

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

ФИЗИКА
PHYSICS

УДК 535.37
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-5-533-541>

Поступило в редакцию 26.07.2018
Received 26.07.2018

С. А. Лысенко¹, Э. С. Кашицкий², О. Л. Богданович³

¹*Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

³*Универсальные технологии здоровья, Минск, Республика Беларусь*

**РЕГРЕССИОННО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ РАСЧЕТ ХАРАКТЕРИСТИК
ПЕРЕНОСА ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКЕ
БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕД**

(Представлено академиком В. А. Кульчицким)

Аннотация. Предложен оперативный метод коррекции флуоресцентных изображений биологических сред на эффекты рассеяния и поглощения в них света. Для быстрых вычислений передаточной функции среды используется регрессионно-аналитическое описание светового поля в среде на длинах волн возбуждения и испускания флуоресценции. Необходимая информация о поглощательной способности среды извлекается из цветовой структуры ее изображения. Эффективность метода оценивается на изображениях фантомов биологической ткани, полученных по результатам Монте-Карло моделирования.

Ключевые слова: биоткань, перенос излучения, коррекция флуоресцентных изображений

Для цитирования: Лысенко, С. А. Регрессионно-аналитический расчет характеристик переноса излучения при флуоресцентной диагностике биологических сред / С. А. Лысенко, Э. С. Кашицкий, О. Л. Богданович // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2019. – Т. 63, № 5. – С. 533–541. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-5-533-541>

Sergey A. Lysenko¹, Eduard S. Kashitsky², Olga L. Bogdanovich³

¹*Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

³*Universal Technologies of Health, Minsk, Republic of Belarus*

**REGRESSION AND ANALYTICAL CALCULATIONS OF RADIATIVE TRANSFER
FOR THE FLUORESCENT DIAGNOSTICS OF BIOLOGICAL MEDIA**

(Communicated by Academician Vladimir A. Kulchitsky)

Abstract. A rapid method for correction of the influence of light scattering and absorption in biological tissues on their fluorescent images is proposed. To speed up the calculations of a medium transfer function a regression and analytical descriptions of light fields at the fluorescence excitation and emission wavelengths are used. The required information on the absorbance of a medium is extracted from components of its colored image. The effectiveness of the method is estimated on the images of biological phantoms obtained by the Monte Carlo simulations.

Keywords: biological tissue, radiative transfer, correction of fluorescence images

For citation: Lysenko S. A., Kashitsky E. S., Bogdanovich O. L. Regression and analytical calculations of radiative transfer for the fluorescent diagnostics of biological media. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2019, vol. 63, no. 5, pp. 533–541 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-5-533-541>

Введение. Методы флуоресцентного исследования биологических сред находят широкое применение в современной медицине для неинвазивного выявления опухолей и уточнения их границ. Многие биологические молекулы, присутствующие в тканях человека (триптофан, флавины, никотинамид, коллаген, эластин, порфирины и др.), обладают способностью к флуоресценции при их возбуждении светом ультрафиолетового и синего диапазонов спектра, причем интенсивность и спектральный состав флуоресценции существенно зависят от состояния ткани, что лежит в основе методов автофлуоресцентной диагностики. Для усиления контраста между опухолью и здоровой тканью пациенту вводится фотосенсибилизатор, способный избирательно накапливаться в злокачественных клетках и обеспечивать их яркую флуоресценцию, что составляет основу фотодинамической диагностики рака.

Для эффективного детектирования опухолей внутриполостных органов разрабатывается эндоскопическая аппаратура с возможностью цифровой фото и видео съемки в режиме флуоресценции. В то же время, несмотря на достаточно высокий уровень техники, имеется ряд нерешенных теоретических проблем, затрудняющих стандартизацию методов флуоресцентной диагностики и приводящих к недостаточно высокой чувствительности и специфичности выявления опухолей. Одной из основных проблем является влияние поглощающих и рассеивающих свойств биологической 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 и концентрацией флуорофора зависит не только от характеристик измерительной аппаратуры, исключаемых путем калибровки, но и от параметров среды распространения излучения.

Известен ряд методов компенсации эффектов поглощения и рассеяния света в мутных средах при измерениях их сигналов флуоресценции. Эмпирические методы основаны на вспомогательных измерениях сигналов отражения или автофлуоресценции исследуемой среды и формировании из них корректирующих коэффициентов, зависящих от оптических параметров среды схожим образом с сигналом ее сенсибилизированной флуоресценции. Однако получаемые в итоге величины неоднозначно связаны с концентрацией сенсибилизатора и поэтому не вполне подходят для количественной диагностики биологических тканей.

Теоретические методы коррекции влияния индивидуальных оптических свойств биологических сред на их флуоресцентные изображения основаны на использовании моделей переноса излучения, в рамках которых рассчитываются передаточные функции среды на длинах волн возбуждения и испускания в ней флуоресценции. Наиболее надежные модели переноса излучения в оптически неоднородных средах построены на имитационном моделировании транспорта фотонов (метод Монте-Карло – метод МК) [1]. Их главный недостаток – необходимость расчета большого количества случайных траекторий фотонов для получения статистически достоверных результатов. При коррекции флуоресцентных изображений, регистрируемых с высокой частотой кадров (например, при эндоскопии), оперативность расчетов передаточной функции среды имеет принципиальное значение. В связи с этим на практике гораздо большей популярностью пользуются оптические модели биологических сред, построенные на аналитических решениях уравнения переноса излучения для различных асимптотических световых режимов внутри среды [2–4].

