



ЦИФРОВАЯ СИСТЕМА ВИЗУАЛИЗАЦИИ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

*М.Аникеева, А.Софронов,
Санкт-Петербургский государственный
политехнический университет,
С.Дремов, А.Тер-Мартirosян,
ЗАО "Полупроводниковые приборы"
Санкт-Петербург, sofronov@rphf.spbstu.ru*

В статье представлена система визуализации пространственного распределения флюоресценции при диагностике и лечении методами фотодинамической терапии. Приведена объектно ориентированная архитектура системы визуализации, произведен выбор оптимального варианта конкретной реализации с активным использованием сторонних библиотек с открытым исходным кодом, представлено описание программного обеспечения системы. Изготовлен опытный образец системы визуализации, включающий аппаратную часть и программное обеспечение, который успешно прошел клинические испытания.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – метод диагностики и лечения злокачественных раковых опухолей. Метод основан на способности некоторых препаратов (фотосенсибилизаторов) избирательно накапливаться в пораженных тканях и одновременно взаимодействовать с электромагнитным излучением видимого или ближнего инфракрасного диапазона. Локальная активация светом накопившегося в опухоли фотосенсибилизатора из полосы его поглощения приводит в присутствии кислорода тканей к развитию фотохимической реакции, разрушающей опухолевые клетки, за счет чего достигается лечебный эффект. При этом процесс сопровождается флюоресценцией как препарата, так и кислорода в более длинноволновой области спектра. Картина пространственного распределения флюоресценции дает информацию о размерах опухоли и концентрации препарата, а ее изменение во времени может дать и количественную

DIGITAL IMAGING SYSTEM FOR PHOTODYNAMIC THERAPY

*M. Anikeeva, A. Sofronov,
Saint Petersburg State Polytechnic University;
S. Dremov, A. Ter-Martirosyan,
ATC "Semiconductor Devices",
Saint-Petersburg, sofronov@rphf.spbstu.ru*

System for visualization of spatial distribution of fluorescence during photodynamic therapy procedures is presented. Object-oriented analysis and design of the system is performed, visualization software is presented. Optimal realization is created using external open source components. Developed visualisation system including software and hardware was successfully finished clinical trials.

Photodynamic therapy (PDT) represents the method of diagnostics and treatment of malignant cancer tumors based on the capability of some preparations (photosensitizers) to accumulate selectively in the diseased tissues and interact simultaneously with the electromagnetic radiation of visible or near infrared band. The local light activation of the photosensitizer which was accumulated in the tumor from the band of its absorption in the presence of tissue oxygen causes the development of photochemical reaction which destroys the tumor cells and at its expense the therapeutic effect can be achieved. The process is accompanied by fluorescence of the preparation and oxygen as well in longer wavelength infrared region of spectrum. The image of spatial distribution of fluorescence gives information about the tumor size and preparation concentration and its variation in time can give the quantitative information about the required radiation dose. This effect can be used not only for the treatment but diagnostics of oncologic diseases with various localizations at early stages, as well [1].

The recent achievements in the area of semiconductor optoelectronics make the PDT method available for widespread use in the medical institutions due to the development of inexpensive compact high-power sources of laser radiation on the basis of semiconductor laser diodes [2]. However, in order to obtain and visualize the image of spatial distribution of photosensitizer fluorescence the spectral-selective system of registration of optical radiation, which permits the light to go through



информацию о необходимой дозе облучения. Данный эффект может использоваться не только при лечении, но и при диагностике онкологических заболеваний различных локализаций на ранних стадиях [1].

