

Оперативный количественный анализ мультиспектральных изображений тканей организма человека

С.А.Лысенко

Разработан метод оперативного мониторинга структурно-морфологических параметров биологических тканей (концентрации гемоглобина, степени оксигенации крови, среднего диаметра капилляров и параметра, характеризующего средний размер рассеивателей ткани), включающий в себя регистрацию мультиспектрального изображения ткани, нормировку изображения на один из его спектральных слоев и определение искомым параметров на основе их устойчивой регрессионной связи со спектральными характеристиками нормированного изображения. Регрессии получены на основе численного моделирования спектра диффузного отражения ткани методом Монте-Карло при широкой вариации модельных параметров. Корректность модельных расчетов подтверждена хорошим соответствием их экспериментальным данным. Оценены погрешности предлагаемого метода в условиях общей вариативности структурно-морфологических параметров ткани. Проведено его сравнение с традиционными методами интерпретации мультиспектральных изображений биологических тканей, основанными на решении обратной задачи для каждого пикселя изображения в приближении различных аналитических моделей.

Ключевые слова: слизистая оболочка, мультиспектральные изображения, гемоглобин, степень оксигенации, диаметр капилляров, множественные регрессии, аналитические методы.

1. Введение

Эффективность лечения онкологических больных в первую очередь зависит от правильности диагноза на ранних этапах развития злокачественной опухоли. В органах дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта формирование очагов предрака и раннего рака происходит, как правило, в поверхностных слоях слизистой оболочки (далее ткань), общая толщина которых составляет 200–500 мкм [1].

Из всех существующих методов ранней диагностики опухолей, поражающих слизистую оболочку полых органов, включая дыхательные пути и пищеварительный тракт, ведущим остается эндоскопическое исследование. Современные эндоскопические системы формируют высококачественное изображение ткани в реальном времени непосредственно на дисплее компьютера. Однако на изображения ткани в естественном цвете влияют ее анатомические особенности и спектральная чувствительность эндоскопической системы, что препятствует высокой точности диагностики. Кроме того, обычное эндоскопическое исследование основывается на субъективной оценке изображения врачом, исходя из его опыта, квалификации и психоэмоционального состояния (при утомлении и цветовосприятие врача снижается, при возбуждении – усиливается).

В последнее десятилетие в клинической практике все шире начинает использоваться эндоскопия с оптическим усилением изображения [2, 3]. Суть ее заключается в пре-

образовании обычного цветного изображения ткани (путем компьютерной обработки) в несколько спектральных изображений, каждое из которых соответствует определенной длине волны света – от фиолетового (400 нм), проникающего в поверхностные слои ткани, до красного (700 нм), проникающего в глубокие слои. Это позволяет улучшить видность кровеносных сосудов и других структур в слизистой оболочке. Однако такая эндоскопия не дает информации о структурно-морфологических параметрах (СМП) ткани, количественно характеризующих процесс развития патологии.

Количественные оценки СМП слизистых оболочек можно получить с использованием методов спектроскопии диффузного отражения [4–12], основанных на измерении спектральных и пространственных характеристик поля рассеянного тканью света и на вычислении искомым величин в рамках модели переноса излучения в исследуемой среде. Для практической реализации этих методов используются, как правило, оптоволоконные мини-зонды, вводимые или встраиваемые в инструментальный канал эндоскопа. Главным недостатком таких измерений является их локальность, поскольку они позволяют судить о состоянии ткани только в точке ее соприкосновения с торцом зонда. Между тем, для вынесения точного и надежного эндоскопического диагноза необходима информация о распределении СМП как в самом подозрительном новообразовании, так и в его окрестностях. В этом смысле наибольшими диагностическими возможностями обладают методы мультиспектральной визуализации биологических объектов [13–20]. В них результаты измерений потоков рассеянного тканью света представляются в виде многослойной матрицы с размерностью $N_x \times N_y \times N_\lambda$, в которой каждый k -й слой ($k = 1, \dots, N_\lambda$) является монохромным изображением с пространственным разрешением $N_x \times N_y$, полученным в k -м спектральном участке. До недавнего времени для реализации этих мето-

С.А.Лысенко. Белорусский государственный университет, Белоруссия, 220050 Минск, просп. Независимости, 4; e-mail: lisenko@bsu.by

Поступила в редакцию 28 августа 2012 г., после доработки – 7 марта 2013 г.

дов применялась уникальная и дорогостоящая аппаратура, при использовании которой высокое спектральное разрешение изображения достигалось ценой значительного увеличения длительности измерений [13–16]. Однако с появлением коммерчески доступных перестраиваемых фильтров на жидких кристаллах [21, 22], позволяющих выполнять высокоскоростную спектральную селекцию изображений, появилась возможность проведения аналогичных измерений на значительно более простой инструментальной базе [17–20]. В настоящее время единственной проблемой, сдерживающей практическое использование данных методов в медицинской практике, является большая вычислительная сложность количественного анализа мультиспектральных изображений. Для получения карт распределения СМП биологической ткани необходимо решать обратную задачу для большого количества пикселей ее мультиспектрального изображения, суть которой состоит в моделировании процесса переноса света в исследуемой ткани и в сопоставлении расчетных и экспериментальных данных. Известные методы расчета потоков рассеянного тканью света либо приближенны и не обеспечивают необходимой для практики точности, либо требуют больших вычислительных затрат и потому исключают возможность оперативной интерпретации экспериментальных данных. Кроме того, для устойчивого решения обратной задачи необходимо, чтобы количество спектральных слоев изображения в несколько раз превышало количество модельных параметров, что еще больше затрудняет интерпретацию результатов измерений в режиме реального времени.

В настоящей работе решается задача оперативной обработки мультиспектральных изображений слизистых оболочек и получения параметрических карт, характеризующих процесс развития патологии. Уже достоверно известно, что рост опухолей, превышающих в диаметре несколько миллиметров, возможен только в случае формирования и прорастания в них мелких капилляров, обеспечивающих опухолевые клетки кислородом и питательными веществами [23]. В результате опухолевая ткань отличается от окружающей ее нормальной ткани более высоким кровенаполнением и более мелкими кровеносными сосудами. Кроме того, злокачественные опухоли характеризуются интенсивным потреблением кислорода, поэтому концентрация кислорода в сосудах, отводящих кровь из патологических областей, обычно ниже нормы. В связи с этим информация о распределении концентрации гемоглобина, степени оксигенации крови и диаметре кровеносных сосудов в слизистой оболочке, отображаемая на дисплее компьютера в ходе проведения эндоскопии, могла бы значительно повысить современные возможности ранней диагностики онкологических заболеваний.

