

NOVO ALGORITMO PARA VISUALIZAÇÃO DE FLUXO ATRAVÉS DO SPECKLE PRESENTE EM IMAGENS DE TOMOGRAFIA POR COERÊNCIA ÓPTICA

L. R. De Pretto, G. E. C. Nogueira, A. Z. Freitas

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN–CNEN/SP, São Paulo, Brasil

e-mail: lucas.de.pretto@usp.br

Resumo: A Tomografia por Coerência Óptica é uma técnica tomográfica não invasiva e capaz de produzir imagens de alta resolução e *in vivo*, com penetração de poucos milímetros em tecidos biológicos. No entanto, suas imagens são degradadas por um ruído granular chamado Speckle. Tal ruído, contudo, carrega informações sobre a amostra, e é explorado em técnicas como Speckle Variance para mapear regiões de fluxo subjacentes. Este método é muito utilizado para verificar fluxo vascular em variadas aplicações. Não obstante, o cálculo da variância demanda alta taxa de processamento. Assim, propomos aqui um novo algoritmo para empregar o Speckle na identificação de fluxo. Nossos resultados foram comparados aos obtidos através da técnica tradicional de Speckle Variance, para demonstrar a viabilidade da técnica. Analisamos, ainda a desempenho de ambos os algoritmos.

Palavras-chave: Tomografia por Coerência Óptica, Speckle, Fluxometria.

Abstract: *Optical Coherence Tomography is a noninvasive tomographic technique that can generate in vivo high-resolution images with a penetration depth of a couple millimeters in biological tissues. However, the images are degraded by a granular noise called Speckle. Nevertheless, such a noise carries information regarding the sample, and is exploited by techniques as Speckle Variance to map regions of underlying flow. Such a method is widely used to verify vascular flow in many applications. However, the variance calculation is computationally expensive. Therefore, we propose a new algorithm to employ Speckle in identifying flow. Our results were compared to those obtained by traditional technique of Speckle Variance to demonstrate the feasibility of the technique. We've also analyzed the performance of both algorithms.*

Keywords: *Optical Coherence Tomography, Speckle, Fluxometry.*

Introdução

A Tomografia por Coerência Óptica [1] (OCT, do inglês Optical Coherence Tomography) é uma técnica de imagem não invasiva baseada em interferometria de baixa coerência. Ela é capaz de gerar imagens de corte transversal com resolução na ordem de micrômetros e com penetração da ordem de milímetros em tecidos

biológicos [2].

Normalmente, um sistema de OCT é baseado em um interferômetro de Michelson. Neste tipo de interferômetro, uma fonte de luz de banda espectral larga é direcionada a um divisor de feixes, onde é separada em duas partes. Uma delas é direcionada a um espelho (braço de referência) e a outra à amostra (braço da amostra). No braço de referência o feixe é refletido pelo espelho e retorna ao divisor de feixes. No braço da amostra, o feixe é refletido pela superfície e espalhada em regiões internas da amostra, retornando ao divisor de feixe. Os dois feixes são então recombinados, formando padrões de interferência, e direcionados a um detector. Como a fonte utilizada tem banda larga, sua coerência temporal é pequena, definindo uma estreita janela de coerência que torna possível resolver espacialmente as diferentes superfícies espalhadoras da amostra. Isto pode ser realizado basicamente de três formas: (1) alterando o caminho óptico do braço de referência (técnica conhecida como Time-Domain OCT ou TD-OCT); (2) fazendo a análise espectral do feixe recombinado através de uma grade de difração (Fourier-Domain OCT, FD-OCT) e (3) fazendo uma varredura do comprimento de onda da fonte de luz (Swept Source OCT, SS-OCT).

