

基于裂隙灯的眼微血管形态学参数分析在眼科疾病诊断的应用

王耿媛, 赖官铨, 段铮昱, 骆仲舟, 黄远聪, 林伟峰

中山大学中山眼科中心, 广东 广州 510060

【摘要】目的:实现眼微血管分析系统及其在结膜眼病等的应用研究。**方法:**将高速摄像头与视频采集卡等数字图像采集装置集成到标准裂隙灯平台上,开发一种临床友好型多功能眼表微血管成像平台;研发图像分析软件对时差影像解析和图像分形分析,对血管形态学包括血管形态改变及密度、复杂程度进行分级定量。**结果:**整套系统功能完备、工作稳定,建立快速分析结膜微血管血流参数及血管形态参数分析模型,可分析患者致病因素与微血管功能的相关性。**结论:**血管网络的分形、形态学和人体结膜血流动力学可以使用功能性裂隙灯生物显微镜轻松可靠地测量。分形维数差别可能反应一定的疾病,进行非接触性指标和分析,探讨检测指标的特异性和敏感性,对眼科微血管功能相关疾病及全身疾病的诊断均具有重要意义。

【关键词】功能性裂隙灯生物显微镜;眼表微血管;结膜;分形维数;图像处理

【中图分类号】R318.51;R770.4

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2018)03-0323-04

Application of morphological parameters analysis of ophthalmic microvasculature based on slit lamp in the diagnosis of ophthalmic diseases

WANG Gengyuan, LAI Guanquan, DUAN Zhengyu, LUO Zhongzhou, HUANG Yuancong, LIN Weifeng

Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China

Abstract: Objective To develop the analysis system of ophthalmic microvasculature and explore its application in conjunctival ophthalmopathy. **Methods** A friendly clinical multifunctional ophthalmic microvascular imaging platform was developed by integrating digital image acquisition device including high-speed camera and video capture card into standard slit lamp on the platform. The image analysis software was used for analyzing the images and image fractal difference, and quantitatively classifying vascular morphology including vascular morphology, density and complexity. **Results** The whole system was fully functional and stable. A model for the rapid analysis of blood flow parameters and morphological parameters of blood vessels was established, and the correlation between the pathogenic factors and microvascular functions was analyzed. **Conclusion** The fractal, morphological, and human conjunctival hemodynamics of the vascular network can be easily and reliably measured using functional slit lamp biomicroscope. The differences in fractal dimension may reflect certain diseases. Measuring and analyzing non-contact detection indicators, and discussing the specificity and sensitivity of detection indicators are of great importance in the ophthalmic diagnosis of microvascular function-related diseases and systemic diseases.

Keywords: functional slit lamp biomicroscope; ophthalmic microvasculature; conjunctiva; fractal dimension; image processing

前言

世界卫生组织(WHO)统计资料(<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs282/zh/>)显示,世界范围内视力受损的人数约为2.85亿。眼科疾病已成为危害人类健康及生存质量,继肿瘤、心血管疾病之后

的第3位疾病。眼球作为结构精密的光学器官,主要由屈光间质和血管网系统构成。眼表和眼底均含有丰富的微动脉、微静脉,在结膜的小动脉与小静脉间有很多网状分支的毛细血管。眼组织的慢性炎症释放的炎症因子可导致毛细血管网中的血流速度增加及扩张,因此微血管功能可作为眼表炎症强烈程度的客观量化指标。不仅如此,眼的血管供应大部分来源于颈内动脉分支,它的血流速度变化在一定程度上可以反应颅内血管状态,因而观察球结膜微循环改变,可为研究脑血管、心血管、血液病、肾病及糖尿病等疾病的发病机理、病情进展及判断治疗效果

【收稿日期】2017-10-13

【基金项目】国家重点研发计划(2017YFC0112400)