2. Алгоритм обработки мультиспектрального изображения биологической ткани

Процесс получения мультиспектрального изображения исследуемой ткани можно схематически представить следующим образом [17–19]. В качестве источника излучения, освещающего ткань, используется лампа или «белый» светодиод. Перестраиваемый оптический фильтр, установленный перед источником излучения, вырезает из широкого спектра излучателя узкие спектральные составляющие, которые по оптическому волокну последовательно направляются на ткань. Отраженный от ткани

свет собирается линзой на ПЗС-матрице, и на основе ее фотосигналов формируется мультиспектральное изображение ткани. Для исключения попадания на светочувствительные элементы матрицы зеркально отраженного света, приводящего к появлению бликов в изображении ткани, перед источником излучения и перед блоком регистрации излучения устанавливаются взаимно ортогональные поляризационные фильтры. Свет, отраженный от поверхности ткани, сохраняет исходную поляризацию и поэтому блокируется фильтром в канале регистрации. Оставшаяся часть света проникает в глубь ткани, где в результате многократного рассеяния практически полностью утрачивает первоначальную поляризацию. Рассеянный в заднюю полусферу диффузный свет проходит через поляризационный фильтр в канале регистрации и попадает на ПЗС-матрицу.

Сигналы на выходе ПЗС-матрицы (спектральные слои изображения) определяются в соответствии с формулой

$$V(x, y, \Lambda_k) = G(\theta, x, y) \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} P(\lambda) F_k(\lambda) \tau(\lambda) D(\lambda) R(x, y, \lambda) d\lambda, \quad (1)$$

где λ – длина волны света; x, y – координаты элемента поверхности ткани; $P(\lambda)$ – мощность источника излучения; $F_k(\lambda)$ – коэффициент пропускания перестраиваемого оптического фильтра в k -м спектральном участке Λ_k ($k = 1, \dots, N_\lambda$); $\tau(\lambda)$ – коэффициент пропускания оптического волокна, поляризационных фильтров и линзы; $D(\lambda)$ – спектральная чувствительность матрицы; $R(x, y, \lambda)$ – коэффициент диффузного отражения (КДО) ткани, представляющий собой отношение потока диффузного излучения, отраженного тканью, к падающему на нее потоку; $G(\theta, x, y)$ – геометрический фактор, зависящий от пространственного распределения освещенности ткани и угла θ между нормалью к поверхности ткани и осью собирающей линзы; λ_1 и λ_2 – границы диапазона спектра, используемого блоком регистрации.

Распределения структурно-морфологических параметров $p(x, y)$ слизистой оболочки удобно определять на основе изображения $w(x, y, \Lambda_k) = V(x, y, \Lambda_k)/V(x, y, \Lambda_{\text{ref}})$, получаемого путем нормирования исходного изображения $V(x, y, \Lambda_k)$ на один из его спектральных слоев $V(x, y, \Lambda_{\text{ref}})$ (опорный слой). Как следует из (1), нормированное изображение $w(x, y, \Lambda_k)$ не зависит от пространственного распределения освещенности ткани и положения ткани относительно блока регистрации рассеянного им излучения. В связи с этим зависимость $w(x, y, \Lambda_k)$ от спектральных характеристик компонентов измерительного устройства легко учесть на основе вышеописанных измерений для белого диффузного отражателя с КДО, независящим от Λ_k . При использовании узких спектральных участков такие измерения позволяют осуществлять переход от нормированных изображений ткани $w(x, y, \Lambda_k)$ к нормированным распределениям ее КДО:

$$\frac{R(x, y, \lambda_k)}{R(x, y, \lambda_{\text{ref}})} = \frac{w(x, y, \lambda_k)}{w_0(x, y, \lambda_k)},$$

где λ_k и λ_{ref} – центральные длины волн участков Λ_k и Λ_{ref} ; $w_0(x, y, \Lambda_k)$ – нормированное мультиспектральное изображение белого диффузного отражателя.

Таким образом, задачу определения СМП ткани $p(x, y)$ можно свести к анализу спектральной зависимости $r(x, y, \lambda_k) = R(x, y, \lambda_k)/R(x, y, \lambda_{\text{ref}})$ для каждой точки ее изображения. Предлагаемый алгоритм решения данной задачи одинаков для всех точек изображения, поэтому в

дальнейшем зависимость коэффициентов r и параметров p от координат (x, y) для краткости будем опускать. Спектральные коэффициенты $r(\lambda_k)$ представим в виде вектора измерений $r = (r_k)$ с $N_\lambda - 1$ -компонентой $r_k = -\ln r(\lambda_k)$. При большом количестве спектральных слоев изображения удобно воспользоваться методом главных компонент, суть которого состоит в уменьшении размерности исходных данных и выделении из них наиболее существенной информации. Для этого вектор r разлагается по системе ортонормированных базисных векторов (главных компонент):

$$r = \bar{r} + G\xi, \tag{2}$$

где \bar{r} – средний вектор измерений; $G = (g_1, \dots, g_T)$ – матрица размером $(N_\lambda - 1) \times T$ со столбцами из главных компонент g_n ($n = 1, \dots, T$); T – число используемых главных компонент ($T = 1, \dots, N_\lambda - 1$); $\xi = (\xi_1, \dots, \xi_T)^t$ – коэффициенты разложения, которые находятся по формуле

$$\xi = G^t(r - \bar{r}) \tag{3}$$

(t – операция транспонирования).

Как известно, оптимальной аппроксимацией случайного вектора r является разложение по собственным векторам его ковариационной матрицы [24, 25]

$$S_{ij} = \frac{1}{\sigma_i \sigma_j} \sum_{k=1}^K (r_i^k - \bar{r}_i)(r_j^k - \bar{r}_j), \tag{4}$$

где $\bar{r} = (\bar{r}_i)$ и $\sigma = (\sigma_i)$ – среднее значение и дисперсия вектора r , определяемые на основе ансамбля из K его реализаций; $1 \leq i, j \leq N_\lambda - 1$. В связи с быстрой сходимостью такого разложения первые главные компоненты (собственные векторы), соответствующие наибольшим собственным числам матрицы (4), вносят основной вклад в вариации r . Таким образом, можно значительно уменьшить размерность экспериментальных данных и выделить из них несколько линейно-независимых компонент (ЛНК), содержащих в себе столько же информации, сколько ее и было в исходных данных. Количество ЛНК определяется путем анализа собственных чисел l_T ($T = 1, \dots, N_\lambda - 1$) ковариационной матрицы коэффициентов $r(\lambda_k)$. Для этого ее элементы делятся на количество спектральных участков N_λ , что приводит к выполнению условия $\sum l_T = 1$. Каждое из собственных чисел полученной матрицы определяет относительный вклад соответствующего ему собственного вектора g_T в вариации r . Количество ЛНК определяется номером наименьшего собственного числа, для которого $l_T > \delta r^2$ [25], где δr – погрешность измерений $r(\lambda_k)$.

