

УДК 535.36

## МЕТОДЫ И ПРОГРАММНО-АППАРАТНЫЕ СРЕДСТВА ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ И ТКАНЕЙ ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА

С.А. ЛЫСЕНКО, В.А. ФИРАГО, А.И. КУБАРКО\*, М.М. КУГЕЙКО

Белорусский государственный университет  
пр. Независимости, 6, Минск, 4220030, Беларусь

\*Белорусский государственный медицинский университет  
Дзержинского, 83, Минск, 220116, Беларусь

Поступила в редакцию 11 ноября 2016

Предлагается ряд подходов к исследованию кровеносных сосудов и тканей глаза человека *in vivo* бесконтактными оптическими методами. Описаны методики и средства измерения геометрических параметров сосудов, скорости кровотока и концентраций хромофоров в тканях глаза. Исследования направлены на поиск новых эффективных технологий получения *in vivo* диагностических признаков сосудистых патологий.

*Ключевые слова:* сосудистые патологии, сетчатка, конъюнктива, склера, хромофоры, кровоток, рассеяние, поглощение, спектр.

### Введение

Глаз тесно связан со многими органами и системами организма человека, поэтому часто при системных заболеваниях в нем также возникают функциональные или морфологические изменения [1]. В связи с этим, исследования состояния органов зрения важны не только при их заболеваниях, но и для диагностики общих патологий. В настоящее время наиболее эффективным средством диагностики глазного дна (ГД) является фундус-камера [2]. Современные фундус-камеры обладают возможностью мультиспектральной съемки и корректируют динамические aberrации оптической системы глаза за счет использования адаптивной оптики. Однако визуальное обследование ГД далеко не всегда обеспечивает объективность диагноза заболевания. ГД состоит из нескольких слоев с различными структурными и морфологическими характеристиками. Результирующее фотоизображение ГД складывается из световых потоков, многократно рассеянных всеми его слоями, вследствие чего возможны существенные различия в трактовке результатов осмотра.

Известен ряд работ по определению степени оксигенации крови в сосудах сетчатки и конъюнктивы спектроскопическими методами [3–5], в которых для интерпретации результатов измерений используются упрощенные подходы к описанию процесса взаимодействия света с тканью, не учитывающие многократное рассеяние света в среде и ее неоднородную структуру. Приближения, лежащие в основе данных методов, позволяют получить удовлетворительное согласие с экспериментом на выборочных длинах волн, характерных для спектров поглощения анализируемых хромофоров ткани, однако оценке могут подлежать только соотношения между концентрациями хромофоров, а не их абсолютные величины. Выполнять количественный анализ рассеянных тканей световых потоков в любых спектральных интервалах с учетом всех факторов, влияющих на световой режим в среде, можно только с использованием численных методов теории переноса излучения [6, 7]. Однако большие вычислительные затраты этих методов делают их непригодными для использования в повседневной клинической практике.

Для уменьшения затрат машинного времени на решение обратной задачи при сохранении точности решения, присущей численным методам теории переноса излучения, авторами разработаны аппроксимационные методы расчета характеристик многократного рассеяния тканей и крови человека [8]. Ниже рассмотрено использование разработанных

методов для решения обратных задач оптики биотканей и оперативного определения структурно-морфологических параметров (СМП) сосудов и тканей глаза.

### Методика и результаты исследований конъюнктивы и склеры

С целью апробации бесконтактных оптических методов диагностики биотканей, авторами разработан оптико-электронный комплекс для исследования периферийных тканей глаза (конъюнктивы или склеры), состоящий из двух персональных компьютеров, высокочувствительного оптоволоконного спектрофотометра AvaSpec-2048, монохромной цифровой видеокамеры Imperx Bobcat IGV-B1410M, блока импульсной и непрерывной подсветки на основе светодиодной и оптоволоконной техники. Спектрофотометр и цифровая видеокамера имеют USB-интерфейс, что позволяет управлять ими через соответствующее программное обеспечение. Монохромная камера IGV-B1410M формирует 10-разрядное цифровое изображение, состоящее из 1040 строк и 1392 столбцов с пространственным разрешением 2 мкм. При регистрации спектров обратного рассеяния (ОР) конъюнктивы используется оптоволоконный зонд. Излучение галогенной лампы передается по шести внешним волокнам жгута зонда и фокусируется объективом на поверхности глаза в виде кольца. Рассеянное тканями конъюнктивы излучение из неосвещаемой центральной области этого кольца собирается объективом и через центральное волокно жгута передается на входную щель спектрометра. Это позволяет фиксировать только излучение, многократно рассеянное тканями конъюнктивы, без вклада излучения, отраженного от ее поверхности. Наводка поля зрения камеры на интересующий участок конъюнктивы и фокусировка изображения осуществляются путем сведения двух пучков лазерного излучения, направленных под углом друг к другу, в одно пятно в плоскости резкого изображения.

