

Определение количественных и качественных показателей гемомикроциркуляции переднего сегмента глаза по результатам неинвазивной аппликационной флюоресцентной ангиографии

И.А. Гндоян¹, В.А. Федосеев², А.В. Петраевский¹, М.Ю. Денисенко¹

¹Волгоградский государственный медицинский университет, пл. Павших Борцов 1, Волгоград, Россия, 400066

²Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Московское шоссе 34А, Самара, Россия, 443086

Аннотация. Неинвазивная аппликационная флюоресцентная ангиография переднего сегмента глаза позволяет получить ценную информацию о состоянии капиллярно-веноулярного звена гемомикроциркуляции переднего сегмента глаза при воспалительных и дистрофических заболеваниях глаза. Однако при обработке результатов данного исследования применяется визуальная оценка количественных (число функционирующих периферических и прелимбальных венул, скорость их заполнения красителем) и качественных (наличие и выраженность экстравазальной гиперфлюоресценции красителя) показателей. Такой подход приводит к неточностям и потере части информации. Кроме того, интерес представляет получение данных об общей площади микроциркуляторного русла, который невозможно получить «ручным» способом. Повышения точности оценки результатов исследования и его информативности можно добиться при использовании цифровой обработки изображений. Она включает в себя сегментацию кровеносных сосудов, скелетонизацию, оценку ширины сосуда и расчет полученных показателей.

1. Введение

Флюоресцентная ангиография (ФАГ) остается одним из наиболее информативных способов исследования в офтальмологии, поскольку она позволяет получить важные количественные и качественные показатели, характеризующие гемомикроциркуляцию в различных региональных бассейнах кровоснабжения глазного яблока [1,2,4,6,7]. Оценка таких показателей особенно интересна при глазных заболеваниях, в патогенезе которых васкулярный фактор является ведущим.

«Классический» вариант ФАГ заключается во внутривенном введении раствора красителя (чаще всего – флюоресцеина натрия) и последующей фотосъемке с установленными на снимающей аппаратуре светофильтрами (возбуждающим флюоресценцию и барьерным). Однако данный способ является инвазивным и может привести к целому ряду возможных осложнений, таких как аллергические реакции (в том числе – анафилактический шок), сердечно-сосудистые нарушения, тошнота, рвота и т.д. К методическим недостаткам исследования переднего сегмента глаза (ПСГ) можно отнести эффект «наслаивания»

светящихся сосудов бульбарной конъюнктивы и эписклеры друг на друга, связанный с практически одномоментным поступлением флюоресцеина в сосудистое русло глаза, что затрудняет интерпретацию результатов. Кроме того, для изучения степени функционирования сосудистого русла ПСГ и точного понимания характера возможных гемомикроциркуляторных нарушений необходимо раздельное исследование сосудов, происходящих из разных источников.

Для этой цели были разработаны способы исследования кровообращения ПСГ, представляющие варианты локальной неинвазивной ФАГ [2,4,5]. Данные способы позволили реализовать локальное введение флюоресцеина в кровеносные микрососуды бульбарной конъюнктивы неинвазивным, неинъекционным путем: посредством аппликации носителя контраста в непосредственной близости от магистральных сосудов ПСГ – передних цилиарных артерий [4] или в промежуточной зоне бульбарной конъюнктивы, где краситель проникает в капилляры путем диффузии [2,5]. В указанных модификациях ФАГ была получена возможность раздельного исследования микрососудов, происходящих из разных источников, поскольку их заполнение происходило постепенно, без «перекрытия» микроциркуляторных русел [2,5]. Модификация ФАГ с использованием аппликатора в промежуточной зоне представляется особенно привлекательной как во взрослой, так и в педиатрической офтальмологии ввиду простоты её выполнения, абсолютной неинвазивности и достаточно высокой информативности. Однако данная методика не лишена технических несовершенств.

2. Методические аспекты выполнения неинвазивной аппликационной флюоресцентной ангиографии переднего сегмента глаза, обследованные пациенты.

Съёмка проводится на фундус-камере (в нашем случае –TopconMarkII, Япония), которая предназначена для ФАГ как глазного дна, так и ПСГ. Наличие сбалансированных светофильтров и системы фиксации временных параметров исследования даёт возможность получать серийные черно-белые флюоресцентные ангиограммы высокого качества, сохраняющиеся в архиве базы данных аппарата.

