

# 基于 FFT 的三维扫描图像深层 损耗快速恢复方案\*

向际鹰 吴 震 张 平 黄德修

(华中理工大学光电子工程系 武汉 430074)

**提要** 在分析三维共焦扫描图像衰减数学模型的基础上,针对其深层损耗进行了不依赖于试样的恢复。在确保恢复准确性的前提下推导出基于 FFT(快速傅里叶变换)的快速算法,该算法具有准确、高效、适应性强、不引入额外噪声等优点。讨论了算法的计算量、内存占用量及其在微机上的实现。提出相应的改善措施,并给出测试结果。

**关键词** 共焦成像,损耗,三维图像恢复,FFT

## 1 引 言

共焦扫描成像(CSOM)的三维超分辨率<sup>[1]</sup>较之常规显微系统有质的飞跃。由此也决定了其图像后续处理的复杂性<sup>[1]</sup>,如对半透明厚试样成像时,由于光线穿越试样时的吸收和散射,造成深层图像细节信息丢失、对比度降低、像质变差,以致生物体组织深度为数十微米处的有效信息已被完全湮没<sup>[2]</sup>。为此,必须对衰减掉的有效信息加以复原,这个过程称为图像恢复。它是图像处理、三维重建、显示、识别<sup>[1]</sup>的基础,并与后者同为 CSOM 的关键技术。

本文在分析 CSOM 数学模型的基础上,针对三维扫描图像深层损耗进行了不依赖于试样的恢复。在确保恢复准确性的前提下推导出基于 FFT(快速傅里叶变换)的快速算法,并在微机上的实现。讨论了算法的计算量及内存占用量。提出了相应改善措施,并给出了测试结果。

## 2 理论分析

为避免低效费时的直接积分,很多研究中<sup>[3]</sup>对衰减模型进行了简化,如认为衰减程度仅与深度有关,而与试样无关,这使得用硬件作图像恢复成为可能,如逐层增大入射光强度,或逐层增大 PMT 电源电压,也可用软件方法逐层乘以一个增量等等。上述方法都对深层图像加以增益以补偿损耗。然而,它们实质上都是通过割裂衰减系数与空间位置的关系来达到减少运算量的目的,局限性是显而易见的,其恢复的可信度将严重地依赖于试样。对同一试样会有某些区域恢复过度而另一些区域恢复不足。例如若在不同的深度放置两个相同的细胞,二者均被无阻挡地照明,用上述方法中的任何一种进行恢复之后,深层细胞总比表层细胞亮,这与实际情况

\* 国家自然科学基金资助项目。

是不符的。可见上述恢复方法相当粗糙并有失真。为此,寻找不依赖于试样、适应性强的恢复算法很有必要,下面从图像衰减的数学模型入手进行定量分析,并对文献[4,5]所作研究进行修正和补充。

### 2.1 图像衰减的数学模型

鉴于衰减和反射同为光学特性,在二者之间找到特定的联系是可能的。事实上在照度较低、不考虑饱和的情况下,对生物体试样,如 DNA 来说,指数衰减的数学模型是近似成立的<sup>[4]</sup>,即衰减前后的光能量满足指数关系,而衰减系数与反射光强度成正比。这已成为图像恢复的基础。首先分析光线在试样中的传播过程。

以共焦点  $Foc(x, y, z)$  为原点建立柱面坐标  $(\theta, \varphi, z')$ , 则光的衰减及损耗在图 2 中的锥形中进行,锥度半角为  $\omega$ , 锥高为  $z$ , 设  $f$  为物镜焦距,  $P_{in}(\theta, \varphi, z')$  为入射光能量,  $P_L(\theta, \varphi, z')$  为实际入射到像点的光能量,  $r(\theta, \varphi, z')$  为像点的反射率,  $P_r(\theta, \varphi, z')$  为试样反射光能量,  $P_{out}(\theta, \varphi, z')$  为被探测器接收光能量,  $L_x, L_y, L_z$  为试样的尺寸。物镜上的微元面积  $dS_1$  为

$$dS_1 = \left[ \frac{f}{\cos\theta} \cdot d\theta \right] (f \cdot \text{tg}\theta \cdot d\varphi) \frac{1}{\cos\theta} = f^2 \cdot \frac{\sin\theta}{\cos^3\theta} d\theta d\varphi \quad (1)$$