Созданный комплекс использовался для измерения спектров обратного рассеяния конъюнктивы нескольких человек разного возраста, добровольно согласившихся на обследование, и предпринята попытка количественного анализа спектров ОР с целью определения СМП тканей глаза. Для анализа возможностей предлагаемых методик выполнен численный расчет спектров ОР среды с кровеносными сосудами. Кровь моделировалась в виде суспензии гемоглобино-содержащих эритроцитов в плазме. Оптические характеристики обескровленной ткани, используемые в расчетах, соответствовали данным лабораторных измерений образцов склеры *in vitro* [9]. Для моделирования оптических характеристик эритроцитов использовалась теория рассеяния света несферическими частицами [8].

При интерпретации тестовых (модельных) спектров использовалось аналитическое выражение, аппроксимирующее зависимость сигнала ОР, получаемого при пространственном разнесении трактов посылки и регистрации излучения, от оптических параметров среды [8]. Исходными данными служили результаты моделирования переноса излучения в среде методом Монте-Карло. Погрешность их аппроксимации полученным выражением не превышает 2 % во всей области вариаций оптических параметров среды, характерной для биотканей.

Результаты обращения тестовых спектров ОР конъюнктивы с использованием разработанной модели показывают, что при измерении спектров с точностью до некоторого постоянного множителя (что исключает необходимость абсолютной калибровки устройства) из них можно восстановить объемную концентрацию кровеносных сосудов, средний диаметр сосудов и степень оксигенации крови. При этом учет эффекта локализации гемоглобина в эритроцитах не сказывается на точности решения обратной задачи, а эффект локализации эритроцитов в сосудах может быть с высокой точностью описан в рамках простой коррекции поглощательной способности среды [10]. Спектральная зависимость параметра анизотропии рассеяния и показателя преломления ткани также не оказывают значимого влияния на воспроизводимость и результаты обработки тестовых спектров в рамках их модели.

Сопоставление теоретических спектров ОР конъюнктивы с данными измерений для группы добровольцев, показало необходимость учета поглощения света билирубином, содержащимся в плазме крови. На экспериментальном спектре, представленном на рис. 1, виден небольшой провал в полосе поглощения билирубина ( $\lambda = 460\text{--}490$  нм).

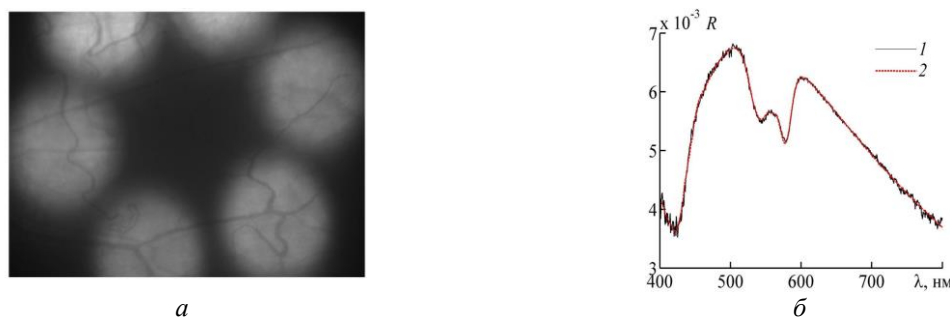


Рис. 1. Результаты измерения спектра обратного рассеяния света конъюнктивой добровольца:  
 а – изображение светящегося торца волоконно-оптического датчика в плоскости конъюнктивы,  
 б – измеренный спектр (1) и результат его подбора в рамках разработанной модели (2)

Впервые выявлено присутствие нейроглобина или нейроглобиноподобных белков в склере глаза человека, основная функция которых заключается в защите нейронов мозга от повреждений, вызванных недостатком кислорода [11]. Полосы поглощения нейроглобина (425 и 560 нм) проявляются в экспериментальных спектрах ОР склеры, а их анализ в рамках разработанной модели позволяет обнаруживать концентрации нейроглобина  $\sim 1$  мкмоль/л.

#### Потенциальные возможности при исследованиях глазного дна

Измерения спектров диффузного отражения света от ГД при его освещении через зрачок выполняют на базе фундус-камер, оснащенных устройством спектральной селекции оптического излучения (монохроматор, перестраиваемый оптический фильтр, катрографический спектрометр и др.). Для устранения бликов в изображении ГД пациента фундус-камера формирует освещение поверхности зрачка исследуемого глаза в виде краевого кольца. Изображение этого кольца полностью перекрывается в приемном канале фундус-камеры, а на фоторегистратор и входную апертуру спектрометрического устройства поступает только световой поток, диффузно отраженный от ГД. Наводка поля зрения камеры на интересующий участок ГД осуществляется путем фиксации взгляда пациента на светящейся метке, которая может перемещаться по полю зрения пациента.

