

УДК [681.787+519.245]:[59.085+595.771]

## ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ В ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ С ОБРАБОТКОЙ ДАННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫМ МЕТОДОМ МОНТЕ-КАРЛО

П.С. Скаков<sup>а</sup>, М.А. Волынский<sup>а</sup>, И.П. Гуров<sup>а</sup>, П.А. Ермолаев<sup>а</sup>

<sup>а</sup> Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия, maxim.volynsky@gmail.com

**Аннотация.** Показана возможность применения последовательного метода Монте-Карло для обработки данных в корреляционной широкопольной оптической когерентной томографии для исследования биологических объектов. Предлагаемый алгоритм основан на статистической аппроксимации оцениваемых параметров взамен использования нелинейных функциональных преобразований. Приведены экспериментальные результаты обработки данных при исследованиях с помощью широкопольного оптического когерентного томографа, построенного на базе микроинтерферометра Линника, с последующим оцениванием огибающих сигналов последовательным методом Монте-Карло. Установлено, что результаты обработки содержат меньшее количество артефактов, обусловленных неустойчивостью работы алгоритма, по сравнению с результатами, полученными ранее с использованием метода расширенной фильтрации Калмана. Обработка данных широкопольного оптического когерентного томографа на основе последовательного метода Монте-Карло позволила наблюдать микроструктуру объекта с разрешением примерно 1 мкм. Экспериментальная апробация последовательного метода Монте-Карло проведена на примере анализа сигналов, полученных при исследовании переднего крыла комара-пискуна *Culex pipiens*, поскольку этот объект имеет малые размеры, малую толщину и сложную микроструктуру и поэтому является удобным тестовым объектом. Полученные результаты находятся в хорошем соответствии с результатами наблюдений методами классической микроскопии и представляют интерес для специалистов в области энтомологии и биоинженерии.

**Ключевые слова:** широкопольная корреляционная оптическая когерентная томография, последовательный метод Монте-Карло, анализ интерферометрических сигналов, биологические объекты.

**Благодарности.** Работа выполнена при государственной финансовой поддержке ведущих университетов Российской Федерации (субсидия 074-U01) и в рамках гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук № МК-1455.2014.8.

## INVESTIGATION OF BIOLOGICAL OBJECTS IN OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY WITH DATA PROCESSING BY SEQUENTIAL MONTE CARLO METHOD

P.S. Skakov<sup>а</sup>, M.A. Volynsky<sup>а</sup>, I.P. Gurov<sup>а</sup>, P.A. Ermolaev<sup>а</sup>

<sup>а</sup> ITMO University, Saint Petersburg, Russia, maxim.volynsky@gmail.com

**Abstract.** A possibility of sequential Monte Carlo method application for data processing in the full-field optical coherent tomography for studying of biological objects is demonstrated. The suggested algorithm is based on statistical approximation of the estimated parameters instead of nonlinear functional transformations. Experimental results of data processing in the studies using full-field optical coherence tomography system based on the Linnik micro-interferometer are given with subsequent signals envelope estimation by sequential Monte Carlo method. It was established that the processing results contain fewer artifacts caused by instability of the algorithm as compared with the previously obtained results using the extended Kalman filtering. Processing of the full-field optical coherence tomography system data involving the sequential Monte Carlo method gave the possibility to observe an object microstructure with resolution of about 1 μm. Experimental testing of sequential Monte Carlo method was performed by analyzing the signals obtained in the study of the front wing of the common house mosquito *Culex pipiens*, because this object has a small size, low thickness and complicated microstructure and, therefore, is a convenient test object. These results are in a good agreement with observations obtained by conventional microscopy techniques and can be of interest for specialists in the field of entomology and bioengineering.

**Keywords:** full-field time-domain optical coherence tomography, sequential Monte Carlo method, interferometric signals analysis, biological objects.

**Acknowledgements.** The work was done under government financial support for the leading universities of the Russian Federation (grant 074-U01) and within the Russian Federation President grant for the government support of young Russian PhD scientists № МК-1455.2014.8.

