

Vili Sipilä

HYPERSEKTRIKAMERAN TESTAUS KUDOSKUVAUKSESSA JA KUVA- ANALYYSITYÖKALUN KEHITTÄMINEN

Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunta
Kandidaatintyö
Toukokuu 2019

TIIVISTELMÄ

Vili Sipilä: Hyperspektrikameran testaus kuduskuvauksessa ja kuva-analyysityökalun kehittäminen / Hyperspectral Camera Testing in Tissue Imaging and Development of Image Analysis Tool

Kandidaatintyö

Tampereen yliopisto

Tekniikan ja luonnontieteiden kandidaatin tutkinto-ohjelma, biotekniikka

Toukokuu 2019

Työn lähtökohtana oli selvittää, millaisia hyperspektrikuvia saadaan erilaisilla kuvausasetuksilla ja määrittää sopiva kuvausasetelma kudosnäytteiden kuvaamiseen testikuvia ottamalla. Hyperspektrikuvien eri pikseleiden spektrejä haluttiin pystyä tutkimaan ja vertailemaan tarkoitusta varten kehitetyllä ohjelmalla. Lisäksi haluttiin selvittää hyperspektrikuvantamisen nykyisiä käyttökohteita.

Hyperspektrikuvantaminen on kuvantamismenetelmä, jossa kuvattavasta kohteesta mitataan spektri kuvan jokaisesta pikselistä kuvattavalla aallonpituusvälillä. Menetelmää käytetään muun muassa teollisuudessa etenkin laadunvalvontaan ja tutkimuksessa monilla sovellusalueilla kasvillisuuden kartoituksesta rikostutkimukseen. Lääketieteen käyttöön on olemassa useita hyperspektrikuvantamisen sovelluksia, joista tässä työssä perehdytään kudosnäytteiden tutkimiseen.

Kudosnäytteitä tutkittiin Specim IQ -hyperspektrikameralla, joka on kannettava, järjestelmäkameraa muistuttava ja ulkokäyttöönkin soveltuva laite. Kameralla kuvattiin laboratoriossa kamerajalustan avulla halogeenivalaistuksessa kudosnäytteitä siasta ja ihmisestä. Kuvia analysoitiin erillisen ohjelman avulla.

Työssä selvisi, millaisella kuvausasetelmalla saadaan laadukkaita hyperspektrikuvia ja millaisia asetuksia kamerassa voidaan käyttää kuduskuvauksessa. Havaittiin, että kudosnäytteiden eri kohdissa spektreissä on merkittäviä eroja. Kuvien värimaailman muuttaminen väärävärin luonnilla ei tuonut kudoksen eri alueiden spektrieroja esiin paremmin kuin tavallista muistuttavan värimaailman kuva. Osana työtä toteutettiin käyttökelpoinen analyysityökalu, jota voidaan käyttää aiheen tutkimuksessa myöhemminkin.

Avainsanat: hyperspektrikuvantaminen, hyperspektrikamera, kuvantaminen, kuva-analyysi, kuvaan perustuvat mittaukset, spektroskopia

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -ohjelmalla.

ALKUSANAT

Tämä kandidaatintyö tehtiin Tampereen yliopiston lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunnan anturitekniikan ja biomittausten tutkimusryhmässä. Kiitän tutkimusryhmää mahdollisuudesta tehdä kandidaatintyöni kyseisestä aiheesta. Erityisesti haluan kiittää työni ohjaajaa Anton Kontusta, joka antoi aktiivisesti palautetta työstäni ja jonka kanssa kommunikaatio oli sujuvaa, sekä Heimo Ihalaista kuva-analyysissa apuna toimimisesta. Kiitokset kuuluvat myös kehitysehdotuksia antaneille ja työssä mukana olleille Antti Vehkaojalle ja Markus Karjalaiselle.

Tampereella, 15.5.2019

Vili Sipilä

SISÄLLYSLUETTELO

1.	JOHDANTO	1
2.	HYPERSEKTRIKUVANTAMINEN	3
2.1	Hyperspektrikuvantaminen syövän tunnistuksessa	5
2.2	Hyperspektrikuvantamisen käyttö muissa lääketieteellisissä sovelluksissa	7
2.3	Hyperspektrikuvien analysointi	9
3.	MATERIAALIT JA MENETELMÄT	11
3.1	Specim IQ -hyperspektrikamera	11
3.2	Kuvausasetelma	12
3.3	Kuvattavat kudokset	15
3.4	Kuva-analyysin ohjelmakoodi	15
4.	TULOKSET	17
4.1	Kuvausparametrien vaikutus kudokuvaan	17
4.2	Väärävärikuvat	19
4.3	Spektrien vertailu	22
5.	YHTEENVETO	25
	LÄHTEET	27

KUVALUETTELO

Kuva 1. <i>Specim IQ Studion käyttöliittymä. a) Kuva oletusaallonpituuksilla b) Kuva muutetuilla aallonpituuksilla.....</i>	10
Kuva 2. <i>Specim IQ -hyperspektrikamera</i>	12
Kuva 3. <i>Kameran sijainti kudonäytteeseen nähden</i>	13
Kuva 4. <i>Kuvattavan näytteen valaistus.....</i>	14
Kuva 5. <i>Integrointiajan vaikutus ylivalottuneisiin alueisiin. Integrointiajat ovat a) 5 ms, b) 15 ms ja c) 40 ms.....</i>	18
Kuva 6. <i>RGB-kuva Specim IQ:n etsinkamerasta</i>	19
Kuva 7. <i>Matlab-ohjelmalla luotu alkuperäistä RGB-kuvaa muistuttava väärävärikuva</i>	20
Kuva 8. <i>Käyttöliittymän ikkuna aallonpituusalueiden syöttämistä varten.....</i>	21
Kuva 9. <i>Väärävärikuva käyttäjän määräämillä värikanavien aallonpituuksilla</i>	22
Kuva 10. <i>Kuvasta valitut pikselit.....</i>	23
Kuva 11. <i>Valittujen pikseleiden spektrit</i>	23

LYHENTEET JA MERKINNÄT

RGB	Red, Green and Blue eli punainen, vihreä ja sininen. Termiä käytetään puhuttaessa värivalokuvauksessa käytettävästä kameran kennosta.
<i>In vivo</i>	Elävässä organismissa tehtävä tutkimus
<i>In vitro</i>	Laboratoriossa lasimaljoissa tai koeputkissa tehtävä tutkimus

1. JOHDANTO

Lääketieteellisessä diagnosoinnissa on usein ongelmana, että diagnoosin tekemiseksi potilaasta pitää ottaa koepala tai vaihtoehtoisesti haluttua ominaisuutta pitää mitata kehon sisältä leikkaushaavan kautta. Erilaiset kuvantamismenetelmät helpottavat diagnosointia, sillä niiden avulla voidaan tunnistaa erilaisia sairauksia tai vammoja kajoamatta kehoon. Esimerkkejä kaikille vähintäänkin nimenä tutuista kuvantamismenetelmistä ovat röntgenkuvaus ja magneettikuvaus. Röntgenkuva on helppo ja nopea ottaa, mutta sen selkeänä haittapuolena on potilaaseen kohdistuva haitallinen röntgensäteily, jolle altistuminen lisää syöpäriskiä. Lisäksi röntgenkuvaus soveltuu lähinnä luuston ja keuhkojen kuvaamiseen. Röntgenkuvauksella ei voida tutkia esimerkiksi verenkiertoa tai ihon pintarakenteita. Magneettikuvauksella pystytään tutkimaan kehon eri kudoksia, pehmytkudokset mukaan lukien, ja verenkiertoa hyvinkin tarkasti, mutta menetelmä on kallis ja hidas. Potilaan pitää pysyä paikallaan koko kuvauksen ajan, ja kuvauksen kesto voi olla suurella kuvausalueella tai korkealla tarkkuudella kuvattaessa jopa 45 minuuttia. Magneettikuvaukseen tarvittava laitteisto on todella suurikokoinen ja kallis, minkä takia kynnys magneettikuvauksen käyttöön on melko korkea. Magneettikuvaus ei kuitenkaan luo ionisoivaa säteilyä, minkä takia se on turvallisempi kuvantamismenetelmä kuin röntgenkuvaus. Edellä mainittujen rajoitteiden takia lääketieteessä on tarve uusille kuvantamismenetelmille.

Hyperspektrikuvantaminen on menetelmä, jossa käytetään erikoiskameraa. Kamera tallentaa kuvan jokaisesta kuvapistestä spektrin, jossa näkyy kuvattavan kohteen yksittäisen pisteen lähettämän tai heijastaman säteilyn spektrin intensiteetit siltä aallonpituusalueelta, jota kamera pystyy kuvaamaan. Tuloksena yhdestä pikselistä saadaan siis käyrä, jossa vaaka-akselilla on aallonpituus ja pystyakselilla intensiteetti. Tällä kuvantamismenetelmällä voidaan saada paljon tarkempaa tietoa kuvattavasta kohteesta kuin paljaalla silmällä. Hyperspektrikamerat toimivat usein näkyvän valon ja lähi-infrapuna-alueen aallonpituuksilla. Hyperspektrikuvantamista on käytetty lääketieteellisessä diagnosoinnissa vähintään tutkimuskäytössä esimerkiksi ihon happisaturaation mittaamisessa diabetesta sairastavilla potilailla [1] ja terveiden solujen erottamisessa syövän esivaiheessa olevista soluista ja syöpäsoluista [2]. Kannettavien hyperspektrikameroiden saatavuus on mahdollistanut lukuisia uusia kuvantamistapoja,

sillä kannettavalla hyperspektrikameralla voidaan kuvata lähes missä vain. Sen ansiosta tarvittaessa hyperspektrikameralla voidaan ottaa kuvia myös potilaan kotona tai suoraan potilashuoneessa ilman erillistä hoituhuonetta pelkästään hyperspektrikuvantamista varten. Hyperspektrikamera tarvitsee kirkkaan valaistuksen toimiakseen kunnolla, mutta se on kuitenkin helpommin järjestettävissä kuin kiinteä huone vain yhteen käyttötarkoitukseen.

