

# Statistická analýza vrstvy nervových vláken v barevných digitálních snímcích sítnice

Kolář R.<sup>1</sup>, Kuběna T.<sup>2</sup>, Černošek P.<sup>2</sup>, Jan J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, VUT v Brně, vedoucí prof. Ing. Jiří Jan, CSc.

<sup>2</sup>Oční ordinace, Zlín, vedoucí MUDr. Tomáš Kuběna

## SOUHRN

Tématem článku je sdělení o výsledcích analýzy vrstvy nervových vláken v barevných digitálních obrazech sítnice. Do studie je zařazeno 11 očí (9 pacientů) se zřetelnými fokálními výpadky vrstvy nervových vláken sítnice. Kontrolní skupinu tvoří 14 očí (7 pacientů). Jsou navrženy a vyhodnoceny základní statistické parametry, pomocí kterých lze výpadek ve vrstvě nervových vláken odlišit od neporušené vrstvy nervových vláken. Práce je zaměřena především na detekci fokálních výpadků.

**Klíčová slova:** vrstva nervových vláken, glaukom, počítačová denzitometrie, statistická analýza

## SUMMARY

*Statistical Analysis of the Nerve Fiber Layer in Color Digital Images of the Retina*

The topic of the article is to inform about the analysis of the nerve fiber layer in color digital images of the retina. The study group consists of 11 eyes (9 patients) with marked focal losses in the nerve fiber layer of the retina. The control group consists of 14 eyes (7 patients). The basic statistical parameters, which may distinguish the loss in the nerve fiber layer from the healthy nerve fiber layer, are suggested and evaluated. The study is focused particularly to detect the focal losses.

**Key words:** nerve fiber layer, glaucoma, computer densitometry, statistical analysis

*Čes. a slov. Oftal., 65, 2009, No. 2, p. 53–58*

## ÚVOD

O možnostech detekce vrstvy nervových vláken v barevných snímcích sítnice z fundus kamery se zmiňují autoři již z konce osmdesátých let. Metoda je často nazývána jako (počítačová) denzitometrie vrstvy nervových vláken (VNV). V jedné z prvních pilotních studií autoři Ludstrom a Eklundh [7] popisují metodu pro hodnocení vrstvy nervových vláken na digitalizovaných snímcích. Metodika hodnocení je založena na jasových profílech podél soustředných kružnic kolem centra optického disku. Autoři ukazují, že navržená metodika by mohla sloužit pro detekci a případné kvantitativní hodnocení difúzní atrofie vrstvy nervových vláken. Již v roce 1980 publikoval Frisén studii [3] s doporučením pro optimální snímání VNV na běžný fotografický film s využitím modrozelených filtrů.

Airaksinen a kol. [1] v roce 1984 uveřejnili studii, která se zabývá semi-quantitativním hodnocením VNV v černobílých snímcích v sektorech, které jsou umístěny kolem středu optického disku. Pro hodnocení, které je subjektivní, se používá navržená stupnice 0 až 4 (0 = bez výpadku VNV, 1 = podezřelý nález, 2 = ojedinělý výpadek VKV, 3 = rozsáhlý výpadek VNV, 4 = totální výpadek VNV).

S rozvojem počítačů se koncem devadesátých let začínají objevovat práce, které používají složitější parametry založené na texturní analýze VNV. Pelí a kol. [9] porovnávají některé tyto parametry pro pacienty s výpadkem zorného pole a pro zdravé pacienty a ukazují, že jsou schopny odlišit „zdravou“ a „nemocnou“ skupinu pacientů. Yosegan a kol. [12] uvádějí, že pomocí jeho metodiky je možné detekovat výpadky VNV s 80% až 90% přesností. V roce 1986 vyšlo rozsáhlé sdělení [10], ve kterém Quigley dokazuje na řadě případů, že je možné detekovat úbytek tloušťky VNV, a to do určité míry

i kvantitativně. Uvádí, že tloušťka VNV musí být minimálně v rozsahu 25 až 50 m, aby byla ve snímku vizuálně rozpoznatelná. Minimální pokles tloušťky VNV, který je detekovatelný, se pohybuje kolem 50 m se šířkou výpadku 250 m v blízkém okolí optického disku.