Mesmo utilizando fontes de luz de baixa coerência, as imagens de OCT apresentam padrões de Speckle, caracterizado por um ruído granular que afeta fontes coerentes. Estudos sobre este fenômeno começaram logo após o desenvolvimento dos primeiros lasers, e permitiram descobrir que ele apresenta relação com a superfície de onde se origina. Ocorre que na escala de comprimento de onda muitas superfícies são rugosas e, quando iluminadas com uma fonte de luz coerente, reflexões provenientes de diferentes pontos podem acumular atrasos, dando origem a padrões de interferência. Em um ponto de observação distante, a adição destas contribuições individuais fora de fase resulta em regiões de interferência construtiva ou destrutiva, formando o padrão de Speckle [3]. Deste modo, qualquer alteração na superfície resulta em uma alteração deste padrão. Para as imagens de OCT, no entanto, o Speckle não tem origem apenas na superfície. A luz que é retroespalhada por diversos espalhadores individuais no interior da amostra pode também apresentar acúmulos de fase originando padrões Speckle [4]. O movimento destes espalhadores resulta em

alterações no Speckle das imagens de OCT. Esta relação, atualmente, é explorada em técnicas como a Speckle Variance OCT (SV-OCT) [5], capaz de mapear regiões de fluxo existentes no interior da amostra. A habilidade de visualizar a dinâmica de fluxos, aliada ao fato de ser não invasiva e exigir pouco ou nenhum preparo de amostra, fez com que a técnica de OCT se tornasse uma ferramenta bastante útil na análise de estruturas microvasculares [6], e aplicações desta natureza se tornaram proeminentes [7-10].

Com o intuito de melhorar o estado da técnica, propomos, neste trabalho, um novo algoritmo de análise de Speckle para mapeamento de fluxo. Buscamos um algoritmo simples, que pudesse ser calculado de forma mais rápida e sem perder sensibilidade nos resultados. Para garantir isto, comparamos nossos resultados com os obtidos através de SV-OCT.

Materiais e métodos

Sistema de OCT – Para este trabalho utilizamos um Swept Source OCT comercial OCS1300SS (Thorlabs Inc.), com comprimento de onda central 1325 nm, largura espectral 100nm (largura à meia altura), resolução lateral de 25 μm e axial de 12 μm , sistema esse que conta com um módulo que permite análise de deslocamento Doppler. Este OCT foi utilizado em conjunto com o software de aquisição de imagens comercial disponibilizado pela Thorlabs.

Speckle Variance OCT – Como comentado, o ruído de Speckle é dependente dos espalhadores que o originam, e a alteração de disposição destes espalhadores causa uma alteração no Speckle observado. A técnica de Speckle Variance tira proveito deste fato, e faz uma análise de regiões de fluxo em imagens de OCT baseada na evolução do padrão de Speckle no tempo.

Nas imagens de OCT, toda a região de estrutura da amostra permanece estática, desde que a amostra também esteja estática. Contudo, se existe fluxo subjacente na amostra, os espalhadores estão em movimento gerando uma região em que o Speckle varia amplamente no tempo, resultando numa decorrelação mais rápida do que nas demais áreas onde os espalhadores estão estáticos. Portanto, se obtivermos diversas imagens de OCT sequenciais ao longo do tempo de uma mesma região da amostra, podemos verificar os locais onde a intensidade registrada varia de maneira mais significativa, e relacioná-los às mudanças no padrão do Speckle.

O Speckle Variance OCT faz este tipo de análise a partir da variância dos pixels no tempo. Para um conjunto de N imagens, obtidas de maneira sequencial de uma mesma região, a variância SV de um determinado pixel i,j (sendo i a coluna e j a linha de localização do pixel) em N imagens pode ser expressa como[5]:

$$SV_{i,j} = \frac{1}{N} \sum_{t=0}^{N-1} (I_{i,j,t} - \langle I_{i,j} \rangle)^2 \quad (1)$$

Onde $I_{i,j,t}$ é a intensidade do pixel i,j no instante t , e $\langle I_{i,j} \rangle$ é a média do pixel i,j ao longo de todo o tempo (N imagens). Este cálculo é repetido para todos os pixels.