Työn teoriaosuuden tavoitteena oli tehdä kirjallisuuskatsaus hyperspektrikuvantamisen käytöstä erityisesti lääketieteessä. Kokeellisen osuuden tavoitteina oli testata hyperspektrikameraa kuduskuvauksessa ja tutkia kuvantamisessa käytettävien parametrien, kuten valotusajan, vaikutusta lopulliseen kuvaan sekä ohjelmoida työkalu, jolla voidaan tarkastella eri pikseleiden spektrejä ja luoda väärävärikuvia kuduskuvien tarkempaan tutkimiseen. Kappaleessa 2 keskitytään hyperspektrikuvantamisen peruseräisiin ja kerrotaan menetelmän käytöstä lääketieteessä yleisesti ja tarkemmin syövän tunnistuksessa. Kappale 3 kuvaa tarvittavaa laitteistoa, kuvattavia kudoksia ja kuvankäsittelyyn luotua ohjelmakoodia. Tämän jälkeen kappaleessa 4 kerrotaan tärkeimmistä tuloksista ja havainnoista, minkä jälkeen kappaleessa 5 tehdään yhteenveto koko työstä.

2. HYPERSEKTRIKUVANTAMINEN

Hyperspektrikuvantaminen on kuvantamistekniikka, jonka avulla mitataan tietoa sähkömagneettisen spektrin aallonpituuksista kuvattavasta kohteesta tietyltä aallonpituusväliltä. Hyperspektrikameran keräämä data sisältää kuvan jokaisen pikselin spektrin eli säteilyn intensiteetin tietyllä aallonpituusvälillä tietyllä resoluutiolla. Hyperspektri-sanalla viitataan siihen, että mitattava spektri on jatkuva, eli kamera kerää tietoa kaikilta aallonpituuksilta kameran mahdollistamalta aallonpituusalueelta jollakin tietyllä aallonpituusresoluutiolla, joka voi olla esimerkiksi 1 nm. Usein hyperspektrikamera kuvaa näkyvän valon aallonpituuksien, eli 400-700 nm, lisäksi infrapunasäteilyä näkyvän valon aallonpituuksia lähellä olevilta aallonpituuksilta esimerkiksi 1000 nm:iin asti. Kuitenkin hyperspektrikameralla on mahdollista myös kuvata pelkästään pidempiä aallonpituuksia jopa mikrometriluokan aallonpituuksiin eli lämpösäteilyyn asti [3].

Hyperspektrikuvat ovat datamäärältään hyvin suuria verrattuna tavallisen kameran ottamiin kuviin tiedon tallennustavan vuoksi. Hyperspektrikuviissa jokaisesta kuvapisteestä eli pikselistä pitää tallentaa tieto mitatusta spektristä. Jos kuvataan aallonpituusväliä 400–1000 nm ja kameran aallonpituusresoluutio on 3 nm, yhdestä pikselistä tulee 200 eri intensiteettiarvoa, joista jokainen vastaa 3 nm levyisen aallonpituuskaistan intensiteettiarvoa. Tavallisessa värivalokuvauksessa käytettävässä kamerassa eli RGB-kamerassa yhdestä pikselistä tallennetaan ainoastaan kolme eri arvoa, jotka kuvaavat punaisen (R), vihreän (G) ja sinisen (B) alueen valon intensiteettiarvoja. Tästä syystä yksittäisen kuvatiedoston koko voi olla hyperspektrikuville jopa satoja megatavuja. Suuri datamäärä rajoittaa hyperspektrikuvantamisen käyttöä, sillä suurikokoisten tiedostojen prosessointi vaatii paljon laskentatehoa, joka on kallista. Hyperspektrikamerat ovat lisäksi kalliita verrattuna tavallisiin kameroihin, mikä nostaa niiden käyttökynnystä. Hinta on tyypillisesti kymmeniä tuhansia euroja.

Tarvittava valaistus on hyperspektrikuvantamisessa huomattavasti voimakkaampi kuin tavallisessa valokuvauksessa [4]. Tämä johtuu siitä, että kennon yhdelle aallonpituuskaistalle menee hyperspektrikuvantamisessa merkittävästi vähemmän valoa kuin yhdelle värialueelle tavallisessa valokuvauksessa. RGB-kamerassa kuvattavasta aallonpituusalueesta kuhunkin värikanavaan menee noin kolmasosa kennoon tulevasta

valosta. Hyperspektrikamerassa aallonpituusalue on voitu jakaa esimerkiksi kahteensataan eri kaistaan, minkä vuoksi yhteen kanavaan meneekin vain yksi kahdessadasosa eli 0,5 % kaikesta kennoon tulevasta valosta. Kameroiden kennot eivät koskaan ole ideaalisia, vaan kennoissa on aina häiriöitä, joiden vuoksi hyvin pienen valomäärän aiheuttamaa jännitettä ei voida lukea tarkasti. Jotta ongelmasta päästään eroon, on valaistuksen tehoa nostettava monikymmenkertaiseksi tai vaihtoehtoisesti pidennettävä valotusaikaa. Valotusajan pidentäminen on kuitenkin epäkäytännöllistä kuvauksen kannalta, sillä se hidastaa kuvantamista.

Mikä tahansa voimakas valaistus ei kelpaa valonlähteeksi hyperspektrikuvantamisessa, sillä valaistuksen voimakkuuden lisäksi toinen oleellinen asia on valaistuksen spektri [4]. Valaisimen lähettämän valon spektrin tulee olla jatkuva aallonpituusvälillä, jota käytettävä hyperspektrikamera kuvaa. Jos näin ei ole, kuvauskohteesta mitattavasta spektristä puuttuu aallonpituusalueita, minkä takia tulokset eivät ole luotettavia tai vertailukelpoisia muihin mittaustuloksiin nähden. Viime vuosina voimakkaasti yleistyneet LED-valot eivät yleisesti ottaen täytä hyperspektrikuvantamisen vaatimuksia, koska niiden spektrissä on tyypillisesti yksi tai useampi aallonpituusalue, jolla intensiteetti on korkea, mutta muilla aallonpituuksilla intensiteetti on matala. Loisteputkilamppujen lähettämässä spektrissä on sama ongelma, minkä vuoksi nekään eivät sovi yleisesti hyperspektrikuvantamiseen. Halogeenivalaisimet ovat tarkoitukseen sopivia valaisimia, sillä niiden lähettämä spektri on huomattavasti tasaisempi kuin LED- tai loisteputkilampuilla. Ulkotiloissa hyperspektrikuvantamiseen sopii valaistukseksi myös auringonvalo, sillä auringonvalolla on jatkuva spektri ja se on myös voimakasta. Auringon ollessa lähellä horisonttia valon spektri muuttuu sirontailmiön takia ja intensiteetti pienenee, joten auringonnousun ja auringonlaskun aikaan ei voida ottaa hyperspektrikuvia ulkona auringonvalossa.

Hyperspektrikuvantamisessa voidaan käyttää useita eri menetelmiä kuvan luomiseen. Käytettyjä menetelmiä ovat whiskbroom-skannaus, pushbroom-skannaus, aallonpituus-skannaus säädettävillä suotimilla, Fourier-muunnosinfrapunaspektroskopia ja koko datakuution kuvantaminen kerralla [5]. Whiskbroom-skannauksessa anturi mittaa koko spektrin yksittäisestä pisteestä kerrallaan ja siirtyy sitten seuraavaan kuvapisteeseen. Pushbroom-skannauksessa puolestaan skannataan kuvattava alue viiva kerrallaan siten, että tietyllä hetkellä tallennetaan viiva-anturin kaikkien pikseleiden spektrit, minkä jälkeen skanneri siirtyy seuraavaan kohtaan kuvattavalla alueella. Pushbroom-skannaus voidaan toteuttaa myös niin, että kamera pysyy paikallaan ja kuvattava kohde liikkuu. Tästä syystä menetelmää voidaan käyttää liukuhihnoilla

esimerkiksi tuotantolaitoksissa laadunvalvonnassa [6]. Aallonpituusskannauksella säädettävillä suotimilla tarkoitetaan, että mitataan koko kuvan alueelta tietyn aallonpituusvälin intensiteetti-arvot kerralla. Suotimia säätämällä saadaan valon tietyt aallonpituudet menemään suodinten läpi ja muut poistettua anturikennolle menevästä valosta. Näin käydään koko hyperspektrikameran kuvaama aallonpituusalue läpi, jotta muodostuu lopullinen moniulotteinen hyperspektrikuva.

Fourier-muunnosinfrapunaspektroskopia puolestaan on nimensä mukaisesti infrapuna-alueella käytetty menetelmä, jossa skannataan kerralla korkealla aallonpituusresoluutiolla suurta aallonpituusväliä. Koko datakuution kuvantaminen kerralla tarkoittaa, että mitataan koko spektri kuvan kaikista pikseleistä kerralla. Menetelmän etu on, että sillä saadaan jokaisen aallonpituuskaistan intensiteetit samalla hetkellä koko kuvan alueella mitattua. Jos kuvattavan kohteen spektri muuttuu nopeasti, menetelmä antaa selkeästi tilanteeseen paremmin sopivia mittaustuloksia. Kuitenkin jos kuvattavan kohteen spektri pysyy muuttumattomana tai muuttuu hitaasti, ei tällä ominaisuudella ole juurikaan merkitystä, joten muut ominaisuudet ovat tällöin tärkeämpiä. Pushbroom-menetelmällä saadaan kerättyä valoa näytteestä moninkertaisesti enemmän kuin säädettävillä suotimilla toteutettavalla aallonpituusskannauksella. Lisäksi menetelmässä riittää valaista vain kuvattavan viivan alue näytteestä kerrallaan. Tämä vähentää näytteeseen kohdistuvaa lämpökuormaa, mikä on ensiarvoisen tärkeää kuvattaessa herkkiä kudoksia. Kudoksen ominaisuudet voivat muuttua nopeastikin kasvaneen lämpötilan vaikutuksesta, mikä vääristää tuloksia, mikäli kudokseksi lämpenee liikaa valaistuksen takia.

Korkeista kustannuksista huolimatta hyperspektrikuvantamista on käytetty esimerkiksi ruuan laadunvalvonnassa [7], vanhojen maalausten tutkimuksessa [8], kasvillisuusanalyysissä lentokoneesta kuvatusta materiaalista [9] ja lääketieteessä [10]. Kyseessä on hyvin monelle eri alalle sovellettavissa oleva kuvantamistekniikka, jonka kaikkia mahdollisuuksia ei ole toistaiseksi tutkittu riittävän tarkasti.