Таким образом, для решения обратной задачи можно использовать не сами коэффициенты $r(\lambda_k)$, измеряемые непосредственно в эксперименте, а их ЛНК, получаемые как проекции вектора измерений r на пространство из собственных векторов его ковариационной матрицы. Оперативный метод решения таких задач был предложен в работах [26–29]. Метод основан на построении явных аналитических выражений Y_p , связывающих искомые параметры среды p с ЛНК (ξ) экспериментальных данных, как $p = Y_p(\xi, a_p)$, где a_p – вектор параметров аналитического выражения. Для построения операторов Y_p используется модель переноса излучения в исследуемой среде, позволяющая по заданным параметрам среды рассчитывать вектор результатов измерений r . На основе этой модели формируется «обучающий» ансамбль реализаций p и ξ и

методом наименьших квадратов определяются коэффициенты a_p выбранных аналитических выражений. В большинстве случаев связь между p и ξ хорошо описывается полиномиальными регрессиями следующего вида [26–29]:

$$p = a_{00} \sum_{n=1}^T \sum_{m=1}^M a_{nm} (\xi_n)^m, \tag{5}$$

где M – степень полинома; a_{nm} – регрессионные коэффициенты. Регрессии (5) позволяют использовать для определения p любое количество ЛНК, а увеличение M дает возможность добиться сколь угодно точной аппроксимации статистической связи между p и ξ (хотя, как правило, достаточно использовать $M = 3$).

3. Оптическая модель слизистой оболочки

Ансамбль реализаций СМП и спектров КДО слизистой оболочки, необходимый для получения среднего вектора измерений \bar{r} , главных компонент (g_1, \dots, g_T) и коэффициентов регрессии (5), получен на основе модельных расчетов. В рамках используемой модели процесс переноса излучения в среде описывается ее показателем преломления η , показателем поглощения k , средним косинусом индикатрисы рассеяния g и транспортным коэффициентом рассеяния $\beta' = \beta(1 - g)$, где β – коэффициент рассеяния.

При падении светового потока на биологическую ткань часть его отражается от поверхности ткани за счет перепада показателя преломления света на границе раздела сред. Свет, проникающий вглубь ткани, рассеивается, а затем многократно переотражается между внутренними слоями и поверхностью ткани. В связи с этим приповерхностный слой ткани оказывает значимое влияние на характеристики ее диффузного отражения. Для его учета показатель преломления ткани η включен в число варьируемых параметров модели.

Спектр $k(\lambda)$ моделируется в виде линейной комбинации спектров поглощения окси- (HbO₂) и деоксигемоглобина (Hb), являющихся основными поглотителями света в видимой области спектра [4–9, 14]:

$$k(\lambda) = \alpha(D_v, \lambda) f_v C_{\text{Hb}} \frac{\ln 10}{\mu_{\text{Hb}}} [S \epsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda) + (1 - S) \epsilon_{\text{Hb}}(\lambda)], \tag{6}$$

где f_v – объемная концентрация капилляров; $C_{\text{Hb}} = 150$ г/л – средняя концентрация гемоглобина в крови; $\mu_{\text{Hb}} = 64500$ г/моль – молярная масса гемоглобина; ϵ_{HbO_2} и ϵ_{Hb} – молярные показатели поглощения HbO₂ и Hb [30]; S – степень оксигенации крови (доля окисленного гемоглобина в общем гемоглобине); α – поправочный коэффициент, учитывающий различие поглощательных способностей гемоглобина, равномерно распределенного по объему ткани, и гемоглобина, локализованного в капиллярах [31, 32]. Для хаотически распределенных капилляров диаметром D_v коэффициент α можно рассчитать на основе следующего выражения [32]:

$$\alpha(D_v, \lambda) = 2\sqrt{3} \times \frac{1 - \exp[-\pi k_{\text{Hb}}(\lambda) D_v (1 - 0.043 k_{\text{Hb}} D_v) / 2\sqrt{3}]}{\pi k_{\text{Hb}}(\lambda) D_v}, \tag{7}$$

где $k_{\text{Hb}}(\lambda) = (C_{\text{Hb}} \ln 10 / \mu_{\text{Hb}}) [S \epsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda) + (1 - S) \epsilon_{\text{Hb}}(\lambda)]$ – показатель поглощения гемоглобина.

Транспортный коэффициент рассеяния биологических тканей в видимой области спектра с хорошей точностью аппроксимируется степенной зависимостью [12, 33–35]:

$$\beta'(\lambda) = C(\lambda_0/\lambda)^v, \tag{8}$$

где $\lambda_0 = 600$ нм; $C = \beta'(\lambda_0)$ и v – структурные параметры ткани, характеризующие концентрацию и размер ее «эффективных» рассеивателей. Для описания индикатрисы однократного рассеяния ткани используется однопараметрическая функция Хеньи–Гринштейна [36, 37] с фактором анизотропии рассеяния g .

Таким образом, оптическая модель слизистой оболочки определяется семью параметрами: η, g, C, v, f_v, D_v и S . Ниже приведены диапазоны их вариаций, выбранные путем критического анализа результатов различных авторов [4–12, 33–35, 38] для слизистых оболочек полости рта, пищевода, органов желудочно-кишечного тракта и легких.

Диапазоны вариаций модельных параметров	
η	1.35–1.45
g	0.5–0.95
C (мм ⁻¹)	0.5–3.0
v	0.3–2.0
f_v (%)	0.5–20
D_v (мкм)	4.5–75
S (%)	20–98

КДО ткани $R(\lambda)$ рассчитывался методом Монте-Карло [36, 37] в диапазоне $\lambda = 450–700$ нм с шагом по λ , равным 10 нм ($N_\lambda = 26$), что примерно соответствует спектральному разрешению современных перестраиваемых оптических фильтров. Расчет выполнялся для однородной среды путем моделирования случайных траекторий 5×10^5 фотонов, вводимых в среду по нормали к ее поверхности. При вариациях модельных параметров транспортное альbedo однократного рассеяния среды $A' = \beta'/(k + \beta')$ для длины волны 632 нм не должно было выходить из диапазона 0.5–0.98, соответствующего биологическим тканям.

4. Оценка количества ЛНК в спектрах диффузного отражения

На основе вышеописанной модели был сформирован ансамбль из 10^3 реализаций модельных параметров и соответствующих им векторов $r = (r_k)$ с компонентами $r_k = -\ln r(\lambda_k)$, где $r(\lambda_k) = R(\lambda_k)/R(\lambda_{ref})$; $\lambda_{ref} = 700$ нм; $k = 1, \dots, N_\lambda - 1$. Эти данные позволяют рассчитать средний вектор измерений \bar{r} и собственные векторы g_n его ковариационной матрицы. Далее по формуле (3) можно найти проекции ξ всех реализаций r на пространство из векторов g_n ($n = 1, \dots, T$) и методом наименьших квадратов получить коэффициенты a_{nm} множественных регрессий между ξ и модельными параметрами p . Однако перед этим необходимо оценить количество ЛНК, содержащихся в $r(\lambda_k)$.

