

УДК 612.087.1:004.932

## ОПТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БИОТКАНЕЙ НА ОСНОВЕ СВЕРХБЫСТРЫХ МЕТОДОВ РАСЧЕТА ХАРАКТЕРИСТИК ПЕРЕНОСА ИЗЛУЧЕНИЯ В РАССЕИВАЮЩИХ СРЕДАХ



**С.А. Лысенко**

*Заведующий Центром климатических исследований НАН Беларуси, кандидат физико-математических наук, доцент.*



**М.В. Давыдов**

*Заведующий кафедрой теоретических основ электротехники БГУИР, кандидат технических наук, доцент.*



**Э.С. Кашицкий**

*Ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии питания и спорта Института физиологии НАН Беларуси, кандидат медицинских наук., доцент*



**А.Н. Красовский**

*Доцент кафедры общего землеведения и гидрометеорологии БГУ, кандидат физико-математических наук, доцент*

*Институт природопользования НАН Беларуси, Республика Беларусь*

*Институт физиологии НАН Беларуси, Республика Беларусь*

*Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, Республика Беларусь*

*Белорусский государственный университет, Республика Беларусь*

*E-mail: lysenkorfe@gmail.com*

**Аннотация.** Предложены новые алгоритмы обработки изображений биотканей в отраженном ими свете и в свете флуоресценции, позволяющие в реальном масштабе времени восстанавливать карты распределений фо-тосенсибилизатора и основных хромофоров ткани (гемоглобина и меланина). Характеристики переноса излучения в среде рассчитываются в простом аналитическом виде с использованием информации, содержащейся в цветовой структуре изображения исследуемого объекта. Эффективность предлагаемых алгоритмов оценивается на изображениях фантомов биоткани, полученных по результатам Монте-Карло моделирования.

**Ключевые слова:** биоткань, меланин, гемоглобин, сенсibilизатор, рассеяние, поглощение, диффузное отражение, флуоресценция, многоспектральные изображения, параметрические карты.

Современная медицинская диагностика развивается в направлении создания и использования неинвазивных методов, позволяющих врачу получать необходимую информацию об исследуемом объекте без нарушения его целостности. Основой создания оптико-медицинских комплексов для неинвазивной диагностики и лазерной терапии являются достижения в области исследования взаимодействия оптического излучения с биообъектами и восстановления информации о биообъектах, формируемой в результате этих взаимодействий. Для ряда медицинских приложений такую информацию необходимо получать в реальном масштабе времени в виде объективных количественных показателей пациента.

Биологические ткани относятся к классу неоднородных многокомпонентных рассеивающих сред. Определение их биофизических параметров на основе анализа рассеянного, отраженного или испущенного ими излучения требует использования сложных моделей и программных модулей по расчету светового поля в исследуемой среде. В условиях большого количества неизвестных параметров среды, которые одновременно должны быть восстановлены по данным оптических измерений, такой подход является чрезвычайно трудоемким, что осо-

бенно критично в задачах реконструкции параметрических карт биотканей по их многоспектральным снимкам. Применение для этой цели различных приближений, разработанных в теории переноса излучения (диффузионное, асимптотическое, малоугловое и т. п.), не обеспечивает необходимую для медицинских приложений точность получения диагностически важных параметров биообъекта. Все это обуславливает необходимость поиска иных подходов к расчету характеристик светового поля, взаимодействующего с биологическим объектом, и к решению возникающих при этом обратных задач.

В работе [1] выдвинута концепция оперативного решения прямых и обратных задач оптического зондирования биологических сред и послойной дозиметрии в них лазерного излучения на основе регрессионного описания связи параметров среды со спектрально-пространственным распределением потока, взаимодействующего с ней излучения. Предложены регрессионно-аналитические решения прямых и обратных задач переноса излучения в рассеивающих средах, работающие в широких диапазонах оптических параметров однородных и многослойных биотканей и многих сред небиологического происхождения. Достижимая при этом точность расчетов сравнима с результатами, получаемыми на основе ресурсоемких вычислительных моделей световых полей в рассеивающих средах. Данная концепция позволила вывести исследования биообъектов методами светорассеяния на уровень прикладной оперативной диагностики биофизических параметров тканей и крови человека, а также протекающих в них процессов при фототерапии [2].

