

УДК 551.508:528.8

Методика определения диаметра и площади внутреннего просвета видимых сосудов глаза

В.А. Фираго¹, А.И. Кубарко²

¹Белорусский государственный университет,
пр. Независимости, 4, г. Минск 220030, Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет,
пр. Дзержинского, 83, г. Минск 220116, Беларусь

Поступила 30.01.2019

Принята к печати 16.05.2019

При контроле воздействия на микроциркуляторное русло различных сосудодобивных препаратов необходимы методика и соответствующая аппаратура определения их основных физиологических параметров: диаметра и площади внутреннего просвета, их удельной плотности, а также скорости кровотока. Поэтому цель данной работы – исследование возможностей повышения достоверности определения диаметра и площади внутреннего просвета видимых сосудов бульбарной конъюнктивы глаза.

Предложена методика получения цифровых видеозаписей бульбарной конъюнктивы глаза, основанная на импульсной подсветке исследуемого участка. Описан макетный образец аппаратуры, обеспечивающей пространственное разрешение видеосъемки 2 мкм, что позволяет проследивать все видимые сосуды, включая и капилляры. Обсуждается алгоритм стабилизации положения последовательности цифровых изображений бульбарной конъюнктивы относительно первого кадра, основанный на применении субпиксельной интерполяции при поиске глобального минимума среднеквадратического отклонения разностей яркостей первого и обрабатываемого кадра.

Рассматриваются предлагаемые алгоритмы трассировки сосудистого рисунка и определения диаметра и площади внутреннего просвета сосудов. Предложен оригинальный способ их вычисления, основанный на определении площади и высоты поперечного сечения изображения сосуда. Обсуждается проблема верификации получаемых результатов.

Описанный подход позволяет формировать диагностические изображения видимых сосудов бульбарной конъюнктивы, включая и капилляры, с указанием их диаметра и построением гистограмм их распределения по площади внутреннего просвета.

Учитывая корреляцию состояния сосудов глаз с состоянием сосудов в других органах, предлагаемая методика и аппаратурные решения имеют перспективу использования при создании аппаратуры для комплексной неинвазивной диагностики состояния микроциркуляторного русла и контроля эффективности лечения различных заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Ключевые слова: микроциркуляторное русло, измерение размеров малых сосудов, диаметр и площадь внутреннего просвета сосудов, цифровая микроскопия, алгоритмы обработки цифровых изображений.

DOI: 10.21122/2220-9506-2019-10-2-185-197

Адрес для переписки:

В.А. Фираго
Белорусский государственный университет,
пр. Независимости, 4, г. Минск 220030, Беларусь
e-mail: firago@bsu.by

Address for correspondence:

V.A. Firago
Belarusian State University,
Nezavisimosti Ave., 4, Minsk 220030, Belarus
e-mail: firago@bsu.by

Для цитирования:

В.А. Фираго, А.И. Кубарко.
Методика определения диаметра и площади внутреннего просвета
видимых сосудов глаза
Приборы и методы измерений.
2019. – Т. 10, № 2. – С. 185–197.
DOI: 10.21122/2220-9506-2019-10-2-185-197

For citation:

V.A. Firago, A.I. Kubarko.
[Technique for Measuring the Internal Diameter and Area of Visible
Vessels of the Eye].
Devices and Methods of Measurements.
2019, vol. 10, no. 2, pp. 185–197 (in Russian).
DOI: 10.21122/2220-9506-2019-10-2-185-197

Technique for Measuring the Internal Diameter and Area of Visible Vessels of the Eye

V.A. Firago¹, A.I. Kubarko²

¹Belarusian State University,
Nezavisimosti Ave., 4, Minsk 220030, Belarus

²Belarusian State Medical University,
Dzerzhinski Ave., 83, Minsk 220116, Belarus

Received 30.01.2019

Accepted for publication 16.05.2019

Abstract

The study of the effects on the microvasculature of various vasoactive drugs requires appropriate methods and equipment for determining the basic physiological parameters of small blood vessels: their internal diameter and cross-sectional area, specific density, and blood flow velocity. Therefore, the purpose of the article is to study the possibilities of improving the reliability of determining the internal diameter and cross-sectional area of the visible blood vessels of bulbar conjunctiva of the eye.

A technique for obtaining digital video recordings of the bulbar conjunctiva of the eye, based on the pulse illumination of the study area, is proposed. A prototype of the equipment with a spatial resolution of 2 μm video is described, which allows to trace all visible blood vessels, including capillaries. An algorithm for stabilizing the position of a sequence of digital images of the bulbar conjunctiva relative to the first frame is discussed. It is based on the use of subpixel interpolation when searching for a global minimum of the standard deviation of the differences in brightness of the first and selected frame.

The proposed algorithms for tracing the vascular pattern and determining the internal diameter and cross-sectional area of the blood vessels are described. An original method for calculating them is proposed, which is based on determining the area and height of a cross section of a blood vessel image. The problem of verification of the obtained results is discussed.

The described approach to make it possible to create diagnostic images of the visible blood vessels of the bulbar conjunctiva, including the capillaries, with an indication of their diameters. Examples of the construction of histograms of the distribution of the internal diameter and cross-sectional area of these blood vessels are presented.

The proposed technique and hardware solutions have the prospect of being used in creating equipment for complex non-invasive diagnostics of the microvasculature and monitoring the effectiveness of treating various diseases of the cardiovascular system, since the conditions of the eye blood vessels correlate with the state of the blood vessels in other organs.

Keywords: microcirculatory bed, measurement of small vessel sizes, internal diameter and area of vessels, digital microscopy, digital image processing algorithms.

DOI: 10.21122/2220-9506-2019-10-2-185-197

Адрес для переписки:

В.А. Фираго
Белорусский государственный университет,
пр. Независимости, 4, г. Минск 220030, Беларусь
e-mail: firago@bsu.by

Address for correspondence:

V.A. Firago
Belarusian State University,
Nezavisimosti Ave., 4, Minsk 220030, Belarus
e-mail: firago@bsu.by

Для цитирования:

В.А. Фираго, А.И. Кубарко.
Методика определения диаметра и площади внутреннего просвета
видимых сосудов глаза
Приборы и методы измерений.
2019. – Т. 10, № 2. – С. 185–197.
DOI: 10.21122/2220-9506-2019-10-2-185-197

For citation:

V.A. Firago, A.I. Kubarko.
[Technique for Measuring the Internal Diameter and Area of Visible
Vessels of the Eye].
Devices and Methods of Measurements.
2019, vol. 10, no. 2, pp. 185–197 (in Russian).
DOI: 10.21122/2220-9506-2019-10-2-185-197

Введение

Одна из основных проблем при решении актуальной задачи диагностики сосудистых патологий в микроциркуляторном русле кровеносной системы человека – определение их основных физиологических параметров: диаметра и площади их внутреннего просвета, а также удельной плотности сосудов. Микроциркуляторное русло содержит несколько типов малых сосудов. Поэтому при проведении диагностических исследований реакции микроциркуляторного русла на различные воздействия, в том числе и сосудорасширяющих препаратов, необходимо определять также и гистограммы распределения сосудов по размерам их внутреннего просвета, поскольку поведения различных сосудов могут сильно отличаться.

