VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ
FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

PERFUZNÍ MODELOVÁNÍ V OPTICKÉ KOHERENTNÍ TOMOGRAFII
PERFUSION MODELLING IN OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY

DIZERTAČNÍ PRÁCE
DOCTORAL THESIS

AUTOR PRÁCE — **Ing. Petra Štohanzlová**
AUTHOR

ŠKOLITEL — **doc. Ing. Radim Kolář, Ph.D.**
SUPERVISOR

BRNO 2018

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá zejména perfuzním modelováním v optické koherentní tomografii (OCT). Úvodní část se věnuje základní teorii OCT včetně popisu jejích základních aplikací. Součástí práce bylo testování vybraných kontrastních látek vhodných pro OCT a dále pak návrh a implementace fantomů, které byly následně použity v hlavní části práce. V praktické části práce je pozornost věnována perfuzní analýze v OCT, nejprve aplikaci diluční teorie v OCT pro odhad průtoku, následně pak studii testující základní teorii perfuze na OCT pomocí tkáňového fantomu.

KLÍČOVÁ SLOVA

Perfuzní analýza, optická koherentní tomografie, kontrastní látky, fantomy, diluční teorie

ABSTRACT

This thesis deals mainly with perfusion modeling in optical coherence tomography (OCT). The introductory part deals with basic theory of the OCT, including a description of its basic applications. Part of the work was the testing of selected contrasting materials suitable for the OCT and the design and implementation of phantoms, which were subsequently used in the main part of the thesis. In the practical part, attention is paid to the perfusion analysis in the OCT, first the application of the dilution theory in the OCT for flow estimation, then a study testing the basic theory of perfusion on OCT by means of tissue phantom.

KEYWORDS

Perfusion analysis, optical coherence tomography, contrast agents, phantoms, dilution theory

ŠTOHANZLOVÁ, Petra *Perfuzní modelování v optické koherentní tomografii*: dizertační práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav biomedicínského inženýrství, 2018. 39 s. Vedoucí práce byl doc. Ing. Radim Kolář, Ph.D.

OBSAH

Úvod **4**

1 Optická koherentní tomografie **5**
1.1 Teorie OCT 5
1.2 Funkční zobrazování pomocí OCT 6

2 Kontrastní látky pro OCT **7**
2.1 Dosavadní vývoj 7
2.2 Kontrastní látky 7
2.3 Testování kontrastních látek 8

3 Fantomy pro OCT **9**
3.1 Dosavadní vývoj 9
3.2 Vlastní implementace fantomů 10

4 Perfuzní analýza v OCT **13**
4.1 Perfuzní analýza 13
4.2 Perfuzní modely 15
4.3 Odhad průtoku pomocí OCT a diluční metody 17
4.4 Modelování tkáňové funkce 22

5 Závěr **32**

Literatura **33**

ÚVOD

Optická koherentní tomografie (OCT) prošla od svého vzniku prudkým vývojem a začala se využívat v mnoha oblastech klinické praxe, zejména v oftalomologii a kardiologii, ale také v oblasti výzkumu. Vývoj zahrnoval nejen zdokonalování techniky OCT jako takové, ale také rozvoj metod umožňujích získání dalších informací o zobrazovaných objektech. Medody funkčního zobrazování se dostávají do popředí ve všech myslitelných zobrazovacích modalitách a OCT nezůstává výjimkou.

Tato dizertační práce pojednává zejména o perfuzním modelování v OCT. Úvodní část je věnována základní teorii OCT, jejímu principu, metodám a také stručně základním aplikacím. Dále je pozornost věnována kontrastním látkám včetně testování vybraných látek, které pak jsou využívány v hlavní části práce. Následuje pojednání o fantomech pro OCT, jejich dosavadním vývoji a poté popis konkrétních fantomů vytvořených v rámci této práce.

Hlavní praktickou část práce představuje kapitola o perfuzní analýze v OCT (kap. 4), která se věnuje obecně perfuzní analýze a perfuzním modelům, poté jsou již popsány praktické výsledky, a to aplikace diluční teorie v OCT pro odhad průtoku a studie testující základní teorii perfuze na OCT pomocí tkáňového fantomu.

Dle našeho nejlepšího vědomí se jedná o první testování využití přístupů prefuzní analýzy v OCT.

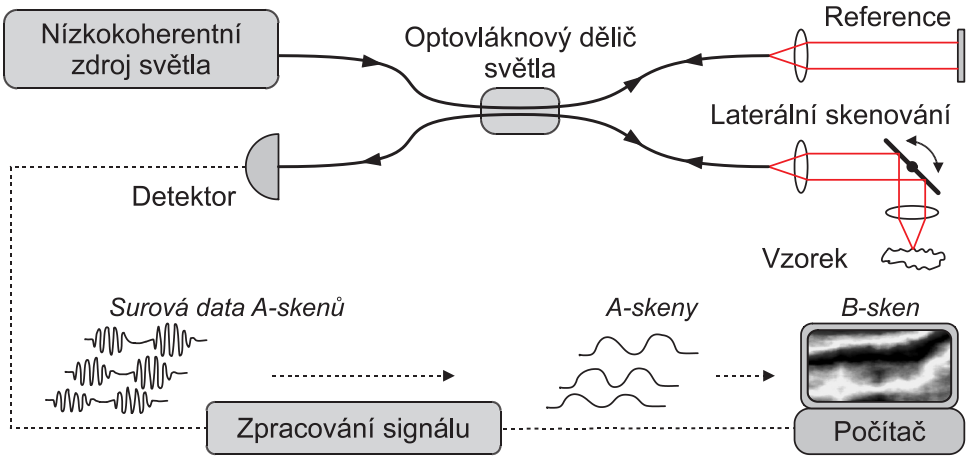
Závěrečná kapitola shrnuje a hodnotí dosažené výsledky.

1 OPTICKÁ KOHERENTNÍ TOMOGRAFIE

Optická koherentní tomografie je relativně novou a slibnou zobrazovací technikou v biomedicínské optice a lékařství. Je to neivazivní modalita vyznačující se vysokým prostorovým, ale také časovým rozlišením. Obecně se dá říci, že OCT poskytuje tomografické zobrazení vnitřních mikrostruktur v měřeném vzorku, např. biologické tkáni, pomocí mapování lokální odrazivosti infračerveným světlem v blízké oblasti.

1.1 Teorie OCT

Obecné schéma OCT vycházející z principu Michelsonova interferometru je znázorněno na Obr. 1.1. Světlo z nízkokoherentního zdroje je směrováno do 2 × 2 vláknového děliče světla, který rozděluje optický výkon do referenčního ramene a ramene se vzorkem. Světlo vystupující z referenčního ramene je s definovaným zpožděním odraženo zpět do stejného vlákna. Světlo z ramene vzorku pokračuje přes skenovací mechanismus směrem ke vzorku. Skenovací mechanismus slouží k fokusaci paprsku na vzorek a skenování fokusovaného bodu v jednom nebo dvou laterálních směrech. Odražené a zpětně rozptýlené světlo je směrováno zpět přes tentýž skenovací systém do vlákna ramene vzorku. V děliči světla (nyní sloužícím jako slučovač) se mísí s vracejícím se světlem z referenčního ramene. Smísené světlo pak interferuje na povrchu fotodetektoru.



