

Das Zeitalter der digitalen (Dermato-)Pathologie bricht an

Mit der Digitalisierung von Gewebeschnitten hat in der pathologischen Diagnostik ein neues Zeitalter begonnen. Anhand von digitalisierten Schnittpräparaten öffnen sich in der morphologischen Diagnostik die neuen Welten der digitalen Bildanalyse und der künstlichen Intelligenz. Diese neuen Methoden werden in Zukunft die Diagnostik in Richtung der Präzisionspathologie entwickeln.

RAINER GROBHOLZ

SZO 2021; 4: 20–24.



Rainer Grobholz

Die konventionelle Lichtmikroskopie von Krankheiten ist seit Rudolf Virchow der Goldstandard in der integrativen Diagnostik, insbesondere von Hautkrankheiten. Eine gründliche Anamnese, gefolgt von einer körperlichen Untersuchung in einem gut ausgeleuchteten Untersuchungszimmer zur Beurteilung und Erfassung von spezifischen Eigenschaften einer Hautläsion, gegebenenfalls mit nachfolgender bioptischer Diagnostik, stellt einen elementaren Grundpfeiler in der dermatologischen Diagnostik dar. Während viele Diagnosen allein klinisch gestellt werden können, basieren jedoch einige entweder auf der Kombination aus Klinik und morphologischem Bild oder sogar aus der Morphologie allein. Anders als in der Labormedizin ist die Diagnostik in der Dermatopathologie umfassender, da die Beurteilung der Morphologie und die Interpretation im nosologischen Gesamtkontext des Patienten entscheidend sind.

Der technische Fortschritt in den diagnostischen Disziplinen hat in den vergangenen Jahren stetig zugenommen, insbesondere bei den apparativen Untersuchungsmethoden. In der Pathologie finden sich die Automatisierungsprozesse im Wesentlichen in der Probenverarbeitung und in der Färbung von Schnittpräparaten. Die morphologische Betrachtung

und Beurteilung von mikroskopischen Gewebeschnitten ist nach wie vor eine menschliche ärztliche Leistung, und eine Digitalisierung der Diagnostik war in der Vergangenheit in weiter Ferne. In den letzten Jahren jedoch hat sich die Digitalisierung von histologischen Schnitten durch spezialisierte Schnittscanner stark entwickelt, und für die Mikroskopie konnten digitale Systeme für den Routinealltag entwickelt werden (1). Was zuallererst in der universitären Lehre als Mikroskopierkurs mit virtuellen Schnitten ohne Mikroskop für Studierende der Medizin begann, hat inzwischen aufgrund des Fortschritts in der Scannertechnologie Systeme für die Alltagsdiagnostik hervorgebracht.

Der heute übliche Begriff der «digitalen Pathologie» bezeichnet die Digitalisierung der Glasobjektträger mit den gefärbten Geweben mittels eines Scanners, welche anschliessend im Dateiformat als virtuelle Schnittpräparate zur Verfügung stehen und auf Servern gespeichert werden können. Mittels einer speziellen Software können diese Scans dann aufgerufen und in einem Viewer wie unter einem Mikroskop bei verschiedenen Vergrößerungen begutachtet und befundet werden (2). In verschiedenen Studien konnte die Gleichwertigkeit der digitalen Befundung gegenüber der konventionellen Befundung am Mikroskop nachgewiesen werden (3). Auch in der Dermatopathologie fand sich eine Gleichwertigkeit in der Diagnostik für melanozytäre und nicht melanozytäre Tumoren sowie für entzündliche Hauterkrankungen (4, 5). Die Effektivität erreicht bei entsprechender Übung das Niveau der konventionellen Mikroskopie, das heisst, in der gleichen Zeiteinheit können mit beiden Methoden gleich viele Fälle begutachtet werden (4). Die offizielle Anerkennung des Einsatzes

ABSTRACT

The age of digital (dermato-) pathology is dawning

The digitization of tissue sections has initiated a new era in pathological diagnostics. Digitized tissue sections open up a new world of digital image analysis and artificial intelligence in morphological diagnostics. These new methods will develop morphological diagnostics in the direction of precision pathology in the future.

