

ПОВЫШЕНИЕ ИНФОРМАТИВНОСТИ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ ПРИ ДИАГНОСТИРОВАНИИ КОЖНЫХ ПАТОЛОГИЙ

© 2011 В. П. Захаров¹, К. Ларин², И. А. Братченко¹

¹ Самарский государственный аэрокосмический университет
имени академика С. П. Королёва
(национальный исследовательский университет)

² Университет Хьюстона, США

Построена математическая модель взаимодействия оптического излучения с кожными тканями, учитывающая эффекты вынужденного комбинационного рассеяния. На основании проведённых численных экспериментов выявлены особенности в рамановских спектрах рассеяния, характерные для кожных патологий. Показана возможность существенного повышения информативности методов оптической когерентной томографии (ОКТ) и рамановской спектроскопии при их совместном использовании. Последнее достигается за счёт существенного уменьшения объёма диагностических измерений при выделении слоёв тканей с помощью ОКТ с последующим их анализом методом рамановской спектроскопии. Установлено, что различия в интенсивности рамановского рассеяния для патологически изменённых и нормальных слоёв тканей может достигать 40%.

Оптическая когерентная томография, патологические изменения, рамановская спектроскопия, обработка изображения, моделирование.

Введение

Исследования внутренней структуры различных объектов неразрушающими методами имеют важное значение для биомедицины, материаловедения и современных высоких технологий. В последнее десятилетие достигнуты значительные успехи в области оптической когерентной томографии (ОКТ), обеспечивающей наиболее высокое разрешение (до нескольких микрометров) при восстановлении томографических изображений [1]. Преимущества ОКТ заключаются в возможности получать изображение поперечного среза исследуемых тканей *in vivo* с высоким разрешением, т.е. обеспечивать неинвазивный и высокоточный метод исследования [2]. Основной особенностью ОКТ является исследование объектов и сред при глубине распространения оптического излучения до нескольких миллиметров в условиях значительного диффузного рассеяния и поглощения части оптического излучения. Именно эти обстоятельства требуют значительных усилий и использования современных математических методов обработки оптиче-

ских сигналов для восстановления изображений [3].

Традиционный путь повышения достоверности и информативности методов оптической когерентной томографии заключается в повышении пространственного разрешения [4], увеличении глубины визуализации тканей [5] и развитии быстрых алгоритмов обработки изображений [6]. Это позволяет получать качественные изображения с выделением слоев тканей [6-8], т.е. восстанавливать её топологию и строение. Фактически ОКТ обеспечивает анализ морфологии исследуемой биоткани в реальном режиме времени. Во многих практически интересных случаях в таких сферах медицины, как офтальмология и стоматология этого достаточно для постановки медицинского диагноза. Однако в таких областях медицины, как дерматология, гастроэнтерология и онкология, важным оказывается не только информация о расположении слоёв ткани в исследуемом объекте, но и данные о специфике этих слоёв, т.е. необходимо знать их биохимический состав, наличие тех или иных органелл в клетках, образующих данный слой биоткани. Особенно это

важно при мониторинге и диагностике кожных патологий, т.к. от этого зависит объём последующего хирургического вмешательства.

Целью настоящей работы является анализ возможных методов повышения информативности ОКТ при диагностике кожных патологий за счёт включения механизмов определения их специфичности.

Особенности диагностики кожных патологий

Узаконенный медицинский стандарт диагностирования онкологических патологий включает в себя визуальный осмотр, биопсию и гистологическое исследование патологии. Этот процесс является инвазивным, субъективным и отнимает много времени. Однако он позволяет извлечь часть материала исследуемой области и уже в ходе проведения химического анализа или в ходе микроскопического исследования понять, что за вещество содержится в рассматриваемой области объекта. Следовательно, данный вид диагностики является наиболее точным и используется в качестве эталонного в медицинских исследованиях. Недостатком биопсии является, прежде всего, инвазивность исследований, что в случае медицинских исследований новообразований кожи сопряжено с риском развития патологий в области проведения биопсии [9, 10]. Последнее фактически приводит к невозможности проведения биопсии и, следовательно, снижению информативности диагноза. Это требует поиска альтернативных путей инструментального определения специфики новообразования. Главным критерием выбора оптимального метода становятся неинвазивность метода и его информативность.