Отдельную проблему в теоретических методах коррекции флуоресцентных изображений представляет определение оптических параметров биологической среды (показателей поглощения и рассеяния) в спектральных областях возбуждения и испускания флуоресценции. Эту задачу можно решить, располагая дополнительными средствами исследования объекта, например, на основе многоспектральной съемки или структурированного освещения с изменяющейся пространственной частотой [5]. Очевидно, что реализовать такие измерения в условиях медицинского обследования внутриполостных органов и обеспечить при этом приемлемое качество флуоресцентных изображений в непрерывном видеорежиме непросто. В связи с этим актуален поиск новых простых и оперативных методов коррекции флуоресцентных изображений, которые могли бы быть реализованы на базе современной эндоскопической техники.

В настоящей работе представлен простой и оперативный метод коррекции влияния эффектов поглощения и рассеяния света в биотканях на их флуоресцентные изображения. В его основе

лежит представление биоткани моделью однородной рассеивающей среды, основной поглощающей субстанцией которой является гемоглобин. Для вычисления передаточной функции среды, связывающей концентрацию флуорофора с регистрируемым потоком флуоресценции, используется аналитическая параметризация, полученная на основе расчетов по переносу излучения в среде. Содержание гемоглобина в ткани оценивается по цветовым компонентам ее изображения в отраженном свете. Эффективность метода оценивается на имитационных изображениях фантомов ткани с одинаковым содержанием флуорофора и с различными содержаниями гемоглобина.

Расчет потока флуоресценции с поверхности рассеивающей среды. Поток флуоресценции, регистрируемый с поверхности горизонтально однородной среды, определяется следующим выражением:

$$F(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) = \sum_{f=1}^{N_f} \int_0^{z_{max}} C_f(z) \varepsilon_f(\lambda_{ex}) Q_f(\lambda_{em}) E(z, \lambda_{ex}) T(z, \lambda_{em}) dz,$$

где λ_{ex} и λ_{em} – длины волн возбуждения и испускания флуоресценции; $C_f(z)$ – концентрация флуорофора f на глубине среды z ; $\varepsilon_f(\lambda_{ex})$ и $Q_f(\lambda_{em})$ – показатель поглощения флуорофора и его квантовый выход; N_f – общее количество флуорофоров среды, поглощающих на λ_{ex} и излучающих на λ_{em} ; $E(z, \lambda_{ex})$ – поток возбуждающего излучения на глубине z ; $T(z, \lambda_{em})$ – функция, характеризующая передачу излучения от изотропного точечного источника на глубине z к поверхности среды; z_{max} – толщина среды.

Поскольку биоткани являются сильно мутными средами, то регистрируемый спектр флуоресценции, измеряемый диагностическим прибором, может быть существенно искажен по форме и интенсивности в сравнении с фактическим спектром флуоресценции биомаркера внутри среды $X_f(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$, под которым здесь и далее понимается произведение $C_f \varepsilon_f(\lambda_{ex}) Q_f(\lambda_{em})$. Искажающее влияние эффектов поглощения и рассеяния света в среде оценивается на основе теории переноса излучения. При этом для рутинной медицинской диагностики важно, чтобы метод расчета передаточной функции биоткани был максимально прост и не требовал длительных вычислений.

Ранее авторами работы был предложен быстрый метод расчета потока флуоресценции с поверхности многослойной оптически плотной среды [6], обеспечивающий хорошее согласие с методом МК. Метод сочетает в себе ряд элементов теории переноса излучения: принцип взаимодействия элементарных слоев среды, соотношения инвариантности, асимптотические решения уравнения переноса излучения. В его основе лежит представление среды последовательностью тонких слоев с оптической толщиной $\Delta\tau = 0,04–0,05$ (произведение показателя ослабления и толщины слоя) и матричные уравнения баланса направленных и диффузных потоков в слоях среды и на ее поверхности. При этом для связи световых потоков на границах элементарных слоев не требуется введения каких-либо эмпирических параметров, несвязанных напрямую с фундаментальными оптическими свойствами среды, как, например, в двухпоточковой теории Кубелки–Мунка и четырехпоточковой модели переноса излучения [7]. Потоки флуоресценции внутри и на поверхности многослойной мутной среды вычисляются в матричном виде по заданным значениям оптической толщины, альбедо однократного рассеяния (вероятность выживания кванта) и среднего косинуса индикатрисы рассеяния слоев среды. Метод [6] несложно адаптировать к расчету потоков флуоресценции. Рассмотрим более подробно последовательность выполняемых при этом вычислений.