Keywords: Digital Pathology, Digital image analysis, Artificial intelligence.

der ersten digitalen Pathologiesysteme im diagnostischen Alltag erfolgte in Europa durch die Europäische Union mittels der CE-IVD-Zertifizierung bereits 2013 (1). In den Folgejahren kamen zahlreiche andere Systeme hinzu (6).

Änderungen im Workflow

Die digitale Pathologie für die Routinediagnostik beinhaltet jedoch deutlich mehr als das alleinige Scannen von Objektträgern. Die Digitalisierung bedeutet auch eine Anpassung und gegebenenfalls eine Umstellung des Arbeitsflusses im Labor und bei der Befundung. Auch die Auswahl von geeigneten Scannern hinsichtlich der gewünschten Funktionen und des Einsatzes stellt einen wichtigen Punkt dar. Gerade bei den Scannern ist es wichtig, die richtige Anzahl und Qualität von Geräten zu finden, welche die anfallenden Mengen an Schnittpräparaten in möglichst kurzer Zeit mit möglichst bester Auflösung und möglichst kleinster Dateigröße scannen. Neben der Geschwindigkeit und der Dateigröße spielt vor allem die Gewebeerkennung eine grosse Rolle. Abhängig von der Gewebequalität, den Färbeprotokollen und der nachfolgenden Intensität der Färbung der Gewebe kann es unter Umständen zu Schwierigkeiten bei der Gewebeerkennung beim Scanprozess kommen. Als Paradebeispiel kann Fettgewebe genannt werden, welches aufgrund seiner natürlichen Eigenschaften nach der Prozessierung nur wenig Farbe aufnehmen kann und daher von manchen Scannern nur schwer als Gewebe erkannt und unvollständig gescannt wird (Abb. 1). Eine genaue Einstellung des Gerätes und gegebenenfalls eine Anpassung der Färbe-/Schneideprotokolle sind in diesen Fällen unumgänglich. Die mittlere Scanzeit für Präparate von Hautbiopsien liegt bei den derzeit erhältlichen Scannern bei < 1 Minute. Hierbei sollte jedoch beachtet werden, dass die Gesamtscanzeit sich nicht allein auf den Scanvorgang bezieht; die Gesamtzeit umfasst: 1) Objektträger in die Racks für den Scanner sortieren und Racks einsetzen, 2) Scanner starten (ggf. initia-

lisieren, Rack/Schnitt bezeichnen, Scanprofil wählen, Wechselzeiten zwischen den Schnitten und den Racks) und 3) Schnittentnahme und Neubeschickung. Durch diese vor- und nachgeschalteten Arbeitsprozesse kann sich die Gesamtscanzeit teilweise deutlich verlängern.

Im Labor selbst bedeutet die Umstellung auf einen Workflow mit digitaler Pathologie, dass Barcode-kodierte Objektträger verwendet werden müssen, eine gute Schnittqualität und qualitativ gute Färbung vorliegt, und dass das Gewebe in der Mitte der Objektträger zu liegen kommt, damit keine Gewebeanteile ausserhalb des Scanbereichs liegen. Um lange Wege zu vermeiden, sollten die Scanner für die zu digitalisierenden Schnitte im Labor an einem nahen, gut zugänglichen Ort lokalisiert sein. Im Falle einer kompletten Digitalisierung kann auf eine Sortierung der Schnitte zu den Fällen verzichtet werden, da die Zuordnung der Schnitte zu den Fällen über die Barcodes der jeweiligen Schnitte erfolgt. Dadurch werden Arbeitskapazitäten freigesetzt, da der gesamte Sortierungsschritt wegfällt.