На сегодняшний день для определения специфики биологических тканей совместно или наряду с ОКТ используют такие методы, как поляризационный анализ, спектроскопия обратного рассеяния и флуоресцентная спектроскопия [11]. Данные методы показывают высокую точность диагностики, однако их использо-

вание также сопряжено с рядом трудностей. Поляризационный анализ подходит не для всех видов тканей, что делает его применение узкоспециализированным, а флуоресцентная спектроскопия в большинстве случаев требует при проведении анализа применения определённого вида флуорофоров, так как далеко не все биоткани и содержащиеся в них вещества способны флуоресцентно переизлучать поглощённое излучение. К тому же каждый конкретный тип флуорофора взаимодействует только с определённым видом биологических молекул, что предопределяет, в каких тканях будет накапливаться этот флуорофор. Это не только приводит к значительному увеличению времени флуоресцентного анализа, но и снижает его информационную ценность в случаях, когда исследуемая область не содержит веществ, способных накапливать флуорофоры, используемые при проведении анализа. В связи с этим область применения флуоресцентного анализа скорее связана не с диагностикой, а с методами фотодинамической терапии рака, где использование флуорофоров является неотъемлемой частью метода.

Применение метода спектроскопии обратного рассеяния базируется на особенностях в спектре обратного рассеяния, связанных с наличием в тканях тех или иных химических веществ, которые имеют полосы поглощения в разных участках спектра. Следовательно, выделяя провалы в спектре обратного рассеяния, можно обнаружить присутствие конкретного химического вещества. Однако за счёт уширения спектров поглощения и диффузного размытия (расплывания) рассеянного в биологической ткани излучения происходит перекрытие спектров поглощения различных химических компонент тканей. И точный спектральный анализ удаётся проводить только на относительно тонких слоях тканей либо только для отдельных химических компонент. Поэтому данный метод нашёл применение только для специфических заболеваний, например, для диагностирования рака молочной железы.

В целом же широкое применение данного метода для анализа специфичности заболевания затруднено.

В качестве альтернативного подхода для определения специфичности патологии могут быть рассмотрены методы рамановской спектроскопии [9,10]. Данный метод даёт информацию об особенностях локальной молекулярной структуры любой области в исследуемом объекте, при этом возможна реализация высокого пространственного разрешения (до 0.5 – 1 мкм). Линии КР-спектров настолько узки, что даже малые сдвиги частоты и изменения формы линий чётко фиксируются, позволяют различать разнообразные химические соединения, ответственные за полосы спектра. Однако интенсивность рамановского рассеяния относительно мала.

Следовательно, для детального исследования возможности эффективного динамического анализа тканей совместно с ОКТ следует провести математическое моделирование процесса взаимодействия излучения с кожей с учётом как спектральных особенностей рассеянного отражения, так и КР-спектров.

Моделирование рассеяния оптического излучения от кожных тканей

Исследование взаимодействия лазерного излучения с кожной тканью, содержащей патологию, было проведено в рамках математической модели, развитой в работах авторов [12, 13] в программной среде TracePro 4.1.2 Expert и модифицированной с целью учёта рамановского рассеяния излучения. Численные значения оптических коэффициентов выбирались на основании анализа экспериментальных данных работ [12, 15, 16] и экспериментальных данных по КР-спектрам кожи [17]. Форма патологических образований в коже выбиралась на основании анализа данных работы [14] и моделировалась в виде тел вращения (полусфера, цилиндр), характерный диаметр которых варьировался в диапазоне от 0.1 до 2 миллиметров.

