

Prof. dr hab. inż. Marek Kurzyński  
Politechnika Wroclawska  
Wydział Elektroniki  
Katedra Systemów i Sieci Komputerowych

Wrocław, 6.03.2012

RAU	<b>Biuro Dziekana</b>	
	Wpłynęło dnia <u>16.03.12</u>	
	Nr <u>532</u>	/ zał. ....

### RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgra inż. Andrzeja Zachera  
pt. „Multispectral Endoscopic Imaging in Photodynamic Diagnosis by Monte Carlo Simulation of  
Light Propagation in Human Tissue”



Przedstawiona do recenzji praca doktorska jest rozprawą z zakresu wspomaganą komputerowo obrazową diagnostyką medyczną, a dokładniej rzecz ujmując jest poświęcona matematycznemu modelowaniu i komputerowej symulacji procesu diagnostyki fotodynamicznej.

Diagnostyka fotodynamiczna jako uznana i bezinwazyjna metoda postępowania lekarskiego w rozpoznawaniu stanów nowotworowych jest stosowana w bardzo wielu dziedzinach medycyny, takich jak dermatologia, gastroenterologia, urologia, czy pulmonologia. Jej istotą jest zjawisko absorpcji światła o określonej długości fali i wyemitowania światła o innej długości fali w specjalnie podawanej czynnej substancji (np. Protoporfiryna IX, stosowana przez autora w analizach i eksperymentach), która selektywnie kumuluje się w tkankach zmienionych nowotworowo.

W wyniku kontaktu promienia światła z powierzchnią tkanki dochodzi do jego odbicia, załamania i wnikięcia do wnętrza tkanki. Światło wewnątrz tkanki ulega – według określonych zasad – absorpcji, rozproszeniu oraz, w wyniku zjawiska fluorescencji, zmianie ulega jego oryginalne widmo. Dzięki temu światło opuszczające tkankę zawiera informację na temat struktur biologicznych znajdujących się poniżej powierzchni tkanki i przekazują ją do otoczenia w formie zmienionej energii, nowego widma optycznego oraz kierunku wyjścia. Aby wydobyć z tej informacji fakty użyteczne dla diagnostyki medycznej, należy z jednej strony poznać związki pomiędzy uzyskanym obrazem a procesami zachodzącymi wewnątrz tkanki, a z drugiej, opracować odpowiednie algorytmy jej komputerowego przetwarzania. Tej właśnie tematyce jest poświęcona recenzowana rozprawa doktorska i dlatego – z poznawczego i praktycznego punktu widzenia – uważam ją za interesującą i ważną dla współczesnych prac z zakresu komputerowo wspomaganą medyczną diagnostyką obrazową.

Rozprawa liczy 175 stron i składa się z 8 rozdziałów i spisu literatury obejmującej 93 pozycje (w tym 6 oryginalnych prac autora). W 4 pierwszych rozdziałach przedstawiono wprowadzenie w tematykę, motywację podjęcia tematu oraz cele i tezy pracy, a także tło literaturowe i informacje niezbędne dla zrozumienia dalszych części pracy. Trzy kolejne rozdziały zawierają oryginalne wyniki autora a rozdział ostatni podsumowuje rozprawę.

Celem pracy było wykazanie następujących tez:

1. Jest możliwe utworzenie modelu matematycznego podpowierzchniowego rozprzestrzeniania się światła w wybranej tkance ludzkiej, określonego przez zjawiska absorpcji, rozpraszania i fluorescencji.

2. Jest możliwe utworzenie takiego modelu, który wykorzystując metodę Monte Carlo jest w stanie wygenerować obrazy syntetyczne zgodne pod względem jakości z rzeczywistymi wielospektralnymi obrazami uzyskiwanymi w trakcie procesu fotodynamicznej diagnozy.
3. Utworzony model pozwala na zoptymalizowanie wybranych parametrów procesu akwizycji obrazów, takich jak kąt padania światła, widmo źródła światła, odległość od powierzchni badanej tkanki oraz umożliwia jednoznaczne rozróżnienie pomiędzy próbką tkanki zdrowej i nowotworowej.