【作者简介】王耿媛,硕士,研究方向:智能医学仪器研发及改进、图像分析及软件开发,E-mail: zbwgy@qq.com

等提供重要依据。虽然眼微血管功能是反应眼表炎症和全身微血管病变的潜在指标,但是眼表微血管研究一直进展缓慢,其原因在于缺乏非侵入性的人体微小毛细血管功能评估和分析方法。2007年Duench^[1]和Koutsiaris等^[2]测量人球结膜静脉的血流速度。2008年Owen等^[3]通过自动化计算机运算法分析数字化的red-free结膜成像所得的血管轴,从而分析球结膜血管的弯曲度。2009年Cheung等^[4]通过CAIM(Computer-assisted Intravital Microscopy)获取结膜微血管图片,同时结合严重指数相关标准评分分析结膜微血管形态学异常。然而,由于技术水平的局限,迄今为止仍缺乏同时测量球结膜微血管的复杂分布和它的血流动力学参数来分析眼表炎症程度的系统性研究。我们团队近年来成功研发了基于裂隙灯系统的眼前段血流分析系统,使其得到额外的光学放大倍数,清晰获取结膜微血管中血流影像和血管分布地形图,该系统首次实现了同时进行球结膜微血管形态及微循环血流动力学的定量分析,为眼微血管功能研究奠定了前提和基础。眼微血管功能分析技术有望成为检测、诊断、评估、随访眼部及全身微循环病变的全新平台。

1 基于裂隙灯平台的眼微血管系统

本项目组于2013年在世界上首次成功建立基于功能性裂隙灯生物显微镜(Functional Slit Lamp Biomicroscope, FSLB)的眼表血流分析系统^[5],该系统具有非接触,实时、快速获取高清晰度和高分辨率球结膜血管形态及血流图像的功能^[2,6-8]。通过项目组研发的分析软件可定量分析结膜血流的轴向流速、横截面流速、流率等指标^[9-11];可自动生成非侵入性球结膜微血管灌注图(Non-invasive Capillary Perfusion Mappings, nCPMs)^[12],进行结膜血管密度及血管复杂程度的定量分析。该系统首次实现了同时进行球结膜微血管形态及微循环血流动力学的定量分析,从而开启了眼微血管研究的新思路。

该系统包括分光装置和用于接受成像内容的高速摄像机,分光装置包括示教镜和光路镜筒,高速摄像机接受光路镜筒光信号采集眼微血管图像,处理工作站包括基于高性能计算机运行图像分析软件处理摄影装置采集的图像信号,从而实现眼部微血管功能性分析。

高分辨率快速相机对焦点大幅增加至45点,且全点支持高精度十字型对焦。视野率约100%的光学取景器,让被摄体的捕捉更加稳健。DIGIC 6数字影像处理器和有效像素约2 420万的CMOS图像感应

器相辅相成提升画质。最高分辨率可到6 000×4 000。快门速度最高约为1/8 000 s,最高连拍速度达7张/s,为高速连拍提供支持的新型反光镜振动控制系统。通过特殊设计的光路系统,血红细胞将被清晰地显示在相机屏幕中,以60 p全高清录像,记录视野中每个血红细胞的移动轨迹。

2 眼表微血管形态学参数计算

2.1 微血管图像预处理

眼结膜微血管具有横截面呈高斯分布、局部弯曲度较小呈线状、视盘主曲线呈抛物线等特征,这些特征不随图像病灶、纹理而改变,因此可以针对球结膜显微图像血管的这些特征,选择合理的血管提取方法。

结膜微血管图像存在较复杂的噪声成分,主要为统计噪声,包含高斯噪声与椒盐噪声^[13-15]。高斯噪声和椒盐噪声使得球结膜中细小的血管细节丢失,影响对图像数据分析及参数计算。因此,去除结膜图像的噪声是微血管形态及血流参数测量的一项重要任务。使用传统的去噪声方法,如高斯滤波及中值滤波可以去除部分噪声,之后通过限制对比度的自适应直方图均衡增强图像对比度。

高斯噪声在空间域和频域中,高斯随机变量 Z 定义为:

$$P(z) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left[-(z-\mu)^2/2\sigma^2\right] \quad (1)$$

其中, z 表示灰度值, μ 表示 z 的平均值或期望值, σ 表示 z 的标准差。当 z 服从上述分布时,其值有95%落在 $[(\mu-2\sigma), (\mu+2\sigma)]$ 范围内。

