Dabei entsprechen 0° der Farbe Rot, 120° der Farbe Grün und 240° der Farbe Blau. Die Besonderheit des Kreises ist nun, dass 360° ebenfalls wieder der Farbe Rot entspricht. Visualisierbar ist das anhand des Kreisumfangs, der als Fläche abgerollt wird (siehe Abbildung 12). Klar zu erkennen ist, dass allein durch die Gradzahlen reine Farbtöne beschrieben werden, die keinen Weiß- oder Schwarzanteil besitzen. Es werden also nur voll gesättigte Farben beschrieben.



Abbildung 12.: Hue-Werte mit Gradzahl (Wikimedia Common, 2007a)

Der Farbsättigungswert wird in Prozent angegeben. Dabei entsprechen 0 % = Neutralgrau, 50 % = wenig gesättigte Farbe und 100 % = reine gesättigte Farbe. Zum besseren Verständnis und der Vereinfachung der Berechnungen wird der Hellwert ebenso wie der Farbsättigungswert in einem Intervall von $S_{HSV} \in [0, 1]$ und $V \in [0, 1]$ angegeben.

Umrechnung des RGB- in den HSV-Farbraum

Die Überführung eines Bildes vom RGB-Farbraum in den HSV-Farbraum erfolgt mittels einer Funktionsvorschrift, die in den Gleichungen (3), (4) und (5) aufgezeigt wird.

Für die Anwendbarkeit der Berechnungsvorschriften, müssen die folgenden Vorbedingungen erfüllt sein:

- $R, G, B \in [0, 255]$
- $R' = \frac{R}{255}, G' = \frac{G}{255}, B' = \frac{B}{255}$
- $R', G', B' \in [0, 1]$
- MAX := max(R', G', B'), MIN := min(R', G', B')

Nun kann der Hue-Wert eines jeden Pixels im Bild mit der Gleichung (3) berechnet werden.

$$H := \begin{cases} 0^{\circ} & , \text{ falls } MAX = MIN \Leftrightarrow R' = G' = B', \\ 60^{\circ} * \frac{G' - B'}{MAX - MIN} & , \text{ falls } MAX = R', \\ 60^{\circ} * (2 + \frac{B' - R'}{MAX - MIN}) & , \text{ falls } MAX = G', \\ 60^{\circ} * (4 + \frac{R' - G'}{MAX - MIN}) & , \text{ falls } MAX = B'. \end{cases}$$

$$(3)$$

Außerdem gilt, falls $H < 0^{\circ}$ dann $H := H + 360^{\circ}$.

Für die zwei Koordinaten *Saturation* und *Value* erfolgt die Berechnung nach den Gleichungen (4) und (5).

$$S_{HSV} := \begin{cases} 0 & \text{, falls } MAX = 0 \Leftrightarrow R' = G' = B', \\ \frac{MAX - MIN}{MAX} & \text{, sonst.} \end{cases}$$
(4)

$$V := MAX \tag{5}$$

Umrechnung des HSV- in den RGB-Farbraum

Für eine rückwärtige Überführung des HSV- in den RGB-Farbraum gelten ebenfalls Funktionsvorschriften mit den folgenden Vorbedingungen:

- $H \in [0^{\circ}, 360^{\circ}]$
- $S_{HSV}, V \in [0, 1]$

Außerdem werden das Grundfarbenintervall h_i , der Wert innerhalb dieses Intervalls f in [0,1] und noch drei Hilfswerte p,q,t bestimmt, welche bereits die jeweiligen Streckenlängen enthalten, aber entsprechend auf die Komponenten R, G, B zu verteilen sind.

$$h_i := \left\lfloor \frac{H}{60^\circ} \right\rfloor; \quad f := \left(\frac{H}{60^\circ} - h_i \right) \tag{6}$$

$$p := V * (1 - S_{HSV}); \quad q := V * (1 - S_{HSV} * f); \quad t := V * (1 - S_{HSV} * (1 - f))$$
(7)

$$(R, G, B) := \begin{cases} (V, t, p) &, \text{ falls } h_i \in \{0, 6\}, \\ (q, V, p) &, \text{ falls } h_i = 1, \\ (p, V, t) &, \text{ falls } h_i = 2, \\ (p, q, V) &, \text{ falls } h_i = 3, \\ (t, p, V) &, \text{ falls } h_i = 4, \\ (V, p, q) &, \text{ falls } h_i = 5. \end{cases}$$

$$(8)$$

Als Nachbedingung gilt, dass $R, G, B \in [0, 1]$. Für eine Umrechnung in die in Abbildung 10 genutzten Koordinaten gilt:

$$R' = R * 255, G' = G * 255, B' = B * 255$$
(9)

In dieser Arbeit wurde der RGB-Farbraum im Allgemeinen vorgestellt. Es werden jedoch unterschiedliche Farbräume innerhalb des RGB-Farbraums zur Bildaufnahme und Bildwiedergabe genutzt. Zu den gängigen Farbräumen zählen der Standard-RGB-Farbraum – sRGB, Adobe-RGB-(1998)-Farbraum – AdobeRGB, CIE-RGB-Farbraum – CIE-RGB und weitere. Diese unterscheiden sich in ihrem Farbgamut. Als Gamut bezeichnet man in diesem Zusammenhang die Menge aller Farben, die ein Gerät aufzeichnen, wiedergeben oder darstellen kann. Da diese Spezifikationen jedoch eine weitreichendere Materie darstellen, wurde in dieser Arbeit lediglich Wert darauf gelegt, dass sowohl die Kamera, als auch die Software mit dem selben Farbraum (in diesem Fall sRGB) arbeiten.

Implementierung in R

Die jeweiligen Bilder wurden in der *R*-Routine mit Hilfe des Befehls *readImage* aus dem *EBImage* Package eingelesen. Dies geschieht über die Abfrage einer Benutzereingabe zur Bildnummer innerhalb der Ordnerstruktur. Der Befehl *readImage* unterteilt dabei jedes Bild in drei Matrizen, bei der jeder Pixel einen RGB-Wert repräsentiert. In der ersten Matrix stehen die Rot-Werte, in der zweiten die Grün-Werte und als letztes werden die Blau-Werte in die dritte Matrix geschrieben.

Als nächster Schritt wurde die Konvertierung des RGB-Farbraums zum HSV-Farbraum als eigene Funktion ($RGB2HSV_{-}f$) implementiert (siehe Anhang B.1). Diese Funktion nimmt als Eingangsvariable ein Bild mit den drei RGB repräsentierenden Matrizen und schreibt diese in eigene Vektoren, sodass für R ein geringerer Rechenaufwand entsteht. Anschließend werden die Berechnungsvorschriften nach den Gleichungen (3), (4) und (5) angewandt. Die Matrix für den *Hue*-Wert wird zum Schluss als Integer definiert, da die Gradzahlen als ganze Zahl $H \in \mathbb{Z}$ ausreichen.

Das Ergebnis der Konvertierung der Bilder resultiert in drei weiteren Matrizen, welche den HSV-Farbraum eines jeden Bildes repräsentieren. Diese Rohdaten wurden mit Hilfe einer zweiten Routine (siehe Anhang B.2) als Comma Seperated Value – CSV-Datei zwischengespeichert, um weitere Analysen durchführen zu können.

Um eine deutliche Unterteilung der Bilder in Vorder- und Hintergrund zu erreichen, wurde aus den *Hue*-Werten ein Histogramm erstellt, welches die Häufigkeit oder auch Frequenz aller *Hue*-Werte darstellt (siehe Anhang B.3). Hierzu wurden die Häufigkeiten aller auftretenden Gradzahlen in allen Bildern gemittelt und anschließend über die prozentuale Häufigkeit aufgetragen.

$$x_{Achse} = 0^{\circ}, 1^{\circ}, ..., 360^{\circ}$$
⁽¹⁰⁾

$$y_{Achse} = \frac{100 * mittlereFrequenzProGrad}{AllePixel}$$
(11)

Eine ähnliche Methodik wurde angewandt, um die Sättigungswerte in einem Histogramm darzustellen (siehe ebenfalls Anhang B.3). Hierbei wurden jedoch nicht die Gradzahlen auf der X-Achse aufgetragen, sondern die Werte von 0 bis 1, da die Sättigung, wie bereits beschrieben, in Prozent oder einem Intervall von 0 bis 1 angegeben wird. Ebenso wurde die Y-Achse angepasst, um nun die mittlere Frequenz pro 5 % anzugeben. Aus diesem Vorgehen ergeben sich die Diagramme 13a und 13b.



(b) Häufigkeit von gemittelten Sättigungs-Werten

Abbildung 13.: Histogramme der Farbton- und Farbsättigungswerte, eigene Darstellung

Zur Überprüfung des Einflusses der Sättigung auf den Farbtonwert wurden die Werte gegeneinander in ein Diagramm aufgetragen. Dies wird als exemplarisches Ergebnis für einen Muskel in Diagramm 16 in Kapitel 4.1 dargestellt.

3.5. Parameterfindung der Segmentierung

Um zu einer Segmentierung der Bilder zu gelangen, wurde anhand der Diagramme 13 im weiteren Verlauf der ersten Routine B.1 ein Intervall von *Hue*-Werten, welche den dem Farbton Rot entsprechen durch eine Benutzereingabe abgefragt. Außerdem wurde eine Abfrage des Schwellenwerts der Sättigung implementiert, um ungewolltes Rauschen z.B. durch Reflexionen zu eliminieren.

Tabelle 2.: <i>Hue</i> -Intervalle ι	und Sättigungswerte
--------------------------------------	---------------------

Hue-Intervalle	Sättigungswerte
$I_1 \in [350^\circ : 10^\circ]$	$S_1 = 0.075$
$I_2 \in [345^\circ : 15^\circ]$	$S_2 = 0.100$
$I_3 \in [340^\circ: 20^\circ]$	$S_3 = 0.125$



Tabelle 3.: Vergleich der Originalbilder mit drei spezifischen Filterwerten

Für diese Arbeit wurde für eine Vorabauswahl von zehn Bildern aus den insgesamt 120 verfügbaren Bildern mit drei verschiedenen *Hue*-Intervallen und drei Sättigungswerten mit der Funktion *coloring_f* in der *R*-Routine B.1 gefiltert, um so die Ergebnisse genauer einsortieren zu können und den Rechenaufwand zu minimieren. Die gewählten Einstellungen

ergeben für jedes einzelne Bild neun verschiedene Ausgabebilder. Die Tabelle 2 gibt die verschiedenen *Hue*-Intervalle und Sättigungswerte wieder, welche für die Vorasuwahl angewendet wurden. In der Tabelle 3 ist der Vergleich der gefilterten Bildern anhand der *Hue*-Intervalle und Sättigungswerte, zu sehen. Zur besseren Übersicht der Unterschiede werden hier repräsentativ vier der zehn vorab ausgewählten Muskelbilder mit drei der neun korrespondierenden Ein- und Ausgaben angezeigt.

Die Funktion *coloring_f* weist jedem Farbtonwert innerhalb des angegebenen *Hue*-Intervalls (z.B. $I_1 \in [350^\circ : 10^\circ]$) einen Ausgabewert zu. Es wurde festgelegt, dass $H_{aus} = 120^\circ$ entspricht, da 120° die Farbe Grün darstellen (siehe Abbildung 12). Diese sollte in keinem Bild vorhanden sein. Anschließend werden alle gefundenen Pixel mit einem Farbtonwert von $H = 120^\circ$ und einer Sättigung oberhalb des angegebenen Grenzwertes (z.B. $S_1 = 0.075$) auf einen Sättigungswert von 1 bzw. 100 % sowie einem Hellwert von 1 gesetzt. Dies dient der Kontrasterhöhung bei einer visuellen Kontrolle des späteren RGB-Bildes. Anschließend wird geprüft, welche Pixel die Bedingung von $H \neq 120^\circ$ oder $S < S_1$ erfüllen. Diese werden im Ergebnis auf eine Sättigung von 0 bzw. 0 % und einem Hellwert von 1 gesetzt. Dies entspricht reinem Weiß (siehe Abbildung 11).

Mit Hilfe des Befehls *table* kann in *R* eine Anzahl an verschiedenen Vorkommnissen gezählt werden. Wird der Befehl also auf die Sättigungsmatrix angewandt, so kann man nun durch die vorhergehende Filterung alle Einträge finden, die entweder den Wert 0 (entspricht keiner Sättigung) oder den Wert 1 (entspricht voll gesättigt) haben. Identifiziertes Muskelgewebe, welches innerhalb des festgelegten Rot-Intervalls liegt, hat also den Sättigungswert 1 und wird bei einer Rückwandlung in den RGB-Farbraum als vollgesättigtes Grün dargestellt. Ebenso werden die Pixel der Hellwertmatrix gezählt, welche durch die vorhergehende Filterung alle anderen Pixel als reines Weiß darstellen. Das Ergebnis der Zählung der Pixel wird durch die Funktion *pixel_counting_R_f* als ein prozentuales Ergebnis zur Gesamtanzahl der Muskel repräsentierenden Pixel in einem Data Frame dargestellt und als CSV-Datei exportiert (siehe Anhang C.2). Ebenso wurde das Ergebnis der Zählung aller Pixel durch *ilastik* mit der Funktion *pixel_counting_ilastik_f* berechnet und in die CSV-Datei eingetragen.