W celu wykazania prawdziwości powyższych tez, doktorant określił, przeanalizował i rozwiązał szereg problemów badawczych, z których najważniejsze można ująć w następujące punkty:

1. **Opracowanie modelu tkanki ludzkiej skóry uwzględniającego rozkład koncentracji fluoroforów i jego wpływ na zjawisko fluorescencji.** Analiza zjawiska fluorescencji wymagała zbudowania modelu tkanki ludzkiej skóry oraz określenia własności substancji, z których tkanka jest zbudowana i mających wpływ na widmo światła odbitego. Przyjęto, że głównymi substancjami odpowiedzialnymi za naturalną autofluorescencję będą włókna kolagenowe (kolagen nie jest jedyną substancją fluorescencyjną w tkance skóry, jednakże dominuje nad pozostałymi i jego wpływ jest największy na wynikowe widmo), natomiast cząsteczki podawanej Protoporfiryny IX (substancji czynnej) będą wskazywały położenie komórek rakowych. W momencie kontaktu z padającym promieniem światła, każda z tych struktur w inny sposób rozprasza i absorbuje energię posiadaną przez fotony. Ponadto, dzięki właściwościom fluorescencyjnym tych substancji zdefiniowanym poprzez macierz pobudzenia i emisji (*excitation-emission matrix* – EEM) można na podstawie początkowego widma fotonu określić widmo emisyjne, czyli widmo, z jakim foton zakończy interakcję z cząsteczką fluorescencyjną. Przyjęto uproszczony model tkanki skóry, który zakłada, że skóra składa się tylko z jednej warstwy o parametrach (współczynniki załamania, pochłaniania, rozpraszania światła) będących uśrednionymi parametrami wszystkich 7 warstw tkanki rzeczywistej. Model zakłada, że w tej hipotetycznej warstwie umieszczone zostają substancje fluorescencyjne, zdolne do interakcji ze strumieniem fotonów. Aby jednak wyznaczyć końcowy efekt tej interakcji będący podstawą diagnostyki fotodynamicznej, potrzebna jest informacja o koncentracji cząsteczek substancji czynnej w tkance nowotworowej. Ponieważ informacja taka w źródłach literaturowych jest niedostępna, autor wprowadził pojęcie prawdopodobieństwa kontaktu fotonu światła z cząsteczką fluorescencyjną zadawanego na podstawie badań eksperymentalnych, które modeluje proces intensywności interakcji w zależności od koncentracji fluoroforów. Zaproponowany model, choć wykorzystuje mocno upraszczające założenia, okazał się w przeprowadzonych symulacjach komputerowych skuteczny i dobrze opisujący własności fotodynamiczne rzeczywistej tkanki skóry, co potwierdza prawidłowość przyjętych rozwiązań i koncepcji.
2. **Symulacja rozprzestrzeniania się promieni światła w tkance ludzkiej skóry wykorzystująca mapy fotonowe.** Opracowany algorytm, bazujący na metodzie Monte Carlo, symuluje propagację światła w ośrodkach rozproszonych (takich w których światło ulega interakcji z otoczeniem), a dane symulacji stanowią statystyczny model rozkładu wartości energii fotonów w analizowanym obszarze. W symulacji, oprócz standardowego efektu przedstawiającego oświetlony model tkanki i wartości widma odbitego, ujęto dodatkowo zjawiska fluorescencji i podpowierzchniowego rozpraszania światła. Wymagało to wprowadzenia fotonowej mapy wolumetrycznej, w której poszczególne fotony opisywane są w odniesieniu do struktury przestrzennej obiektu (powierzchnia

i jego wnętrze), co pozwala między innymi symulować zjawisko różnej lokalizacji miejsca wnikania promienia do obiektu i jego opuszczania. Na podstawie opracowanych procedur symulacji i map fotonowych można wygenerować obrazy, w których wartość każdego piksela jest pewnego rodzaju uśrednieniem wartości energii fotonów w jego najbliższym otoczeniu. Wyniki symulacji posłużyły jako podstawa ilościowych i jakościowych analiz, w celu znalezienia najlepszych parametrów źródła światła dla skuteczności diagnozy fotodynamicznej.

