

УДК 551.508:528.8

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДИАМЕТРА ВИДИМЫХ СОСУДОВ БУЛЬБАРНОЙ КОНЬЮНКТИВЫ ГЛАЗА

<sup>1</sup>В.А. ФИРАГО, <sup>2</sup>А.И. КУБАРКО

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет

**Аннотация.** В статье описываются конструкция и параметры созданной авторами установки для регистрации цифровых изображений конъюнктивы глаза с пространственным разрешением 2 мкм. Показывается, что использование высокоразрешающей монохромной видеокамеры и импульсной подсветки с помощью светодиодов и оптоволоконной техники позволяет получать качественные видеозаписи изображения сосудов бульбарной конъюнктивы. Приводятся примеры получаемых изображений и обсуждаются алгоритмы обработки видеозаписей, позволяющие получать высококонтрастные цифровые изображения сосудистого рисунка. Большое внимание уделяется алгоритмам трассировки скелета сосудистой сети и методам определения диаметра и площади поперечного сечения сосудов разного калибра. Работа направлена на создание алгоритмов функционирования перспективной цифровой аппаратуры для ранней диагностики сосудистых патологий и подбора лекарственных препаратов.

*Ключевые слова:* Цифровая микроскопия, Алгоритмы обработки цифровых изображений, Биоинформатика.

**Abstract.** The article describes the design and parameters of the developed device equipment for recording the digital images of the conjunctival vessels with a spatial resolution of 2  $\mu\text{m}$ . It is shown that the use of high-resolution monochrome video camera and pulse illumination by light-emitting diodes and fibre-optic technology allows obtaining the high-quality video recordings of images of bulbar conjunctiva vessels. Examples of obtained images are given and algorithms for processing the video recordings allowing obtaining the high-contrast digital images of the vascular pattern are discussed. Special attention is paid to the algorithms for tracing the skeleton of the vasculature and methods of determination the diameter and cross-sectional area of vessels of different diameters.

*Keywords:* Digital microscopy, Image processing algorithms, Bioinformatics.

### Введение

Разработке методик выявления сосудистых патологий на ранней стадии продолжает уделяться большое внимание. Одно из перспективных направлений диагностики – оценка параметров сосудов тканей глаза, которые доступны для непосредственного наблюдения [1–6].

При изучении реакции сосудов на воздействия, в том числе и сосудорасширяющих препаратов, большой интерес представляет оценка диаметра и площади сечения внутреннего просвета сосудов. В клинической практике хорошо налажено получение цифровых снимков дна глаза. Ряд исследовательских коллективов [5–8] создали алгоритмы и программы, позволяющие визуализировать сосудистый рисунок на цветных цифровых изображениях дна глаза и оценивать диаметр сосудов сетчатки. К сожалению, фундус-камеры позволяют получать лишь однократные изображения, поскольку дно глаза подсвечивается одним мощным световым импульсом белого цвета. После его воздействия зрачок быстро (за 200 мс) суживается, что осложняет получение следующих изображений. Это препятствует получению достоверных оценок диаметра внутреннего просвета малых сосудов, изображение которых на одном снимке состоит из мелких фрагментов, вследствие наличия промежутков прозрачной плазмы крови между эритроцитами. Поэтому целью нашей работы явилось разработка аппаратуры, алгоритмов и программ для получения цифровых видеозаписей бульбарной конъюнктивы глаза с пространственным разрешением 2 мкм, что позволяет при цифровом накоплении или усреднении по нескольким десяткам кадров проследить все сосуды, включая и капилляры.

### Установка и методика получения цифровых изображений конъюнктивы глаза

Установка для получения цифровых видеозаписей тканей бульбарной конъюнктивы собрана на платформе щелевой лампы. Эта платформа позволяет перемещать видеокамеру с блоком импульсной подсветки и устройством визуального наведения и фокусировки по трем координатам  $x, y, z$  с фиксацией выбранного положения. Также есть механическая система фиксации лица пациента и возможность смещения камеры вправо и влево [1]. В установке используется монохромная видеокамера Imrex Bobcat IGV-B1410M с объективом от микроскопа. Используется трехкратное увеличение изображения. При этом формируется 10-ти разрядное цифровое изображение  $1040 \times 1392$  пикселей. Максимальная частота передачи кадров составляет 23.2 Гц. Необходимость использования монохромной камеры обусловлена требованиями получения максимальной чувствительности при требуемом пространственном разрешении видеосъемки, равной 2 мкм.