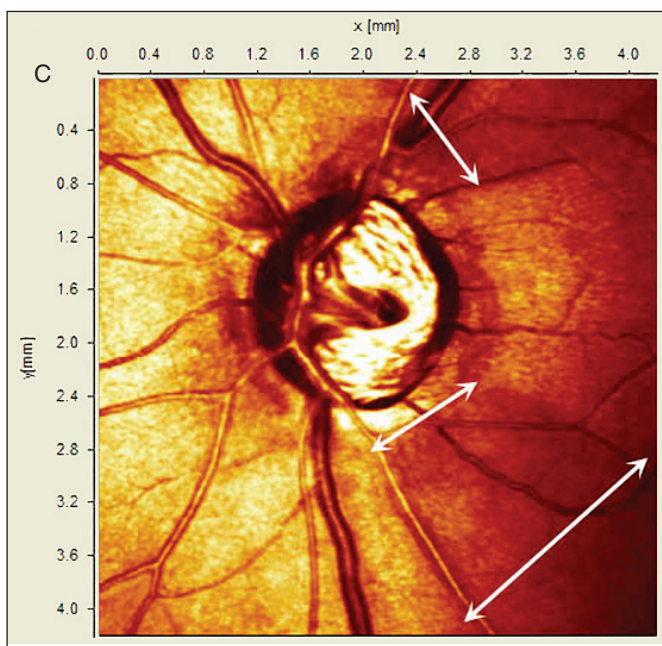
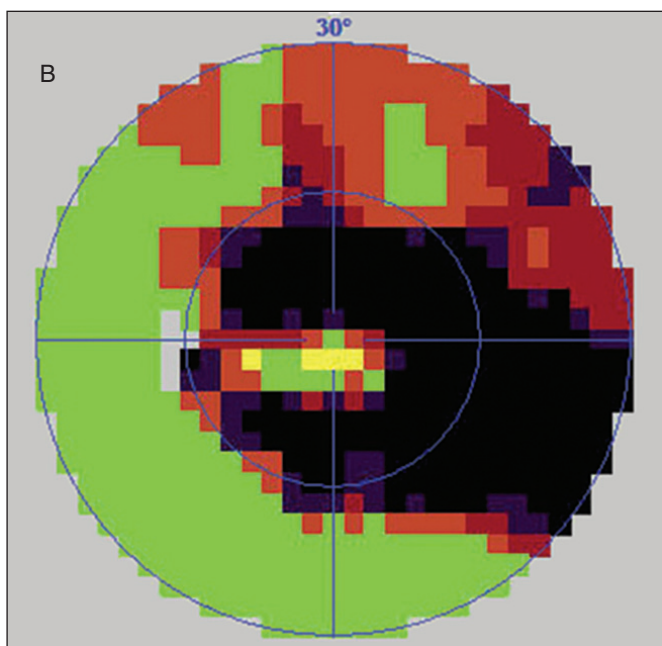
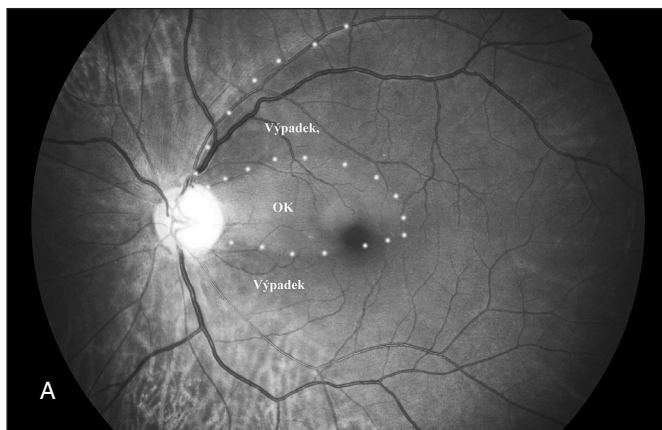
S rozvojem nových metod, především laserové skenovací polarimetrie (přístroje typu GDx) a optické koherentní tomografie (přístroje typu OCT) během devadesátých let minulého století došlo k poklesu zájmu o vyšetřování VNV pomocí digitálních fundus kamer. Zajímavé porovnání nových technologií z hlediska diagnostiky glaukomu a vrstvy nervových vláken lze nalézt práci Hoha [4]. Autor porovnává vlastnosti diagnostických metod, založených na HRT, GDx a OCT přístrojích. Uvádí výhody a omezení jednotlivých metod, avšak neuvádí žádné jasné doporučení pro některou z nich. Jejich specifita a senzitivita se pohybuje v rozsahu 70–80 %.

Během několika posledních let se zájem o hodnocení VNV pomocí fundus kamery opět zvýšil, což je zřejmě dáno možnostmi fotografovat digitálně a snímek dále upravovat počítačovými programy tak, aby vrstva nervových vláken a její změny u glaukomu byly lépe viditelné, i také tím, že fundus kamera je součástí základního vybavení oftalmologických pracovišť. Svědčí o tom i řada prací publikovaných na mezinárodních konferencích [např. 6, 8, 11].