3. **Analiza wpływu wybranych parametrów źródła światła na efektywność procesu fotodynamicznej diagnostyki.** W celu szybszego rozróżnienia pomiędzy zdrową częścią tkanki, a tkanką z komórkami nowotworowymi, konieczne było znalezienie takiego źródła światła, które w jak największym stopniu zwiększy kontrast pomiędzy włóknami kolagenowymi, a substancją fluorescencyjną. W tym celu analizowano światło laserowe o różnej długości fali. Dla fali o długości 360 nm wpływ kolagenu był dominujący. Zwiększanie długości fali powodowało coraz większy kontrast pomiędzy kolagenem, a substancją czynną (Protoporfiryny IX), który okazał się największy dla fali o długości 400 nm. Badanie zjawiska fluorescencji kolagenu i substancji czynnej dla źródła światła białego i lampy ksenonowej wykazało, iż chociaż kontrast jest wciąż akceptowalny, to jednak jest zdecydowanie gorszy w porównaniu do poprzednich wyników, gdyż wciąż zauważalny jest wpływ kolagenu. Najgorszy rezultat został uzyskany dla lampy rtęciowej, w świetle której barwa fluorescencji kolagenu i Protoporfiryny IX była podobna (czerwona). Analizie symulacyjnej poddano również zależność efektu fluorescencyjnego od kąta padania promieni światła na powierzchnię tkanki. Z przeprowadzonych badań wynika, iż dla kąta ok. 30° energia fotonów mapy fotonowej jest największa i maleje, gdy kąt ten zmienia się w jedną lub w drugą stronę. Efekt ten został potwierdzony analizą wygenerowanych zdjęć dla różnych kątów padania promieni. Z uzyskanego rezultatu wynikają praktyczne wskazówki dotyczące sposobu prowadzenia procedury diagnostyki fotodynamicznej, aby efekt był najlepiej widoczny.
4. **Analiza ilościowa procesów rozchodzenia się światła w tkance skóry z wykorzystaniem map fotonowych.** W celu dokładniejszego zbadania zjawisk zachodzących w tkance ludzkiej skóry przeprowadzono badania symulacyjne pozwalające określić ilościowe związki pomiędzy kątem padania promieni światła na powierzchnię tkanki, kątem wyjścia fotonów na powierzchnię, widma światła fluorescencyjnego, maksymalną głębokością wnikania fotonów do tkanki oraz liczbą wyemitowanych fotonów. Uzyskane tu rezultaty są w pełni zgodne z odpowiednimi prawami fizycznymi, co stanowi kolejne potwierdzenie adekwatności zaproponowanego modelu tkanki skóry ludzkiej i skuteczności zastosowanej metody Monte Carlo do symulacyjnych badań własności skóry.
5. **Zbadanie zjawiska autofluorescencji i fluorescencji nowotworowej tkanki skóry.** Przeprowadzona została analiza porównawcza obrazów wielospektralnych dla skóry zdrowej oraz ze zmianami spowodowanymi rakiem podstawnocomórkowym skóry (*Basal Cell Cancer* – BCC), z której wynika, że obserwator, bez komputerowego przetworzenia tych obrazów, nie jest w stanie ich rozróżnić, a tym samym poprawnie postawić diagnozy. Na tym spostrzeżeniu bazuje propozycja, aby w celu znalezienia obszarów dotkniętych zmianami nowotworowymi, porównywać widmo obszarów zdrowych z obszarami z podejrzeniem raka. Jeśli w widmie dostrzegalna jest charakterystyczna wartość maksymalna (Protoporfiryna IX charakteryzuje się tym, że pod wpływem światła białego posiada wartość szczytową widma emisyjnego w okolicach 624 nm), to można wnioskować, że dany obszar zawiera substancję fluorescencyjną, i odwrotnie –