Obr. 1.1: Schéma obecného optovláknového OCT systému. Tučné linky reprezentují optická vlákna, červené linky vzdušné optické trasy a přerušované linky cestu elektronického signálu.

Elektrický signál generovaný fotodetektorem je zpracován do formy A-skenů re-

prezentujících hloubkový profil odrazivosti vzorku pro každou laterální pozici skenovacího systému. Tyto A-skeny mohou být sestaveny do formy B-skenu představujícího tomografický řez vzorkem. Alternativním 2D zobrazením je tzv. M-sken, který je sestaven z časové sekvence po sobě jdoucích A-skenů získaných v jedné pozici skenovacího mechanismu.

Existují dva základní přístupy k získání hloubkové informace ze vzorku, a to měření v časové oblasti (Time-domain OCT) nebo ve frekvenční oblasti (Fourier-domain OCT). Možnost použití obou přístupů je zřejmá z definice přenosové funkce vzorku $H(\omega)$, která popisuje celkovou odrazivost od všech struktur rozloženou ve směru osy z (do hloubky vzorku) [52].

$$H(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} r(\omega, z) \mathrm{e}^{\mathrm{i}2n(\omega,z)\omega z/c} dz, \tag{1.1}$$

kde $r(\omega, z)$ je koeficient zpětného rozptylu od strukturních charakteristik vzorku, $n(\omega, z)$ je skupinový index lomu, oba frekvenčně a hloubkově závislé, a c reprezentuje rychlost světla ve vakuu. Exponenciální člen je zodpovědný za fázi akumulovanou mnohonásobnými optickými cestami ve vzorku.

1.2 Funkční zobrazování pomocí OCT

Funkční zobrazování je mocným nástrojem umožňujícím zkoumání fyziologických i patologických procesů v tkáních nebo biologické výměny informací. Na rozdíl od výše prezentovaných aplikací, které se zabývají anatomickým zobrazením, funkční zobrazování slouží k vizualizaci toho, co v tkáních probíhá.

Standardem pro funkční zobrazování živých buněk a tkání byla doposud mikroskopie (včetně multifokální a multifotonové). Nevýhodou mikroskopických technik je nicméně jejich nízká zobrazovací hloubka. Pro funkční zobrazování hlouběji v těle slouží například MR, CT či PET, ale s relativně nízkým rozlišením. Stejně jako v případě strukturního zobrazování i funkční zobrazování pomocí OCT úspěšně vyplňuje mezeru mezi mikroskopickými technikami a celotělovým zobrazováním. [42]

Perfuzní zobrazování lze zařadit do metod funkčního zobrazování a je důležitou součástí diagnostiky mnoha chorob. Obecně lze říci, že perfuze je děj, při kterém se krev dostává do kapilár ve zkoumané biologické tkáni.

V současnosti se v OCT využívají kvalitativní perfuzní techniky převážně pro zlepšování kontrastu. Průtok, nejen krve, může být detekován kvantitativně pomocí Dopplerovské OCT [29] nebo kvalitativně pomocí analýzy speklí [31, 51]. Nicméně citlivost Dopplerovské OCT má omezený rozsah 50–500 $\mu\mathrm{m}\cdot\mathrm{s}^{-1}$ [32]. Dalším nedostatkem Dopplerovských technik je jejich závislost na úhlu, která může být v některých aplikacích limitující [29].

2 KONTRASTNÍ LÁTKY PRO OCT

V této kapitole je v první části shrnut dosavadní vývoj v oblasti molekulárního zobrazování a kontrastních látek používaných pro OCT. Dále jsou pak podrobněji popsány kontrastní látky použité v rámci této dizertační práce.

2.1 Dosavadní vývoj

Metody zlepšování kontrastu jsou stále velice důležité ve všech zobrazovacích modalitách. Molekulární zobrazování je také významnou součástí metod funkčního zobrazování. Vzhledem ke svému principu koherentní detekce je OCT přirozeně necitlivé k nekoherentním procesům, jako je fluorescence, která je středem zájmu optického molekulárního zobrazování. Molekulárního kontrastu v OCT zobrazování již bylo dosaženo pomocí speciálních barviv [53], proteinů [54], vlastních tkáňových molekul [3], polymerů [4] nebo magnetických částic [20]. Dále se vyskytují například křemičité nanočástice s různými povrchovými úpravami [11] nebo nanočástice z oxidů zinku či titanu [18].

Největší zájem je věnován kovovým, zejména zlatým, nano- a mikro-částicím, které vykazují povrchovou plasmonovou rezonanci. To je jev, při kterém světlo dopadající na kovový povrch částice vyvolá rozkmitání volných elektronů na specifické frekvenci, která je dána například druhem materiálu, rozměry a tvarem částice, vlastnostmi obklopujícího okolí apod. [58]. Výhodou takovýchto částic je laditelnost jejich spektrálních vlastností změnami tvaru a velikosti, biokompatibilita, ale také možnost navázání specifických látek na jejich povrch. Díky této vlastnosti mohou být použity nejen pro cílené zobrazování, ale i pro terapii, kdy na základě absorpce energie dopadajícího světla zvýší teplotu svého okolí a tedy i cílové tkáně [28].

2.2 Kontrastní látky

Tato kapitola obsahuje popis konkrétních vlastností kontrastních látek použitých v experimentech popsaných v této práci.

2.2.1 Intralipid

Intralipid™ je tuková emulze obecně používaná pro nitrožilní výživu. Jeho optické vlastnosti jej nicméně opravňují sloužit jako velmi vhodný materiál pro návrh tkáňových fantomů [13]. Je běžně používán v aplikacích optického zobrazování, jak pro různé statické (např. [14]), tak pro dynamické experimenty (např. [6, 12]).

V prezentovaných fantomech byla použita dávka s následujícím složením: 200 g frakcionovaného sojového oleje, 6 g frakcionovaného vaječného lecitinu a 22 g glycerolu, vše doplněné vodou do celkového objemu 1000 ml.

2.2.2 Polystyrenové magnetické mikročástice

Při zkoumání statických fantomů byly použity polystyrenové magnetické mikročástice (PSM, Sigma-Aldrich, 75597). Jejich deklarovaný průměr je 1 μm se standardní odchylkou méně než 0,1 μm a relativní hustota je 1,0 g·cm^{-3}.

Takovéto částice a magnetické částice obecně jsou využívány například pro magnetickou separaci buněk [57]. V optických aplikacích se magnetické částice používají například jako zprostředkovatelé doplňkového magnetomotorického kontrastu [35]. Modulací magnetického pole se rozpohybují magnetické nanočástice, což změní amplitudu OCT interferogramu.

2.2.3 Nanotyčinky

Nejčastěji využitou kontrastní látkou byly v rámci této práce zlaté nanotyčinky, a to dva typy lišící se svými rozměry (Nanopartz Inc., A12N-10-1400 a A12N-25-1400). Jsou ve formě vodné koloidní suspenze. Jejich parametry jsou shrnuty v Tabulce 2.1.Oba dva typy mají plasmonovou rezonanci naladěnou na 1400 nm, což vyhovuje vlnové délce našeho OCT systému.