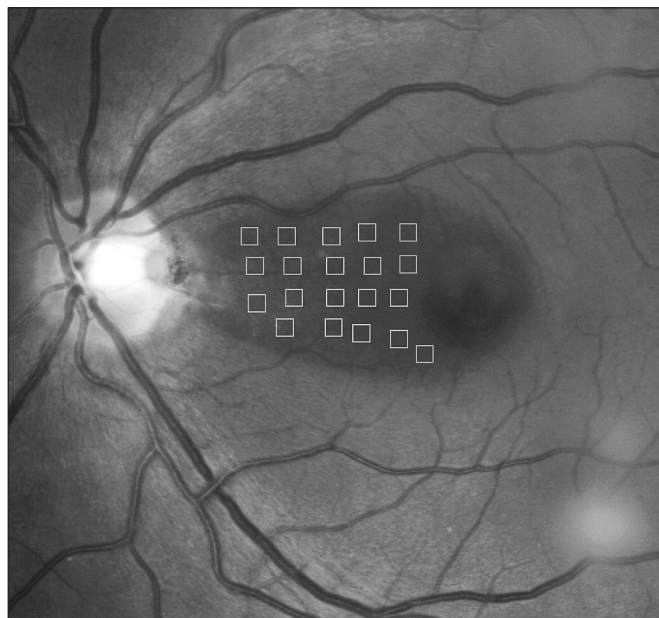
## METODIKA

### Data

Pro studii byly použity barevné snímky sítnice snímání pomocí fundus kamery Canon CF-60UV s digitální zrcadlovkou Canon EOS 20D. Velikost snímků byla 3504 x 2336 pixelů



Obr. 1. Ukázka korelace velkého výpadku VNV ve snímku sítnice (a) s perimetrickým vyšetřením (b) a vyšetřením pomocí HRT2 (c)



Obr. 2. Ukázka výběru vzorků

a velikost snímaného zorného pole byla 60°. Více informací o technice snímání lze nalézt v [5]. Snímky byly snímány ve formátu JPG s velmi malým kompresním poměrem, což je pro počítačovou analýzu nezbytné. Snímání bylo prováděno za použití bílého zdroje světla (xenonová výbojka) a byly pořízeny obvykle dva snímky. Jeden barevný s využitím celého barevného spektra (tzv. RGB snímek) a druhý byl snímán za použití modrozeleného excitačního filtru, který potlačuje spektrum světla odpovídající červené oblasti (tzv. GB snímek). Spektrální charakteristika tohoto filtru vykazuje maximum na vlnové délce 480 nm. Porovnáním těchto dvou snímků lze zjistit, že pokud použijeme z digitálního RGB snímku pouze zelenou a modrou složku, dostaneme snímek téměř shodný s GB snímkem. To vyplývá ze spektrálních vlastností použitého filtru. Můžeme tedy konstatovat, že modrozelený excitační filtr není pro snímání vrstvy nervových vláken nezbytný. V této práci jsme použili zelenou a modrou složku z RGB snímku a v některých případech GB snímek, pokud RGB snímek nebyl pořízen.

Do této studie byly zařazeny dvě skupiny pacientů, a to skupina s glaukomem a skupina kontrolní. Ve skupině s glaukomem bylo 11 očí (9 pacientů) se zřetelnými výpadky vrstvy nervových vláken ve snímcích sítnice. U dvou pacientů byl zahrnut snímek pravého i levého oka. U očí s větším rozsahem výpadku VNV byla pozorována úzká korelace s výpadky zorného pole na prahovém testu počítačového perimetru. U snímků s výpadkem v blízkém okolí zřetelného nervu byl výpadek pozorovatelný i ve snímcích z HRT2 (obr. 1). V každém z těchto snímků byly manuálně označeny oblasti, které obsahovaly výpadek vrstvy nervových vláken (celkem 160 oblastí, skupina A) a oblasti, které tyto výpadky neobsahovaly (celkem 165 oblastí, skupina B). Kontrolní skupinu tvořilo 14 očí, 7 osob s fyziologickým očním nálezem (pravé i levé oko) u nichž nebyl výpadek vrstvy nervových vláken pozorován v žádné části snímku. Z celkem 14 snímků bylo manuálně vybráno 310 vzorků tkáně (skupina C). Tabulka 1 shrnuje výše zmíněné oblasti použité pro další analýzu.