Os resultados obtidos pela Equação (1) são normalizados para o intervalo de 0-255, e geram uma única imagem em cores falsas, codificadas em função da variância. Quanto maior a intensidade, mais claro o pixel, e maior a variância. Assim, regiões mais claras indicam áreas de fluxo.

Nosso algoritmo – O algoritmo da Equação (1) permite visualizar microvasos, mas não permite quantificar o fluxo [11]. Argumenta-se aqui que é um método que demanda elevada capacidade computacional para somente diferenciar alvos fixos de móveis. Por isto, propomos aqui um novo algoritmo que pode ser processado de modo mais rápido do que o anterior, mas que ainda fornece as informações relevantes para mapeamento de fluxo. O algoritmo é expresso como segue:

$$Result_{i,j} = \sum_{t=1}^{N-1} |(I_{i,j,t} * I_{i,j,t-1}) - (I_{i,j,t})^2| \quad (2)$$

Onde $I_{i,j}$ é a intensidade de um pixel em um dado tempo t e $I_{i,j,t-1}$ é a intensidade do mesmo pixel na imagem anterior. Consideramos apenas o valor absoluto, pois o importante é a variação da intensidade.

Podemos expandir a Equação (2) e obter $\sum_{t=1}^{N-1} |I_{i,j,t} (I_{i,j,t-1} - I_{i,j,t})|$, onde o termo entre parênteses representa a variação da intensidade no tempo. Em regiões estáticas, esta variação é zero, de modo que o algoritmo, portanto, evidencia as áreas de fluxo, em que a intensidade varia por conta dos espalhadores em movimento.

A Equação (2) é aplicada para todos os pixels, seus valores são somados e normalizados para o intervalo 0-255 para apresentação gráfica.

Ambos os algoritmos foram implementados no ambiente de desenvolvimento LabView® (National Instruments). Em ambos os algoritmos, cada imagem é a média aritmética de duas varreduras consecutivas de modo-A.

Resultados

Obtivemos uma série de 50 imagens de OCT, a uma taxa de 20 imagens por segundo de uma mesma região da ponta de um dedo, objetivando visualizar o fluxo sanguíneo nestas imagens.

Analizamos esta série de imagens com nosso algoritmo e com o SV, os resultados estão apresentados na Figura 1.

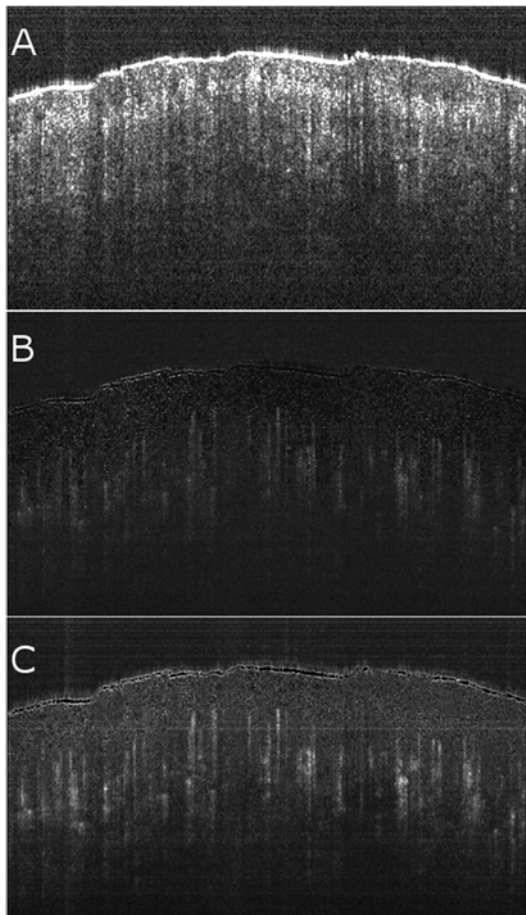


Figura 1: A– Imagem de OCT da ponta de um dedo, B– Imagem analisada por Speckle Variance e C– Imagem analisada pelo nosso algoritmo.

