

基于空间频域成像的烧伤程度无创定量评估

钟晓雪, 黄国武, 缪弘波, 胡城豪, 刘威, 孙春容, 陈志华, 李港宁, 曹自立, 金鑫, 林维豪*

温州医科大学眼视光学院(生物医学工程学院), 浙江 温州 325035

摘要 针对目前临床上尚缺乏有效可行的烧伤程度精准诊断的难题,本课题组研究了基于空间频域成像的烧伤程度无创定量评估方法。本课题组通过基于单次快照多频解调方法的空间频域成像技术,实时、大面积、高分辨地反演出了与烧伤组织结构、生理特性紧密相关的光学参数(吸收系数与约化散射系数),并结合系统聚类方法与多参数降维分析,提高了烧伤程度分类的准确性,缩短了分类时间。鼠烧伤模型的实验结果表明:动态监测光学参数的变化趋势可以显著区分出三种不同的烧伤程度,系统聚类分析缩短了分类时间,基于主因子的多参数降维分析表现出了更强的抗干扰性。本文方法为临床烧伤的早期诊断提供了一种极具潜力的实现途径。

关键词 医用光学; 医学生物成像; 空间频域成像; 烧伤程度评估; 组织光学参数

中图分类号 O436

文献标志码 A

DOI: 10.3788/CJL202249.2407205

1 引言

烧伤是指由热力、电流、化学物质、放射线等因素导致的皮肤组织损伤,居全球意外伤害死因的第六位^[1-2]。据世界卫生组织(WHO)统计^[3],全球每年因烧伤导致的死亡病例超过 30 万。烧伤不仅导致沉重的经济负担,还给患者带来了严重的生理和心理危害^[4-5],社会影响广泛而巨大,已成为全球性公共卫生问题。

烧伤治疗的重点是及时准确地评估出烧伤深度。对于不同深度的烧伤,目前国际上惯用Ⅲ度四分法^[6]将烧伤程度划分为Ⅰ度、浅Ⅱ度、深Ⅱ度和Ⅲ度。Ⅰ度烧伤仅伤及表皮,浅Ⅱ度烧伤可伤及真皮层的上层,深Ⅱ度烧伤则伤及真皮层的下层,较长时间接触热源会伤及皮肤全层及其以下的各种组织器官从而导致Ⅲ度烧伤。Jackson^[7]将烧伤组织描述为三个带:最接近热源的凝固带(出现焦痂或坏死),该区域组织发生了不可逆转的坏死与蛋白质变性;下方的淤滞带,此区域由于毛细血管渗漏、细胞膜被破坏而出现水肿,而且大分子蛋白中度变性,血流速度缓慢;最下方的充血带,此区域血流速度逐渐加快,尤其是烧伤 7 d 后特别明显。针对不同程度的烧伤,临床治疗手段存在明显差异:浅表烧伤一般通过给药自动愈合;深度烧伤必须要对创口进行手术切除和移植;介于两者之间的Ⅱ度真皮层烧伤,烧伤外科医生通常难以直接依靠肉眼判断,若仅仅只是损伤到真皮层的上层,则只需敷药依靠基底细胞或皮肤附属器上皮细胞就可修复创面,但若触及

到真皮层的下层,则治疗方案将与深度烧伤相同。此外,相关研究表明烧伤程度会随时间动态变化^[8],浅Ⅱ度创伤在烧伤后的 48 h 内可能会恶化为深Ⅱ度或Ⅲ度烧伤。因此,对烧伤程度进行准确、连续监测尤为重要。高估烧伤的严重程度可能意味着不必要的手术,而低估将导致治疗延误,从而加重病情。因此,克服肉眼主观判断的缺陷并实时定量监测烧伤程度的动态变化,成为烧伤早期诊断的难点。

目前,国内外开展了多种基于生物光子学的烧伤诊断方法,且部分已在临床中试用。其中,近红外光谱法(NIRS)^[9-10]可以实现对烧伤组织的非接触近红外光谱成像,通过表征组织内部各类化合物的浓度,就可大致区分出浅部和全层烧伤,但对浅部和深部烧伤的界线划定仍不够准确。反射式共焦显微镜(RMCM)^[10-11]法作为一种“光学活检”方法,通过连续调整聚焦深度可以精确判断损伤程度,然而,该方法具有检测区域小且需要与伤口直接接触等不足。现有的唯一被美国食品药品监督管理局(FDA)批准可用于诊断烧伤程度的激光多普勒流量计(LDI)^[10,12],对检测条件的要求较高,需要一定的环境温度和平衡时间,而且设备价格昂贵、体积大,限制了其在临床上的广泛应用。因此,研制出一种简便、快速、非侵入性的烧伤程度诊断方法是十分有必要的。空间频域成像(SFDI)技术^[13-21]因具有大视野、非接触、定量检测等优点,已在血液动力学检测、癌症诊断、烧伤评估等临床上获得了广泛应用。如:康旭等^[22]采用 SFDI 技术提取出了皮肤组织的光学参数,并准确测量出了组织

收稿日期: 2022-07-04; 修回日期: 2022-08-27; 录用日期: 2022-09-22

基金项目: 国家自然科学基金(61905181)、浙江省基础公益研究计划项目(LQ18F050005)、温州市科技计划项目(Y20170219)

通信作者: *lwhlucky@126.com

的血氧饱和度;曹自立等^[23]利用 SFDI 成像系统检测出了多种病变皮肤(例如带状疱疹、湿疹样皮炎等)组织与正常皮肤组织在光学参数、生理参数上的较大差异;Nguyen 等^[14]将 SFDI 技术应用于猪烧伤模型成像中,通过反演出的光学参数二维图,直观地展现了烧伤部位组织与周边正常组织的光学参数差异。

本课题组研究了基于 SFDI 的烧伤程度无创定量评估方法,该方法利用单次快照解调法对组织的后向散射结构图案进行快速解调,即可反演出与组织结构、生理特性紧密相关的光学参数(吸收系数 μ_a 与约化散射系数 μ'_s),从而能有效、快速地评估烧伤程度,实时监测烧伤进程。实验结果表明,烧伤导致皮肤组织的两个光学特性参数发生显著变化,且不同的烧伤深度表征出的光学参数随时间的变化趋势有所不同。本文方法为烧伤程度的定量评估提供了一种极具潜力的评估途径。

2 方法与材料

2.1 基于单次快照多频解调技术的空间频域成像(SSMD-SFDI)原理

根据光与组织的相互作用原理^[24],光子在生物组织中传输时将被吸收与散射。组织对光的吸收与散射能力分别由吸收系数(μ_a)与约化散射系数(μ'_s)这两个光学参数来描述。吸收系数取决于组织中各发色团的

浓度,而约化散射系数则与组织的结构尺寸紧密相关。因此,当烧伤引起皮肤组织中各发色团的浓度改变以及结构变性后,势必会影响吸收系数与约化散射系数的变化。SFDI 技术是一种全新的非接触、无损、大视场定量成像技术,能够快速同时解析出生物组织的吸收系数与约化散射系数,为烧伤的功能化定量成像提供了一种重要途径。