### Введение

Методы оптической когерентной томографии в настоящее время широко используются для контроля внутренней микроструктуры слоистых, частично прозрачных и случайно-неоднородных сред (см., например, [1–3]). В основе методов оптической когерентной томографии лежат принципы интерферометрии малой когерентности применительно к рассеивающим неоднородным средам, что обеспечивает разрешение до долей микрометра при восстановлении томографических изображений микроструктуры исследуемых объектов.

Ввиду высокой разрешающей способности в системах оптической когерентной томографии требуется обрабатывать значительные объемы информации, характеризующей исследуемые объекты. Наиболее высокая разрешающая способность как по глубине исследуемой среды, так и в боковом направлении достигается в корреляционных системах широкопольной оптической когерентной томографии [4, 5], осно-

ванных на использовании двухлучевого интерферометра с источником излучения малой когерентности и изменяемой оптической разности хода в интерферометре при регистрации интерференционных полей с помощью видеокамеры. Это позволяет селектировать слои среды по глубине объекта, по значениям огибающей сигнала каждого пикселя в последовательности зарегистрированных видеок кадров.

Принимая во внимание случайный характер микроструктуры биологических сред, для обеспечения требуемой достоверности получаемых результатов при обработке данных целесообразно использовать алгоритмы стохастической фильтрации [6]. Алгоритмы на основе фильтрации Калмана применительно к анализу данных в корреляционной оптической когерентной томографии и интерферометрии малой когерентности в достаточной степени исследованы (см., например, [6–10]) и имеют недостатки, один из которых состоит в неустойчивости алгоритмов при существенной локальной нелинейности используемых математических моделей, когда алгоритмы калмановского типа, как известно [6], не являются оптимальными. Особый интерес представляют алгоритмы, предполагающие замену использования нелинейных функциональных преобразований статистической аппроксимацией оцениваемых параметров. Одним из таких алгоритмов является сигма-точный фильтр Калмана (Unscented Kalman filter) [11], примененный в [6, 12] для задачи обработки данных в оптической когерентной томографии. Последовательный метод Монте-Карло [13, 14] основывается на более общем подходе по сравнению с сигма-точечным фильтром Калмана и состоит в статистической аппроксимации оцениваемых параметров с использованием множества («облака») значений параметров и соответствующего набора значений сигнала, что при обработке повышает устойчивость метода к случайным помехам. В настоящей работе рассматривается применение последовательного метода Монте-Карло для обработки интерферометрических сигналов, получаемых в системах корреляционной широкопольной оптической когерентной томографии при исследовании биологических объектов.

### Формирование сигналов в широкопольной корреляционной оптической когерентной томографии

Система корреляционной широкопольной оптической когерентной томографии (ОКТ) может быть реализована на базе микроинтерферометра Линника [1, 15, 16]. Принципиальная оптическая схема интерферометра Линника представлена на рис. 1, а.

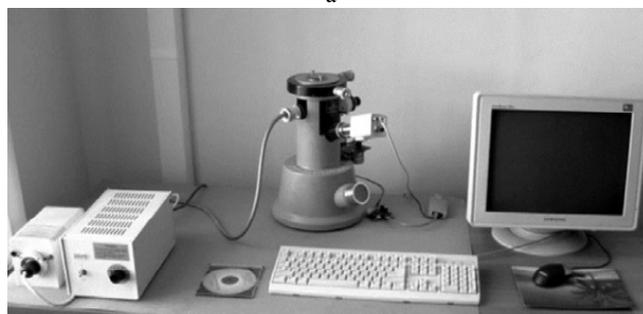
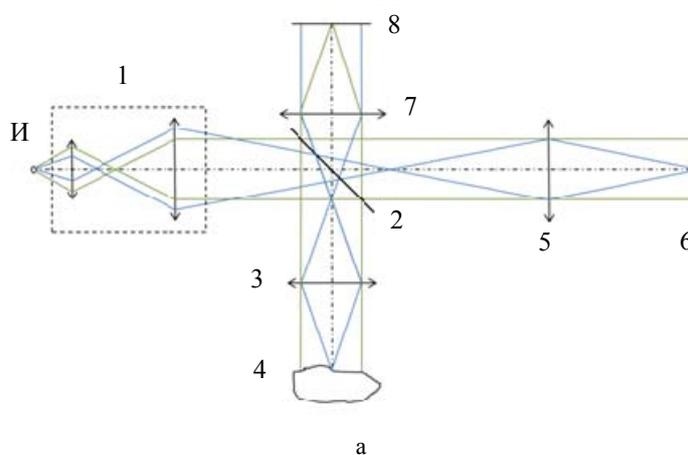