Uma das imagens obtidas na série original foi acrescentada juntamente com os resultados, Figura 1 A, para demonstrar que, sem auxílio da análise, não seria possível diferenciar regiões com fluxo e regiões estáticas.

Na Figura 1 B, temos o resultado do Speckle Variance, onde é possível perceber que algumas áreas são mais claras que outras, representando seções transversais de microvasos. Podemos notar que na superfície do dedo a imagem fica bastante escurecida, pois não é esperado fluxo nessa região, mas apresenta pequenas áreas claras provenientes de movimentos involuntários durante a aquisição de imagens do OCT.

A Figura 1 C apresenta o resultado da aplicação do algoritmo desenvolvido neste trabalho. De maneira geral, a imagem é mais clara do que o resultado do SV, indicando que nosso algoritmo é mais sensível a pequenas flutuações de intensidade e, portanto, a movimentos. Os pontos mais claros na imagem estão de acordo com os obtidos via SV demonstrando a capacidade de discernir fluxo. Novamente a região mais superficial do dedo fica escurecida, mas como nosso algoritmo é mais sensível a pequenas variações, surgem áreas mais claras que não aparecem na análise por SV.

Discussão

De maneira geral, comparado ao SV, nosso algoritmo apresenta com maior nitidez as áreas onde há fluxo. Mesmo com as demais regiões ainda visíveis, a diferença de intensidade nos locais de fluxo resulta em um bom contraste na imagem final, possibilitando a aplicação de algoritmos de limiarização, que permitem segmentar a imagem, escurecendo pixels que possuam intensidades abaixo de um dado valor, facilitando suas visualizações.

É importante destacar o fato de que os pontos identificados pelo nosso método estão em bom acordo com os pontos identificados pelo SV, o que comprova a viabilidade de uso do nosso algoritmo.

Vale notar também que, em ambos os resultados, as áreas abaixo do fluxo identificado apresentam um "rastro" com intensidade elevada. Tal fenômeno é chamado de *Shadowing Effect* ou *Shadowing Artifact* [6; 11], e está relacionado com a forma de aquisição de imagens do OCT [12], não sendo dependente da análise posteriormente feita. Mesmo assim, em nosso resultado a intensidade é ainda maior no local do fluxo do que no "rastro", facilitando a identificação. No Speckle Variance, o rastro é mais discreto, porém mais difícil de discernir da área de interesse.

Outro fator relevante é o tempo de execução dos algoritmos. Realizamos uma bateria de 20 testes com a mesma série de 50 imagens (512x512 pixels) em ambos os algoritmos, registrando os tempos de execução. Vale ressaltar que implementamos ambos algoritmos no mesmo ambiente de desenvolvimento, com a mesma metodologia de acesso a disco (as imagens são lidas para a memória de acordo com a iteração) e sem qualquer tipo de otimização. Os tempos médios de execução calculados estão presentes na Figura 2.

Nosso algoritmo obteve resultados melhores em todos os testes, o valor médio do ganho de desempenho em relação a tempo de execução é de, aproximadamente, 31%, que resulta em um ganho de mais de 1,5 segundo.

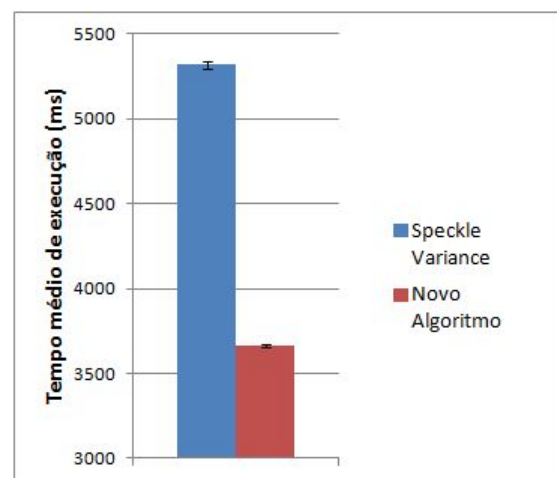


Figura 2: Gráfico comparativo dos tempos de execução dos algoritmos.