SFDI 的核心是将生物组织作为一个低通信号系统,通过投影正弦调制的结构图案到组织表面,利用 CCD 采集组织后向散射的结构图像,并通过解调技术提取出组织的调制传递函数(MTF),再由查表法或蒙特卡罗模拟反演出光学参数。假设入射到样品表面的结构光图案以及样品后向散射的光强图案分别为

$$I_{DC}^{(0)}(x, y) + I_{AC}^{(0)}(x, y) \cos[2\pi f_x x + \phi], \quad (1)$$

$$I(x, y) =$$

$$I_{DC}(x, y) + I_{AC}(x, y) \cos[2\pi f_x x + \phi], \quad (2)$$

式中: $I_{(0)}(x, y)$ 是入射到组织样品的结构调制光强度; $I(x, y)$ 是经组织后向散射得到的结构光强度; f_x 为空间调制频率; ϕ 为调制图案的相位; $I_{DC}^{(0)}$ 和 I_{DC} 分别是入射光的直流分量和后向散射的直流分量; $I_{AC}^{(0)}$ 和 I_{AC} 分别是入射光的交流分量和后向散射的交流分量。本文基于单次快照多频解调(SSMD)技术^[25]计算获得 I_{AC} 和 I_{DC} ,计算公式分别为

$$I_{AC} = \frac{\sqrt{\left[\int I(x, y) \cos(2\pi f_x x) dx \right]^2 + \left[\int I(x, y) \sin(2\pi f_x x) dx \right]^2}}{\int \cos^2(2\pi f_x x) dx}, \quad (3)$$

$$I_{DC} = \frac{1}{T} \int I(x, y) dx, \quad (4)$$

式中: T 表示基核的窗口大小。将式(3)与式(4)解调出的交流分量和直流分量代入式(5)即可计算出组织的调制传递函数。

$$\begin{cases} MTF_{AC} = \frac{I_{AC}}{I_{AC}^{(0)}} \\ MTF_{DC} = \frac{I_{DC}}{I_{DC}^{(0)}} \end{cases}, \quad (5)$$

式中: MTF_{AC} 表示频率为 f_x 的交流分量的调制传递函数值; MTF_{DC} 表示直流分量的调制传递函数值。

最后,根据光子扩散传输理论^[26-27],组织的调制传递函数与吸收系数、约化散射系数满足

$$MTF(q) = \frac{3\mu'_s}{8\pi} \frac{1 + (2\beta + Q)l}{\beta(\beta + Q)^2(1 + Ql)}, \quad (6)$$

式中: $Q \equiv \sqrt{q^2 + 3\mu_a\beta}$; q 为角频率, $q \equiv 2\pi f_x$; β 为约化衰减系数, $\beta \equiv \mu_a + \mu'_s$; l 为外推长度, $l \equiv \alpha/\mu'_s$, α 为表面粗糙系数。由式(6)可以建立起交流和直流分量下调制传递函数值与吸收系数、约化散射系数

的关系,如图 1 所示,即基于 MTF_{AC} 和 MTF_{DC} 可以通过查表插值快速获得吸收系数和约化散射系数。

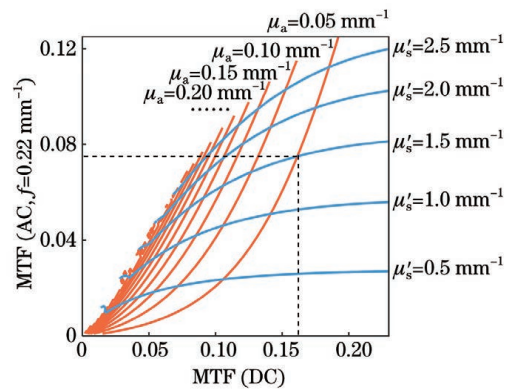


图 1 快速计算光学参数(μ_a 和 μ'_s)的双频调制传递函数(直流与交流)查表法

Fig. 1 Two-frequency MTF (DC versus AC) lookup table for rapid calculation of optical parameters (μ_a and μ'_s)

需要特别说明的是,在 SFDI 的各种解调方法中,本研究采用了独具优势的 SSMD 方法。相较于传统

的三相移解调法需要采集三幅图像才能解调计算交流分量和直流分量,SSMD 仅需单次快照就可以实现,极大地抑制了运动伪影问题。此外,SSMD 通过滤波技术也显著提高了成像的信噪比。

2.2 便携式烧伤定量成像装置

自主研发的便携式烧伤定量成像装置如图 2 所示。该成像装置的主体由双光路构成,分别是结构光投影光路与成像光路。投影光路包括 RGB 三色 LED 光源(型

号为 GCSI-800110,R 光波长为 $629 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$,G 光波长为 $528 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$,B 光波长为 $451 \text{ nm} \pm 11 \text{ nm}$)、准直非球面镜(焦距为 15 mm)、正弦调制光栅(型号为 GT-SG-TPS001)以及投影物镜(焦距为 35 mm)。成像光路包括物镜(焦距为 35 mm)及高分辨率 CCD 相机(型号为 GS3-U3-51S5C-C,分辨率为 $2448 \text{ pixel} \times 2048 \text{ pixel}$)。两条光路由薄膜分束器(型号为 CM1-BP145B1)耦合,既结构紧凑又消除了反射鬼影。

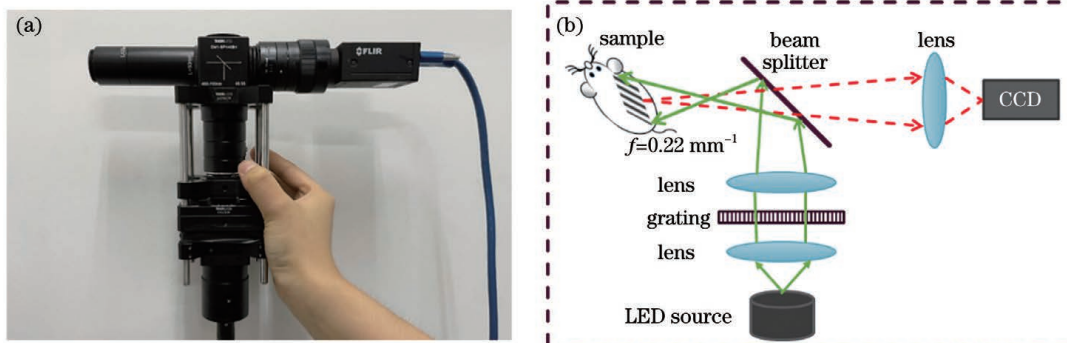


图 2 便携式烧伤定量成像装置。(a)装置实物图;(b)光路示意图

Fig. 2 Portable quantitative burn imager. (a) Device physical map; (b) optical path schematic

如图 2(b)光路示意图所示,同时开启 RGB 三个 LED,光源发出的三种波长光通过非球面透镜准直平行入射到调制光栅,产生正弦条纹图案,并由投影物镜放大照射到样品表面。经过样品后向散射的图案通过物镜成像到 CCD 相机。本实验中,正弦调制图案投影至样品表面的空间频率 $f = 0.22 \text{ mm}^{-1}$,样品成像视场直径为 22 mm ,物方分辨率为 $10.4 \mu\text{m}$,相机曝光时间为 100 ms 。