brak zauważalnej charakterystycznej luminescencji świadczy o braku zmian nowotworowych. Metoda jednak jest dość mało specyficzna, co utrudnia jej stosowanie w diagnostyce fotodynamicznej. Obrazy wielospektralne pozwoliły także na analizę zdrowej tkanki skóry dla różnych konfiguracji źródła światła. Badania, w których zmieniano odległość oraz kąt nachylenia źródła światła w stosunku do oświetlanej powierzchni potwierdziły, że parametry optyczne tkanki skóry, takie jak absorpcja lub rozpraszanie są silnie uzależnione od długości fali padającego światła. Zjawisko to nie zostało jednak uwzględnione w modelu tkanki i przyjęto, że wszystkie parametry są stałe i nie zależą od długości fali.

6. **Wygenerowanie syntetycznych obrazów tkanki skóry o własnościach zgodnych z obrazami rzeczywistymi uzyskanymi w trakcie diagnostyki fotodynamicznej.** Obrazy wygenerowane za pomocą algorytmu mapowania fotonów zostały porównane z obrazami rzeczywistymi, powstałymi wśród tych samych pacjentów, dla których otrzymano obrazy wielospektralne. Celem było pozyskanie obrazów pozwalających na późniejszą analizę pod kątem ewentualnego występowania substancji fluorescencyjnych. W trakcie analiz potwierdzono również, że kolor Protoporfiryny IX na obrazie rzeczywistym i wygenerowanym jest nierozróżnialny dla ludzkiego oka, co świadczy ponownie o prawidłowości modelu tkanki skóry.
7. **Opracowanie algorytmu analizy wielospektralnych obrazów.** Proces akwizycji obrazów wielospektralnych ma wiele wad (ręczna rejestracja utrudniająca synchronizację, kumulacja szumów), które znacząco utrudniają ich wykorzystanie w diagnostyce fotodynamicznej. Ponadto, brak informacji o lokalizacji zmiany nowotworowej eliminuje w zasadzie globalne podejście do zadania dyskryminacji tkanki zdrowej od zmienionej nowotworowo. Z tego względu, zaproponowana została metoda diagnostyczna, która wychodzi z analizy pojedynczych pikseli pozwalającej przypisać im miarę określającą zawartość widma Protoporfiryny IX w widmie sumarycznym, a następnie poprzez kolejne przekształcenia oraz segmentację umożliwia uzyskanie obrazów z wyróżnionymi obszarami zmian nowotworowych. Działanie metody zostało pozytywnie zweryfikowane w badaniach różnicowania tkanek zdrowych i nowotworowych oświetlonych światłem białym bądź niebieskim. Dodatkowo skuteczność metody potwierdzono w diagnostyce fotodynamicznej przewodu pokarmowego. Efektywność algorytmu wynika z faktu, że niweluje on efekty uboczne procesu akwizycji obrazów wielospektralnych i wskazuje położenie tkanki nowotworowej także w przypadku, gdy nie widać jej gołym okiem.
8. **Badania eksperymentalne opracowanej metody diagnostyki fotodynamicznej.** W przeprowadzonych badaniach 25 rzeczywistych obrazów wielospektralnych dla tkanki zdrowej i ze zmianami nowotworowymi (18 uzyskanych w świetle białym, a 7 w niebieskim) poddano działaniu opracowanego algorytmu diagnostycznego uzyskując prawidłową lokalizację zmian nowotworowych. Również pozytywny rezultat uzyskano dla wielospektralnych obrazów generowanych z wykorzystaniem opracowanego modelu i metody map fotonowych. Przeprowadzone badania wykazały, że możliwe jest stworzenie modelu tkanki ludzkiej, który w trakcie symulacji uwzględniałby takie zjawiska jak podpowierzchniowy transport światła, absorpcję i rozpraszanie światła oraz fluorescencję. Dzięki implementacji algorytmów propagacji światła w ośrodkach rozproszonych bazujących na metodzie Monte Carlo oraz mapach fotonowych, udało się wygenerować obrazy wielospektralne, które są jakościowo zgodne z obrazami rzeczywistymi. Opracowany model pozwolił na dokładniejsze zbadanie procesu diagnozy fotodynamicznej, a w szczególności etapu akwizycji zdjęć, którego wynikiem był dobór