В процессе съёмки выполняется три контрольных кадра исследуемой зоны до укладки аппликатора: один в цветном варианте, один в черно-белом с использованием зелёного светофильтра (бескрасный свет) и один с использованием светофильтров для ФАГ с целью выявления возможных участков аутофлюоресценции, предсуществование которых могло бы усложнить правильную интерпретацию ангиограмм. Серийная съёмка начинается в среднем на 2-ой – 4-ой секундах с момента укладки аппликатора. Появление красителя в венулах с предельной четкостью визуализируется на экране компьютера. Интервал между кадрами составляет 1-2 с в течение первых 40-45 с, затем становится несколько реже (1 кадр в 2-3 с). По аналогии с внутривенной ФАГ съёмка ведётся в среднем до 3 мин., максимально – до 5 мин. Интервал между кадрами на последних 1-1,5 минутах составляет 5-6 с.

Неинвазивная ФАГ была проведена 30 лицам (41 глаз) в возрасте 22-58 лет без явной офтальмопатологии и выраженных системных заболеваний, в их числе было 9 мужчин и 21 женщина.

3. Показатели, характеризующие микроциркуляцию бульбарной конъюнктивы по данным неинвазивной аппликационной флюоресцентной ангиографии

В первую очередь оценивались временные параметры, особенности ангиоархитектоники заполненного флюоресцеином микроциркуляторного русла в целом, а также состояние отдельных сосудов, в первую очередь магистральных, проницаемость сосудов по отношению к флюоресцеину. Все показатели оценивались отдельно для периферической и прелимбальной зон.

На данный момент для задач диагностики мы рассматриваем такие параметры, получаемые ручным методом, как:

- t_1 - время с момента укладки аппликатора до появления красителя в венулах («аппликатор-венулы»);

- t_2 - отрезок времени с момента укладки до максимального заполнения венул каждой из двух анализируемых зон;
 - t_3 - продолжительность венолярной фазы в обеих зонах (разность t_2-t_1);
 - t_4 - начало феномена экстравазальной гиперфлюоресценции.
- В таблице 1 приведены значения этих параметров, полученные у здоровых лиц.

Таблица 1. Показатели микроциркуляции бульбарной конъюнктивы по данным аппликационной ФАГ у здоровых лиц, $M \pm m$.

Показатели	Исследуемая зона	
	Периферическая	Прелимбальная
Время «аппликатор-венулы» t_1 , с	22,5±1,2	28,2±2,4
Время максимального заполнения венул t_2 , с	93,9±3,9	99,7±4,9
Продолжительность венолярной фазы t_3 (t_2-t_1), с	67,6±4,0	73,2±4,8
Количество магистральных венул	5,3±0,3	3,8±0,3
Калибр магистральных венул, мм	0,038±0,002	0,032±0,001
Экстравазальная гиперфлюоресценция,		
- наличие; число глаз (%)	15; 36,6	8; 19,5
- начало экстравазации t_4 , с	126,2±11,8	136,2±9,4
Интенсивность экстравазации; число глаз (%)		
- слабая	10; 66,7	6; 75
- средняя	5; 33,3	2; 25
- интенсивная	–	–

Имеющаяся в используемой фундус-камере «Торсон Mark II» система количественных измерений позволила по полученным флюоресцентным ангиограммам провести калибromетрию как периферических, так и прелимбальных венул (рисунок 1). Измерение проводилось после формирования ствола венулы, исходящей из промежуточной капиллярной зоны.

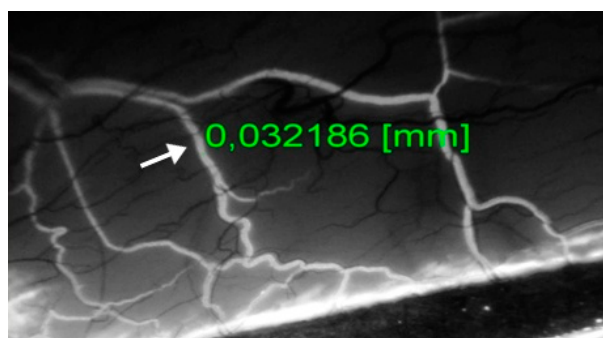


Рисунок 1. Калибromетрия периферической венулы, выполненная «линейкой-измерителем» фундус-камеры.