Das gefilterte HSV-Bild wird mit Hilfe der Funktion *convertHSVTORGB* aus der eingebundenen Bibliothek *CRImage* nach den geltenden Berechnungsvorschriften (siehe Gleichungen (6), (7), (8)) in ein RGB-Bild gewandelt und zur visuellen Kontrolle gespeichert.

Beurteilung der Vorabauswahl

Um zu einer Beurteilung der Intervalle und letztendlich der Festlegung eines geeigneten Intervalls für eine Segmentierung zu gelangen, wurde eine verblindete, objektive Analyse durch Probanden unter Einbezug aller 90 Bilder aus der exemplarisch erstellten Tabelle 3 durchgeführt. Hierbei wurde Probanden die Aufgabe gestellt, die einzelnen Bilder in Fehler der ersten und zweiten Art zu unterscheiden. Ein Fehler erster Art liegt dann vor, wenn die Methode zur Segmentierung einen Pixel grün eingefärbt hat, obwohl dieser im Originalbild eine Weißfärbung hat. Man kann dies auch als die "Annahme, dass etwas unwahr ist, obwohl es wahr ist" bezeichnen. Der Fehler zweiter Art stellt die Umkehrung des Fehlers erster Art dar und bedeutet in diesem Fall, dass die Methode der Segmentierung etwas weiß eingefärbt hat, obwohl es im Original rot gewesen ist. Dies ist auch die "Annahme, dass etwas wahr ist, obwohl es nicht wahr ist". Eine bessere Darstellung lässt sich anhand der Tabelle 4 erreichen.



Tabelle 4.: Einordnung des Fehlers erster und zweiter Art

Die Probanden sollten die segmentierten Bilder im Vergleich zu ihren Originalen demnach in die Kategorien der Fehler erster und zweiter Art einordnen. Dies sollten sie mit einem prozentualen Wert der gesamten weiß gefärbten Fläche bemessen. Ihnen wurde dazu beispielsweise eine Reihe der Tabelle 3 vorgelegt. Die Kategorisierung dieser Reihe wurde anhand der Tabelle 5 vorgenommen. Den Probanden wurde die Tabelle aufgrund der Verblindung im Vorhinein nicht zur Verfügung gestellt und vom Versuchsleiter mit den Angaben der Probanden ausgefüllt.

Anhand der Auswertung der Tabellen für die den Probanden zur Verfügung gestellten Bilder konnte eine Analyse der Ergebnisse in Kapitel 4.1 durch die Abbildungen 17 und 18

Tabelle 5.: Kategorisierungstabelle eines mit *R* segmentierten Bildes anhand ausgewählter *Hue*-Intervalle und Sättigungswerte für den Fehler erster und zweiter Art

Hue Sat	$I_1 \in [350^\circ : 10^\circ]$	$I_2 \in [345^\circ : 15^\circ]$	$I_3 \in [340^\circ : 20^\circ]$
$S_1 = 0.075$	%	%	%
$S_2 = 0.100$	%	%	%
$S_3 = 0.125$	%	%	%

durchgeführt und sich auf eine Parametrierung der Segmentierung festgelegt werden.

3.6. Methodenvergleich ilastik und R

Die ursprünglichen Rohdaten der Bilder liegen nach den Schritten in Kapitel 3.4.1 und 3.4.2 als segmentierte Bilder vor und müssen in Zusammenhang gebracht werden. Hierfür eignet sich ebenfalls wieder eine Kategorisierung des Vergleiches durch Probanden. Die Bilder wurden dafür in den Fehler erster und zweiter Art eingeordnet. Dieser wurde bereits im vorhergehenden Kapitel 3.5 beschrieben. Die Kategorisierung erfolgt in diesem Abschnitt durch die Probanden, in dem ein Prozentwert für den Fehler erster und zweiter Art einem durch *ilastik* segmentierten und einem durch *R* segmentierten Bild zugewiesen wurde.

Tabelle 6.: Kategorisierungstabelle eines mit *ilastik* und *R* segmentierten Bildes für den Fehler erster und zweiter Art

Original Bild	ilas	stik	R		
	Fehler 1. Art	Fehler 2. Art	Fehler 1. Art	Fehler 2. Art	

Für die Speicherung und Auswertung dieser speziellen Probandenanalyse wurde ein Programm geschrieben. Mit Hilfe der Programmiersprache *C#* wurde in *Microsoft Visual Studio®* (Microsoft, 2019) eine grafische Benutzeroberfläche entworfen, in welcher es dem Benutzer möglich ist, seine persönliche Fehlereinschätzung einzutragen. Diese wird im Anschluss als CSV-Datei gespeichert und kann mit *R* analysiert werden.

Im ersten Bedienungsschritt des Programms müssen in den dafür vorgesehenen Feldern die Ordnerpfade der Bilder angegeben werden (siehe Abbildung 14, 1). Aus diesen wird automatisch eine Liste der vorhandenen Bilder im PNG-Format erstellt (siehe Abbildung 14, 2). Sobald ein Bild aus der Liste durch den Probanden ausgewählt wurde, werden Bilder mit dem gleichen Namen aus den angegebenen Ordnern dargestellt. Da die Bilder der Auswertung von *ilastik* und *R* die gleichen Dateinamen erhalten haben, lassen sich diese einfach

🖳 Fehler Klassifizierung							- 🗆 X
Datei laden Ordner Ofiginal Bild Ordner R Bild Ordner R Bild					3		
	Originale Färbung Methoden	Weiß	Rot	Fehler 1. Art in %		Fehler 1. Art in % Fehler 2. Art in %	
	Färbung Weiß Grün/ungefärbt	Korrekt erkannt Fehler 1. Art	Fehler 2. Art Korrekt erkannt		Speichem unter		Speichem

Abbildung 14.: Grafische Benutzeroberfläche zur Fehlerklassifizierung; 1) Auswahl der Ordnerpfade, 2) Liste der gefundenen Bilder, 3) Bildanzeige; eigene Darstellung

aufrufen und vergleichen (siehe Abbildung 14, 3). Die Werte einer Benutzereingabe bleiben in den Textfeldern erhalten, bis der Proband sie eigenhändig löscht oder das Programm beendet wird. Außerdem können die eingetragenen Werte exportiert bzw. gespeichert werden und über den Button *Datei laden* wieder aufgerufen werden, sodass ein Benutzer seine Bewertung nachträglich verändern kann oder zu einem anderen Zeitpunkt weiter bewerten kann, ohne dass seine bisherigen Werte gelöscht werden.



Abbildung 15.: Benutzeroberfläche Fehlerklassifizierung mit eingelesenen Bildern, eigene Darstellung
Aus den angegebenen Werten der Probanden lässt sich anschließend ein Methodenvergleich mit Hilfe einer Bland-Altman Analyse durchführen. Diese wird nachfolgend in Kapitel 3.7 näher erläutert.

3.7. Statistische Analyse des Methodenvergleichs

Um die Übereinstimmung zwischen zwei quantitativen Messmethoden zu beurteilen, ist ein statistischer Ansatz zu wählen. In dieser Arbeit wurde die in der Medizin verbreitete Bland-Altman-Analyse angewandt. Diese Analyse wurde von Altman u. a. (1983) vorgeschlagen und wird seitdem in verschiedenen Bereichen angewandt. Die Analyse beruht auf der Quantifizierung der Übereinstimmung zwischen zwei quantitativen Messungen durch die Untersuchung des Mittelwertunterschieds und die Konstruktion von Übereinstimmungsgrenzen – Limit of Agreements, LoAs (Giavarina, 2015). Die Bland-Altman-Analyse ist eine einfache Methode, um eine Verzerrung zwischen den Mittelwertdifferenzen zu bewerten und ein Übereinstimmungsintervall zu schätzen, innerhalb dessen 95 % der Unterschiede der zweiten Methode im Vergleich zur ersten Methode liegen (Giavarina, 2015).

In einem kartesischen Koordinatensystem wird der Bland-Altman-Plot einer Probe *S* durch die Werte S_1 und S_2 aus den zwei Methoden bestimmt:

$$S(x,y) = \left(\frac{S_1 + S_2}{2}, S_1 - S_2\right)$$
(12)

Dabei beschreibt $S(x) = \frac{S_1+S_2}{2}$ den Mittelwert der beiden Proben und $S(y) = S_1 - S_2$ die Differenz der Proben. In dieser Arbeit wurde die Fehlerbewertung der Probanden aus der Segmentierung durch das Programm *ilastik* als Methode S_1 und die Bewertung der Segmentierung durch *R* als Methode S_2 definiert.

Um die Bland-Altman-Analyse anwenden zu können, wurde anfangs für die durch die Probanden angegebenen Fehler der ersten und zweiten Art das arithmetische Mittel berechnet. So erhält man in *R* zwei Zahlenvektoren, welche die Mittelwerte der Fehler erster Art der *ilastik* (entspricht Methode S_1) und *R* (entspricht Methode S_2) Segmentierung enthalten. Zwei weitere Zahlenvektoren enthalten die Fehler zweiter Art der beiden Methoden. Für die Fehler beider Arten kann im Anschluss mit Hilfe von *R* und der durch Deepankar (2017) bereitgestellten Bibliothek *blandr* ein Bland-Altman-Plot erstellt werden (siehe Anhang B.4). Die Bibliothek arbeitet mit den gültigen Rechenvorschriften für den von Altman u. a. (1983) vorgestellte Methodenvergleich. Für eine einzelne Fehlerbewertung werden die kartesischen Koordinaten nach Gleichung (12) berechnet. Dieser Schritt wird anschließend für alle vorhandenen Datenproben wiederholt. Die Konstruktion der LoAs geschieht über den Mittelwert $\overline{S_y}$ der Unterschiede von $S_y = S_1 - S_2$ und der Standardabweichung σ_{S_y} (siehe Gleichung (13), (14) und (15)). Die LoAs (upper LoA und lower LoA) beschreiben dabei die Schätzung eines Bereiches, in dem 95 % der Unterschiede des Methodenvergleichs liegen werden.

$$\overline{S_y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_{y_i}$$
(13)

$$\sigma_{S_y} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (S_{y_i} - \overline{S_y})^2}{n - 1}}$$
(14)

$$LoA = \overline{S_v} \pm 1,96 * \sigma_{S_v} \tag{15}$$

Die resultierenden Bland-Altman-Plots für den Fehler erster und zweiter Art werden in Kapitel 4.1 vorgestellt.

4. Ergebnisse, mögliche Fehlerquellen und Fazit

In Kapitel 3 wurden die angewandten Methoden und deren Analyse vorgestellt. In diesem Abschnitt sollen die Resultate vorgestellt werden. Es werden mögliche Fehlerquellen diskutiert und anschließend ein Ausblick auf die Fortführung der Problematik gegeben werden.

4.1. Ergebnisse

Einfluss der Farbsättigung auf den Farbtonwert

Unter Bezugnahme auf die in Kapitel 3.4 angesprochenen Ergebnisse, wird hier ein Zwischenergebnis präsentiert. Die Abbildung 16 dient der Überprüfung des Einflusses der Farbsättigung auf den Farbtonwert, sowie der Validierung, dass die Segmentierung über die in *R* geschriebenen Routinen durch eine Filterung des *Hue*-Wertes möglich war.



Abbildung 16.: Histogramm der Farbsättigungen über den Farbtonwerten, eigene Darstellung

Deutlich zu sehen ist ein hoher Sättigungswert im gelben Bereich von 40° bis 60°. Dies ist auf eine gelbe Stecknadel zurückzuführen, die genutzt wurde, um den Probencode im Teststand zu fixieren. Für die restlichen Farbtonwerte ist kein weiterer Einfluss der Sättigungswerte zu erkennen, da diese in einer ähnlichen Größenordnung liegen. Zu erwähnen sei hier noch, dass der schwarze und weiße Hintergrund einen Farbtonwert im blauen Bereich um die 240° aufweisen. Dadurch ist die dichte Punktwolke in diesem Bereich zu erklären.

Parameter der Segmentierung

In Kapitel 3.5 wurde die Methodik der Parameterfindung präsentiert. Dabei wurde auf eine Bewertung durch Probanden zurückgegriffen. Diese sollten eine Fehlerbewertung des Fehlers erster und zweiter Art von insgesamt 90 durch *R* segmentierte Bilder vornehmen. Diese wurden mit verschiedenen Parametern segmentiert, die in der Tabelle 2 dargestellt wurden. Die gemittelten Fehlerwerte der ersten und zweiten Art wurden in jeweils einem Diagramm 17 und 18, inklusive ihrer Standardabweichung, abgebildet. Dabei wurden die unterschiedlichen Einstellungen der Sättigungswerte auf der X-Achse und ihr dazugehöriger Fehlerwert in Prozent auf der Y-Achse angegeben. Die unterschiedlich gefärbten Linien stellen je ein Farbtonintervall (I_1 , I_2 , I_3) dar.