Рис. 1. Оптическая схема (а) и общий вид (б) системы широкопольной корреляционной оптической когерентной томографии: 1 – коллиматор; 2 – светоделитель; 3, 5 – микрообъектив; 4 – объект; 6 – опорное зеркало; 7 – тубусная линза; 8 – плоскость регистрации (матрица видеокамеры); И – источник излучения (выходной торец волокна)

Излучение от источника И с широким спектром, преобразованное в параллельный пучок света с помощью коллиматора 1, делится светоделителем 2 на две ветви – опорную и измерительную. В измерительном плече расположены микрообъектив 3 и исследуемый объект 4. В опорном плече установлены микрообъектив 5, оптически идентичный микрообъективу 3, и опорное зеркало 6. Поле интерференции проецируется с помощью тубусной линзы 7 на матрицу фотодетекторов (видеокамеру) 8. Сканирование по глубине образца осуществляется путем изменения оптической разности хода между опорной и измерительной волнами с помощью перемещения интерферометра относительно образца 4, что эквивалентно перемещению образца 4 вдоль оптической оси.

На рис. 1, б, представлен общий вид макета на основе модифицированного микроинтерферометра МИИ-4, реализующего представленную оптическую схему с автоматическим управлением и регистрацией видеокадров при помощи видеокамеры. В качестве источника излучения использована галогеновая лампа, излучение которой вводится в оптическое волокно. На схеме в позиции И размещается выходной торец волокна, который можно рассматривать как источник излучения конечных (малых) размеров. В макете использованы микрообъективы с увеличением  $40\times$ . В качестве приемника излучения используется черно-белая цифровая видеокамера VAC-135.

Разработанное программное обеспечение позволяет осуществлять управление микропозиционером (в том числе регулирование шага перемещения), накопление сигнала на матрице видеокамеры (в том числе съемка набора одинаковых изображений с последующим усреднением) и вывод на экран монитора текущей интерференционной картины в режиме реального времени. Результатом сканирования одного участка поверхности объекта является набор интерференционных картин, полученных через фиксированный интервал изменения оптической разности хода.

На рис. 2, а, иллюстрируется последовательность регистрируемых видеокадров, а на рис. 2, б, – пример интерферометрического сигнала, представляющего собой эволюцию значений сигнала в отдельном пикселе в латеральной плоскости по глубине среды (по номеру видеокадра). Обработка данных в системе корреляционной ОКТ сводится к задаче динамического оценивания параметров сигналов по последовательности видеокадров для каждого пикселя.