Для непосредственного наблюдения и получения цифровых изображений хорошего качества доступны только сосуды глаза [1–3]. В области лунулы ногтевых пластин получаемые изображения сосудов размыты вследствие рассеяния излучения ороговевшими клетками ногтя. Существуют публикации по методам спектральной диагностики биологических тканей, основанные на моделировании процессов диффузного рассеяния зондирующего светового излучения биологическими тканями [4–8]. В этих работах одним из моделируемых параметров является средний диаметр внутреннего просвета сосудов исследуемого участка ткани. Указанные работы пока требуют обстоятельной верификации получаемых оценок среднего диаметра внутреннего просвета сосудов. Такая верификация для живой кровеносной ткани возможна только оптическими методами путем анализа цифровых изображений видимых сосудов.

Получение цифровых снимков дна глаза осуществляют с помощью специальной аппаратуры – фундус-камер. Усилия их разработчиков и коллективов, создающих специализированное программное обеспечение [9–14], позволили создать алгоритмы, предназначенные для выделения сосудистого рисунка на цветных цифровых изображениях дна глаза. Существующие пакеты для обработки цифровых изображений дна глаза позволяют оценивать диаметр хорошо просматривающихся сосудов сетчатки. Поскольку стенки сосудов прозрачные, при определении диаметра сосудов обычно используют ширину поперечного сечения его изображения на уровне

полувысоты его профиля. Отметим, что изображения сосудов формируются за счет сильного поглощения светового излучения форменными элементами крови (главным образом эритроцитами) [1]. Форма профиля сечения изображения сосудов зависит от диаметра их внутреннего просвета. Поэтому упрощенный подход – определение диаметра внутреннего просвета D_v по ширине профиля на полувысоте, вызывает сомнение.

Недостаток фундус-камер при изучении микроциркуляторного русла – формирование лишь однократных изображений, так как дно глаза подсвечивается одним мощным световым импульсом белого цвета. Зрачок глаза после его воздействия примерно через 200 мс сужается, что сильно осложняет процесс получения следующих изображений. Это препятствует получению достоверных оценок диаметра внутреннего просвета малых сосудов, изображения которых на одном снимке состоят из мелких фрагментов вследствие наличия промежутков прозрачной плазмы крови между эритроцитами.

Поэтому цель статьи – исследование возможностей повышения достоверности определения диаметра внутреннего просвета видимых сосудов при использовании аппаратуры и программ для получения цифровых видеозаписей бульбарной конъюнктивы глаза с пространственным разрешением 2 мкм и импульсной подсветкой исследуемого участка бульбарной конъюнктивы. Такой подход при цифровом накоплении или усреднении по нескольким десяткам кадров позволит проследивать все видимые сосуды, включая и капилляры.

Объект исследования и используемая аппаратура

Сосудистая сеть в поверхностных слоях конъюнктивы глаза хорошо видна [1]. Бульбарную конъюнктиву, в отличие от дна глаза, легко подсвечивать, не вызывая большого дискомфорта у пациента, что обуславливает возможность получения цифровых видеозаписей сосудистой сети с хорошим пространственным разрешением, т. е. вплоть до капилляров.

Применяемая нами компьютеризированная установка для получения цифровых видеозаписей бульбарной конъюнктивы собрана на механической платформе щелевой лампы, используемой в офтальмологии. Эта платформа позволяет перемещать применяемую видеокамеру

с блоком импульсной подсветки и устройством визуального наведения и фокусировки по трем координатам x , y , z с фиксацией выбранного положения. Также есть механическая система фиксации лица пациента и возможность смещения камеры вправо и влево [1].

В этой установке нами использована высокочувствительная монохромная видеокамера *Imperx Bobcat IGV-B1410M* на основе матрицы *Sony ICX285AL* на ПЗС (CCD) структурах. Камера формирует 10-ти разрядные цифровые изображения, состоящие из 1040 строк и 1392 столбцов, которые передаются по *GigE (Gigabit Ethernet)* интерфейсу в управляющий компьютер. Максимальная частота передачи кадров составляет 23,2 Гц.

Необходимость использования монохромной камеры обусловлена требованиями получения максимальной чувствительности видеосъемки при необходимом пространственном разрешении. В фундус-камерах используются цветные матрицы с мозаикой светофильтров Байера. Поэтому каждый из слоев в исходном *RGB* изображении имеет незаполненные элементы, что вынуждает использовать пространственную интерполяцию получаемых *R*, *G* и *B* изображений. При ее проведении на цифровых изображениях малых сосудов могут возникать искажения истинных профилей их поглощения. Форма спектральной чувствительности элементов монохромной матрицы *ICX285AL* позволяет с хорошей контрастностью регистрировать цифровые изображения сосудов в виде темных линий на светло-сером фоне склеры при ее подсветке импульсным излучением сверхъяркого светодиода с белым цветом свечения. Период размещения светочувствительных элементов матрицы *ICX285AL* квадратной формы равен 6,45 мкм. Поэтому в видеокамере мы использовали объектив от микроскопа с фокусным расстоянием 37 мм и примерно трехкратное увеличение изображения, что обеспечило период пространственной дискретизации получаемых изображений 2 мкм.

Вследствие физиологических особенностей системы зрения глаза непрерывно двигаются, что при больших временах экспозиции (десятки миллисекунд) будет приводить к потере четкости из-за смазывания изображения. Поэтому в установке используется периодическая импульсная подсветка снимаемого участка бульбарной конъюнктивы с регулируемой длительностью

от 0,2 до 2 мс, синхронизированная с началом времени формирования кадра [1]. Для устранения влияния саккадических движений глаз пациент должен фиксировать взгляд во время записи на одной достаточно яркой точке, которая формируется на втором мониторе и может двигаться по заданному закону. Тогда при длительности подсвечивающего импульса излучения 1–2 мс смещение склеры, а также форменных элементов крови не будет превышать 1 мкм [1]. Естественно, что при импульсной подсветке приходится пропорционально увеличивать освещенность склеры во время действия импульса излучения, чтобы обеспечить необходимое отношение сигнал/шум.

Диаметр пятна подсвечивающего излучения, фокусируемого на выбранный участок склеры глаза, выбран нами равным примерно 3 мм, что достаточно для освещения изображения по всему полю зрения видеокамеры, составляющему $2,08 \times 2,78$ мм², и обеспечения его необходимой резкости. Для подвода излучения светодиода к снимаемому участку бульбарной конъюнктивы глаза используется оптоволоконно с диаметром световода 1 мм и светосильный фокусирующий объектив с фокусным расстоянием 40 мм. Регулируя положение торца световода относительно фокусирующего объектива, добивались необходимого значения диаметра пятна подсветки.