После прохождения светового потока через оптическую систему глаза он попадает на глазное дно, состоящее из четырех слоев: сетчатки, пигментного эпителия, сосудистой оболочки и склеры. Здесь свет частично поглощается кровью и макулярным пигментом в сетчатке, меланином в эпителии и кровью в сосудистой оболочке, многократно рассеивается и переотражается между слоями ГД. В результате некоторый диффузный поток рассеянного излучения выходит из глаза и попадает на приемное устройство. Отношение полного выходящего из среды диффузного потока к падающему на нее направленному потоку есть коэффициент диффузного отражения (КДО) среды. Для его расчета разработан простой и быстрый метод, учитывающий многократное рассеяние света в слоях ГД и переотражения света между слоями [12]. В основе метода лежат формулы оптического «сложения» слоев среды, в которых оптические параметры слоев (коэффициенты поглощения и рассеяния) заменены некоторыми эффективными величинами, отличающимися для случаев направленного и диффузного освещения слоя. Коэффициенты связей эффективных оптических параметров слоев с фактическими установлены на основании результатов численного моделирования переноса излучения в среде методом Монте-Карло.

Метод определения СМП глазного дна заключается в минимизации невязки между экспериментальным и модельным спектром КДО. Результат подбора экспериментальных данных представлен на рис. 2. Видно, что различия между теоретическим и экспериментальным спектрами находятся на уровне погрешности измерений.

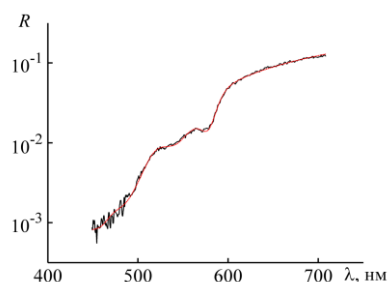


Рис. 2. Результаты подбора экспериментального спектра диффузного отражения глазного дна из [6] в рамках разработанной аппроксимационной модели переноса излучения

Результаты теоретических оценок погрешностей решения соответствующей обратной задачи показывают, что разработанным методом возможно получать оценки следующих параметров ГД: объемную концентрацию кровеносных сосудов в сетчатке (коэффициент корреляции  $\rho$  между фактическими и восстановленными значениями – 0,97), объемную концентрацию кровеносных сосудов в сосудистой оболочке ( $\rho = 0,97$ ), степень оксигенации гемоглобина в крови ( $\rho = 0,99$ ), оптическую плотность макулярного пигмента в сетчатке ( $\rho = 0,99$ ), объемную концентрацию меланина в эпителии ( $\rho = 0,97$ ), структурный параметр сетчатки, характеризующий содержание в ней рассеивающих центров ( $\rho = 0,95$ ).

#### Возможности и результаты пробных исследований параметров кровеносных сосудов

Разработан принципиально новый метод улучшения видимости сосудистых структур на изображении биоткани, основанный на преобразовании цветowych компонент изображения в двумерное распределение так называемого гемоглобинового индекса (HbI), под которым понимается отношение концентрации гемоглобина в ткани к ее транспортному коэффициенту рассеяния на длине волны 632 нм. Метод учитывает физические особенности взаимодействия света с биотканью и их влияние на формирование цветовой структуры изображения, что выгодно отличает его от других методов, основанных на формальной математической обработке изображений (например, при помощи вейвлетов и различного рода фильтров). Предложенная оптическая модель ткани [8] позволяет в аналитическом виде рассчитывать отраженные тканью потоки и оперативно получать «обучающие» данные для аппроксимации связи цветowych компонент изображения ткани с ее гемоглобиновым индексом.

Верификация метода проведена на изображениях бронхиальной ткани, синтезированных путем моделирования транспорта фотонов в среде с учетом литературных данных по оптическим характеристикам ткани и крови. Результаты обработки синтезированных изображений демонстрируют высокую эффективность использования гемоглобинового индекса для отображения кровеносных сосудов: почти на 2 порядка повышается контраст, существенно улучшается четкость краев сосудов, практически полностью подавляется влияние фона и неравномерной освещенности ткани по сравнению с обычными изображениями в белом свете. Оперативная реконструкция изображений ткани в гемоглобиновом индексе, не зависящем от условий освещения и съемки, открывает возможность для разработки и использования объективных пороговых критериев сегментации сосудов на изображениях. Достаточно перспективной представляется еще одна возможность предложенной технологии – получение карт распределения локального диаметра сосудов. Анализ связи диаметров сосудов с их изображениями в гемоглобиновом индексе для среды, моделирующей бронхиальную ткань, подтверждает такую возможность. Однако вопросы калибровочных измерений, а также влияния рассеивающих свойств ткани и глубины залегания сосудов на точность определения их диаметров требуют дальнейших исследований.