2.3 实验方案与数据处理流程

本研究的动物烧伤模型和实验方案已通过温州医科大学实验动物中心动物实验伦理审核(批准号:wydw2022-0116)。选用 4 只 SD 大鼠(体重为 $200 \sim 300 \text{ g}$, $9 \sim 11$ 周龄),以可控恒温电熨斗作为热源,接触烫面是尺寸为 $85 \text{ mm} \times 26 \text{ mm}$ 且略呈弧面的长方形金属平面。鼠烧伤模型的具体实验过程如下:1)先用电动刮毛机对每只大鼠的背侧区域剃毛,并用刀片刮刀进一步脱毛,保证每只大鼠身上有 4 处大小与金属接触烫面相匹配的实验区域。2)经腹腔向 SD 大鼠注射三溴乙醇进行麻醉,先对所有背部实验区域进行测量并作为空白对照组,然后将恒温电熨斗加热到 $100 \text{ }^\circ\text{C}$,在没有额外压力(仅重力)的情况下作用于每只大鼠背侧的 4 处实验区域,接触时间分别设置为 4、12、24 s(根据文献^[16-17,28-29]确定接触时间),如图 3 所示,以造成不同程度(从浅表部分到全厚度)的烧伤区域。共形成 15 处烧伤区,三种程度的烧伤区均有 5 组。3)分别在烧伤后的第 5、第 10、第 30、第 60、第 90、第 120 分钟时利用便携式成像装置对大鼠各烧伤区域进行连续测量,获取实验数据。4)实验结束,通过腹部注射过量巴比妥类麻醉剂使大鼠安乐死,尸体打包后

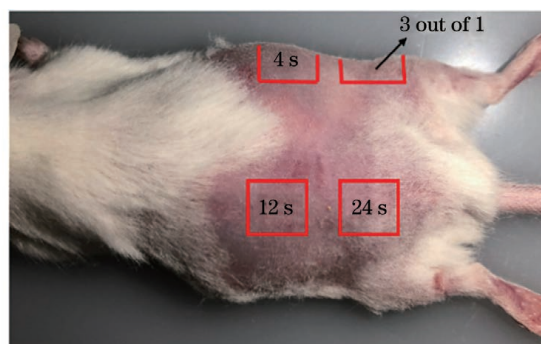


图 3 SD 大鼠背侧烧伤时间分布图

Fig. 3 Time distribution of dorsal burns in SD rats

统一焚烧。

实验数据按照图 4(a)流程图所示步骤进行处理:

1) 对于三种烧伤组(4 s、12 s、24 s),分别在烧伤后的 6 个时间节点(第 5、第 10、第 30、第 60、第 90、第 120 分钟)进行拍摄,获取图片,然后采用 SSMD 解调法,由式(3)~(4)分别解调出每张图片中三个波长的交流分量和直流分量的二维分布;

2) 由式(5)分别计算出交流分量与直流分量的调制传递函数 MTF_{AC} 和 MTF_{DC} ,并基于图 1 进行插值查表,分别解析出每张图片烧伤区在三个波长下的光学参数(吸收系数与约化散射系数)的二维分布;

3) 从每张光学参数图谱中心附近随机筛选出 6 个大小为 $1.04 \text{ mm} \times 1.04 \text{ mm}$ 的感兴趣区域(ROI 区域),则同一烧伤组(5 个烧伤区域)在相同烧伤节点可以产生 30 个 ROI 区域;

4) 对不同烧伤组在每一阶段下的 30 个 ROI 区域进行均值与标准差分析,并用于后续的聚类分析。

图 4(b)是设计的 MATLAB GUI 界面,该界面展示

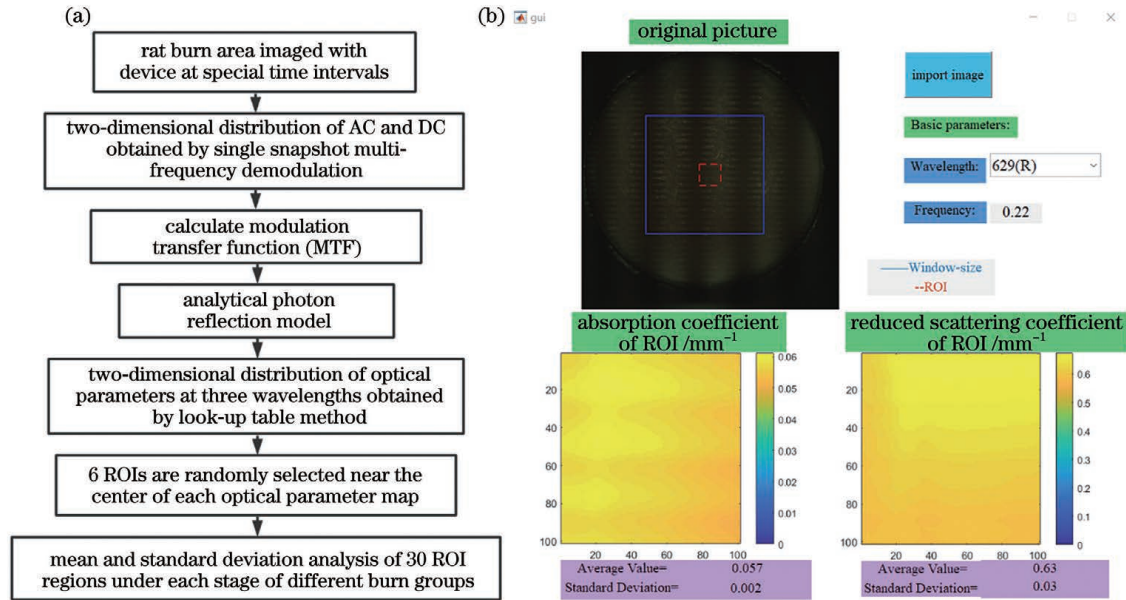


图 4 数据处理流程及数据可视化界面。(a)数据处理流程图;(b)数据可视化界面

Fig. 4 Data processing flowchart and data visualization interface. (a) Data processing flowchart; (b) data visualization interface

了一个典型烧伤区的处理结果。此处选取的烧伤区是 100 °C 恒温电熨斗与大鼠皮肤作用 12 s 产生的创面，界面上显示了 629 nm 波长、0.22 mm⁻¹ 空间频率下光学参数的二维分布结果。其中蓝色实线框为数据窗口区域，红色虚线框为 ROI 数据统计区域。该波长下 ROI 区域的两个光学参数平均值与标准差的计算结果如图 4(b) 下方两图所示。改变波长能够分别可视化三个波长下的光学参数。

3 结果与讨论

3.1 鼠烧伤模型的光学参数

本研究共产生了 15 组烧伤创面，三个不同烧伤程度的样本均有 5 组。图 5 展示了不同烧伤时间下大鼠烧伤区与未烧伤的空白组的原始图。可见，烧伤区与未烧伤区可以明显区分，各烧伤组之间也存在差别。例如：4 s 组与其他两组烧伤区的颜色不同但区别不明显，而 12 s 组与 24 s 组的烧伤区域仅靠肉眼观察难以区分。