Распределение потока возбуждающего излучения по глубине среды рассчитывается на основе полученного ранее выражения [6]:

$$E(\tau_n) = E_0 (1 - \rho_s) \left[\sum_{k=1}^3 \left(m_{[1,n]}^{k,1} + m_{[1,n]}^{k,3} \frac{m_{[1,N]}^{3,1}}{m_{[1,N]}^{3,3}} \right) + \frac{m_{[1,N]}^{3,1}}{m_{[1,N]}^{3,3} - \rho_s^* m_{[1,N]}^{3,2}} \sum_{k=1}^3 \left(m_{[1,n]}^{k,2} + m_{[1,n]}^{k,3} \frac{m_{[1,N]}^{3,2}}{m_{[1,N]}^{3,3}} \right) \right],$$

где E_0 – освещенность среды; ρ_s – коэффициент отражения направленного потока от наружной стороны поверхности среды; ρ_s^* – коэффициенты отражения диффузного потока от внутренней

стороны поверхности среды; $\tau_n = \sum_{i=1}^{n-1} \Delta\tau_i$ – оптическая глубина среды, отсчитываемая от ее поверхности; $\Delta\tau_i$ – оптическая толщина элементарного слоя с порядковым номером i ; N – общее количество таких слоев; $\mathbf{M}_{[1,n]} = (m_{[1,n]}^{k,p})$ – матрица взаимодействия совокупности слоев $1, \dots, n$, получаемая в результате перемножения аналогичных матриц каждого слоя:

$$\mathbf{M}_{[1,n]} = \prod_{i=1}^n \Delta\mathbf{M}_i = \prod_{i=1}^n \begin{pmatrix} t_i & 0 & 0 \\ (f_i t_i^* - b_i r_i^*) / t_i^* & ((t_i^*)^2 - (r_i^*)^2) / t_i^* & r_i^* / t_i^* \\ -b_i / t_i^* & -r_i^* / t_i^* & 1 / t_i^* \end{pmatrix}, \quad (1)$$

$t_i = \exp(-\Delta\tau_i / \eta_0)$ – пропускание нерассеянного света элементарным слоем; η_0 – косинус угла падения излучения; f_i и b_i – коэффициенты рассеяния слоем излучения соответственно в верхнюю и нижнюю полусферы при его направленном освещении; r_i^* и t_i^* – коэффициенты отражения и пропускания слоя при диффузном освещении. Коэффициенты r_i^* , t_i^* , f_i и b_i рассчитываются в зависимости от оптических параметров слоя (оптической толщины, альbedo однократного рассеяния и среднего косинуса индикатрисы рассеяния) на глубине τ_i с использованием инженерных методов теории переноса излучения [8] и приближения однократного рассеяния [9].

Рассмотрим теперь вторую часть решаемой задачи – расчет потока флуоресценции на поверхности среды. Поскольку флуоресцентная эмиссия в элементарном слое изотропна, то световое поле в среде на длине волны ее флуоресценции λ_{em} можно представить в виде суммы восходящего J_n^* и нисходящего I_n^* диффузных потоков. Уравнения, выражающие баланс потоков на границах элементарного слоя, несложно представить в матричной форме:

$$\begin{pmatrix} J_n^* \\ I_n^* \end{pmatrix} = \Delta\mathbf{H}_n \begin{pmatrix} J_{n-1}^* \\ I_{n-1}^* \end{pmatrix} + \Delta\mathbf{b}_n = \begin{pmatrix} 1/t_n^* & -r_n^*/t_n^* \\ r_n^*/t_n^* & t_n^* - (r_n^*)^2/t_n^* \end{pmatrix} \begin{pmatrix} J_{n-1}^* \\ I_{n-1}^* \end{pmatrix} + \frac{B_n}{2} \begin{pmatrix} -1/t_n^* \\ 1 - r_n^*/t_n^* \end{pmatrix}, \quad (2)$$

где $\Delta\mathbf{H}_n$ – передаточная матрица слоя $\Delta\tau_n$; $\Delta\mathbf{b}_n$ – вектор, характеризующий генерацию слоем собственного излучения; r_n^* и t_n^* – те же коэффициенты диффузного отражения и пропускания слоя, что и в (1), но на смещенной длине волны λ_{em} ; B_n – функция источников, которая при заданном распределении потока возбуждающего излучения по глубине вертикально-неоднородной среды, имеет вид

$$B_n = E(\tau_n, \lambda_{ex}) \frac{C_f(\tau_n) \varepsilon_f(\lambda_{ex}) Q_f(\lambda_{em})}{\mu_a(\tau_n, \lambda_{ex})} [1 - \omega(\tau_n, \lambda_{ex})] \Delta\tau_n;$$

μ_a и ω – показатель поглощения и альbedo однократного рассеяния на оптической глубине τ_n при длине волны λ_{ex} .

Система уравнений (2) легко решается по рекурсивной формуле

$$\begin{pmatrix} J_n^* \\ I_n^* \end{pmatrix} = \mathbf{H}_n \begin{pmatrix} J_0^* \\ I_0^* \end{pmatrix} + \mathbf{b}_n = \left(\prod_{k=1}^n \Delta\mathbf{H}_k \right) \begin{pmatrix} J_0^* \\ I_0^* \end{pmatrix} + \sum_{k=1}^n \left(\prod_{l=k+1}^n \Delta\mathbf{H}_l \right) \Delta\mathbf{b}_k, \quad (3)$$

где \mathbf{H}_n и \mathbf{b}_n – передаточная матрица и вектор источников для совокупности последовательных слоев $\Delta\tau_1, \dots, \Delta\tau_n$; J_0^* и I_0^* – восходящий и нисходящий потоки под поверхностью среды. При отсутствии перепада показателя преломления на границе раздела сред $I_0^* = 0$. Поток J_0^* находится из (3), при условии, что для самого глубокого слоя среды $J_N^* = 0$: $J_0^* = -b_1^N / h_{1,1}^N$, где $h_{i,j}^N$ и b_i^N – элементы матрицы \mathbf{H}_N и вектора \mathbf{b}_N .