Анализ собственных чисел l_T ковариационной матрицы коэффициентов $r(\lambda_k)$, приведенных на рис.1, показывает, что при погрешности $\delta r \leq 4\%$ измеряемые коэффициенты $r(\lambda_k)$ содержат пять ЛНК. Это означает, что первые пять собственных векторов g_n ковариационной матрицы (4), указанные в табл.1, позволяют аппроксимировать любую модельную реализацию $r(\lambda_k)$. Погрешность такой аппроксимации, рассчитываемая по формуле

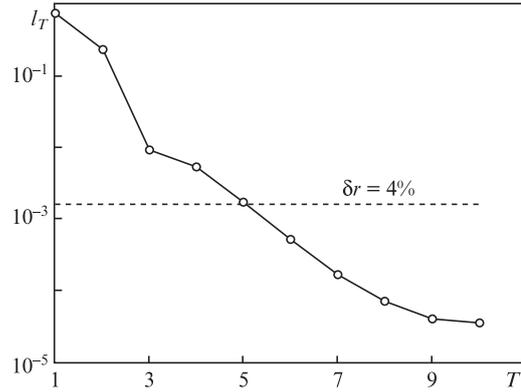


Рис.1. Первые десять собственных чисел ковариационной матрицы коэффициентов $r(\lambda_k)$. Горизонтальная линия соответствует погрешности измерения $r(\lambda_k)$, равной 4%.

Табл.1. Средний вектор измерений \bar{r} и собственные векторы g_n его ковариационной матрицы.

λ_k (нм)	\bar{r}	g_n				
		$n = 1$	$n = 2$	$n = 3$	$n = 4$	$n = 5$
450	2.2809	0.2169	-0.0887	0.5324	0.4289	0.5408
460	1.7752	0.2065	-0.1774	-0.0950	0.3175	-0.0867
470	1.5756	0.2016	-0.1929	-0.2379	0.2615	-0.1538
480	1.4664	0.2017	-0.1916	-0.2954	0.2121	-0.1313
490	1.4673	0.2074	-0.1722	-0.2781	0.1603	-0.0525
500	1.5018	0.2159	-0.1375	-0.2259	0.1102	0.0761
510	1.5779	0.2218	-0.1060	-0.1513	0.0577	0.1486
520	1.7406	0.2229	-0.1014	-0.0515	0.0028	0.1074
530	2.0215	0.2187	-0.1269	0.1074	-0.0312	-0.0755
540	2.2058	0.2167	-0.1327	0.2442	-0.0525	-0.1521
550	2.1928	0.2212	-0.1043	0.2683	-0.1115	-0.0262
560	2.1252	0.2248	-0.0756	0.2458	-0.1727	0.0535
570	2.1906	0.2184	-0.1216	0.2210	-0.2047	-0.2057
580	2.1993	0.2136	-0.1461	0.1814	-0.2334	-0.3942
590	1.6536	0.2272	-0.0454	-0.0441	-0.3623	-0.0144
600	0.9964	0.2216	0.1012	-0.1445	-0.2964	0.1575
610	0.6885	0.2109	0.1609	-0.1539	-0.2148	0.1617
620	0.4823	0.2050	0.1849	-0.1678	-0.1457	0.1675
630	0.3569	0.1906	0.2308	-0.1205	-0.0562	0.1413
640	0.2757	0.1747	0.2691	-0.0662	0.0105	0.0793
650	0.2167	0.1639	0.2904	-0.0320	0.0403	0.0425
660	0.1620	0.1528	0.3092	0.0084	0.0767	-0.0035
670	0.1151	0.1424	0.3247	0.0380	0.1001	-0.0422
680	0.0701	0.1284	0.3424	0.0912	0.1432	-0.1381
690	0.0275	0.1091	0.3599	0.1413	0.3008	-0.5086

$$\delta_r = \frac{1}{N_\lambda - 1} \sum_{k=1}^{N_\lambda - 1} \frac{|r(\lambda_k) - r^*(\lambda_k)|}{r(\lambda_k)},$$

где $N_\lambda = 26$, а $r^*(\lambda_k)$ – аппроксимация $r(\lambda_k)$ выражением (2), не превышает 4.7%.

Представляет интерес оценка погрешности аппроксимации экспериментальных зависимостей $r(\lambda_k)$ с использованием найденных главных компонент g_n . Для этого использовались результаты in vivo измерений спектров диффузного отражения слизистых оболочек желудка и легких, приведенные в работах [11, 39]. Измерения проводились на базе широкополосного источника света, спектрофотометра и оптических волокон для подведения возбуждающего излучения от источника к ткани и для доставки

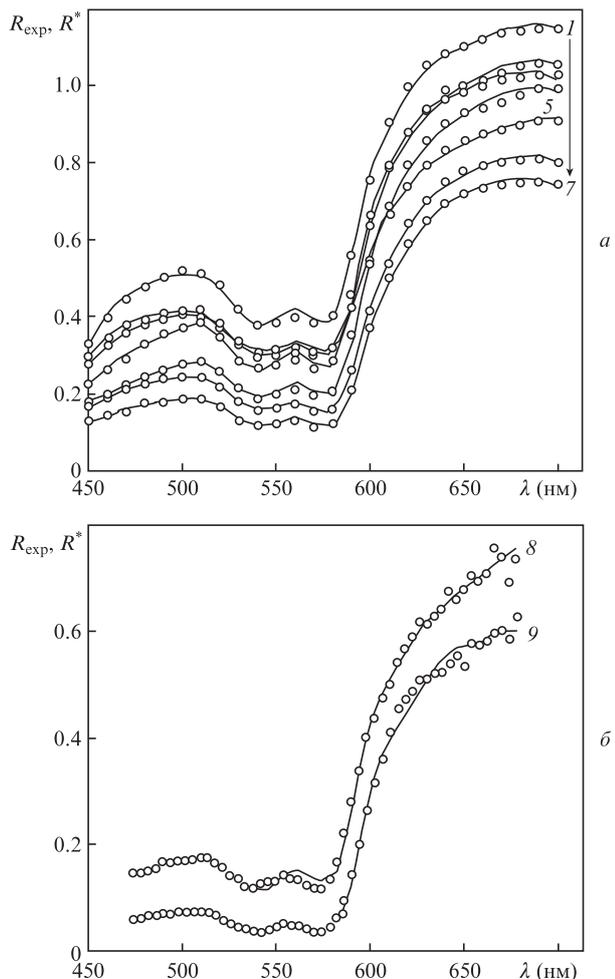


Рис.2. Аппроксимация экспериментальных спектров КДО слизистых оболочек желудка (а) и легких (б) с использованием пяти главных компонент; точки – экспериментальные данные, кривые – результаты расчета по формулам (2), (3). Стрелкой обозначено направление нумерации спектров.