在此基础上求得微元上的光能量为

$$dP_{in} = P_{in} \frac{dS_1}{\pi \cdot (f \cdot \text{tg}\omega)^2} = P_{in} \frac{1}{\pi \cdot \text{tg}^2\omega} \cdot \frac{\sin\theta}{\cos^3\theta} d\theta d\varphi \quad (2)$$

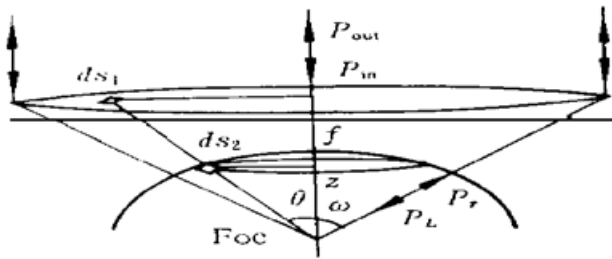


图 1 光线传输及衰减过程

Fig. 1 Transformation and attenuation of a light

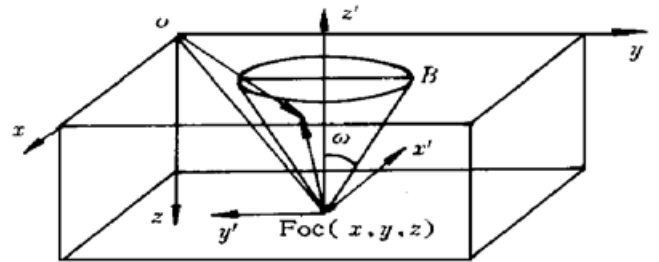


图 2 图像衰减的作用区域

Fig. 2 Valid area of the image attenuation

对高斯光束,因扩束后发散角较小,可认为强度分布基本均匀,而会聚波面则不然,由上式可知其能量密度将受因子  $\sin\theta/\cos^3\theta$  调制,而在某些资料<sup>[4,5]</sup>中从均匀球面波照明的角度出发得出了调制因子为  $\sin\theta\cos\theta$  的结论。后者将导致对衰减程度偏大的估计,且其偏差将随  $\theta$  的增大而增大,在极端情况下( $\theta = 60^\circ$ )将达到不能忽略的程度。该偏差还将最终减少本算法的精确描述范围。

将衰减系数记为  $a(\theta, \varphi, z')$ , 根据指数衰减的数学模型,实际照射像点的光能量为

$$dP_L = dP_{in} \cdot \exp \int_0^z - a(\theta, \varphi, z') dz' / \cos\theta \quad (3)$$

记试样反射光为  $P_r$ , 认为其各向均布, 则微元  $dS_2$  上光能量为<sup>[5]</sup>

$$dP_r = P_r(z' d\theta / \cos\theta) (z' \text{tg}\theta d\varphi) / 4\pi (z' / \cos\theta)^2 = P_L(\theta, \varphi, z') r(\theta, \varphi, z') \sin\theta d\theta d\varphi / 4\pi \quad (4)$$

这些光同样经过指数衰减, 其中一部分进入探测器, 则实测光能量为

$$P_{out}(\theta, \varphi, z') = P_{in}(\theta, \varphi, z') \cdot r(\theta, \varphi, z') \cdot \int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^\omega d\theta \cdot \frac{1}{\pi \cdot \text{tg}^2\omega} \cdot \frac{\sin\theta}{\cos^3\theta} \cdot$$

$$\exp \int_0^z -a(\theta, \varphi, z') dz' / \cos \theta] \cdot \int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^{\omega} d\theta \cdot \frac{1}{4\pi} \cdot \sin \theta \cdot \exp \int_0^z -a(\theta, \varphi, z') dz' / \cos \theta] \quad (5)$$

上式给出了实测光能量与原始图像之间的关系,  $r(\theta, \varphi, z')$  就是所要恢复的原始图像信息。

## 2.2 简化及快速算法

从理论上讲, 用(5)式进行反向迭代, 总能得到精确的恢复结果, 然而, 迭代算法运算量是相当惊人的。因此, 对数学模型进行适当简化及研究快速算法十分必要。由文献[5]知当衰减较小时可取深度与衰减系数的最大值之积  $\epsilon = Lz \cdot a_{\max}$  作为衰减度的数值描述。对  $a(\theta, \varphi, z')$ ,  $z'$  进行归一化得  $\tilde{a}(\theta, \varphi, z')$  及  $\tilde{z}'$ 。将  $r(\theta, \varphi, z')$  也改写为关于  $r(\theta, \varphi, z', \epsilon)$  的形式, 并用  $\epsilon$  的线性和来表示

$$r(\theta, \varphi, z') = r(\theta, \varphi, z', \epsilon) = r_0(\theta, \varphi, z') + \epsilon r_1(\theta, \varphi, z') + \epsilon^2 r_2(\theta, \varphi, z') + \dots \quad (6)$$