Abbildung 17.: Einschätzung des Fehlers erster Art durch gemittelte Farbtonwerte mit ihrer Standardabweichung bei unterschiedlichen Sättigungswerten, eigene Darstellung

Aus diesen Diagrammen lässt sich erkennen, dass das kleinste *Hue*-Intervall $I_1 \in [350^\circ: 10^\circ]$ für jeden Sättigungswert den kleinsten Fehler erster Art aufweist. Für den Fehler zweiter Art sind, wie in Diagramm 18 zu erkennen ist, die höchsten Fehler zu verzeichnen. Für das größte Intervall $I_3 \in [340^\circ: 20^\circ]$ ist der umgekehrte Fall zu erkennen. Der Fehler zweiter Art wird sehr gering bewertet und die Sättigungswerte scheinen keinen Einfluss auf die Größe des Fehlers zu haben. Für diese Arbeit war es von größerer Bedeutung, den Fehler



Fehler 2. Art für Hue und Sat

Abbildung 18.: Einschätzung des Fehlers zweiter Art durch gemittelte Farbtonwerte mit ihrer Standardabweichung bei unterschiedlichen Sättigungswerten, eigene Darstellung

zweiter Art so gering wie möglich zu halten. Dies bedeutet, dass so wenig Muskelgewebe wie möglich als Bindegewebe identifiziert wurde. Aus diesem Grund wurde das Intervall I_3 als das geeignetste für eine Segmentierung ausgewählt. Um zusätzlich einen möglichst geringen Fehler erster Art zu erzielen, konnte aus dem Diagramm 17 entnommen werden, dass dies bei dem geringsten Sättigungswert S_1 der Fall war.

Daher wurden für den weiteren Verlauf der Segmentierung und des Methodenvergleichs in Kapitel 3.6 die folgenden Parameter festgelegt:

Parameter:

- Hue: $I_3 \in [340^\circ : 20^\circ]$
- Sat: *S*₁ = 0.075

Bland-Altman-Analyse

In Kapitel 3.7 wurde die Durchführung eines Methodenvergleichs mit der Bland-Altman-Analyse vorgestellt. Die Ergebnisse sollen hier präsentiert werden.



Vergleich Fehler erster Art ilastik (S1) - und R (S2) - Segmentierung

Abbildung 19.: Bland-Altman Diagramm des Fehlers erster Art, eigene Darstellung

Für den Fehler erster Art wurden in der Abbildung 19 nach Gleichung (12) auf der X-Achse die Mittelwerte der Messungen aufgetragen. Es lässt sich erkennen, dass die Mittelwerte in einem Bereich zwischen 2,5 % und 37,5 % liegen. Somit entspricht der Fehler erster Art der Segmentierung beider Methoden im Maximum ungefähr 37,5 %. Auf der Y-Achse wurden die Differenzen aufgetragen. Hier ist deutlich zu erkennen, dass die Differenzen meist einen negativen Wert aufweisen. Daraus lässt sich schließen, dass die Probanden einen größeren Fehler erster Art in der R-Segmentierung eingeschätzt haben, als in der ilastik-Segmentierung. Der Bereich zwischen den beiden Übereinstimmungsgrenzen (upper LoA in Grün, lower LoA in Rot) stellt die Schätzung eines Übereinstimmungsintervalls dar, innerhalb dessen 95 % der Unterschiede des Methodenvergleichs liegen. Aus dieser Schätzung lässt sich schließen, dass die Bewertung der Probanden der Segmentierung durch ilastik in 95 % der Fälle einen geringeren Fehler der ersten Art aufweisen, als die Fehlerbewertung der Segmentierung durch R. Wird das arithmetische Mittel der LoAs gebildet, so ergibt sich ein Wert von ca. -20 % um den die Differenzen der Fehlereinschätzung der Probanden im

Mittel liegen werden.



Abbildung 20.: Bland-Altman Diagramm des Fehlers zweiter Art, eigene Darstellung

Im Gegensatz dazu steht der Bland-Altman-Plot des Fehlers zweiter Art (siehe Abbildung 20). Hier ist deutlich zu erkennen, dass die Differenzen im positiven Bereich liegen. Daraus lässt sich schließen, dass die Probanden den Fehler zweiter Art in der *ilastik*-Segmentierung, im Mittel um ca. 20 % größer erachten, als in der *R*-Segmentierung. Auch ist die Spannweite der Mittelwerte auf der X-Achse erheblich höher als in der Einschätzung des Fehlers erster Art. Daraus lässt sich schließen, dass der Fehler zweiter Art relativ groß eingeschätzt wird über die gesamte Segmentierung.

4.2. Mögliche Fehlerquellen

Die Auflicht-Aufnahme des Muskelschnittes konnte mit den manuell vorgenommenen Einstellungen der ISO (Kapitel 3.2.1), Blende (Kapitel 3.2.2), Verschlusszeit (Kapitel 3.2.3) und Weißabgleichs (Kapitel 3.2.5) ein gutes Ergebnis liefern, welche allerdings von anderen Einflussfaktoren wie der Schnittdicke der Muskelstücke und der Dauer der Fixierung beeinflusst werden konnte.

Als erste Fehlerquelle soll an dieser Stelle die Kamera im Teststand aufgeführt werden. Diese entspricht einer durchschnittlichen DSLM-Kamera, die nach aktuellem Stand der Technik in der Hobbyfotografie Anwendung findet. Sie erfüllte somit die Bedingung, einen kostengünstigen Teststand zu entwerfen. Die Kamera bildet jedoch die Grundlage der gesamten makroskopischen Analyse. Daher würde eine sichtbare Verbesserung der Ergebnisse in der Segmentierung auftreten, wenn an dieser Stelle in eine Vollformat Kamera mit einem entsprechend höher auflösenden Sensor und einem passenden, lichtstarken Makroobjektiv investiert wird.

Obwohl nach einem standardisiertem Protokoll vorgegangen wurde (siehe Anhang A), kam es zu unterschiedlichen Ergebnissen bei der Präparation der Muskeln. Einige tiefgefrorene Muskeln benötigten eine länger als vorgesehene Antauzeit, da die Proben einen deutlichen Volumenunterschied aufwiesen. Hier war die vorgesehene Antauzeit eine Fehlerquelle, die je nach Volumengröße der Probe manuell verändert werden sollte.

Die Antauzeit hatte außerdem einen Einfluss auf die Konsistenz der Probe und somit auch die "Schneidbarkeit" der Muskelstücke. Aus diesen unterschiedlichen Konsistenzen resultierten trotz fest eingestellter Schnittbreite an der Schneidemaschine unterschiedliche Schnittdicken bei den Proben, da die Probe durch das rotierende Schnittmesser "eingesogen" wurde.

Resultierend aus den nicht uniformen Schnittdicken ergaben sich auch Unterschiede bei der Fixierung der Proben. Manche Proben wiesen aufgrund ihrer größeren Dicke und Oberfläche eine intensivere Rotfärbung auf als die meisten Proben. Dies lässt darauf schließen, dass die Fixierung nicht vollständig vonstatten gegangen ist und man für weitere Untersuchungen eine individuell angepasste Fixierungszeit vornehmen sollte. Ebenfalls bemerkbar machten sich die unterschiedlichen Schnittdicken darin, dass trotz eines vorsichtigen

4. Ergebnisse, mögliche Fehlerquellen und Fazit

Umgangs mit den Proben einige Proben dazu neigten, Risse in der Gewebeoberfläche aufzuweisen. Diese Risse sind in der vorgestellten makroskopischen Analyse schwer zu berücksichtigen, da sie Wölbungen aufweisen und kleine Löcher darstellen können. Das macht eine Segmentierung sowohl in *ilastik*, als auch in *R* sehr schwierig, da diese Löcher einen schwarzen Hintergrund aufweisen, der in *ilastik* oft als nicht kontrastreicher Unterschied innerhalb des RFC wahrgenommen wird. In *R* weisen diese Löcher innerhalb des Muskels oftmals einen Farbsättigungswert von S < 0,1 auf und werden in der Filterung der Funktion *coloring_f* fälschlicherweise als weißer Pixel bzw. Bindegewebe gekennzeichnet.

Um eine glatte Oberfläche der Probe zu gewährleisten, wurde die Probe nach der Fixierung in der Petrischale in Wasser getaucht, ausgebreitet und fotografiert. Hier stellte sich im Nachhinein heraus, dass feinste Partikel im Wasser vorhanden waren, welche sich deutlich sichtbar auf einigen Fotografien zeigten. Da es sich dabei um unerwünschte Artefakte handelt und man diese vermeiden möchte, sollte in Zukunft demineralisiertes Wasser zur Präparation auf der Petrischale genutzt werden.

Bei der Aufnahme einer Fotografie wurde darauf geachtet, dass Fehler bei einer Aufnahme so gering wie möglich gehalten wurden. Durch eine Auslöseverzögerung und einen Fernauslöser* wurde gewährleistet, dass eine Verwackelung eines Bildes durch Betätigen des Auslösers an der Kamera nicht statt gefunden hat. Durch die festgelegten Parameter der Kameraeinstellungen konnte die Bedienung der Kamera als eine mögliche Fehlerquelle ausgeschlossen werden. So bleiben nur der kleinere CCD-Sensor und das lichtschwache Objektiv mit mögliche chromatischen Abberationen als eine Fehlerquelle übrig.

Da die Bilder im RAW-Format aufgenommen wurden, konnte der Fehler einer verlustbehafteten Komprimierung durch den üblicherweise genutzten Algorithmus *JPEG* vermieden werden. Dieser Algorithmus beruht auf einer von der Joint Photographic Experts Group – JPEG – entworfenen Norm und ist allgemein bekannt mit der Nutzung des Dateiformats *JPEG/JPG*. Des Weiteren konnte durch die Aufnahme im RAW-Format sichergestellt werden, dass ein einheitlicher RGB-Farbraum, sowohl in der Kamera, als auch in der Software, genutzt wurde. So wurde eine Verfälschung des Farbgamuts erfolgreich vermieden. Für das Training des RFC wurde aufgrund der Tatsache, dass nur begrenzte Rechenressourcen zur Verfügung standen ein verhältnismäßig kleiner Datensatz genutzt. Mit einer Erweiterung der Ressourcen durch das bereits in *ilastik* implementierte *Clustering* wäre der RFC robuster und weniger fehleranfällig geworden. Somit wäre eine Segmentierung der Bilder differenzierter möglich.

Es stellte sich während der Durchführung der Segmentierung heraus, dass in einer makroskopischen Analyse die Bestimmung unterschiedlicher Gewebearten ohne eine histologische Färbung zu Ungenauigkeiten führt. So konnte nach Befragung mehrerer Experten nicht vollständig geklärt werden, welche Gewebearten in der Aufnahme zu erkennen waren und wo eine Grenze zur Segmentierung verläuft. Daher sollte im Vorfeld eine Kooperation zwischen medizinischer und fotografischer Expertise eine Selektion und Idealsegmentierung der makroskopischen Aufnahme vornehmen. Dies sollte dazu führen, dass in einem Bildbearbeitungsprogramm wie z.B. *Adobe® Photoshop®* der zu untersuchende Bereich der Probe als alleiniges Segment in einer Ebene dargestellt wird und auf einer weiteren Ebene Konturen wie das Fettgewebe. So würde sich eine Segmentierung einfacher gestalten.

Die manuelle Markierung der in Kapitel 3.4.1 erwähnten *False Flags* stellte im Schritt der *Batch*-Verarbeitung eine weitere Fehlerquelle dar, da diese Markierungen durch den von *ilastik* vorgegebenen Workflow nicht überprüft werden konnten. Durch das Training an einem vergrößerten Datensatz sollte sich die Nutzung der *False Flags* erübrigen.

Eine mögliche Fehlerquellen in der Segmentierung durch *R* war das Vorhandensein von Fettgewebe im Muskel (siehe Abbildung 21).

Dieses Fettgewebe liegt ebenfalls in einer Weißfärbung vor und ist anhand der Vakuolen im Gewebe zu erkennen. Da im *R*-Algorithmus keine weitere Unterscheidung zwischen Gewebearten stattfindet, kann in den Ergebnissen der Segmentierung nicht differenziert werden, ob es sich um Binde- oder Fettgewebe handelt. Dieser Fehler konnte in *ilastik* durch das Training an Bildern mit markiertem Fettgewebe umgangen werden. Jedoch sollte auch hier ein größerer Datensatz für das Training verwendet werden.



Abbildung 21.: Beispiel von Fettgewebe im Muskel, eigene Darstellung

In Kapitel 3.5 wurde sich für die folgende Analyse auf ein Intervall zur Farbtonsegmentierung und einen Farbsättigungswert beschränkt. Dieser Prozess stellt eine Fehlerquelle für unterschiedlich gefärbte Bilder dar. Es sollte daher validiert werden, ob die vorgestellten Parameter sich unter geänderten Testbedingungen weiterhin zur Segmentierung eignen.