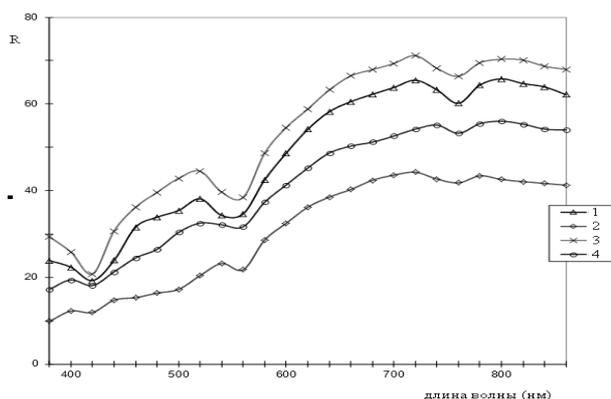


Рис. 1. Модельные спектры обратного рассеяния нормальной кожи и кожи с новообразованиями на поверхности:

- 1 – нормальная кожа,
- 2 – злокачественная меланома,
- 3 – базальноклеточная карцинома,
- 4 – карцинома

На рисунке 1 представлены данные моделирования спектральных характеристик нормальной кожи (кривая 1) по данным [17], кожи со злокачественной меланомой (кривая 2), кожи с базальноклеточной карциномой (кривая 3) и кожи с карциномой (кривая 4). Все новообразования на данном рисунке имели характерный размер 2 мм.

Видно, что модельные спектры имеют несколько ярко выраженных особенностей: в областях 400 – 420 нм, 520 – 560 нм и 720 – 760 нм. Данные особенности (пики поглощения кожи) связаны с присутствием в толще кожи и ее образованиях воды (максимум поглощения на 420 нм) и гемоглобина (максимумы поглощения на длинах волн 540, 560 и 760 нм). Моделирование спектров отражения в областях спектра для длин волн 880 нм и выше показало, что данный участок не несёт значительной информации о составе тканей кожи, поэтому далее анализировался только спектральный диапазон 380 – 860 нм.

Анализ отношений локальных экстремумов в модельных спектрах рассеяния (отражения) показывает, что для определения наличия новообразования в коже могут быть использованы отношения пиков на длинах волн 520 и 560 нм и 760 и 560 нм. Отношение интенсивностей

520/560 позволяет определить наличие образований: небольшие отклонения в 6 – 8 % по сравнению со здоровой кожей свидетельствуют о наличии новообразований (различные виды карцином), увеличение в отклонениях по сравнению со здоровой кожей до 15% и более свидетельствует о наличии злокачественных образований кожи (таких, как меланома). Отношение интенсивностей 720/760 оказывается малоинформативным для всех моделей кожи, содержащей различные типы опухолей: отличия по сравнению с нормальной кожей составляли не более 1,5 – 5 %, что является слишком малым значением для определения наличия патологии, так как данные различия имеют тот же порядок величины, что и характерные погрешности экспериментальных измерений. Для отношения 760/560 модельные спектры карцином по значениям практически совпадают с данными для нормальной кожи, поэтому использование данного отношения для диагностики карцином невозможно. Для меланомы отношение 760/560 превышает значение отношения для нормальной кожи на 10,8%, что делает возможным определение наличия в биоткани злокачественного образования.

Проведённый анализ спектральных особенностей кожи показывает, что для уверенной диагностики наличия в коже новообразований пригодными могут быть измерения дифференциальных сигналов в интенсивностях рассеяния на длинах волн 520 и 560 нм и 760 и 560 нм, соответственно. По отклонениям этих значений можно судить о присутствии того или иного новообразования. Данный факт, по всей видимости, связан с тем, что полоса поглощения 560 нм приходится на полосы поглощения гемоглобина, который присутствует в крови. Образование опухолей в коже вызывает значительный рост капилляров в области образования, что, в свою очередь, увеличивает и общее количество гемоглобина в исследуемом образце кожи.