Am Arztarbeitsplatz erfolgt die Befundung durch das Aufrufen des Falls aus einer Arbeitsliste, welche für jeden befundenden Arzt entweder im Pathologie-Informationssystem oder in der Software der digitalen Pathologiesysteme vorliegt. Anhand dieser Liste ist der Fallstatus jederzeit ersichtlich, und die gescannten Schnitte sind unmittelbar nach dem Scanvorgang einsehbar. Damit erübrigen sich die Wege, den jeweiligen Fall aus dem Labor zu den befundenden Ärzten zu bringen. Durch die Zuordnung der Schnitte mittels Barkodierung sind Schnittverwechselungen ausgeschlossen, was in einer höheren Sicherheit für die Patienten resultiert. Für die Befundung selbst ist eine ausreichend schnelle Datenverbindung zum Server notwendig, damit beim Bildaufbau sowie beim Wechsel zwischen den verschiedenen Objektträgern keine Verzögerungen auftreten.

Die elektronische Befundung bietet alle Vorzüge des objektträgerfreien Arbeitens:

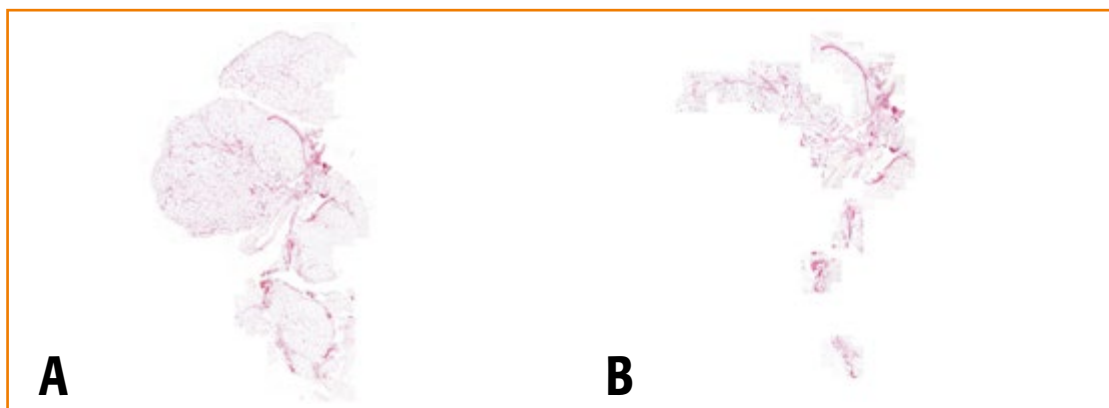


Abbildung: Erkennung von Gewebe beim Scanprozess. **A:** Vollständig erkanntes und gescanntes Fettgewebe. **B:** Unvollständig erkanntes und unvollständig gescanntes Fettgewebe.

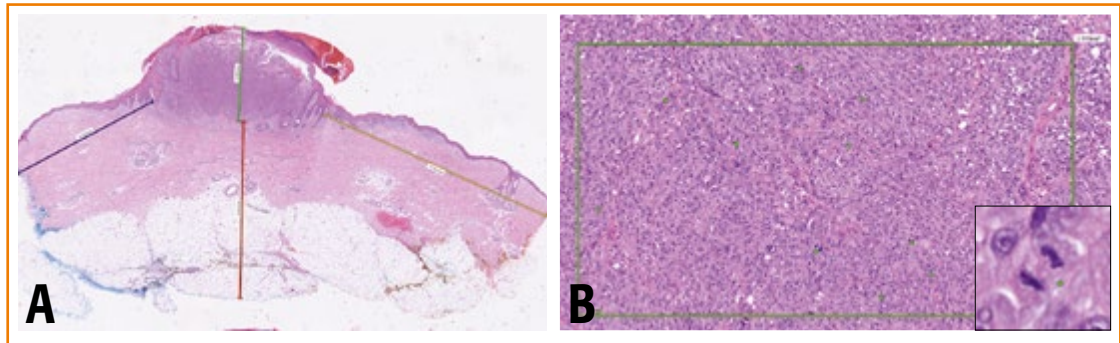


Abbildung 2: Morphometrische Längenbestimmungen bei einem malignen Melanom. **A:** Einfache Bestimmung der Abstände zu den Resektionsrändern und der Tumordicke. **B:** Zählung der Mitosen in einem 1-mm²-Standardareal. Inset: markierte Mitose.