Поскольку глубина резкости микроскопического объектива небольшая, в состав установки с целью обеспечения быстрой наводки и фокусировки камеры на интересующий участок сосудов конъюнктивы введено дополнительное устройство визуального наведения и грубой фокусировки. Принцип его действия основан на сведении двух пучков лазерного излучения, направленных под углом друг к другу в одно пятно в плоскости фокуса. Использовались два маломощных лазерных диода с длиной волны излучения 635 нм. Они размещались справа и слева от объектива видеокамеры. Их излучение коллимировалось с помощью малогабаритной оптики. Юстировка направления осей этих пучков осуществлялась специальными винтами, с помощью которых оси совмещались в центре поля зрения камеры в плоскости фокуса. При использовании этого устройства наведение на выбранный участок склеры и грубая фокусировка изображения сосудов осуществлялась в течение нескольких секунд.

Программное обеспечение и предварительная обработка

Управление работой установки осуществляется с помощью программы *Vision_sclera* [1], созданной нами в среде *GUI* (графический интерфейс пользователя) системы компьютерной математики *Matlab*. Графическое окно этой программы содержит область вывода получаемых цифровых изображений и две панели: «Получение и запись последовательности кадров» и «Просмотр записей и сохранение отдельных кадров».

Верхняя панель «Получение и запись последовательности кадров» предназначена для начальной наладки процесса записи цифровых изображений и последующей записи по нажатию кнопки «Save» требуемого количества кадров $n_{\text{сохр_кадр}}$ в виде упакованной трехслойной ($1392 \times 1040 \times n_{\text{сохр_кадр}}$) матрицы 16-ти разрядных чисел в *m*.файл на жестком диске компьютера. Нижняя панель служит для просмотра записанных кадров и позволяет поочередно считывать записанные *m*.файлы и просматривать любой из выбранных кадров записи с помощью вертикального движка или слайдера, расположенного слева от панели.

Для формирования конечных файлов, используемых при расчете распределения диаметра внутреннего просвета видимых сосудов бульбарной конъюнктивы, проводится предварительная обработка получаемых записей, содержащая несколько операций.

Пятно подсветки, формируемое с помощью объектива и оптоволоконной техники, имеет неоднородную освещенность. Поэтому заранее на этапе наладки установки определяется нормирующая матрица, применяемая для выравнивания яркости получаемых изображений. Для этого в плоскости расположения глаза устанавливают белый диффузно рассеивающий эталонный образец *WS-2* (*Avantes*, Голландия), проводится фокусировка камеры на его поверхность и определяется зависимость яркости пятна подсветки от координат $E(x_p, y_p)$. Получаемое изображение сглаживается низкочастотным фильтром, находится максимум, который делится на значения элементов сглаженной матрицы. При этом формируется нормирующая матрица $S_n(x_p, y_p)$, на которую при проведении предварительной обработки поэлементно умножаются получаемые изображения. Применяемая обработка позволяет выровнять яркость получаемых видеозаписей по полю кадра [1].

Регистрируемая последовательность кадров вследствие непрерывных движений глаз даже при фиксации взора в направлении неподвижной точки и применения импульсной подсветки имеет скачкообразное смещение получаемых изображений сосудистой сети, что иллюстрирует рисунок 1. Поэтому на втором этапе предварительной обработки проводится стабилизация положения последовательности изображений относительно первого кадра с помощью специально разработанного корреляционного алгоритма. Используется двухэтапная процедура поиска смещения k -го изображения относительно первого с применением исходной и уплотненной в 10 раз сетки отсчетов. При поиске определяются координаты глобального минимума среднеквадратического отклонения разности яркостей первого и k -го изображений при смещении последнего по координатам x, y . Вначале рассчитывается поверхность среднеквадратического отклонения разностей яркостей при использовании исходной сетки отсчетов и находится ее глобальный минимум. Потом положение минимума уточняется с использованием двумерной субпиксельной кубической интерполяции этой поверхности в окрестности глобального минимума на уплотненной сетке отсчетов.

Применяемый метод позволяет определять вектор смещения k -го изображения с дискретностью 0,1 пикселя, т. е. 0,2 мкм, что значительно меньше размеров эритроцитов, которые имеют вид вогнутого диска с диаметром приблизительно 8 мкм и толщиной 2 мкм.

Поскольку пространственное разрешение системы видеозаписи созданного комплекса позволяет различать форменные элементы крови, стабилизация положения сосудистой сети относительно первого кадра позволяет визуализировать кровотоки как в крупных, так и малых сосудах [1]. Отметим, что при анализе видеозаписей здоровых молодых людей у некоторых из них выявляются небольшие участки сосудов с наличием кратковременных процессов обратного кровотока, возникающего в промежутках между сокращениями сердца.

На третьем этапе предварительной обработки для упрощения решения задач определения диаметра и площади внутреннего просвета сосудов проводится цифровое усреднение стабилизированных изображений по нескольким десяткам кадров. После стабилизации положения сосудистого рисунка и проведения усреднения прослеживаются без разрывов практически все капилляры. Таким образом, возможность записи последовательности цифровых изображений позволяет

устранить многочисленные разрывы на изображениях малых сосудов и упрощает алгоритмы

формирования карты распределения внутреннего диаметра и площади просвета сосудов.

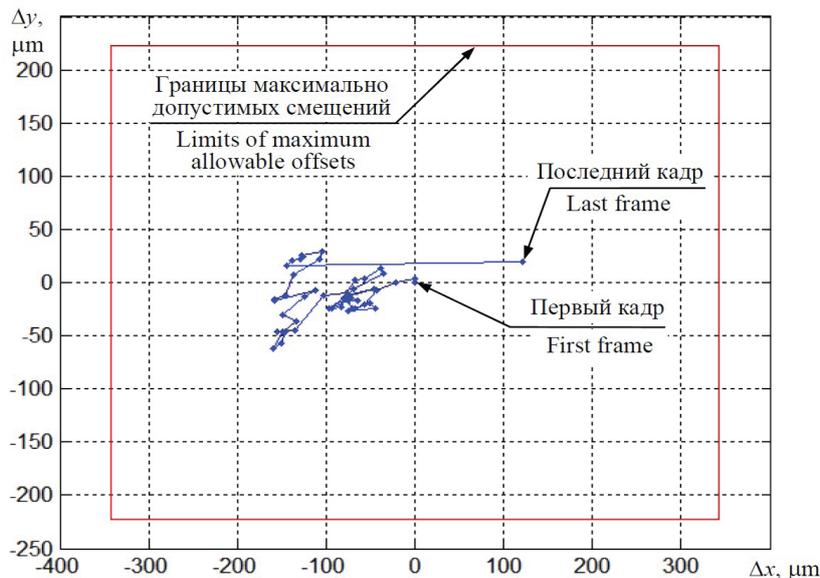


Рисунок 1 – Пример зарегистрированной траектории смещений положения глаза относительно изображения первого кадра в декартовой системе координат

Figure 1 – An example of the trajectory of the displacement of the position of the eye relative to its image in the first frame in the Cartesian coordinate system

Определение диаметра и площади внутреннего просвета видимых сосудов

Свободно распространяемые пакеты программ для обработки цифровых изображений сосудов сетчатки, например *ARIA* [12, 13], неудобны для достоверной оценки диаметров внутреннего просвета малых сосудов, поскольку наличие в их изображениях промежутков, обусловленных прозрачной плазмой, вызывает возникновение многочисленных разрывов сосудов на их изображениях. При этом используемые в программе алгоритмы делят изображения малых сосудов на большое число сегментов, параметры которых имеют разброс и плохо поддаются визуальному анализу. Даже применение вейвлет-преобразования для обработки не помогает сформировать сосудистый рисунок без разрывов.