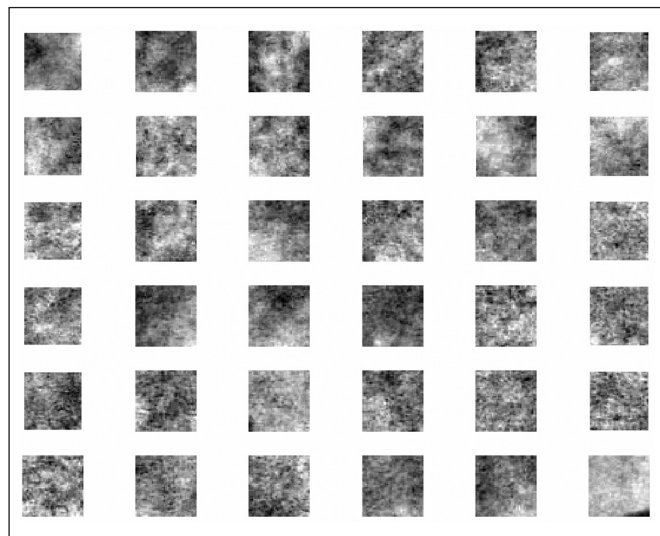
Ukázka vybraných vzorků v jednom snímku, který obsahuje výpadek, je na obr. 2. Velikost oblasti byla zvolena 41 x 41 pixelů, což vyplývalo z velikosti tkáňových struktur v získaném snímku. Pro náš účel by byla vhodnější i větší velikost, avšak bylo nutné vzít v úvahu především cévní řečiště, které je poměrně husté a do vybíraných oblastí nesmělo zasahovat, aby neovlivnilo následné výpočty.

Tab. 1. Data pro analýzu

Snímky	Počet pacientů	Počet očí/snímků	Celkový počet označených oblastí
Snímky s výpadkem – tkáň bez vrstvy nervových vláken A	9	11	160
Snímky s výpadkem – tkáň s vrstvou nervových vláken B			165
Snímky bez výpadku C	7	14	310

## VÝSLEDKY

Veškeré výpočty a zde prezentované dílčí obrazy byly získány v programovacím prostředí Matlab 7.1. Naší snahou je nalézt parametry, které popisují vybrané vzorky tak, aby na základě nich bylo možné snadno odlišit zda se jedná o tkáň, která obsahuje fokální výpadek VNV či nikoli. Pouhým pohledem na vybrané vzorky lze usuzovat, že takovéto parametry budou existovat, viz obr. 3, 4, 5.



Obr. 3. Ukázka 36 vybraných vzorků pro oblasti s výpadkem nervových vláken (skupina A)

Technika získání parametrů je taková, že v každé skupině (A, B, C) jsme pro jednotlivé vzorky tkáně určili a statisticky vyhodnotili parametry lokálních statistik. Jednalo se o parametry:

- průměr odstínu stupňů šedi –  $\mu$ ;
- směrodatná odchylka odstínu šedi –  $\sigma$ ;
- variační koeficient  $vc$  jako poměr  $vc = \sigma/\mu$ ;
- koeficient šikmosti histogramu –  $\gamma_1$
- koeficient špičatosti histogramu –  $\gamma_2$

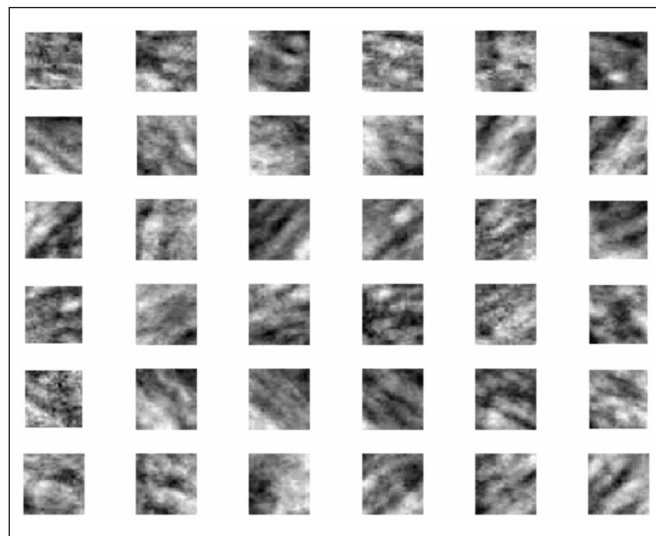
Koeficient šikmosti  $\gamma_1$  je mírou souměrnosti histogramu a koeficient špičatosti  $\gamma_2$  je mírou strmosti histogramu. Histogram je graf, který ukazuje četnost jednotlivých odstínů šedi v konkrétním snímku. Na vodorovné ose jsou jednotlivé odstíny šedi (od černé až po bílou, v našem případě je jich celkově 256) a na svislé ose je počet pixelů, které mají danou úroveň šedi. Význam koeficientů  $\gamma_1$  a  $\gamma_2$  je také ilustrativně v grafické formě znázorněn na obr. 6. Definici lze nalézt v matematických tabulkách, např. [2]. Zde uvedeme pouze definici méně běžných parametrů  $\gamma_1$  a  $\gamma_2$ :

$$\gamma_1 = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^3 p(x_i)}{\sigma^3}$$