- 1) Die Schnitte sind zu allen Fällen vorhanden.
- 2) Vorbefunde können direkt eingesehen und mit dem aktuellen Befund abgeglichen werden.
- 3) Archivschnitte müssen nicht mehr herausgesucht werden.
- 4) Schnittpräparate gehen nicht mehr verloren.
- 5) Schnittpräparate sind von überall aus einsehbar.
- 6) Eine digitale Bildanalyse ist möglich.

Digitale Bildanalyse (DIA)

Die DIA existiert schon seit den 1980er Jahren (7), aber erst aufgrund der aufgekommenen Möglichkeiten der Digitalisierung von Schnittpräparaten hat das Interesse an der DIA im Bereich der Pathologie in den letzten Jahrzehnten stetig zugenommen. Dies ist auch auf zusätzliche Faktoren zurückzuführen: die Entwicklung neuer Erkennungstechniken, die zunehmende Verfügbarkeit von Rechenleistung, die Fortschritte in der digitalen Bildgebung und die wachsende Bedeutung von Biomarkern (8).

Die DIA verwendet digitale Bilder zur morphometrischen Erfassung bestimmter Parameter wie zum Beispiel Färbeintensitäten, quantitative Parameter oder Längensmasse. Hierfür wird das System auf

den jeweiligen Parameter kalibriert und der Benutzer definiert ausgewählte Bereiche, in denen dann nachfolgende Messalgorithmen ausgeführt werden. Das einfachste Beispiel hierfür ist die Messung von Flächen oder Abständen. In der Dermatopathologie ist dieses Tool besonders hilfreich bei der Bestimmung von Tumordicken, Invasions-tiefen und Abständen zu den Resektionsrändern. Was konventionell mit Mikroskop, Filzschreiber und Messokular (Lineal oder Grid) durchgeführt wird, kann mittels digitaler Pathologie am Bildschirm einfach mit der Computermaus mit hoher Genauigkeit und Reproduzierbarkeit durchgeführt werden (Abb. 2A). Durch die Festlegung von Standardarealen können beispielsweise Mitosen in vorgegebenen Standardarealen einfach ausgezählt werden, anstatt wie im Mikroskop mehrere High Power Fields aufzusuchen (Abb. 2B). Auch die Bestimmung von Biomarkern wie etwa die Expression von Hormonrezeptoren, Her2/neu, PD-L1 oder Ki-67-Proliferationsraten (Abb. 3) ist am digitalen Schnittpräparat einfach, zeitsparend und mit einer höheren Reproduzierbarkeit gesegnet (8). Wie auch bei der Darstellung der virtuellen Schnittpräparate müssen die Bildanalysepro-



Abbildung 3: Automatische Erkennung der Proliferationsrate mit dem Biomarker Ki-67. Der prozentuale Anteil der gefärbten Zellkerne (braun) wird in der markierten Tumorfläche bestimmt.

gramme validiert und für die Primärdiagnostik zertifiziert sein.

Künstliche Intelligenz (AI)

Der «heilige Gral» der digitalen Anwendungen ist die Entwicklung von Algorithmen, die auf maschinellem Lernen basieren und Krankheiten diagnostizieren, prognostizieren und sie von gutartigen und nicht pathologischen Prozessen unterscheiden können. Solche Anwendungen erfordern eine umfangreiche Entwicklung, eine behördliche Aufsicht und kulturelle Akzeptanz, bevor sie zum Mainstream werden können. Eine graduelle Einführung für AI-Anwendungen in der digitalen Pathologie ist daher eine sinnvolle Vorgehensweise.