Благодаря современным достижениям в области полупроводниковой оптоэлектроники (разработке недорогих компактных мощных источников лазерного излучения на основе полупроводниковых лазерных диодов [2]) метод ФДТ стал доступен широкому кругу медицинских пользователей. Однако для получения и визуализации картины пространственного распределения флуоресценции фотосенсибилизатора необходима спектрально-селективная система регистрации оптического излучения. Она должна пропускать свет во всей полосе флуоресценции и оставаться непрозрачной для возбуждающего флуоресценцию излучения. В известных на настоящий момент устройствах ФДТ в качестве таких систем выступают либо очки, либо аналоговые видеокамеры с оптическими интерференционными фильтрами. Такой подход не только не позволяет количественно оценить параметры опухоли, но и не обеспечивает потенциально заложенного в системе ФДТ удобства применения.

Все это говорит о необходимости разработки цифровой системы визуализации флуоресценции фотосенсибилизаторов, позволяющей в полной мере использовать все потенциальные возможности метода фотодинамической терапии. То есть нужна система, способная обеспечить визуализацию наблюдаемого объекта в наиболее удобной форме и автоматически проводить количественный анализ изображения флуоресценции в реальном времени.

Основой такой системы стало разработанное программное обеспечение (ПО), которое позволило управлять фоточувствительным элементом системы и обрабатывать поступающие от него данные.

АНАЛИЗ ТРЕБОВАНИЙ К ПРОГРАММНОМУ ОБЕСПЕЧЕНИЮ СИСТЕМ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Одним из ключевых моментов разработки ПО для систем фотодинамической терапии является форма визуализации получаемой информации, наиболее удобная для конечного пользователя. Анализ пожеланий практикующих врачей показал, что "классическое" представление в виде изображения в оттенках серого, получаемое непосредственно с камеры системы

the whole fluorescence band and is not transparent for the radiation exciting fluorescence, is needed. Currently, in the existing PDT devices glasses or analog video-cameras with the optical interference filters serve in the capacity of such systems. Such approach does not only make it impossible to estimate the tumor parameters quantitatively but also it does not provide the potential usability of PDT systems.

All these aspects speak about the necessity to develop the digital system of photosensitizers fluorescence imaging which will allow using all potential capabilities of photodynamic therapy method in full and perform imaging in the most convenient form and automatic quantitative analysis of fluorescence image on real-time basis.

The software, which controls the system photosensitive element and processes the incoming data, is the basis of such system.

ANALYSIS OF REQUIREMENTS FOR THE SOFTWARE OF PHOTODYNAMIC THERAPY SYSTEMS

One of the key aspects concerning the development of software for the systems of photodynamic therapy includes the form of visualization of received information which will be the most convenient for end user. Analysis of requests of practicing physicians showed that the "classic" conception of the image form in tints of grey color received directly from the system camera through the spectral-selective optics is insufficiently convenient for the visual perception and not sufficient for the analysis of visual information. The best imaging form turned out to be the pseudo-three-dimensional histogram of brightness distribution in two coordinates which is displayed near the actual image received from camera (Fig. 1). And the actual image itself can be displayed in the initial form in tints of grey color and in pseudo-colors according to the determined adopted color chart.

For the additional visualization of results it is also required to define the contours of the constant value of brightness on the obtained images on the basis of determined set level which actually represent the boundaries of tumor.

Besides the conception of fluorescence intensity distribution on real-time basis, there should be also ability to freeze the images at certain points of time for the further comparison and analysis.

The following aspect which requires the special attention is the graphic interface of software user. Taking into account the specificity of software end users, the interface should be simple, convenient and