4.3. Fazit

Die Aufgabenstellung der Konzeption eines Teststandes zur makroskopische Analyse des intramuskulären Bindegewebes und der Methodenentwicklung zur Auswertung der Analyse konnte in dieser Arbeit umgesetzt werden. Der Teststand erfüllte den Zweck, die Fotografien unter gleichbleibenden Bedingungen zu erstellen. Durch unvorhergesehene Probleme in der Standardisierung des Präparationsablaufes kam es dennoch zu unterschiedlichen Mängeln bei der Probenerstellung. Durch den Teststand wurden diese Mängel jedoch erst aufgezeigt. In der anschließenden Analyse sollten zwei Methoden miteinander verglichen werden, die eine Möglichkeit darstellten, den IMCT-Gehalt zu bestimmen. Für die makroskopische Analyse mit den in *R* geschriebenen Routinen ist der Ansatz über die Farbtonfilterung ein guter Start, der jedoch weiterer Optimierungen bedarf. Mit der Software *ilastik* wurde der Ansatz des maschinellen Lernens verfolgt. Dabei zeigte sich, dass die Software in der Lage ist, anhand eines kleinen Datensatzes Ergebnisse zu produzieren, welche für die Analyse aus einer objektiven Betrachtung verwertbar sind.

Durch den Vergleich mit Hilfe der Bland-Altman-Methode konnte eine Einschätzung der beiden präsentierten Methoden vorgenommen werden. Der Methodenvergleich zwischen *ilastik* und *R* konnte zeigen, dass *ilastik* zwar einen geringeren Fehler der ersten Art hervorruft, dafür jedoch der Fehler zweiter Art in der Einschätzung der Probanden deutlich größer erschien, als in der angewandten Analyse mit *R*. Beide Methoden stellten sich als fehlerbehaftet heraus und bedürfen weiterer Optimierungen. In der Fehlerdiskussion wurden die Punkte, die zu einer Optimierung führen, erläutert.

4.4. Ausblick

Die Ergebnisse dieser Arbeit geben einen vielversprechenden Einblick auf die Faktoren, welche bei dem Entwurf eines Teststandes, sowie der Auswertung des Bindegewebsanteil in einem Muskel zu beachten sind . Für eine detailliertere Ausführung der Versuchsreihe sollten die Punkte des vorhergehenden Kapitels 4.2 in Betracht gezogen werden.

Um die Ergebnisse einer makroskopischen Analyse zu verifizieren, sollte ein Vergleich mit Ergebnissen aus einer mikroskopischen Analyse erstellt werden. Für eine mikroskopische Analyse des IMCT-Gehalts durch z.B. einen Western Blot, ist die Aminosäure Hydroxyprolin ein wichtiger Indikator. Da Kollagen, wie in Kapitel 2.2 beschrieben, einer der wichtigsten Bestandteile des Skelettmuskelsystems ist, da es dort für mechanische Integrität des Bindegewebes sorgt und sich aufgrund dessen in großen Mengen im intramuskulären Bindegewebe finden lässt, liegt es nahe, über den Kollagengehalt Rückschlüsse auf das intramuskuläre Bindegewebe zu ziehen (Cissell u. a., 2017). Kollagen lässt sich indirekt quantifizieren über den Hydroxyprolingehalt, da diese Aminosäure fast ausschließlich in Kollagen vorhanden ist (Cissell u. a., 2017). Es steht aus, den vorgeschlagenen Vergleich der makroskopischen und mikroskopischen Analyse durchzuführen. Dabei gilt es zu beachten, dass der Nachweis von IMCT über die Aminosäure Hydroxiprolin bisher nur ein Ansatz ist und ebenfalls einiger Vorüberlegungen und eines standardisierten Protokolls bedarf. Dies wird in weiteren Arbeiten mit den in Kapitel 3.1 angefertigten, gefriergetrockneten Proben ermöglicht.

Durch die Grundlagen dieser und kommender Arbeiten zur Bestimmung des IMCT-Gehalts, soll es in Zukunft ermöglicht werden, eine quantitative Analyse des IMCT durchzuführen und dadurch Erkenntnisse über die strukturelle Beschaffenheit und detaillierte Funktionsweise eines Muskels zu erlangen. Infolgedessen könnte zum Beispiel Menschen mit Bindegewebserkrankungen gezielter geholfen und beschleunigte Regenerationsphasen nach Krankheit erzielt werden.

Quellenverzeichnis

- ADOBE®, 2019. *Adobe® Photoshop®* [online]. Version 21.0.2 [besucht am 2020-01-30]. Abgerufen unter: https://www.adobe.com/products/photoshop.html.
- ALBERTS, Bruce, 2015. *Molecular biology of the cell*. Sixth edition. New York NY: Garland Science Taylor and Francis Group. ISBN 9780815344322.
- ALTMAN, D. G.; BLAND, J. M., 1983. Measurement in Medicine: The Analysis of Method Comparison Studies. *The Statistician*. Jg. 32, Nr. 3, S. 307. ISSN 00390526. Abgerufen unter DOI: 10.2307/2987937.
- AUMÜLLER, Gerhard; AUST, Gabriela; ENGELE, Jürgen; KIRSCH, Joachim; MAIO, Giovanni; MAYERHOFER, Artur; MENSE, Siegfried; REISSIG, Dieter, 2017. *Anatomie*. 4., aktualisierte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag. Thieme Electronic Book Library. ISBN 978-3-13-241752-6.
- BAE, Youngwoo; NELSON, J. Stuart; JUNG, Byungjo, 2008. Multimodal facial color imaging modality for objective analysis of skin lesions. *Journal of biomedical optics*. Jg. 13, Nr. 6, S. 064007. ISSN 1083-3668. Abgerufen unter DOI: 10.1117/1.3006056. Journal Article Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't.
- BHAGAVAN, N. V.; HA, Chung-Eun; PRECEDED BY: BHAGAVAN, N. V. Essentials of medical biochemistry. st ed., 2015. *Essentials of medical biochemistry: With clinical cases* / N.V. Bhagavan, Chung-Eun Ha. Second edition. San Diego, CA: Academic Press is an imprint of Elsevier. ISBN 9780124166875.
- BORDONI, Bruno; VARACALLO, Matthew, 2019. *Anatomy, Fascia*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- BÜHLER, Peter; SCHLAICH, Patrick; SINNER, Dominik (Hrsg.), 2018. Digitale Farbe. Berlin,
 Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. Bibliothek der Mediengestaltung. ISBN 978-3-662-54606-2. Abgerufen unter DOI: 10.1007/978-3-662-54607-9.
- CISSELL, Derek D.; LINK, Jarrett M.; HU, Jerry C.; ATHANASIOU, Kyriacos A., 2017. A Modified Hydroxyproline Assay Based on Hydrochloric Acid in Ehrlich's Solution Accurately Measures Tissue Collagen Content. *Tissue engineering. Part C, Methods.* Jg. 23, Nr. 4, S. 243–250. Abgerufen unter DOI: 10.1089/ten.tec.2017.0018. Journal Article.

- CROMEY, Douglas W., 2010. Avoiding twisted pixels: ethical guidelines for the appropriate use and manipulation of scientific digital images. *Science and engineering ethics*. Jg. 16, Nr. 4, S. 639–667. Abgerufen unter DOI: 10.1007/s11948-010-9201-y. Journal Article Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't.
- DEEPANKAR, Datta, 2017. Blandr: Version 0.4.1 Cran Submission Release [R package version 0.5.1] [online]. Version 0.5.1 [besucht am 2020-01-30]. Abgerufen unter DOI: 10.5281/zenodo.824514.
- FAILMEZGER, Henrik; YUAN, Yinyin; RUEDA, Oscar; MARKOWETZ, Florian, 2017. CRImage: CRImage a package to classify cells and calculate tumour cellularity [R package version 1.34.0]. Version 1.34.0. Abgerufen unter DOI: 10.18129/B9.bioc.CRImage. failmezger@mpipz.mpg.de, Yinyin.Yuan@cancer.org.uk, oscar.rueda@cancer.org.uk, Florian.Markowetz@cancer.org.uk.
- GIAVARINA, Davide, 2015. Understanding Bland Altman analysis. *Biochemia Medica*. Jg. 25, Nr. 2, S. 141–151. ISSN 1330-0962. Abgerufen unter DOI: 10.11613/BM.2015.015. Journal Article Review.
- GILLIES, Allison R.; LIEBER, Richard L., 2011. Structure and function of the skeletal muscle extracellular matrix. *Muscle & nerve*. Jg. 44, Nr. 3, S. 318–331. Abgerufen unter DOI: 10.1002/mus.22094. Journal Article Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. Review.
- GULRAJANI, M. L. (Hrsg.), 2010. Colour measurement: Principles, advances and industrial applications. Oxford: Woodhead Publ. Woodhead Publishing series in textiles. ISBN 9780857090195. Gulrajani, M. L., (Hrsg.)
- HAMZA, Sate H.; REDDY, Vishnu V. B., 2004. Digital image acquisition using a consumertype digital camera in the anatomic pathology setting. *Advances in anatomic pathology*.
 Jg. 11, Nr. 2, S. 94–100. ISSN 1072-4109. Abgerufen unter eprint: 15090845. Journal Article Review.
- ICHIKAWA SOFT LABORATORY, 2004-2019. *SILKYPIX 8SE: Developer Studio*. Version 8.0.3.2. Auch verfügbar unter: http://www.silkypix.de.
- ILASTIK TEAM, 2011. *ilastik: Interactive Learning and Segmentation Toolkit*. 1.3.3b2. Auch verfügbar unter: https://www.ilastik.org.

- INTERNATIONAL ORGANISATION FOR STANDARDISATION (Hrsg.), 2019. Photography - Digital still cameras - Determination of exposure index, ISO speed ratings, standard output sensitivity, and recommended exposure index [online]. Version 3 [besucht am 2019-12-06]. Nr. 12232:2019. Abgerufen unter: https://www.iso.org/standard/ 73758.html.
- KHAVKIN, Jeannie; ELLIS, David A. F., 2011. Standardized photography for skin surface. *Facial plastic surgery clinics of North America*. Jg. 19, Nr. 2, S. 241–246. Abgerufen unter DOI: 10.1016/j.fsc.2011.04.001. Journal Article Review.
- MCKEE, Turney J.; PERLMAN, George; MORRIS, Martin; KOMAROVA, Svetlana V., 2019. Extracellular matrix composition of connective tissues: a systematic review and metaanalysis. *Scientific reports.* Jg. 9, Nr. 1, S. 10542. Abgerufen unter DOI: 10.1038/ s41598-019-46896-0. Journal Article.
- MEIJER, P. P. G. de; KARLSSON, J.; LAPRADE, R. F.; VERHAAR, J. A. N.; WIJDICKS, C. A., 2012. A guideline to medical photography: a perspective on digital photography in an orthopaedic setting. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy : official journal of the ESSKA*. Jg. 20, Nr. 12, S. 2606–2611. Abgerufen unter DOI: 10.1007/s00167–012–2173–5. Guideline Journal Article.
- MICROSOFT, 2019. Microsoft Visual Studio: Community 2019 [online]. Version 16.4.3 [besucht am 2020-01-15]. Abgerufen unter: https://visualstudio.microsoft. com/.
- NIKON USA, 2019. Understanding ISO sensitivity [What is ISO?] [online]. Hrsg. von NIKON USA [besucht am 2019-08-16]. Abgerufen unter: https://www.nikonusa.com/ en/learn-and-explore/a/tips-and-techniques/understanding-isosensitivity.html.
- OBERHOLZER, M.; OSTREICHER, M.; CHRISTEN, H.; BRÜHLMANN, M., 1996. Methods in quantitative image analysis. *Histochemistry and cell biology*. Jg. 105, Nr. 5, S. 333–355. ISSN 0948-6143. Abgerufen unter eprint: 8781988. Journal Article Review.
- PAU, Grégoire; FUCHS, Florian; SKLYAR, Oleg; BOUTROS, Michael; HUBER, Wolfgang, 2010. EBImage–an R package for image processing with applications to cellular phenotypes. *Bioinformatics (Oxford, England)*. Jg. 26, Nr. 7, S. 979–981. Abgerufen unter DOI:

10.1093/bioinformatics/btq046. Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't.