AI nutzt Computeralgorithmen zur Ausführung von Aufgaben mit menschenähnlicher Intelligenz. Das maschinelle Lernen ist ein Teilbereich der AI, die es Computern ermöglicht, ohne explizite menschliche Programmierung zu lernen, Muster zu erkennen, Vorhersagen zu treffen und sich selbst zu korrigieren, wenn Fehler gemacht werden. Deep Learning ist ein Teilbereich des maschinellen Lernens, der von mehreren Schichten in einem neuronalen Netzwerk abhängt, einem Computeralgorithmus, der eine genaue Erkennung von Bildern, Tönen und Sprache ermöglicht (9).

Diese Programme simulieren neuronale Verbindungen und sind in Schichten organisiert, die in der Lage sind, Datensätze zu klassifizieren, Korrelationen zu entdecken und Erkenntnisse auf neue Datensätze anzuwenden, um Entscheidungen zu treffen (9). Convolutional Neuronal Networks (CNN) sind eine Art von neuronalen Netzen, die speziell auf visuelle Stimuli reagieren, was für die Klassifizierung zweidimensionaler Bild vorteilhaft ist. Wenn Bilder eingegeben werden, werden sie

in Pixel zerlegt, die vom Deep Neuronal Network einzeln analysiert werden, ähnlich wie die Technologie für Gesichtserkennungsanwendungen.

Angesichts der Fähigkeit, komplexe Bildmerkmale zu extrahieren und Vorhersagen ohne menschliche Intervention zu treffen, sind CNN ideal für den diagnostischen Alltag (9).

Eine Hauptkategorie von AI-basierten «Effizienz»-Werkzeugen sind solche, die darauf ausgelegt sind, Fälle histopathologisch vorzusortieren, bevor sie zur Befundung gelangen. Ein Beispiel hierfür ist das Vorscreening von Geweben auf Bereiche, die mit hoher Wahrscheinlichkeit einen bösartigen Befund darstellen (Abb. 4). Die schnelle Lokalisierung von «Hochrisiko»-Bereichen ermöglicht es, die Fälle zügig zu bearbeiten, und könnte sogar die Gesamtgenauigkeit verbessern, da falsch negative Fehlbefunde vermieden werden.

Entsprechende Produkte und Entwicklungen sind für spezialisierte Gewebe (z. B. Prostata oder Mamma) bereits etabliert (10, 11). In der Dermatopathologie sind erste Entwicklungen für Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome, Melanome und entzündliche Hauterkrankungen vorhanden. Mit einer Akkuranz von 99 bis 100% können noduläre Basalzellkarzinome, dermale Naevi und seborrhoische Keratosen mit Hilfe von CNN erkannt werden (12).

Ein ähnliches Vorscreening könnte auch in anderen Bereichen mit hohem Schnittaufkommen, wie zum Beispiel bei Lymphknotendissektionen zur Tumorsuche zum Einsatz kommen. Andere Anwendungsbeispiele sind neben einer Tumorerkennung die Ermittlung des Tumortyps und des Gradings sowie der metrischen Parameter wie Eindringtiefen oder Abstände zu den Resektionsrändern.

In jedem dieser Beispiele sind die Algorithmen jedoch nicht «diagnostisch», das heisst, jeder markierte Bereich muss durch einen Pathologen verifiziert werden.