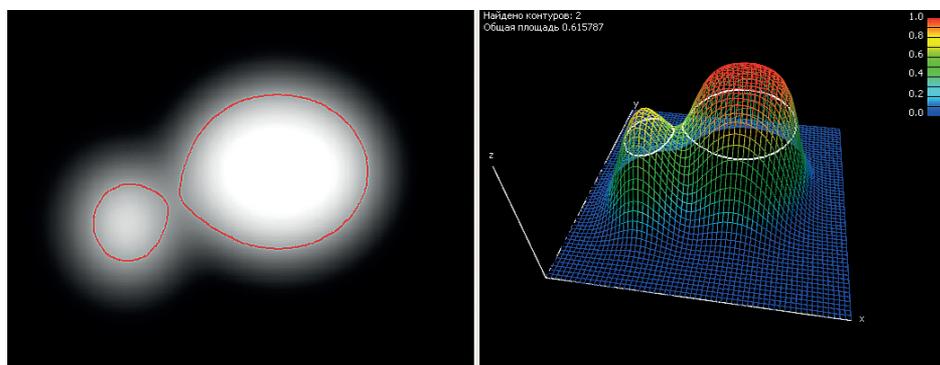


Рис.1. Форма визуализации картины пространственного распределения флюоресценции
Fig.1. Form of fluorescence spatial distribution imaging

через спектрально-селективную оптику, недостаточно удобно для визуального восприятия. Оно также недостаточно информативно для анализа. Наилучшей формой визуализации оказалась псевдотрехмерная гистограмма распределения яркости по двум координатам, отображаемая рядом с реальной картиной, получаемой с камеры (рис.1). При этом сама реальная картина может быть представлена как в исходном виде в оттенках серого цвета, так и в псевдоцветах в соответствии с определенной принятой цветовой картой. Для дополнительной наглядности результатов необходимо также очерчивать на полученных изображениях контуры постоянного значения яркости по определенному заданному уровню, которые представляют собой, фактически, границы опухолей.

Помимо представления распределения интенсивности флюоресценции в реальном времени, необходимо также иметь возможность фиксировать изображения в определенные моменты времени для последующего сравнения и анализа.

Следующий аспект, требующий особого внимания, – это графический интерфейс пользователя ПО. С учетом специфики конечных пользователей ПО, интерфейс должен быть простым, удобным, способным обеспечивать минимум действий пользователя и позволять легко менять вид и представление визуализируемой информации.

АППАРАТНАЯ ПЛАТФОРМА

Аппаратная часть системы, на которой предполагается функционирование ПО, состоит из стандартного ПК с подключенной к нему цифровой камерой по любому достаточно быстрому интерфейсу (USB2.0, IEEE1394, Ethernet). На объективе

provide minimum user actions and allow easy change of form and displaying of visualized information.

HARDWARE PLATFORM

The system hardware, in which the software functioning is located, consists of the standard personal computer with the connected digital camera on the basis of any sufficiently-fast interface (USB2.0, IEEE1394, Ethernet). The spectral-selective optical filter, which permits only radiation in the fluorescence band of used photosensitizer to pass through, is installed on the lens of digital camera. Thus, the video frames which arrive from the camera are the initial data for imaging.

The hardware block diagram is shown in Fig. 2. Analog video signal from photosensitive array is digitized by the digital processing unit which is also responsible for the information transmission to computer. These two units are integrated in the digital camera. Also, the emitter which excites the fluorescence, power-generating unit and some auxiliary components are included into the device structure.

SOFTWARE OBJECT MODEL

Following [3], the construction of object-oriented architecture of developed software consists in the building abstractions for the system individual elements, determination of responsibility of every abstraction and relationship between them. The system finished object model is shown in Fig. 2 in the form of combined diagram of classes and components.

The class frameInput is the program abstraction for the source of initial frames. Besides the obvious ability to return the next frame of video stream, the class duties also include furnishing of information on

цифровой камеры установлен спектрально-селективный оптический фильтр, пропускающий излучение только в полосе флуоресценции используемого фотосенсибилизатора. Таким образом, поступающие с камеры видеокдры являются исходными данными для визуализации информации.

Блок-схема аппаратной части системы показана на рис.2. Аналоговый видеосигнал с фоточувствительной матрицы оцифровывается блоком цифровой обработки, который также отвечает за передачу информации в ПК. Оба блока объединены в цифровой камере. Также в состав прибора входит излучатель, возбуждающий флуоресценцию, блок питания и некоторые вспомогательные элементы.