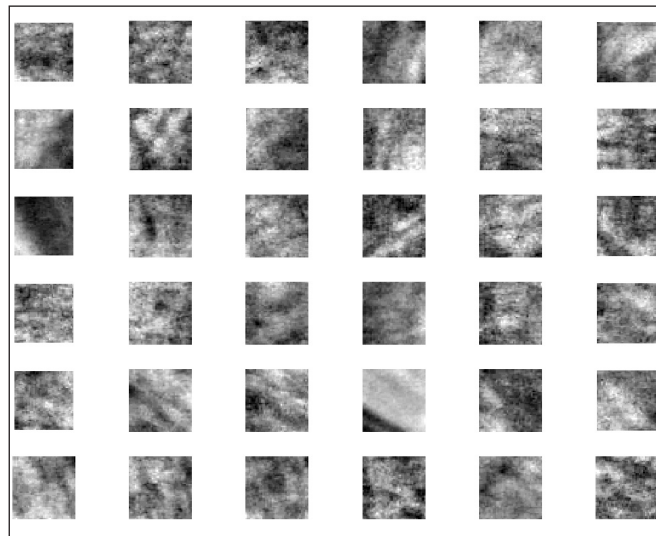
$$\gamma_2 = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^4 p(x_i)}{\sigma^4} - 3$$

kde  $p(x_i)$  je pravděpodobnostní rozložení náhodné veličiny, odhadnuté pomocí histogramu.

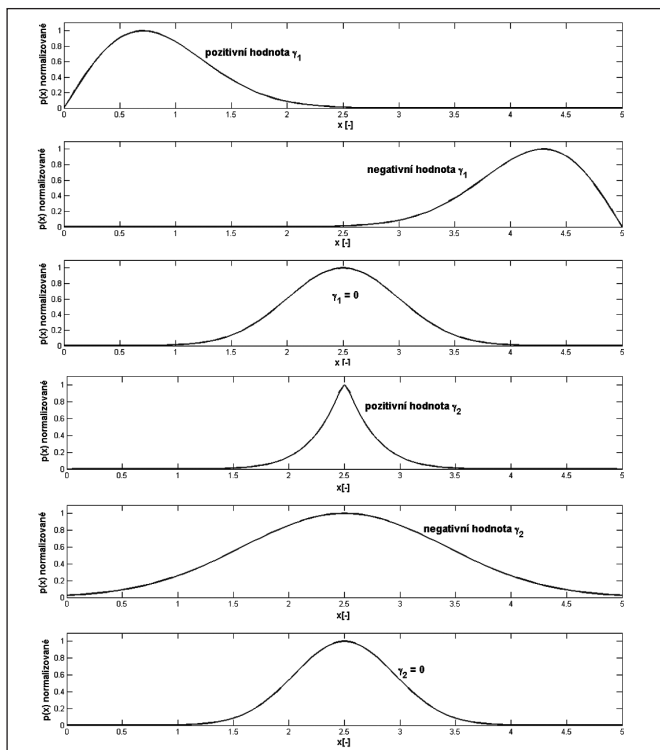
Tabulka 2 ukazuje hodnoty těchto parametrů a jejich směrodatné odchylky v uvedených skupinách. Význam parametru E (poslední sloupec) bude uveden níže.



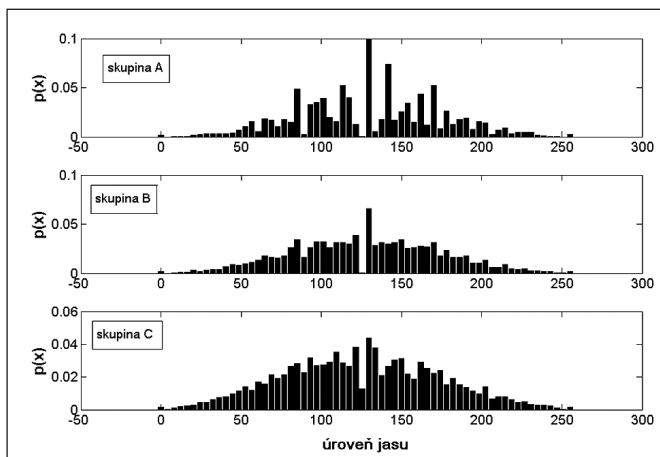
Obr. 4. Ukázka 36 vybraných vzorků mimo oblast s výpadkem u oka s glaukomem (skupina B)