На основе единой концепции количественного анализа характеристик светорассеяния биообъектов разработан комплекс новых методов оценки биофизических параметров крови, кожи, слизистых оболочек и тканей глаза человека, обладающих такими важными для медицинских приложений достоинствами, как оперативность и возможность построения параметрических карт, позволяющие выявлять патологические процессы или их особенности, неопределяемые существующими методами.

В клинической и исследовательской практике большой популярностью пользуются системы визуализации биообъектов на основе цветной ПЗС-камеры. Для эффективного детектирования опухолей внутриполостных органов используется эндоскопическая аппаратура с возможностью цифровой фото и видео съемки в режиме флуоресценции. В связи с этим представляет интерес разработка простых и оперативных алгоритмов обработки изображений биообъектов, повышающих диагностические возможности современных систем визуализации за счет многократного усиления видимости структурно-морфологических особенностей исследуемых объектов (кровеносной сети, распределения сенсбилизатора и естественных хромофоров биоткани). Ниже представлены разработанные авторами алгоритмы обработки изображений биотканей в отраженном белом свете в свете флуоресценции, отличающиеся малыми вычислительными затратами, простотой программной реализации и возможностью получения всех данных, необходимых для учета процессов поглощения и рассеяния света в среде, непосредственно по регистрируемым изображениям.

*Реконструкция карт основных пигментов биотканей по их цветным изображениям.* Рассмотрим задачу определения двумерных распределений основных хромофоров кожи человека – гемоглобина и меланина – по ее трехцветным (RGB) изображениям. Цветовые сигналы на выходе ПЗС-матрицы определяются следующим выражением:

$$V_k(i, j) = G(\theta, x_i, y_j) \int_{\lambda_{\min}}^{\lambda_{\max}} P(\lambda) \tau(\lambda) S_k(\lambda) R(x_i, y_j, \lambda) d\lambda, \quad (1)$$

где:  $k = R, G, B$ ;  $(i, j)$  – целочисленные координаты пиксела, отображающего элемент ткани с координатами  $(x_i, y_j)$ ;  $G(\theta, x_i, y_j)$  – геометрический фактор, зависящий от распределения освещенности по поверхности ткани и угла  $\theta$  между нормалью к поверхности и оптической осью приемника;  $P(\lambda)$  – мощность источника света,  $\tau(\lambda)$  – пропускание оптической системы,  $S_k(\lambda)$  –

чувствительность приемника,  $R(x_i, y_j, \lambda)$  – коэффициент диффузного отражения (КДО) ткани – отношение отраженного средой светового потока к падающему;  $\lambda_{\min}$  и  $\lambda_{\max}$  – границы спектрального диапазона, используемого съемочной системой.

Погрешности реконструкции двумерных распределений меланина и объемной концентрации кровеносных сосудов в коже оценим на примере системы визуализации на основе галогенной лампы LS-1 фирмы Ocean Optics и цифровой камеры Nikon D70. С целью устранения влияния абсолютных спектральных характеристик съемочной системы и геометрических параметров кадра на результаты восстановления параметрических карт ткани для решения обратной задачи будем использовать отношения RGB-сигналов:  $r_{BG} = V_B / V_G$  и  $r_{GR} = V_G / V_R$ .