Однако следует иметь в виду, что обратное рассеяние идёт из всей толщи

кожи, куда проникает излучение, и имеет достаточно широкую диаграмму, что не даёт возможности проводить точную локализацию новообразования.

Метод рамановской спектроскопии свободен от этих недостатков, т.к. наиболее интенсивное рамановское рассеяние наблюдается в области фокусировки излучения. В настоящей работе моделирование проводилось для случая использования для зондирования узкоспектрального (ширина полосы излучения менее 0.1 нм) лазерного излучателя на длине волны $\lambda=785$ нм. Характерные рамановские спектральные сдвиги для здоровой кожи и кожи со злокачественным образованием (меланомой) представлены на рис. 2.

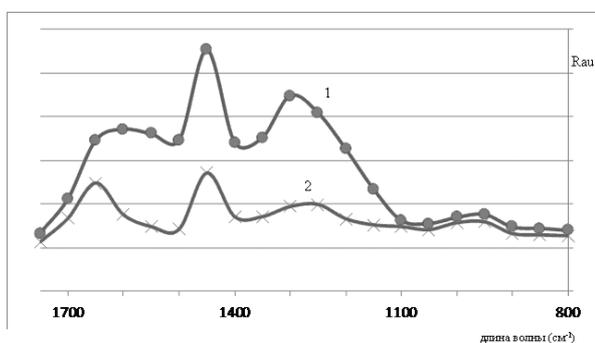


Рис. 2. Спектр рамановского сдвига при зондировании участка кожи, содержащего меланому (1), и нормальной кожи (2)

Анализ модельных данных позволяет выделить наиболее характерные пики рамановского смещения (1270 , 1450 и 1650 см^{-1}), на основании анализа которых можно определить наличие в кожной ткани патологии.

Отличия в величинах рамановского смещения в области 1650 см^{-1} для нормальной кожи и меланомы составляют около 40 %, в областях 1450 см^{-1} и 1270 см^{-1} – около 100%. Данные различия позволяют точно определить наличие злокачественного образования в исследуемом образце: существенная разница в величинах рамановского смещения позволяет делать однозначный вывод об изменениях в химическом составе биоткани. Так, полоса 1270 см^{-1} соответствует наличию в биоткани амида III, полоса 1300 – 1340 см^{-1} – наличию липидов, а полоса 1400 – 1470

см⁻¹ – уширению линий колебательных уровней $\delta(\text{CH}_2)(\text{CH}_3)$ в протеинах и липидах, входящих в состав злокачественных меланом. В работах [18, 19] предлагается использовать для диагностирования меланомы линии 940 см⁻¹, однако проведённые нами численные эксперименты этого не подтверждают: отличия по интенсивности рамановских пиков на данной линии для меланомы и нормальной кожи не превосходят 10 %.

В целом, проведённые численные исследования подтверждают однозначное превосходство метода рамановской спектроскопии по сравнению с методом дифференциального обратного рассеяния. Причем существенные различия в величинах интенсивности излучения рамановского рассеяния нормальной и патологически измененной кожи (не менее 40%) позволяют точно диагностировать наличие новообразования, не обращая особого внимания на погрешности при обработке экспериментальных данных.

Особенности совместного использования ОКТ и рамановской спектроскопии

Следует подчеркнуть две интересные особенности интегрированного применения ОКТ и методов рамановской спектроскопии. Прежде всего отметим, что рамановская спектроскопия сама по себе имеет достаточно высокое пространственное разрешение. Однако в силу того, что рамановский сигнал является очень слабым, требуется приложение больших усилий для его выделения на фоне шумов. Традиционно используемые в рамановской спектроскопии методы борьбы за уверенную регистрацию рамановского сигнала, основанные на использовании мощных зондирующих источников, не подходят для биомедицинских применений. В свою очередь, это ведёт к относительно низкой скорости обработки рамановского сигнала. Ситуация существенно изменяется при использовании методов рамановской спектроскопии совместно с ОКТ. Действительно, на основании анали-

за ОКТ изображения в реальном режиме времени возможно выделение слоёв тканей, т.е. макро-областей, в которых химический состав с большой вероятностью однороден или квазиоднороден.