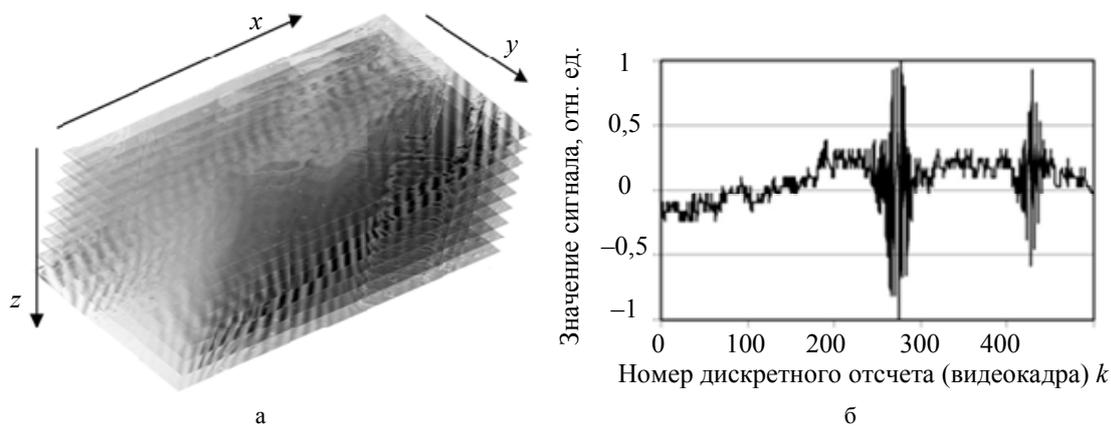


Рис. 2. Последовательность получаемых в процессе измерения видеокадров (а) и пример эволюции интенсивности одного пикселя (б)

#### Алгоритм обработки данных с помощью последовательного метода Монте-Карло

Параметры интерферометрических сигналов, как известно, определяются множеством факторов, в том числе геометрическими и оптическими свойствами измеряемого объекта, источником излучения и конфигурацией оптической системы [1, 16]. Модель интерферометрического сигнала, подобного представленному на рис. 2, б, может быть задана в дискретной форме:

$$s(k) = B(k) + A(k) \cos(\Phi(k)),$$

где  $B$  – фоновая составляющая интенсивности; амплитуда  $A$  характеризует значения видности интерферометрического сигнала и представляет собой огибающую сигнала;  $\Phi$  – значения полной фазы интерференционных полос малой когерентности;  $k = 0, 1, \dots, K-1$  – номер дискретного отсчета, т.е. номер регистрируемого видеокадра.

Параметры сигнала можно представить в виде вектора  $\theta = (B, A, \Phi)^T$  и рассматривать эволюцию параметров по последовательности видеокадров. Как упоминалось выше, в корреляционной ОКТ информацию о положении отражающих слоев в среде и степени отражения несет огибающая сигнала  $A$ .

Алгоритм обработки данных на основе последовательного метода Монте-Карло [13, 14] применительно к оцениванию огибающей детально рассмотрен в [17]. Приведем краткое описание алгоритма, который на каждом шаге фильтрации включает четыре этапа.

Этап 1. Генерация набора из  $N$  векторов параметров с известным законом распределения и заданными статистическими моментами (математическим ожиданием и дисперсией).

Этап 2. Формирование набора из  $N$  прогнозируемых значений сигнала (из сгенерированного на первом этапе набора векторов) в соответствии с известной моделью функции наблюдения.

Этап 3. Выбор  $M$  векторов ( $M < N$ ) так, чтобы невязка наблюдения и сформированного предсказания была наименьшей.

Этап 4. Вычисление математического ожидания для каждого из параметров по выбранным  $M$  векторам и его сдвиг в соответствии с априорной информацией об эволюции параметров (математическое ожидание используется для генерации нового набора из  $N$  векторов на следующем шаге фильтрации).

На рис. 3 приведен пример сигнала, представленного на рис. 2, б: результат вычитания фоновой составляющей из исходного сигнала и оценка огибающей.