用归一化的  $\tilde{a}(\theta, \varphi, z')$  及  $\tilde{z}'$  改写指数因子并用泰勒级数展开, 将其代入(5)式, 展开相乘, 并忽略  $\epsilon^2$  以上各项, 得(推导过程详见文献[5])

$$P_{\text{out}}(\theta, \varphi, z') = P_{\text{in}}(\theta, \varphi, z') \cdot \frac{1}{\pi \cdot \text{tg}^2 \omega} \cdot \frac{1}{4\pi} \cdot \left\{ r_0(\theta, \varphi, z') \cdot \pi \cdot \text{tg}^2 \omega \cdot 2\pi(1 - \cos \omega) + \right. \\ \left. \epsilon \cdot \left[ r_1(\theta, \varphi, z') \cdot \pi \cdot \text{tg}^2 \omega \cdot 2\pi(1 - \cos \omega) - \right. \right. \\ \left. r_0(\theta, \varphi, z') \cdot \int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^{\omega} d\theta \cdot \frac{\sin \theta}{\cos^3 \theta} \cdot 2\pi(1 - \cos \omega) \cdot \int_{z'=0}^z \tilde{a}(\theta, \varphi, z') \frac{d\tilde{z}'}{\cos \theta} - \right. \\ \left. \left. r_0(\theta, \varphi, z') \cdot \int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^{\omega} d\theta \cdot \sin \theta \cdot \pi \cdot \text{tg}^2 \omega \cdot \int_{z'=0}^z \tilde{a}(\theta, \varphi, z') \frac{d\tilde{z}'}{\cos \theta} \right] \right\} \quad (7)$$

因  $\epsilon$  很小, 可认为  $P_{\text{out}}(\theta, \varphi, z')$  约等于  $\epsilon$  的 0 次幂项, 有如下二式成立

$$r_0(\theta, \varphi, z') = 2P_{\text{out}}(\theta, \varphi, z') / [P_{\text{in}}(\theta, \varphi, z') \cdot (1 - \cos \omega)] \quad (8)$$

$$r_1(\theta, \varphi, z') = r_0(\theta, \varphi, z') C(\theta, \varphi, z') \quad (9)$$

其中,

$$C(\theta, \varphi, z') = \int_{z'=0}^z d\tilde{z}' \int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^{\omega} d\theta \cdot \tilde{a}(\theta, \varphi, z') \cdot \left[ \frac{1}{\pi \cdot \text{tg}^2 \omega} \cdot \frac{\sin \theta}{\cos^4 \theta} + \frac{1}{2\pi \cdot (1 - \cos \omega)} \cdot \frac{\sin \theta}{\cos \theta} \right] \quad (10)$$

为计算  $C$ , 建立以  $\text{Foc}(x, y, z)$  为原点的直角坐标  $(x', y', z')$ , 进行坐标变换, 有

$$C(x, y, z) = \int_{-\infty}^{+\infty} dz' \int_{-\infty}^{+\infty} dy' \int_{-\infty}^{+\infty} dx' \cdot k(x', y', z') \cdot \tilde{a}(x - x', y - y', z - z') = \\ k(x, y, z) \otimes_3 \tilde{a}(x, y, z) \quad (11)$$

其中  $\otimes_3$  为三维卷积, 在  $0 < z' \leq z, x'^2 + y'^2 \leq (z' \text{tg} \omega)^2$  处有

$$k(x', y', z') = \sqrt{x'^2 + y'^2 + z'^2} / (z'^3 \pi \cdot \text{tg}^2 \omega) + 1 / [2\pi \cdot (1 - \cos \omega) (x'^2 + y'^2 + z'^2)] \quad (12)$$

而在其它地方均为 0。对(11)式的三维卷积可用 FFT 计算, 用  $a(x, y, z)$  取代  $\tilde{a}(x, y, z)$ , 有

$$C(x, y, z) = F_3^{-1} \{ F_3 [k(x, y, z)] \cdot F_3 [a(x, y, z)] \} \quad (13)$$