Перепад показателя преломления на поверхности среды учитывается суммированием возникающих в результате этого потоков переотраженного излучения по формуле для бесконечно убывающей геометрической прогрессии:

$$F = (1 - \rho_s^*) J_0^* / (1 - \rho_s^* R_0^*),$$

где ρ_s^* – френелевский коэффициент отражения поверхности при ее освещении изнутри диффузным потоком; R_0^* – коэффициент отражения среды при диффузном освещении (сферическое аль-

бедо). Коэффициент R_0^* можно найти из (3) при отсутствии в среде источников излучения ($b_1^N = 0$): $R_0^* = J_0^* / I_0^* = -h_{1,2}^N / h_{1,1}^N$.

Расчеты потока флуоресценции разработанным методом сопоставлены с результатами Монте-Карло (МК) моделирования. Расчеты выполнены для кожи человека, моделируемой четырехслойной средой: эпидермис (1), папиллярная дерма (2), ретикулярная дерма (3) и подкожная жировая клетчатка (4). Толщины слоев – $L_1 = 0,10$ мм, $L_2 = 0,18$ мм, $L_3 = 1,82$ мм, $L_4 = 2$ мм. Показатели рассеяния эпидермиса и дермы взяты из экспериментальной работы [10], жировой клетчатки – из [11]. Средний косинус индикатрисы рассеяния g всех слоев кожи описывался эмпирической формулой $g = 0,62 + 0,29\lambda \cdot 10^{-3}$ [7], где λ в нм. Показатели поглощения слоев рассчитывались в соответствии с содержанием в них меланина, кровеносных сосудов и воды [12]. Область испускания флуоресценции ограничивалась слоем дермы.

Результаты расчетов передаточной функции $D(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$, связывающей спектры внутренней и выходящей флуоресценции четырехслойного фантома кожи, приведены на рис. 1. Видно, что расчеты $D(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$ разработанным методом хорошо согласуются с результатами МК моделирования: различия не превышают 2,4 % при $\lambda_{ex} = 400$ нм, 2,6 % при $\lambda_{ex} = 540$ нм и 4,5 % при $\lambda_{ex} = 630$ нм.

Коррекция флуоресцентных изображений. Поскольку при эндоскопическом обследовании тканей человека, как правило, доступны измерения потоков отраженного ими излучения только в трех широких спектральных каналах (синем, зеленом и красном), то для нахождения передаточной функции $D(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$ будем использовать упрощенную модель биоткани – модель однородной полубесконечной среды. Модель описывается следующими параметрами: объемная концентрация кровеносных сосудов f_v , средний диаметр сосудов d_v , степень насыщения гемоглобина кислородом S , транспортный показатель рассеяния μ'_s , средний косинус индикатрисы рассеяния g и индекс рефракции n . Спектральная зависимость μ'_s удовлетворяет степенному закону $\mu'_s(\lambda) = \mu'_s(\lambda_0)[\lambda_0 / \lambda]^v$, в котором $\mu'_s(\lambda_0)$ и v – переменные величины. Изменяемыми параметрами считаются f_v , S , $\mu'_s(\lambda_0)$ и v . Остальные параметры полагаются фиксированными из-за неоднозначности их влияния на световой режим в среде.