parametrów (kąt padania promieni światła, widmo optyczne źródła światła oraz jego odległość od tkanki skóry) korzystnie wpływających na skuteczność procesu diagnozy. Dzięki zastosowaniu metod przetwarzania obrazów wielospektralnych możliwe jest rozróżnienie tkanki zdrowej od chorej oraz zlokalizowanie zmian nowotworowych. Przeprowadzone badania wymagały akwizycji rzeczywistych zdjęć od pacjentów, które uzyskiwane były w różnych warunkach. Nie miało to wpływu na skuteczność opracowanego algorytmu, który okazał się odporny na zmiany konfiguracji tkanek i oświetlenia. Zaproponowany model może mieć duże znaczenie dla lepszego poznania procesów zachodzących w tkance ludzkiej w trakcie diagnostyki fotodynamicznej bez konieczności prowadzenia badań z udziałem pacjentów i kosztownej aparatury.

Obok niewątpliwie wartościowych wyników, które wymieniłem, i które przesądają o pozytywnej ocenie całości, dostrzegam w recenzowanej rozprawie również niedostatki. Są one przede wszystkim związane z niejasnymi bądź niezręcznymi sformułowaniami lub usterkami redakcyjnymi. Przykładowo: brak objaśnienia symboli  $d_{col}$   $d_{por}$  stosowanych w tablicy 4.3,  $U$  – *pseudo inverse of  $U$  denoted by  $U^\dagger$*  (str. 103), *the most optimal* (str. 155), *Prof. hab. dr* (strona tytułowa). Ponadto, wydaje się, iż teza, że opracowany model umożliwia jednoznaczne rozróżnienie pomiędzy próbką tkanki zdrowej i nowotworowej, poparta jedynie wycinkowymi badaniami eksperymentalnymi, została sformułowana zbyt mocno.

Reasumując stwierdzam, iż mgr inż. Andrzej Zacher wykazał się dużą wiedzą z zakresu obrazowania medycznego, cyfrowego przetwarzania informacji obrazowej oraz zaawansowanych metod modelowania matematycznego i symulacji komputerowej, a także opanowaniem i właściwym posługiwaniem się odpowiednim warsztatem naukowym. Przedstawiona praca zawiera poprawnie sformułowany i rozwiązany problem badawczy oraz stanowi istotny i wartościowy wkład w dziedzinę komputerowego wspomaganie medycznej diagnostyki obrazowej. Zawarte w niej rezultaty obejmujące opracowanie modelu matematycznego procesów fotodynamicznych zachodzących w tkance ludzkiej, wykorzystanie modelu do opracowania metody diagnostyki wykrywającej zmiany nowotworowe oraz przeprowadzenie badań eksperymentalnych na obrazach rzeczywistych i symulowanych, są oryginalne i zostały przedstawione w sposób wyczerpujący na wysokim poziomie formalnego matematycznego opisu. Uważam, że praca doktorska Pana mgra inż. Andrzeja Zachera spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim przez odpowiednią Ustawę i wnioskuję o dopuszczenie jej do publicznej obrony.

M. Zacher