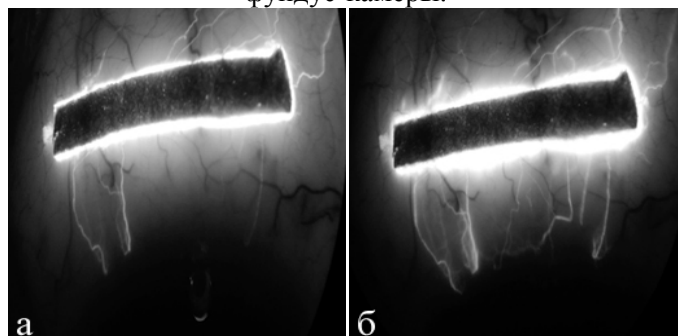


Рисунок 2. Экстравазальная гиперфлюоресценция слабой степени: а) $t=43,4$ с – флюоресцеин заполнил прелимбальную сосудистую сеть; б) $t=106,6$ с – отмечается слабая степень просачивания из прелимбальных венул.

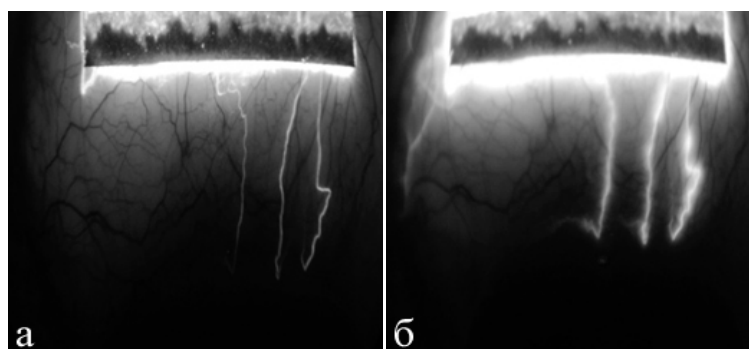


Рисунок 3. Экстравазальная гиперфлюоресценция умеренной степени: а) $t=46,9$ с – флюоресцеин заполнил прелимбальную сосудистую сеть; б) $t=173,4$ с – идёт экстравазация красителя, местами носящая «гнездный» характер.

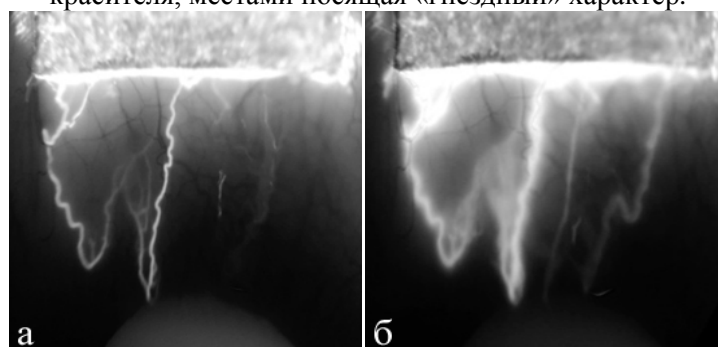


Рисунок 4. Интенсивная экстравазальная гиперфлюоресценция в прелимбальной венозной сети: а) $t=36,6$ с – флюоресцеин заполнил прелимбальные вены; б) $t=126,0$ с – идёт выраженная экстравазация красителя.

Ангиоархитектоника заполненного флюоресцеином микроциркуляторного русла оценивалась по количеству магистральных венул, их калибру, полноте заполнения последующих фрагментов вплоть до эписклеральной венозной сети.

На флюоресцентных ангиограммах, выполненных при помощи аппликационной неинвазивной ФАГ, не было «эффекта наложения» друг на друга флюоресцирующих сосудов, расположенных в разных слоях конъюнктивы и эписклеры, как при обычной внутривенной ФАГ ПСГ. Это в значительной степени усиливало контрастирование исследуемых сосудов, повышая достоверность оценки их калибра.