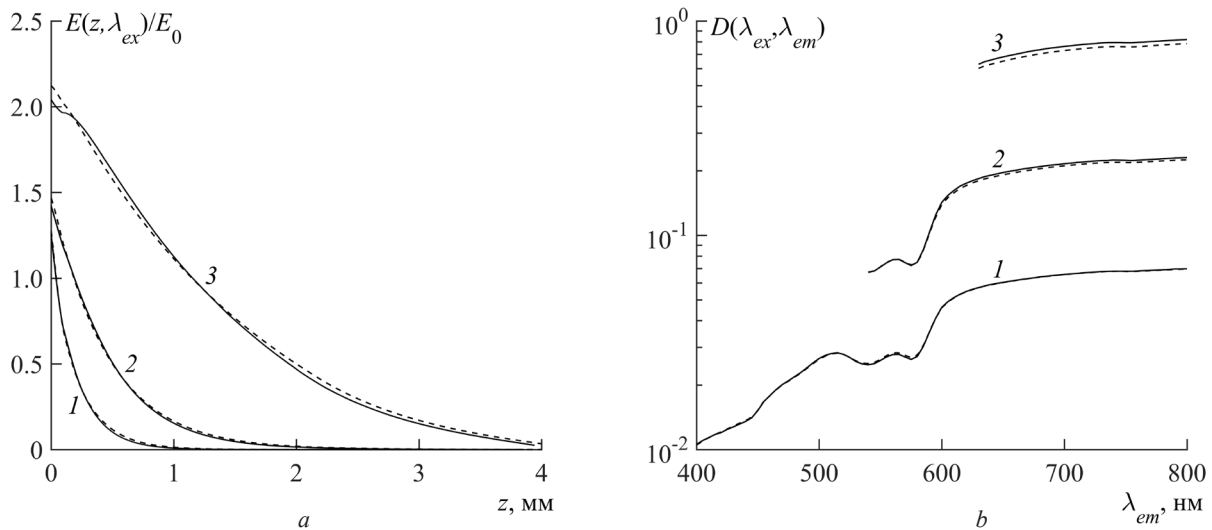


Рис. 1. Сопоставление характеристик переноса излучения в коже, смоделированных методом Монте-Карло (линии) и рассчитанных аналитическим методом (пунктир): распределения потока возбуждающего излучения по глубине кожи (а) и передаточные функции кожи (b) для спектров флуоресценции, регистрируемых с ее поверхности, при $\lambda_{ex} = 400$ (1), 540 (2) и 630 (3) нм

Fig. 1. Comparison of the characteristics of radiation transfer in skin that are modeled by Monte Carlo method (solid lines) and calculated by a semi-analytical method (dotted lines): distribution of a flux of the exciting radiation along the skin depth (a) and transfer functions of skin (b) for fluorescence spectra that are recorded from its surface, at $\lambda_{ex} = 400$ (1), 540 (2) and 630 (3) nm

С целью достижения оперативности обработки изображений передаточную функцию $D(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}})$ полезно представить в простом аналитическом виде. Это можно сделать путем аппроксимации результатов ее моделирования. Данные для аппроксимации получены с использованием описанного выше метода расчета потока флуоресценции. Рассмотрено 10^4 случайных значений модельных параметров, выбранных из следующих диапазонов: $f_V = 0,002-0,2$, $\mu'_s(\lambda_0) = 0,1-5,0 \text{ мм}^{-1}$ (при $\lambda_0 = 632 \text{ нм}$), $\nu = 0-3$, $S = 0,75-0,95$. Для устранения произвола их выбора устанавливалось ограничение на коэффициент диффузного отражения среды: $R = 0,01-0,8$. Аналитическая модель зависимости $R(\mu_a, \mu'_s, g, n)$ предложена авторами в [13].

Ансамбль полученных данных аппроксимирован следующим уравнением:

$$\ln[D(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}})] = a_0(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}}) + a_1(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}}) \ln(\text{HbI}) + a_2(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}}) \ln[\mu'_s(\lambda_{\text{ex}})] + a_3(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}}) \ln[\mu'_s(\lambda_{\text{em}})], \quad (4)$$

где $\lambda_{\text{ex}} = 350-800 \text{ нм}$; $\lambda_{\text{em}} = \lambda_{\text{ex}} - 800 \text{ нм}$; HbI – гемоглобиновый индекс, определяемый как отношение $(f_V C_{\text{Hb}}) / \mu'_s(\lambda_0)$, где $C_{\text{Hb}} = 150 \text{ г/л}$ – концентрация гемоглобина в крови; a_0, \dots, a_3 – спектрально зависящие коэффициенты. Относительная среднеквадратическая погрешность аппроксимации $D(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}})$ уравнением (4) не превышает 15 %.

Показатель рассеяния, входящий в (4), для каждого типа биоткани изменяется в достаточно узких пределах, поэтому при коррекции флуоресцентных изображений биоткани в первом приближении можно использовать типичный для нее спектр $\mu'_s(\lambda)$. Достаточно простой метод определения HbI предложен в [14]. Суть его состоит в получении карты распределения HbI в пределах поля зрения объектива камеры на основе анализа независимых отношений фотосигналов – ρ_{BG} (синий/зеленый) и ρ_{GR} (зеленый/красный). Такой анализ основан на использовании большого количества предварительно рассчитанных данных, представленных в виде точек в трехмерной системе координат ($\rho_{\text{BG}}, \rho_{\text{GR}}, \text{HbI}$). Поверхность, проходящая через эти точки, аппроксимируется следующим уравнением:

$$\ln(\text{HbI}) = \sum_{k=0}^3 \sum_{m=0}^3 a_{km} (\rho_{\text{BG}})^k (\rho_{\text{GR}})^m, \quad (5)$$

где $k + m \leq 3$; a_{km} – параметры аппроксимации, зависящие от спектральных характеристик источника непрерывного видимого света и фотоприемного устройства.

Таким образом, метод коррекции флуоресцентных изображений биотканей, основанный на аналитической параметризации их передаточной функции (4) и вычислении гемоглобинового индекса по (5), не требует больших вычислительных затрат и легко может быть реализован на базе существующих эндоскопических систем с возможностью съемки в отраженном видимом свете и в режиме флуоресценции.