- PHILLIPS, Jonathan B.; ELIASSON, Henrik, 2017. Camera image quality benchmarking.
 1st. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons. Wiley-IS&T series in imaging science and technology. ISBN 9781119054528.
- PURSLOW, Peter P., 2005. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat science*. Jg. 70, Nr. 3, S. 435–447. ISSN 0309-1740. Abgerufen unter DOI: 10.1016/j.meatsci.2004.06.028. Journal Article.
- PURSLOW, Peter P.; DUANCE, Victor C., 1990. Structure and Function of Intramuscular Connective Tissue. In: HUKINS, David W. L. (Hrsg.). *Connective Tissue Matrix*. London: Macmillan Education UK, S. 127–166. ISBN 978-1-349-09867-5. Abgerufen unter DOI: 10.1007/978-1-349-09865-1_6.
- RSTUDIO TEAM, 2015. *RStudio: Integrated Development for R*. Auch verfügbar unter: http://www.rstudio.com.
- SCHLEIP, Robert; JÄGER, Heike; KLINGLER, Werner, 2012. What is 'fascia'? A review of different nomenclatures. *Journal of bodywork and movement therapies*. Jg. 16, Nr. 4, S. 496–502. Abgerufen unter DOI: 10.1016/j.jbmt.2012.08.001. Journal Article Review.
- SOMMER, Christoph; STRAEHLE, Christoph; KOTHE, Ullrich; HAMPRECHT, Fred A., 2011. Ilastik: Interactive learning and segmentation toolkit. In: *2011 IEEE International Symposium 30-03-2011 / 02-04-2011*, S. 230–233. Abgerufen unter DOI: 10.1109/ISBI. 2011.5872394.
- STARR, Cecie; EVERS, Christine A.; STARR, Lisa, 2006. Biology: Concepts and applications. 6th ed. Belmont CA: Thomson Brooks/Cole. Brooks/Cole biology series. ISBN 9780534462239.
- TAKALA, T. E.; VIRTANEN, P., 2000. Biochemical composition of muscle extracellular matrix: the effect of loading. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. Jg. 10, Nr. 6,
 S. 321–325. ISSN 0905-7188. Abgerufen unter eprint: 11085558. Comparative Study Journal Article Review.

- WELLS, Wendy A.; BARKER, Peter E.; MACAULAY, Calum; NOVELLI, Marco; LEVENSON, Richard M.; CRAWFORD, James M., 2007. Validation of novel optical imaging technologies: the pathologists' view. *Journal of biomedical optics*. Jg. 12, Nr. 5, S. 051801. ISSN 1083-3668. Abgerufen unter DOI: 10.1117/1.2795569. Journal Article Research Support, N.I.H., Extramural Review Validation Studies.
- WIKIMEDIA COMMON, 2004. RGB Farbwuerfel [online]. Hrsg. von WIKIMEDIA COMMON
 [besucht am 2019-11-03]. Abgerufen unter: https://commons.wikimedia.org/
 wiki/File:RGB_farbwuerfel.jpg.
- WIKIMEDIA COMMON, 2006. HSV Cone: Representation of colors in the HSV system [online]. Hrsg. von WIKIMEDIA COMMON [besucht am 2019-11-03]. Abgerufen unter: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:HSV_cone.png.
- WIKIMEDIA COMMON, 2007a. Hue scale: Hue scale in degree from 0 to 360 [online]. Hrsg. von WIKIMEDIA COMMON [besucht am 2019-11-03]. Abgerufen unter: https: //commons.wikimedia.org/wiki/File:HueScale.svg.
- WIKIMEDIA COMMON, 2007b. SLR cross section [online]. Hrsg. von WIKIMEDIA COM-MON [besucht am 2019-08-21]. Abgerufen unter: https://commons.wikimedia. org/wiki/File:SLR_cross_section.svg.
- WIKIMEDIA COMMON, 2019. Lenses with different apertures [online]. Hrsg. von WIKI-MEDIA COMMON [besucht am 2019-08-19]. Abgerufen unter: https://commons. wikimedia.org/wiki/File:Lenses_with_different_apertures.jpg.
- WOOD, M. F. G.; VURGUN, N.; WALLENBURG, M. A.; VITKIN, I. A., 2011. Effects of formalin fixation on tissue optical polarization properties. *Physics in medicine and biology*. Jg. 56, Nr. 8, S. N115–22. Abgerufen unter DOI: 10.1088/0031-9155/56/8/N01. Comparative Study Evaluation Studies Journal Article Research Support, Non-U.S. Gov't.
- ZITT, Markus, 2018. Kleine Geschichte der Spiegellosen [online]. Hrsg. von FOTOINTERN.CH [besucht am 2019-08-21]. Abgerufen unter: https://www.fotointern.ch/wpuploads/2018/08/Panasonic-2008-DSLR-vs-CSC.jpg.

Abkürzungsverzeichnis

AdobeRGB: Adobe-RGB-(1998)-Farbraum, S. 28 CCD: ladungsgekoppeltes Bauteil (Chargecoupled Device), S. 12, 14, 15, 45 CIE: Commission Internationale de l'Eclairage, S. 15 CIE-RGB: CIE-RGB-Farbraum, S. 28 CRI: Colour Rendering Index, S. 15, 16 CSV: Comma Seperated Value, S. 29, 32, 35 D: Apertur, S. 13 DSLM: Digital Single-Lens Mirrorless, S. 14, 15, 18, 44, 57 ECM: extrazellular Matrix (Extra Cellular Matrix), S.8 ECR: Extensor Carpi Radialis, S. 10, 59, 73 EDC: Extensor Digitorum Communis, S. 10, 59, 73 EDL: Extensor Digitorum Lateralis, S. 10, 59, 73 f : Brennweite, S. 13, 15, 18 Flexor Carpi Radialis, S. 10, 59, 73 FCR: FCU: Flexor Carpi Ulnaris, S. 10, 59, 73

- FHL: Flexor Hallucis Longus, S. 10, 59, 73
- FL: Fibularis Longus, S. 10, 59, 73
- FT: Fibularis Tertius, S. 10, 59, 73
- IMCT: intramuskuläre Bindegewebe (Intramuscular Connective Tissue), S. 8, 48, 49
- **ISO:** Internationale Organisation für Normung (International Organisation for Standardisation), S. 12
- JPEG: Joint Photographic Experts Group, S. 45
- k: Blendenzahl, S. 13
- LoA: Übereinstimmungsgrenze (Limit of Agreement), S. 37, 42
- MFT: Micro-Four-Thirds, S. 15, 18
- **PBS:** Phosphatgepufferte Salzlösung (Phosphatebuffered Saline), S. 10
- **PNG:** Portable Network Graphics, S. 24, 35
- **PSO:** Ileopsoas (Filet), S. 10, 59, 73
- **RFC:** Random Forest Classifier, S. 20, 21, 44, 45, 57
- ROI: Regions Of Interest, S. 24, 25
- SCH: Schaufelstück (Schulter Muskel keine Angabe), S. 10, 59, 73

- **sRGB:** Standard-RGB-Farbraum, S. 28
- **SSP:** Supraspinatus, S. 10, 59, 73
- TIFF: Tagged Image File Format, S. 20
- VIS: sichtbares Licht (Visible Light Spectrum), S. 8, 12

Abbildungsverzeichnis

1.	Aufbau eines Skelettmuskels (Aumüller u. a., 2017)	7
2.	Verschiedene Kamerablenden (Wikimedia Common, 2019)	13
3.	Funktionsweise einer DSLR Kamera: 1. Objektiv, 2. Schwingspiegel, 3. Ver-	
	schluss, 4. Film/Sensor, 5. Mattscheibe, 6. Kondensorlinse, 7. Pentaprisma,	
	8. Okular (Wikimedia Common, 2007b)	14
4.	Vergleich zwischen einer Digital Single-Lens Reflex – DSLR Kamera links und	
	einer Digital Single-Lens Mirrorless – DSLM Kamera rechts, (Zitt, 2018)	15
5.	Aufbau des Teststandes, eigene Darstellung	19
6.	Beispiel eines Muskelschnitts mit sichtbarem Bindegewebe, eigene Darstellung	20
7.	Flussdiagramm eines Random Forest Classifier, eigene Darstellung	21
8.	Workflow in <i>ilastik</i> , eigene Darstellung	23
9.	Flussdiagramm R Algorithmus, eigene Darstellung	24
10.	Drei dimensionaler RGB Farbraum (Wikimedia Common, 2004)	25
11.	HSV Farbraum (Wikimedia Common, 2006)	26
12.	Hue-Werte mit Gradzahl (Wikimedia Common, 2007a)	26
13.	Histogramme der Farbton- und Farbsättigungswerte, eigene Darstellung	30
14.	Grafische Benutzeroberfläche zur Fehlerklassifizierung; 1) Auswahl der Ord-	
	nerpfade, 2) Liste der gefundenen Bilder, 3) Bildanzeige; eigene Darstellung	36
15.	Benutzeroberfläche Fehlerklassifizierung mit eingelesenen Bildern, eigene Dar-	
	stellung	36
16.	Histogramm der Farbsättigungen über den Farbtonwerten, eigene Darstellung	39
17.	Einschätzung des Fehlers erster Art durch gemittelte Farbtonwerte mit ih-	
	rer Standardabweichung bei unterschiedlichen Sättigungswerten, eigene Dar-	
	stellung	40
18.	Einschätzung des Fehlers zweiter Art durch gemittelte Farbtonwerte mit ih-	
	rer Standardabweichung bei unterschiedlichen Sättigungswerten, eigene Dar-	
	stellung	41
19.	Bland-Altman Diagramm des Fehlers erster Art, eigene Darstellung	42
20.	Bland-Altman Diagramm des Fehlers zweiter Art, eigene Darstellung	43

21. Beispiel von Fettgewebe im Muskel, eigene Darstellung 47

Tabellenverzeichnis

1.	Farbtemperaturen verschiedener Lichtquellen (Bühler u. a., 2018)	16
2.	Hue-Intervalle und Sättigungswerte	31
3.	Vergleich der Originalbilder mit drei spezifischen Filterwerten	31
4.	Einordnung des Fehlers erster und zweiter Art	33
5.	Kategorisierungstabelle eines mit R segmentierten Bildes anhand ausgewählter	
	Hue-Intervalle und Sättigungswerte für den Fehler erster und zweiter Art	34
6.	Kategorisierungstabelle eines mit <i>ilastik</i> und <i>R</i> segmentierten Bildes für den	
	Fehler erster und zweiter Art	35
7.	Detaillierte Auflistung entnommener Rindermuskeln: Extensor Carpi Radialis	
	- ECR; Flexor Carpi Radialis - FCR; Extensor Digitorum Communis - EDC;	
	Flexor Carpi Ulnaris – FCU; Extensor Digitorum Lateralis – EDL; Fibularis	
	Longus – FL; Flexor Hallucis Longus – FHL; Fibularis Tertius – FT; Supraspi-	
	natus – SSP; Schaufelstück – SCH; lleopsoas – PSO	74



Picture Acquisition of Macroscopic Muscle Sections

Task:	Photography of macroscopic muscle sections
Date:	June 20, 2019
Description:	Procedure for creating digital images of full diameter muscle sections that have
	been frozen, cut and fixed in formaldehyde beforehand. The photos will be
	used to evaluate the surface area fraction consisting of connective tissue
	graphically.
Name:	Lukas Arndt
Process Steps:	Step 1: Assessment of relevant data
	 Animal code (C9, H1, O4 etc.)
	 Muscle code (EDL, EDC, FT etc.)
	 Muscle piece (1, 2, 3 where 1 is most proximal)
	 Write down the codes, times and procedures in lab book for every
	muscle.
	Step 2: Thawing muscle pieces.
	• Take muscle out of freezer "Lappland" in the chemistry lab on 2 nd floor
	and thaw the muscle pieces in the bag for ten minutes at room
	temperature.
	Step 3: Cut sections with household cutting machine.
	 Take the first muscle piece out of the bag - it should still be frozen - and
	put it on the cutting machine aligning the proximal end with the blade.
	Pressing the muscle piece against the side wall and sliding it towards
	the turning blade, cut off up to 5 mm but as little as possible muscle
	tissue until there is an even, still fully frozen surface.
	 Put a labelled Petri dish under the cutting machine and cut a section of 1mm thickness. Spread in onto the Petri dish without producing holes
	or tearing.
	Repeat with other muscle pieces.
	 Put the muscle in same order and alignment back in the bag and into
	the freezer for further processing for biochemical analysis.
	Step 4: Fixation.
	 The muscle sections will have to be fixated for better and more
	consistent contrast of muscle and connective tissue. For this, a 4%
	formaldehyde solution in PBS is needed.
	 Mix one part 37% formaldehyde with nine parts PBS.
	• That means for 1 l of solution using 10x PBS: mix 100 ml of 37%
	formaldehyde with 90 ml of PBS and 810 ml of distilled water.
	• Pour solution over muscle sections in Petri dishes until fully covered.
	Move the sections slightly to allow solution to go under the section.
	Fixate under the fume hood for four hours and move sections slightly
	around after two hours.
	Step 5: Picture acquisition.
	Prepare a Petri dish filled with a small amount of water. Put the first
	muscle sections into the dish without any folds.
	 Set up the camera with the macro objective on the screw of the light ring. Dug in the light ring and turn both lights to require up (light)
	ring. Plug in the light ring and turn both knobs to maximum (light
	intensity and color temperature).



• Put the color standard on the table underneath the camera and put the
Petri dish with the section on top so that the muscle is in between the
color lanes and below the length measure.
• Add a post-it with the code, muscle und number of the muscle section.
 Close the blinds and turn off all lights in the lab.
In manual mode, take a picture of the petri dish and the label with the
settings: A=f/8, S=30ms, ISO=100, W_a=5600K
Step 6: Export from SD card
 After a lab day, export all images from SD card to computer and name
images with respective codes.