2.1 Hyperspektrikuvantaminen syövän tunnistuksessa

Leikkaustilanteessa on hyödyksi, että hyperspektritekniikalla voidaan tunnistaa kasvaimen poiston yhteydessä kasvainkudoksen reunat. Tunnistamalla kasvainkudos kasvaimen poisto saadaan tehtyä mahdollisimman tarkasti vahingoittamatta kasvainta ympäröivää tervettä kudosta.

Kuvantamistekniikalla tehtävä diagnoosi olisi huomattava parannus nykyiseen patologin tapaan diagnosoida kudoksia histopatologisten näytteiden perusteella. Histopatologiset näytteet ovat ohuita leikkeitä tutkittavasta kudoksesta, ja niiden valmistelu on hyvin monimutkaista ja aikaa vievää [11], [12]. Koska kudoksenäytettä ei pystytä suoraan leikkaamaan ohuiksi tutkittaviksi leikkeiksi, sitä on käsiteltävä ensin, jotta sitä saadaan leikattua tarkasti. Yleensä näyte kiinnitetään parafiiniin, minkä jälkeen näytettä voidaan leikata helposti ja näytteet säilyvät vuosia. Kun näyte on valmis patologin tutkimuksia varten, patologi pystyy tyypillisissä syövässä luokittelemaan yhden kudoksenleikkeen minuuteissa, mutta epätavallisissa tai hyvin harvinaisissa syövässä yhden kudoksenleikkeen luokitteluun voi mennä huomattavasti pidempäänkin. Selkeästi suurin osa näytteen käsittelyajasta kuluu erilaisiin valmisteluvaiheisiin, ja koepalan ottamisesta potilaasta patologin raportin saamiseen kuluu tyypillisesti useita päiviä [13], mikä on hoidon kannalta epäedullista ja potilaalle epämiellyttävää. Kaikki vaiheet kuluttavat henkilöstöresursseja ja rahaa, joten kuvantamiseen perustuva nopea apuväline seulontaan tai diagnoosiin on haluttu. Säästetty työaika ja nopeampi hoito maksavat vaadittavan laitteiston hankintahinnan nopeasti takaisin.

Aiemmissä tutkimuksissa pään ja niskan alueen syöpien tunnistusta on onnistuttu tekemään hyperspektrikuvantamisen avulla [14]. Halicek et alin tutkimuksessa hyödynnettiin konvolutionaalisia neuroverkkoja, jotka ovat koneoppimisen malleja, joita käytetään usein kuvadatan käsittelyssä. Käytetyllä neuroverkolla pystyttiin tunnistamaan 81 %:n tarkkuudella okasolusyöpäsolut normaaleista okasoluista tuoreista potilasnäytteistä otetuista hyperspektrikuvista. Kuvantamisesta tuloksen määrittämiseen kului noin viisi minuuttia, mikä on huomattavasti vähemmän kuin patologin konsultaatioon kuluva aika. Kesken leikkauksen tehtyyn patologin konsultaatioon kului keskimäärin noin 45 minuuttia. On kuitenkin huomioitava, että menetelmällä ei ole tarkoitus korvata patologiaa, vaan käyttää menetelmää apuna leikkauksissa, jotta patologin konsultaatioiden määrää voidaan vähentää ja parantaa niiden laatua.

Pään ja niskan alueen syöpien lisäksi aiemmissä tutkimuksissa on havaittu, että hyperspektrikuvantamisella voidaan tunnistaa normaaleja soluja, syövän esivaiheessa olevia soluja ja syöpäsoluja kohdunkaulan gynekologisista irtosolunäytteistä *in vitro* -olosuhteissa [2]. Tyypillisesti kohdunkaulan syövän seulontaa tehdään papakokeella, jossa patologi tutkii kohdunkaulasta otettuja irtosoluja laboratoriossa solumuutosten varalta valomikroskoopin avulla. Valomikroskopiassa muodostuu kuitenkin valon aaltoluonteesta johtuvia monimutkaisia interferenssiefektejä, joita ei voida poistaa linssien avulla. Lisäksi solujen luokittelussa esiintyy subjektiivisuutta eri patologioiden

välillä, jos kyse on soluista, jotka ovat rajatapauksia esimerkiksi terveiden solujen ja syövän esivaiheen solujen välillä. Hyperspektrikuvantamisen avulla saadaan tietoa spektreistä myös ihmissilmälle näkymättömiltä aallonpituuksilta, mikä voi auttaa solujen luokittelussa ja toimia patologin apuna.

2.2 Hyperspektrikuvantamisen käyttö muissa lääketieteellisissä sovelluksissa

Hyperspektrikuvantaminen on kehoon kajoamaton diagnosointimenetelmä, minkä takia kuvantamistekniikan mahdollisuuksia lääketieteessä halutaan käyttää uusissa sovelluskohteissa. Jos diagnoosi pystytään tekemään kuvantamistekniikalla kehon ulkopuolelta näytepalan tai verinäytteen ottamisen sijaan, toimenpide on helpompi, turvallisempi, halvempi ja nopeampi. Hyperspektrikuvantamista sovelletaan lääketieteessä ainakin verenvuotoshokin diagnosointiin [15], verisuonistosairauksien arviointiin [16], nopeaan munuais kivien tyyppin karakterisointiin [17], hammaskarieksen havaitsemiseen [18] aikaisessa vaiheessa ja kurkunpään häiriöiden tunnistamiseen [19]. Hyperspektrikuvantamisella pystytään kvantitatiiviseen analyysiin eli pystytään mittaamaan jonkin ominaisuuden määrää laadullisen analyysin lisäksi. Tekniikalla pystytään esimerkiksi määrittämään kudoksen mikroverisuoniston tiheyttä [20]. Kudosta kuvataan, minkä jälkeen segmentointialgoritmeilla erotellaan verisuonten alueet kuvasta. Kun verisuonten peittämää aluetta verrataan koko kuvan alaan, voidaan helposti laskea verisuoniston tiheys.

Kuvantamisessa käytettävä valo käyttäytyy eri kudoksissa eri tavalla. Kudokseen tunkeutuva valo siroaa monta kertaa kudoksen sisällä ja absorboituu kudokseen kudoksesta riippuvalla tavalla [21]. Valon kulkeminen kudoksen läpi on erittäin hankala mallintaa tarkasti, sillä kudoksen eri osat läpäisevät ja taittavat valoa eri tavalla. Tämä aiheuttaa ongelmia tarkkojen diagnosointityökalujen kehittämisessä.

Kun fluoresoivia kudoksen rakenteita viritetään UV-valolla, rakenteet emittoivat laajan spektrin valoa. Kun näitä spektrejä verrataan jo tunnettuihin eri rakenteiden spektreihin, voidaan tunnistaa erityyppisiä kudoksia pelkästään spektrin perusteella. Kun kuvantamista tehdään yksittäisen potilaan kudoksille tietyin väliajoin, voidaan esimerkiksi seurata taudin etenemistä spektrien eroavaisuuksien perusteella.

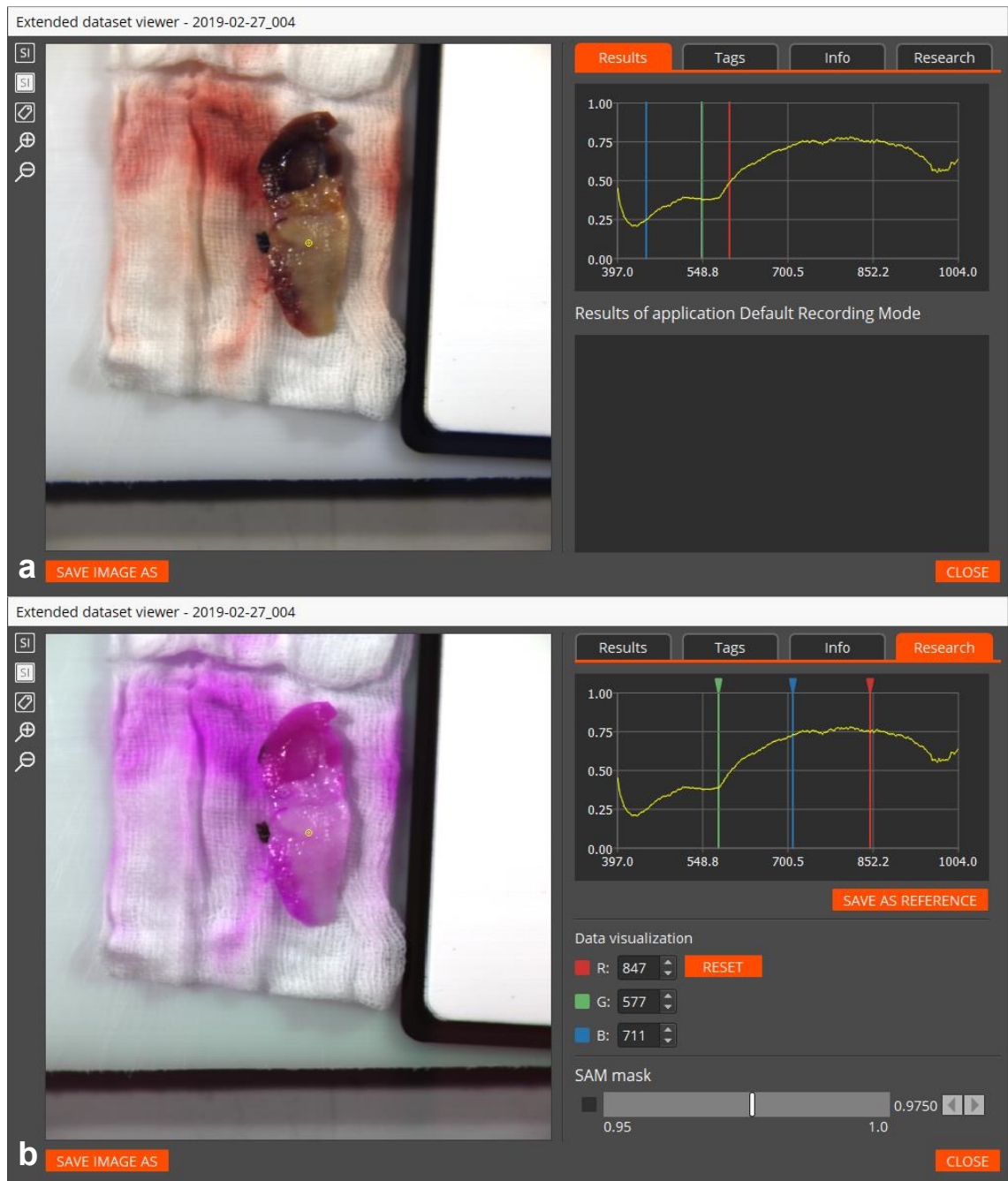
Sydän- ja verisuonisairaudet aiheuttavat Terveiden ja hyvinvoinnin laitoksen mukaan lähes puolet työikäisten kuolemista Suomessa [22]. Esimerkiksi sepelvaltimotautiin, joka on yksi sydän- ja verisuonitaukeista, kuolee Suomessa vuodessa yli 12 000 ihmistä. Yhdysvalloissa puolestaan sydän- ja verisuonitaudit ovat vielä suurempi ongelma, sillä ne ovat yleisin kuolinsyy koko maassa [23]. Neljäsosa kaikista kuolemista USA:ssa johtuu sydän- ja verisuonitaukeista. Tautiryhmän yleisyyden takia sitä on tutkittu paljon, ja hyperspektrikuvantamisen mahdollisuuksia sydän- ja verisuonitautien diagnosoinnissa on myös tutkittu sekä *in vivo* että *in vitro* -tutkimuksissa eli sekä suoraan elävästä kudoksesta että erillisistä näytteistä laboratorio-olosuhteissa. Perinteiset olemassa olevat menetelmät perifeerisen valtimosairauden eli tietyn ääreisverenkierron häiriön diagnosoinnissa eivät pysty ennustamaan tarkasti kudosten häviämistä potilailta *in vivo* -tutkimuksissa. Hyperspektrikuvantamisella pystytään luomaan kehosta kartta, jossa näkyy oksihemoglobiinin ja deoksihemoglobiinin konsentraatio kehon eri alueilla [16]. Ratkaisu ei ole vielä valmis korvaamaan perinteisiä diagnosointimenetelmiä, kuten nilkka-olkavarsipainesuhteen mittausta, mutta tulos antaa viitteitä siitä, että hyperspektrikuvantamisella voidaan havaita eroja verenpaineissa terveiden ja perifeeristä valtimosairautta sairastavien ihmisten välillä. Menetelmällä voitaisiin mahdollisesti jopa diagnosoida ääreisverenkierron häiriö ja arvioida potilaiden tilannetta. Sepelvaltimotaudissa sydämen verisuonten seinämiin kertyvän plakin määrä ja ominaisuudet vaihtelevat eri alueilla, minkä takia yhtä pistettä mittaavat spektroskooppiset menetelmät eivät aina luokittele plakkia oikein. Hyperspektrikamera mittaa kudoksen spektrin kameran jokaisesta kuvapistestä, minkä takia sillä voidaan saada luokiteltua plakit paremmin kuin yhtä pistettä mittaavilla spektroskooppisilla menetelmillä.