Поскольку глаз непрерывно двигается, используется периодическая импульсная подсветка снимаемого участка бульбарной конъюнктивы с длительностью 1–2 мс [1]. Диаметр пятна подсве-

чивающего излучения, фокусируемого на выбранный участок склеры глаза, составляет около 3 мм, что согласуется с полем зрения камеры и глубиной резкости формируемого изображения сферической поверхности глаза.

Наилучший контраст изображений сосудистого рисунка обеспечивается при подсветке выбранного участка бульбарной конъюнктивы излучением светодиода с белым цветом свечения и применении полосового оптического фильтра с диапазоном пропускания излучения примерно 510–600 нм. Для улучшения визуального восприятия сосудистого рисунка проводится стабилизация положения последовательности цифровых изображений с помощью специально разработанного корреляционного алгоритма и цифровое усреднение по нескольким десяткам кадров. После цифрового накопления прослеживаются без разрывов практически все капилляры. Поскольку подсветка снимаемого участка склеры ведется под углом к ее нормали, на цифровых изображениях ее сосудов отсутствует световой рефлекс [8]. Наличие светового рефлекса упрощает алгоритмы определения диаметра внутреннего просвета сосудов глазного дна. Обычно выделяют правую и левую ветви контура поглощения излучения сосудом в плоскости перпендикулярной его оси и расстояние между ними на полувысоте принимают за его внутренний диаметр  $D_v$ .

#### Методика определения диаметра и площади внутреннего просвета сосудов

Анализ контуров поглощения излучения подсветки сосудами бульбарной конъюнктивы, полученных при пространственном разрешении 2 мкм, показал, что форма этого контура зависит от диаметра сосуда. Для малых сосудов контур можно приблизительно описать перевернутым гауссовым профилем. Контур поглощения больших сосудов имеет другую форму, описываемую более сложным выражением. Поэтому в наших исследованиях при определении диаметра внутреннего просвета сосуда использовался модифицированный подход, основанный на определении площади  $S_{ac}$  контура поглощения и его максимальной высоты  $h_{ac}$ . Разделив площадь на высоту можно получить эквивалентный диаметр внутреннего просвета  $D_{ve}$ , который для малых сосудов приблизительно пропорционален количеству эритроцитов, прошедших за время усреднения через рассматриваемый участок сосуда. Для более крупных сосудов эта зависимость нарушается, но крутизна спада склонов контура поглощения гораздо больше и использование выражения для вычисления диаметра  $D_{ve} = S_{ac}/h_{ac}$  дает достаточно достоверные результаты.