## 3 算法实现及讨论

### 3.1 衰减系数 $a(x, y, z)$ 的估算

对衰减系数  $a(x, y, z)$  可采用二值化法进行估算<sup>[4,5]</sup>, 但其阈值的确定存在一定困难, 即使

用实验测定也极不精确。为此利用图像的统计特性给出初始恢复系数 GreyFactor( $z$ ), 由此递推得到  $a$  的估值(衰减因子 AttFactor 由用户给出), 这样即能保持算法的高速, 又能提高准确性

$$\rho_0(z) = \begin{cases} 1 & z = 0 \\ \exp\left[2\Delta z \sum_{m_z=0}^{z-1} \left[ \rho_0(m_z) \text{AttFactor} \sum_{m_y=0}^{L_y-1} \sum_{m_x=0}^{L_x-1} P_{\text{out}}(m_x, m_y, m_z) \right] / (256L_xL_y) \right] & z > 0 \end{cases} \quad (14)$$

$$a(x, y, z) = \text{AttFactor} \cdot \text{GreyFactor}(z) \cdot P_{\text{out}}(x, y, z) / 256 \quad (15)$$

### 3.2 精度与速度

FFT 法在迭代法的基础上作了两次简化, 因此精度低于后者。当衰减较小时, 两种方案的差别很小; 而当衰减较大时,  $\epsilon$  高次项的舍入误差也会越来越大, 此时迭代方案更为可取。然而, 迭代方案的计算量是惊人的, 对  $L_x^* L_y^* L_z$  的图像, 积分总点数为

$$\text{Total points} = L_x \cdot L_y \cdot \sum_{m_z=0}^z \sum_{n_z=0}^{m_z} \pi(\Delta z \cdot n_z \cdot \text{tg}\omega)^2 \approx (\Delta z \cdot \text{tg}\omega)^2 \cdot \pi \cdot L_x \cdot L_y \cdot L_z^4 / 12 \quad (16)$$

由(5)式可知, 迭代法对每个积分点需进行 15 次乘, 2 次加, 1 次开方和 1 次指数运算, 而(16)式表明积分点数随  $x, y$  呈线性增长, 随  $z$  呈近 4 次方的增长关系(文献[5]认为按平方增长)。可以预见随深度的增加, 计算量将急剧增大。而 FFT 法总共只需作  $L_z[6\log_2(L_x \cdot L_y)L_x \cdot L_y + 4L_x \cdot L_y]$  次乘,  $L_z[9\log_2(L_x \cdot L_y)L_x \cdot L_y + 2L_x \cdot L_y]$  次加, 如一幅  $512 \times 512 \times 16$ ,  $\Delta z = 3$ ,  $\omega = 60^\circ$  的图像, 迭代法共需进行  $1.8 \times 10^{12}$  次实数乘,  $2.4 \times 10^{11}$  次实数加,  $1.2 \times 10^{11}$  开方和指数运算。而用 FFT 法只需进行  $4.7 \times 10^8$  次实数乘,  $6.9 \times 10^8$  次实数加, 仅此两项就分别比前者快 3830 倍和 348 倍。考虑到后者无需作指数运算, 实际加速远大于此。

### 3.3 内存占用量

对快速恢复算法而言, 内存占用量至关重要, 它在某种程度上甚至关系到算法的可行性。纵观整个恢复过程, 频域内的卷积运算是内存空间的“瓶颈”, 因此从该步入手, 分析内存占用量与原始图像尺寸的关系。首先, 卷积过程涉及 3 组数据( $k, a$ , 及  $c$ ), 它们均为复数, 一个复数占用  $2 \times 6 = 12$  个字节。另外, 若以  $L_z$  为基频作 FFT, 则等效于以  $L_z$  为周期进行周期性扩展, 而事实上,  $-L_z$  至 0 层的图像灰度应为 0 而不是 0 至  $L_z$  层数据的重复。因此, 为得到正确结果, 需在  $z$  方向作长度为  $L_z$  的 0 扩展, 这意味着数据量的再次加倍, 达  $3 \times 12 \times 2 = 72$  倍原始数据量。对  $512 \times 512 \times 16$  的图像, 约占 295 M 字节, 大大突破了微机的物理内存甚至逻辑内存极限。为此必须对算法进行细致分析和优化, 使其最大限度地满足动态数据调度的要求。

注意到  $z$  方向的 0 扩展有其特殊性, 可利用其在频域中的对称性来节省空间。为简单起见, 以下只讨论  $z$  方向一维的情况。设实函数  $f(z)$  在  $[0, L_z)$  内有定义, 将其在  $[L_z, 2L_z)$  内作 0 扩展

$$f(z) = \begin{cases} f(z) & z \in [0, L_z) \\ 0 & z \in [L_z, 2L_z) \end{cases} \quad (17)$$