Diabeettisen jalkahaavan hoidossa hyperspektrikuvantamisen avulla pystytään erottelemaan ne jalkahaavat, jotka tulevat paranemaan ja jotka eivät tule paranemaan [1]. Erottelu perustuu jalkojen ihon verisuonten happisaturaation mittaamiseen. Tilastollisesti tarkasteltuna hyperspektrikuvantamisella pystyttiin ennustamaan haavan paraneminen herkkyydellä 86 %, spesifisyydellä 86 %, positiivisella ennustearvolla 91 % ja negatiivisella ennustearvolla 78 %. Paranemisen ennustaminen helpottaa lääkäreiden päätöksentekoa potilaan tulevasta hoitolinjasta. Jos kuvantamisella pystytään ennustamaan tarkasti, että kudokseksi ei tule paranemaan, voidaan jättää toteuttamatta kalliita hoitoja, joista ei tule olemaan apua kyseiselle potilaalle. Jälleen menetelmän etuna on, ettei potilaasta tarvitse ottaa koepalaa tai muuten kajota kudokseen.

Varsinaisen diagnosoinnin tai sen apuvälineenä toimimisen lisäksi hyperspektrikuvantamista voidaan käyttää myös leikkauksissa ohjaamaan toimenpidettä [10]. Kirurgin henkilökohtaiset taidot tunnistaa haava, nähdä ja tuntea se ja sen reunat vaikuttavat merkittävästi leikkauksen onnistumiseen. Virheiden vähentämiseksi hyperspektrikuvantamista on testattu useissa leikkauksissa kirurgin apuvälineenä. Kameran tuottamaa kuvaa näytetään leikkaavalle kirurgille, jotta kirurgi voi nähdä veren peittämän kudoksen muodot kunnolla. Lähi-infrapuna-alueella tehtävällä hyperspektrikuvantamisella saadaan näkyviin verikerroksen alla olevia kudoksia, joita ei voi nähdä paljaalla silmällä leikkaustilanteessa.

2.3 Hyperspektrikuvien analysointi

Hyperspektrikuvien analysointiin pitää yleensä käyttää erilaista ohjelmistoa kuin tavallisten värikuvien analysointiin, sillä tiedostomuoto ja kuvadata ovat hyvin erilaisia kuin tavallisessa RGB-kuvassa. Monella hyperspektrikameravalmistajalla on oma sovelluksensa, jolla voi analysoida valmistajan omalla hyperspektrikameralla otettuja kuvia. Hyperspektrikuvien tiedostotyyppi on usein erilainen eri valmistajilla, minkä takia tietyn valmistajan ohjelmistolla ei voi välttämättä analysoida toisen valmistajan kameralla otettuja kuvia. Specimillä (Specim, Spectral Imaging Oy Ltd, Suomi) on IQ-mallilleen oma ohjelmisto, Specim IQ Studio, jolla kameralla otettuja hyperspektrikuvia voidaan tarkastella ja tehdä erilaisia analyysseja. Vaikka valmistajien omilla ohjelmilla voidaan tehdä monipuolisia analyysseja, on joskus järkevämpää tehdä analyysi jollakin yleisesti käytössä olevalla laskentaohjelmalla, jotta analyysien dataa voidaan hyödyntää helpommin muissa ohjelmissa tai yhdistää uusia toiminnallisuuksia olemassa olevien rinnalle. Kuvassa 1 nähdään Specim IQ Studion perustason toiminnallisuuksia.



Kuva 1. Specim IQ Studion käyttöliittymä. a) Kuva oletusaallonpituuksilla b) Kuva muutetuilla aallonpituuksilla

Kuvan 1 a-osassa on visualisoitu RGB-kuva hyperspektrikuvasta näyttämällä kolme eri aallonpituusaluetta punaisella, vihreällä ja sinisellä värillä siten, että kuva näyttää luonnolliselta RGB-värivalokuvalta. Kuvan 1 b-osassa on puolestaan siirretty näytettäviä aallonpituusalueita siten, että muodostuu väärävärikuva, joka näyttää hyvin eriväriseltä kuin a-osan kuva. Molemmissa kohdissa on valittu kuvasta sama pikseli, jonka spektri on piirretty näkyviin ikkunan oikealle puolelle.

3. MATERIAALIT JA MENETELMÄT

Tässä työssä tärkeimmät työvälineet ja materiaalit olivat Specim IQ -hyperspektrikamera tarvikkeineen, kuvausasetelmassa käytetyt välineet eli kolmijalka ja halogeenivalaisimet sekä kuvauksessa käytetyt kudoksenäytteet. Analyysin kannalta Matlab (R2016a, The MathWorks, Inc., Yhdysvallat) oli oleellinen työkalu, sillä sitä käytettiin kuva-analyysiin vaadittavan ohjelmakoodin tekemiseen.

3.1 Specim IQ -hyperspektrikamera

Specim IQ -hyperspektrikamera on suomalaisen Specim, Spectral Imaging Oy Ltd:n (myöhemmin Specim) valmistama kannettava hyperspektrikamera. Laitteeseen on saatavilla Specim IQ Studio -ohjelmisto, jolla on mahdollista tarkastella ja analysoida Specim IQ:lla otettuja kuvia. Kameralla otetut kuvat tallennetaan muistikortille, josta ne voidaan siirtää tietokoneelle joko siirtämällä muistikortti tietokoneelle tai yhdistämällä kamera tietokoneeseen USB-C-liitännällä. Kuten kuvasta 2 nähdään, kameran runko on hieman järjestelmäkameraa kookkaampi ja siten painavampi, mutta kamera on silti helposti liikuteltavissa.