Важным показателем, характеризующим состояние микроциркуляции при ФАГ ПСГ, является экстравазальная гиперфлюоресценция, представляющая собой единственный клинически достоверный показатель состояния проницаемости сосудистой стенки [6,7]. При описании «классической» ФАГ бульбарной конъюнктивы чёткой информации о состоянии этого показателя в отношении прелимбальной и периферической венозной систем в литературе не отмечено, что связано с довольно быстрым прокрашиванием склеры, затрудняющим детальную интерпретацию ангиограмм на поздних фазах исследования. На этот факт указывали авторы, подробно разрабатывавшие ФАГ ПСГ [1,3]. Оценить в полной мере эту фазу при «классической» ФАГ бульбарной конъюнктивы не представляется возможным. При неинвазивной аппликационной ФАГ исключается экранирующий эффект ранней эписклеральной фоновой флюоресценции, что позволяет в достаточной степени оценить состояние проницаемости стенки венозных сосудов бульбарной конъюнктивы. Для оценки выраженности экстравазации красителя мы выделили три степени: слабую, умеренную и интенсивную. При слабой степени диаметр распространения экстравазата вокруг сосуда был меньше диаметра сосуда с каждой из сторон (рисунок 2), при умеренной – соответствовал этому диаметру или немного превышал его (рисунок 3), при интенсивной – превышал этот диаметр в 2-3 раза и более (рисунок 4).

Переходя к техническим недостаткам и сложностям выполнения неинвазивной аппликационной ФАГ, следует отметить полностью ручной, достаточно трудоёмкий способ обработки флюоресцентных ангиограмм, вносящий в оценку определённую долю субъективизма и неточности, а также невозможность оценки общей площади функционирующего микроциркуляторного русла, что является наиболее интересной и важной характеристикой капиллярно-венулярной гемомикроциркуляции ПСГ. Для решения этой задачи были использованы методы анализа изображений, чему посвящено содержание следующего раздела.

4. Методика оценки количественных показателей гемомикроциркуляции при помощи математических методов обработки изображений

Ввиду объективной сложности оценивания ряда показателей гемомикроциркуляции вручную, большую значимость представляет собой разработка автоматизированных методов, основанных на анализе серии изображений ПСГ. Подобный анализ невозможен без решения задачи выделения сосудистой сети на отдельном изображении и оценивания её численных параметров. Именно эта задача рассматривается в рамках настоящей работы.

Как видно на рисунках 2-4, в окрестности аппликатора возникает серьёзная засветка, которая не связана со структурой сети сосудов и уменьшается по мере удаления от аппликатора. Поэтому в первую очередь необходимо определить координаты углов аппликатора и выполнить геометрическое преобразование изображения, чтобы аппликатор был расположен строго горизонтально. На начальном этапе работы координаты углов определялись вручную оператором, однако в перспективе эта работа может быть выполнена автоматически. Далее отдельно рассматриваются части изображения, расположенные сверху и снизу от аппликатора. Для подчёркивания подсвеченных сосудов на меняющемся по интенсивности фоне выполнялась локальная нелинейная обработка: изображение обрабатывалось медианным фильтром в окне высотой 1 и шириной, в несколько раз превышающей ширину сосудов, после чего полученный результат вычитался из исходного изображения (см. рисунок 5а-б).

Далее для полученного изображения выполнялась фильтрация ориентированными вещественными фильтрами Габора для подчёркивания контуров сосудов и выделения их на фоне шумов. Данная технология в основном повторяет метод [8], предложенный для улучшения качества дактилоскопических изображений. На первом шаге выполняется построение локального поля направлений путём сглаживания изображения гауссовским окном, отыскания численных производных в ортогональных направлениях и расчёта ковариационной матрицы [8]. На рисунке 5в стрелками проиллюстрировано построенное поле направлений на сетке прореженных отсчётов изображения. Далее изображение глаза обрабатывается направленными фильтрами, причём направление фильтра в каждой точке соответствует значению поля направлений в этой точке. Такой подход позволяет лучше подчеркнуть линии сосудов. В качестве направленных фильтров использовались симметричные вещественные фильтры Габора, импульсная характеристика которых представляет собой произведение косинуса на функцию Гаусса [9]. Период функции косинуса определялся исходя из частотных характеристик изображения ПСГ, радиус пятна размытия задавался пользователем. Пример результата данной обработки представлен на рисунке 5г. По сравнению с 5а на нём выровнен по яркости фон, снижено влияние шумов, подчёркнуты контуры сосудов.