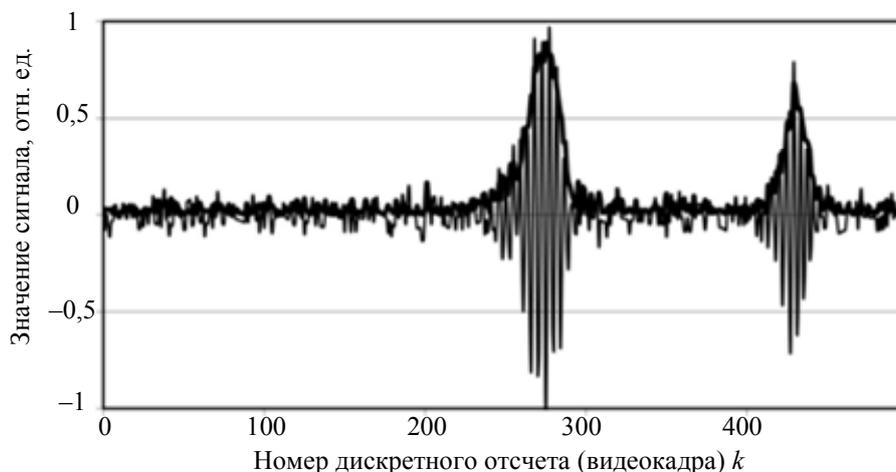


Рис. 3. Исходный сигнал без фоновой составляющей и оценка его огибающей

В простейшем случае обработка трехмерных данных сводится к независимой обработке каждого сигнала для соответствующего пикселя в латеральной плоскости объекта. Совокупность огибающих сигналов вдоль боковой координаты  $x$  объекта представляет собой двумерное томографическое изображение объекта в вертикальном сечении (В-скан).

#### Экспериментальное исследование биологического объекта

В качестве объекта исследования выбрано переднее крыло комара-пискуна *Culex pipiens*. Объект имеет малые размеры, малую толщину и сложную микроструктуру и поэтому является удобным тестовым объектом.

На рис. 4 представлена двумерная томограмма (В-скан) крыла. На рисунке видны две отражающие границы (верхняя и нижняя поверхности крыла), а также тонкая структура верхней поверхности, включая отдельные волоски (указаны стрелками). Визуализация трехмерной микроструктуры крыла (рис. 5) показывает, что верхняя часть крыла равномерно покрыта волосками. Также видно, что прожилка (по диагонали), в отличие от прилегающих к ней областей, отражает почти все падающее излучение, ввиду чего под ней не визуализируется участок нижней поверхности крыла, куда свет не проникает.

Детальный анализ структуры поверхностей крыла показывает, что они покрыты анизотропно направленными чешуйками (рис. 5, б). Наблюдаемая анизотропия структуры крыла позволяет рекомендовать для детального исследования данной микроструктуры методы поляризационной микроскопии и поляризационно-чувствительной ОКТ. Наблюдаемые особенности структуры соответствуют результатам, получаемым методами классической микроскопии [18], и представляют большой интерес для энтомологов и биоинженеров.

Полученные результаты показывают высокую разрешающую способность метода, обеспечивающего наблюдение деталей микроструктуры биологических объектов весьма малого геометрического масштаба.

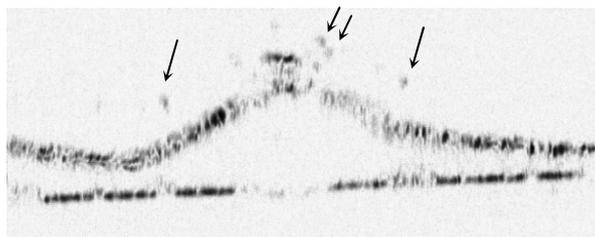


Рис. 4. В-скан переднего крыла комара-пискуна *Culex pipiens*. Высота 35 мкм, ширина 200 мкм