ОБЪЕКТНАЯ МОДЕЛЬ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ

Следуя рекомендациям [3], построение объектно ориентированной архитектуры разрабатываемого программного обеспечения состоит в построении абстракций для отдельных элементов системы, установлении ответственностей каждой абстракции и связей между ними. Готовая объектная модель системы (рис.2) представлена в виде совмещенной диаграммы классов и компонентов.

Программной абстракцией для источника исходных кадров является класс `frameInput`. Кроме очевидной способности возвращать очередной кадр видеопотока, в число обязанностей класса входит также предоставление информации о параметрах кадра (размеры, битность и т.д.). Класс прячет в себе конкретные детали аппаратного интерфейса подключения камеры к ПК, при этом конкретная реализация класса осуществляется либо с помощью фирменного SDK камеры, либо посредством `DirectShow`. В последнем случае может быть использована открытая библиотека `videoInput` [4], являющаяся объектно ориентированной оберткой над `DirectShow`.

Классы `VideoOutput` и `ChartOutput` являются абстракциями для устройств вывода информации в виде битовой карты и псевдотрехмерной гистограммы соответственно. В обязанности классов входит отображение графической информации в виде, показанном на рис. 1. Конкретная реализация классов осуществлена с использованием библиотеки `OpenGL`, имеющей аппаратную реализацию на большинстве видеокарт, при этом использование `OpenGL` существенно ускоряет вывод графики по сравнению со средствами

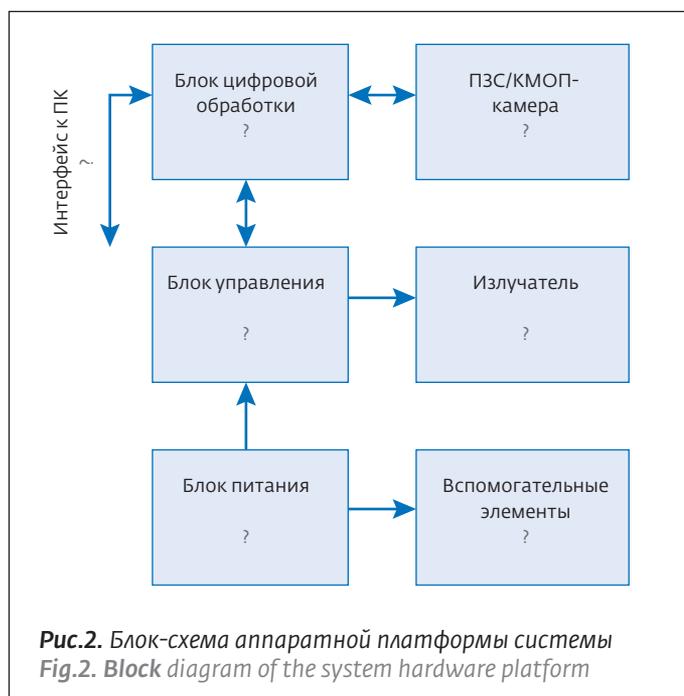


Рис.2. Блок-схема аппаратной платформы системы
Fig.2. Block diagram of the system hardware platform

the frame parameters (dimensions, bit count etc.). The class hides in itself the specific details of hardware interface of camera connection to the computer and the specific implementation of the class is performed with the help of proprietary SDK of camera or through `DirectShow`. In the last case the open-ended library `videoInput` [4], which is the object-oriented wrapper above `DirectShow`, can be used.

The classes `VideoOutput` and `ChartOutput` refer to the abstractions for the information output devices in the form of bitmap and pseudo-three-dimensional histogram respectively. Duties of the classes include the display of graphic information in the form shown in Fig. 1. The specific implementation of classes is accomplished with the use of the library `OpenGL`, which has the hardware implementation at the majority of video cards, and use of `OpenGL` considerably accelerates the graphics output in comparison with the means of Windows GDI. Both classes are successors of the abstract class `GLWidget` intended for the encapsulation of functions connected with design and maintenance of the window of user graphic interface into which the output by the means of `OpenGL` is performed.