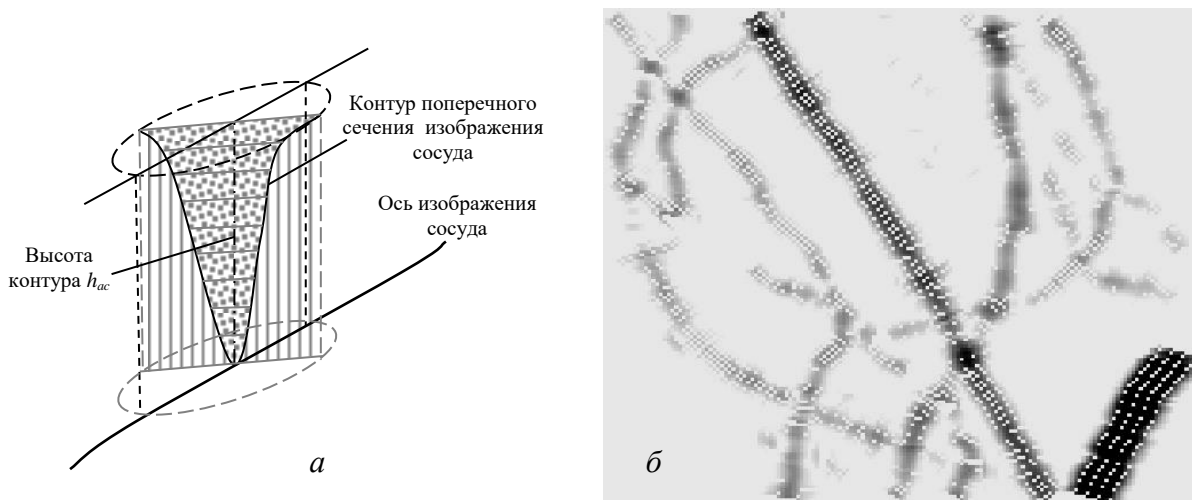


Рис. 1. Иллюстрация, поясняющая способ определения площади поперечного сечения изображения сосуда (а), и обработанный фрагмент исходного изображения склеры, демонстрирующий процесс определения площади поперечного сечения сосудов бульбарной конъюнктивы (б)

На первом этапе алгоритма определения эквивалентного диаметра  $D_{ve}$  необходимо провести трассировку скелета сосудистого рисунка, т. е. определить положение осей сосудов. Тогда появляется возможность использования кольцевых структур и определения площади поперечного сечения  $S_{ac}$ . Иллюстрация, поясняющая этот процесс, приведена на рис. 1,а. Процесс трассировки скелета сосудистого рисунка осложняется сильной неоднородностью коэффициента рассеяния излучения тканями бульбарной конъюнктивы. Поэтому при создании алгоритма трассировки использовались принципы анализа, свойственные зрительной системе человека, которая легко решает эту задачу. Вна-

чале по аналогии с алгоритмами функционирования нейронов Off-рецептивных полей в области fovea сетчатки глаза определяются локальные минимумы усредненного изображения бульбарной конъюнктивы. При обнаружении локального минимума яркости изображения с координатами  $i, j$  радиус  $R$  кольцевой структуры или рецептивного поля увеличивается. Для нового значения  $R$  определяется зависимость суммы противоположных точек окружности с радиусом  $R$  от угла поворота сечения или его направления. Далее находится максимум разностей этой зависимости для перпендикулярных направлений и сравнивается с величиной порога, зависящего от яркости изображения в локальной окрестности точки  $i, j$ .

При превышении порога процесс поиска скелета сосуда для текущего локального минимума продолжается. Примерно через 2–3 итерации увеличения  $R$  с последующей пороговой обработкой вероятность правильного отнесения к классу сосудов точки локального минимума, находящейся на оси сосуда, становится близкой к единице, и рассматриваемый локальный минимум помечается как ось сосуда. Разработанный алгоритм позволяет за один проход проанализировать каждый пиксель исходного изображения и найти оси всех сосудов с небольшим содержанием ложных точек, относящихся к протяженным неоднородностям склеры со структурой профиля, похожей на капилляры. После трассировки появляется возможность при повторном проходе исходного изображения проводить анализ зависимости площади сечения изображения сосуда от угла поворота. При этом опять используются кольцевые структуры с расширяющимся радиусом  $R$ . Определяются зависимости сумм высот противоположных берегов и сумм высот противоположных точек дна русла сосуда от угла поворота контура сечения или его направления. Находя максимум разности этих сумм и расширяя радиус  $R$  используемой кольцевой структуры определяем направление контура сечения с максимальной площадью и его правую и левую границы. При определении границ используется сложный критерий, учитывающий скорость изменения крутизны контура при удалении от оси изображения сосуда. После определения границ подсчитывается окончательная площадь изображения сосуда в рассматриваемой точке  $i, j$  его оси и рассчитывается эквивалентный диаметр  $D_{ve}(i, j)$ .

На рис. 1,б представлен обработанный фрагмент исходного изображения склеры, показывающий градациями серого цвета профили изображения сосудов и пиксели, участвующие в определении  $D_{ve}$ . Белыми точками отмечены пиксели, которые не участвовали в процессе определения диаметра сосудов. Зрительная система человека при рассматривании получаемых изображений занижает оценку видимого диаметра малых сосудов  $D_{ve}$ .