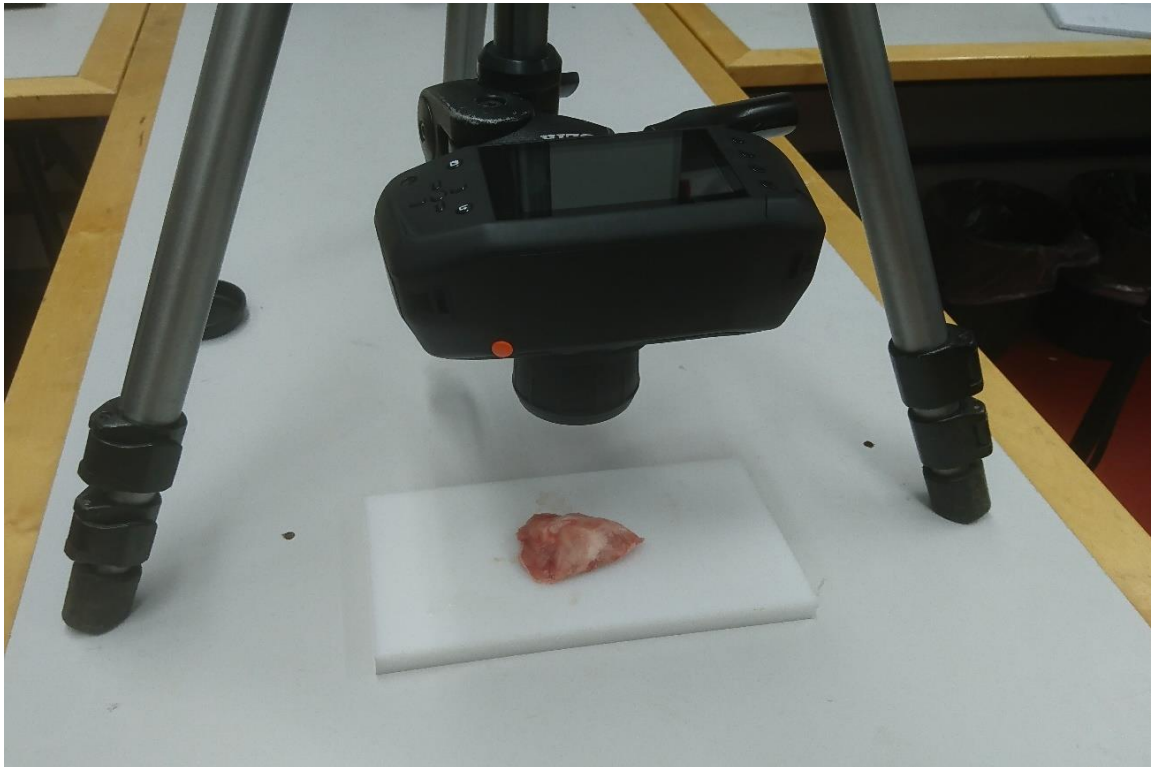
Kuva 2. *Specim IQ -hyperspektrikamera*

Kamera on mahdollista kiinnittää jalustaan tavallisella kameroissa käytettävällä $\frac{1}{4}$ -20 UNC -kierteellä. Specim IQ -kameraa tulee käyttää ensisijaisesti jalustan kanssa, sillä yksittäisen hyperspektrikuvan ottaminen voi kestää useita sekunteja riippuen valotuksesta. Specim IQ pystyy kuvaamaan 400–1000 nanometrin aallonpituuksia eli näkyvän valon aallonpituuksia ja lähi-infrapuna-aluetta [24]. Kamera jakaa spektrin 204 kaistaan, ja resoluutio aallonpituuden suhteen on 7 nm. Specim IQ:ssa käytetään pushbroom-skannausta kuvan muodostamiseen. Kameran kennon edessä oleva valo kokoava rako on kooltaan 11,70 mm x 42 μ m. Specim IQ:ssa on CMOS-kenno, jonka resoluutio on 512 x 512 pikseliä, joiden koko on 17,58 μ m x 17,58 μ m. Kenno tuottaa 12-bittistä intensiteettidataa. Kameraa voidaan +5 °C – +40 °C:n lämpötilassa ja säilyttää –20 °C – +40 °C:n lämpötilassa, ja kameran IP-luokitus on IP5x, eli kamera on suojattu pölyltä. Näiden asioiden takia Specim IQ:ta voidaan käyttää myös ulkona melko kylmässä ja kuumassa kelissä.

3.2 Kuvausasetelma

Kudosnäytteiden kuvauksissa käytettiin pöydälle asetettua säädettävää kolmijalkaa, johon kamera kiinnitettiin kamerajalustalla, jossa on $\frac{1}{4}$ -20 UNC -kierre. Kamera kiinnitettiin siten, että objektiivi osoitti suoraan alaspäin. Kameran etäisyys kuvattavasta

kohteesta oli 20–40 cm vaihdellen kuvaustavan mukaan. Kuvassa 3 nähdään, miten kamera on asemoitu kuvattavaan näytteeseen nähden.



Kuva 3. Kameran sijainti kudoksenäytteeseen nähden

Kudosten valaisuun käytettiin kahta jalallista halogeenivalaisinta, jotka suunnattiin kudoksenäytettä kohti yläviistosta kahdelta puolelta kudoksenäytettä. Molemmat valaisimet asetettiin kameraan nähden näytteen sivupuolille. Käytetyt halogeenivalaisimet lämmittivät kudoksenäytteitä, mikä rajoitti yhdestä näytteestä otettavien kuvien maksimimäärää. Kuvausten aikana havaittiin, että näytteet kuivuivat tunnin kuvausten aikana merkittävästi. Kudosten pinta näytti erilaiselta ja kovemmalta kuvausten loppupuolella kuin alussa. Jos kudokset olisivat kuumentuneet liikaa, näytteiden ominaisuudet olisivat muuttuneet merkittävästi, minkä takia tulokset eivät olisi olleet vertailukelpoisia. Kudokset kuvattiin valkoisen muovilevyn päällä. Kuva 4 havainnollistaa valojen sijaintia.



Kuva 4. Kuvattavan näytteen valaistus

Käytetty valaistus oli hyvin voimakas, kuten kuvasta 4 nähdään. Jotta valaistus pysyi tasalaatuisena eri kuvauskerroilla, laboratoriosta sammutettiin muu valaistus ja pidettiin ikkunoiden sälekaihtimet suljettuina. Valoja oli kaksi, jotta näytteen pinta saatiin valaistua mahdollisimman tasaisesti. Tasainen valaistus on yksi edellytys laadukkaiden hyperspektrikuvien saamiseen.

Muovilevyille asetettiin kudoksenäytteen lisäksi myös Spectralon®-levy, joka toimi referenssivalkoisena. Testikuvissa näkyy samassa kuvassa sekä kudoksenäyte että osa Spectralon®-levystä. Spectralon® on kamera-alan standardimateriaali referenssivalkoiseksi ja se heijastaa valmistajan mukaan yli 99 % kaikesta siihen osuvasta valosta [25]. Lisäksi materiaalin heijastavuusominaisuudet ovat lähes täydellisen lambertianiset, mikä tarkoittaa, että pinta on lähes täydellisen matta, eli se ei kiillä. Materiaali on myös kemiallisesti inertti ja vakaa ympäristöstä riippumatta, joten sen ominaisuudet eivät muutu ajan kuluessa käytössä erilaisiksi. Referenssivalkoisen tulee näkyä samassa kuvassa kudoksen kanssa, jotta kamera osaa verrata kuvan

kaikkien pikseleiden spektrejä referenssivalkoisen spektriin. Specim IQ:lla voidaan kuvata myös siten, että ensin otetaan erikseen kuva referenssivalkoisesta ja sen jälkeen kuvia näytteistä ilman referenssivalkoista. Tämän kuvaustavan rajoite on, että tällöin kuvattavan alueen valotuksen pitää olla tismalleen sama referenssivalkoisen kuvaushetkellä ja jokaisen näytteen kuvaushetkellä, jotta tulokset olisivat täysin vertailukelpoisia.

3.3 Kuvattavat kudokset

Testikuvauksissa käytettiin eri kudoksia siasta sekä ihmisestä. Ensimmäiset testikuvat otettiin sian aivoista sekä munuaisista. Aivoista otettu kudospala oli kooltaan noin 6 cm x 6 cm x 3 cm, ja munuaisista otettu näyte oli noin 3 mm paksu siivu, joka oli siivutettu siivutuskoneella jäisenä tarkan leikkuun mahdollistamiseksi. Kuvausten alussa kudokset olivat osittain jäässä, mutta kudokset sulivat nopeasti näytteiden valaisussa käytettyjen halogeenilamppujen voimakkaasti lämmittävässä valokeilassa.

Toisissa testikuvauksissa näytteinä käytettiin aitoja potilasnäytteitä Fimlab-laboratoriolta (Fimlab Laboratoriot Oy, Suomi). Näytteinä oli kaksi koepalaa munuaisista potilaalta, jolla oli todettu munuaissyöpä. Fimlabilta saadut näytteet olivat tuoreita, ja niitä oli säilytetty näytteenottamisen ja kuvauksen välisen ajan jääkaapissa.

3.4 Kuva-analyysin ohjelmakoodi

Työssä tehtiin ohjelmakoodi, jolla voidaan tutkia hyperspektrikuvan eri pikseleiden spektrejä, luoda alkuperäisestä hyperspektrikuvasta väärävärikuva sekä rajata haluttu alue kuvasta. Specim IQ tallentaa jokaisesta otetusta kuvasta dataa yhteen pääkansioon, joka on nimetty kuvauspäivämäärän ja kuvan järjestysluvun mukaan. Yhdestä kuvasta luodaan 16 eri tiedostoa. Tiedostoissa on RGB-kuvia PNG-muodossa, HDR-tiedostoja, RAW-tiedostoja, DAT-tiedosto sekä XML-tiedostoja. RAW-tiedostoissa on dataa suoraan siinä muodossa, missä se tulee kameran kennolta. RAW-tiedostoista yksi on kuvattavasta kohteesta kerätty raaka reflektanssidata, yksi on suljin kiinni otettu mustan referenssidata ja yksi on kuvasta määritetty valkoisen referenssidata. Reflektanssilla tarkoitetaan kohteeseen tulevan säteilyn kohteesta heijastuvaa osaa. Näiden tietojen perusteella saadaan laskettua kalibroitu reflektanssidata, mutta työssä käytettiin valmiiksi laskettua reflektanssidataa, joka on DAT-tiedostossa.

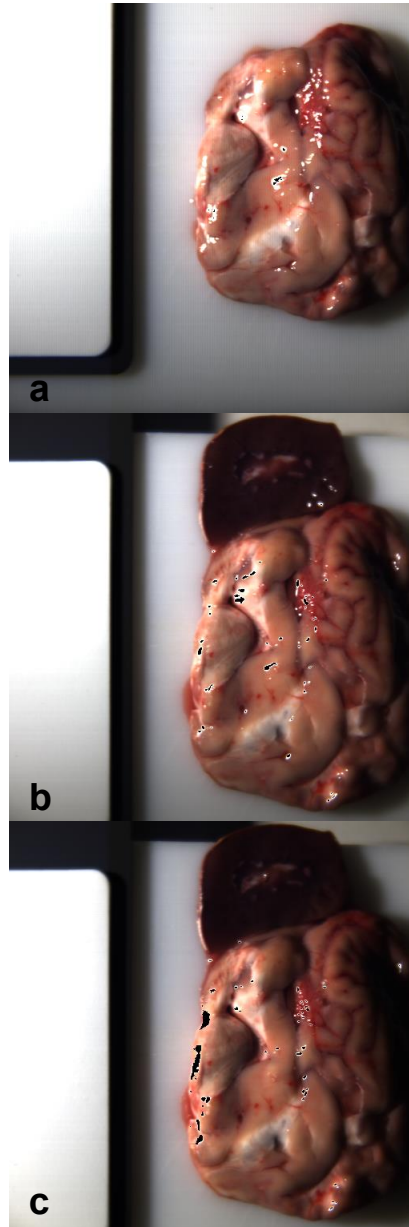
Ohjelmakoodi on Matlabilla tehty funktio, jolle annetaan DAT-muotoisen reflektanssikuvan tiedostonimi parametrina. Funktio lukee tiedostossa olevan reflektanssidatan hyperspektrikuvaksi ja antaa sen paluuarvonaan. Funktio näyttää ensin luetun kuvan RGB-kuvana, minkä jälkeen ohjelma pyytää käyttäjää valitsemaan kuvasta kaksi pistettä, joiden spektriä halutaan tarkastella. Tämän jälkeen ohjelma piirtää klikattujen pisteiden spektrit näkyviin ja pyytää seuraavaksi käyttäjää rajaamaan kuvasta alueen, jota halutaan tarkastella lähemmin. Tämän jälkeen funktio kysyy käyttäjältä aallonpituusalueita, jotka käyttäjä haluaa näyttää punaisena, vihreänä ja sinisenä. Annettujen tietojen perusteella funktio luo väärävärinäkuvan edellä rajatusta alueesta ja tulostaa sen näytölle.