中值滤波器是一种常用的非线性平滑滤波器,基本原理是将数字图像或数字序列中某点的值用该点邻域内各点的中值代换。设 $f(x,y)$ 表示数字图像像素点 (x,y) 的灰度值,滤波窗口为 A 的中值滤波器可以定义为:

$$f^*(x,y) = \text{MED}_{(x,y) \in A} \{f(x,y)\} \quad (2)$$

当 n 为奇数时, n 个数 x_1, x_2, \dots, x_n 的中值就是按数值大小顺序处于中间的数;当 n 为偶数时,定义两个中间数平均值为中值。

对比度受限自适应直方图均衡法通过限制局部直方图的高度来限制局部对比度的增强幅度,从而限制噪声的放大及局部对比度的过增强。对比度增强可以定义为灰阶映射函数的斜率,当设定滑动窗口大小为 $M \times M$,则局部映射函数为:

$$m(i)x = \frac{255 \times \text{CDF}(i)}{M \times M} \quad (3)$$

其中 $CDF(i)$ 为滑动窗口局部直方图的累积分布函数,其导数为直方图 $Hist(i)$,那么局部映射函数 $m(i)$ 的斜率 S 为:

$$s = \frac{d(m(i))}{di} = Hist(i) \times \frac{255}{M \times M} \quad (4)$$

若限定最大斜率为 S_{\max} ,则允许的最大直方图高度为:

$$H_{\max} = S_{\max} \times \frac{M \times M}{255} \quad (5)$$

改进后的直方图为:

$$Hist'(i) = \begin{cases} Hist(i) + L, & Hist(i) < T \\ H_{\max}, & Hist(i) \geq T \end{cases} \quad (6)$$

眼结膜微血管图像采集,采用光源照射之后采集光反射光成像。固定光源在照射眼球时,由于眼球为圆形球体,靠近光源部分表现为亮,离光源较远的表现为暗,这种光照不均会影响结膜微血管图像的提取。通过最大值滤波之后,采用均值滤波,通过均值滤波减去原图的方法,去除背景及亮度不均特征,

能实现较好的眼结膜微血管图像的分割效果。

假设原图为 $g(x,y)$,那么处理定义如下:

最大值滤波: $g1(x,y) = MAX\{f(xs, yt), (s, tW)\}$

均值滤波: $g2(x,y) = MEAN\{f(xs, yt), (s, tW)\}$

处理后的图像为: $g(x,y) = g2(x,y) - g1(x,y)$

经过预处理之后的图像 $g(x,y)$,微血管灰度较为均匀,可采用一般的阈值方法进行二值化处理。假定阈值为 T ,那么:

$$g(x,y) = \begin{cases} 1, & g(x,y) \geq T \\ 0, & g(x,y) < T \end{cases} \quad (7)$$