Tab. 2.1: Vlastnosti zlatých nanotyčinek, Nanopartz Inc.

Typ	**Plasmonová rezonance [nm]**	**Průměr [nm]**	**Délka [nm]**	**Koncentrace [mg·ml^{-1}]**
A12N-10-1400	1400	10	102	0.035
A12N-25-1400	1400	25	245	0.05

Zlaté nanotyčinky mají mnoho slibných aplikací. Nejrozšířenější oblastí možností jsou biomedicínské aplikace díky jejich dobré biokompatibilitě a laditelným optickým vlastnostem [19, 34, 36].

2.3 Testování kontrastních látek

V počáteční fázi práce byly zkoumány vlastnosti vybraných látek pro použití v OCT, konkrétně Intralipidu a polystyrenových magnetických mikročástic (PSM) viz výše. Výsledky experimentů a analýz byly publikovány v [37].

3 FANTOMY PRO OCT

Tato kapitola se skládá ze dvou částí. V první je rešerše doposud prezentovaných fantomů pro OCT. Druhá část obsahuje popis fantomů vytvořených a testovaných v rámci této dizertační práce. Statické fantomy jsou popsány včetně výsledků z nich získaných, jelikož s nimi přímo souvisejí. Výsledky vztahující se k dynamickým fantomům budou prezentovány v následujících kapitolách.

3.1 Dosavadní vývoj

Vývoj veškerých zobrazovacích metod je vázán na fantomy simulující specifické vlastnosti živých tkání. Ty mohou sloužit pro laboratorní studie i pro testování a kalibraci již zavedených systémů.

Fantomy pro OCT musí mít shodné optické vlastnosti jako simulované tkáně, tedy absorpční koeficient μ_a a koeficient rozptylu μ_s. Dalším ohledem pak mohou být strukturní a dynamické vlastnosti tkání, jako jsou rozhraní různých tkání, kapiláry, průtok apod. Mezi nejpoužívanější materiály pro výrobu fantomů patří voda, želatina, agar a různé gely na bázi polymerů. Jako rozptylující částice se pak používají lipidové emulze, prášky oxidů titanu nebo hliníku a polymerové mikročástice. [39]

Za základní a nejjednodušší můžeme považovat fantom na vodní bázi. Absorpční koeficient samotné vody je zanedbatelný, takže optické vlastnosti lze nastavovat přidáním rozptylujících látek, od reálných krevních částic až po lipidové emulze [39]. Nejvíce používaným se zdá být Intralipid, jehož optické vlastnosti jsou také důkladně prozkoumány [5, 13, 46].

Mezi pevné fantomy můžeme zařadit hydrogely želatinové nebo agarové, které umožňují zakomponování shluků organických molekul do své struktury a zároveň udržují tvar objektů různých tvarů [39]. Jejich nevýhodou je však krátká životnost a nestabilita při pokojové teplotě. Nověji vyvinutý fibrinový fantom [21] již tyto nevýhody nemá, přitom stále zachovává biokompatibilitu i nízké rozptylové vlastnosti matrice.

V literatuře jsou také popsány fantomy se složitější strukturou, od vícevrstvých simulujících například strukturu kůže [56], až po vrstevnatý fantom se zabudovaným systémem kapilár [9]. Podobné fantomy již slouží i pro vývoj a testování metod pro funkční zobrazování pomocí OCT. Nejtypičtějším příkladem je Dopplerovská OCT (DOCT), která umožňuje monitorovat pohyb částic obdobně jako je tomu u ultrazvukových zobrazovacích systémů. Nejčastěji se pro DOCT používají skleněné kapiláry, kterými protéká zvolené kontrastní médium [6, 25, 33].

3.2 Vlastní implementace fantomů

Fantomy můžeme rozdělit na statické a dynamické. Statické fantomy slouží převážně k imitaci struktury tkáně a jejích neproměnlivých vlastností. Dynamické fantomy naopak umožňují imitovat některé procesy probíhající v tkáni, například průtok krve kapilárou apod.

V této kapitole je toto rozdělení použito při prezentaci fantomů použitých v rámci této práce.

3.2.1 Statické fantomy

V rámci této práce byl testován jediný statický fantom, a to jednoduchý fantom tvořený roztokem Intralipidu. Výsledky měření a testování jsou již uvedeny v kapitole 2.3, jelikož Intralipid může být ve speciálních případech považován také za kontrastní látku a byl testován spolu s jinými.

3.2.2 Dynamické fantomy

Hlavním zájmem této práce je perfuzní zobrazování, posun směrem k dynamickým fantomům je tedy logickým krokem.

V této kapitole budou popsány tři různé dynamické fantomy, přičemž oba jednovláknové fantomy spolu souvisejí a jedná se o na sebe navazující vývoj se shodným cílem simulovat kapiláru a prostup částic skrz ni.

Perfuzní fantom s extracelulární matricí je druhým typem fantomu, který má sloužit k testování perfuzních technik s OCT.

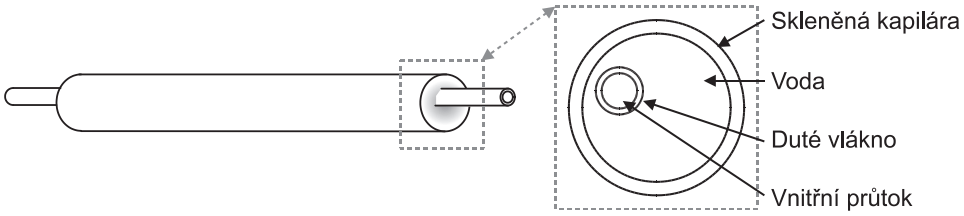
Jednoduchý jednovláknový perfuzní fantom

Základním prvkem tohoto fantomu je polypropylenové duté vlákno s porézními stěnami s vnitřním průměrem přibližně 500 µm (Zena s.r.o., Czech Republic). Velikost pórů je nepravidelná v rozsahu desítek až stovek nanometrů, průměrná velikost pórů je 0,2 µm.

Toto vlákno je zabudováno ve skleněné kapiláře s vnitřním průměrem 1 mm a tloušťkou stěny 170 µm (viz detail v Obrázku 3.2), aby byl zajištěn objem vnějšího prostředí vlákna v akceptovatelné velikosti. Oba konce skleněné kapiláry jsou zapečetěny včelím voskem. Vnitřní objem skleněné kapiláry byl naplněn destilovanou vodou skrz stěnu vlákna. Před plněním bylo potřeba aktivovat póry vlákna čistým ethanolem, který byl následně vymyt destilovanou vodou.

Tento fantom byl použit v experimentu prezentovaném na konferenci *European Conferences on Biomedical Optics* v roce 2013 [38] k prokázání prostupu nanočástic

stěnou vlákna a tedy možnosti použití vlákna pro modelování kapiláry a prostupu částic skrz její stěnu.