Obr. 5. Ukázka 36 vybraných vzorků z kontrolní skupiny – zdravé oči s neporušenou VNV (skupina C)



Obrázek 6. Ilustrativní znázornění významu koeficientu šikmosti a koeficientu špičatosti



Obr. 7. Odhady rozložení pravděpodobnosti z vybraných vzorků v jednotlivých skupinách

Tab. 2. Hodnoty sledovaných parametrů

Skupina / parametr	$\mu$	$\sigma$	$\nu c$	$\gamma_1$	$\gamma_2$	E
A	72,7 ± 15,5	1,92 ± 0,75	0,027 ± 0,001	-0,01 ± 0,52	3,47 ± 1,74	2,89 ± 0,43
B	90,6 ± 22,3	2,89 ± 1,07	0,033 ± 0,012	0,01 ± 0,40	2,99 ± 0,60	3,55 ± 0,43
C	95,4 ± 11,6	4,07 ± 1,30	0,043 ± 0,013	0,14 ± 0,35	2,89 ± 0,84	4,39 ± 0,64

Prostým porovnáním hodnot v tabulce 2 lze usoudit, že většina parametrů se více či méně liší kromě parametru  $\gamma_1$ , který má vysoký rozptyl. Ke kvantitativnímu porovnání lze použít **t-test**, který slouží k testování rozdílu mezi tzv. populačním průměrem daného parametru (ze skupiny A nebo B) a populačním průměrem stejného parametru v kontrolní skupině (parametr ze skupiny C). Sledují se tedy rozdíly mezi dvěma výběrovými průměry [13].

Jako nulovou hypotézu  $H_0$  zvolíme: „Neexistuje žádný rozdíl v průměrných hodnotách sledovaného parametru mezi skupinami A a C (respektive B a C)“. Platnost této hypotézy budeme sledovat na (běžně používané) hladině významnosti  $p = 0,01$ . Tabulka 3 uvádí výsledky t-testu. Hodnoty 1 znamenají, že hypotézu  $H_0$  zamítáme.

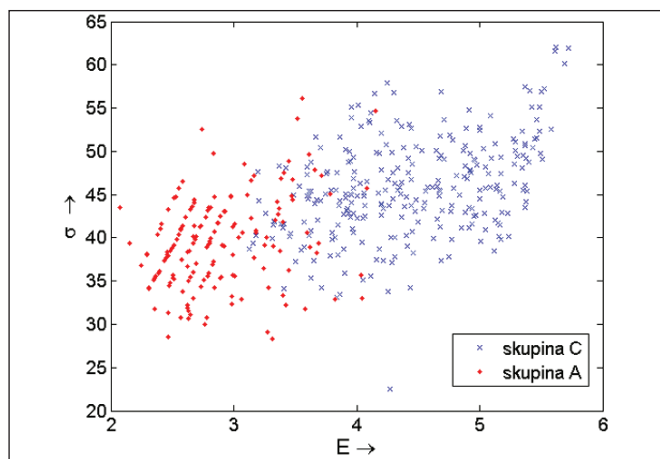
Tabulku 3 jsme ještě doplnili (poslední řádek) o výsledky t-testu, kde sledovanou veličinou byly hodnoty parametrů ze skupiny A a kontrolní skupinu tvořily hodnoty parametrů ze skupiny B. Porovnávali jsme zde tedy oblast s výpadkem vrstvy nervových vláken s oblastí bez výpadku, obě u oka s glaukomem.

Z tabulky 3 lze tedy usoudit, že existuje významný statistický rozdíl mezi průměrnými hodnotami parametrů  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\nu c$ ,  $\gamma_2$  a E. Parametr  $\gamma_2$  však trpí poměrně velkým rozptylem, zvláště ve skupině A, a je proto nevhodný.

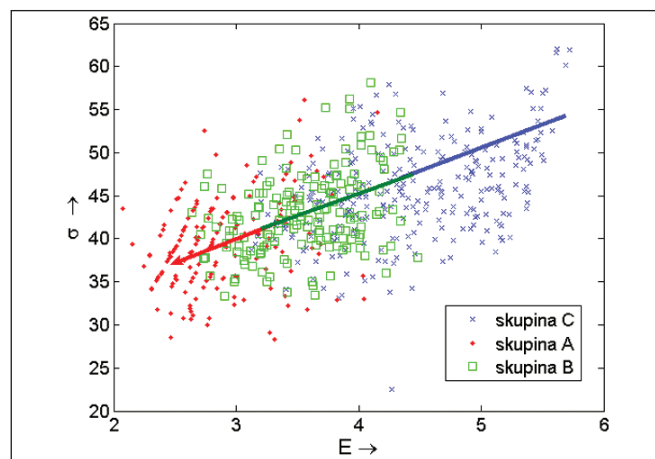
Dále jsme se zajímali o histogramy, které jsme použili pro odhad rozložení pravděpodobnosti hodnot úrovní šedi pro všechny tři skupiny. Obdrželi jsme tak tři průběhy, které jsou zobrazeny na obr. 7 a udávají, s jakými relativními četnostmi aproximují pravděpodobnosti jednotlivých úrovní stupňů šedi ve skupinách A, B a C. Je vidět, že se průběhy pro jednotlivé skupiny poměrně značně liší. Jednou z veličin, na kterou má průběh rozložení pravděpodobnosti vliv, je entropie E, kterou použijeme jako další sledovaný parametr. Entropie je definována jako:

$$E = \sum_{i=1}^n p(x_i) \cdot \log p(x_i),$$

kde  $p(x_i)$  je pravděpodobnost s jakou se vyskytuje určitá úroveň šedi ve snímku a je získána právě z průběhů na obr. 7. N je celkový počet stupňů (úrovní) šedi. Pro snímky které jsou výstupem z fundus kamery je  $N = 256$ , avšak pro výše uvedený výpočet bylo N zvoleno 64 (tj. byly sdruženy vždy 4 sousední třídy), aby byl odhad entropie statisticky stabilnější. Z t-testu lze usoudit, že na sledované hladině významnosti lze platnost hypotézy  $H_0$  zamítnout a můžeme tedy uvažovat o vhodnosti parametru E pro detekci výpadku VNV.



a)



b)

Obr. 8. Zobrazení parametrů E a  $\sigma$  pro jednotlivé skupiny.

Tab. 3. Výsledky t-testu pro sledované parametry

	$\mu$	$\sigma$	vc	$\gamma_1$	$\gamma_2$	E
A – C	1	1	1	0	1	1
B – C	1	1	1	1	1	1
A – B	1	1	1	0	1	1

## DISKUSE

Pokud se podíváme na hodnoty parametru  $\sigma$ , lze vidět, že jeho hodnota je poměrně velká ve skupině C. To koresponduje s pozorováním ve snímku, kde se vrstva nervových vláken projevuje zvýšenou hodnotou šedi (snímek je v místech vrstvy nervových vláken světlejší). Problémem ovšem je, že tato úroveň šedi se liší mezi jednotlivými měřeními (závisí na faktorech, které nelze ovlivnit, například velikost zornice, spolupráce pacienta, transparence lomných prostředí apod.) a nelze ji tudíž nějak kvantifikovat – tedy nalézt vztah mezi hodnotou stupně šedi a tloušťkou vrstvy nervových vláken. To lze provést pouze relativně v rámci jednoho snímku. Průměr je proto jako obecný parametr pro kvantifikaci nevhodný.

Směrodatná odchylka se jeví, jako vhodný parametr, kterým je možné odlišit výpadek VNV od zdravé tkáně, protože popisuje velikost odchylek od střední hodnoty, která může být různá. Lze ji tedy použít pro případné porovnání mezi snímky (například snímky s časovým odstupem pro sledování progresu onemocnění). Z hodnot v tabulce 2 je vidět, že nejmenší hodnota je pro skupinu A, což bylo možné předpokládat, protože vrstva nervových vláken se projevuje jako jemná (opakuje se) struktura (viz obr. 4) a pokud tato struktura zmizí, zmenší se právě také směrodatná odchylka.

Entropie E je podobně jako také vhodná pro odlišení výpadku a případné kvantitativní porovnání. Nejmenší hodnotu entropie mají vzorky ve skupině A, což lze vysvětlit tak, že při výpadku se ztratí výše zmíněná struktura a vzorek snímku je více homogenní. V obr. 7 to pak odpovídá výrazné hodnotě v rozložení pravděpodobnosti, která reprezentuje „šedé“ pixely, tedy pixely s úrovní šedi kolem hodnoty 128. Je to dáno tím, že struktura VNV ve skupině A není přítomna, na rozdíl od skupiny C, kde jsou zastoupeny pixely v celém rozsahu od 0

do 255 s přibližně Gaussovým rozložením, jak je vidět z histogramu.

Pokud tyto dva parametry (entropii a směrodatnou odchylku) zobrazíme pro skupinu A a kontrolní skupinu C (obr. 8a), tak zjistíme, že parametry pro obě skupiny vytvářejí shluky, které jsou poměrně dobře oddělitelné. To ukazuje na možnost jejich použití jako příznaky pro podporu diagnostiky. Jestliže do tohoto grafu zakreslíme i parametry pro skupinu B (obr. 8b), tak lze učinit zajímavý závěr. Při výpadku VNV dochází k výrazné změně parametrů E a jak je naznačuje šipka (modrá barva), oblast bez výpadku VNV u oka s glaukomem v prostřední části (zelená barva) a oblast s výpadkem VNV u oka s glaukomem v levé spodní části (červená barva).