考查其傅里叶变换的对称性, 有

$$\begin{aligned} F_r(2L_z - s) &= \sum_{z=0}^{2L_z-1} f(z) \cos[2\pi \cdot (2L_z - s) \cdot z / 2L_z] = \\ &= \sum_{z=0}^{2L_z-1} f(z) \cos(2\pi \cdot s \cdot z / 2L_z) = F_r(s) \\ F_i(2L_z - s) &= \sum_{z=0}^{2L_z-1} f(z) \sin[2\pi \cdot (2L_z - s) \cdot z / 2L_z] = \end{aligned} \quad (18)$$

$$- \sum_{z=0}^{2L_z-1} f(z) \sin(2\pi \cdot s \cdot z/2L_z) = - F_i(s) \quad (19)$$

即  $F_r(s)$  关于  $L_z$  偶对称,  $F_i(s)$  关于  $L_z$  奇对称。因此  $z$  方向只需扩展一层(第  $L_z$  层)。傅里叶反变换的对称性与此类似。上述考虑可使内存需求减至原来的  $(L_z + 1)/2L_z$  倍, 即约二分之一。另外, 在算法实现时还采用了以下措施: (1)  $z$  方向采用分块算法, 原则上每块数据恰好覆盖可用物理内存的  $3/4$ , 实践证明这个比例快速而有效; (2) 当物理内存不足时, 可主动交换磁盘, 使其优先于 Windows 的内存调度; (3) 将互相关联的局部运算加以组合, 从而减少磁盘交换次数。

实际运算中, 只在  $x, y$  方向上进行快速傅里叶变换, 而  $z$  方向上仍采用直接积分, 这样做有如下理由: (1) 当层数较多时, FFT 的加速较为明显, 而实测图像层数较少(仅十几层), 不能明显地加速; (2) FFT 只能处理层数为 2 的整次幂的情况, 而多数情况下实测图像不满足此项条件, 若对图像进行目标为 2 的整次幂的 0 扩展, 则会极大地浪费存贮空间。

## 4 算法测试及结论

构造一幅简单的测试图像, 以对快速恢复算法作定量的评估, 测试图像为灰度分布均匀的圆斑, 图 3 给出了几个主要的恢复过程参量。由图可见, 衰减系数  $a(x, y, z)$  逐层增大; 接近顶层时, 积分核  $k(x, y, z)$  较为尖锐, 表明衰减仅与一个很小的锥形有关, 随着层数的增大, 锥形不断变大, 在靠近边界处与边界相切, 因此积分核形状变“钝”; 对于恢复系数  $c(x, y, z)$ , 当靠近顶层时, 其中部有一平顶, 是由圆斑面积大于锥形底面所致, 随着层数增加, 锥形底面面积增大, 当大于圆斑时, 恢复系数不再具有平顶。图 3 还给出了第 15 层图像恢复前后的对比, 可见恢复之后图像亮度增大、对比度变好。注意到恢复之后圆斑中部较亮, 是由于中部光线在试样中穿透最深, 图像衰减也最严重, 因此恢复系数越大, 这与预想情况相符, 可见恢复算法在原理上是可行的。