Este ganho, em grande parte, é devido ao fato de que nosso algoritmo visita cada frame apenas uma vez, enquanto o Speckle Variance necessita de duas passagens, a primeira para calcular a média e a segunda para calcular a variância.

Quanto à utilização de memória, ambos apresentam resultados semelhantes. O motivo é que cada algoritmo tem, em um determinado instante três matrizes (imagens) carregadas na memória. Para o Speckle Variance esses dados são: (1) a média calculada, (2) a imagem atualmente na iteração e (3) o valor de variância calculado até o momento. No nosso algoritmo, a memória conta com: (1) a imagem atualmente na iteração, (2) a imagem do tempo imediatamente anterior e (3) o valor calculado até o momento.

Conclusão

Foi demonstrado, desta maneira, o desenvolvimento de um novo algoritmo que serve como alternativa ao uso de Speckle Variance, com melhor desempenho e resultados compatíveis. Os dois algoritmos não quantificam o fluxo, mas são úteis, evidenciando a visualização da microvasculatura. Ambos os algoritmos podem ser otimizados para melhor desempenho, porém o cálculo de variância necessita do conhecimento da média, o que exige uma passagem a mais por cada imagem. Algoritmos de passagem única para variância existem, porém podem apresentar erros de estimativa. Nosso algoritmo não necessita de média e tem o mesmo uso de memória, possuindo boa sensibilidade para a flutuação de intensidade, o que o torna relevante para uso em aplicações médicas ou industriais.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio da FAPESP processo #2013/05492-9 e ao CNPq processo #309367/2013-1.

Referências

- [1] Huang, D. et al. Optical Coherence Tomography. *Science*. 1991; 254(5035): 1178-1181.
- [2] Fujimoto, J. G. et al. Optical coherence tomography: An emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy. *Neoplasia*. 2000; 2(1-2):925.
- [3] Goodman, J. W. Some Fundamental Properties of Speckle. *Journal of the Optical Society of America*. 1976; 66(11): 1145-1150.
- [4] Schmitt, J. M.; Xiang, S. H.; Yung, K. M. Speckle In Optical Coherence Tomography. *Journal of Biomedical Optics*. 1999; 4(1): 95-105.
- [5] Mariampillai, A. et al. Speckle variance detection of microvasculature using swept-source optical coherence tomography. *Optics Letters*. 2008; 33(13):1530-1532.
- [6] Mahmud, M. S. et al. Review of speckle and phase variance optical coherence tomography to visualize microvascular networks. *Journal of Biomedical Optics*. 2013; 18(5):13-25.
- [7] Liu, S. S.; Li, P. C.; Luo, Q. M. Fast blood flow visualization of high-resolution laser speckle imaging data using graphics processing unit. *Optics Express*. 2008; 16(19): 14321-14329.
- [8] Sudheendran, N. et al. Speckle variance OCT imaging of the vasculature in live mammalian embryos. *Laser Physics Letters*. 2011; 8(3):247-252.
- [9] Cua, M. et al. Lung vasculature imaging using speckle variance optical coherence tomography. In: *Conference on Photonic Therapeutics and Diagnostics VIII*; 2012 Jan 21-24. San Francisco, CA, Estados Unidos. 2012.
- [10] Kim, D. Y. et al. Visualization of human retinal capillary networks: A comparison of intensity, speckle-variance and phase-variance optical coherence tomography. In: *Conference on Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XVI*; 2012 Jan 23-25. San Francisco, CA, Estados Unidos. 2012.
- [11] Mariampillai, A. et al. Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Optics Letters*. 2010; 35(8):1257-1259.
- [12] Girard, M. J. A. et al. Shadow Removal and Contrast Enhancement in Optical Coherence Tomography Images of the Human Optic Nerve Head. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2011;52(10): 7738-7748.