图 6 展示了烧伤区域在不同时间间隔和 R (629 nm)、G(528 nm)、B(451 nm) 三个波长下的吸收系数与约化散射系数较烧伤前的变化(反映烧伤后吸收系数与约化散射系数的变化程度)。如图 6(a) 所示，在 629 nm 波长下，三条曲线分别对应 4 s 组、12 s

组、24 s 组相较于空白组的吸收系数变化。以烧伤后 60 min 为例，4 s 组的吸收系数(ROI 的平均值)相较于烧伤前减小了约 40%，12 s 组和 24 s 组则分别增大了约 40% 和 90%。图 6 表明，基于三个波长下吸收系数与约化散射系数的相对变化均可以实现对不同烧伤程度的区分。同时可以发现：吸收系数 μ_a 的大小与烧伤程度正相关，烧伤越严重， μ_a 增大得越显著；约化散射系数 μ'_s 的大小与烧伤程度负相关，即随着烧伤程度加重， μ'_s 会显著变小。由文献[16-17, 30-31]可知，皮肤是传热系数较小的介质，仅在温度较高或热作用时间相对较长的情况下，皮肤组织中的蛋白质结构才会发生变形。热量会在烫伤部位弥散，当创伤区的血液供应不足或组织发生感染时，水肿瘀滞带发生坏死，成为凝固带。轻度烧伤组织形成的水肿瘀滞带相对较厚，而凝固带较薄，皮肤组织的吸收系数较小；重度烧伤形成的凝固带变厚，皮肤组织的吸收系数增大。实验结果显示：4 s 组吸收系数的相对变化长时间小于 0，即较烧伤前的吸收系数减小，表明热金属接触皮肤组织 4 s 会造成大鼠轻度烧伤；而 12 s 组与 24 s 组吸收系数的相对变化在任何时段任何波长下均大于 0，即较烧伤前的吸收系数增大，表明该两组均造成了大鼠重度烧伤。烧伤后散射能力的差异主要源于组织胶

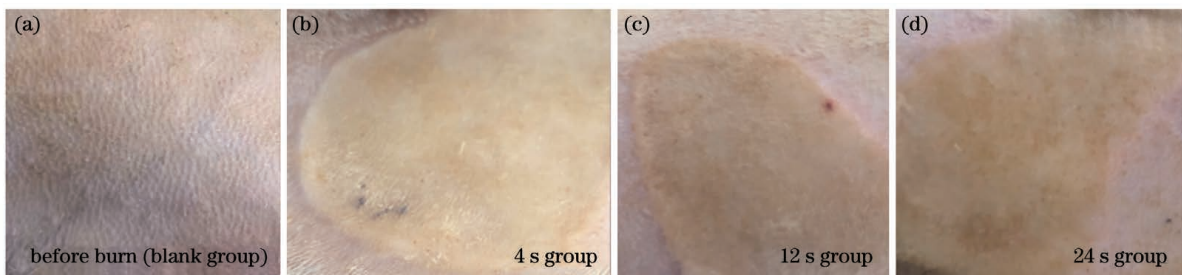


图 5 大鼠烧伤皮肤原图。(a)烧伤前(空白组);(b)4 s 组;(c)12 s 组;(d)24 s 组

Fig. 5 Pictures of rat burn skin. (a) Before burn (blank group); (b) 4 s group; (c) 12 s group; (d) 24 s group