Регрессионный оператор обратной задачи получен на основе разработанной нами аналитической модели КДО кожи [3] с учетом возможных вариаций объемной концентрации меланина в эпидермисе ( $f_m$ ), объемной концентрации кровеносных сосудов в дерме ( $f_{bl}$ ), спектрального показателя рассеяния кожной ткани и соотношения между содержаниями окисленного и восстановленного гемоглобина в крови. Ансамбль рассчитанных сигналов ( $r_{BR}$ ,  $r_{GR}$ ) и соответствующих им значений  $f_{bl}$  представлен на рис. 1. Видно, что точки ( $r_{BR}$ ,  $r_{GR}$ ,  $f_{bl}$ ) расположены вблизи некоторой поверхности. Разброс точек относительно нее обусловлен априорной неопределенностью объемной концентрации меланина в эпидермисе ( $f_m$ ) показателя рассеяния ткани и степени насыщения крови кислородом. Для аппроксимации смоделированной совокупности точек можно использовать полином вида

$$\ln f_{bl} = \sum_{0 \leq m+p \leq 3} a_{mp} (\ln r_{BR})^m (\ln r_{GR})^p \quad (2)$$

где:  $a_{mp}$ , – коэффициенты, зависящие от спектральных характеристик съемочного устройства.

Аналогичным выражением аппроксимируется связь между координатами пиксела ( $r_{BR}$ ,  $r_{GR}$ ) и концентрацией меланина в оптически сопряженном ему элементе кожной ткани. Среднеквадратические погрешности восстановления  $f_{bl}$  и  $f_m$  с использованием полинома (2) составляют  $\Delta f_{bl} = 0,29\%$  и  $\Delta f_{mel} = 1,1\%$  соответственно.

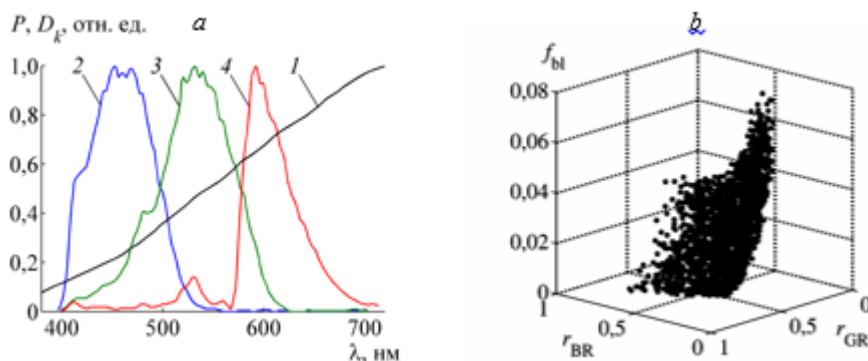


Рисунок 1. К получению регрессионного соотношения между объемной концентрацией кровеносных сосудов в кожной ткани и цветовыми компонентами ее изображения: *a* – спектральные профили мощности лампы  $P(\lambda)$  (1) и чувствительности цветной ПЗС-матрицы  $D_k(\lambda)$  в синем (2), зеленом (3) и красном (4) каналах; *b* – смоделированная совокупность фотосигналов ( $r_{BR}$ ,  $r_{GR}$ ) и соответствующих им концентраций капилляров ( $f_{bl}$ )

Для дифференциальной диагностики новообразований в тканях пищеварительного

тракта и дыхательной системы человека при их эндоскопическом обследовании большое значение имеет анализ структуры микрососудистого рисунка, связанный с гистологическим строением ткани [4]. Поскольку гемоглобин является основным поглотителем видимого света в слизистых оболочках человека и локализован в сосудах, то, очевидно, что его двумерное распределение должно давать четкую и высококонтрастную картину кровеносной сети.