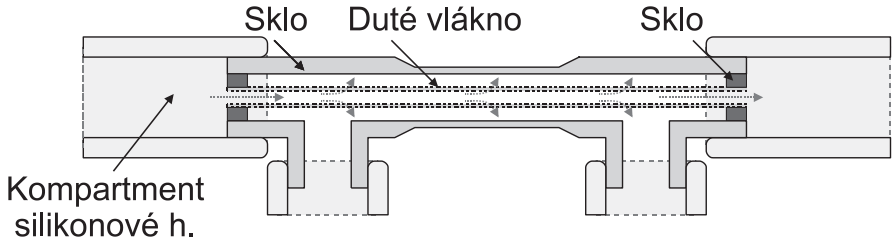


Obr. 3.1: Schéma jednovláknového perfuzního fantomu. Detail zobrazuje duté vlákno zabudované ve skleněné kapiláře.

Skleněný jednovláknový perfuzní fantom

Nejdůležitějším prvkem tohoto fantomu je opět polypropylenové duté vlákno s porézními stěnami (viz výše). Vlákno je umístěno ve speciálně tvarované skleněné trubičce se čtyřmi otvory (Obr. 3.2). Je upevněno mezi dvěma z otvorů a může být tedy považováno za část primárního okruhu. Zbývající dva otvory tvoří sekundární okruh. Vzhledem k tomu, že OCT systém má omezenou hloubku zobrazování na cca 3 mm, je stěna ve střední části skleněné trubičky zeslabena, což umožňuje snazší optický přístup k dutému vláknu.

Tento fantom byl použit v experimentech prezentovaných na konferenci *European Conferences on Biomedical Optics* v roce 2015 [47], kde sloužil k ověření použitelnosti diluční teorie s OCT, a na konferenci *Medical Image Understanding and Analysis* v roce 2014 [23], kde bylo zkoumáno chování nanočástic při průchodu fantomem analýzou rozptylu koherenční zrnitosti (speklí).

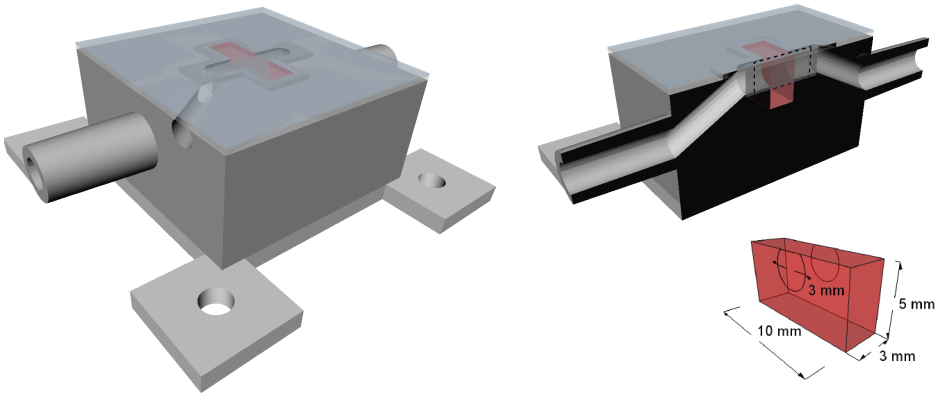


Obr. 3.2: Schéma skleněného perfuzního fantomu.

Perfuzní fantom s extracelulární matricí

Fantom napodobující tkáň prezentovaný v [48] byl vytvořen s cílem aplikovat a otestovat základní perfuzní teorii na OCT.

Tento fantom je tvořen speciálně tvarovanou komůrkou vytisknutou na 3D tiskárně (Felix 3.1 dual extruder, FELIXrobotics). Pro tisk byla jako materiál použita kyselina polymléčná (PLA) s tloušťkou vrstvy 0,1 mm. Struktura fantomu je znázorněna na Obrázku 3.3 a byla navržena tak, aby korespondovala s fyziologickým modelem krevního zásobení tkáně (Obrázek 4.1). Hlavní rozměry těla fantomu (bez fixačních plošek) jsou $25 \times 25 \times 13,5$ mm.



Obr. 3.3: Struktura perfuzního fantomu s extracelulární matricí. Vlevo celý pohled, vpravo nahoře řez fantomem pro ilustraci místa snímání OCT a vpravo dole detail rozměrů vnitřní komůrky s extracelulární matricí. Převzato z [48].

Vnitřní komůrka je vyplněna extracelulární matricí (NanobioMatrix Scaffold Sheet, PCL – polykaprolaktonová kyselina, náhodné rozložení vláken, tloušťka 3 mm; Synthecon, inc., Houston), která má napodobovat prokrvovanou tkáň. Její rozměry jsou $10 \times 3 \times 5$ mm.

Do komůrky s matricí vedou dvě trubičky simulující vstupní a výstupní cévy (viz Obrázek 4.1). Další trubička připojená ke vstupní trubičce slouží k aplikaci bolusu kontrastní látky.

Vrchní část fantomu je překryta krycím sklíčkem přilepeným transparentním silikonem. Celý fantom je pak při experimentu připojen do systému silikonovými trubičkami díky speciálně tvarovaným náustkům. Pro přivedení bolusu slouží infuzní kanyla vlepená do příslušné trubičky.

4 PERFUZNÍ ANALÝZA V OCT

Tato část práce se věnuje rozličným aspektům perfuzní analýzy s pomocí OCT. Úvodní část pojednává o perfuzní analýze obecně i se zaměřením na OCT, dále jsou zde popsány různé perfuzní modely.

Další kapitoly se pak věnují praktickým aplikacím. Kapitola 4.3 popisuje aplikaci diluční teorie v OCT pro odhad průtoku, kapitola 4.4 studii, která má za cíl otestovat základní teorii perfuze na OCT.

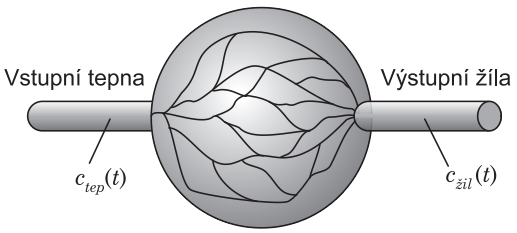
4.1 Perfuzní analýza

Běžné metody perfuzní analýzy využívají zavedení určité kontrastní látky do krevního oběhu, ty pak specifickým způsobem změní kontrast v obraze a je tak možné monitorovat jejich výskyt v krevním řečišti. Na tomto principu jsou založeny dynamické metody. V případě CT se využívají kontrastní látky na bázi jódu, u NMR pak sloučeniny na bázi gadolinia [16].

Obecně lze kontrastní látky rozdělit na intravaskulární a extravaskulární, tedy buď zůstávají v cévním řečišti nebo v případě extravaskulárních prochází stěnou kapilár do mezibuněčného prostoru.

V případě OCT mohou být použité nanočástice intravaskulární i extravaskulární, což závisí na jejich velikosti, povrchovém náboji a na velikosti pórů v nádorových cevách [55]. Transport nanočástic přes cévy je již zkoumán různými výzkumnými skupinami, např. [1, 2, 26].

Pro výpočty perfuze tkáně je třeba stanovit fyziologický model krevního zásobení tkáně. Základní model je naznačen na obrázku 4.1, kde střední kruhová část zahrnuje orgánové buňky, mezibuněčný prostor a kapilární síť. Je krevně zásobován jedinou vstupní tepnou a obdobně je z něj krev odváděna jedinou žílou. Krevní částice mohou putovat řečištěm různými trasami, tedy doba průchodu jednotlivých částic je různá. Obecně je doba průchodu charakterizována pomocí rozdělení hustoty pravděpodobnosti $h(t)$.