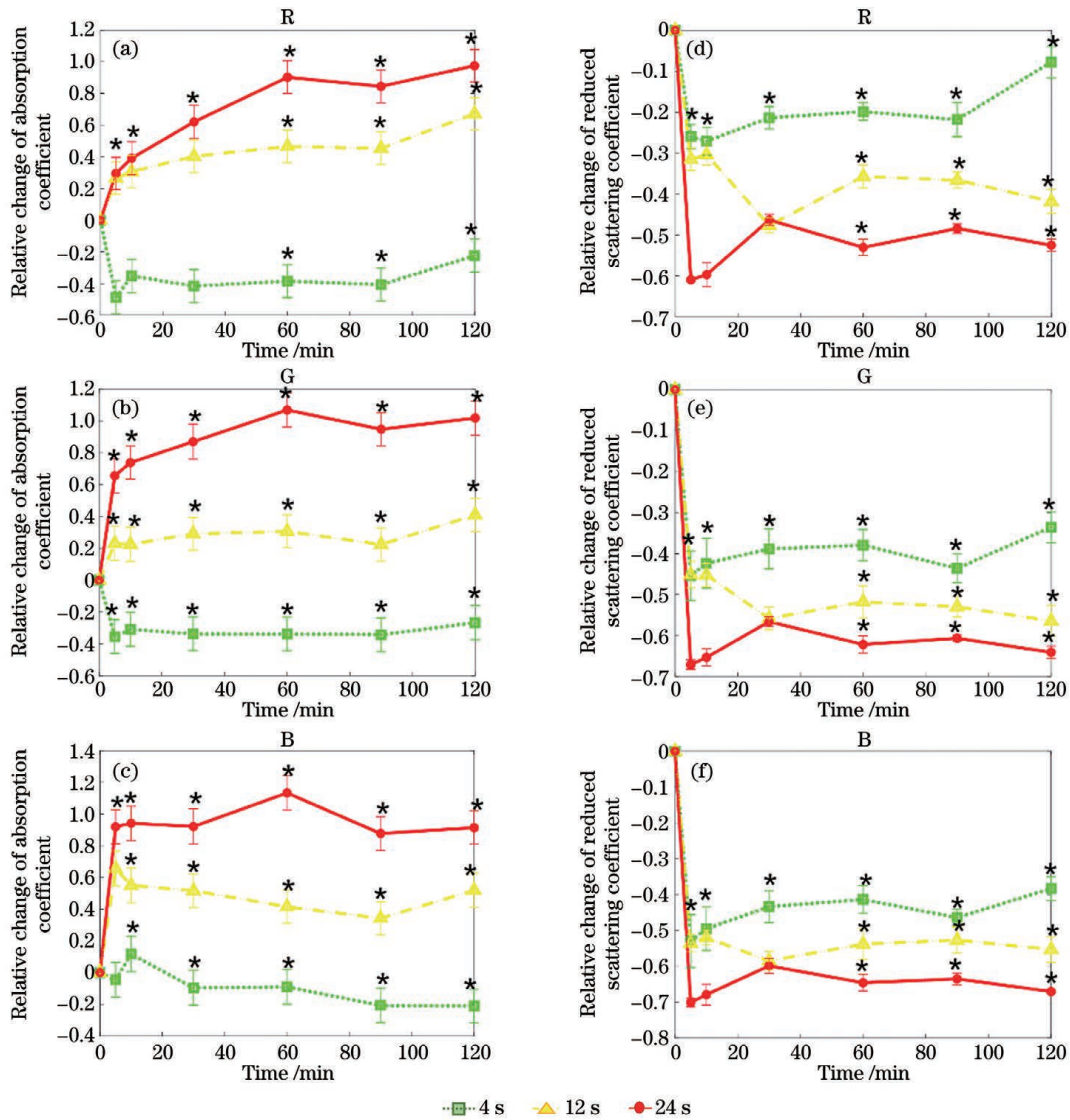


图 6 三个波长下三组不同烧伤区光学参数随时间的变化(每个时间节点对应的参数值为 ROI 区域的平均值,并给出了其标准差。利用 Mann-Whitney U-test 比较数据的差异性,显著性差异水平用“*”表示,*表示 $P < 0.05$)。(a)~(c) R、G、B 波长下各时段烧伤区吸收系数相对于烧伤前的变化;(d)~(f) R、G、B 波长下各时段烧伤区约化散射系数相对于烧伤前的变化
Fig. 6 Variation of optical parameters of three groups of different burn areas with time under three wavelengths (the parameter value corresponding to each time period is the average value of ROI area, and its standard deviation is also given. Mann-Whitney U-test is used to compare the differences of data, and the level of significant difference is represented by “*” and * represents $P < 0.05$). (a)~(c) Relative change of absorption coefficient of burn area to the area before burn at each time period under R, G, B wavelengths; (d)~(f) relative change of reduced scattering coefficient of burn area to the area before burn at each time period under R, G, B wavelengths

原纤维密度和大小改变^[16,32]。Masson 通过三色组织切片发现,热损伤不仅会导致蛋白变性,还能有效地熔化胶原纤维,形成更大的无定形胶原蛋白聚集体^[32]。因此,烧伤皮肤组织的散射截面增大且散射颗粒分布减少,约化散射系数减小,而且随着烧伤程度增加,组织中所含胶原纤维的密度和尺寸大幅改变,导致约化散射系数显著变小。本实验结果与理论分析相吻合。

另外,在烧伤初期难以通过光学参数对三种程度的烧伤进行很好的区分,但随着观测时间的推移,可以发现 4 s 烧伤组的光学参数变化逐渐平缓或逐渐向未烧伤状态靠近,而 12 s 组与 24 s 组的光学参数则均逐

渐偏离正常状态。以图 6(d)为例,烧伤后的前 10 min 内难以利用约化散射系数的相对变化将 4 s 组与 12 s 组区分,但随着观测时间的延长,4 s 组的约化散射系数逐渐恢复至初始状态,而其他两组的约化散射系数仍呈现下降的趋势。其余曲线图反映的结果也基本与此相同。虽然 12 s 组与 24 s 组的变化趋势一致,但光学参数的相对变化在数值上仍有差异,这表明 12 s 组与 24 s 组为不同烧伤深度的重度烧伤。

Kistler 等^[33]在探究、建立实验动物可复制的全烧伤模型时发现,在大鼠背部利用电热烫伤仪持续 20 s 热压可造成 III 度烧伤;杨军等^[34]在利用 90 °C 烧瓶热

压制作大鼠烫伤创面的实验中发现,烧瓶与 SD 大鼠背部接触 5 s 可造成 I 度烧伤,接触 15 s 可造成深 II 度烧伤,接触 15~20 s 可造成 III 度烧伤。综合本文实验现象与文献结果,本课题组认为轻度烧伤的 4 s 组属于 I 度烧伤,重度烧伤的 12 s 组和 24 s 组分别属于深 II 度烧伤和 III 度烧伤。

不同烧伤程度的组织在早期通过肉眼观测难以区分,但随着时间的推移,不同烧伤程度的组织的光学参数变化趋势却显著不同,可作为一种有效的烧伤程度评估标准,用于实现对不同烧伤深度的区分。

3.2 基于光学参数的烧伤程度系统聚类分析

考虑到连续监测尽管可以分类但耗时较长,所以本课题组进一步基于光学参数对烧伤程度展开聚类分析,旨在缩短分类时间。

由于 K-means 算法中聚类个数 K 的选择过于主观,因此本课题组选用系统聚类算法对烧伤后相同阶段下不同烧伤程度的 ROI 区域(每阶段下有 90 个 ROI 区域)进行二分类,以验证假设。烧伤后的每个时间阶段均存在 90 个样本,基于三个波长下的吸收系数与约化散射系数较烧伤前的相对变化值(共 6 个参数),利用欧氏几何计算样本间的距离,采用最短距离法计算样本与小类、小类与小类间的距离,直至所有小类合并为一个大类。具体流程如图 7(a)所示。

依据肘部法则绘制各烧伤阶段下的聚合系数折线图,从而估计出最优的聚类数量。本文展示了基于烧伤后 120 min 测得的 90 个样本数据绘制出的聚合系数折线图,如图 7(b)所示。其余时刻测得的结果与图 7(b)所示结果相似。由图 7(b)可知:当 K 值从 1 增大到 2 时,畸变程度变化最大; K 值超过 2 后,畸变程度显著降低。即肘部 $K=2$ 。因此,基于 3 个波长下的两个光学参数将烧伤程度划分为两类。

系统聚类倾向于将 4 s 组归为一类,将 12 s 组和 24 s 组归为一类,本文称之为轻度烧伤类与重度烧伤类,与聚类前的假设相吻合。为实现分类结果准确性的可视化,可将聚类结果作为实际分类结果与原先假

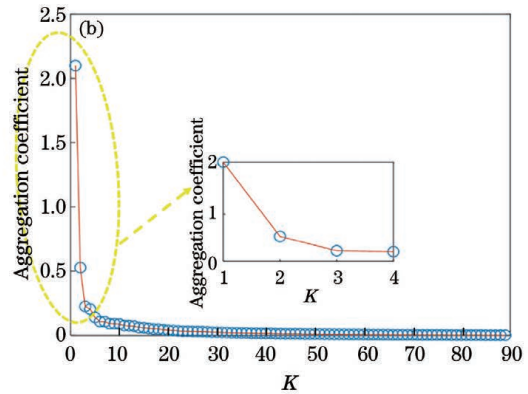
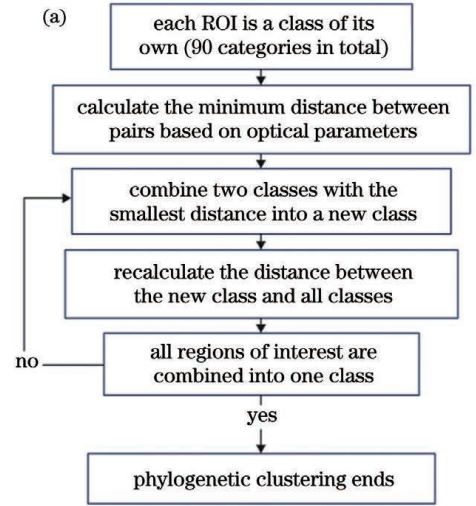


图 7 系统聚类。(a)系统聚类流程图;(b)聚合系数折线图
Fig. 7 Systematic clustering. (a) Systematic clustering flowchart; (b) aggregation coefficient line chart