В качестве примера на рис. 3 представлено ОКТ изображение нормальной ткани (а) и патологически изменённой ткани (б). Видно, что ткани имеют существенно разную структуру, и высокое разрешение ОКТ делает возможным выделение области патологии.

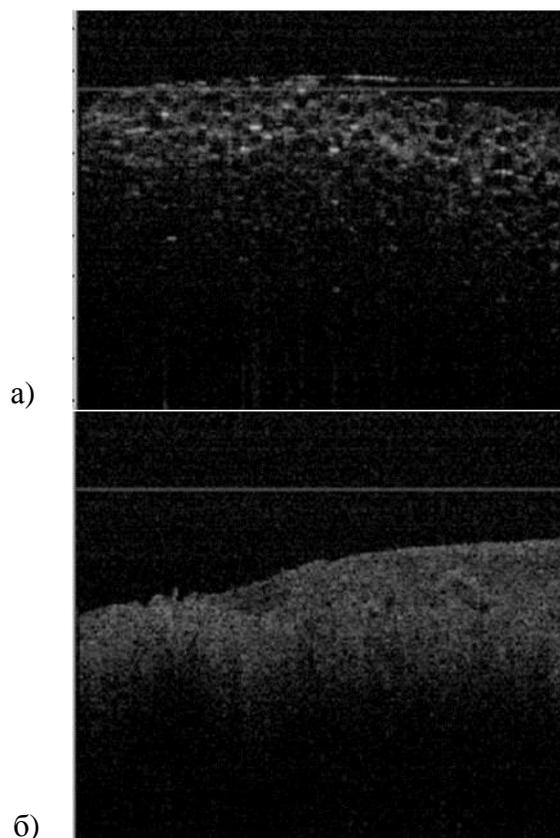


Рис. 3. ОКТ изображения нормальной ткани (а) и ткани с патологией (б)

Следовательно, достаточно провести анализ рамановского спектра только в одной или нескольких (для статистического усреднения) точках выделенной макро-области (патологического слоя), автоматически распространяя на всю область результат проведённого спектрального анализа. Это позволяет существенно уменьшить объём анализа рамановского спектра излучения и реализовать его в реальном режиме времени.

С другой стороны, применение ОКТ в онкологии без использования дополнительных методов химического анализа фактически делает данный метод рекомендательным, ибо специфичность новообразования только с помощью ОКТ установить невозможно. Следовательно, комплексирование ОКТ методом рамановской спектроскопии даёт принципиально новое качество данному методу. И в этом смысле можно говорить о многократном повышении эффективности ОКТ в области онкологических приложений.

Учитывая, что оба метода (оптическая когерентная томография и рамановская спектроскопия) являются оптическими, возможна их интеграция в единую систему.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке федеральной целевой программы "Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2013 годы".