Представление о сложности алгоритмов определения диаметра и площади внутреннего просвета сосудов можно составить при анализе сечения изображения бульбарной конъюнктивы, представленного на рисунке 2. Нетривиальной оказывается и задача трассировки сосудистого рисунка, поскольку высота профилей поперечного сечения изображения малых сосудов часто оказывается сравнима с изменениями яркости изображения тканей бульбарной конъюнктивы. Зрительная система человека имеет специальные механизмы ретуширования

(устранения дефектов) линий [15], поэтому мы с неосознаваемой легкостью формируем визуальное представление сосудистого рисунка в виде пересекающихся непрерывных линий разной толщины, несмотря на имеющиеся разрывы. Неоднородность яркости изображения склеры приводит также и к заметному различию высот правой и левой ветвей профилей поперечного сечения сосудов, что затрудняет определение полувысоты профиля, на которой определяют внутренний диаметр D_v . Отметим, что отношение сигнал/шум после усреднения по 25 стабилизированным кадрам улучшается в 5 раз, поэтому наблюдаемые флуктуации яркости изображения на рисунке 2 в промежутках между сосудами обусловлены не шумами, а оптической неоднородностью тканей склеры.



a

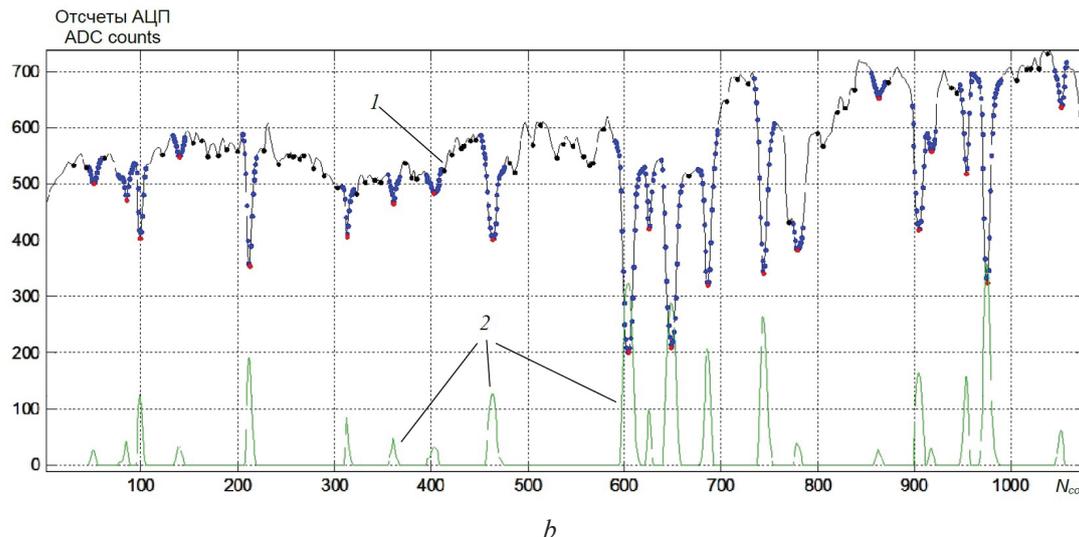


Рисунок 2 – Обработанное изображение бульбарной конъюнктивы, усредненное по 25 кадрам (а), и зависимость относительной яркости его сечения вдоль 346 строки (линия 1), на которой точками выделены локальные минимумы, и результаты обработки этого сечения, т. е. выделения участков, которые можно отнести к сосудам (линия 2) (b)

Figure 2 – Calculated image of bulbar conjunctiva, which is averaged over 25 frames (a), and the dependence of the relative brightness of the profile of its cross section along the 346 image line (line 1), on which local minima are marked with dots, and also the results of processing the profile of this cross section, i. e. the allocation of areas that can be attributed to the vessels (line 2) (b)

Возможность подсветки снимаемого участка бульбарной конъюнктивы под углом к ее нормали позволяет избавиться от присутствия на цифровых изображениях более крупных сосудов так называемого светового рефлекса [9, 10], присущего изображениям сосудов сетчатки, полученным с помощью фундус-камер. Он формируется за счет обратного отражения верхушкой сосуда подсвечивающего излучения, попадающего на дно глаза через зрачок, и проявляется в виде наличия серой полосы на темном изображении сосуда, что искажает профиль его поглощения.

Анализ профилей поперечного сечения получаемых изображений сосудов бульбарной конъюнктивы указывает на зависимость их формы от диаметра внутреннего просвета. Для сосудов с небольшими диаметрами форма профиля примерно напоминает инвертированное гауссово распределение. Функциональную зависимость формы профиля сечения изображения сосуда от его диаметра найти пока не удалось. Поэтому при определении диаметра внутреннего просвета сосуда нами использовался способ, основанный на связи между максимальной высотой h_{ac} профиля поперечного сечения и его площадью S_{ac} . При делении площади S_{ac} на h_{ac} получаем искомый

эквивалентный диаметр внутреннего просвета сосудов D_{ve} . Для малых сосудов он приблизительно пропорционален количеству поглощенных фотонов эритроцитами, прошедшими через рассматриваемый участок сосуда. При поглощении света более крупными сосудами формируется другая форма профиля с большей крутизной склонов. Поэтому применение выражения $D_{ve} = S_{ac} / h_{ac}$ будет давать достаточно корректные результаты.

При использовании предлагаемого способа определения D_{ve} приходится предварительно определять положение осей изображений сосудов, т. е. проводить трассировку скелета сосудистого рисунка. Существует несколько алгоритмов трассировки сосудистого рисунка изображений дна глаза [9–14]. Лучшие из них внедрены в дорогостоящее программное обеспечение фундус-камер, которое закрыто для свободного доступа. Поэтому при трассировке приходится разрабатывать свои алгоритмы. Нам интересной показалась идея на практике применить принципы анализа изображений, свойственные зрительной системе человека [15, 16], которая достаточно легко решает эту задачу даже при наличии существенной неоднородности рассеяния излучения тканями бульбарной конъюнктивы.