Obr. 4.1: Fyziologický model krevního zásobení tkáně. Adaptováno z [16].

Injektovaný bolus kontrastní látky vstupuje do uvažovaného objemu vstupní tepnou a poté je rozředěn díky rozvětvení kapilární sítě. Lokální koncentrace kontrastní látky $c_{tep}(t)$ a $c_{žil}(t)$ jsou měřitelné přímo na vstupu resp. výstupu z kapilárního řečiště.

Jedním z diagnosticky významných perfuzních parametrů je střední doba průchodu (MTT – Mean Transit Time) uvažovaným objemem. Je definována jako první moment funkce hustoty pravděpodobnosti doby průchodu $h(t)$ [16]:

$$MTT = \int_0^\infty \tau h(\tau) \mathrm{d}\tau. \tag{4.1}$$

Další důležitou charakteristikou je bezrozměrná reziduální funkce $r(t)$, která kvantifikuje relativní množství kontrastní látky stále zůstávající v zájmovém objemu v čase t po aplikaci bolusu (ideálně tvaru Diracova impulsu) v čase $t = 0$. Díky různým dobám průchodu neopustí kontrastní látka kapilární síť najednou, ale postupně, což znamená, že reziduální funkce bude kontinuálně klesat od 1 k 0. Reziduální funkce je tedy definována [16]:

$$r(t) = \begin{cases} 1 - \int_0^t h(\tau)\mathrm{d}\tau, & \text{pro } t \geq 0, \\ 0, & \text{pro } t < 0. \end{cases} \tag{4.2}$$

Indikátorová diluční teorie popisuje tkáň jako „černou skříňku“ bez jakýchkoli předpokladů o transportních procesech a vnitřních strukturách. Koncentrace kontrastní látky c_{tep} a $c_{žil}$ jsou vázány konvolučním vztahem

$$c_{žil}(t) = c_{tep} * h(t), \tag{4.3}$$

kde $h(t)$ je zde zároveň impulsní charakteristikou popisující systém, kontrastní látku a její interakce. Pokud jsou koncentrace c_{tep} a $c_{žil}$ známé (získané měřením), impulsní charakteristiku $h(t)$ lze vypočítat dekonvolučními metodami.

Ze vztahu 4.3 vychází také dekonvoluční metody výpočtu perfuzních parametrů. Dekonvoluce je však nekorektní inverzní problém, který nemá jednoznačné řešení i při absenci šumu. Z tohoto důvodu se zavádějí dodatečné předpoklady a omezení, aby se eliminovala fyzikálně nereálná řešení jako jsou záporné hodnoty apod. Existují ale také metody, které nepoužívají dekonvoluci, někdy se také označují jako přímé přístupy založené na měření. Tyto metody používají k odhadu perfuzních parametrů přímo naměřené koncentrační křivky [8, 16].

Dále existují metody založené na kompartmentových modelech. Ty už mohou pracovat i s extravaskulárními kontrastními látkami. Obvykle bývají formulovány jako vázané diferenciální rovnice. Na rozdíl od dekonvolučních metod, kde je zájmový objem tkáně popsán jako „černá skříňka“ bez možnosti náhledu do vnitřní struktury, základem kompartmentového modelování je předpoklad, že tkáně mohou být

kineticky reprezentovány souborem pododdílů (kompartmentů), které představují odlišitelné stavy aplikované kontrastní látky. Jednotlivé pododdíly mohou představovat například kompartment intravaskulární plasmy a mezibuněčný kompartment. V rámci modelů jsou pak uvažovány různé trasporty látek mezi kompartmenty. Toto modelování umožňuje předpovědi o pododdílech, které nejsou přímo dosažitelné měřením [8].

Lze také najít metody pracující s rozloženými parametry, v kterých je zahrnut koncentrační gradient v intravaskulárním prostoru ve směru od vstupní tepny po výstupní žílu. Extravaskulární prostor je zde modelován jako kompartment. Originální řešení tohoto problému v Laplaceově oblasti je velice komplexní, existuje však jednoduché analytické řešení v časové oblasti, které je výpočetně efektivní [27].

4.2 Perfuzní modely

Perfuzních modelů existuje značné množství, navzájem se liší přístupem i složitostí. V následujících podkapitolách budou popsány pouze modely, které byly použity v rámci této dizertační práce.

4.2.1 Kompartmentové modely

Kompartmentové modely jsou založené na popisu pododdílů a jejich vlivu na perfuzi. Jednotlivé poddodíly popisují specifické vlastnosti jednotlivých částí systému.

Kompartmentové modely se hojně využívají v ostatních zobrazovacích modalitách, například v CT ([27]), MRI ([45]), ale i PET ([43]) nebo ultrazvukovém zobrazování ([49]).

Exponenciální model

Tento model je nejjednodušším z kompartmentových modelů. Skládá se z jediného mísicího kompartmentu a je popsán exponenciální funkcí [22]

$$f_{Exp}(t) = \mathrm{AUC}\alpha e^{-t\alpha}, \tag{4.4}$$

kde $\tau = 1/\alpha$ je časová konstanta závisející na rychlosti průtoku a objemu kompartmentu. Parametr AUC představuje plochu pod křivkou. Jedná se o parametr společný všem prezentovaným modelům, přičemž jejich reprezentace jsou upraveny tak, aby AUC obsahovaly z důvodu lepší porovnatelnosti.

Gamma model

Druhý z kompartmentových modelů je odvozen z Erlangova modelu [49], který je založen na předpokladu, že konstantní průtok může být modelován jako soubor

k mísicích homogenních kompartmentů. Gamma model získáme v případě, že je uvolněna podmínka celočíselného počtu kompartmentů [50, 15]. Poté tedy získáme vyjádření Gamma modelu jako

$$f_{Gamma}(t) = \mathrm{AUC}\frac{e^{-\frac{t}{\tau}}\left(\frac{t}{\tau}\right)^{k-1}}{\tau\Gamma(k)}, \tag{4.5}$$

kde $\Gamma(k)$ představuje Gamma funkci.

4.2.2 Matematické modely

Matematické modely vycházejí z podobnosti perfuzních křivek a různých matematických funkcí používaných nejčastěji k popisu statistických rozložení.

Lagged model

Z obecného hlediska je Lagged model odvozen z konvoluce Gaussovské funkce s jednou nebo více exponenciálními funkcemi. Jednoduchou formu modelu lze také považovat za kompartmentový model s dvěma kompartmenty, přičemž první kompartment popisuje velkou cévu charakterizovanou Gaussovským rozptylem a druhý kompartment odpovídá mikrovaskulárnímu lůžku, které může být považováno za ideální mísicí kompartment popsaný jedinou exponenciální fukcí [49]. Konvoluční integrál je definován jako

$$f_{Lagged}(t) = \int_{-\infty}^{t} f(\tau)g(t-\tau)d\tau, \tag{4.6}$$

kde

$$\begin{aligned} f(t) &= \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}}e^{-(t-\mu)^2/(2\sigma^2)}, -\infty < t < \infty, \\ g(t) &= \lambda e^{-\lambda t}, t \geq 0. \end{aligned} \tag{4.7}$$

Lagged model může být tedy vyjádřen jako

$$f_{lagged}(t) = \frac{\mathrm{AUC}}{2}K\left[1 + \mathrm{erf}(L)\right], \tag{4.8}$$

kde

$$\begin{aligned} K &= \lambda e^{-\lambda t+\lambda\mu+\frac{1}{2}\lambda^2\sigma^2}, \\ L &= \frac{t-\mu-\lambda\sigma^2}{\sqrt{2\sigma^2}} \end{aligned} \tag{4.9}$$

a erf() je chybová funkce.