The class `Analyzer` encapsulates the function connected with the analysis of image frame, search of the contours of constant value and calculation of data for the construction of surface chart. The class has methods for the transfer of frame analysis parameters (thresholds of contours etc.) and main method of processing which in arguments receives the pointer in

Windows GDI. Оба класса являются наследниками абстрактного класса GLWidget, предназначенного для инкапсуляции функций по созданию и обслуживанию окна графического интерфейса пользователя, в которое осуществляется вывод средствами OpenGL.

Класс Analyzer инкапсулирует функции по анализу кадра изображения, поиску контуров постоянного значения и расчету данных для построения трехмерного графика. Класс имеет методы для передачи ему параметров анализа кадра (пороги контуров и т.д.), а также основной метод обработки, принимающий в аргументах указатель на устройство ввода кадров frameInput и указатели на устройства вывода VideoOutput и ChartOutput. Основная функция класса – определить границы пораженного участка ткани, рассчитать его площадь, а также подготовить данные к отображению на устройствах вывода и обновить последние. Конкретная реализация класса основана на использовании алгоритмов машинного зрения библиотеки OpenCV. В частности, производится топологический структурный анализ кадра для поиска полного множества контуров постоянного значения [5].

Класс mainWindow инкапсулирует функции создания пользовательского графического интерфейса, а также выполняет роль "сэмплера", вызывая по таймеру основной метод обработки класса Analyzer. Конкретная реализация основана на кросс-платформенном инструментарии Qt (версия, лицензированная по GNU LGPL). Это наиболее удобный и хорошо документированный способ быстрого создания графического интерфейса. По сравнению с набором классов MFC от Microsoft, Qt предлагает полностью правильный объектно-ориентированный подход к программированию с активным использованием иерархии классов, что упрощает и ускоряет разработку, обеспечивая более высокий уровень абстракции.

Полная модель содержит также ряд дополнительных классов. В частности, построенные по принципу связанного списка классы Contours для хранения контуров постоянного значения и ImgStack, производящий усреднение некоторого количества последовательных кадров для снижения уровня шумов, а также класс DimDialog, ответственный за вывод элементов графического пользовательского интерфейса, необходимых для калибровки реальных размеров объектов. Все зависимости программы от внешних библиотек показаны на рис.3.

frame input unit frameInput and pointers in output units VideoOutput and ChartOutput. The main function of the class is to determine the boundaries of tissue diseased site, calculate its area and prepare data for the display in output units and update data. The specific implementation of class is based on the use of vision algorithms of the library OpenCV. In particular, the topological structural analysis of frame is performed for the search of exhaustive set of contours of constant value [5].

The Class mainWindow encapsulates the functions connected with the creation of user graphic interface and plays the role of "sampler" activating the main processing method of Analyzer class by timer. The specific implementation is based on cross-platform tools Qt (versions licensed according to GNU LGPL). This is the most convenient and well-documented method of quick creation of graphic interface. In comparison with the set of classes MFC from Microsoft, Qt offers completely correct object-oriented approach to the programming with the active use of class hierarchy which simplifies and accelerates development providing higher level of abstraction.