通过以上方法处理得到的二值血管图像,会存在少量不连续、空心、孤立点等问题,可以通过二值图像形态操作进行相关处理。

$$E = A \cdot B \quad (8)$$

其中, A 为待处理二值图像, B 为结构元素,通过选取不同的结构元素,使用结构元素 B 对 A 进行形态处理,实现区域填充和形态学的开闭运算。实例效果见图1。

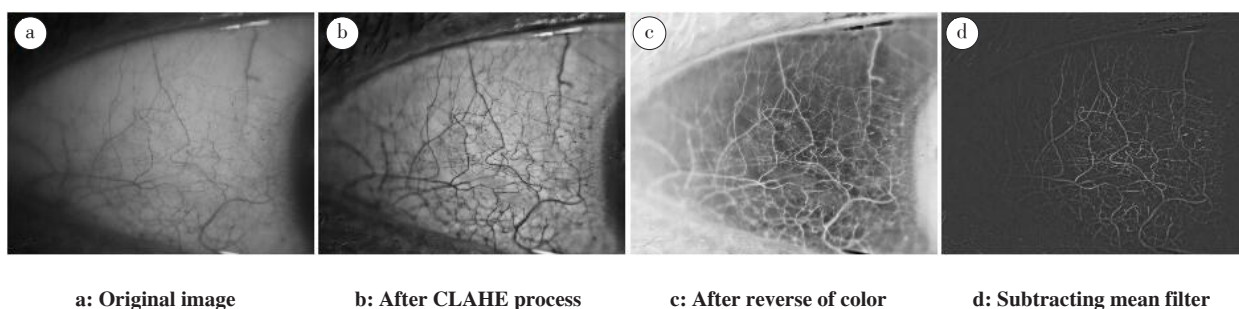


图1 眼结膜微血管图像处理图

Fig.1 Conjunctival microvasculature image processing

2.2 眼微血管图像复杂度计算

当眼结膜发生炎症时,眼微血管也出现生理特征变化,表现为局部扩张、扭曲、交叉及不确定性分布。这些特征从侧面反映病变的严重程度。分形维度是指一种对几何图形复杂程度的度量^[16]。很多研究显示全身血管疾病发生的早期视网膜血管的分形维数也会有所改变。视网膜中血管网络呈树突状排列,并且逐级减小,具有自相似性,Sng等^[17]测量视网膜血管分布值研究定性微血管的改变。这些特征可以通过分形维度进行定性分析来计算其复杂程度DF。复杂度计算是对微血管骨架图像通过分形分析模型进行计算。

分形计算模型,通过不同窗口直径 ε : [3, 5, 7, 9, 11...], 作用于眼微血管二值图像,并统计包含像素的窗口数量 N 。对二值图像做一定角度旋转后,继续做相同计算。

其中 ε 和 N 之间的关系,可以用下面公式表达:

$$N = \varepsilon^{-DF} \quad (9)$$

当 N 趋向于 0 时, ε 接近无穷大;当 ε 趋向于 0 时, N 接近无穷大。进一步转换后:

$$DF = \log N / \log \varepsilon \quad (10)$$

$$\log N = DF * \log \varepsilon \quad (11)$$

DF 可以通过 $\log N$ 及 $\log \varepsilon$ 值应用线性回归分析方法求出。

2.3 眼微血管直径计算

眼微血管定量分析指标血管直径即血管扩张收缩对于临床诊断增生或充血水肿等有很大的参考价值,有很多相关研究^[18-20]。眼微血管直径计算,可以通过二值微血管图像进行计算测量。利用基于Hessian矩阵的中心线提取方法,沿微血管中心线方向测量血管图像垂直中心的径长作为微血管的直径。

设 (x_i, y_i) 为中心线上任意一点,利用中心线上的多点拟合,获得直线的斜率,进一步获得中心线的垂线方程为:

$$1 - \frac{x}{k_i} - y + \frac{x_i}{k_i} + y_i = 0 \quad (12)$$

之后,通过中心线上的点,沿垂线两边检索交界点 $(x_i, y_i); (x_2, y_2)$,那么血管直径 d 为:

$$d = \sqrt{(x_2 - x_i)^2 + (y_2 - y_i)^2} \quad (13)$$

3 实验结果及分析

针对糖尿病视网膜病变的严重程度,目前暂无相关较好的评价指标及判断标准。本文通过计算眼结膜微血管固定区域血管复杂度及血管直径,为严重程度提供相关的参考指标。

通过基于FSLB采集100个糖尿病视网膜病变患者眼结膜微血管图像样本及100个正常样本,通过以上方法计算固定区域血管复杂度及直径参数。进行单分形分析和多重分形,分维数分别为 1.63 ± 0.03 和 1.71 ± 0.03 ,6 h后单分形分析和多重分形分别为 1.69 ± 0.03 和 1.76 ± 0.03 ,分形维数显著增加($P=0.02$)。结果显示病变严重的眼表微血管图像分形维数显著增加,血管扭曲显著。

4 结论

眼表血流研究领域发现糖尿病视网膜病变患者的结膜微血管改变早于眼底微血管改变,我们通过自主研制的先进眼科成像技术及特殊分析软件获得质量高、可供量化分析的血流动力学及形态学参数,为糖尿病视网膜病变早期诊断提供新思路。