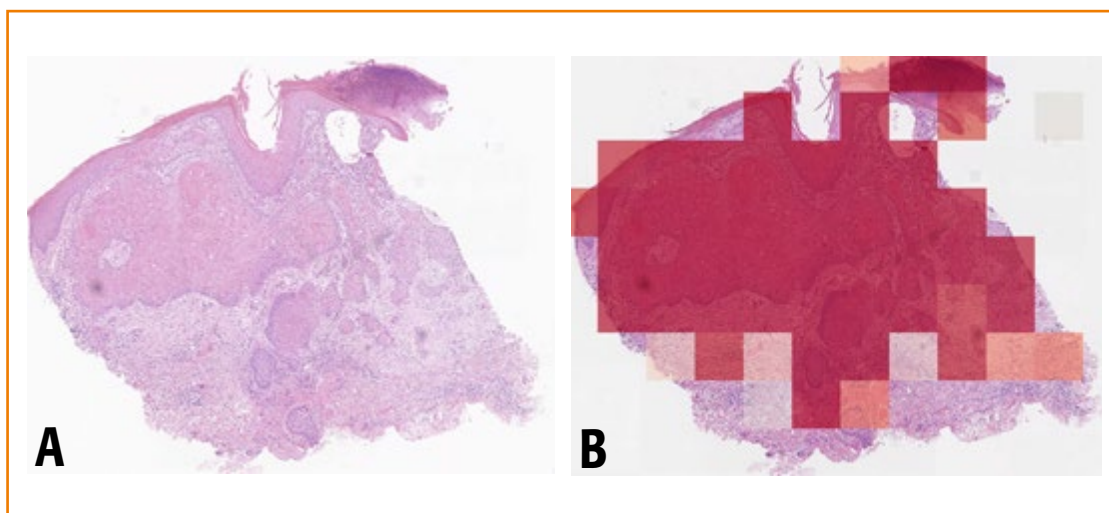


Abbildung 4: Automatische Erkennung von Tumorarealen durch Künstliche-Intelligenz-Algorithmen. **A:** HE-Schnitt eines Plattenepithelkarzinoms der Haut. **B:** Rot markierte Bereiche von möglichen Tumorarealen.

Merkmale

- Bereits heute stehen CE-IVD-zertifizierte digitale Pathologiesysteme für die histopathologische Routinediagnostik zur Verfügung.
- Für die Einführung eines digitalen Pathologiesystems sind Anpassungen der IT-Infrastruktur und der Arbeitsprozesse notwendig.
- Die Digitalisierung der histologischen Schnittpräparate ermöglicht eine digitale Bildanalyse von Biomarkern oder morphometrischen Parametern.
- Algorithmen künstlicher Intelligenz helfen die Genauigkeit in der Diagnostik zu verbessern und ermöglichen neue effiziente Bildanalysen.

Von ganz besonderem Interesse ist die Möglichkeit, an routinegefärbten Gewebeschnitten Informationen zu erkennen, welche die Prognose vorhersagen. Bislang ist die Bestimmung der Prognose eine integrative Aussage, bei der verschiedene Parameter wie etwa Tumortyp, Tumorausbreitung, biologische Marker, klinische Konstellation und therapeutisches Ansprechen berücksichtigt werden. Mit Hilfe von Deep-Learning-Modellen konnte in einer Studie mit zirka 100 Fällen von Patienten mit malignen Melanomen anhand von Standard-Hämatoxylin/Eosin-gefärbten digitalen Gewebeschnitten mit einer hohen Genauigkeit das Auftreten von Fernmetastasen vorhergesagt werden (13). Die einzigen mit einbezogenen Biomarker in dieser Studie waren neben den Tumorzellen (Zellkerne, Zytoplasma, Färbeverhalten) die tumorinfiltrierenden Lymphozyten. An 2 unterschiedlichen Testkohorten konnte mit hoher Genauigkeit ($p < 0,0001$) das Auftreten von Fernmetastasen vorausberechnet und Überlebenskurven erstellt werden (13).