Верификация разработанного метода выполнена на основе имитационного (Монте-Карло) моделирования флуоресцентных изображений биоткани. Рассмотрено три фантома ткани с одинаковой концентрацией флуорофора и с различными содержаниями кровеносных сосудов (2, 5 и 10 % от объема). Транспортный показатель рассеяния и средний косинус индикатрисы рассеяния модельных сред выбраны аналогичными ткани желудка человека [15]. В качестве флуоресцирующей субстанции выбран 5-АЛК-индуцированный протопорфирин IX (ПП IX), спектры поглощения и флуоресценции которого хорошо изучены. Полагалось, что флуорофор равномерно распределен в цилиндрическом объеме диаметром 400 мкм и высотой 200 мкм на глубине 200 мкм от поверхности среды. Длина волны его возбуждения – 405 нм, область испускания – 610–700 нм. Спектральная чувствительность блока регистрации фотонов флуоресценции соответствовала красному каналу ПЗС-матрицы ICX285AQ фирмы Sony (Япония). Сигналы отраженного света рассчитывались в спектральном диапазоне 400–700 нм с разрешением 5 нм и интегрировались с весовыми функциями, соответствующими спектральным чувствительностям трех цветовых каналов ПЗС-матрицы [14].

Изображения фантомов биоткани, построенные по результатам Монте-Карло моделирования, показаны на рис. 2, *a–c*. Видно, что увеличение содержания гемоглобина в образцах ткани

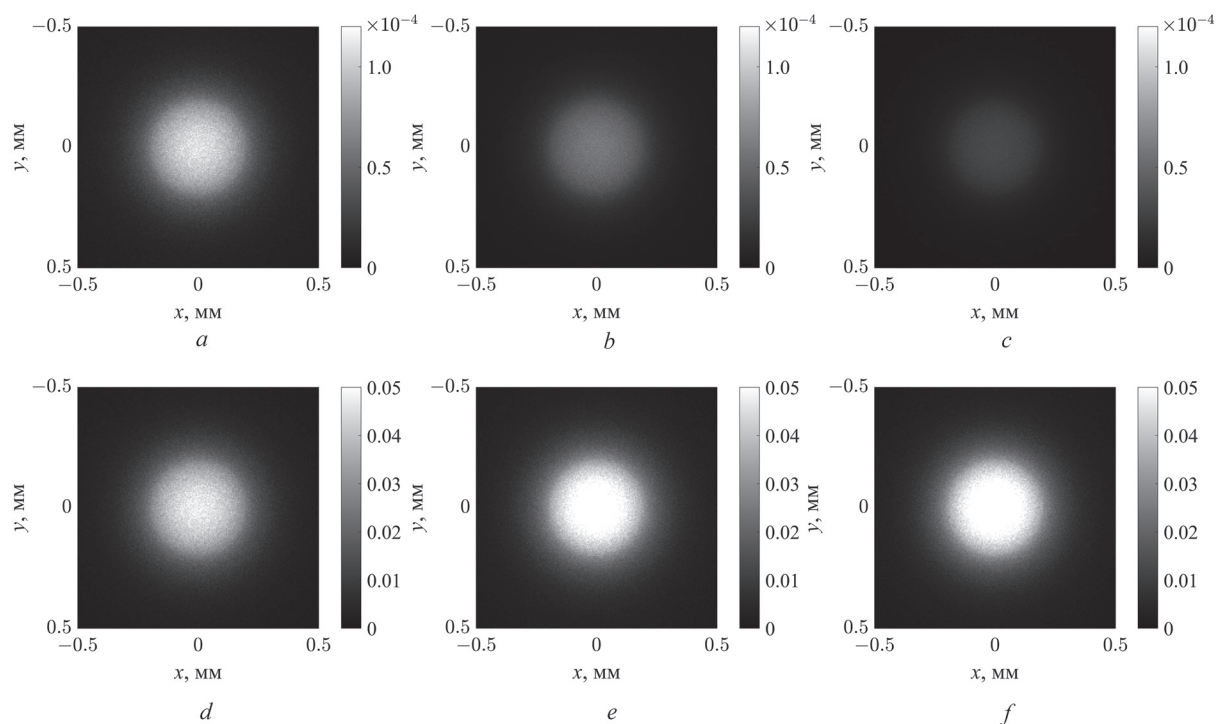


Рис. 2. Результаты коррекции изображений фантомов ткани, смоделированных методом Монте-Карло при объемных концентрациях кровеносных сосудов 0,02 (*a, d*), 0,05 (*b, e*) и 0,1 (*c, f*); (*a–c*) – исходные изображения, (*d–f*) – скорректированные изображения

Fig. 2. Results of correction of the images of the tissue phantoms simulated by the Monte Carlo method at volumetric concentrations of blood vessels of 0.02 (*a, d*), 0.05 (*b, e*) and 0.1 (*c, f*); (*a–c*) – primary images, (*d–f*) – corrected images

приводит к существенному падению яркости их флуоресценции: средние яркости центральных пятен диаметром 400 мкм (область локализации флуорофора) для фантомов ткани с объемными концентрациями кровеносных сосудов $f_V = 0,02, 0,05$ и $0,1$ соотносятся между собой как $1 : 0,54 : 0,28$. Очевидно, что 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.