设相结合绘制出烧伤后每个阶段的类混淆矩阵。绘制出的两个具有代表性的类混淆矩阵如图 8 所示。图 8(a)表明,在烧伤后 10 min 时,实际为重度烧伤类的 60 个 ROI 中,有 15 个分类错误(15 个 12 s 组被分类为轻度烧伤)。图 8(b)表明,在烧伤后 120 min 时,原预测为轻度烧伤类的 4 s 组的实际分类结果与预测结果完全相符,而原预测为重度烧伤的 12 s 和 24 s 组,系统聚类算法仍成功将其分类为重度烧伤。

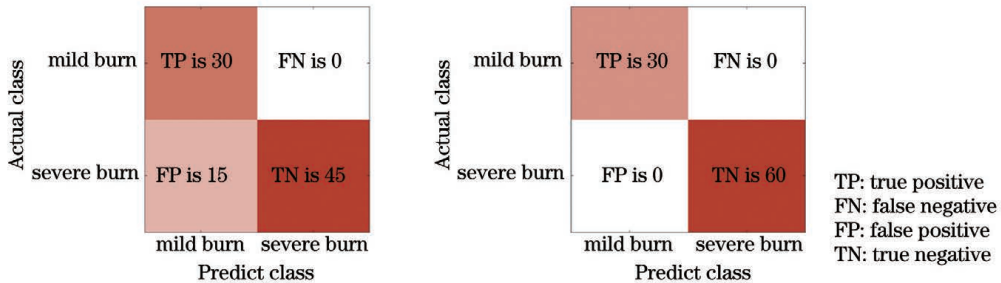


图 8 系统聚类结果。(a)烧伤后 10 min;(b)烧伤后 120 min
Fig. 8 Systematic clustering results. (a) 10 min after burn; (b) 120 min after burn

引入分类准确率(A)表征每个阶段下烧伤分类的准确程度。分类准确率的计算公式为

$$A = \frac{r_{TP} + r_{TN}}{r_{TP} + r_{FN} + r_{FP} + r_{TN}}, \quad (7)$$

式中: r_{TP} 表示真正,即聚类结果为轻度烧伤,实际也为轻度烧伤; r_{TN} 表示真负,即聚类结果为重度烧伤,实际也为重度烧伤; r_{FN} 表示表示假负,即聚类结果为重度烧伤,而实际为轻度烧伤; r_{FP} 表示表示假正,即

聚类结果为轻度烧伤,而实际为重度烧伤。

由表 1 可知,利用三个波长下的两个光学参数基本可以实现对烧伤程度的分类,在烧伤后的前 10 min 内难以区分组织的烧伤程度,其他阶段轻重烧伤的区分率为 100%,错误率为 0。

表 1 系统聚类分类准确率

Table 1 Systematic clustering classification accuracy

Period after burn /min	Accuracy /%
5	83.33
10	81.33
30	100
60	100
90	100
120	100

3.3 基于主成分分析的光学参数降维

考虑到系统聚类削弱了各光学参数的差异性,同时为了探究更加精细的分类方法,本课题组利用主成分分析对 6 个光学参数进行降维。先对 6 个参数进行巴特利特球形检验, P 值 < 0.05 表示适合对其进行主成分分析,得到两个主成分的累计贡献率为 93.293%

($> 85\%$),即利用两个主成分已经可以反映原变量约 93%的信息。因此,将 6 个光学参数降维,最终获得 2 个主成分。

表 2 给出了光学参数的因子载荷结果,即原参数与主成分的相关系数。若原参数在某一主成分下的载荷绝对值越大,则表示该主成分与该参数的关系越密切。分析表 2 可以发现,FAC1 更能代表三个通道下的吸收系数 μ_a ,FAC2 更能代表三个通道下的约化散射系数 μ'_s 。因此,本文将 FAC1 称为吸收因子,将 FAC2 称为约化散射因子。

表 2 光学参数的因子载荷

Table 2 Factor loading for optical parameters

Optical parameter	FAC1	FAC2
μ_a for R wavelength	0.930	-0.143
μ_a for G wavelength	0.960	-0.173
μ_a for B wavelength	0.818	-0.419
μ'_s for R wavelength	-0.316	0.923
μ'_s for G wavelength	-0.215	0.971
μ'_s for B wavelength	-0.158	0.976

图 9 展示了 3 种烧伤组样本在不同烧伤阶段的二

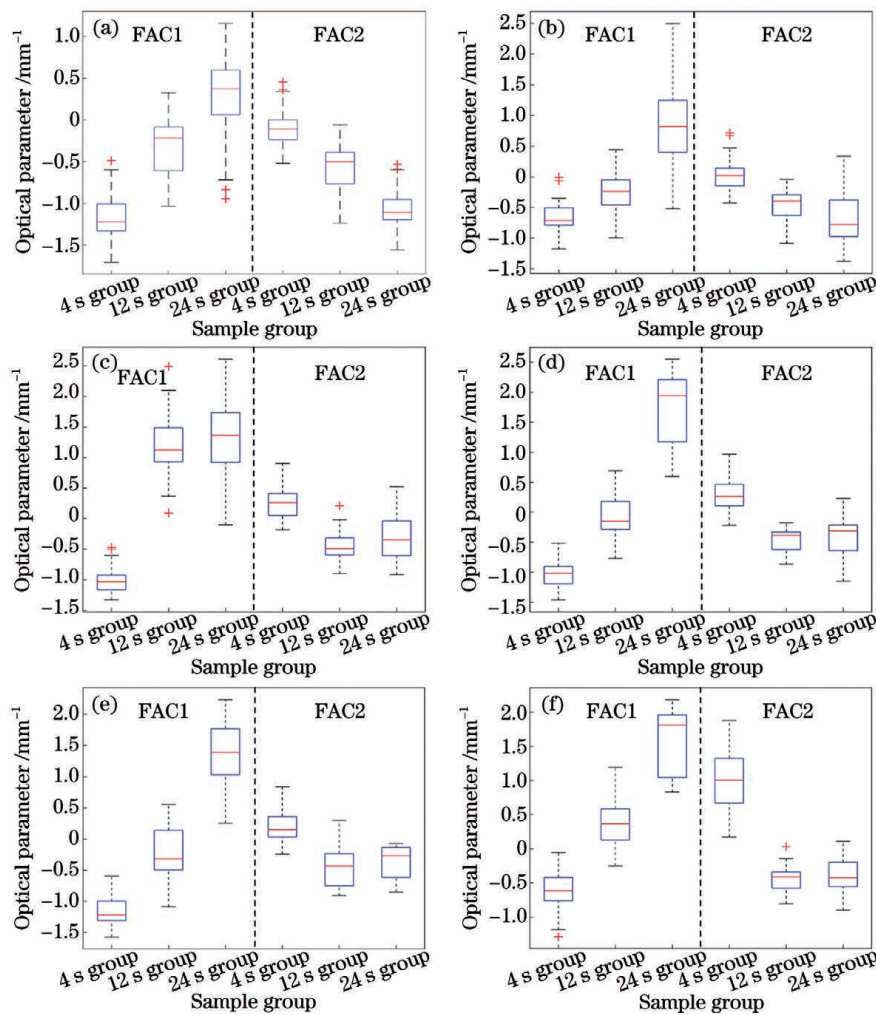


图 9 不同烧伤阶段的因子箱线图。(a)烧伤后 5 min;(b)烧伤后 10 min;(c)烧伤后 30 min;(d)烧伤后 60 min;(e)烧伤后 90 min;(f)烧伤后 120 min