4. TULOKSET

Työn kirjallisuuskatsauksessa saatiin selvitettyä hyperspektrikuvantamisen nykyisiä käyttökohteita lääketieteessä ja menetelmän rajoituksia. Kokeellisessa osuudessa luotiin laboratoriossa toimiva yksinkertainen kuvausasetelma kudoksen kuvaamiseen Specim IQ -kameralla, otettiin testikuvia kolmesta erilaisesta kudoksesta ja selvitettiin integrointiajan vaikutuksia saatuihin hyperspektrikuviin. Kuva-analyysia varten luotiin Matlab-pohjainen työkalu, jolla voidaan tutkia eri pikseleiden spektrejä, rajata kuvaa ja luoda väärävärivä kuvia halutusta alueesta. Tätä työkalua voidaan käyttää tutkimustarkoituksiin myöhemmissä tutkimuksissa, ja samaa työkalua voidaan jatkokehittää toteuttamalla ohjelmaan uusia toiminnallisuuksia ja parantamalla käytettävyyttä. Toteutetussa versiossa on selkeä ja helppo käyttöliittymä.

4.1 Kuvausparametrien vaikutus kudokskuviin

Kuvantamisen aikana laboratoriossa testattiin monia eri arvoja kameran integrointiaikaparametrille. Specim IQ mittaa valaistuksen voimakkuutta ja laskee sen perusteella sopivan välin integrointiajalle. Oletuksena kamera säätää integrointiajan tälle välille. Käytetyllä kuvausasetelmalla sopiva integrointiaika oli 5–10 ms. Integrointiaika tarkoittaa yhden viivan kuvaamiseen käytettyä integrointiaikaa, joten yksittäisen kuvan ottamiseen menee pidempään, koska viivoja on useita. Kameran näytölle tulee infoa kuvan valottumisesta kuvan ottamisen jälkeen. Huomattiin, että etenkin sian aivoja kuvattaessa kuviin tuli herkästi ylivalottuneita kohtia. Nämä olivat kiiltäviä kudoksen kohtia, joihin tullut valo heijastui suoraan kudoksen pinnasta voimakkaasti kameraan. Ilmeisesti nämä kohdat olivat märkiä ja sopivassa kulmassa sekä valaisimeen että kameraan nähden. Vaikka integrointiaikaa lyhennettiin, ylivalottuneita kohtia jäi silti. Vastaavasti vaikka integrointiaikaa pidennettiin merkittävästi, ylivalottuneita kohtia tuli vain vähän lisää. Koska ylivalottuneita kohtia oli hyvin pieni osa koko näytteestä, päädyttiin valitsemaan sellainen integrointiaika, jolla kuva olisi kokonaisuudessaan riittävän kirkas, mutta joitakin pieniä ylivalottuneita kohtia saattoi olla kuvassa. Kuva 5 havainnollistaa, miten integrointiaika vaikuttaa ylivalottuneiden alueiden määrään ja kokoon.



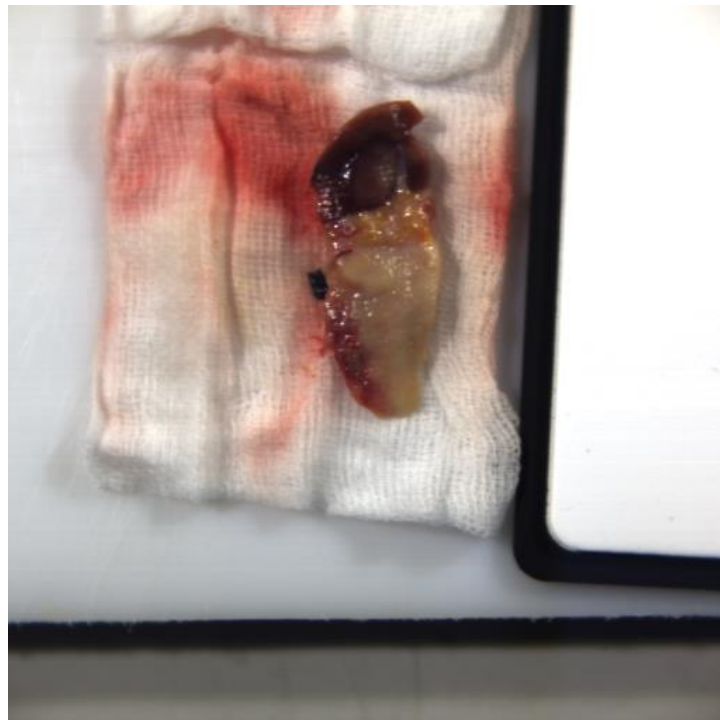
Kuva 5. Integrointiajan vaikutus ylivalottuneisiin alueisiin. Integrointiajat ovat a) 5 ms, b) 15 ms ja c) 40 ms.

Ylivalottuneet kohdat näkyvät kuvan 5 sian aivoissa kaikissa kohdissa mustina alueina, joilla on valkoinen reunaviiva. Merkintätavan ansiosta kohdat on helppo erottaa kuvasta. Koska alueet merkitään mustalla, myöskään niiden spektriä tarkastellessa ei tee virhepäätelmiä, koska spektri on nollassa. Kuvasta nähdään, että integrointiajan moninkertaistaminenkaan 5 ms:sta ei ylivalota suuria alueita, vaan ylivalottuneiden alueiden koko kasvaa hieman.

4.2 Väärävärικuvat

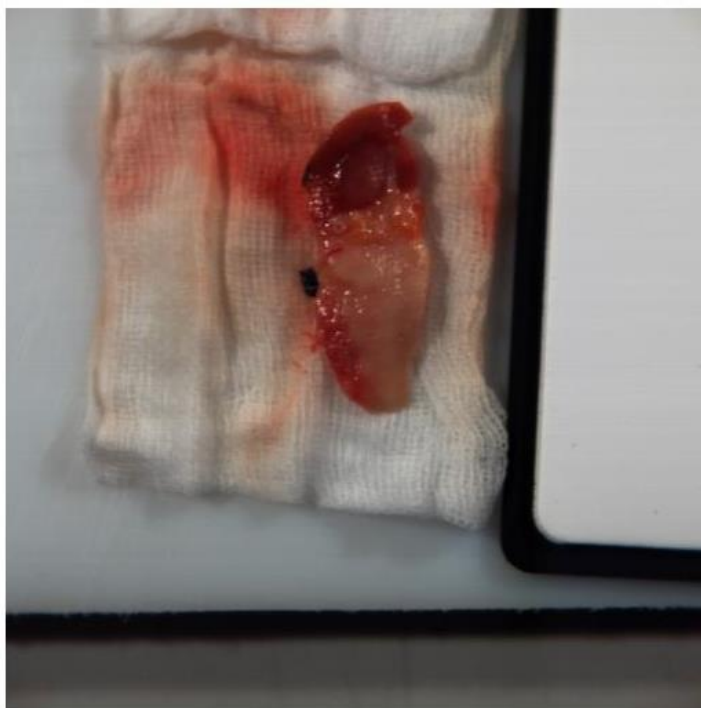
Kuva-analyysityökalu käynnistettiin funktiokutsulla Matlabin komentoikkunassa. Ohjelman suorituksen alussa DAT-tiedosto luettiin Matlabin muistiin omaan muuttujaansa hyperspektrikuvaksi. Specim IQ -kameran spatiaalinen resoluutio on 512 x 512, eli kamerassa on 512 x 512 pikseliä, ja aallonpituuskaistoja on 204 kappaletta. Muuttujaksi tuli siten datakuutio, jonka koko oli 512 x 512 x 204 datapistettä. Tätä kuvaa ei pystytty näyttämään näytöllä suoraan RGB-kuvana, sillä vastaavan RGB-kuvan koko on

512 x 512 x 3 datapistettä. Jotta kuva saatiin näkymään näytölle, luotiin ensin RGB-kuvaa muistuttava värävärikuva hyperspektridatan perusteella. Tulos saatiin muistuttamaan melko paljon tavallista RGB-kuvaa, vaikka todellisuudessa kuva edelleen oli värävärikuva, sillä yksittäisten värikanavien arvot muodostettiin monien aallonpituuskaistojen arvojen keskiarvoina. Esimerkiksi punaisen kanavan arvot laskettiin hyperspektrikanavien 79–118 arvojen keskiarvona, sillä kyseiset kanavat vastaavat Specim IQ:ssa aallonpituusväliä 625,22–741,53 nm. Tämän välin rajat ovat hyvin lähellä punaisena pidettävän valon aallonpituuksien rajoja. Kuvassa 6 on esitetty Specim IQ:n etsinkameralla otettu RGB-kuva. Etsinkamera on RGB-kamera, joka helpottaa kameran käyttäjää kohdistamaan kameran ja näytteen, sillä etsinkamera näyttää reaaliaikaista kuvaa kameran ollessa kuvaustilassa.



Kuva 6. RGB-kuva Specim IQ:n etsinkamerasta

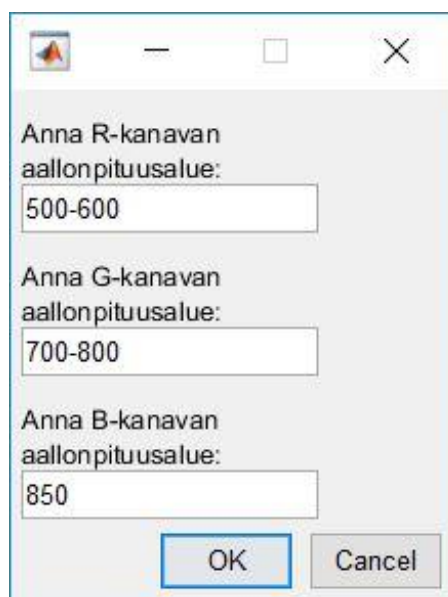
Kuvassa 7 on analyysityökalun Matlab-koodilla luotu väärävärikuva kuvassa 6 olevasta näytteestä. Kuvissa nähdään olevan hieman sävyeroja, mutta kuva on kuitenkin melko luonnollisen näköinen.