На следующей стадии полученное в результате фильтрации изображение переводится в бинарное, чтобы отделить кровеносные сосуды от фона. Для этого выполняется преобразование изображения к негативному и последующее применение процедуры локальной адаптивной пороговой обработки [10]. Суть этой процедуры состоит в расчёте локального среднего в скользящем окне размером $M \times M$ и сравнении значения каждого пикселя с найденным средним за вычетом параметра C , значение которого определяется пользователем. Вычитание константы позволяет отбелить область фона, а локальное среднее – устранить возможные локальные вариации интенсивности. Результат применения данной процедуры с параметрами $M=8$ и $C=1$ отражён на рисунке 6а.

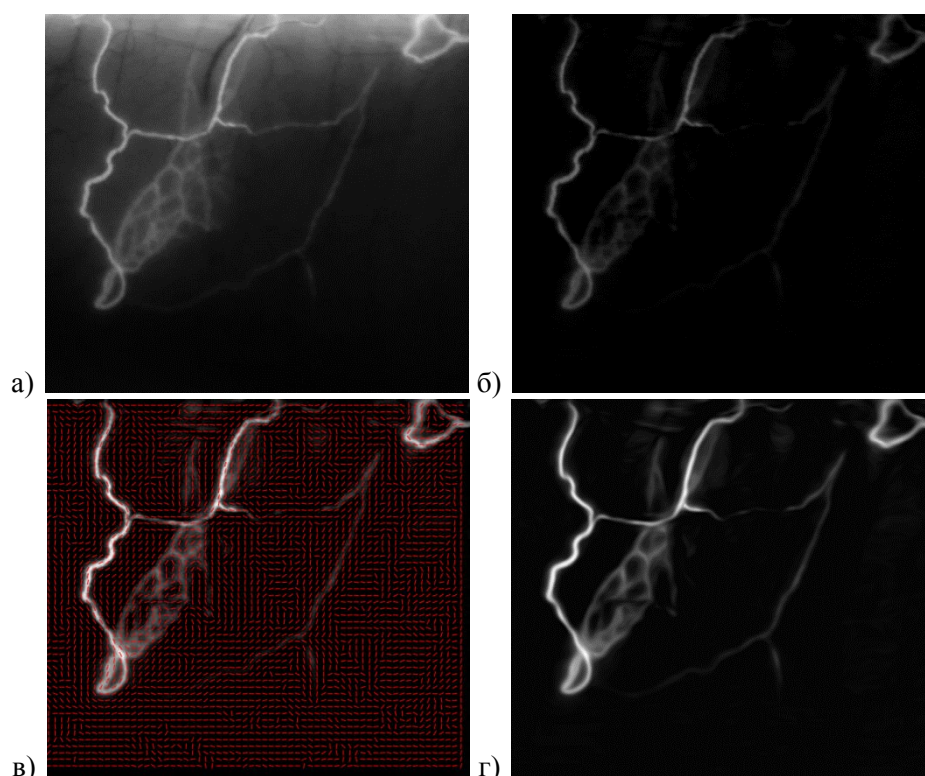


Рисунок 5. Стадии обработки фрагмента изображения ПСГ: а) исходное изображение, б) результат выравнивания фона, в) визуализация рассчитанного поля направлений, г) результат обработки ориентированными фильтрами.

Целью дальнейшей обработки является зачистка полученного бинарного изображения от шумов и нежелательных объектов. Для этого могут применяться:

- удаление связных объектов менее заданной площади (для зачистки от шумов);
- удаление тонких линий (толщина которых меньше допустимой толщины сосудов);
- удаление объектов, форма которых нехарактерна для кровеносных сосудов (непротяжённые объекты большой толщины);
- восстановление разрывов линий;