В работе [5] показана возможность использования трехцветных (RGB) изображений биотканей для определения их гемоглобинового индекса  $HbI$ , под которым понимается отношение концентрации общего гемоглобина в ткани к ее транспортному показателю рассеяния на длине волны 632 нм. Анализ эффективности использования  $HbI$  для отображения кровеносной сети биоткани выполнен на основе синтезированных изображений многослойной многократно рассеивающей среды, имитирующей ткань бронхов. Оптические свойства бронхиальной ткани в спектральном диапазоне 400–700 нм экспериментально исследованы в работе [6]. В соответствии с этими данными модельная среда представлена тремя слоями: 1) эпителий, 2) слизистая оболочка и подслизистая основа; 3) фиброзно-хрящевая оболочка. Показатели рассеяния и фактор анизотропии индикатрисы рассеяния крови соответствовали экспериментальным данным для образца крови с гематокритом  $H = 0.421$  и концентрацией гемоглобина  $S_{Hb} = 129$  г/л [7]. Процесс переноса излучения в среде моделировался методом Монте-Карло, основанным на последовательном отслеживании большого количества траекторий фотонов в среде до их выхода из среды или уменьшения их «мощности» до пренебрежимо уровня [8].

Смоделированные изображения бронхиальной ткани, содержащей три сосуда различного диаметра, приведены на рис. 2. Из-за многократного рассеяния света окружающей тканью, контраст сосудов низкий, а их контуры существенно размыты. На изображении также присутствуют артефакты, связанные с падением освещенности на его краях.

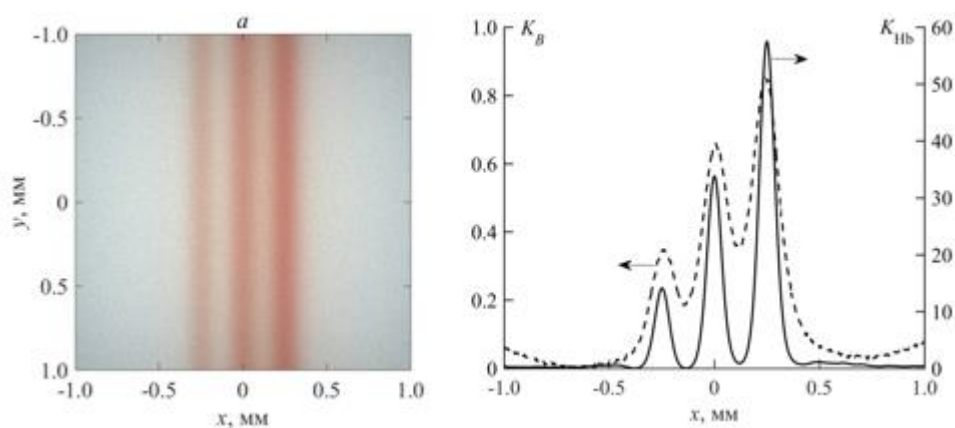


Рисунок 2. Синтезированное изображение среды, имитирующей бронхиальную ткань (a), и пространственные профили его контрастов до (штрихи) и после (линия) его преобразования в двумерное распределение гемоглобинового индекса

Рассмотрим, как изменится видимость сосудов при их отображении в гемоглобиновом индексе. Учитывая симметрию исходного изображения ткани, определим его контраст как  $K_B(i) = (V_{B, \max} - V_B(i)) / V_B(i)$ , где  $i$  – целочисленная координата пиксела в направлении перпендикулярном сосудам,  $V_B(i)$  – средняя яркость пикселей с координатой  $i$  в синем канале изображения,  $V_{B, \max}$  – максимальная яркость пикселей в синем канале. После преобразования изображения в распределение  $HbI$  сосуды приобретут светлые цвета на фоне темной окружающей ткани, поэтому определим контраст преобразованного изображения как  $K_{Hb}(i) = (HbI(i) - HbI_{\min}) / HbI_{\min}$ , где  $HbI_{\min}$  – минимальный гемоглобиновый индекс вдоль

оси, перпендикулярной сосудам. Контрасты исходного и преобразованного изображений сопоставлены на рис. 2б. Видно, что после преобразования исходного изображения в распределение гемоглобинового индекса отмеченные выше артефакты практически полностью устраняются, увеличивается четкость контуров сосудов, а их контраст возрастает почти на 2 порядка, что способствует улучшению качества изображений кровеносных структур.