Fig. 9 Factor boxplot at different burn stages. (a) 5 min after burn; (b) 10 min after burn; (c) 30 min after burn; (d) 60 min after burn; (e) 90 min after burn; (f) 120 min after burn

因子箱线图。从图中可以看出,在每一个烧伤阶段,吸收因子都能将 3 种烧伤状态进行区分,且烧伤程度与吸收因子呈正相关关系,约化散射因子与烧伤程度大致呈负相关关系。通过降维分析得到的吸收因子 FAC1,不仅可以区分大类别的烧伤程度(4 s 组的轻度烧伤与其他两组的重度烧伤),还可以放大不同烧伤深度结果(即 12 s 组的深 II 度烧伤与 24 s 组的 III 度烧伤)。此外,利用主成分因子对烧伤程度进行评估可以减小观测时间产生的干扰,消除系统聚类结果在烧伤后较短时间内难以准确区分的弊端。

4 结 论

本文基于实时 SFDI 技术研制出的烧伤定量成像装置具有便携、体积小、精度高、快速定量检测等诸多优点,相对于目前已有的诊断装置具有较大优势。通过动态监测光学参数的变化,结合聚类分析与参数降维,可以实现烧伤程度与烧伤范围的无创定量评估,为烧伤的精准治疗提供了可靠保证。在后续的工作中,本课题组将增加临床的分类病理验证,并从光学参数中表征出更多的生理参数(例血红蛋白含量、血氧饱和度、黑色素浓度等),探究不同程度的烧伤对生理参数的影响,同时将此技术推广到医院,以极大地缩减患者的治疗周期与成本。

参 考 文 献

[1] Haagsma J A, Graetz N, Bolliger I, et al. The global burden of injury: incidence, mortality, disability-adjusted life years and time trends from the Global Burden of Disease study 2013[J]. *Injury Prevention*, 2016, 22(1): 3-18.

[2] Ye C P, Li Q, Zhang J W, et al. Epidemiological characteristics and trend of burned patients in a hospital in Guangzhou from 2017 to 2020[J]. *Occupational Health and Emergency Rescue*, 2022, 40(1): 90-94.

[3] Tian H, Wang L X, Xie W G, et al. Epidemiologic and clinical characteristics of severe burn patients: results of a retrospective multicenter study in China, 2011-2015[J]. *Burns & Trauma*, 2018, 6: 14.

[4] Smolle C, Cambiaso-Daniel J, Forbes A A, et al. Recent trends in burn epidemiology worldwide: a systematic review [J]. *Burns*, 2017, 43(2): 249-257.

[5] Fan X M, Ma B, Zeng D, et al. Burns in a major burns center in East China from 2005 to 2014: incidence and outcome [J]. *Burns*, 2017, 43(7): 1586-1595.

[6] Heimbach D, Engrav L, Grube B, et al. Burn depth: a review [J]. *World Journal of Surgery*, 1992, 16(1): 10-15.

[7] Jackson D M. The diagnosis of the depth of burning[J]. *British Journal of Surgery*, 2005, 40(164): 588-596.

[8] Xue E Y, Chandler L K, Viviano S L, et al. Use of FLIR ONE smartphone thermography in burn wound assessment [J]. *Annals of Plastic Surgery*, 2018, 80(Suppl 4): S236-S238.

[9] Cerussi A E, Jakubowski D B, Shah N, et al. Spectroscopy enhances the information content of optical mammography[J]. *Biomedical Optics*, 2002, 7(1): 60-71.

[10] Kaiser M, Yafi A, Cinat M, et al. Noninvasive assessment of burn wound severity using optical technology: a review of current and future modalities[J]. *Burns*, 2011, 37(3): 377-386.

[11] Calzavara-Pinton P, Longo C, Venturini M, et al. Reflectance

confocal microscopy for *in vivo* skin imaging[J]. *Photochemistry and Photobiology*, 2008, 84(6): 1421-1430.

[12] McGill D J, Sørensen K, MacKay I R, et al. Assessment of burn depth: a prospective, blinded comparison of laser Doppler imaging and videomicroscopy[J]. *Burns*, 2007, 33(7): 833-842.

[13] Amaan M, Sharif S A, David C J, et al. Spatial frequency domain imaging of port wine stain biochemical composition in response to laser therapy: a pilot study[J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2012, 44(8): 611-621.

[14] Nguyen J Q M, Crouzet C, Mai T, et al. Spatial frequency domain imaging of burn wounds in a preclinical model of graded burn severity [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2013, 18(6): 066010.

[15] Vervandier J, Gioux S. Single snapshot imaging of optical properties[J]. *Biomedical Optics Express*, 2013, 4(12): 2938-2944.

[16] Ponticorvo A, Burmeister D M, Yang B, et al. Quantitative assessment of graded burn wounds in a porcine model using spatial frequency domain imaging (SFDI) and laser speckle imaging (LSI) [J]. *Biomedical Optics Express*, 2014, 5(10): 3467-3481.

[17] Konecky S D, Mazhar A, Cuccia D, et al. Quantitative optical tomography of sub-surface heterogeneities using spatially modulated structured light[J]. *Optics Express*, 2009, 17(17): 14780-14790.

[18] Saager R B, Truong A, Durkin A J, et al. Method for depth-resolved quantitation of optical properties in layered media using spatially modulated quantitative spectroscopy [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, 16(7): 077002.

[19] O'Sullivan T D, Cerussi A E, Tromberg B J, et al. Diffuse optical imaging using spatially and temporally modulated light [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, 17(7): 071311.

[20] 但迈, 刘美慧, 高峰. 单像素空间频域成像的实时化[J]. *中国激光*, 2022, 49(5): 0507207.

[21] 刘美慧, 但迈, 高峰. 基于目标形貌测量的空间频域成像校正方法[J]. *激光与光电子学进展*, 2021, 58(10): 1011027.

[22] 康旭, 张洋, 任慧明, 等. 基于空间频域成像的人体皮肤组织光学和生理参数的提取[J]. *中国激光*, 2022, 49(5): 0507210.

[23] 曹自立, 陈新林, 潘达, 等. 空间频域成像在皮肤病定量评估中的研究[J]. *中国医学物理学杂志*, 2020, 37(6): 714-719.

[24] 骆清铭, 张镇西. *生物医学光子学*[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 23-67.

[25] Luo Q M, Zhang Z X. *Medical photonics* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2018: 23-67.

[26] Xu M, Cao Z L, Lin W H, et al. Single snapshot multiple frequency modulated imaging of subsurface optical properties of turbid media with structured light[J]. *AIP Advances*, 2016, 6(12): 125208.