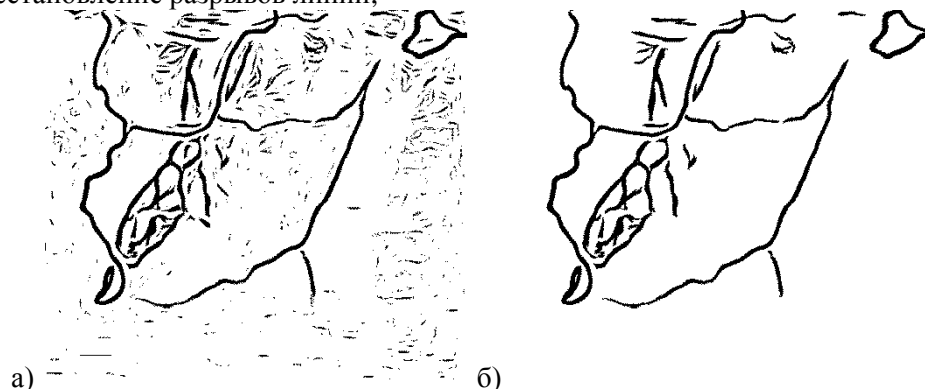


Рисунок 6. Стадии обработки фрагмента изображения ПСГ: а) результат адаптивной бинаризации, б) результат фильтрации бинарного изображения.

Для этого применялись морфологические методы обработки изображений, в частности, выделение и анализ связных областей, морфологические фильтры, расчёт морфологического расстояния и пр. На рисунке 7 показано окно исследовательского программного обеспечения,

разработанного в Самарском университете и использованного для выполнения данного этапа обработки. Результат обработки представлен на рисунке 6б.

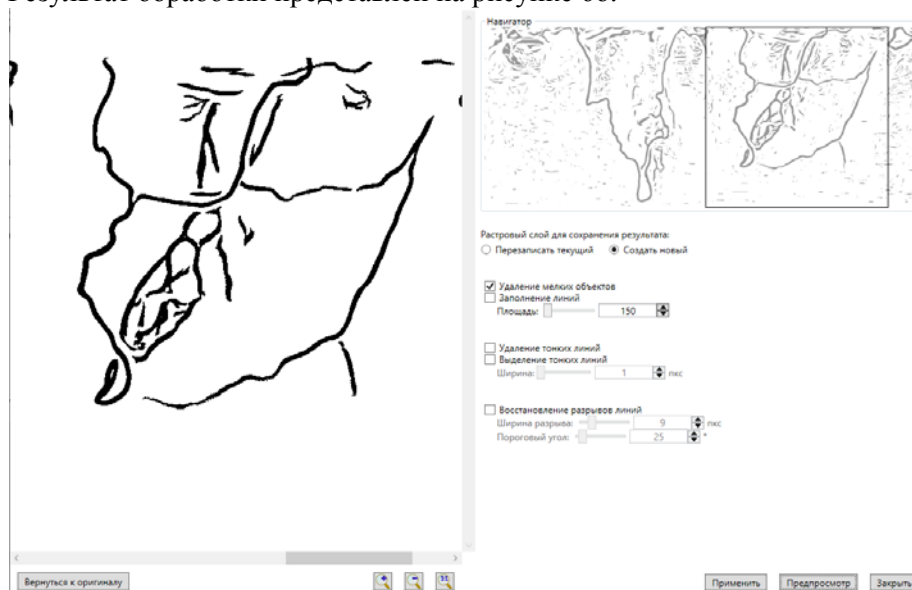


Рисунок 7. Окно исследовательского программного обеспечения в режиме выбора опций морфологической фильтрации бинарного изображения.

С учётом знания размеров аппликатора (15×1 мм) такое изображение позволяет оценить суммарную площадь подсвеченных сосудов. Так, для изображения на рисунке 6б площадь составила 2,699 мм².

На рисунке 8 представлен результат скелетизации изображения на рисунке 6б, при помощи которого можно оценить суммарную длину выделенной сети сосудов. Она составила 44,293 мм. Помимо этого, в диагностических целях могут использоваться и другие показатели, характеризующие количество крупных сосудов, среднюю длину подсвеченной части сосудов, разветвлённость сосудистой сети. Эффективность подобных характеристик для диагностики состояния глаза может быть выявлена лишь по результатам анализа большого числа изображений и сопоставления рассчитанных значений с известными доктору характеристиками состояния пациента. Данный анализ является предметом дальнейшей работы.



Рисунок 8. Результат скелетизации сосудистой сети изображения ПСГ.