*Коррекция флуоресцентных изображений биотканей на эффекты поглощения и рассеяния в них света.* Одной из основных проблем, затрудняющих стандартизацию методов флуоресцентной диагностики и приводящих к недостаточно высокой чувствительности и специфичности выявления злокачественных опухолей с использованием флуоресцентных меток, является влияние поглощающих и рассеивающих свойств осматриваемой ткани на интенсивность и спектр ее флуоресценции. Как возбуждающее, так и флуоресцентное излучение поглощается хромофорами ткани и рассеивается на ее оптических неоднородностях. В результате этих процессов коэффициент связи между регистрируемым сигналом флуоресценции и концентрацией флуорофора в ткани зависит не только от характеристик измерительной аппаратуры, исключаемых путем калибровки, но и от параметров среды распространения излучения.

Для вычисления передаточной функции  $D(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$ , связывающей регистрируемый сигнал флуоресценции с концентрацией флуорофора внутри среды, необходимо знать оптические параметры среды (показатель поглощения  $\mu_a$  и транспортный показатель рассеяния  $\mu'_s$ ) на длинах волн возбуждения  $\lambda_{ex}$  и испускания  $\lambda_{em}$  в ней флуоресценции. Поскольку основным поглощающим компонентом всех биотканей, содержащих сеть кровеносных сосудов, является гемоглобин, то очевидно, что функция  $D(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$  в значительной степени определяется его содержанием в ткани, которое может быть охарактеризовано индексом HbI.

С целью достижения оперативности обработки флуоресцентных изображений функцию  $D(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$  полезно представить в простом аналитическом виде. Это можно сделать путем аппроксимации результатов моделирования светового поля в биоткани. Использовался аналитический метод расчета  $D(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$ , предложенный нами в работе [9]. Метод удачно сочетает в себе ряд элементов теории переноса излучения: принцип взаимодействия элементарных слоев среды, соотношения инвариантности, асимптотические решения уравнения переноса излучения. Потоки флуоресценции внутри и на поверхности многослойной мутной среды вычисляются в матричном виде по заданным значениям показателя поглощения, показателя рассеяния, среднего косинуса индикатрисы рассеяния и толщины отдельных слоев среды.

Расчеты  $D(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$  выполнены при  $10^4$  случайно-сгенерированных значениях параметров биоткани, влияющих на световой режим в среде, для спектральных диапазонов  $\lambda_{ex} = 350 - 800$  nm и  $\lambda_{em} = \lambda_{ex} - 800$  nm. Разброс модельных параметров ограничен диапазоном вариаций КДО среды 0.01–0.8. Ансамбль данных, полученных для каждой пары  $\lambda_{ex}$  и  $\lambda_{em}$ , аппроксимирован следующим уравнением:

$$\ln [D(\lambda_{ex}, \lambda_{em})] = a_0(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) + a_1(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) \ln(\text{HbI}) + \\ + a_2(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) \ln[\mu'_s(\lambda_{ex})] + a_3(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) \ln[\mu'_s(\lambda_{em})], \quad (3)$$

где:  $a_0, \dots, a_3$  – спектрально зависящие коэффициенты. Наибольшие погрешности формулы (3) ~10–15% соответствуют длинам волн  $\lambda_{ex}$  и  $\lambda_{em}$ , при которых молярный показатель поглощения HbI значительно превосходит аналогичный показатель для HbO<sub>2</sub>. Наименьшие погрешности формула (3) дает при использовании в качестве  $\lambda_{ex}$  и  $\lambda_{em}$  точек пересечения спектров поглощения HbI и HbO<sub>2</sub>, для которых общий показатель поглощения крови не зависит от степени ее насыщения кислородом.