Parametr λ reprezentuje rychlostní konstantu exponenciálního mísicího kompartmentu a parametry μ a σ^2 jsou střední doba průchodu a rozptyl doby průchodu příslušející kompartmentu reprezentovanému Gaussovským rozložením.

4.2.3 Fyzikální modely

Fyzikální modely vycházejí z fyzikálního popisu chování částic kontrastní látky po aplikaci bolusu.

LDRW model

Modely driftující difuze (diffusion with drift models) popisují pohyb částic indikátoru, který je považován za podélnou difuzi superponovanou na lineární konvekci (proudění) [49]. Jedním z takovýchto modelů je LDRW model (Local Density Random Walk model) vyjádřený jako

$$f_{LDRW}(t) = \frac{\mathrm{AUC}e^{\lambda}}{\mu}\sqrt{\frac{\mu}{t}\frac{\lambda}{2\pi}}e^{-\frac{1}{2}\lambda(\frac{\mu}{t}+\frac{t}{\mu})}, \tag{4.10}$$

kde $\lambda = \mathrm{Pe}/2$. Pe je Pecletovo číslo dané jako poměr mezi konvekcí a difuzí v dilučním systému [49]. Dále λ^{-1} je šikmost či nesouměrnost křivky. Parametr μ udává mediánový čas průchodu částice kontrastní látky [7].

4.3 Odhad průtoku pomocí OCT a diluční metody

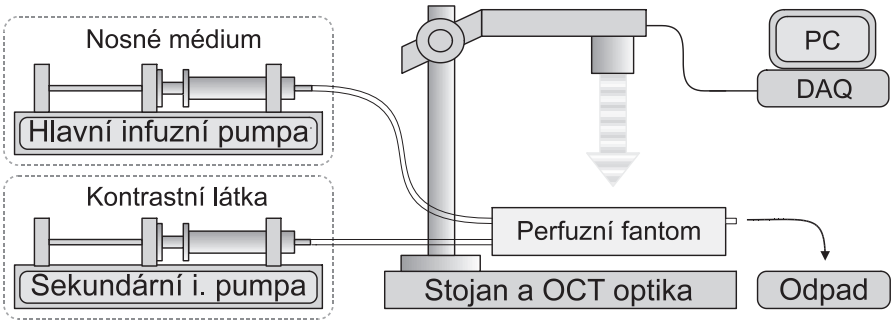
Tato kapitola pojednává o aplikaci diluční teorie v OCT s použitím jednovláknového perfuzního fantomu. Jako model indikátoru byl použit Intralipid. Tento experiment a jeho výsledky byly prezentovány v roce 2014 na místní konferenci *Nové směry v biomedicínském inženýrství* a jeho rozšíření pak v roce 2015 na konferenci *European Conferences on Biomedical Optics* [47].

4.3.1 Metoda

Průběh experimentu

Principiální schéma experimentu je zobrazeno na Obr. 4.2. Hlavní část zapojení tvoří perfuzní fantom s jedním vláknem ve speciálně tvarované skleněné trubičce (viz kap. 3.2.2).

Vstupní otvor fantomu s připevněným dutým vláknem je jakožto část primárního okruhu připojen ke dvěma infuzním pumpám (New Era NE-1010) systémem silikonových hadiček. První infuzní pumpa zajišťuje konstantní průtok nosného média dutým vláknem. V tomto případě je nosným médiem destilovaná voda. Druhá infuzní pumpa pak slouží k aplikaci bolusu kontrastní látky. V popisovaném experimentu je jako model kontrastní látky použit Intralipid™ (viz kap. 2.2.1) v koncentraci 0,015 %.



Obr. 4.2: Schéma experimentu pro odhad průtoku pomocí OCT a diluční metody.

Experiment samotný sestává ze tří fází. V první fázi je udržován konstantní průtok dutým vláknem pomocí hlavní infuzní pumpy. Hodnota tohoto průtoku je prostupně měněna v rozsahu 400 až 1500 µl·min^{-1} (viz dále). Druhou fází je aktivace druhé infuzní pumpy a aplikování bolusu o objemu 60 µl. Rychlost průtoku bolusu je měněna v rozsahu 500 až 1300 µl·min^{-1} pro testování vlivu rychlosti bolusu. V závěrečné fázi je nadále udržován konstantní průtok vláknem stejnou rychlostí jako na počátku, a to až do ukončení experimentu.

V průběhu celého experimentu je pomocí OCT kontinuálně snímán řez fantomem ve stabilní pozici. Snímání začíná simultánně s aplikací bolusu, což zajišťuje synchronizaci jednotlivých měření v následné analýze. Rychlost snímání je 5 snímků za sekundu. Výstupem experimentu je tedy sekvence snímků v čase.

Celkem bylo provedeno 300 měření – 5 měření pro každou kombinaci rychlosti průtoku nosného média (v rozsahu 400–1500 µl·min^{-1}) a rychlosti průtoku bolusu (500, 700, 900, 1100 a 1300 µl·min^{-1}).

Zpracování obrazů a analýza dat

Použitý OCT systém poskytuje jako výstup mimo jiné také surová interferenční data bez jakéhokoli předzpracování. Tato surová data byla v tomto experimentu použita pro analýzu v prostředí MATLAB. Z dat byly standardními procedurami získány intenzitní obrazy.

Následné zpracování bylo provedeno s cílem eliminovat malé chyby v umístění (přibližně v jednotkách pixelů) zobrazovaného vlákna způsobené otřesy zařízení či změnami tlaku uvnitř fantomu. Tato kompenzace pohybu sestává z „rychlé transformace radiální symetrie“ (FRST – Fast Radial Symmetry Transform) představené v [30], která umožňuje najít střed a poloměr vlákna, a jemné registrace výřezu obrazu s nalezeným vláknem určeným pomocí FRST. Tato jemná registrace pracuje s výřezem okolo nalezeného kruhu (vlákna) v současném obraze X a prvním obrazem Y celé sekvence jakožto referenčním obrazem. Kriteriální funkcí je korelační

koeficient C_{CC} dle definice (4.3.1) Výstupem je ořezaný obraz obsahující řez dutým vláknem.