Быстрота восприятия окружающей обстановки зрительной системой человека обеспечивается параллельной обработкой рецептивными полями сетчатки распределения яркости изображения, которое формируется на дне глаза и затем по зрительным путям поступает в первичную зрительную кору мозга. Вследствие чрезвычайной сложности даже первичной обработки зрительной информации мозгом человека пока отсутствует полное понимание и подробное описание процессов, происходящих в сетчатке и зрительной коре [16]. Поэтому при создании алгоритмов трассировки «скелета» сосудистого рисунка приходится пользоваться упрощениями и традиционным набором вычислительных алгоритмов персональных компьютеров для обработки изображений, поскольку процессоры для параллельной обработки при выделении контуров изображений пока не созданы.

Используемые нами алгоритмы трассировки основаны на последовательном просмотре пикселей усредненного изображения бульбарной конъюнктивы и использовании кольцевых структур с расширяющимися радиусами R . Вначале по аналогии с алгоритмами функционирования нейронов *On*- и *Off*-рецептивных полей в макулярной области сетчатки, которые обеспечивают высокую остроту дневного зрения, определяются локальные минимумы обрабатываемого изображения. При обнаружении локального минимума яркости изображения с координатами i, j радиус R кольцевой структуры или рецептивного поля увеличивается. Для нового значения R определяется зависимость суммы противоположных точек окружности с радиусом R от угла поворота сечения или его направления. Далее находится максимум разностей этой зависимости для перпендикулярных направлений и сравнивается с величиной порога, зависящего от яркости изображения в локальной окрестности точки i, j .

При превышении порога процесс поиска скелета сосуда для текущего локального минимума продолжается. Примерно через 2–3 итерации увеличения R с последующей пороговой обработкой, вероятность правильного отнесения к классу сосудов точки локального минимума, находящейся на оси сосуда, становится большой, и рассматриваемый локальный минимум помечается как ось сосуда. Разработанные алгоритмы трассировки позволяют за один проход двумерной матрицы изображения проанализировать каждый пиксель

и найти оси всех сосудов. При этом возникает небольшое количество ложных точек и штришков, относящихся к протяженным оптическим неоднородностям склеры со структурой профиля, похожей на профиль капилляров. Результат проведения трассировки небольшого фрагмента цифрового изображения бульбарной конъюнктивы глаза представлен на рисунке 3*b*. При сравнении образа визуальной трассировки, осуществляемой нашей системой зрения при анализе изображения на рисунке 3*b* с представленным примером трассировки, видим желательность использования при дальнейшем развитии алгоритмов обработки специальных способов ретуширования разрывов, чтобы устранить небольшое число пропусков в скелете сосудистого рисунка микроциркуляторного русла.

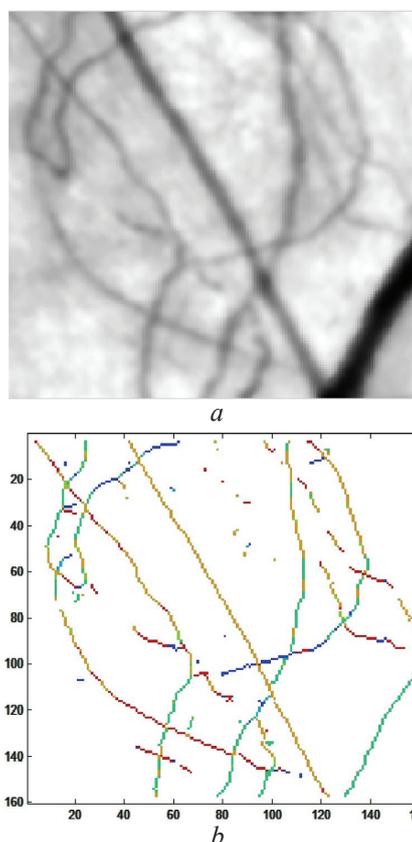


Рисунок 3 – Фрагмент усредненного изображения бульбарной конъюнктивы с размерами 160×160 пикселей (*a*) и разрешением 2 мкм, который выделен на рисунке 2 светлой штриховой линией, а также результат трассировки сосудистого рисунка в этом фрагменте (*b*)

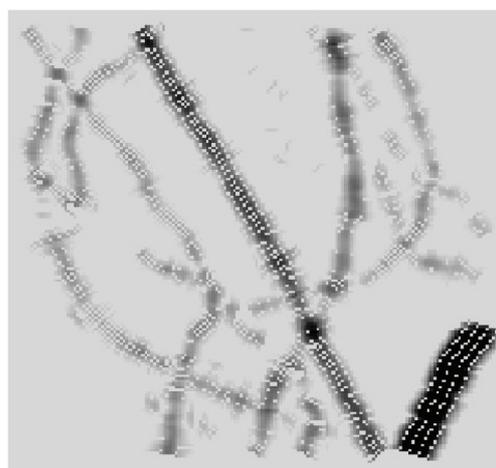
Figure 3 – A fragment of the averaged image of the bulbar conjunctiva with dimensions of 160×160 pixels and a resolution of 2 μm , which is shown by the bright dashed line in Figure 2*a*, and the result of tracing the vascular pattern in this fragment (*b*)

После проведения операции трассировки осей сосудов в точках изображения, отнесенных к осям сосудов, осуществляется анализ зависимости площади сечения под профилем изображения сосуда от радиуса R используемой кольцевой структуры и угла поворота φ плоскости анализа относительно направления оси x . Для уточнения направления оси сосуда проводятся операции по определению зависимости сумм высот противоположных «берегов» и сумм высот противоположных точек «дна» русла изображения сосуда от угла поворота φ . Находя максимум разности этих сумм и расширяя радиус R используемой кольцевой структуры, уточняется направление оси изображения сосуда и положение правой и левой границ его профиля. При определении границ используется сложный критерий, учитывающий скорость изменения крутизны профиля при удалении от оси изображения сосуда. После установления границ и уточнения направления оси подсчитывается окончательная площадь под профилем поперечного сечения изображения сосуда S_{ac} в рассматриваемой точке i, j его оси, находится высота полученного профиля h_{ac} и рассчитывается эквивалентный диаметр $D_{ve}(i, j)$.