B. Code

B.1. HSV Segmentierung

```
2 library(EBImage)
 3 library(CRImage)
 4 library(tools)
 5 library(dplyr)
 6
 8 setwd("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/")
 9 dir_pic = paste0("01 Data/01 Preprocessed/Pictures_R/")
10 dir_ilastik = paste0("01 Data/01 Preprocessed/CSV_Ilastik/")
11 sh_ss = paste0("01 Data/02 Postprocessed/01 Small Hue - Small Sat/")
12 mh_ss = paste0("01 Data/02 Postprocessed/02 Medium Hue - Small Sat/")
13 hh_ss = paste0("01 Data/02 Postprocessed/03 High Hue - Small Sat/")
14 sh_ms = paste0("01 Data/02 Postprocessed/04 Small Hue - Medium Sat/")
15 mh_ms = paste0("01 Data/02 Postprocessed/05 Medium Hue - Medium Sat/")
16 hh_ms = paste0("01 Data/02 Postprocessed/06 High Hue - Medium Sat/")
17 sh_hs = paste0("01 Data/02 Postprocessed/07 Small Hue - High Sat/")
18 mh_hs = paste0("01 Data/02 Postprocessed/08 Medium Hue - High Sat/")
19 hh_hs = paste0("01 Data/02 Postprocessed/09 High Hue - High Sat/")
20 dir_res = paste0("03 Outcome/")
21 im_type = paste0(".png")
24 read_image_number = function() {
25
   n = readline(prompt = "Enter image number: ")
26
   n = as.integer(n)
27
    if(is.na(n)){
28
     n = readimagenumber()
29
    }
30
    return(n)
31 }
32 hue_lowerlimit_f = function() {
33
    n = readline(prompt = "Enter upper hue limit (320-360); (default = 350): ")
34
    n = as.integer(n)
35
    if(is.na(n)){
36
     n = 350
37
    }
38
    return(n)
39 }
40 hue_upperlimit_f = function() {
41
   n = readline(prompt = "Enter lower hue limit (0-20); (default = 16): ")
42
    n = as.integer(n)
43
   if(is.na(n)){
44
     n = 16
```

```
45
    }
46 return(n)
47 }
48 sat_limit_f = function() {
49
    n = readline(prompt = "Enter saturatin limit (0-1); (default = 0.1): ")
50
     n = as.integer(n)
51
     if(is.na(n)){
52
      n = 0.1
53
    }
54
     return(n)
55 }
56 \text{ hue_output_f} = \text{function()} 
57
    n = readline(prompt = "Enter output hue (0-360); (default = 120): ")
58
    n = as.integer(n)
59
    if(is.na(n)){
      n = 120
60
61
    }
62
     return(n)
63 }
64 \text{ RGB2HSV}_f = \text{function(img)} 
65
     imgHSV=imageData(img)
66
     imgR=as.vector(img[,,1])
67
     imgG=as.vector(img[,,2])
68
     imgB=as.vector(img[,,3])
69
70
     message("Finde Maximal und Minimalwerte")
71
     Max_rgb = apply(cbind(imgR,imgG,imgB),1,max)
72
     Min_rgb = apply(cbind(imgR,imgG,imgB),1,min)
73
74
     delta = Max_rgb - Min_rgb
75
     h=rep(0,length(Max_rgb))
76
     s = Max_rgb - Min_rgb
77
     v = Max_rgb
78
79
     message("Pruefe auf Rote Pixel")
80
     k=which(imgR==Max_rgb)
81
     h[k] = 60 * ((imgG[k] - imgB[k])/delta[k])
82
83
     message("Pruefe auf Gruene Pixel")
84
     k=which(imgG==Max_rgb)
85
     h[k] = 60 \star (2 + (imgB[k] - imgR[k]) / delta[k])
86
87
     message("Pruefe auf Blaue Pixel")
88
     k=which(imgB==Max_rgb)
89
     h[k] = 60 \star (4 + (imgR[k] - imgG[k]) / delta[k])
90
91
     message("Pruefe Hue gleich 0")
92
     k=which(Max_rgb==Min_rgb)
93
     h[k]=0
```

```
94
 95
      message("Pruefe Hue kleiner 0")
 96
      k=which(h<0)
 97
      h[k]=h[k]+360
 98
 99
      message("Berechne Saturation")
100
      k=which(Max_rgb==0)
101
      s[k]=0
102
103
      s=s/Max_rgb
104
105
      message("Erstelle Bild")
106
      imgHSV[,,1]=as.integer(h)
107
      imgHSV[,,2]=s
108
      imgHSV[,,3]=v
109
      imgHSV
110 }
111 coloring_f = function(img, hue_grenze_unten, hue_grenze_oben, sat_grenze, farb_wert){
112
      img = imageData(img)
113
      imgH = as.vector(img[,,1])
114
      imgS = as.vector(img[,,2])
115
      imgV = as.vector(img[,,3])
116
117
      message(paste0("Setze alle Hue Werte kleiner ",hue_grenze_unten," auf ",farb_wert))
118
      imgH[imgH <= hue_grenze_unten] = farb_wert</pre>
119
      message(paste0("Setze alle Hue Werte groesser ",hue_grenze_oben," auf ",farb_wert))
120
      imgH[imgH >= hue_grenze_oben] = farb_wert
121
122
      message(paste0("Setze Saturation und Value = 100 fuer alle Hue = ",farb_wert," und Sat >= ",sat_
          grenze))
123
      k = which(imgH == farb_wert & imgS >= sat_grenze)
124
      imgS[k]=1
125
      imgV[k]=1
126
127
      message(paste0("Setze Saturation = 0 und Value = 1 fuer alle Hue != ",farb_wert," und Sat < ",sat_</pre>
          grenze))
128
      k = which(imgH != farb_wert | imgS < sat_grenze)</pre>
129
      imgS[k]=0
130
      imqV[k]=1
131
132
      message(paste0("Zaehle Saturation Pixel"))
133
      S = table(imgS)
134
      message(paste0("Zaehle Value Pixel"))
135
      V = table(imqV)
136
137
      message(paste0("Erstelle Bild"))
138
      img[,,1]=imgH
139
      img[,,2]=imgS
140
      img[,,3]=imgV
```

```
141
     imq
142
143
144
     return(list(Image(img),S,V))
145 }
146 pixel_counting_R_f = function(imgHSV,imgRGB) {
147
     all_pixel = dim(imgRGB)[1]*dim(imgRGB)[2]
148
     whole_muscle_p = imgHSV[[3]][2]
149
     white_muscle_p = imgHSV[[2]][1]
150
     red_muscle_p = imgHSV[[2]][2]
151
     percent_white_of_muscle = (white_muscle_p/whole_muscle_p) *100
152
     result = list(all_pixel,whole_muscle_p,white_muscle_p,red_muscle_p,percent_white_of_muscle)
153
     names(result) = c("Gesamt_Pixel","Gesamter_Muskel_Pixel","Bindegewebe_R","Muskel_Rot_Pixel_R","
         Prozentuale_Pixel_R")
154
     result
155 \}
156 pixel_counting_ilastik_f = function(ilastik_csv, HSV_filtered_image){
157
     bindegewebe = dplyr::filter(ilastik_csv, grepl("Bindegewebe", Predicted.Class))
158
     white_muscle_p = sum(bindegewebe$Size.in.pixels)
159
     whole_muscle_p = HSV_filtered_image[[3]][2]
160
     percent_white_of_muscle = (white_muscle_p/whole_muscle_p) *100
161
     result = list(white_muscle_p, percent_white_of_muscle)
162
     names(result) = c("Bindegewebe_ilastik", "Prozentuale_Pixel_ilastik")
163
     result
164 }
165
167 image_number = read_image_number()
168 hue_limit_lower_c = 20 # hue_lowerlimit_f()
169 hue_limit_upper_c = 340 # hue_upperlimit_f()
170 sat_limit_C = 0.125 # sat_limit_f()
171 hue_output_c = 120 \# hue_output_f()
172
173 filenames = file_path_sans_ext(list.files(paste0(dir_pic), pattern = paste0(im_type)))
174 analyzed_pixels = data.frame(filenames[image_number],hue_limit_lower_c,hue_limit_upper_c,sat_limit_C
        , hue output c)
175 colnames(analyzed_pixels) = c("Bildname","Untere Hue Grenze","Obere Hue Grenze","Saettigungs Grenze"
        ,"Ausgabe Huewert in Grad")
176 im = readImage(paste0(dir_pic,filenames[image_number],im_type))
177 ilastik_export = read.csv(paste0(dir_ilastik,"exported_data-",filenames[image_number],"_table.csv"))
178
180 im_HSV = Image(RGB2HSV_f(im))
181 HSV_filtered_im = coloring_f(im_HSV,hue_limit_lower_c,hue_limit_upper_c,sat_limit_C,hue_output_c)
182 im_RGB = Image(convertHSVToRGB(HSV_filtered_im[[1]]),colormode = "color")
183 result = data.frame(pixel_counting_R_f(HSV_filtered_im,im_RGB),pixel_counting_ilastik_f(ilastik_
       export,HSV_filtered_im))
184
```

B.2. RGB zu HSV Konvertierung

```
1 library(EBImage)
 2
 3 setwd("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/Images/Tiff")
 4
 5 datei_liste = list.files("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/Images/Tiff",
       pattern = ".tif")
 6
 7 bild_liste = lapply(datei_liste,readImage)
 8
 9 beschneiden = function(bild){
       message("Beschneide Bild")
10
11
       bild=bild[1000:3800,0:2600,1:3]
12 }
13
14 lapply(bild_liste,beschneiden)
15
16 RGBToHSVconversion = function(img){
17
       imgHSV=imageData(img)
18
       imgR=as.vector(img[,,1])
19
       imgG=as.vector(img[,,2])
20
       imgB=as.vector(img[,,3])
21
22
       message("Finde Maximal und Minimalwerte")
23
       Max_rgb=apply(cbind(imgR,imgG,imgB),1,max)
24
       Min_rgb=apply(cbind(imgR,imgG,imgB),1,min)
25
26
      delta = Max_rgb - Min_rgb
27
       s = Max_rgb - Min_rgb
28
       v = Max_rgb
29
       h = rep(0,length(Max_rgb))
30
31
       message("Pruefe auf Rote Pixel")
32
       k=which(imgR==Max_rgb)
33
       h[k] = 60 \star ((imgG[k] - imgB[k])/delta[k])
34
35
       message("Pruefe auf Gruene Pixel")
36
       k=which(imgG==Max_rgb)
37
       h[k] = 60 \star (2 + (imgB[k] - imgR[k]) / delta[k])
38
39
       message("Pruefe auf Blaue Pixel")
40
       k=which(imgB==Max_rgb)
41
       h[k] = 60 \star (4 + (imgR[k] - imgG[k]) / delta[k])
42
43
       message("Pruefe auf Hue gleich 0")
44
       k=which(Max_rgb==Min_rgb)
45
       h[k]=0
46
```

```
47
       message("Pruefe auf Hue kleiner 0")
48
       k = which(h < 0)
49
       h[k] = h[k] + 360
50
51
       message("Berechne Saturation")
52
       k=which(Max_rgb==0)
53
       s[k]=0
54
55
       s=s/Max_rqb
56
57
       message("Erstelle Bild")
58
       imgHSV[,,1]=as.integer(h)
59
       imgHSV[,,2]=s
60
       imgHSV[,,3]=v
61
       imgHSV
62
63 }
64
65 conversion_liste = lapply(bild_liste,RGBToHSVconversion)
66
67 filenameHue = rep(0, length(datei_liste))
68 filenameSat = rep(0, length(datei_liste))
69 filenameVal = rep(0, length(datei_liste))
70
71 for (m in 1:length(datei_liste)){
     filenameHue[m] = paste0("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/CSV/Raw/Hue/",names
          (datei_liste)[m],"_Hue.csv")
73
     filenameSat[m] = paste0("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/CSV/Raw/Sat/",names
          (datei_liste)[m],"_Sat.csv")
74
     filenameVal[m] = paste0("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/CSV/Raw/Val/",names
          (datei_liste)[m],"_Val.csv")
75 }
76
77 for (l in 1:length(conversion_liste)){
78
     message(paste0("Write ", filenameHue[1]))
79
     write.csv(conversion_liste[[1]][,,1],filenameHue[1])
80
     message(paste0("Write ", filenameSat[1]))
81
     write.csv(conversion_liste[[1]][,,2],filenameSat[1])
82
     message(paste0("Write ", filenameVal[1]))
83
     write.csv(conversion_liste[[1]][,,3],filenameVal[1])
```