Diese Ergebnisse veranschaulichen, dass die AI die Türen zu technologischen Fortschritten in der Pathologie öffnet. Jedoch hat auch die AI Grenzen und es gibt noch zahlreiche Herausforderungen. Eines der grössten Probleme für die klinische Anwendung von Deep-Learning-Algorithmen sind die Fragen im Zusammenhang mit der Interpretation und dem Verständnis dafür, wie ein komplexes AI-Modell zu seinen Entscheidungen kommt, welches manchmal auch als «Blackbox»-Problem bezeichnet wird (14). Erklärbare AI und interpretierbare Methoden des maschinellen Lernens werden derzeit sehr aktiv beforscht, und es steht zu erwarten, dass das Problem der Interpretierbarkeit zumindest teilweise entschärft werden wird (15). Um das Risiko von nicht reproduzierbaren laborspezifischen AI-Methoden zu vermeiden, ist vor der klinischen Einführung eine CE-IVD-Zertifizierung unbedingt notwendig.

Da der Bedarf an personalisierter Krebsbehandlung zunimmt, besteht ein dringender Bedarf an einer genaueren Biomarkerbewertung und einer quantitativeren histopathologischen Diagnostik, um Therapieentscheidungen zu unterstützen und zu verbessern. Die diagnostische Pathologie muss mit neuen Methoden und Instrumenten ausgestattet werden, um die erforderliche diagnostische Sensitivität und Spezifität zu erreichen, und es scheint nun sicher, dass die AI der nächste Schritt in Richtung Präzisionspathologie ist (14).

Prof. Dr. Rainer Grobholz
Medizinische Fakultät der Universität Zürich
Institut für Pathologie
Kantonsspital Aarau
Tellstrasse 25
5001 Aarau
E-Mail: rainer.grobholz@ksa.ch

Interessenkonflikte: keine

Danksagung: Mein besonderer Dank geht an Yufei Zhou und Prof. Dr. Andrew Janowczyk für die Bereitstellung der Abb. 4. Alle anderen Abbildungen: Grobholz.

Referenzen

1. Allen TC: Digital pathology and federalism. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138:162-165.
2. Grobholz R: Digitale Pathologie. Die Zeit ist reif! *Pathologie.* 2018;39:228-235.
3. Goacher E et al.: The diagnostic concordance of whole slide imaging and light microscopy: A systematic review. *Arch Pathol Lab Med.* 2017;141:151-161.
4. Kent MN et al.: Diagnostic accuracy of virtual pathology vs traditional microscopy in a large dermatopathology study. *JAMA Dermatol.* 2017;153:1285-1291.
5. Shah KK et al.: Validation of diagnostic accuracy with whole-slide imaging compared with glass slide review in dermatopathology. *J Am Acad Dermatol.* 2016;75:1229-1237.
6. García-Rojo M et al.: New european union regulations related to whole slide image scanners and image analysis software. *J Pathol Inform.* 2019;10: 2.
7. Bengtsson E: The measuring of cell features. *Anal Quant Cytol Histol.* 1987;9:212-217.
8. Cornish TC: Clinical Application of Image Analysis in Pathology. *Adv Anat Pathol.* 2020;27:227-235.
9. Wells A et al.: Artificial intelligence in dermatopathology: Diagnosis, education, and research. *J Cutan Pathol.* 2021;48:1061-1068.
10. Pantanowitz L et al.: An artificial intelligence algorithm for prostate cancer diagnosis in whole slide images of core needle biopsies: a blinded clinical validation and deployment study. *Lancet Digit Health.* 2020;2:e407-e416.
11. Ibrahim A et al.: Artificial intelligence in digital breast pathology: Techniques and applications. *Breast.* 2020;49:267-273.
12. Olsen TG et al.: Diagnostic performance of deep learning algorithms applied to three common diagnoses in dermatopathology. *J Pathol Inform.* 2018;9:32.
13. Kulkarni PM et al.: Deep Learning Based on Standard H&E Images of Primary Melanoma Tumors Identifies Patients at Risk for Visceral Recurrence and Death. *Clin Cancer Res.* 2020;26:1126-1134.
14. Acs B et al.: Artificial intelligence as the next step towards precision. *J Intern Med.* 2020;288: 62-81.
15. Samek W et al.: Explainable artificial intelligence: understanding, visualizing and interpreting deep learning models. *arXiv 2017;arXiv:1708.08296.*