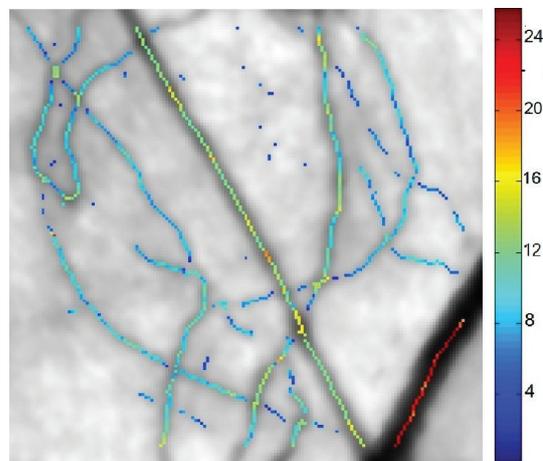
На рисунке 4а представлен пример обработанного фрагмента усредненного изображения, показывающий градиациями серого цвета профили изображения сосудов и пиксели, участвующие в определении D_{ve} . Белыми точками отмечены пиксели, которые не участвовали в процессе определения диаметра сосудов, поскольку при формировании расширяющихся окружностей в квадратной сетке отсчетов с помощью алгоритма Брезенхема используются не все пиксели, лежащие внутри заполняемой площади. Отметим, что зрительная система человека при рассмотрении получаемых изображений, например на рисунке 3а, формирует немного искаженное визуальное впечатление о видимом диаметре малых сосудов, занижая оценку значения D_{ve} .

Предлагаемый алгоритм формирует массивы данных, необходимых для построения карты эквивалентных диаметров внутреннего просвета видимых сосудов бульбарной конъюнктивы глаза. Фрагмент такой карты, полученной для сосудов разного калибра, приведен на рисунке 4б. Для наилучшего визуального

представления результатов определения D_{ve} на монохромное изображение сосудистой сети накладывается найденный скелет сосудистого рисунка, который раскрашивается палитрой с цветной шкалой значений D_{ve} . Присутствие на рисунке 4б небольшого числа ложных точек указывает на необходимость привлечения при дальнейшем развитии алгоритма данных как о направлении оси сосуда, так и минимальной протяженности связанных цепочек пикселей, относящихся к оси сосуда [17, 18].



a



b

Рисунок 4 – Иллюстрация процесса обработки фрагмента изображения на рисунке 3а (а) и карта распределения эквивалентных диаметров внутреннего просвета сосудов с соответствующей цветовой шкалой в микрометрах (б)

Figure 4 – Illustration of image processing, shown in Figure 3a (a) and the distribution map of equivalent internal vessel diameters with a corresponding color scale in micrometers (b)

Для оценки реакции сосудов при регуляторных и других воздействиях на сердечно-сосудистую систему человека лучше использовать гистограммы распределения D_{ve} и площади внутреннего просвета S_{ve} , примеры которых приведены на рисунке 5.

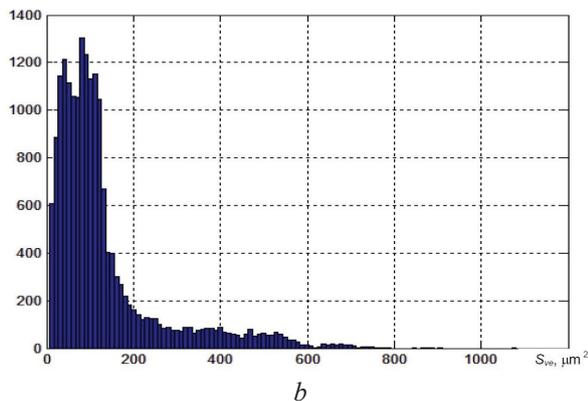
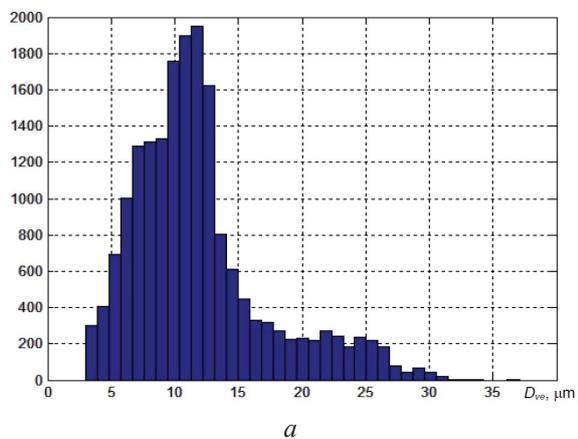


Рисунок 5 – Гистограммы распределения значений эквивалентных диаметра D_{ve} (a) и площади S_{ve} (b) внутреннего просвета сосудов, которые получены для изображения бульбарной конъюнктивы на рисунке 2a

Figure 5 – Histograms of the distribution of the values of the equivalent internal diameter D_{ve} (a) and the area S_{ve} (b) of vessels, which are obtained for the image of the bulbar conjunctiva in Figure 2a

Необходимо отметить, что моды гистограмм, соответствующие сосудам разного калибра, имеют сильное перекрытие, которое обусловлено плавным изменением диаметра внутреннего просвета при переходе артерий в артериолы, капилляры и далее в венулы и вены. С целью упрощения описываемого алгоритма пока не использовались решения, использующие анализ направления оси сосуда, а также длину связанных цепочек пикселей. Столбики гистограммы, лежащие на краю ее левого крыла обычно не учитывают,

поскольку неконтрастные участки изображения малых сосудов дают искаженное представление из-за малого числа эритроцитов, прошедших через них. Поэтому потребность в удалении ложных точек с карты распределения диаметра внутреннего просвета сосудов отпадает.

Верификация предлагаемого метода определения диаметра внутреннего просвета сосудов

Доказательство достоверности получаемых результатов определения D_{ve} и S_{ve} осложняется постоянной флуктуацией кровотока во время систолы и диастолы сердца, размеров сосудов, изменением числа функционирующих капилляров. Применение дорогостоящей техники конфокальной лазерной микроскопии с адаптивной оптикой осложняется непрерывными движениями глаз, что вынуждает проводить корреляционную обработку для стабилизации получаемых изображений небольших участков сосудов [19]. После стабилизации возникает проблема выбора метода оценки диаметра сосуда D_v по получаемому профилю поперечного сечения полученного изображения. Предлагаемый в [19] способ оценки D_v по точкам, где градиент или производная от профиля на его правой и левой ветвях меняет знак, в свою очередь требует подтверждения независимыми измерениями D_v другими способами (*in vivo*), которых пока никто не предложил. Поэтому достоверность предлагаемой методики определения D_{ve} на настоящий момент можно косвенно подтвердить только численным экспериментом, т.е. моделированием транспорта фотонов в тканях бульбарной конъюнктивы 3D методом Монте-Карло. На рисунке 6 представлена зависимость результатов определения D_{ve} предлагаемым нами способом от значений внутреннего просвета сосудов D_v , которые задавались при проведении моделирования контура профилей сечения изображения сосудов 3D методом Монте-Карло. Для примера, представленного на рисунке 6, глубина залегания верхушки сосудов разного калибра в ткани бульбарной конъюнктивы задавалась равной 5 мкм. Объем моделируемой ткани, в которой располагался сосуд с задаваемыми значениями D_v , составлял $500 \times 500 \times 200$ мкм. Видим, что вычислительный эксперимент указывает на возможность использования предлагаемого способа определения D_{ve} .