[27] Xu M. Diagnosis of the phase function of random media from light reflectance[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 22535.

[28] Lin W H, Zeng B X, Cao Z L, et al. Quantitative diagnosis of tissue microstructure with wide-field high spatial frequency

- domain imaging[J]. *Biomedical Optics Express*, 2018, 9(7): 2905-2916.
- [28] Nguyen T T A, Ramella-Roman J C, Moffatt L T, et al. Novel application of a spatial frequency domain imaging system to determine signature spectral differences between infected and noninfected burn wounds[J]. *Journal of Burn Care & Research*, 2013, 34(1): 44-50.
- [29] 吴斌, 田方圆, 占美, 等. 大鼠烧伤模型构建实验的系统评价[J]. *中国循证医学杂志*, 2016, 16(11): 1354-1359.
Wu B, Tian F Y, Zhan M, et al. Development of animal burn models in rats: a systematic review[J]. *Chinese Journal of Evidence-Based Medicine*, 2016, 16(11): 1354-1359.
- [30] Stone C K, Humphries R L. *Current diagnosis & treatment: emergency medicine* [M]. 6th ed. New York: McGraw-Hill, 2008: 836.
- [31] 张浩, 孟耀勇, 张小燕, 等. 光学相干成像结合反射光谱技术对小鼠烫伤模型的评估[J]. *光谱学与光谱分析*, 2011, 31(4): 960-965.
Zhang H, Meng Y Y, Zhang X Y, et al. Mice scald model investigated by OCT combined with reflection spectrum [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2011, 31(4): 960-965.
- [32] Jacques S L. Optical properties of biological tissues: a review [J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2013, 58(11): R37-R61.
- [33] Kistler D, Hafemann B, Schmidt K. A model to reproduce predictable full-thickness burns in an experimental animal [J]. *Burns*, 1988, 14(4): 297-302.
- [34] 杨军, 刘晓瑾. 大鼠烫伤创面模型的制备和创面观察[J]. *陕西医学杂志*, 2009, 38(7): 794-795.
Yang J, Liu X J. Preparation and observation of scalded wound model in rats [J]. *Shaanxi Medical Journal*, 2009, 38(7): 794-795.

Noninvasive Quantitative Assessment of Burn Degree Based on Spatial Frequency-Domain Imaging

Zhong Xiaoxue, Huang Guowu, Miu Hongbo, Hu Chenghao, Liu Wei, Sun Chunrong, Chen Zhihua, Li Gangning, Cao Zili, Jin Xin, Lin Weihao*

College of Optometry (College of Biomedical Engineering), Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, Zhejiang, China

Abstract

Objective The increasing burn mortality rate places an urgent need for accurate diagnosis and treatment of burns. Currently, the third-degree quartile is internationally used to classify the degree of burns based on burn depth, and clinical treatment methods for different degrees of burns are significantly dissimilar. Burn surgeons overestimating the severity of burns can lead to unnecessary surgery, whereas underestimating them leads to treatment delays and worsening of the burn conditions. In addition, studies have shown that burn severity changes dynamically over time, with superficial II burn worsening to deep II or III burns within 48 h of burn occurrence. Therefore, overcoming the defects of subjective judgment using the naked eye and quantitatively monitoring the dynamic changes in the burn degree in real time has become a challenge in the early diagnosis of burns. Burn diagnosis methods based on photonics, such as near-infrared spectroscopy, reflective confocal microscopy, and laser Doppler flowmetry, are developing rapidly. However, their clinical application is limited owing to low accuracy, invasiveness, high detection environment requirements, and high costs. In this study, a noninvasive quantitative method for assessing the burn degree was developed based on spatial frequency-domain imaging (SFDI). Combined with the systematic clustering method and multiparameter dimensionality reduction analysis, the proposed method results in improved classification accuracy of different burn degrees and shortened classification time, thus indicating the potential for early diagnosis of clinical burns.

Methods In this study, the SFDI technique was applied to a rat burn model. First, the backs of Sprague-Dawley (SD) rats were depilated, and a thermostatic iron heated to 100 °C was used on the backs of the anesthetized SD rats for 4, 12, and 24 s, respectively, to establish a rat burn model with different burn degrees. Next, the sinusoidally modulated structural patterns were projected onto the surface of each burned area, and the backscattered structural patterns from the tissues were captured using a charge-coupled device (CCD) camera. Subsequently, we used single-snapshot multifrequency demodulation (SSMD) to extract the modulation transfer function (MTF) of light from the burned tissues. Compared with the traditional three-phase shift demodulation method, SSMD only requires a single snapshot to achieve parameter extraction, which significantly suppresses the problem of motion artifacts and improves the signal-to-noise ratio of imaging using filtering technology. Based on the photon diffusion transmission theory, the optical parameters (μ_s and μ_s') were then recovered using the look-up table method at the 5th, 10th, 30th, 60th, 90th, and 120th minutes after burn. Finally, systematic clustering and multiparameter dimensionality reduction analysis were performed on the optical parameters to quantify and classify different burn degrees.

Results and Discussions Different degrees of burns can be effectively distinguished by the relative changes in the two optical parameters at the three wavelengths. The results show that the magnitude of the absorption coefficient positively

correlates with the degree of burn. In contrast, the magnitude of the reduced scattering coefficient negatively correlates with the degree of burn. Although the distinction between optical parameters is not significant at the beginning of burns, the optical parameters of the 4 s burn group gradually decrease or gradually recover to the unburned state with observation time. In contrast, the optical parameters of the 12 s and 24 s groups gradually deviate from the normal state (Fig. 6). The burn results are divided into two categories through optimal analysis of systematic clustering. The 4 s group is classified as mild burns, whereas the 12 s and 24 s groups are classified as severe burns. Although the classification accuracy is less than 85% in the first 10 min after burn, it is 100% in the later stages (Table 1). Two new factors (the absorption factor FAC1 and the reduced scattering factor FAC2) reflecting approximately 93% of the original variable information can be generated using the principal component analysis to reduce the dimensionality of the six optical parameters. The results show that the absorption factor, FAC1, distinguishes the degree of burns in a large category (mild burns in the 4 s group and severe burns in the other two groups) and increases the difference between deep II degree burn in the 12 s group and III burn in the 24 s group. In addition, the assessment of burn severity using principal constituent factors can reduce interference and improve classification accuracy in the early stage after burn (Fig. 9).

Conclusions The quantitative burn imaging device based on real-time spatial frequency-domain imaging technology has remarkable advantages over existing diagnostic techniques, for example, ease of handling, compact structure, and high precision. Through dynamic monitoring of changes in optical parameters combined with cluster analysis and parameter dimensionality reduction, the degree of burns can be determined through noninvasive assessment, providing a reliable guarantee for the precise treatment of burns. In future studies, we will supplement the pathological verification, characterize additional physiological parameters (such as hemoglobin content, blood oxygen saturation, and melanin concentration) from the optical parameters, and extend this technology to clinical applications so as to significantly reduce the treatment cycle and cost to patients.

Key words medical optics; medical and biological imaging; spatial frequency-domain imaging; burn severity assessment; optical parameters of tissue