Библиографический список

1. Zawadzki, R. J. Ultrahigh-resolution optical coherence tomography with monochromatic and chromatic aberration correction [Текст] / R. J. Zawadzki, B. Cense, Y. Zhang, S. S. Choi, D. T. Miller, J. S. Werner // *Optics Express*. – 2008. – №16(11). – С. 8126 – 8143.
2. Larina, I. V. Live imaging of rat embryos with Doppler swept-source optical coherence tomography [Текст] / I. V. Larina, K. Furushima, M. E. Dickinson, R. R. Behringer, K. V. Larin // *J. Biomed. Opt.* – 2009. – №. 14. – С. 505 – 506.
3. Yoo, J. Increasing the field-of-view of dynamic cardiac OCT via post-acquisition mosaicing without affecting frame-rate or spatial resolution. [Текст] / J. Yoo, I. V. Larina, K. V. Larin, M. E. Dickinson, M. Liebling / *Biomedical optics express*. – 2009. – Vol. 2, – No. 9. – С. 2614 – 2622.
4. Hitzenberg, C. Three-dimensional imaging of the human retina by high-speed optical coherence tomography [Текст] / C. Hitzenberger, P. Trost, Pak-Wai Lo, Q. Zhou // *Optics Express*. – 2003. – № 11(21). – С. 2753 – 2761.
5. Sayanagi, K. Comparison of Retinal Thickness Measurements Between Three-dimensional and Radial Scans on Spectral-Domain Optical Coherence Tomography [Текст] / K. Sayanagi, S. Sharma, P. K. Kaiser // *American Journal of Ophthalmology*. – 2009. – № 148(3). – С. 431 – 438.
6. Larin, K. V. Multiple-cardiac-cycle noise reduction in dynamic optical coherence tomography of the embryonic heart and vasculature [Текст] / S. Bhat, I. V. Larina, K. V. Larin, M. E. Dickinson, M. Liebling // *OPTICS LETTERS*. – 2009. – Vol. 34. -No. 23. – С. 3704 – 3706.
7. Garvin, M. Intraretinal Layer Segmentation of Macular Optical Coherence Tomography Images Using Optimal 3-D Graph Search [Текст] / M. Garvin, M. Abr`amoff, R. Kardon, S. Russell, X. Wu, M. Sonka // *IEEE Trans. Med. Imaging*. – 2008. – No. 27(10). – С. 1495 – 1505.
8. Mishra, A. Intra-retinal layer segmentation in optical coherence tomography images [Текст] / A. Mishra, A. Wong, K. Bizheva, D. A. Clausi // *Optics Express*. – 2009. – No. 17 (26). – С. 23719 – 23728.
9. Gniadecka, M. Melanoma Diagnosis by Raman Spectroscopy and Neural Networks: Structure Alterations in Proteins and Lipids in Intact Cancer Tissue [Текст] / M. Gniadecka, P. A. Philipsen, S. r Sigurdsson, S. Wessel, O. F. Nielsen, D. Christensen, J. Hercogova, K. Rossen, H. Thomsen, R. Gniadecki, L.Hansen, H. C. Wulf // *J Invest Dermatol*. – 2004. – No. 122. – С. 443 – 449.
10. Zhao, J. Real-time Raman spectroscopy for non-invasive skin cancer detection - preliminary results [Текст] / J Zhao, H, Lui // *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. – 2008. – С. 3107 – 3109.
11. Vermont, J. Fast fluorescence microscopy for imaging the dynamics of embryonic development [Текст] / J. Vermot, S. E. Fraser, and M. Liebling // *HFSP J*. – 2008. – No. 2. – С. 143 – 155.

12. Захаров, В. П. 3D визуализация многократно рассеивающих сред [Текст] / В. П. Захаров, А. Р. Синдяева // Компьютерная оптика. – 2007. – Т. 31. – № 4. – С. 44 – 52.

13. Захаров, В. П. Приближенный метод расчёта распределения энергии оптического излучения в многократно рассеивающих средах [Текст] / В. П. Захаров, И. А. Братченко // Компьютерная оптика. – 2008. – Т. 32. – № 4. – С. 370 – 375.

14. Mackie, R. M. Incidence and thickness of primary tumors and survival of patients with cutaneous malignant melanoma in relation to socioeconomic status [Текст] / R. M. Mackie, D. J. Hole // BMJ. – 1996. – Vol. 312. – С. 1125 – 1128.