Complete model contains a number of additional classes. In particular, classes Contours for the storage of contours of constant value and ImgStack averaging some quantity of sequenced frames for the reduction of noise level, which were constructed according to the principle of linked list, and class

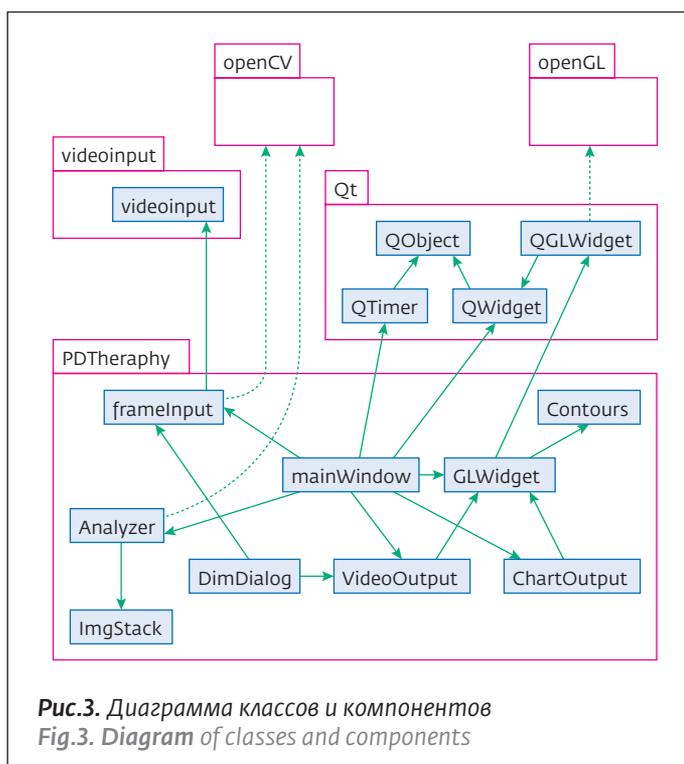


Рис.3. Диаграмма классов и компонентов
Fig.3. Diagram of classes and components

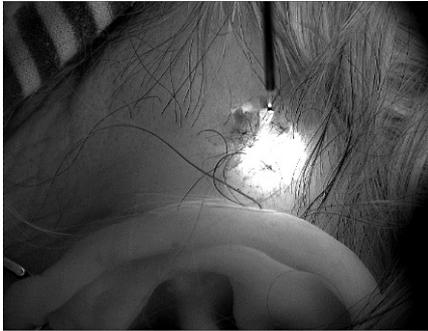


Рис.4. Флюоресценция базальноклеточного рака кожи заушной области, возбуждаемая полупроводниковым лазером ($\lambda=665$ нм, мощностью 3 Вт)

Fig.4. Fluorescence of basal-cell skin cancer of postaural zone excited by semiconductor laser ($\lambda=665$ nm, power 3 W)

КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ

На основе разработанной модели была создана конкретная реализация опытного образца системы визуализации флюоресценции – прибор "Флюовизор". В приборе использована цифровая монохромная камера с разрешением 752×582 пикселей, использующая интерфейс USB2.0. В качестве персонального

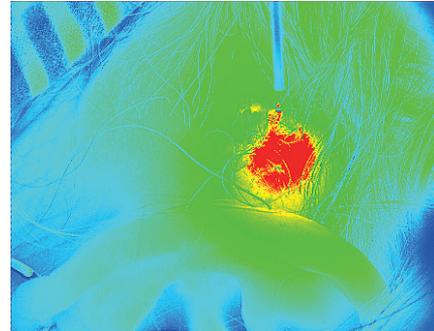


Рис.5. Визуализация опухоли в псевдоцвете
Fig.5. Imaging of tumor in pseudo-color

DimDialog responsible for the output of elements of graphic user interface which are necessary for the calibration of actual dimensions of objects. All program dependences on external libraries are shown in Fig. 3.

CLINICAL TESTING

On the basis of the developed model the specific implementation of the prototype of fluorescence imaging system – device "Fluovizor" was created. The

компьютера использован ноутбук низшего ценового сегмента с двухъядерным процессором семейства Intel Celeron B800. Применение описанных подходов к разработке программного обеспечения позволило добиться работы системы в режиме "реального времени" (фактически, в режиме обновления изображений на экране с частотой 30 fps) даже на такой аппаратной платформе.