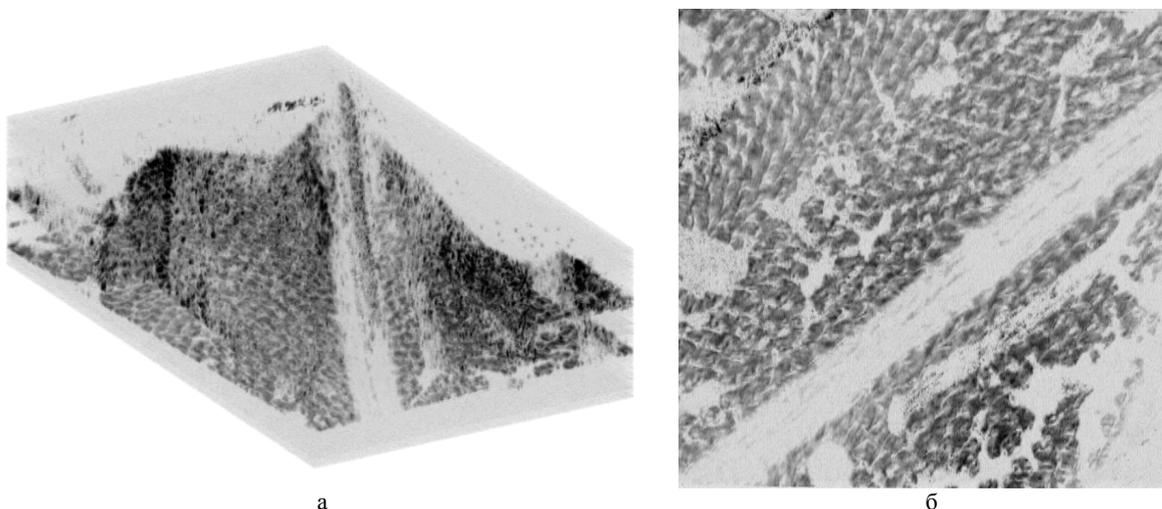


Рис. 5. Трехмерная томограмма крыла комара-пискуна (а) и С-скан нижней поверхности крыла (б). Высота 35 мкм, ширина 200 мкм, длина 160 мкм

#### Заключение

В работе показана возможность применения последовательного метода Монте-Карло для обработки данных в корреляционной широкопольной оптической когерентной томографии для исследования биологических объектов на примере тестового образца крыла комара. Полученные результаты содержат меньшее количество артефактов по сравнению с результатами, полученными авторским коллективом ранее при исследовании аналогичного биологического образца с обработкой данных методом расширенной фильтрации Калмана [9, 12].

Использование последовательного метода Монте-Карло позволило наблюдать микроструктуру объекта с разрешением примерно 1 мкм. Наблюдаемая анизотропия структуры крыла позволяет рекомендовать для детального исследования микроструктуры подобных объектов методы поляризационной микроскопии и поляризационно-чувствительной оптической когерентной томографии. Полученные результаты находятся в хорошем соответствии с результатами наблюдений методами классической микроскопии и представляют интерес для специалистов в области энтомологии и биоинженерии.

#### References

1. Gurov I.P. *Opticheskaya kogerentnaya tomografiya: printsipy, problemy i perspektivy* [Optical coherence tomography: basics, problems and prospects]. In *Problemy Kogerentnoi i Nelineinoi Optiki* [Problems of Coherence and Nonlinear Optics]. Eds I.P. Gurov, S.A. Kozlov. St. Petersburg, SPbSU ITMO Publ., 2004, pp. 6–30.
2. Tomlins P.H., Wang R.K. Theory, developments and applications of optical coherence tomography. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2005, vol. 38, no. 15, pp. 2519–2535. doi: 10.1088/0022-3727/38/15/002
3. *Optical Coherence Tomography. Technology and Applications*. Eds. W. Drexler, J.G. Fujimoto. Berlin: Springer-Verlag, 2008. 1376 p.
4. Dubois A., Grieve K., Moneron G., Lecaque R., Vabre L., Boccara C. Ultrahigh-resolution full-field optical coherence tomography. *Applied Optics*, 2004, vol. 43, no. 10, pp. 2874–2883. doi: 10.1364/AO.43.002874
5. Oh W.Y., Bouma B.E., Ifimia N., Yun S.H., Yelin R., Tearney G.J. Ultrahigh-resolution full-field optical coherence microscopy using InGaAs camera. *Optics Express*, 2006, vol. 14, no. 2, pp. 726–735.
6. Gurov I., Volynsky M. Interference fringe analysis based on recurrence computational algorithms. *Optics and Lasers in Engineering*, 2012, vol. 50, no. 4, pp. 514–521. doi: 10.1016/j.optlaseng.2011.07.015
7. Volynskii M.A., Gurov I.P., Zakharov A.S. Dynamic analysis of the signals in optical coherent tomography by the method of nonlinear Kalman filtering. *Journal of Optical Technology*, 2008, vol. 75, no. 10, pp. 682–686.
8. Gurov I., Sheynihovich D. Interferometric data analysis based on Markov nonlinear filtering methodology. *Journal of the Optical Society of America A: Optics and Image Science, and Vision*, 2000, vol. 17, no.1, pp. 21–27.
9. Volynskii M.A., Gurov I.P., Zhukova E.V. Recursion algorithms for processing video information in optical-coherence-tomography systems. *Journal of Optical Technology*, 2012, vol. 79, no. 11, pp. 698–703.