【参考文献】

- [1] DUENCH S. Assessment of variation in bulbar conjunctival redness, temperature, and blood flow[J]. *Optom Vis Sci*, 2007, 84(6): 511-516.
- [2] KOUTSIARIS A G, TACHMITZI S V, BATIS N, et al. Volume flow and wall shear stress quantification in the human conjunctival capillaries and post-capillary venules *in vivo*[J]. *Biorheology*, 2007, 44: 375-386.
- [3] OWEN C G, NEWSOM R S, RUDNICKA A R, et al. Diabetes and the tortuosity of vessels of the bulbar conjunctiva[J]. *Ophthalmology*, 2008, 115(6): e27-e32.
- [4] CHEUNG A T, TOMIC M M, CHEN P C, et al. Correlation of microvascular abnormalities and endothelial dysfunction in type-1 diabetes mellitus (T1DM): a real-time intravital microscopy study[J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2009, 42(4): 285-295.
- [5] JIANG H Z, DEBUC D C. Functional slit lamp biomicroscopy for imaging bulbar conjunctival microvasculature in contact lens wearers[J]. *Microvasc Res*, 2014, 92: 62-71.
- [6] SHAHIDI M W, GAYNES B, WU T. Quantitative assessment of conjunctival microvascular circulation of the human eye[J]. *Microvasc Res*, 2010, 79: 109-113.
- [7] CHEUNG A T, CHEN P C. Improvements in diabetic microangiopathy after successful simultaneous pancreas-kidney transplantation: a computer-assisted intravital microscopy study on the conjunctival microcirculation[J]. *Transplantation*, 1999, 68: 927-932.
- [8] KOUTSIARIS A G, PAPAVALASILEIOU P. Blood velocity pulse quantification in the human conjunctival pre-capillary arterioles[J]. *Microvasc Res*, 2010, 80: 202-208.
- [9] KOUTSIARIS A G, BATIS N. Wall shear stress quantification in the human conjunctival pre-capillary arterioles *in vivo*[J]. *Microvasc Res*, 2013, 85: 34-39.
- [10] DUNCAN D D, IBRAHIM M. Absolute blood velocity measured with a modified fundus camera[J]. *J Biomed Opt*, 2010, 15: 056014.
- [11] WANG J S, RUGGERI M, SHOUSHAMA A, et al. *In situ* visualization of tears on contact lens using ultra high resolution optical coherence tomography[J]. *Eye Contact Lens*, 2009, 35: 44-49.
- [12] KERTES P J, JOHNSON T M. Evidence based eye care [M]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- [13] SAHOO S K, LU W M. Image denoising using sparse approximation with adaptive window selection[C]. *ICICS*, 2011.
- [14] THILAGAVATHI M, DEEPA R. An efficient dictionary learning algorithm for 3D medical image denoising based on SA-DCT[C]. *International Conference on Information Communication and Embedded Systems (ICICES)*, 2013: 442-447.
- [15] AHARON E M. Image denoising *via* learned dictionaries and sparse representation[C]. *CVPR'06*.
- [16] BIZZARI M, PASQUALATO A, CUCINA A, et al. Physical forces and non linear dynamics mould fractal cellshape: quantitative morphological parameters and cell phenotype[J]. *Histol Histopathol*, 2013, 28(2): 155-174.
- [17] SNG C C, SABANAYAGAM C, LAMOUREUX E L, et al. Fractal analysis of the retinal vasculature and chronic kidney disease[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2010, 25(7): 2252-2258.
- [18] KAWASAKI R, TIELSCH J M, WANG J J, et al. Themetabolic syndrome and retinal microvascular signs in a Japanese population: the Funagata study[J]. *Br J Ophthalmol*, 2008, 92(2): 161-166.
- [19] CHEUNG C Y, LAMOUREUX E, IKRAM M K, et al. Retinal vascular geometry in Asian persons with diabetes and retinopathy [J]. *J Diabetes Sci Technol*, 2012, 6(3): 595-605.
- [20] CHEUNG N, ROGERS S L, DONAGHUE K C, et al. Retinal arteriolar dilation predicts retinopathy in adolescents with type 1 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2008, 31(2): 1842-1846.

(编辑:黄开颜)