### Результаты и обсуждение

Описанный алгоритм позволяет автоматически формировать карту распределения эквивалентных диаметров внутреннего просвета видимых сосудов бульбарной конъюнктивы глаза. Для этого на их монохромное изображение накладывается найденный скелет сосудистого рисунка, раскрашенный палитрой с цветной шкалой значений эквивалентных диаметров. На рис. 2 представлен фрагмент такой карты, полученный для сосудов разного калибра исходного изображения склеры.

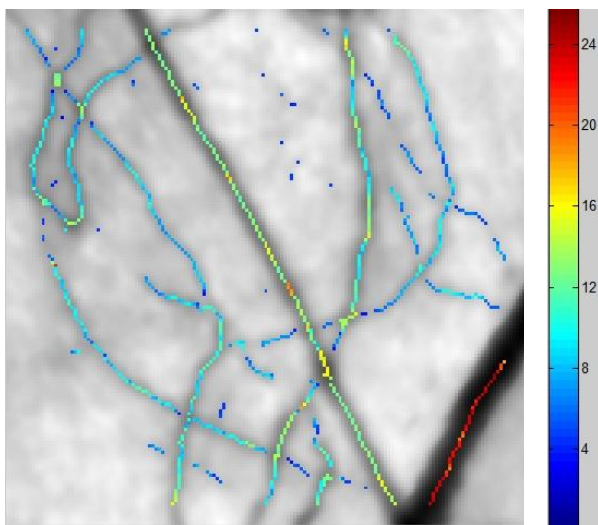


Рис. 2. Карта распределения эквивалентных диаметров внутреннего просвета сосудов фрагмента изображения на рис. 1 и соответствующая цветовая шкала в мкм

Поскольку обработка с помощью кольцевых структур не может распространяться за пределы исходного изображения, на краях рис. 2 остаются области, где определение  $D_{ve}(i, j)$  невозможно. Наличие небольшого количества ложных точек иллюстрирует необходимость учета (при дальнейшем развитии рассматриваемого алгоритма) информации о направлении оси сосуда и протяженности связанных цепочек пикселей [9].

На пересечениях сосудов определение диаметра их внутреннего просвета по распределению яркости их изображения невозможно. Поэтому при острой необходимости получить непрерывные фрагменты протяженных участков сосудов с пересечениями алгоритм необходимо дополнить механизмами двумерной

интерполяции продолжения сосудов в точках пересечения.

Более информативными для решения задач анализа микроциркуляторного русла кровеносной системы являются гистограммы распределения эквивалентного диаметра  $D_{ve}$  и рассчитанной по его величине эквивалентной площади  $S_{ve} = \pi D_{ve}^2/4$ . Получаемые гистограммы, примеры которых приведены на рис. 3, имеют несколько мод, которые соответствуют сосудам разного калибра.