10. Ermolaev P.A. Dinamicheskoe otsenivanie parametrov interferometricheskikh signalov metodom rasshirennoi fil'tratsii Kalmana vtorogo poryadka [Dynamic estimation for parameters of interference signals by the second order extended Kalman filtering]. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*, 2014, no. 2 (90), pp. 17–22.
11. Wan E.A., van der Merwe R. The unscented Kalman filter, in *Kalman Filtering and Neural Networks* (ed. S. Haykin). NY: John Wiley & Sons, 2001, pp. 221–280. doi: 10.1002/0471221546.ch7
12. Volynsky M.A. *Rekurrentnye Algoritmy Obrabotki Danykh v Opticheskoi Kogerentnoi Tomografii. Diss. kand. tekhn. nauk* [Recurrent Algorithms of Data Processing in Optical Coherence Tomography. Candidate's eng. sci. thesis]. St. Petersburg, NRU ITMO, 2011, 112 p.
13. Simon D. *Optimal state estimation: Kalman, H $\infty$ , and Nonlinear Approaches*. NY: John Wiley & Sons Inc., 2006, 526 p.
14. Doucet A., de Freitas N., Gordon N. *Sequential Monte Carlo methods in practice*. NY: Springer-Verlag, 2001. 583 p.
15. Malacara D. *Optical Shop Testing*. NY: Wiley, 1978, 862 p.
16. Kolomiitsov Yu.V. *Interferometry: Osnovy Inzhenernoj Teorii, Primenenie* [Interferometers: Fundamentals of Engineering Theory, Application]. Leningrad, Mashinostroenie Publ., 1976, 296 p.
17. Volynsky M.A., Gurov I.P., Ermolaev P.A., Skakov P.S. Dinamicheskoe otsenivanie parametrov interferometricheskikh signalov na osnove posledovatel'nogo metoda Monte-Karlo [Dynamic parameters estimation of interferometric signals based on sequential Monte Carlo method]. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*, 2014, no. 3 (91), pp. 18–23.
18. Gutsevich A.V., Monchadskii A.S., Shtakel'berg A.A. *Nasekomye Dvukrylye. Komary* [Insects Diptera. Mosquitoes]. Leningrad, Nauka Publ., 1970, 384 p.

<b>Скаков Павел Сергеевич</b>	– ассистент, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия, pavelsx@gmail.com
<b>Волынский Максим Александрович</b>	– кандидат технических наук, доцент, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия, maxim.volynsky@gmail.com
<b>Гуров Игорь Петрович</b>	– доктор технических наук, профессор, зав. кафедрой, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия, gurov@mail.ifmo.ru
<b>Ермолаев Петр Андреевич</b>	– студент, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия, Petr-ermolaev@hotmail.com
<b>Pavel S. Skakov</b>	– assistant, ITMO University, Saint Petersburg, Russia, pavelsx@gmail.com
<b>Maxim A. Volynsky</b>	– PhD, Associate professor, ITMO University, Saint Petersburg, Russia, maxim.volynsky@gmail.com
<b>Igor P. Gurov</b>	– D.Sc., Professor, Department head, ITMO University, Saint Petersburg, Russia, gurov@mail.ifmo.ru
<b>Petr A. Ermolaev</b>	– student, ITMO University, Saint Petersburg, Russia, Petr-ermolaev@hotmail.com

*Принято к печати 31.03.14*

*Accepted 31.03.14*