Kuva 7. Matlab-ohjelmalla luotu alkuperäistä RGB-kuvaa muistuttava väärävärikuva

Tavallista RGB-kuvaa muistuttavalla väärävärikuvalla ei analysoitu mitään, vaan sen tehtävä oli vain visualisoida hyperspektrikuva analyysin myöhempiä vaiheita varten. Tämän vaiheen olisi voinut toteuttaa myös siten, että olisi käytetty etsinkameran kuvaa, mutta se olisi tuottanut ongelmia etsinkameran kuvan ja hyperspektrikameran kuvan eri pikselimäärien vuoksi. Pikseleiden koordinaatit olisivat olleet erilaisia hyperspektrikuvissa ja etsinkameran kuvissa samojen kohteiden kohdalla.

Koodiin toteutettiin myös osuus, jolla käyttäjä voi valita kuvasta *ginput*-funktion avulla alueen, josta luodaan väärävärikuva määrittämällä mitkä tahansa aallonpituusvälit väliltä 400–1000 nm näkymään väärävärikuvan punaisena, sinisenä tai vihreänä komponenttina. Alueen rajaus toteutettiin *ginput*-funktioilla, ja aallonpituuksien syöttämistä varten käytettiin *inputdlg*-funktioita, jolla luotiin kentät kaikille kolmelle värikanavalle yhteen ikkunaan. Funktion *inputdlg* tuottama laatikko on kuvassa 8.



The image shows a standard Windows-style dialog box with a title bar containing a small icon, a minus sign, a maximize button, and a close button. The dialog box has a light gray background and contains three text input fields. Each field is preceded by a label: 'Anna R-kanavan aallonpituusalue:', 'Anna G-kanavan aallonpituusalue:', and 'Anna B-kanavan aallonpituusalue:'. The first field contains the text '500-600', the second '700-800', and the third '850'. At the bottom of the dialog box, there are two buttons: 'OK' and 'Cancel'.

Kuva 8. Käyttöliittymän ikkuna aallonpituusalueiden syöttämistä varten

Kuten kuvasta 8 nähdään, jokaiselle kanavalle voi syöttää joko aallonpituusvälin tai yksittäisen aallonpituusarvon nanometreinä. Jos käyttäjä syöttää aallonpituuden Specim IQ:n aallonpituusvälin ulkopuolelta, tulee virheilmoitus, ja käyttäjää pyydetään syöttämään arvot uudelleen. Jos arvot syötetään oikein, näytetään kuvasta rajattu alue väärävärικuvana. Kuvassa 9 on esitetty kuvasta 7 rajattu alue väärävärικuvana siten, että kullekin kanavalle on määrätty kuvan 8 mukaiset aallonpituudet.

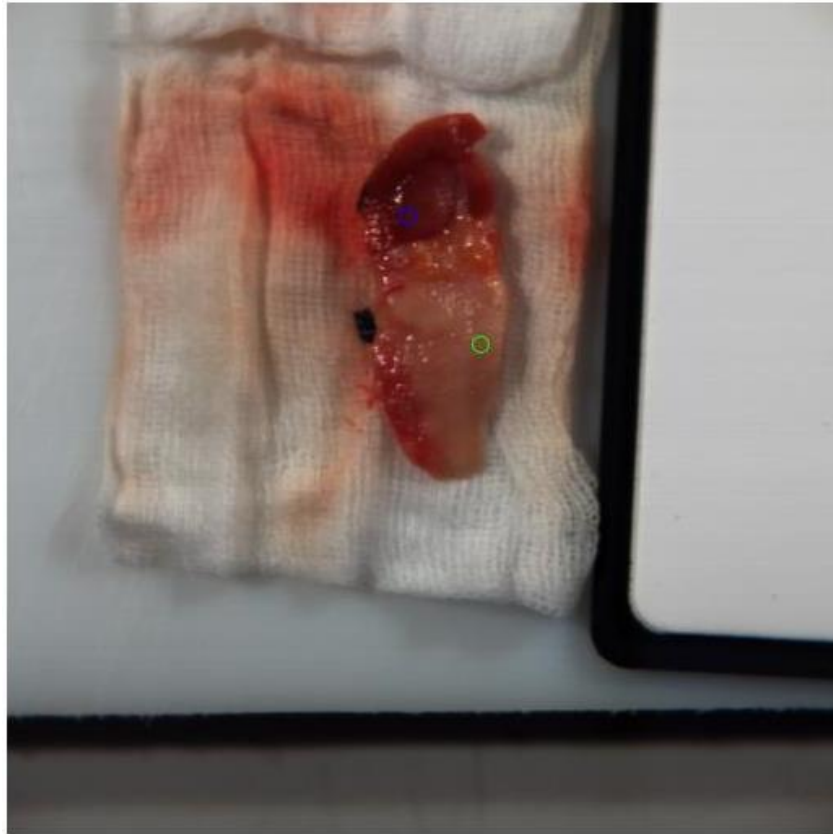


Kuva 9. Väärävärikuva käyttäjän määräämillä värikanavien aallonpituuksilla

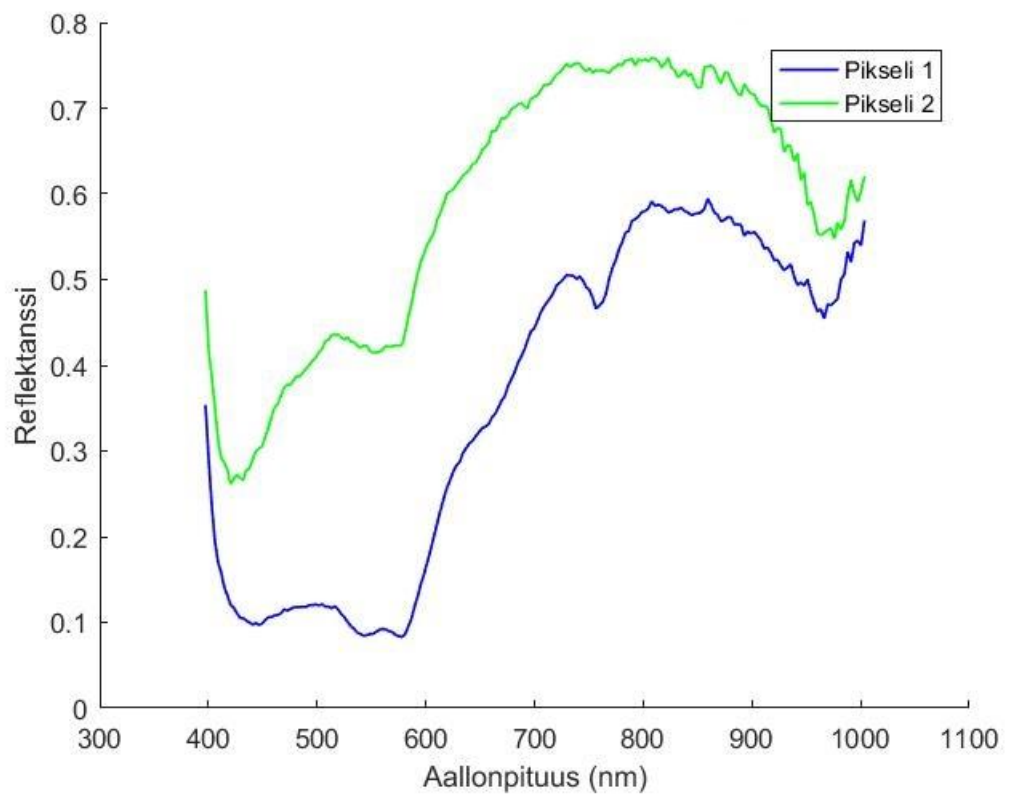
Ajatuksena väärävärikuvan tekemisessä oli, että jotkin erot kudoksissa voisivat näkyä väärävärivissa, mutta eivät paljaalla silmällä tai RGB-kuvaa muistuttavissa hyperspektrikuvista tehdyissä väärävärivissa. Merkittävää parannusta kontrastiin eri kudosten kohtien välillä ei löydetty väärävärivissa käyttämällä, mutta järjestelmällistä eri aallonpituuksien läpikäyntiä väärävärikuvan muodostamisessa ei tehty. Eri kudoksilla tulokset voisivat myös olla erilaisia.

4.3 Spektrien vertailu

Ohjelmassa tallennettiin *ginput*-funktiolla käyttäjän klikkaamien kahden pikselin koordinaatit kuvasta. Näiden pikseleiden kohdalle piirrettiin kuvan päälle kahdella värillä merkinnät, jotta käyttäjä näkee, mitä pikseleitä hän on klikannut. Annettujen pikseleiden spektrit piirrettiin näkyviin erilliseen kuvaajaan. Spektrin vaaka-akselilla on aallonpituus nanometreinä ja pystyakselilla reflektanssi. Kuvassa 10 on esitetty sinisellä ja vihreällä renkaalla, minkä pikselien spektrit piirretään kuvaajaan, ja kuvassa 11 on kuvattu kuvaan 10 merkittyjen pikseleiden spektrit.



Kuva 10. Kuvasta valitut pikselit



Kuva 11. Valittujen pikseleiden spektrit

Kuvasta 11 nähdään, että spektreissä on selkeitä eroja eri kohdissa kudosta. Tässä työssä ei analysoitu spektrien eroja tarkemmin. Kuitenkin huomattiin, että suurimmassa osassa kudonäytettä suuremmilla aallonpituuksilla on korkeampi reflektanssi kuin matalammilla aallonpituuksilla, eli spektri on silmämääräisesti nouseva. Reflektanssi on tyypillisesti korkeimmillaan infrapuna-alueella, jota ihminen ei näe eikä tavallinen RGB-kamera kuvaa.