Опытный образец прошел клинические испытания в НИИ онкологии им.Н.Н.Петрова, где использовался для визуализации при диагностике и лечении базальноклеточного рака кожи методом ФДТ при облучении опухоли полупроводниковым лазером с длиной волны излучения $\lambda=665$ нм. В качестве фотосенсибилизатора использовался препарат "Фотодитазин".

На рис.4 показана реальная картина распределения флуоресценции. На рис.5 представлена картина пространственного распределения флуоресценции в псевдоцвете. При этом опухоль выделяется красным цветом, предоставляя четкую визуализацию границ опухоли, а также их изменение со временем в процессе сеанса ФДТ.

На рис.6 представлена визуализация участка полного кадра с пораженной областью в виде псевдотрехмерного распределения интенсивности флуоресценции по координатам. Также показана найденная граница опухоли, отображаемая красной линией на исходном изображении и белой линией на трехмерной картинке.

Приведенные примеры иллюстрируют возможности по интерпретации реальных изображений, которые предоставляет пользователю разработанное программное обеспечение.

Такая форма представления данных наглядно показывает, в частности, распределение концентрации фотосенсибилизатора и ее динамическое изменение во времени, позволяет более дозированно и направленно обеспечивать облучение ткани лазером для оптимального проведения процедуры лечения методами ФДТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполнения работы создано программное обеспечение для системы визуализации пространственного распределения флуоресценции при диагностике и лечении методами фотодинамической терапии. Разработана объектно ориентированная архитектура системы визуализации, произведен выбор оптимального варианта конкретной реализации с активным использованием сторонних библиотек с открытым исходным кодом. Изготовлен опытный образец

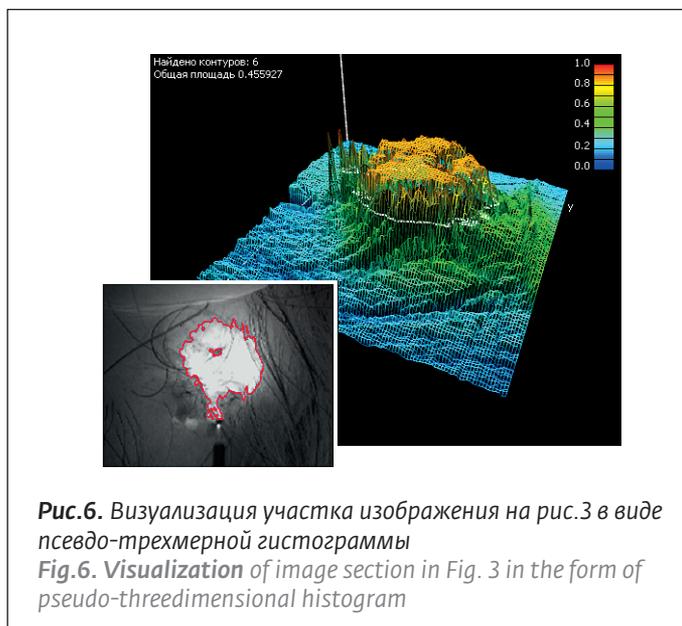


Рис.6. Визуализация участка изображения на рис.3 в виде псевдо-трехмерной гистограммы
Fig.6. Visualization of image section in Fig. 3 in the form of pseudo-three-dimensional histogram

digital monochromic camera with the resolution 752×582 pixels using the interface USB2.0 is applied in the device. The laptop of the lowest price segment with the dual core processor of series Intel Celeron B800 was used in the capacity of personal computer. Application of the described approaches in the software development made it possible for the system to operate in the mode of "real time" (practically, under the conditions of images update at the screen with the frequency of 30 fps) even at such hardware platform.

The prototype underwent the clinical tests in the Research Institute of Oncology named after N.N.Petrov where it was used for the imaging during diagnostics and treatment of basal-cell skin cancer by PDT method upon the irradiation of tumor by semiconductor laser with the radiation wavelength $\lambda=665$ nm. Fotoditazin was used in the capacity of photosensitizer.