рассеянного тканью излучения к спектрофотометру. Поскольку при эндоскопии сложно соблюсти идентичные условия измерений для исследуемой ткани и калибровочного образца, то КДО ткани R_{exp} определяются с точностью до некоторого постоянного множителя. Это проявляется в том, что экспериментальные коэффициенты $R_{exp}(\lambda)$, представленные на рис.2, в некоторых случаях превышают единицу. Однако для целей настоящей работы интерес представляет лишь относительный спектральный ход КДО ткани.

Экспериментальные спектры $R_{exp}(\lambda)$ слизистых оболочек желудка интерполировались к значениям λ , соответствующим векторам g_n (табл.1), и нормировались на $R_{exp}(\lambda_{ref} = 700 \text{ nm})$ для получения векторов r . Далее по формуле (3) рассчитывались проекции r на пространство из векторов g_n ($n = 1, \dots, 5$) и с использованием выражения (2) осуществлялась аппроксимация зависимости $R_{exp}(\lambda)/R_{exp}(\lambda_{ref})$. Результаты аппроксимации наряду с экспериментальными зависимостями $R_{exp}(\lambda)$ приведены на рис.2,а. Погрешность δ_r для разных спектров изменяется от 1.3% до 2.6%, что согласуется с модельными оценками.

Спектры диффузного отражения слизистой оболочки легких приведены в работе [11] для диапазона $\lambda = 475 - 675 \text{ nm}$. Этот диапазон уже, чем тот, что использовался при моделировании (400–700 nm). Поэтому в данном слу-

чае все модельные реализации $R(\lambda)$ интерполировались к λ , соответствующим экспериментальным данным, и нормировались на $R(\lambda_{ref} = 675 \text{ nm})$. На основе полученных данных рассчитывались векторы \vec{r} и g_n , используемые для аппроксимации экспериментальных зависимостей $R_{exp}(\lambda)/R_{exp}(\lambda_{ref})$. Соответствующие им погрешности аппроксимации составляют 3.9% для нормальной ткани и 5.0% для опухоли (рис.2,б). Последнее значение немного превышает верхнюю границу δ_r для смоделированных данных, однако с учетом погрешностей измерений и оцифровки экспериментальных данных, а также несоответствия длин волн, используемых в эксперименте и модельных расчетах, это обстоятельство является вполне естественным.

5. Анализ погрешностей восстановления модельных параметров

Погрешности восстановления модельных параметров p из спектральных коэффициентов $r(\lambda_k)$ оцениваются путем замкнутого численного эксперимента, суть которого состоит в следующем. Для каждой смоделированной реализации $r(\lambda_k)$ осуществляется расчет p по формулам (3) и (5) при наложении на $r(\lambda_k)$ случайных отклонений в пределах δr (моделирующих погрешности оптических измерений). Полученное в результате значение искомого параметра p^* сравнивается с его значением для рассматриваемой реализации. После перебора всех реализаций вычисляется средняя погрешность δ_p восстановления рассматриваемого параметра.

Результаты приведенного выше анализа позволяют сделать следующие выводы. В рамках предположения об общей вариативности модельных параметров (не жесткой фиксации их значений) по спектральным коэффициентам $r(\lambda_k)$ можно определять степень оксигенации крови S , средний диаметр капилляров D_v и безразмерный параметр v , характеризующий средний размер рассеивателей ткани и определяющий спектральное поведение ее коэффициента $\beta'(\lambda)$. Что касается концентрации общего гемоглобина в ткани $F_{tHb} = f_v C_{tHb}$ (г/л) – важнейшего показателя в онкологической диагностике, то информативность его восстановления, как отношение средней погрешности восстановления к априорной неопределенности, близка к единице. То же относится и к модельному параметру S , который является функцией концентрации рассеивающих центров и показателя преломления ткани. Причина этого – неоднозначность решения обратной задачи вследствие невозможности разделения вкладов поглощения и рассеяния в коэффициенты $r(\lambda_k)$. В связи с этим из $r(\lambda_k)$ можно восстановить только отношение F_{tHb}/C или $F_{tHb}/\beta'(\lambda)$, где λ находится в пределах диапазона, используемого системой регистрации мультиспектральных изображений ткани. К счастью, для большинства биологических тканей имеются надежные данные по коэффициенту $\beta'(\lambda)$, полученные в лабораторных условиях методом спектрофотометрии с использованием интегрирующих сфер [12, 33–35]. Следует также отметить, что для каждого конкретного типа биологической ткани $\beta'(\lambda)$ варьируется в сравнительно небольших пределах. Так, согласно данным [12, 34], для тканей желудка в норме и при различных формах патологического поражения $\beta'(600 \text{ nm})$ находятся в диапазоне $1.73 - 2.4 \text{ mm}^{-1}$. Для нормальной и опухолевой ткани легких $\beta'(632 \text{ nm}) = 1.02 - 1.24$ [33]. Это дает основание полагать, что при наличии априорной информации о типе биологической ткани по измеряемым коэффициен-

Табл.2. Коэффициенты a_{mn} регрессии (5) для $p = \ln(F_{\text{тнб}}/C)$ ($a_{00} = 1.8724$).

m	n		
	1	2	3
1	0.4492	-0.0359	0.0047
2	-0.3411	0.0605	0.0269
3	-0.9042	0.2076	-0.1318
4	-1.3445	0.1198	0.2126
5	0.1033	-0.2700	-0.0668

Табл.3. Коэффициенты a_{mn} регрессии (5) для $p = \ln(F_{\text{тнб}}/C)$ ($a_{00} = 0.5650$).

m	n		
	1	2	3
1	-0.2187	0.0212	-0.0011
2	-0.5705	-0.1322	-0.0183
3	-0.1272	0.0479	-0.0118
4	-0.0766	0.1036	-0.0264
5	-0.3603	-0.1485	0.0737

Табл.4. Коэффициенты a_{mn} регрессии (5) для $p = D_v$ ($a_{00} = 34.982$).

m	n		
	1	2	3
1	-5.9109	-2.3654	0.0846
2	-68.526	4.2881	0.3785
3	-108.20	35.430	-11.785
4	-68.642	-0.4489	5.5019
5	64.935	-12.348	23.519

Табл.5. Коэффициенты a_{mn} регрессии (5) для $p = v$ ($a_{00} = 1.1176$).

m	n		
	1	2	3
1	-0.5089	0.0387	-0.0012
2	-0.8043	-0.0379	0.0063
3	0.7425	-0.2666	0.0947
4	-2.8033	-0.1219	0.6794
5	-1.8777	-0.5878	0.5382

там $r(\lambda_k)$ можно также определять и концентрацию в ткани гемоглобина.