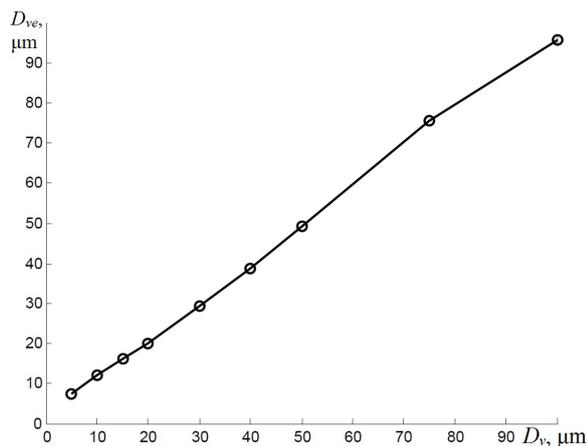


Рисунок 6 – Зависимости определяемых значений внутреннего диаметра D_{ve} сосудов бульбарной конъюнктивы от их величин D_v , задаваемых при моделировании профилей сечения изображений сосудов 3D методом Монте-Карло при глубине залегания верхушек сосудов 5 мкм

Figure 6 – The dependencies of calculated values of the internal diameter D_{ve} of bulbar conjunctiva vessels from the values of D_v , which were set when modeling the profiles of the cross section of 3D images of the vessels of the Monte Carlo model with a depth of case the blood vessels 5 μm

Заключение

Разработанная комплексная методика видеорегистрации цифровых изображений сосудов бульбарной конъюнктивы глаз с пространственным разрешением 2 мкм и созданные программные средств анализа их морфологических параметров имеют перспективу практического применения при конструировании диагностической аппаратуры нового поколения. Перспектива обусловлена возможностями непосредственного изучения скорости кровотока и реакции сосудов на регуляторные воздействия и сосудодобивные препараты, раннего обнаружения нарушений структуры микроциркуляторных сосудов, выявления факторов риска развития осложнений, склонности пациента к формированию вазоспазма и др.

Большой интерес у исследователей и клиницистов вызывает комплексный подход, основанный на параллельном исследовании микроциркуляторного русла бульбарной конъюнктивы, глазного дна, кожных покровов и поверхностных мышц, который даст возможность оценивать наличие локального или системного характера изменений гемодинамики. Его реализация может базироваться на новых методах оперативного

количественного анализа спектрально-пространственных характеристик диффузного отражения различных тканей организма человека. Первые результаты, полученные нами, показывают перспективность этого направления для оценки параметров микроциркуляторного русла сосудистой системы.

Список использованных источников

1. *Firago, V.* Determination of blood flow velocity in vessels of bulbar conjunctiva / V. Firago, A. Kubarko, A. Hotra // *Przegląd Elektrotechniczny*. – 2016. – Vol. 92, no. 8. – P. 105–108.

2. *MacKenzie, L.E.* In vivo oximetry of human bulbar conjunctival and episcleral microvasculature using snapshot multispectral imaging / L.E. MacKenzie [et al.] // *Experimental Eye Research*. – 2016. – Vol. 149. – P. 48–58. DOI: 10.1016/j.exer.2016.06.008

3. *Li, J. A.* Novel Method for Blood Flow Measurement based on Sclera Images / J. Li, X. Zhang // 2012 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Technology IPCBEE. – 2012. – Vol. 29. – P. 74–81.

4. *Lisenko, S.* Determination of Structural and Morphological Parameters of Human Bulbar Conjunctiva from Optical Diffuse Reflectance Spectra / S. Lisenko [et al.] // *J. of Applied Spectroscopy*. – 2016. – Vol. 83, iss. 4. – P. 617–626. DOI: 10.1007/s10812-016-0337-7

5. *Lisenko, S.* Analytical model of diffuse reflectance spectrum of skin tissue / S. Lisenko [et al.] // *Quantum Electronics*. – 2014. – Vol. 44, no. 1. – P. 69–75.

6. *Veen, R.* Diffuse-reflectance spectroscopy from 500 to 1060 nm by correction for inhomogeneously distributed absorbers / R. Veen, W. Verkruijsse, H. Sterenborg // *Optics Letters*. – 2002. – Vol. 27, no. 4. – P. 246–248. DOI: 10.1364/OL.27.000246

7. *Meglinski, I.V.* Computer simulation of the skin reflectance spectra / I.V. Meglinski, S.J. Matcher // *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. – 2003. – Vol. 70, iss. 2. – P. 179–186. DOI: 10.1016/S0169-2607(02)00099-8

8. *Bashkatov, A.N.* Optical properties of human sclera in spectral range 370–2500 nm / A.N. Bashkatov [et al.] // *Optics and Spectroscopy*. – 2010. – Vol. 109, no. 2. – P. 197–204. DOI: 10.1134/S0030400X10080084

9. *Fraz, M.M.* An approach to localize the retinal blood vessels using bit planes and centerline detection / M.M. Fraz [et al.] // *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. – 2012. – Vol. 108, no. 2. – P. 600–616. DOI: 10.1016/j.cmpb.2011.08.009

10. *Fraz, M.M.* Quantification of blood vessel calibre in retinal images of multi-ethnic school children using model based approach / M.M. Fraz [et al.] // *Computerized*

Medical Imaging and Graphics. – 2013. – Vol. 37, no. 1. – P. 48–60.

DOI: 10.1016/j.compmedimag.2013.01.004

11. Ilyasova, N.Y. Computer systems for geometrical analysis of blood vessels diagnostic images / N.Y. Ilyasova // Optical Memory and Neural Networks. – 2014. – Vol. 23, iss. 4. – P. 278–286.

DOI: 10.3103/S1060992X14040110

12. Bankhead, P. Fast retinal vessel detection and measurement using wavelets and edge location refinement / P. Bankhead [et al.] // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7, iss. 3. – P. 1–12. **DOI:** 10.1371/journal.pone.0032435

13. Bankhead, Pete. ARIA: Automated Retinal Image Analyzer v1.0. Centre for Vision and Vascular Science, Queen's University of Belfast, UK, Desember 2011.

14. Soares, J. Retinal vessel segmentation using the 2-D gabor wavelet and supervised classification / J. Soares [et al.] // IEEE Trans. Med. Imag. – 2006. – Vol. 25, no. 9. – P. 1214–1222.

DOI: 10.1109/TMI.2006.879967

15. Citti, G. A cortical based model of perceptual completion in the roto-translation space / G. Citti, A. Sarti // Journal of Mathematical Imaging and Vision. – 2006. – Vol. 24, no. 3. – P. 307–326.

DOI: 10.1007/s10851-005-3630-2

16. Трофимов, Е.А. Эргономика зрительного восприятия: монография / Е.А. Трофимов; под ред. проф. И.Г. Городецкого. – М.: АИР, 2013. – 192 с.