Рассмотрим, как изменится видимость очагов флуоресценции после коррекции изображений. Спектр транспортного показателя рассеяния фантомов ткани, используемый в качестве априорной информации для нахождения их передаточной функции, описывался степенной зависимостью $\mu'_s(\lambda) = 2,0 \text{ мм}^{-1} (632 / \lambda)^{1,5}$. Выбор модели спектра $\mu'_s(\lambda)$ влияет на общий уровень сигнала флуоресценции для всех фантомов ткани, но практически не сказывается на соотношении между величинами этих сигналов. Гемоглобиновые индексы фантомов ткани определялись по цветовым составляющим их изображений в отраженном видимом свете [14]. Корректирующие функции рассчитывались по (4) для значения λ_{em} , усредненного по полосе флуоресценции ПП IX с учетом спектральной чувствительности красного канала ПЗС-матрицы.

Результаты коррекции рассматриваемых изображений показаны на рис. 2, *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, когда регистрируемый сигнал пропорционален концентрации сенсibilизатора в биоткани.

Заключение. Теоретические результаты, представленные в сообщении, составляют основу нового метода оперативной коррекции флуоресцентных изображений биотканей на эффекты ослабления в них света. Данный метод может быть легко реализован на базе современной эндо-

скопической аппаратуры. Его наиболее важные достоинства включают: простоту программной реализации; малые вычислительные затраты (при использовании современных графических процессоров, позволяющих осуществлять многопоточные параллельные вычисления, возможна коррекция изображений в режиме реального времени); возможность получения всех данных, необходимых для расчета передаточной функции среды, непосредственно по регистрируемым изображениям. Как показано на модельных образцах биоткани, скорректированные флуоресцентные изображения достаточно адекватно отражают содержание флуорофора в среде, что открывает возможности для разработки различных пороговых критериев флуоресцентной диагностики новообразований в тканях человека.

Список использованных источников

1. Propagation of Fluorescent Light / A. J. Welch [et al.] // *Lasers. Surg. Med.* – 1997. – Vol. 21, N 2. – P. 166–178. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9101\(1997\)21:2%3C166::aid-lsm8%3E3.3.co;2-q](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9101(1997)21:2%3C166::aid-lsm8%3E3.3.co;2-q)
2. Analytical model to describe fluorescence spectra of normal and preneoplastic epithelial tissue: comparison with Monte Carlo simulations and clinical measurements / S. K. Chang [et al.] // *J. Biomed. Opt.* – 2004. – Vol. 9, N 3. – P. 511–522. <https://doi.org/10.1117/1.1695559>
3. Kokhanovsky, A. A. Radiative properties of optically thick fluorescent turbid media / A. A. Kokhanovsky // *J. Opt. Soc. Am. A.* – 2009. – Vol. 26, N 8. – P. 1896–1900. <https://doi.org/10.1364/josaa.26.001896>
4. Quantification of *in vivo* fluorescence decoupled from the effects of tissue optical properties using fiber-optic spectroscopy measurements / A. Kim [et al.] // *J. Biomed. Opt.* – 2010. – Vol. 15, N 6. – P. 067006-1–067006-12. <https://doi.org/10.1117/1.3523616>
5. Quantitative fluorescence imaging of protoporphyrin IX through determination of tissue optical properties in the spatial frequency domain / R. B. Saager [et al.] // *J. Biomed. Opt.* – 2011. – Vol. 16, N 12. – P. 126013-1–126013-5. <https://doi.org/10.1117/1.3665440>
6. Лысенко, С. А. Метод расчета характеристик световых полей в задачах оптической диагностики и персонализированной терапии биологических тканей / С. А. Лысенко, М. М. Кугейко // *Журн. прикл. спектр.* – 2013. – Т. 80, № 2. – С. 273–280.
7. Skin optics / M. J. C. Van Gemert [et al.] // *IEEE Trans. Biomed. Engin.* – 1989. – Vol. 36, N 12. – P. 1146–1154. <https://doi.org/10.1109/10.42108>
8. Зеге, Э. П. Перенос изображения в рассеивающей среде / Э. П. Зеге, А. П. Иванов, И. Л. Кацев. – Минск, 1985. – 327 с.
9. Liou, K. N. An introduction to atmospheric radiation. Second edition / K. N. Liou. – New York, London, 2002. – 583 p.
10. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm / A. N. Bashkatov [et al.] // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2005. – Vol. 38, N 15. – P. 2543–2555. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/38/15/004>
11. Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range / E. Salomatina [et al.] // *J. Biomed. Opt.* – 2006. – Vol. 11, N 6. – P. 064026-1–064026-9. <https://doi.org/10.1117/1.2398928>
12. Меглинский, И. В. Моделирование спектров отражения оптического излучения от случайно-неоднородных многослойных сильно рассеивающих и поглощающих свет сред методом Монте-Карло / И. В. Меглинский // *Квантовая электроника.* – 2001. – Т. 31, № 12. – С. 1101–1107.
13. Лысенко, С. А. Количественная мультиспектральная эндоскопия слизистых оболочек / С. А. Лысенко, М. М. Кугейко // *Измерит. техн.* – 2013. – № 11. – С. 68–73.
14. Лысенко, С. А. Метод выделения кровеносных сосудов на трехцветных изображениях биотканей // *Журн. прикл. спектр.* – 2017. – Т. 84, № 3. – С. 419–427.
15. Optical properties of human stomach mucosa in the spectral range from 400 to 2000 nm: Prognosis for gastroenterology / A. N. Bashkatov [et al.] // *Medical Laser Application.* – 2007. – Vol. 22, N 2. – P. 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.mla.2007.07.003>