15. Sterenborg, H. In vivo fluorescence spectroscopy and imaging of human skin tumors [Текст] / H. Sterenborg, M. Motamedi, R. F. Wagner, M. Duvic, S. Thomsen, S. L. Jacques // Lasers Med Sci. – 1994. – No 9. – С. 191 – 201.

16. Tuchin V. V. Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for

Medical Diagnosis // SPIE Tutorial Text in Optical Engineering, – 2000. – V2. – TT38.

17. Jacques, S. L. Origins of tissue optical properties in the UVA, Visible and NIR regions // Advances in optical imaging and photon migration – 1996. – V2. – С. 364 – 369.

18. Eikje, N. S. Vibrational spectroscopy for molecular characterisation and diagnosis of benign, premalignant and malignant skin tumors [Текст] / N. S. Eikje, K. Aizawa, Y. Ozaki // Biotechnol Annu Rev. – 2005. No 11. – С. 191 – 225.

19. Gniadecka, M. Melanoma Diagnosis by Raman Spectroscopy and Neural Networks: Structure Alterations in Proteins and Lipids in Intact Cancer Tissue [Текст] / M. Gniadecka, P. A. Philipsen, S. Sigurdsson, S. Wessel, O. F. Nielsen, D. H. Christensen, J. Hercogova, K. Rossen, H. K. Thomsen, R. Gniadecki, L. K. Hansen, and H. C. Wulf // J. Invest. Dermatol. – 2004. – Vol 122. – С. 443 – 449.

INCREASING THE INFORMATION CONTENT OF OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY SKIN PATHOLOGY DETECTION

© 2011 V. P. Zakharov¹, K. Larin², I. A. Bratchenko¹

¹Samara State Aerospace University
named after academician S. P. Korolyov (National Research University)
²University of Houston (USA)

A mathematical model of optical radiation interaction with skin tissues is constructed, which takes into account the effects of stimulated Raman scattering. On the basis of numerical experiments the features in the Raman scattering spectra are revealed to characterize skin abnormalities. The possibility of significant increase in information content for optical coherence tomography and Raman spectroscopy joint usage is shown. Recent improvement is achieved by significantly reducing the volume of diagnostic measurements during the tissue layers isolation with the help of OCT, followed by their analysis by Raman spectroscopy. Differences in Raman scattering intensities for abnormal and normal tissue layers are established, their values may differ by an amount of 40%.

Optical coherence tomography, pathological tissue, Raman spectroscopy, image processing, simulation.

Информация об авторах

Захаров Валерий Павлович, доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой радиотехнических устройств. Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С.П. Королёва (национальный исследовательский университет). Область научных интересов: лазерная физика и техника, физи-

ки плазма, оптика, биофотоника, медицинская лазерная техника. E-mail: zakharov@ssau.ru

Ларин Кирилл, доктор наук, профессор, директор лаборатории Биомедицинской оптики университета Хьюстон (США). Область научных интересов: биомедицинская оптика, биофотоника, оптическая когерентная томография. E-mail: klarim@uh.edu.

Братченко Иван Алексеевич, ассистент кафедры радиотехнических устройств. Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С.П. Королёва (национальный исследовательский университет). Область научных интересов: оптика, биофотоника, спектроскопия, математическое моделирование. E-mail: ud_liche@mail.ru.

Zakharov Valeriy Pavlovich, doctor of physical and mathematical sciences, professor, head of the radioengineering devices department, Samara State Aerospace University. E-Mail: zakharov@ssau.ru. Area of research: laser physics and engineering plasma physics, optics, biophotonics, medical lasers.

Larin Kirill, Ph.D., Professor, Director of Biomedical optics laboratory, the University of Houston (USA). E-Mail: klarim@uh.edu. Area of research: biomedical optics, biophotonics, optical coherent tomography.

Bratchenko Ivan Alekseevich, assistant of the radioengineering devices department, Samara State Aerospace University. E-Mail: ud_liche@mail.ru. Area of research: optics, biophotonics, spectroscopy, mathematical modeling.