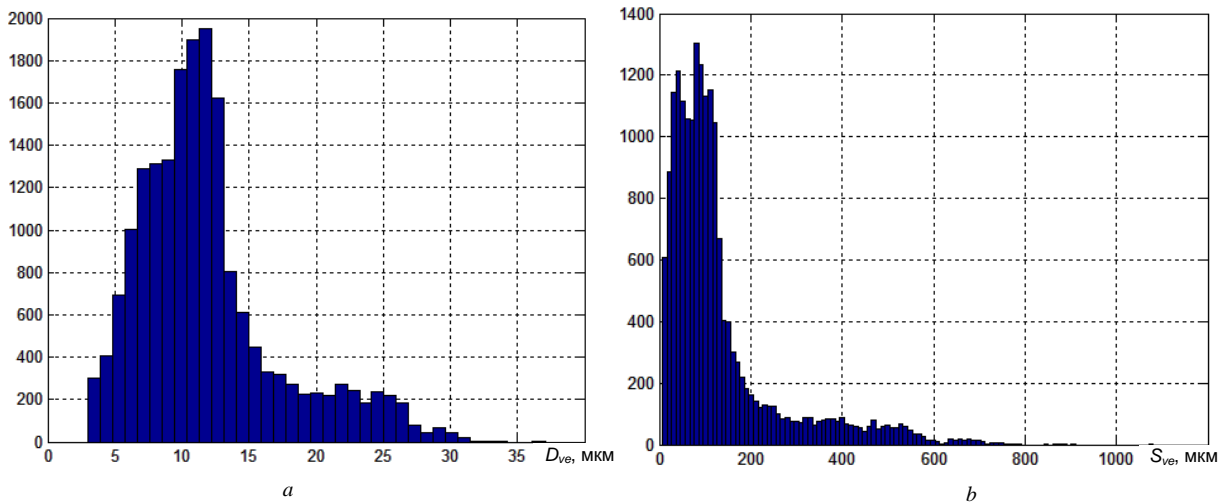


Рис. 3. Гистограммы распределения эквивалентного диаметра (а) и площади (b) внутреннего просвета видимых сосудов бульбарной конъюнктивы, полученные при обработке изображения участка склеры с размерами  $2,16 \times 1,7 \text{ мм}^2$

Заметим, что при достаточно большой площади анализируемого участка бульбарной конъюнктивы, равной нескольким квадратным миллиметрам, моды гистограммы сильно перекрываются и сглаживаются, вследствие плавности изменения диаметров внутреннего просвета по мере перехода от артерий к артериолам, капиллярам, венам и венам. Для оценки изменений сосудов при направленных воздействиях на сердечнососудистую систему человека лучше использовать гистограмму распределения площади внутреннего просвета  $S_{ve}$  (рис. 3, b), которая более чувствительна к малым изменениям внутреннего просвета сосудов, чем гистограмма распределения  $D_{ve}$ . Для ускорения работы описываемого алгоритма не использовались решения, основанные на анализе направления оси сосуда и протяженности связанных цепочек пикселей [9]. Слабоконтрастные участки изображения малых сосудов, вследствие малого количества эритроцитов, давших вклад в контур поглощения, дают искаженное представление о диаметре внутреннего просвета капилляров. Поэтому столбики гистограммы, лежащие на краю ее левого крыла обычно не учитывают и потребность удаления ложных точек с карты распределения диаметра внутреннего просвета сосудов отпадает.

#### Заключение

Продемонстрированные возможности описанной методики получения и обработки цифровых изображений бульбарной конъюнктивы глаза указывают на перспективность ее применения при исследовании гемодинамики микроциркуляторного русла сосудистой системы. Получаемые гистограммы распределения диаметра и площади внутреннего просвета сосудов бульбарной конъюнктивы могут быть использованы физиологами и врачами при исследованиях кислородного обмена, ранней диагностике сосудистых патологий, подборе сосудорасширяющих лекарственных средств и т. д.

#### Список литературы

1. Firago V., Kubarko A., Hotra A. Determination of blood flow velocity in vessels of bulbar conjunctiva // *Przegląd Elektrotechniczny*. – 2016, Vol. 92 № 8. – P. 105–108.
2. Lisenko S., Firago V., Kugeiko M. Determination of Structural and Morphological Parameters of Human Bulbar Conjunctiva from Optical Diffuse Reflectance Spectra // *J. of Applied Spectroscopy*. – 2016, Vol. 83, №. 4. – P. 617–626.
3. MacKenzie L., Choudhary T., McNaught A. In vivo oximetry of human bulbar conjunctival and episcleral microvasculature using snapshot multispectral imaging // *Experimental Eye Research*. – 2016, Vol. 149. – P. 48–58.
4. Li J., Zhang X. A. Novel Method for Blood Flow Measurement based on Sclera Images // *2012 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Technology IPCBEE*. 2012, vol. 29. – P. 74–81.
5. Alabboud I. Human Retinal Oximetry using Hyperspectral Imaging. Submitted for the Degree of Doctor of Philosophy at Heriot-Watt University on Completion of Research in the School of Engineering and Physical Sciences. – 2009. – P. 280.