5. YHTEENVETO

Hyperspektrikuvantaminen on monipuolinen menetelmä, jota on hyödynnetty monilla sovellusalueilla lääketieteessä onnistuneesti. Menetelmä voi auttaa erilaisten sairauksien diagnosoinnissa, sillä se voi havaita muutoksia kudoksissa ja soluissa. Hyperspektritekniikka kuitenkin yleistyy hitaasti terveydenhoidossa, sillä terveydenhoito on hitaasti uudistuva, tiukasti säädelty ala. Tällä kuvantamismenetelmällä on paljon käyttämätöntä potentiaalia, sillä hyperspektrikuvantaminen voi tehdä jatkossa monien sairauksien diagnosoinnista nopeampaa, helpompaa ja halvempaa kuin tällä hetkellä käytössä olevilla menetelmillä.

Työssä saatuja tuloksia voisi hyödyntää myöhemmissä tutkimuksissa. Havaittiin, että eri osissa kudosta spektreissä on suuria eroja. Spektrien eroja voitaisiin myöhemmissä tutkimuksissa analysoida tilastollisesti, ja spektrejä voitaisiin verrata tunnettujen aineiden spektreihin. Spektreistä voitaisiin myös erotella piirteitä eri kudostyypeistä kudosten luokittelua varten. Ensin kudoksen voisi kuvata tuoreena hyperspektrikameralla, minkä jälkeen näyte annettaisiin patologille. Patologin tulisi tehdä kudoksen luokittelu parafiiniin kiinnitetylle näytteelle siten, että hän merkkaisi kudokseen tarkasti rajat, mitkä osat kudosta ovat syöpäkasvainta ja mitkä tervettä kudosta. Tämän näytteen rajat tulisi sovittaa yhteen tuoreena otetun hyperspektrikuvan näytteen kanssa, jotta nähtäisiin kuvasta, missä alueilla on syöpäkudosta ja missä tervettä kudosta. Jos luokiteltuja kuvia saataisiin monista näytteistä, olisi riittävästi dataa koneoppimismallin kehittämiseen. Koneoppimisessa mallin kouluttamiseen annetaan harjoitusdataa, kuten kuvia, ja näytteiden tunnetut luokat, kuten kudostyyppit. Näiden perusteella muodostetaan algoritmi, joka ennustaa parametriensa mukaan mallille annetun uuden näytteen luokan. Hyperspektrikuvien ja luokitteludatan yhdistämällä saataisiin tietoa siitä, millainen spektri terveellä kudoksella ja syöpäkudoksella on. Koneoppimismallilla voisi näin mahdollisesti määrittää uusista kuvista kudoksen tyyppin pikseleiden spektrien perusteella. Tulevaisuudessa menetelmä voisi olla lääkärin apuna leikkaussalissa, kun määritetään, pitääkö vielä leikata, vai onko kaikki syöpäkudos jo saatu poistettua.

Hyperspektrikuvien analyysiin saatiin toteutettua toimiva työkalu, jota voisi jatkokehittää pidemmälle. Pienillä muutoksilla ohjelman toimintaa saisi skaalattua niin, että voitaisiin valita kuvasta käyttäjän vapaasti valitsema määrä pikseleitä kahden sijaan. Ohjelman käytettävyyttä ja ulkoasua voitaisiin myös parantaa käyttäjäystävällisemmäksi.

Esimerkiksi väärävärin luomiseen käytettävien aallonpituusalueiden valintaan voisi toteuttaa graafisesti säädettäviä palkkeja, joita säätämällä tulos näkyisi reaaliajassa.

Kokonaisuutena työ oli onnistunut ja sille asetetut tavoitteet saavutettiin. Työn tuloksena syntynyttä ohjelmakoodia voidaan hyödyntää tulevaisuudessa tutkimusprojekteissa, minkä ansiosta työstä voi olla hyötyä nykyisten lääketieteellisten diagnosointimenetelmien parantamisessa.

LÄHTEET

- [1] J. E. Freeman *ym.*, "The Use of Medical Hyperspectral Technology to Evaluate Microcirculatory Changes in Diabetic Foot Ulcers and to Predict Clinical Outcomes", *Diabetes Care*, vsk. 30, nro 4, ss. 903–910, 2007.
- [2] A. M. Siddiqi *ym.*, "Use of hyperspectral imaging to distinguish normal, precancerous, and cancerous cells", *Cancer*, vsk. 114, nro 1, ss. 13–21, 2008.
- [3] M. Schlerf *ym.*, "A hyperspectral thermal infrared imaging instrument for natural resources applications", *Remote Sens.*, vsk. 4, nro 12, ss. 3995–4009, 2012.
- [4] Specim, Spectral Imaging Oy Ltd, "Specim IQ User Manual: Illumination", *Specimin verkkosivusto*. [Verkossa]. Saatavissa: <http://www.specim.fi/iq/manual/software/iq/topics/illumination.html>. [Viitattu: 5.5.2019].
- [5] T. Hyvärinen ja Specim, Spectral Imaging Oy Ltd, "What Makes Push-broom Hyperspectral Imaging Advantageous for Art Applications", *COSCHin verkkosivusto*. [Verkossa]. Saatavissa: http://cosch.info/documents/14030/52106/Hyvärinen_presentation.pdf/021725c5-a6af-4003-8bb2-4cfd2c70ccc4. [Viitattu: 21.4.2019].
- [6] H. Cen, R. Lu, D. P. Ariana, ja F. Mendoza, "Hyperspectral Imaging-Based Classification and Wavebands Selection for Internal Defect Detection of Pickling Cucumbers", *Food Bioprocess Technol.*, vsk. 7, nro 6, ss. 1689–1700, 2014.
- [7] Y. Z. Feng ja D. W. Sun, "Application of Hyperspectral Imaging in Food Safety Inspection and Control: A Review", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vsk. 52, nro 11, ss. 1039–1058, 2012.
- [8] S. Legrand *ym.*, "Examination of historical paintings by state-of-the-art hyperspectral imaging methods: From scanning infra-red spectroscopy to computed X-ray laminography", *Herit. Sci.*, vsk. 2, nro 1, ss. 1–11, 2014.

- [9] W. Ouerghemmi, S. Gadai, ja G. Mozgeris, "Urban Vegetation Mapping Using Hyperspectral Imagery and Spectral Library", nro July, ss. 1632–1635, 2018.
- [10] G. Lu ja B. Fei, "Medical hyperspectral imaging: a review", *J. Biomed. Opt.*, vsk. 19, nro 1, s. 010901, 2014.
- [11] Protocols Online, "Paraffin Processing of Tissue", *Protocols Onlinen verkkosivusto*. [Verkossa]. Saatavissa: <https://www.protocolsonline.com/histology/sample-preparation/paraffin-processing-of-tissue/>.
- [12] BD Biosciences, "Preparation and Staining of Paraffin Sections", *BD Biosciencesin verkkosivusto*, 2019. [Verkossa]. Saatavissa: http://www.bdbiosciences.com/br/resources/protocols/paraffin_sections.jsp. [Viitattu: 19.4.2019].
- [13] Leica Biosystems, "An Introduction to Specimen Processing", *Leica Biosystems in verkkosivusto*. [Verkossa]. Saatavissa: <https://www.leicabiosystems.com/pathologyleaders/an-introduction-to-specimen-processing/>. [Viitattu: 19.4.2019].
- [14] M. Halicek, J. V. Little, X. Wang, A. Y. Chen, ja B. Fei, "Optical biopsy of head and neck cancer using hyperspectral imaging and convolutional neural networks", *J. Biomed. Opt.*, vsk. 24, nro 03, 036007, 2019.
- [15] L. C. Cancio *ym.*, "Hyperspectral imaging: A new approach to the diagnosis of hemorrhagic shock", *J. Trauma - Inj. Infect. Crit. Care*, vsk. 60, nro 5, ss. 1087–1095, 2006.
- [16] J. A. Chin, E. C. Wang, ja M. R. Kibbe, "Evaluation of hyperspectral technology for assessing the presence and severity of peripheral artery disease", *J. Vasc. Surg.*, vsk. 54, nro 6, ss. 1679–1688, 2011.
- [17] F. Blanco, M. López-Mesas, S. Serranti, G. Bonifazi, J. Havel, ja M. Valiente, "Hyperspectral imaging based method for fast characterization of kidney stone types", *J. Biomed. Opt.*, vsk. 17, nro 7, 076027, 2012.

- [18] P. Usenik, M. Bürmen, A. Fidler, F. Pernuš, ja B. Likar, "Evaluation of cross-polarized near infrared hyperspectral imaging for early detection of dental caries", *Lasers Dent. XVIII*, vsk. 8208, nro February, 82080G, 2012.
- [19] R. Martin, B. Thies, ja A. O. Gerstner, "Hyperspectral hybrid method classification for detecting altered mucosa of the human larynx.", *Int. J. Health Geogr.*, vsk. 11, 21, 2012.
- [20] D. R. McCormack ym., "In vivo hyperspectral imaging of microvessel response to trastuzumab treatment in breast cancer xenografts", *Biomed. Opt. Express*, vsk. 5, nro 7, ss. 1679–1688, 2014.
- [21] J. D. Rogers, A. J. Radosevich, J. Yi, ja V. Backman, "Modeling light scattering in tissue as continuous random media using a versatile refractive index correlation function", *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, vsk. 20, nro 2, 7000514, 2014.
- [22] Terveiden ja hyvinvoinnin laitos, "Sydän- ja verisuonitautien yleisyys", *Terveiden ja hyvinvoinnin laitoksen verkkosivusto*, 2014. [Verkossa]. Saatavissa: <https://thl.fi/fi/web/kansantaudit/sydan-ja-verisuonitaudit/sydan-ja-verisuonitautien-yleisyys>. [Viitattu: 1.4.2019].
- [23] The Centers for Disease Control and Prevention, "Heart Disease Facts", *The Centers for Disease Control and Prevention*, 2015. [Verkossa]. Saatavissa: <http://www.cdc.gov/heartdisease/facts.htm>. [Viitattu: 1.4.2019].
- [24] Specim, Spectral Imaging Oy Ltd, "Specim IQ Data Sheet", *Specimin verkkosivusto*, 2018. [Verkossa]. Saatavissa: <http://www.specim.fi/iq/tech-specs/>. [Viitattu: 21.4.2019].
- [25] Labsphere Inc., "Optical-grade Spectralon® Reflectance Material", *Labsphere Web Page*, 2019. [Verkossa]. Saatavissa: <https://www.labsphere.com/labsphere-products-solutions/materials-coatings-2/coatings-materials/spectralon/>. [Viitattu: 5.5.2019].