Коэффициенты регрессий (5) для параметров $F_{\text{тнб}}/C$, S , D_v и v приведены в табл.2–5. О точности оценок данных параметров с использованием полученных регрессий можно судить по представленным на рис.3 диаграммам,

на которых известные значения параметров p сопоставлены со значениями p^* , восстановленными из коэффициентов $r(\lambda_k)$ при $\delta r = 2\%$.

Рассмотрим примеры восстановления СМП слизистых оболочек из экспериментальных спектров их диффузного отражения, представленных на рис.2. Интерпретация спектров КДО, соответствующих ткани желудка, проводилась на основе формул (3) и (5) с векторами \vec{r} , \vec{g} , и коэф-

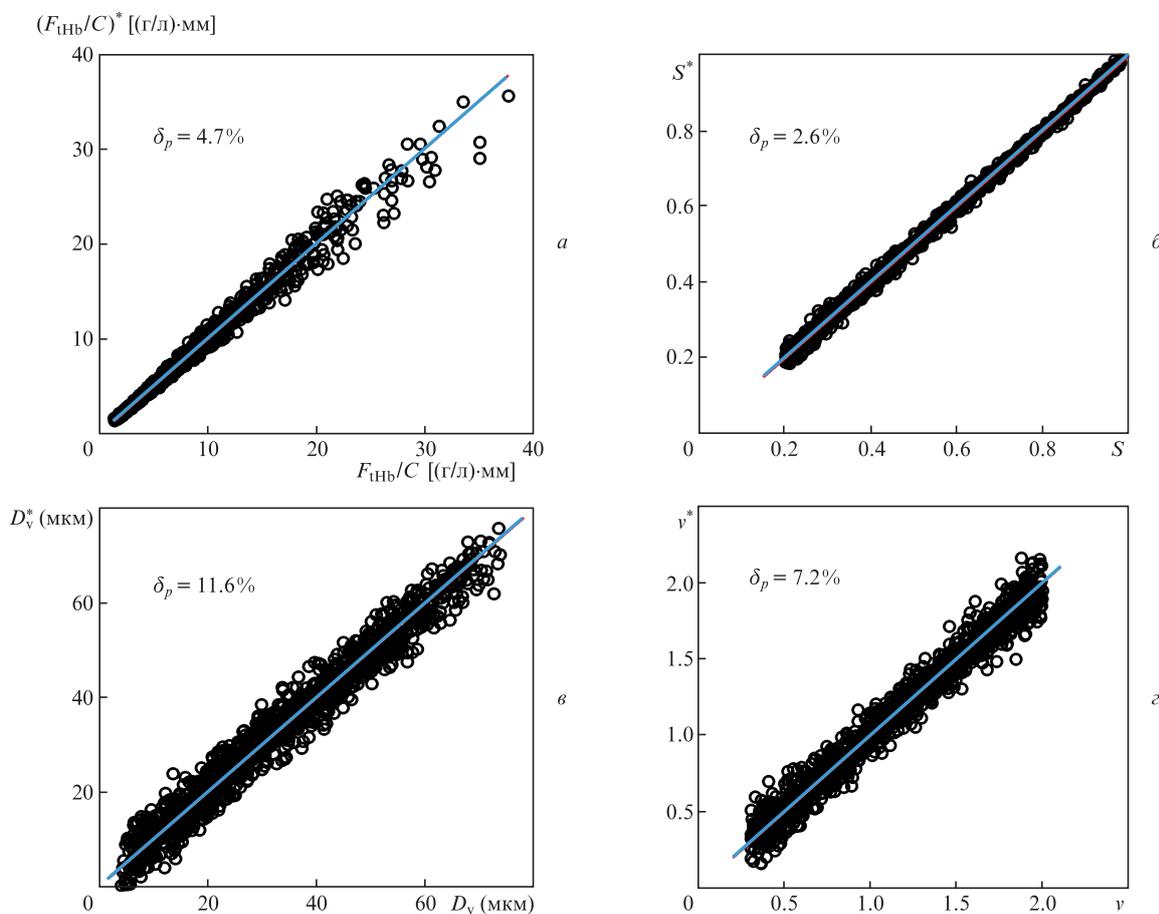


Рис.3. Результаты замкнутых численных экспериментов по восстановлению параметров $F_{\text{тнб}}/C$ (а), S (б), D_v (в) и v (г) с использованием пяти главных компонент $r(\lambda_k)$ при $\delta r = 2\%$; δ_p – средняя погрешность восстановления параметров.

Табл.6. Структурно-морфологические параметры слизистых оболочек желудка (№ 1–7) и легких (№ 8, 9, рис.2,б), восстановленные из экспериментальных спектров их диффузного отражения.

№	$F_{\text{тнб}} (\tau/\lambda)$	S	D_v	ν
1	1.9	0.77	45	0.39
2	2.7	0.89	49	0.03
3	2.7	0.83	57	0.55
4	4.9	0.91	62	0.11
5	2.5	0.68	65	0.76
6	5.6	0.91	65	1.02
7	7.5	0.96	66	0.94
8	3.8	0.94	60	0.39
9	6.4	0.94	41	0.29

фициентами a_{mm} из табл.1–5. Для оценки СМП ткани легких использовались те же формулы, но с векторами \vec{r} , \vec{g}_n и коэффициентами a_{mm} , соответствующими спектральному диапазону 475–675 нм. Параметры $F_{\text{тнб}}$, S , D_v и ν , восстановленные из экспериментальных зависимостей $R_{\text{exp}}(\lambda)/R_{\text{exp}}(\lambda_{\text{ref}})$ (где λ_{ref} – правая граница спектрального диапазона), приведены в табл.6 (в соответствии с нумерацией спектров $R_{\text{exp}}(\lambda)$ на рис.2). Значения концентрации гемоглобина в ткани получены в предположении постоянства параметра C для каждого типа ткани (1.39 мм^{-1} для легких [33] и 1.74 мм^{-1} для желудка [34]). К сожалению, точные значения параметров ткани, соответствующие экспериментальным данным, не известны, поэтому делать выводы о точности их количественных оценок не представляется возможным. Тем не менее полученные параметры количественно характеризуют структуру и биохимический состав ткани, поэтому карты их распределений в слизистых оболочках при различных патологиях могут использоваться для объективного количественного описания этих патологий.

Интересно отметить существенные различия между найденными значениями концентраций гемоглобина и диаметров капилляров для нормальной и опухолевой ткани легких. Эти различия хорошо согласуются с морфологическими изменениями ткани, обусловленными процессом ангиогенеза [23] (активным разрастанием в опухоли мелких капилляров). Что касается степени оксигенации крови, то она в обоих случаях одинакова. Однако для верификации патологии важным является не конкретное значение данного параметра, а его распределение в сосудистых ветвях, подводящих кровь к подозрительному новообразованию и отводящих кровь от него.