Таким образом, предлагаемая методика коррекции флуоресцентных изображений биотканей включает следующие этапы:

- 1) регистрацию RGB изображения ткани при ее освещении непрерывным источником видимого света;
- 2) преобразование составляющих цветного изображения в двумерное распределение гемоглобинового индекса;
- 3) выбор модели спектра транспортного показателя рассеяния ткани  $\mu'_s(\lambda)$ , соответствующей исследуемому объекту;
- 4) вычисление монохроматической передаточной функции  $D(\lambda_{ex}, \lambda)$  в спектральном диапазоне блока регистрации сигнала флуоресценции по формуле (3);
- 5) определение корректирующего коэффициента для сигнала флуоресценции, регистрируемого в конечном спектральном интервале, по значению  $D(\lambda_{ex}, \lambda)$  путем квадратурного суммирования монохроматических значений  $D(\lambda_{ex}, \lambda)$  с учетом спектральной чувствительности блока регистрации флуоресценции.

В алгоритмическом плане методика не включает сложных математических операций, требующих больших затрат машинного времени, и при ее многопоточной программной реализации на базе графического процессора (GPU) может обеспечивать производительность вычислений, достаточную для работы с изображениями в непрерывном видеорежиме.

Эффективность предлагаемой методики продемонстрируем на имитационных изображениях фантомов ткани с одинаковым содержанием флуорофора и с различными содержаниями гемоглобина. Рассмотрено четыре фантома ткани с одинаковыми рассеивающими и с различными поглощающими свойствами. Транспортный показатель рассеяния и средний косинус индикатрисы рассеяния модельных сред аналогичны ткани желудка человека, лабораторно исследованной в работе [10] на основе интегрирующих сфер. В качестве флуоресцирующей субстанции выбран 5-АЛК-индуцированный протопорфирин IX.

Изображения фантомов биоткани, построенные по результатам Монте-Карло моделирования, показаны на рис. 3 а–с. Видно, что увеличение содержания гемоглобина в образцах ткани приводит к существенному падению яркости их флуоресценции: средние яркости центральных пятен диаметром 400  $\mu\text{m}$  (область локализации флуорофора) для фантомов ткани с объемными концентрациями кровеносных сосудов  $f_V = 0.02, 0.05$  и  $0.1$  соотносятся между собой как  $1 : 0.54 : 0.28$ . При флуоресцентной диагностике с участием сенсibilизатора это обстоятельство может сильно затруднять обнаружение злокачественных опухолей ввиду более высокой плотности их сосудистой сети по сравнению со здоровой тканью.

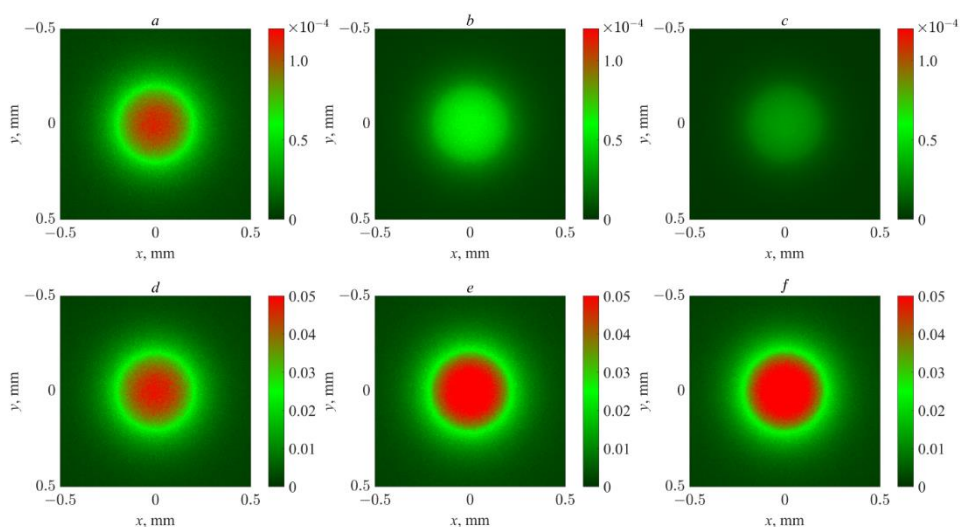


Рисунок 3. Результаты коррекции изображений фантомов ткани, смоделированных методом Монте-Карло при объемных концентрациях кровеносных сосудов 0.02 (*a, d*), 0.05 (*b, e*) и 0.1 (*c, f*); (*a-c*) – исходные изображения, (*d-f*) – скорректированные изображения