6. Hotra O., Firago V., Kubarko A. Determination of colour-contrast sensitivity of the retina // Acta Physica Polonica. – A-2014, vol. 125, № 6. – P. 1367-1370.
7. Fraz M.M., Barman S.A., Remagnino P. An approach to localize the retinal blood vessels using bit planes and centerline detection // Computer Methods and Programs in Biomedicine. – 2012, Vol. 108, № 2. – P. 600-616.
8. Hunter A., Lowell J., Steel D. Non-linear filtering for vascular segmentation and detection of venous beading / Technical Report University of Durham. – 2003.
9. Duits R., Almsick M. A. The explicit solutions of linear left-invariant second order stochastic evolution equations on the 2D-Euclidean motion group // Quarterly of Applied Mathematics. – 2008, Vol. 66. P. 27-67.

## УСТАНОВКА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ АКУСТИЧЕСКОЙ КАВИТАЦИИ В СУСПЕНЗИЯХ КЛЕТОК И ИМИТАТАХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУР

А.В. КОТУХОВ, А.М. СКОПЦОВ, В.С. МИНЧУК, Н.В. ДЕЖКУНОВ

*УО Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники  
Петруся Бровки, 6, Минск, 220000, Республика Беларусь*

**Аннотация.** В работе предлагается усовершенствованная методика исследования кавитации и установка для ее реализации. Приведены результаты испытаний установки, обсуждаются новые результаты, полученные с ее использованием. Установлены закономерности эволюции спектральных характеристик кавитационной области при увеличении интенсивности ультразвука.

*Ключевые слова:* ультразвук, кавитация, сонодинамическая терапия.

**Abstract.** The paper proposes an improved methodology for the study of cavitation and installation for its implementation. The results of the installation tests are presented, new results obtained with its use are discussed. The regularities of the evolution of the spectral characteristics of the cavitation region with increasing ultrasound intensity are established

*Keywords:* ultrasound, cavitation, sonodynamic therapy.

### Введение

Кавитация представляет собой явление образования, роста, пульсаций и захлопывания микропузырьков газа под действием переменного давления [1, 2]. Этот эффект играет определяющую роль в ультразвуковой интенсификации физико-химических явлений, используемых в звукохимии [3], и различных технологических процессах.

В последние годы обнаружены новые возможности воздействия ультразвуком в кавитационном режиме на биологические структуры, например: повышение проникающей способности лекарств через мембраны клеток – сонопорация [4], подавление роста опухолевых клеток [5], усиление действия лекарств или выделение лекарств из носителей [6].

Однако закономерности развития кавитационной области изучены недостаточно, а известные в литературе данные во многих случаях противоречивы и характеризуются низкой воспроизводимостью, что сдерживает широкое внедрение передовых ультразвуковых технологий в медицине и технике. В данной работе предлагается методика исследования кавитации, основанная на одновременной регистрации нескольких кавитационных эффектов: звуколюминесценции, кавитационного шума, поглощения ультразвука, нагрева жидкости и спектров кавитационного шума. Разработана установка для реализации данной методики, приводятся результаты испытаний установки.

### Установка и методика исследований

Схема установки приведена на рисунке 1. Рабочая емкость представляет собой цилиндр из нержавеющей стали диаметром 100 мм и высотой 160 мм. Через отверстие в дне емкости устанавливается излучатель ультразвуковых колебаний. В данной работе использовались высокочастотный (ВЧ - 720 кГц) фокусирующий излучатель диаметром 40 мм и низкочастотный (НЧ - 34,46 кГц) плоский излучатель диаметром 50 мм. Торец емкости, противоположный излучателю, снабжен конической крышкой с конусом вовнутрь емкости. Поверхность конуса выполнена гофрированной, что обеспечивает при закрытии емкости этой крышкой высокий уровень однородности ультразвукового поля и предотвращает образование стоячих волн. Гидрофон вмонтирован через крышку емкости таким образом, что его приемный пьезокерамический элемент диаметром 2 мм и толщиной 0,25 мм находится за фокальным пятном ВЧ излучателя на расстоянии 25 мм от него. Такая конструкция обеспечивает постоянство уровня жидкости в рабочей емкости и существенно уменьшает площадь поверхности раздела жидкость - газ. Отметим, что в большинстве известных в литературе исследований уровень жидкости не контролировался или контролировался с недостаточной точностью.