Диагностическими показателями, характеризующими микроциркуляцию крови в сосудах, являются объемная и линейная скорости кровотока. Существующие методы лазерной доплеровской флоуметрии дают интегральное по рассеивающему объему распределение проекции скоростей. Это не позволяет оценить скорость кровотока в конкретных сосудах и

капиллярах. Поэтому авторами разработан метод и программно-аппаратный комплекс для определения скорости кровотока в видимых сосудах бульбарной конъюнктивы (васкуляризированная слизистая оболочка, покрывающая переднюю поверхность глаза). Метод основан на последовательной регистрации изображений сосудов, получаемых при подсветке склеры глаза импульсами света длительностью несколько миллисекунд, и компенсации нестабильности положения сосудов на получаемом видеоизображении, возникающей из-за непрерывных движений глаза, путем корреляционного совмещения первого и последующих кадров [13]. Применяемый метод стабилизации изображения позволяет определять вектор смещения  $k$ -ого изображения с дискретностью 0,1 пикселя, т. е. 0,2 мкм. В качестве источника излучения предусмотрено использование светодиодов разного цвета свечения, что позволяет обеспечить хороший контраст между изображениями белой склеры и сосудами конъюнктивы. Далее выбирается интересующий сосуд, определяется его ось, внутренний диаметр и скорость движения ферментных элементов крови.

### Заключение

Созданные компьютеризированные установки и методики получения цифровых изображений и структурно-морфологических параметров сосудов и тканей глаза – начальный этап работ по поиску эффективных диагностических признаков сосудистых патологий на доклинической стадии их проявления. Дальнейшее развитие этого направления предполагает переход от измерений параметров локального объема тканей различных органов к регистрации их мультиспектральных изображений с целью построения карт пространственного распределения диагностически важных показателей и оценки их изменений при различных направленных воздействиях на сердечно-сосудистую систему обследуемого пациента.

## METHODS, HARDWARE AND SOFTWARE FOR RESEARCH OF BLOOD VESSELS AND TISSUES OF THE HUMAN EYE

S.A. LISENKO, V.A. FIRAGO, A.I. KUBARKO, M.M. KUGEIKO

### Abstract

The article provides the reader with a number of strategies to the research of blood vessels and tissues of human eye by contactless optical methods. Techniques and apparatus for measuring of geometric parameters of the blood vessels, blood flow velocity and concentrations of ocular tissues chromophores are described. The research is aimed to reveal the most effective diagnostic criteria of vascular abnormalities by means of affordable to measure indicators.

*Keywords:* vascular disease, retina, conjunctiva, sclera, chromophores, blood flow, scattering, absorption spectrum.

### Список литературы

1. *McGeechan K.* // Ann Intern Med. 2009. Vol. 151, № 6. P. 404–413.
2. *Mordant D.J.* // Eye (Lond). 2011. Vol. 25, № 3. P. 309–320.
3. *Ramella-Roman J.C.* // Opt. Express. 2008. Vol. 16, № 9. P. 6170–6182.
4. *Шмырева В.Ф. и др.* // Глаукома. 2008. Т. 7, № 2. С. 9–14.
5. *Kurata T.* // Biomed. Opt. Express. 2015. Vol. 6, № 5. P. 1616–1631.
6. *Hammer M., Schweitzer D.* // Phys. Med. Biol. 2002. Vol. 47, № 2. P. 179–191.
7. *Kim O.* // Physiol Rep. 2014. Vol. 2, № 1. P. e00192-1–e00192-14.
8. *Лысенко С.А.* Методы оптической диагностики биологических объектов. Минск, 2014.
9. *Башкатов А.Н.* Оптика и спектр. 2010. Т. 109, № 2. С. 226–234.
10. *Барун В.В., Иванов А.П.* // Оптика и спектр. 2004. Т. 96, № 6. P. 1019–1024.
11. *el-Beshbishi S.N., Shattuck K.E., Mohammad A.A. et al.* // Clinical Chemistry. 2009. Vol. 55, № 7. P. 1280–1287.
12. *Лысенко С.А. Кугейко М.М.* // Журн. прикл. спектр. 2016. Т. 83, № 3. С. 419–429.
13. *Hotra O., Firago V., Kubarko A.* // Acta Physica Polonica A. 2014. Vol. 125, № 6. P. 1367–1370.