6. Сравнение с аналитическими методами

Традиционные методы анализа мультиспектральных изображений биологических тканей основаны на определении спектральных значений КДО ткани (с точностью до некоторого постоянного множителя) для каждой точки ее изображения и на решении обратной задачи в приближении различных численных или аналитических моделей [14, 15, 18–20, 38, 40]. При этом многократно повторяется одна и та же процедура – расчет КДО среды, моделирующей биологическую ткань. Очевидно, что от скорости выполнения этой процедуры зависят общие затраты времени на обработку изображения. В связи с этим большой популярностью у исследователей пользуются различные аналитические методы теории переноса излучения, дающие конечный результат в простом аналитическом виде [14, 15, 18–20, 40].

Рассмотрим оценки точности восстановления СМП ткани с использованием наиболее популярных аналитических методов расчета КДО, а также требующиеся для этого затраты машинного времени. Не вдаваясь в суть этих методов и используемых в них предположений, приведем лишь их основные расчетные формулы (более подробную информацию читатель сможет получить в указанных ниже ссылках).

1. Инженерные методы теории переноса излучения, разработанные в Институте физики НАН Белоруссии [41, 42], дают для КДО однородной среды, освещенной направленным пучком света, следующее выражение:

$$R = \frac{(1-f)(1-f^*)R_0}{1-f^*R_0^*}, \quad (9)$$

где f и f^* – коэффициенты отражения поверхности среды при ее освещении извне и изнутри;

$$R_0 = \exp\left(-\frac{36}{7}\sqrt{\frac{k}{3\epsilon'}}\right), \quad R_0^* = \left(-4\sqrt{\frac{k}{3\epsilon'}}\right)$$

– коэффициенты отражения среды без внешней границы при направленном и диффузном освещении соответственно; $\epsilon' = k(1-g) + \beta'$ – эффективный коэффициент ослабления.

2. В рамках диффузного приближения теории переноса излучения [43] КДО среды можно рассчитать на основе выражения

$$R = 0.5A' \left[1 + \exp\left(-\frac{4A}{3}\right) \sqrt{3(1-A')} \right] \exp[-\sqrt{3(1-A')}], \quad (10)$$

где A' – транспортное альbedo однократного рассеяния; $A = (1+f^*)/(1-f^*)$.

3. Двухпоточная теория Кубелки–Мунка [44] описывает процесс переноса излучения в среде с использованием двух эмпирических коэффициентов – K и S , зависящих от поглощающих и рассеивающих свойств среды. При известных значениях этих коэффициентов КДО среды можно рассчитать по формуле

$$R_0^* = \left[1 + \frac{K}{S} \left(1 + \sqrt{1 + \frac{2S}{K}} \right) \right]^{-1}. \quad (11)$$

В [45] показано, что при освещении среды по нормали к ее поверхности вместо отношения S/K можно использовать $0.27\beta'/k$. Для учета отражения света от поверхности среды будем использовать формулу (9), в которой $R_0 = R_0^*$.

4. В работе [46] на основе метода Монте-Карло получено простое аналитическое выражение, связывающее КДО однородной среды с ее оптическими параметрами k и β' :

$$R = A \exp\left[\frac{-7.8}{\sqrt{3(1-\beta'/k)}}\right], \quad (12)$$

где A – некая константа, значение которой не существенно для анализа относительного спектрального хода $R(\lambda)$.

Подставив выражения (6)–(8) для коэффициентов k и β' в формулы (9)–(12), получим модельную зависимость КДО слизистой оболочки от λ и параметров η , g , C , ν , f_v , D_v , S . Далее с помощью метода наименьших квадратов можно вычислять значения этих параметров, соответствующие минимальному различию между экспериментальным и модельным спектрами диффузного отражения ткани. Эффективность таких аналитических моделей можно оценить на основе анализа (обращения) спектров КДО, рассчитанных численно методом Монте-Карло – наиболее точным методом решения уравнения переноса излуче-

ния, не имеющим ограничений по оптическим параметрам среды. Для этого использовался полученный нами ранее ансамбль из 10^3 реализаций модельных параметров p и соответствующих им коэффициентов $r(\lambda_k) = R(\lambda_k)/R(\lambda_{\text{ref}})$ ($k = 1, \dots, 25; \lambda_{\text{ref}} = 700$ нм). В обрабатываемые спектры $r(\lambda_k)$ вносились случайные погрешности (в пределах 2%) и выполнялся подбор параметров p в приближении вышеописанных аналитических моделей. Найденные значения модельных параметров сравнивались с их значениями, соответствующими обрабатываемым спектрам $r(\lambda_k)$.

Средние погрешности восстановления параметров $F_{\text{тнб}}/C$, S , D_v и v приведены в табл.7. Видно, что наиболее точные оценки искомым параметрам соответствуют модели 1 (в соответствии с приведенной выше нумерацией). Однако их сравнение с аналогичными погрешностями для регрессионной модели (рис.3) показало, что точность оценки ни одного из модельных параметров не повысилась. Модель 4 позволяет получать удовлетворительные оценки параметров S , $F_{\text{тнб}}/C$ и v , однако значительно менее точные, чем при использовании регрессионной модели. Причиной этого, по-видимому, является недостаточно точное описание процесса переноса излучения с использованием аналитической модели 4. Как показано в работе [40], результаты расчетов по формуле (12) хорошо согласуются с экспериментальными данными лишь для сред с $\Lambda' > 0.94$. Между тем, приведенные в разд.3 вариации модельных параметров соответствуют значительно более широкому диапазону значений Λ' – от 0.1 до 0.99. Что касается моделей 2 и 3, то они, как видно из представленных результатов, практически не пригодны для количественного анализа спектров диффузного отражения слизистых оболочек (по крайней мере, в рассматриваемом спектральном диапазоне).

Рассмотрим оценки машинного времени, необходимого для решения обратной задачи в рамках регрессионной и аналитических моделей. Для компьютера на базе процессора Intel Core i7–860 (2.8 ГГц) среднее время подбора кривой $r(\lambda_k)$, состоящей из 25 точек λ_k , в приближении вышеописанных аналитических моделей составляет 0.42–0.79 с (наименьшее время соответствует модели 1, наибольшее – модели 2). Вычисление же модельных параметров на основе их регрессионной связи с $r(\lambda_k)$, т.е. по формулам (3) и (5), занимает $\sim 2.3 \times 10^{-5}$ с. Как несложно подсчитать, в первом случае среднее время обработки 25 нормированных спектральных слоев изображений с разрешением 250×250 пикселей будет составлять 7–14 ч. При использовании же для этой цели регрессионной модели процесс получения карт распределения параметров $F_{\text{тнб}}/C$, S , D_v и v будет занимать всего 1.45 с, что позволяет говорить о возможности мониторинга важных для онкологии параметров слизистых оболочек в режиме, близком к реальному времени.