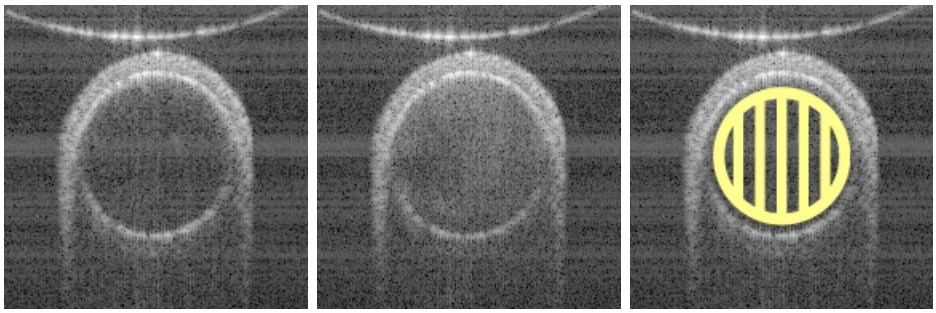
$$C_{CC} = \frac{\sum_m \sum_n (X_{mn} - \bar{X})(Y_{mn} - \bar{Y})}{\sqrt{(\sum_m \sum_n (X_{mn} - \bar{X})^2)(\sum_m \sum_n (Y_{mn} - \bar{Y})^2)}}, \tag{4.11}$$

kde $\bar{X}$ a $\bar{Y}$ jsou střední hodnoty obrazů X a Y.

Tato funkce byla vyhodnocena pro dva parametry – posun ve dvou směrech, přičemž k vyhodnocení maxima byla použita metoda úplného prohledávání kvůli její jednoduchosti a přesnosti.

Oblast zájmu (ROI), tedy vnitřek vlákna, byla stanovena manuálně v prvním obrazu sekvence. Příklad výřezu obrazu s vybranou ROI a také originálního výřezu s kontrastní látkou ve vlákně i bez ní je na Obr. 4.3.

Následná analýza je založena na výpočtu mediánu hodnot pixelů v ROI v každém snímku obrazové sekvence. Tato hodnota intenzity pixelu reprezentuje koncentraci kontrastní látky ve vlákně v konkrétním čase. Tím jsme tedy získali diluční křivku v dané ROI. Vyhodnocení dilučních křivek z jednotlivých měření je popsáno dále.



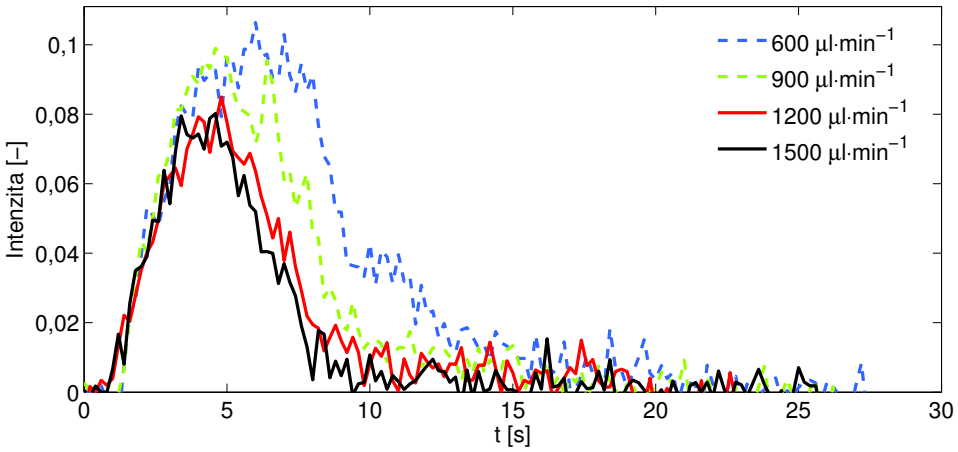
Obr. 4.3: Výřez obrazu s dutým vláknem před aplikací kontrastní látky (vlevo), s přítomností kontrastní látky (uprostřed) a s vybranou ROI (vpravo).

4.3.2 Výsledky a diskuze

Příklady extrahovaných dilučních křivek jsou na Obr. 4.4. Vliv rychlosti průtoku nosného média na šířku diluční křivky je jasně viditelný. Vztah mezi rychlostí průtoku F a plochou pod křivkou AUC, která reprezentuje integrál koncentrace kontrastní látky $c(t)$, je popsán vztahem (4.12)

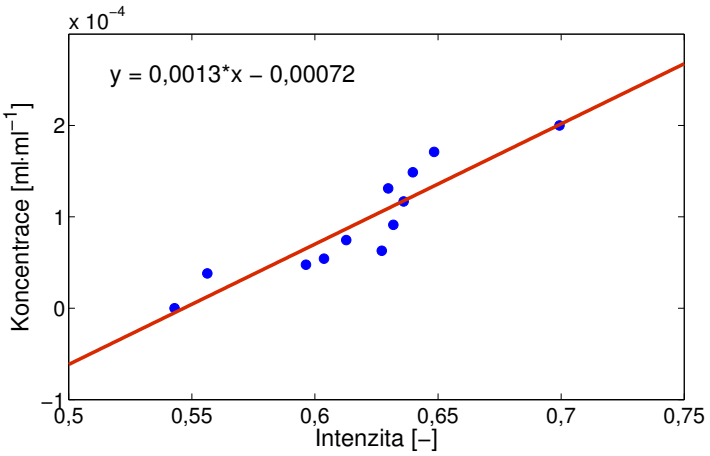
$$F = \frac{m}{\int c\,(t)\,dt} = \frac{m}{k \int I\,(t)\,dt} = \frac{m}{k \cdot AUC}, \tag{4.12}$$

kde m je množství kontrastní látky, k je kalibrační konstanta a $I(t)$ je obrazová intenzita v ROI.



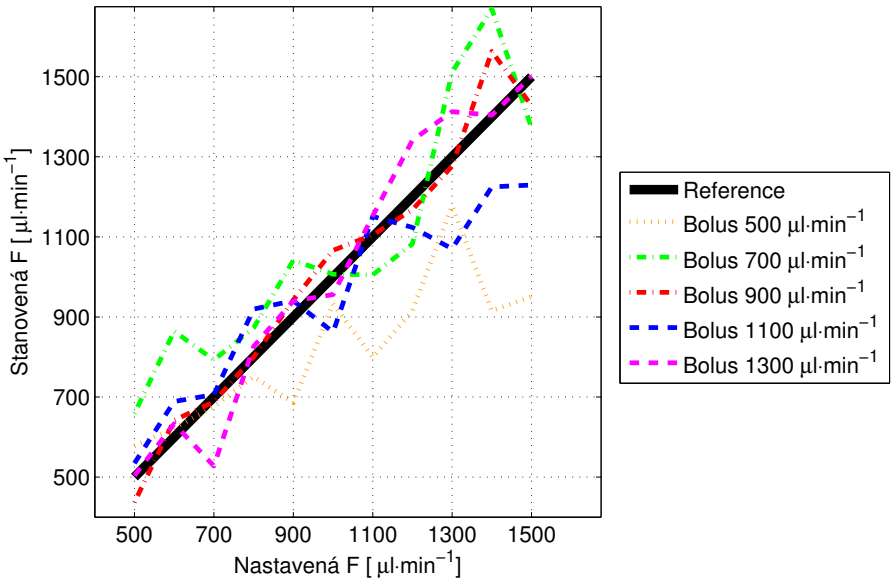
Obr. 4.4: Příklad dilučních křivek pro rychlost průtoku bolusu 1300 µm·min^{-1} (mediánové křivky z 5 měření).