References

1. Welch A. J., Gardner C., Richards-Kortum R., Chan E., Criswell G., Pfefer J., Warren S. Propagation of Fluorescent Light. *Lasers in Surgery and Medicine*, 1997, vol. 21, no. 2, pp. 166–178. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9101\(1997\)21:2%3C166::aid-lsm8%3E3.3.co;2-q](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9101(1997)21:2%3C166::aid-lsm8%3E3.3.co;2-q)
2. Chang S. K., Arifler D., Drezek R., Follen M., Richards-Kortum R. Analytical model to describe fluorescence spectra of normal and preneoplastic epithelial tissue: comparison with Monte Carlo simulations and clinical measurements. *Journal of Biomedical Optics*, 2004, vol. 9, no. 3, pp. 511–522. <https://doi.org/10.1117/1.1695559>
3. Kokhanovsky A. A. Radiative properties of optically thick fluorescent turbid media. *Journal of the Optical Society of America A*, 2009, vol. 26, no. 8, pp. 1896–1900. <https://doi.org/10.1364/josaa.26.001896>
4. Kim A., Khurana M., Moriyama Y., Wilson B. C. Quantification of *in vivo* fluorescence decoupled from the effects of tissue optical properties using fiber-optic spectroscopy measurements. *Journal of Biomedical Optics*, 2010, vol. 15, no. 6, pp. 067006-1–067006-12. <https://doi.org/10.1117/1.3523616>

5. Saager R. B., Cuccia D. J., Saggese S., Kelly K. M., Durkin A. J. Quantitative fluorescence imaging of protoporphyrin IX through determination of tissue optical properties in the spatial frequency domain. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, vol. 16, no. 12, pp. 126013-1–126013-5. <https://doi.org/10.1117/1.3665440>
6. Lisenko S. A., Kugeiko M. M. Method for calculation of light field characteristics in optical diagnosis problems and personalized laser treatment of biological tissues. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2013, vol. 80, no. 2, pp. 271–279. <https://doi.org/10.1007/s10812-013-9757-9>
7. Van Gemert M. J. C., Jacques S. L., Sterenborg H. J. C. M., Star W. M. Skin optics. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 1989, vol. 36, no. 12, pp. 1146–1154. <https://doi.org/10.1109/10.42108>
8. Zege E. P., Ivanov A. P., Katsev I. L. *Image Transfer through a Scattering Medium*. Heidelberg, 1991. 349 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-75286-5>
9. Liou K. N. *An introduction to atmospheric radiation. Second edition*. New York, London, 2002. 583 p.
10. Bashkatov A. N., Genina E. A., Kochubey V. I., Tuchin V. V. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2005, vol. 38, no. 15, pp. 2543–2555. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/38/15/004>
11. Salomatina E., Jiang B., Novak J., Yaroslavsky A. N. Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range. *Journal of Biomedical Optics*, 2006, vol. 11, no. 6, pp. 064026-1–064026-9. <https://doi.org/10.1117/1.2398928>
12. Meglinski I. V. Monte Carlo simulation of reflection spectra of random multilayer media strongly scattering and absorbing light. *Quantum Electronics*, 2001, vol. 31, no. 12, pp. 1101–1107. <https://doi.org/10.1070/qe2001v031n12abeh002108>
13. Lysenko S. A., Kugeiko M. M. Quantitative Multispectral Endoscopy. *Measurement Techniques*, 2014, vol. 56, no. 11, pp. 1302–1310. <https://doi.org/10.1007/s11018-014-0372-9>
14. Lisenko S. A. Method for Separation of Blood Vessels on the Three-Color Images of Biological Tissues. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2017, vol. 84, no. 3, pp. 439–447. <https://doi.org/10.1007/s10812-017-0489-0>
15. Bashkatov A. N., Genina E. A., Kochubey V. I., Gavrilova A. A., Kapralov S. V., Grishaev V. A., Tuchin V. V. Optical properties of human stomach mucosa in the spectral range from 400 to 2000 nm: Prognosis for gastroenterology. *Medical Laser Application*, 2007, vol. 22, no. 2, pp. 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.mla.2007.07.003>

Информация об авторах

Лысенко Сергей Александрович – д-р физ.-мат. наук, доцент, заведующий центром, заместитель директора. Институт природопользования НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 10, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lysenkorfe@gmail.com.

Кашицкий Эдуард Степанович – канд. мед. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: biblio@fizio.bas-net.by.

Богданович Ольга Леонидовна – директор. Универсальные технологии здоровья (ул. Притыцкого, 62-206, 220140, Минск, Республика Беларусь). E-mail: info@panto.by.

Information about the authors

Lysenko Sergey Aleksandrovich – D. Sc. (Physics and Mathematics), Associate professor, Head of the Center, Deputy Director. Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus (10, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lysenkorfe@gmail.com

Kashitsky Eduard Stepanovich – Ph. D. (Medicine), Associate professor, Leading researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: biblio@fizio.bas-net.by.

Bogdanovich Olga Leonidovna – Director. Universal Health Technologies (62-206, Pritytsky Str., 220140, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: info@panto.by.