5. Заключение

В настоящей работе рассмотрен метод неинвазивной аппликационной флюоресцентной ангиографии переднего сегмента глаза, показано, что изобразительные данные, регистрируемые в процессе ангиографии имеют высокий диагностический потенциал. Описана процедура обработки изображений переднего сегмента глаза, позволяющая очистить

изображение от шумов, улучшить визуальную различимость сосудистой сети и рассчитать её численные характеристики. В дальнейшем планируется перейти к анализу разновременных изображений, а также исследованию эффективности характеристик, измеряемых методами компьютерной обработки изображений, для оценки состояния глаза.

6. Благодарности

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 19-07-00357 а). В исследованиях использованы исследовательские реализации некоторых методов, разработанные Peter Kovesi [11].

7. Литература

- [1] Бунин, А.Я. Микроциркуляция глаза / А.Я. Бунин, Л.А. Кацнельсон, А.А. Яковлев – М.: Медицина, 1984. – 176 с.
- [2] Гндоян, И.А. Состояние гемоперфузии переднего сегмента глаза и пути коррекции ее нарушений при офтальмопатологии: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук / И.А. Гндоян – М., 2014. – 49 с.
- [3] Никольская, В.В. Флюоресцеинангиографические исследования переднего сегмента глаза при некоторых общих сосудистых заболеваниях: Автореф. дис... канд. мед. наук / В.В. Никольская – М., 1981. – 20 с.
- [4] Петраевский, А.В. Исследование кровообращения переднего сегмента глаза, его клиническое значение: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук / А.В. Петраевский – М., 2004. – 45 с.
- [5] Петраевский, А.В. Аппликационная флюоресцентная ангиография: новый способ исследования гемомикроциркуляции переднего сегмента глаза / А.В. Петраевский, И.А. Гндоян // Вестник офтальмологии. – 2014. – № 2. – С. 12-19.
- [6] Федоров, С.Н. Флюоресцентная ангиография и ее роль в офтальмологии / С.Н. Федоров, В.Я. Кишкина, А.Н. Семенов – М.: МНТК «Микрохирургия глаза», 1993. – 302 с.
- [7] Тахчиди, Х.П. Флюоресцентная ангиография в офтальмохирургии / Х.П. Тахчиди, В.Я. Кишкина, А.Д. Семенов, Ю.И. Кишкин – М., 2007. – 312 с.
- [8] Hong, L. Fingerprint image enhancement: Algorithm and performance evaluation / L. Hong, Y. Wan, A.K. Jain // IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence. – 1998. – Vol. 20(8). – P. 777-789.
- [9] Movellan, J. Tutorial on Gabor Filters / J. Movellan // Technical report, MPLab Tutorials – University of California, San Diego, 2005.
- [10] Gonzalez, R.C. Digital Image Processing / R.C. Gonzalez, R.E. Woods – Pearson, 2020.
- [11] Kovesi, P. MATLAB and Octave Functions for Computer Vision and Image Processing Site [Electronic resource]. – Access mode: <http://www.csse.uwa.edu.au/~pk> (11.03.2020).

Determination of quantitative and qualitative indicators of hemomicrocirculation of the anterior eye segment according to the results of non-invasive application fluorescein angiography

I.A. Gndoyan¹, V.A. Fedoseev², A.V. Petrayevsky¹, M.Yu. Denisenko¹

¹Volgograd State Medical University, Pavshikh Bortsov Sq. 1, Volgograd, Russia, 400131

²Samara National Research University, Moskovskoe Shosse 34A, Samara, Russia, 443086

Abstract. Non-invasive application fluorescein angiography of the anterior eye segment provides valuable information about the capillaries and venules hemomicrocirculation of the anterior eye segment in inflammatory and dystrophic ocular diseases. This information includes some quantitative (the number of functioning peripheral and prelimbal venules, the time vessels of the complete filling with the dye) and qualitative (the presence and great of extravasal hyperfluorescence) indicators. However, these indicators are usually assessed visually from digital images. This approach leads to inaccuracies and loss of the important information. In addition, some indicators (for example, the total area of the microvascularization) cannot be obtained "manually." Thus, in this paper, we propose a digital image processing technique aimed to evaluate such parameters. It includes blood vessels segmentation, skeletonization, vessel width estimation, and calculation of the resulting indicators.