84 }

B.3. Histogramm Analyse

```
1 setwd("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/CSV/Raw/")
 3 datei_list_hue = list.files("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/CSV/Raw/Hue/")
 4 datei_list_sat = list.files("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/CSV/Raw/Sat/")
 5 datei list val = list.files("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/CSV/Raw/Val/")
 6
 7 get_counts_hue = function(liste,c1,c2){
 8
     liste = lapply(liste[c(c1:c2)], read.csv)
 9
     for (i in 1:length(liste)) {
10
      liste[[i]] = liste[[i]][-1]
11
     }
12
     werte = as.vector(unlist(liste))
13
     werte = hist(werte, breaks = c(-1:360))$counts
14
     werte
15 \}
16 get_counts_sat = function(liste,c1,c2) {
17
     liste = lapply(liste[c(c1:c2)], read.csv)
18
    for (i in 1:length(liste)) {
19
      liste[[i]] = liste[[i]][-1]
20
    }
21
     werte = as.vector(unlist(liste))
22
     werte = hist(werte, breaks = c(seq(-0.05, 1, 0.05)))$counts
2.3
     werte
24 }
25
26 setwd("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/CSV/Raw/Hue/")
27 hue_counts = get_counts_hue(datei_list_hue,0,length(datei_list_hue))
28 setwd("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/CSV/Raw/Sat/")
29 sat_counts = get_counts_sat(datei_list_sat,0,length(datei_list_sat))
30
31 mean_counts_hue = hue_counts/length(datei_list_hue)
32 mean_counts_sat = sat_counts/length(datei_list_sat)
33
34 \text{ nPix} = 2801 \star 2601
35 meanFreqHuePerAngle = as.vector(mean_counts_hue)
36 meanFreqSat = as.vector(mean_counts_sat)
37
38 png(file = "C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/Figures/MeanHueFreq.png", width =
       600, height = 350)
39 plot( x=seq(0,360,1),
40
         y=100*meanFreqHuePerAngle/nPix,
41
         ty="1",
42
         col="blue",
43
         lwd=2,
44
         main="Hue Distribution",
45
         xlab="Hue [Grad]",
46
         ylab="Relative Frequency [%/Grad]",
```

```
47
       xlim = c(0, 360),
48
        ylim=c(-5,15)
49
     )
50 \text{ dev.off()}
51
52 png(file = "C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/Figures/MeanSatFreq.png", width =
       600, height = 350)
53 plot( x=c(seq(0.0,1,0.05)),
       y=100*meanFreqSat/nPix,
54
        ty="l",
55
56
        col="blue",
57
         lwd=2,
58
       main="Saturation Distribution",
59
       xlab="Saturation ",
60
        ylab="Relative Frequency [%]",
61
        xlim = c(0, 1),
62
        ylim=c(-5,40)
63)
64 dev.off()
```

B.4. Bland-Altman-Plot

```
1 library(blandr)
 2 library(plyr)
 3 library(ggplot2)
 4
 5 setwd("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/03 Outcome/")
 6 dirCSV = paste0("03 Error Classification/")
 7 filenames = list.files(dirCSV,pattern = ".csv")
 8
 9 list_dataframes = llply(paste0(dirCSV,filenames),read.csv)
10 dat = join_all(list_dataframes, by = "Bild")
11
12 dat = dat[,-grep("Datum...Zeit", colnames(dat))]
13 error1_il = dat[,grep("Fehler.1..Art.Ilastik",colnames(dat))]
14 error2_il = dat[,grep("Fehler.2..Art.Ilastik",colnames(dat))]
15 error1_r = dat[,grep("Fehler.1..Art.R",colnames(dat))]
16 error2_r = dat[,grep("Fehler.2..Art.R",colnames(dat))]
17
18 ba_error1 = blandr.statistics(rowMeans(error1_il),rowMeans(error1_r))
19 ba_error2 = blandr.statistics(rowMeans(error2_il),rowMeans(error2_r))
20
21 plot_data_error1= data.frame(ba_error1$means,ba_error1$differences)
22 colnames(plot_data_error1)[1]="x.axis"
23 colnames(plot_data_error1)[2]="y.axis"
2.4
25 plot_data_error2 = data.frame(ba_error2$means,ba_error2$differences)
26 colnames(plot_data_error2)[1]="x.axis"
27 colnames(plot_data_error2)[2]="y.axis"
28
29
30 png("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/Text/pic/ba_error1.png",
31
       width = 1240,
32
       height = 877)
33
34 ggplot(plot_data_error1,aes(x=plot_data_error1$x.axis,y=plot_data_error1$y.axis))+
35
     geom_point(size = 4) +
36
     geom_hline(yintercept = 0, size = 1) +
37
     geom_hline(yintercept = ba_error1$upperLOA, size = 1, linetype = 2, color = "#33FF99")+
38
     annotate("text",
39
              x = (max(plot_data_error1$x.axis)-3),
40
              y = (ba_error1$upperLOA+2),
41
              label = "upper LoA",
42
              color = "#33FF99",
43
              size = 10) +
44
     geom_hline(yintercept = ba_error1$lowerLOA, size = 1, linetype = 2, color = "#FF9999")+
45
     annotate("text",
46
              x = (max(plot_data_error1$x.axis)-3),
47
              y = (ba_error1$lowerLOA-3),
```

```
48
              label = "lower LoA",
49
               color = "#FF9999",
50
               size = 10)+
51
     geom_hline(yintercept = ba_error1$bias, size = 1, linetype = 4, color = "#6699FF")+
52
     geom_smooth(method = "lm", se = T)+
53
     labs(x = expression("Mittelwerte (S"['1'] \star" - S"['2'] \star")/2"),
54
          y = expression("Differenzen S"['1']*"- S"['2']*""),
55
          title = expression("Vergleich Fehler erster Art ilastik (S"['1']*") - und R (S"['2']*") -
               Segmentierung"))+
56
     scale_x_continuous(breaks = seq(-50, 50, 2.5)) +
57
     scale_y_continuous(breaks = seq(-50, 100, 5)) +
58
     theme_light(base_size = 30)
59
60 dev.off()
61
62 png("C:/Users/Bachelor/Nextcloud/Bachelorarbeit 2019/Files/Text/pic/ba_error2.png",
63
       width = 1240,
64
       height = 877)
65
66 ggplot(plot_data_error2,aes(x=plot_data_error2$x.axis,y=plot_data_error2$y.axis))+
67
     geom_point(size = 4) +
68
     geom_hline(yintercept = 0, size = 1)+
69
     geom_hline(yintercept = ba_error2$upperLOA, size = 1, linetype = 2, color = "#33FF99")+
70
     annotate("text",
71
              x = (max(plot_data_error2$x.axis)-3),
72
              y = (ba\_error2$upperLOA+5),
73
              label = "upper LoA",
74
              color = "#33FF99",
75
               size = 10) +
     geom_hline(yintercept = ba_error2$lowerLOA, size = 1, linetype = 2, color = "#FF9999")+
76
77
     annotate("text",
78
              x = (max(plot_data_error2$x.axis)-3),
79
              y = (ba_error2$lowerLOA-3),
80
              label = "lower LoA",
81
              color = "#FF9999",
82
               size = 10)+
     geom_hline(yintercept = ba_error2$bias, size = 1, linetype = 4, color = "#6699FF")+
83
84
     geom_smooth(method = "lm", se = T)+
85
     labs(x = expression("Mittelwerte (S"['1'] \star" - S"['2'] \star")/2"),
86
          y = expression("Differenzen S"['1']*"- S"['2']*""),
87
          title = expression("Vergleich Fehler zweiter Art ilastik (S"['1']*") - und R (S"['2']*") -
               Segmentierung")
88
          ) +
89
     scale_x_continuous(breaks = seq(0,90,5))+
90
     scale_y_continuous(breaks = seq(-50,100,5))+
91
     theme light (base size = 30)
92
93 dev.off()
```
C. Tabellen

C.1. Rindermuskel Zuordnung

Tier Code	Anzahl Muskeln	ECR	FCR	EDC	FCU	EDL	FL	FT	FHL	SSP	SCH	PSO
D8	3	x	x	x								
O2	3	х	х	х								
J1	2					x	x					
H0	3						x	x	x			
N6	3	x	x	x								
C5	3	х	х	х								
P0	3	x	x	x								
V5	1									x		
Т8	2	x?	x	x								
K9	2		x	x								
F1	1										x	
J6	3	х	х	х								
B8	1									x		
S9	3	x	x	x								

Tier Code	Anzahl Muskeln	ECR	FCR	EDC	FCU	EDL	FL	FT	FHL	SSP	SCH	PSO
H7	3	x	x	x								
A0	1										х	
V9	3						x	x	x			
P3	3						x	x	x			
C0	1											x
Y8	1									x		
R6	3						x	x	x			
G2	1										х	
S7	1											x
U1	1											x

Tabelle 7 fortgeführt von vorheriger Seite

Tabelle 7.: Detaillierte Auflistung entnommener Rindermuskeln: Extensor Carpi Radialis – ECR; Flexor Carpi Radialis – FCR; Extensor Digitorum Communis – EDC; Flexor Carpi Ulnaris – FCU; Extensor Digitorum Lateralis – EDL; Fibularis Longus – FL; Flexor Hallucis Longus – FHL; Fibularis Tertius – FT; Supraspinatus – SSP; Schaufelstück – SCH; Ileopsoas – PSO

Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_C0-PSO-2_30-08-19_pixels.csv	3854884	2573346	314626	2258720	12,22634	1630718	63,36956
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_C5-EDC-1_27-08-19_pixels.csv	475440	328795	50722	278073	15,42663	102060	31,04062
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_C5-EDC-2_27-08-19_pixels.csv	2196887	1482688	141669	1341019	9,554876	383492	25,86465
	1			[1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_C5-EDC-3_27-08-19_pixels.csv	1132485	777274	118091	659183	15,19297	225096	28,95967
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_C5-FCR-1_27-08-19_pixels.csv	1427061	863185	63168	800017	7,318014	204767	23,72226
	T			1			
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_C5-FCR-2_27-08-19_pixels.csv	1471594	851010	72876	778134	8,563472	369706	43,4432
r							
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_C5-FCR-3_27-08-19_pixels.csv	887658	541932	51488	490444	9,500823	246977	45,57343
r							
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_D8-ECR-3_20-08-19_pixels.csv	2876490	2050003	249253	1800750	12,15867	713663	34,81278
r							
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_D8-EDC-1_21-08-19_pixels.csv	1204804	830823	126901	703922	15,27413	370322	44,57291
	T			Γ	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_D8-EDC-2_21-08-19_pixels.csv	1337714	970497	77190	893307	7,953657	232567	23,9637
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_D8-EDC-3_21-08-19_pixels.csv	837434	570099	56112	513987	9,842501	216821	38,03217
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_D8-FCR-1_20-08-19_pixels.csv	1596736	1066470	115804	950666	10,85863	353420	33,13924
		Construction And the Distribution				Division of the state	
	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	IVIUSKEI_KOT_PIXEL_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_D8-FCR-2_20-08-19_pixels.csv	1248720	813133	95715	717418	11,/7114	272508	33,51334
Dec. II		Constant Market R. J.				D'ada a ala da di	
	Gesamt_Pixel	Gesamter_IVIUSKEI_PIXEI	BINDEGEWEDE_R	IVIUSKEI_KOT_PIXEL_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_F1-SCH-3_30-08-19_pixels.csv	3627900	2672386	449584	2222802	16,82332	1380338	51,65189

Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_G2-SCH-1_30-08-19_pixels.csv	2811801	2050705	321360	1729345	15,67071	1007759	49,14208
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H0-FHL-1_28-08-19_pixels.csv	440100	245616	54841	190775	22,32794	120340	48,99518
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H0-FHL-2_28-08-19_pixels.csv	1406160	691546	115780	575766	16,7422	306710	44,35135
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H0-FHL-3_28-08-19_pixels.csv	982800	650777	98014	552763	15,06107	235356	36,16538
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H0-FL-1_28-08-19_pixels.csv	636906	425400	265546	159854	62,42266	397854	93,52468
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H0-FL-2_28-08-19_pixels.csv	1155996	653405	184899	468506	28,29776	328902	50,33662
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H0-FL-3_28-08-19_pixels.csv	790438	560631	130979	429652	23,36278	370688	66,11978
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H7-ECR-3_02-09-19_pixels.csv	2485000	1463301	191462	1271839	13,08425	1019557	69,67514
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H7-EDC-1_02-09-19_pixels.csv	854345	590432	139228	451204	23,5807	316118	53,54012
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H7-EDC-2_02-09-19_pixels.csv	911628	723873	72129	651744	9,964317	368190	50,86389
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H7-EDC-3_02-09-19_pixels.csv	596250	404901	55216	349685	13,63691	207837	51,33033
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H7-FCR-1_02-09-19_pixels.csv	474394	288557	78619	209938	27,24557	185395	64,249
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H7-FCR-2_02-09-19_pixels.csv	1118016	760083	140657	619426	18,50548	394672	51,92486
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS H7-ECR-3 02-00-10 pixels csv	815576	428091	83598	3///93	19 52809	251644	58 78283

Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H7-FCU-1_02-09-19_pixels.csv	683280	490647	102580	388067	20,90709	196407	40,03021
	1			T	1		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H7-FCU-2_02-09-19_pixels.csv	1519104	1144337	178826	965511	15,62704	336619	29,41607
	1						
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_H7-FCU-3_02-09-19_pixels.csv	10/1640	/815/3	165990	615583	21,23794	269048	34,42391
Docult	Cocomt Divol	Cocomtor Muckol Divol	Pindogowaha P	Muckel Det Divel D	Prozontuala Dival D	Pindogowoho ilastik	Drozontuala Dival ilastik
NARME II EDI 1 02 00 10 pixole est	1192111			IVIUSKEI_KOL_PIXEI_K		DITUEgewebe_IIdStik	
WARWS_JI-EDL-1_02-09-19_pixels.csv	1102111	/45/55	244445	499292	52,00095	504787	07,07109
Result	Gesamt Pixel	Gesamter Muskel Pixel	Bindegewehe B	Muskel Rot Pixel R	Prozentuale Pixel R	Bindegewebe ilastik	Prozentuale Pixel ilastik
MARMS J1-EDL-2 02-09-19 pixels.csv	990569	647915	148951	498964	22.98928	426280	65.79258
					,		,
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_J1-EDL-3_02-09-19_pixels.csv	1165180	701115	136009	565106	19,39896	469963	67,0308
	•				·		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_J1-FL-1_02-09-19_pixels.csv	1076691	593912	273269	320643	46,0117	508392	85,60056
	1			T	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_J1-FL-2_02-09-19_pixels.csv	1062315	789591	140474	649117	17,79073	515726	65,31559
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_J1-FL-3_02-09-19_pixels.csv	798161	52/142	91558	435584	17,36875	312427	59,26809
Pocult	Cosamt Divol	Cocomtor Muckol Divol	Pindogowoho P	Muckal Pat Dival P	Prozontuala Dival P	Pindogowobo ilastik	Prozontualo Divol ilastik
MARMS 16-ECP-3 28-08-19 pixels csv	2522650	Gesainter_Wusker_Pixer	DITUEgewebe_K	1638505	11 50071	520250	21 2/6/8
MARINS_30-LCR-5_28-08-13_pixels.csv	2333030	1001400	212920	1038505	11,500/1	580555	51,54048
Result	Gesamt Pixel	Gesamter Muskel Pixel	Bindegewebe R	Muskel Rot Pixel R	Prozentuale Pixel R	Bindegewebe ilastik	Prozentuale Pixel ilastik
MARMS J6-EDC-1 28-08-19 pixels.csv	1274400	796347	187456	608891	23.53949	262519	32.9654
					- /		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_J6-EDC-2_28-08-19_pixels.csv	1257684	932689	77964	854725	8,359056	199126	21,34967
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_J6-EDC-3_28-08-19_pixels.csv	747400	535015	60020	474995	11,21838	117430	21,94892
	1	1		ſ	1		,
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_J6-FCR-1_28-08-19_pixels.csv	1241240	659976	94328	565648	14,29264	226457	34,31291

Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_J6-FCR-2_28-08-19_pixels.csv	1312690	879488	78553	800935	8,931674	205229	23,33505
				1	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_J6-FCR-3_28-08-19_pixels.csv	899969	693395	50452	642943	7,276084	136479	19,68272
				1	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_K9-EDC-1_02-09-19_pixels.csv	573480	429814	92128	337686	21,43439	143165	33,30859
				1	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_K9-EDC-2_02-09-19_pixels.csv	954200	668617	156765	511852	23,44616	282243	42,21296
	•						
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_K9-EDC-3_02-09-19_pixels.csv	399093	271748	42274	229474	15,55632	111271	40,94639
	1			T	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_K9-FCR-1_02-09-19_pixels.csv	876000	361651	122684	238967	33,92331	172778	47,77479
	1	1		1	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_K9-FCR-2_02-09-19_pixels.csv	597632	437806	68604	369202	15,66995	144518	33,0096
				1	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_K9-FCR-3_02-09-19_pixels.csv	384564	295668	57133	238535	19,32336	109545	37,05
				1	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_N6-ECR-3_22-08-19_pixels.csv	2496030	1609880	183638	1426242	11,40694	416353	25,86236
				1	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_N6-EDC-1_22-08-19_pixels.csv	1418536	891409	150099	741310	16,8384	461699	51,79429
				1	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_N6-EDC-2_22-08-19_pixels.csv	1114666	854744	71183	783561	8,327991	383834	44,90631
	1	1		1	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_N6-EDC-3_22-08-19_pixels.csv	817548	561864	92575	469289	16,47641	317542	56,51581
L	1	1		1	1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_N6-FCR-1_22-08-19_pixels.csv	736813	527126	46594	480532	8,839253	234195	44,42866
	I	[]		I	T		I
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_N6-FCR-2_22-08-19_pixels.csv	753312	458041	75330	382711	16,44613	265135	57,88456

Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_N6-FCR-3_22-08-19_pixels.csv	530877	324937	48266	276671	14,85396	118809	36,5637
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_O2-ECR-2_21-08-19_pixels.csv	3341882	2559161	407150	2152011	15,90951	1428968	55,83736
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_02-EDC-1_22-08-19_pixels.csv	1049049	744018	211731	532287	28,45778	483748	65,01832
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_O2-EDC-2_22-08-19_pixels.csv	1224465	816066	133534	682532	16,36314	498094	61,03599
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_02-EDC-3_22-08-19_pixels.csv	694375	512823	140728	372095	27,44183	316011	61,62185
	-			-			
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_O2-FCR-1_22-08-19_pixels.csv	948960	732412	260610	471802	35,58243	395515	54,00171
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_O2-FCR-2_22-08-19_pixels.csv	1043008	751969	129394	622575	17,20736	322888	42,939
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_P0-EDC-1_27-08-19_pixels.csv	1441440	939235	169602	769633	18,05746	280152	29,82768
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_P0-EDC-2_27-08-19_pixels.csv	2098096	1447088	186647	1260441	12,89811	338365	23,38248
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_P0-EDC-3_27-08-19_pixels.csv	1309505	934311	87906	846405	9,408644	249473	26,70128
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_P0-FCR-1_27-08-19_pixels.csv	1548089	742038	68068	673970	9,173115	205084	27,63794
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_P0-FCR-2_27-08-19_pixels.csv	1309689	810562	60200	750362	7,426946	148486	18,31889
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_P0-FCR-3_27-08-19_pixels.csv	662106	482722	25285	457437	5,238004	107681	22,30704
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS P3-FHL-1 29-08-19 pixels.csv	366224	264792	49484	215308	18,68788	270651	102,2127

Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_P3-FHL-2_29-08-19_pixels.csv	1242912	826871	141553	685318	17,11912	643470	77,81988
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_P3-FHL-3_29-08-19_pixels.csv	1276240	915704	256328	659376	27,99245	664000	72,51251
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_P3-FL-1_29-08-19_pixels.csv	1198322	583838	231825	352013	39,70708	497890	85,27879
	1			ſ	1	r	
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_P3-FL-2_29-08-19_pixels.csv	854604	659774	146264	513510	22,1688	456450	69,18278
	•						
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_P3-FL-3_29-08-19_pixels.csv	627300	410561	53273	357288	12,97566	348917	84,98542
	1			ſ	1	r	
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_P3-FT-3_29-08-19_pixels.csv	3244816	2335472	419397	1916075	17,9577	1480855	63,4071
	1			1	1	1	
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_R6-FHL-1_29-08-19_pixels.csv	332100	216200	90424	125776	41,82424	279703	129,3723
	•						
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_R6-FHL-2_29-08-19_pixels.csv	979168	730522	147767	582755	20,22759	604909	82,80504
	•						
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_R6-FHL-3_29-08-19_pixels.csv	1182360	720906	222150	498756	30,81539	724489	100,497
	•						
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_R6-FL-1_29-08-19_pixels.csv	574770	335747	82886	252861	24,68704	336764	100,3029
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_R6-FL-2_29-08-19_pixels.csv	741608	517642	112989	404653	21,82763	466734	90,1654
	•						
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_R6-FL-3_29-08-19_pixels.csv	668913	385290	65321	319969	16,95372	285799	74,17763
	1			1	1	1	
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_R6-FT-3_29-08-19_pixels.csv	2478524	1796515	544701	1251814	30,31987	848442	47,2271
	•			1			
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S7-PSO-1_30-08-19_pixels.csv	2678800	1590445	390089	1200356	24,52703	1068413	67,17699

Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S7-PSO-3_30-08-19_pixels.csv	3070665	2274208	517474	1756734	22,75403	1669053	73,39052
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S9-ECR-1_28-08-19_pixels.csv	3460788	2213541	268580	1944961	12,1335	1267062	57,24141
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S9-ECR-2_28-08-19_pixels.csv	2604936	1803408	249028	1554380	13,80874	952010	52,7895
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S9-ECR-3_28-08-19_pixels.csv	1935174	1090809	144744	946065	13,26942	636705	58,36998
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S9-EDC-1_28-08-19_pixels.csv	1298248	948470	132342	816128	13,95321	375733	39,61464
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S9-EDC-2_28-08-19_pixels.csv	1161250	883886	127748	756138	14,453	572999	64,82725
	•						
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S9-EDC-3_28-08-19_pixels.csv	714792	575802	112965	462837	19,61872	411396	71,44748
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S9-FCR-1_28-08-19_pixels.csv	1034299	676019	125858	550161	18,61752	306017	45,26751
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S9-FCR-2_28-08-19_pixels.csv	868344	553146	85383	467763	15,43589	367903	66,51101
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S9-FCR-3_28-08-19_pixels.csv	506018	326333	68735	257598	21,06284	228467	70,01039
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S9-FCU-1_02-09-19_pixels.csv	968924	670166	181669	488497	27,10806	236078	35,22679
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S9-FCU-2_02-09-19_pixels.csv	1628676	1068288	228625	839663	21,40106	369609	34,59825
	<u> </u>				·		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_S9-FCU-3_02-09-19_pixels.csv	1147562	706095	125793	580302	17,81531	250103	35,42059
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_T8-ECR-1_27-08-19_pixels.csv	1356750	813447	113483	699964	13,95088	233659	28,72455

Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_T8-ECR-2_27-08-19_pixels.csv	1288690	881692	130018	751674	14,74642	260934	29,59469
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_T8-ECR-3_27-08-19_pixels.csv	907200	644133	108056	536077	16,77542	187350	29,08561
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_T8-EDC-1_28-08-19_pixels.csv	554177	340832	93750	247082	27,50622	155070	45,49749
	T			[1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_T8-EDC-2_28-08-19_pixels.csv	823255	566419	54652	511767	9,648688	160335	28,30678
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_T8-EDC-3_28-08-19_pixels.csv	528220	348317	48982	299335	14,06248	119029	34,17261
	1			1			
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_T8-FCR-1_28-08-19_pixels.csv	497065	385014	67380	317634	17,50066	147150	38,21939
	I						
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_T8-FCR-2_28-08-19_pixels.csv	1119711	616710	82634	534076	13,39917	173855	28,19072
r					1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_T8-FCR-3_28-08-19_pixels.csv	452592	313386	32713	280673	10,43856	89559	28,57786
r					1		
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_U1-PSO-1_30-08-19_pixels.csv	2052036	1389643	169843	1219800	12,22206	782025	56,27524
	1	[Г			
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_U1-PSO-2_30-08-19_pixels.csv	4142502	2796521	920237	1876284	32,90649	1549357	55,40302
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_V5-SSP-1_30-08-19_pixels.csv	2738856	1642722	224539	1418183	13,66872	995661	60,61044
			<u></u>				
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_V5-SSP-2_30-08-19_pixels.csv	3886800	2806267	432048	2374219	15,39583	1416899	50,49053
		Construction And the Distribution	Distant C				
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_V5-SSP-3_30-08-19_pixels.csv	2970847	2057421	156599	1900822	7,611422	1263964	61,43439
Dec 1		Constant Market R. J.	Distance shares			D'ada a da da di	
	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	IVIUSKEI_ROT_PIXEL_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
INIAKINIS_V9-FHL-1_29-08-19_pixels.csv	363075	196577	40227	156350	20,46374	116/01	59,36656

Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_V9-FHL-2_29-08-19_pixels.csv	1018806	573349	70634	502715	12,31955	367255	64,05435
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_V9-FHL-3_29-08-19_pixels.csv	1192113	597078	113930	483148	19,08126	425574	71,27611
		1					1
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_V9-FL-1_28-08-19_pixels.csv	484276	354376	59941	294435	16,91452	278072	78,46807
	1	Γ		•			1
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_V9-FL-2_28-08-19_pixels.csv	1292577	843337	405525	437812	48,08576	661130	78,39452
	1	1					
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_V9-FL-3_28-08-19_pixels.csv	1133538	841626	217949	623677	25,89618	573364	68,12575
	1	1					
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_V9-FT-3_29-08-19_pixels.csv	3043983	2308780	485050	1823730	21,00893	1370267	59,35026
	1	1					
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_Y8-SSP-1_30-08-19_pixels.csv	2951361	1965870	391606	1574264	19,92024	1491970	75,89362
	-			-			
Result	Gesamt_Pixel	Gesamter_Muskel_Pixel	Bindegewebe_R	Muskel_Rot_Pixel_R	Prozentuale_Pixel_R	Bindegewebe_ilastik	Prozentuale_Pixel_ilastik
MARMS_Y8-SSP-2_30-08-19_pixels.csv	3403541	2621921	503008	2118913	19,18471	1265943	48,28303