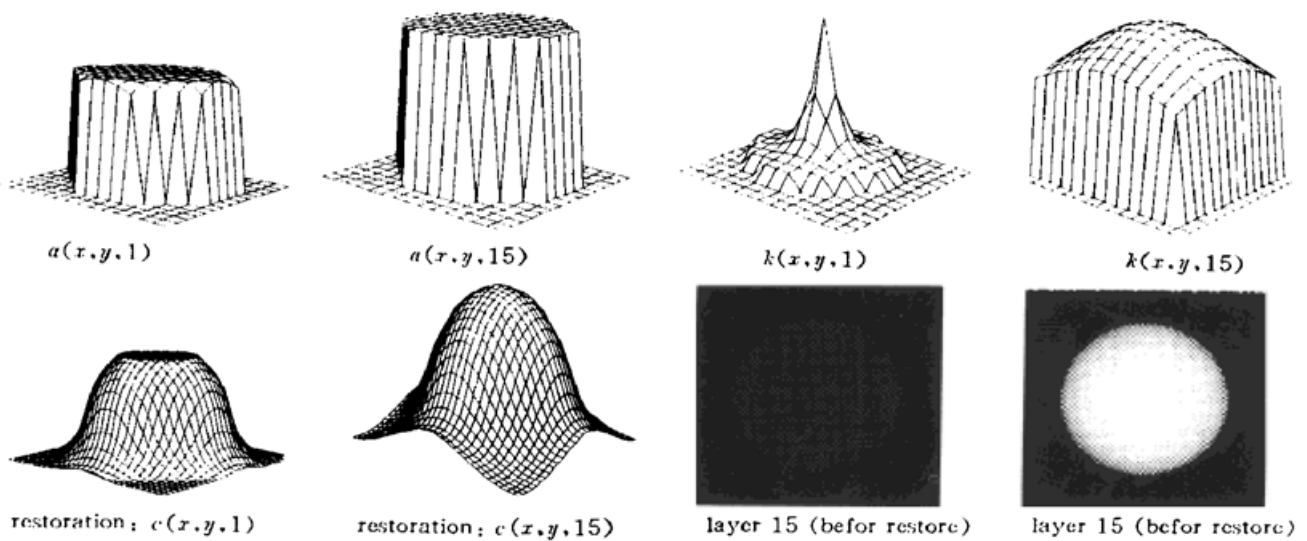


图 3 测试图像及恢复过程参量(图像尺寸  $128 \times 128 \times 16$  像素,  $\Delta z = 3.0$ , AttFactor= 0.06)

Fig. 3 Test image and some parameters during restoration ( $128 \times 128 \times 16$ ,  $\Delta z = 3.0$ , AttFactor= 0.06)

我们在微机实现了本文所述的快速恢复算法, 并将其作为所研制的 CSOM 系统<sup>[5]</sup>的一个模



图 4 图像恢复实例

(a) 第 0 层; (b) 恢复前的第 15 层; (c) 恢复后的第 15 层

Fig. 4 An example of 3D restoration

(a) Layer 0: no attenuation; (b) Layer 15: before restoration; (c) Layer 15: after restoration

块, 获得了较大的成功。图 4 给出了一个恢复实例, 试样为幼体青蛙胚胎组织, 由于在  $z$  方向上采用了极小的步进量 ( $0.5 \mu\text{m}$ ), 可认为各层图像灰度分布基本一致, 图像尺寸为  $256 \times 256 \times 16$  像素, 由图 4 可见恢复后深层图像变亮, 对比度加强, 像质得到了很大改善。但同时也发现深层图像的对比度不如顶层好, 这可能是由于深层光线受试样不均匀折射率的影响, 照明及信号光的波前发生形变所致。

## 参 考 文 献

- 1 Xiang Jiying, Wu Zhen, Zhang Ping. The reconstruction and visualization of 3D scanning digital images. *Applied Optics* (应用光学), 1996, **17**(2): 31~ 36 (in Chinese)
- 2 Matthias Kohl, Russell Watson, Mark Cope. Determination of absorption coefficients in highly scattering media from changes in attenuation and phase. *Opt. Lett.*, 1996, **21**(18): 1519~ 1521
- 3 Kendall Preston, Richard Siderits. Three dimensional reconstruction from serial sections using triakis. *SPIE*, 1992, **1660**, Biomedical Image Processing and 3D Microscopy: 660~ 665
- 4 T. D. Visser, F. C. A. Groen. Absorption and scattering correction in fluorescence confocal microscopy. *J. of Microscopy*, 1991, **163**(Pt2): 189~ 200
- 5 Zhang Ping, Wu Zhen, Wang Cuiying *et al.*. Study of restoration of sectional images in a thick sample. *Chinese J. Lasers* (中国激光), 1997, **A24**(2): 157~ 162 (in Chinese)

## An FFT Based Restoration Algorithm for Deep Layer Attenuation of Three-dimensional Scanning Images

Xiang Jiying Wu Zhen Zhang Ping Huang Dexiu

(Department of Optoelectronic Engineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074)

**Abstract** A “sample-independence” restoration method aiming at deep layer attenuation correction of three-dimensional confocal scanning images is given with the analysis of its mathematical models presented in details. A rapid access based on FFT is derived with the presumption that the resulted images will be precise enough. The algorithm, without additional noise inducement, is also proved to be accurate, efficient and flexible. The computing efficiency and memory consumption are discussed followed by its computational realization. Approaches for better performance are proposed subsequently. The successful applications to both test images and real ones are also given.

**Key words** confocal imaging, attenuation, three dimensional image restoration, FFT