Результаты коррекции рассматриваемых изображений показаны на рис. 3 *d-f*. Видно, что яркости очагов флуоресценции трех фантомов ткани в значительной мере выровнены: соотносятся между собой как 1 : 1.1 : 1.15 при соотношении соответствующих им значений  $f_V$  – 0.02 : 0.05 : 0.1. Такой результат коррекции практически равносителен флуоресцентной визуализации ткани при отсутствии в ней поглощения света. В этом случае можно считать, что регистрируемый сигнал флуоресценции пропорционален концентрации сенсibilизатора в биоткани, что открывает возможности для разработки различных пороговых критериев флуоресцентной диагностики новообразований в тканях человека.

#### Список литературы

- [1]. С.А. Лысенко Методы оптической диагностики биологических объектов. – Минск: БГУ, 2014. – 231 с.
- [2]. С.А. Лысенко Оперативная диагностика биообъектов по спектрально-пространственным характеристикам их светорассеяния: автореф. ... дис. д-ра физ.-мат. наук: 01.04.05. – Минск, 2017. – 46 с.
- [3]. С.А. Лысенко, М.М. Кугейко // Квант. электроника. 2014. Т. 44, № 3. С. 252–258.
- [4]. Y. Ezoe et. al. // Gastroenterology. 2011. V. 141, N 6. P. 2017–2025.
- [5]. С.А. Лысенко // Журн. прикл. спектр. 2017. Т. 84, № 3. С. 419–427.
- [6]. J. Qu et. al. // Appl. Opt. 1994. V. 33, N 31. P. 7397–7405.
- [7]. M. Friebel et. al. // J. Biomed. Opt. 2006. V. 11, N 3. P. 34021-1—34021-10.
- [8]. L.H. Wang, S.L. Jacques, L.Q. Zheng // Comput. Methods Programs Biomed. 1995. V. 47, N 2. P. 131–146.
- [9]. С.А. Лысенко // Оптика и спектр. 2018. Т. 124, № 1. С. 129.
- [10]. A.N. Bashkatov et. al. // Medical Laser Application. 2007. V. 22, N 2. P. 95–104.

### OPTICAL DIAGNOSTICS OF BIOLOGICAL TISSUES ON THE BASIS OF ULTRAFAST METHODS FOR CALCULATING THE CHARACTERISTICS OF RADIATION TRANSFER IN SCATTERING MEDIA

**S.A. LYSENKO, PhD** *Head of the Center for Climate Research of the National Academy of Sciences of Belarus*  
**M. V. DAVYDOV, PhD** *Head of the Department of Theoretical Foundations of Electrical Engineering BSUIR, Associate Professor*  
**E. S. KASHITSKY, PhD** *Leading researcher at the Laboratory of Nutrition and Sports Physiology of the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus*  
**A.N. KRASOVSKY, PhD** *Associate Professor of the Department of General Geography and Hydrometeorology of the Belarussian State University*

*Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus*  
*Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics, Republic of Belarus*  
*Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Republic of Belarus*  
*Belarusian State University, Republic of Belarus*  
*E-mail: lysenkorfe@gmail.com*

**Abstract.** The algorithms for processing biological tissues images in the reflected visible light and in the emitted fluorescence is proposed, which allow online retrieval of photosensitizer and main tissue chromophores (melanin, hemoglobin) distribution maps. Characteristics of radiation transfer in a medium are calculated in a simple analytical form using information contained in the color structure of the image of the object under study. The effectiveness of the proposed algorithms is estimated on the images of biological phantoms obtained by the Monte Carlo simulation.

**Key words:** biological tissue, melanin, hemoglobin, photosensitizer, scattering, absorption, diffuse reflectance, fluorescence, multispectral images, parametrical maps.