The actual image of fluorescence distribution is shown in Fig. 4. The image of spatial distribution of fluorescence in pseudo-color is shown in Fig. 5. And the tumor is highlighted in red color providing the clear visualization of tumor boundaries and their variation with the time in the process of PDT session.

Visualization of the area of full frame with the diseased site in the form of pseudo-three-dimensional distribution of fluorescence intensity in coordinates is given in Fig. 6. Also the detected boundaries of tumor highlighted in red line at initial image and white line at three-dimensional picture is shown.

Given examples illustrate the capabilities concerning the interpretation of actual images which is provided to user by the developed software.



системы визуализации, включающий аппаратную часть и программное обеспечение. Образец успешно прошел клинические испытания.

К настоящему времени в ООО "Аткус" разработана и успешно внедрена в серийное производство линейка медицинских лазерных аппаратов серии "Латус". Аппараты характеризуются уникальной схемой суммирования излучения полупроводниковых лазеров, современной элементной базой, использованием высокоэффективных мощных лазерных диодов. Кроме того, ООО "Аткус" предлагает систему визуализации флуоресценции фотосенсибилизатора, торговое наименование "Флуовизор".

Работа выполнена в рамках проекта по развитию кооперации российских вузов и производственных предприятий (договор № 13.G25.31.0055). По результатам работы направлена заявка на патент на устройство визуализации флуоресценции фотосенсибилизаторов при диагностике и лечении методом ФДТ. Авторы выражают благодарность М.Л.Гельфонду за помощь в проведении клинических испытаний системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Loschenov V.B., Steiner R. – Proceeding SPIE, 1994, v, 2325, p.144.
2. Воробьев Л.Е., Софронов А.Н., Фирсов Д.А., Демидов Д.М., Леус Р.В., Свердлов М.А., Тер-Мартirosян А.Л. Лазерные диоды для фотодинамической терапии. – Научно-технические ведомости СПбГПУ. Физико-математические науки, 2011, № 2 (122), с. 80–84.
3. Гради Буч. Объектно-ориентированный анализ и проектирование с примерами приложений. – 3-е изд./ Пер. с англ. – М.: ООО "И.Д.Вильямс", 2008.
4. URL: <https://github.com/ofTheo/videoInput>.
5. Bradski G., Kaehler A. Learning OpenCV. – O'Reilly, 2008. ISBN: 978-0-596-51613-0.

In particular, such form of data representation visually demonstrates the distribution of photosensitizer concentration and its dynamic variation in time, allows ensuring the tissue irradiation by laser with more accurate dose and direction for the optimal accomplishment of the treatment procedure using PDT methods.

CONCLUSION

As a result of the works execution, the software for imaging system of fluorescence spatial distribution during diagnostics and treatment using the methods of photodynamic therapy has been created. Object-oriented architecture of the imaging system has been developed; selection of the optimal variant of specific implementation with the active use of third-party libraries with open source code has been performed. The prototype of imaging system including hardware and software which successfully underwent clinical testing has been fabricated.

By now, in LLC "Atkus" the line of medical laser apparatuses of "Latus" series has been developed and successfully implemented in batch production. Apparatuses are characterized by the unique scheme of combining of semiconductor lasers radiation, up-to-date elemental base, and use of high-performance high-power laser diodes. Besides, LLC "Atkus" offers the system of photosensitizer fluorescence imaging with the commercial name "Fluovizor".

The work was executed within the framework of the project on development of cooperation of the Russian higher educational institutions and industrial enterprises (Agreement No. 13.G25.31.0055). According to the work results, the application for the patent on the device for photosensitizer fluorescence imaging during diagnostics and treatment using PDT method is submitted. Authors express their gratitude to M.L.Gelfond for the assistance in the system clinical testing.