## ZÁVĚR

Práci, které by se zabývaly touto problematikou, příliš mnoho není. Jedná se ve velké míře především o popis matematických postupů pro detekci vrstvy nervových vláken. Výsledky však zůstávají na úrovni základního výzkumu a bez praktické aplikace. Je to dáno i nedostatkem vhodných dat a určitým přesunem zájmu k novým metodám a přístrojům (OCT, GDx) pro přímou detekci vrstvy nervových vláken, které jsou však méně rozšířené, než digitální fundus kamera.

Tento příspěvek je prvním shrnutím práce, která se zabývá návrhem klinicky využitelné metodiky pro kvantitativní hodnocení fokálních výpadků vrstvy nervových vláken v digitálních barevných snímcích sítnice. Matematických metod potenciálně vhodných pro analýzu struktury VNV je více a budou v budoucnu testovány s cílem najít další specifické parametry pro její hodnocení. Cílem je umožnit využití digitální fundus kamery pro kvantitativní hodnocení VNV.

### Poděkování

Tato práce byla podporována výzkumným centrem DAR – 1M679855501 (Ministerstvo školství ČR) a z části také výzkumným programem VUT – MSM 0021630513 (Ministerstvo školství ČR).

## LITERATURA

1. Airaksinen, P.J. et al.: Diffuse and localized nerve fibre loss in glaucomas, Am J Ophthalmol., 98, 1984: 566–571.

2. **Bartsch, HJ.:** Matematické vzorce, Mladá fronta, Praha, 2002.
3. **Frisén, L.:** Photography of the retinal nerve fibre layer: an optimized procedure, *Brit J Ophthalmol.*, 64, 1980: 641–650.
4. **Hoh, ST.:** Evaluating the Optic Nerve Head and Retinal Nerve Fibre Layer: The Role of Heidelberg Retina Tomography, Scanning Laser Polarimetry and Optical Coherence Tomography, *Annals Academy of Medicine*, 36, 2007;1: 195–202.
5. **Kuběna, T., Černošek P., Klimešová K. et al.:** Digitální snímky vrstvy nervových vláken sítnice u zdravého oka a u glaukomu. *Čes. a slov. Oftal.*, 65, 2009: 3–7.
6. **Lee, SY. et al:** Automated quantification of retinal nerve fiber layer atrophy in fundus photograph, In: *Sborník referátů z 26th Annual International Conference of the IEEE IEMBS*, 2004.
7. **Lundstrom, M., Eklundh, J.O.:** Computer densitometry of retina nerve fibre atrophy – A pilot study, *Acta Ophthalmol.*, 58, 1980: 639–644.
8. **Oliva, AM., Richards D., Saxon, W.:** Search for Color-Dependent Nerve-Fiber-Layer Thinning in Glaucoma: A Pilot Study Using Digital Imaging Techniques, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 48, 2007: 48: E-Abstract 3309, ARVO 2007.
9. **Peli, E. et al.:** Computer measurements of retina nerve fiber layer strations, *Applied Optics*, 28, 1989; 6: 1128–1134.
10. **Quigley, H.A.:** Examination of the retinal nerve fibre layer in the recognition of early glaucoma damage, *Trans Amer Ophthalmol Soc.*, 1986, LXXXIV: 920–966.
11. **Tornow, RP., Laemmer, R., Mardin C.:** Quantitative Imaging Using a Fundus Camera, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2007, 48: E-Abstract 1206, ARVO 2007.
12. **Yogesan, K. et al.:** Texture analysis of retinal images to determine nerve fibre loss. In: *Sborník referátů z 14th International Conference on Pattern Recognition*, 1998.
13. **Zvárová, J.:** *Základy statistiky pro biomedicínské obory*, Karolinum – nakladatelství Univerzity Karlovy, Praha, 2001, 218 s.

Ing. Radim Kolář, Ph.D.

Ústav biomedicínského inženýrství, FEKT, VUT v Brně

Kolejni 4

612 00 Brno

kolarr@feec.vutbr.cz

## OZNÁMENÍ

Na 39. výročním setkání Ophthalmic Photographers' Society, které se konalo 7.–11. října 2008 v Atlantě v rámci AAO, byly uděleny panu Ivanu Kolínovi z Oční kliniky Lexum v Praze celkem dvě 1. ceny v kategorii

Chirurgická fotografie za snímky „Keraring Implantation Surgery“.

Srdečně blahopřejeme.