Таким образом, разработанный метод позволяет практически в реальном масштабе времени получать карты распределений параметров ткани, характеризующих

процесс развития в ней патологии. Данный метод может с успехом использоваться в ходе проведения эндоскопических исследований слизистых оболочек полости рта, пищевода, органов желудочно-кишечного тракта и легких. Получаемые на его основе данные позволяют от субъективного (визуального) исследования слизистой оболочки перейти к объективной (количественной) оценке ее состояния и в значительной мере снизить вероятность диагностических ошибок.

1. Галлигер Ю.И., Годжелло Э.А. *Оперативная эндоскопия пищевода* (М.: РНЦХ РАМН, 1999, с. 273).
2. Takahira M., Kawata M., Suzuki I. Pat. US № 2012/0086790 A1, 12.04.2012.
3. Osawa H., Yoshizawa M., et al. *Gastrointestinal Endoscopy*, **67**, 2 (2008).
4. Zonios G., Perelman L.T., et al. *Appl. Opt.*, **38**, 31 (1999).
5. Amelink A., Bard M.P., Burgers S.A., Sterenborg H.J. *Appl. Opt.*, **42**, 19 (2003).
6. Bigio I.J., Bown S.G. *Cancer Biol. Therapy*, **3**, 3 (2004).
7. Bargo P.R., Prah S.A., et al. *J. Biomed. Opt.*, **10**, 3 (2005).
8. Palmer G.M., Ramanujam N. *Appl. Opt.*, **45**, 5 (2006).
9. Стратонников А.А., Меерович Г.А., Рябова А.В., Савельева Т.А., Лощенов В.Б. *Квантовая электроника*, **36**, 1103 (2006).
10. Reif R., Amoroso M.S., et al. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 1 (2008).
11. Zeng H., Fawzy Y.S. Pat US № 2009/0270702 A1; Int. Cl. A61B 5/1455, A61B 6/00; 29.10.2009.
12. Гираев К.М., Ашурбеков Н.А., Лахина М.А. *ЖПС*, **78**, 1 (2011).
13. Hammer M., Schweitzer D., Thamm E., Kolb A. *Int. Ophthalmol.*, **23**, 291 (2001).
14. Yu C.C., Lau C., O'Donoghue G., et al. *Opt. Express*, **16**, 20 (2008).
15. Jacques S.L. *J. Innovat. Opt. Health Sci.*, **2**, 2 (2009).
16. Tseng T.Y., Lai P.J., Sung K.B. *Opt. Express*, **19**, 2 (2011).
17. Chen C., Jacobs K.M., Lu J.Q., Cuenca R.E., Finley J., Hu X.H. *PIERS Online*, **3**, 6 (2007).
18. Jakovels D., Spigulis J. *J. Biophoton.*, **3**, 3 (2010).
19. Jacques S.L., Samatham R., Choudhury N. *Biomed. Opt. Express*, **1**, 1 (2010).
20. Bersha K.S. *Master Thesis Report* (Univ. Eastern Finland, 2010, p. 58).
21. Gat N. *Proc. SPIE Wavelet Applications VII*, **4056**, 1 (2000).
22. Hardeberg J.Y., Schmitt F., Brettel H. *Opt. Eng.*, **41**, 10 (2002).
23. Прозоровский В. *Наука и жизнь*, № 9, 9 (2006).
24. Зув В.Е., Комаров В.С. *Статистические модели температуры и газовых компонент земной атмосферы* (Л.: Гидрометеоздат, 1986, с. 264).
25. Veselovskii I., Kolgotin A., Müller D., Whiteman D.N. *Appl. Opt.*, **44**, 25 (2005).
26. Кугейко М.М., Лысенко С.А. *ЖПС*, **74**, 5 (2007).
27. Лысенко С.А., Кугейко М.М. *Исследование Земли из космоса*, № 6, 21 (2011).
28. Лысенко С.А., Кугейко М.М. *ЖПС*, **79**, 932 (2012).
29. Лысенко С.А., Кугейко М.М. *Оптика и спектроскопия*, **114**, 105 (2013).
30. Prah S.A. <http://omlc.ogi.edu/spectra/hemoglobin/index.html>.
31. Verkruysse W., Lucassen G.W., de Boer J.F., Smithies D.J., Nelson J.S., van Gemert M.J.C. *Phys. Med. Biol.*, **42**, 1 (1997).
32. Барун В.В., Иванов А.П. *Оптика и спектроскопия*, **96**, 940 (2004).
33. Qu J., MacAulay C., Lam S., Palcic B. *Appl. Opt.*, **33**, 31 (1994).
34. Bashkatov A.N., et al. *Med. Laser Application*, **22**, 00 (2007).
35. Wei H.J., Xing D., Lu J.J., et al. *Gastroenterol.*, **11**, 16 (2005).
36. Prah S.A. *PhD Thesis* (Univ. Texas at Austin, 1988, p. 221).
37. Wang L. et al. *Comput. Meth. Progr. Biomed.*, **47**, 131 (1995).
38. Hidović-Rowe D., Claridge E. *Phys. Med. Biol.*, **50**, 1071 (2005).
39. *Atlas of Spectral Endoscopic Images* (Japan: Chiba Univ. Hospital, 2008, p. 68).
40. Fabbri F., Franceschini M.A., Fantini S. *Appl. Opt.*, **42**, 16 (2003).
41. Зеге Э.П., Иванов А.П., Кацев И.Л. *Перенос изображения в рассеивающей среде* (Минск: Наука и техника, 1985, с. 327).
42. Иванов А.П., Барун В.В. *Оптика и спектроскопия*, **104**, 344 (2008).
43. Farrell T.J., Patterson M.S., Wilson B.C. *Med. Phys.*, **19**, 4 (1992).
44. Egan W.G., Hilgerman T.W. *Optical Properties of Inhomogeneous Materials* (New York: Acad. Press, 1979, p. 246).
45. Burger T., Ploss H.J., Kuhn J., et al. *Appl. Spectrosc.*, **51**, 5 (1997).
46. Jacques S.L. <http://omlc.ogi.edu/news/may99/rd/index.html> (1999).

Табл.7. Средние погрешности восстановления модельных параметров.

Модель	$\delta(F_{\text{тнб}}/C)$ (%)	δS (%)	δD_v (%)	δv (%)
1	6.9	3.0	15.5	9.0
2	144	13.4	35	37
3	58	12.1	46	26.8
4	15.6	4.1	34	12.71