17. Hunter, A. Non-linear filtering for vascular segmentation and detection of venous beading / A. Hunter [et al.] // Technical Report University of Durham. – 2003. – P. 100–104.

18. Duits, R. The explicit solutions of linear left-invariant second order stochastic evolution equations on the 2D-Euclidean motion group / R. Duits, M.A. Almsick // Quarterly of Applied Mathematics. – 2008. – Vol. 66. – P. 27–67.

DOI: 10.1090/S0033-569X-07-01066-0

19. O'Halloran, M. Measurement of the retinal arteriolar response to a hyperoxic provocation in nonsmokers and smokers, using a high-resolution confocal scanning laser ophthalmoscope / M. O'Halloran, E. O'Donoghue, C. Dainty // J. of Biomedical Optics. – 2014. – Vol. 19, no. 7:076012.

DOI: 10.1117/1.JBO.19.7.076012

20. Лысенко, С.А. Методы оптической диагностики биологических объектов / С.А. Лысенко. – Минск: БГУ, 2014. – 231 с.

21. Кубарко, А.И. Физиологическая оценка результатов спектрометрии содержания оксигемоглобина и реакции микрососудов на изменение гемодинамики / А.И. Кубарко, В.А. Фираго // Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски. – 2018. – Т. 2, № 2. – С. 358–363.

References

1. Firago V., Kubarko A., Hotra A. Determination of blood flow velocity in vessels of bulbar conjunctiva. *Przegląd Elektrotechniczny*, 2016, vol. 92, no. 8, pp. 105–108.

2. MacKenzie L., Choudhary T., McNaught A., Harvey A.R. In vivo oximetry of human bulbar conjunctival and episcleral microvasculature using snapshot multispectral imaging. *Experimental Eye Research*, 2016, vol. 149, pp. 48–58.

DOI: 10.1016/j.exer.2016.06.008

3. Li J., Zhang X.A. Novel Method for Blood Flow Measurement based on Sclera Images // 2012 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Technology IPCBEE, 2012, vol. 29, pp. 74–81.

4. Lisenko S., Firago V., Kugeiko M., Kubarko A. Determination of Structural and Morphological Parameters of Human Bulbar Conjunctiva from Optical Diffuse Reflectance Spectra. *J. of Applied Spectroscopy*, 2016, vol. 83, no. 4, pp. 617–626.

DOI: 10.1007/s10812-016-0337-7

5. Lisenko S., Kugeiko M., Firago V., Sobchuk A. Analytical model of diffuse reflectance spectrum of skin tissue. *Quantum Electronics*, 2014, vol. 44, no. 1, pp. 69–75.

6. Veen R., Verkruysse W., Sterenborg H. Diffuse-reflectance spectroscopy from 500 to 1060 nm by correction for inhomogeneously distributed absorbers. *Optics Letters*, 2002, vol. 27, no. 4, pp. 246–248.

DOI: 10.1364/OL.27.000246

7. Meglinski I.V., Matcher S. J. Computer simulation of the skin reflectance spectra. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 2003, vol. 70, iss. 2, pp. 179–186. **DOI:** 10.1016/S0169-2607(02)00099-8

8. Bashkatov A.N., Genina E.A., Kochubey V.I., Tuchin V.V. Optical properties of human sclera in spectral range 370–2500 nm. *Optics and Spectroscopy*, 2010, vol. 109, no. 2, pp. 197–204.

DOI: 10.1134/S0030400X10080084

9. Fraz M.M., Barman S.A., Remagnino P., Hoppe A., Basit A., Uyyanonvara B., Rudnicka A.R., Owen C.G. An approach to localize the retinal blood vessels using bit planes and centerline detection. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 2012, vol. 108, no. 2, pp. 600–616.

DOI: 10.1016/j.cmpb.2011.08.009

10. Fraz M.M., Remagnino P., Hoppe A., Rudnicka A., Owen C.G., Whincup P.H., Barman S.A. Quantification of blood vessel calibre in retinal images of multi-ethnic school children using model based approach. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 2013, vol. 37, no. 1, pp. 48–60.

DOI: 10.1016/j.compmedimag.2013.01.004

11. Ilyasova N.Y. Computer systems for geometrical analysis of blood vessels diagnostic images. *Optical*

Memory and Neural Networks, 2014, vol. 23, iss. 4, pp. 278–286. **DOI:** 10.3103/S1060992X14040110

12. Bankhead P., Scholfield C., McGeown J., Curtis T. Fast retinal vessel detection and measurement using wavelets and edge location refinement. *PLoS ONE*, 2012, vol. 7, no. 3. **DOI:** 10.1371/journal.pone.0032435

13. Bankhead P. ARIA: Automated Retinal Image Analyzer v1.0, Centre for Vision and Vascular Science, Queen's University of Belfast, UK, Desember 2011.

14. Soares J., Leandro J., Cesar R., Jelinek H., Cree M. Retinal vessel segmentation using the 2-D gabor wavelet and supervised classification. *IEEE Trans. Med. Imag.*, 2006, vol. 25, no. 9, pp. 1214–1222.

DOI: 10.1109/TMI.2006.879967

15. Citti G., Sarti A. A cortical based model of perceptual completion in the roto-translation space. *Journal of Mathematical Imaging and Vision*, 2006, vol. 24, no. 3, pp. 307–326. **DOI:** 10.1007/s10851-005-3630-2

16. Trofimov Ye.A. *Ergonomika zritel'nogo vospriyatiya* [Ergonomics of visual perception]. Moscow, AIR Publ., 2013, 192 p.

17. Hunter A., Lowell J., Steel D. Non-linear filtering for vascular segmentation and detection of venous

beading. *Technical Report University of Durham*, 2003, pp. 100–104.

18. Duits R., Almsick M.A. The explicit solutions of linear left-invariant second order stochastic evolution equations on the 2D-Euclidean motion group. *Quarterly of Applied Mathematics*, 2008, vol. 66, pp. 27–67.

DOI: 10.1090/S0033-569X-07-01066-0

19. O'Halloran M., O'Donoghue E., Dainty C. Measurement of the retinal arteriolar response to a hyperoxic provocation in nonsmokers and smokers, using a high-resolution confocal scanning laser ophthalmoscope. *J. of Biomedical Optics*, 2014, vol. 19, no. 7:076012.

DOI: 10.1117/1.JBO.19.7.076012

20. Lysenko S.A. *Metody opticheskoy diagnostiki biologicheskikh obyektov* [Methods of optical diagnostics of biological objects]. BSU, 2014, 231 p.

21. Kubarko A.I., Firago V.A. [Physiological evaluation of spectrometry results of oxyhemoglobin content and response of microvessels to hemodynamic changes]. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardiovaskulyarnyye riski* [Emergency Cardiology and Cardiovascular Risks], 2018, vol. 2, no. 2, pp. 358–363 (in Russian).