Koncentrace kontrastní látky je odhadována z intenzity obrazu uvnitř ROI a je aproximována výpočtem AUC (v následných výpočtech získané z mediánu 5 měření pro každou kombinaci průtoků). Konstanta k je směrnicí kalibrační křivky získané statickým měřením roztoku Intralipidu ve vlákně fantomu pro různé koncentrace (Obr. 4.5). Hodnota m ve vztahu (4.12) představuje známé množství Intralipidu v aplikovaném bolusu.



Obr. 4.5: Kalibrační křivka.

Na základě vztahu 4.12 jsme vypočítali rychlost nosného průtoku ze všech měření dilučních křivek. Výsledek je znázorněn na Obr. 4.6. Tento graf prezentuje závislost rychlosti průtoku vypočítané z dilučních měření na reálném průtoku nastaveném na hlavní infuzní pumpě. Ukazuje, že kvantitativní měření rychlosti průtoku pomocí OCT je možné i pro velmi malé hodnoty rychlosti průtoku v řádu stovek µl·min^{-1}.



Obr. 4.6: Rychlost průtoku vypočítaná z dilučních měření F_v vs. rychlost průtoku nastavená na infuzní pumpě nosného média F_n.

Mediánová přesnost odhadu vypočítaná pro všechny kombinace nastavených a měřených rychlostí průtoku je 7 %, nicméně při vysokém rozptylu v rozsahu 0,0–36 %. To je pravděpodobně zapříčiněno způsobem vpravení bolusu. Bolus byl injektován do silikonové trubičky velmi blízko vstupu do vlákna. Tento kompartment je naznačen v Obr. 4.2. Dosažená přesnost je srovnatelná s přesností dosažitelnou jinými modalitami, například standardní diluční techniky pro měření srdečního výdeje mají velkou variabilitu s přesností v rozsahu přibližně 11–30 % [40].

Vliv rychlosti bolusu je dle Obr. 4.6 zanedbatelný, pouze nejpomalejší hodnota průtoku se mírně odchyluje od referenční přímky.

4.3.3 Shrnutí

Pro ověření možnosti kvantitativního měření rychlosti průtoku pomocí optické koherentní tomografie při použití diluční metody byl použit jednovláknový fantom. Naše výsledky ukazují úspěšnou aplikaci Intralipidu jako kontrastní látky s lineárním vztahem mezi intenzitou a koncentrací. Mediánová přesnost odhadu rychlosti průtoku je 7 %, přičemž zahrnuje všechny kombinace hlavního a bolusového průtoku. Tento výsledek je srovnatelný s přesností dosaženou jinými modalitami využívajícími také diluční metodu. Kromě toho tato metoda může být považována za alternativní techniku kvantitativního měření průtoku vedle Dopplerovské metody a metod založených na analýze speklí (koherenční zrnitosti).

4.4 Modelování tkáňové funkce

Cílem této studie bylo aplikovat a otestovat základní teorii perfuze na modalitě OCT. Pokud je nám známo, jedná se o první takovouto studii. Výsledky byly publikovány v roce 2017 v časopise *BioMedical Engineering Online* [48].

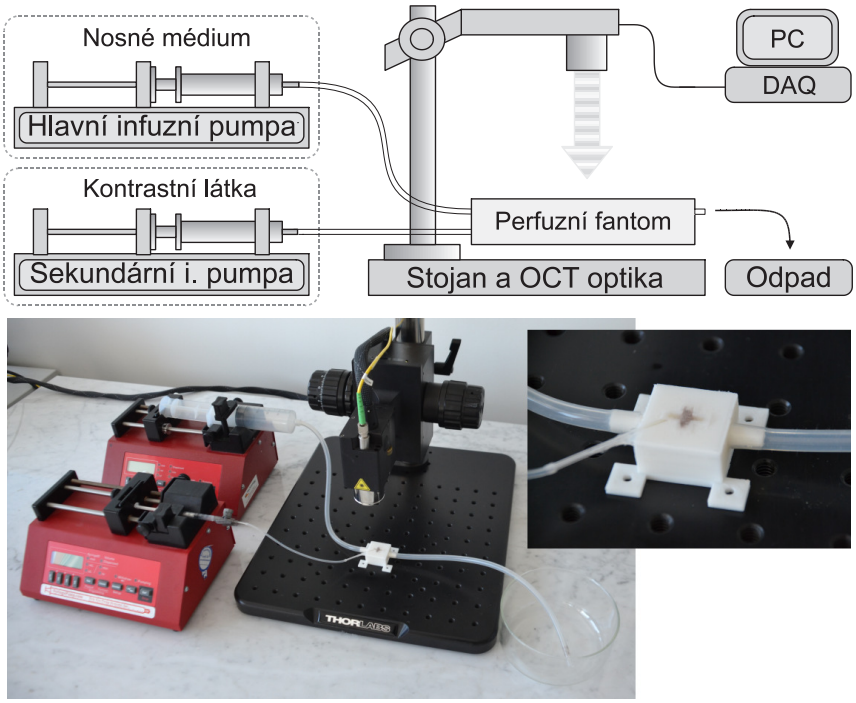
K popsanému účelu byl vytvořen perfuzní fantom napodobující tkáň a při OCT skenování aplikována perfuzní metoda založená na vpravení bolusu kontrastní látky. Získané obrazy byly zpracovány metodami, které využívají model tkáňové konvoluce. Podobný přístup je použit v mnoha oblastech předklinického výzkumu, konkrétně například v oblastech výzkumu orgánového prokrvení, rakoviny či mrtvice. V těchto aplikacích se používají zvířecí modely, obzvláště při výzkumu rakoviny. Perfuze nádoru je ovlivněna tvorbou nových krevních cév uvnitř nádoru. Vznik nových cév (angiogeneze) mění intenzity v obraze (oproti fyziologické tkáni) využitím kontrastní látky (dle použité zobrazovací modality) a tím kontrast nádoru v průběhu zobrazování. OCT byla použita zatím pouze za účelem zvýšení kontrastu nádoru bez jakékoli následné analýzy (viz např. [17, 59]) navzdory její dostupnosti a nízkým nákladům ve srovnání s jinými zobrazovacími modalitami (CT, NMR, PET nebo ultrazvukové zobrazování). Výhody OCT jsou zřejmé – má nízké náklady, snadno se používá a poskytuje dostatečné prostorové i časové rozlišení pro tento druh aplikací.

4.4.1 Metoda

Principiální schéma experimentu je prezentováno na Obr. 4.7. Fantom popsaný v kapitole 3.2.2 je napojen na dvě infuzní pumpy systémem silikonových hadiček. První infuzní pumpa zajišťuje konstantní průtok nosného média (destilované vody) fantomem, zatímco druhá infuzní pumpa umožňuje aplikovat bolus kontrastní látky, v tomto případě zlatých nanotyčinek (viz kapitola 2.2.3).

Samotná procedura experimentu má tři fáze. V první fázi je udržována konstantní rychlost průtoku (200, 500, 1000, 2000 $\mu l \cdot min^{-1}$) fantomem pomocí hlavní infuzní pumpy. Poté je aktivována sekundární infuzní pumpa s rychlostí průtoku 5000 $\mu l \cdot min^{-1}$, která vygeneruje bolus kontrastní látky, jehož objem je 50 µl. Hlavní infuzní pumpa přitom udržuje stále tutéž rychlost průtoku. Třetí fáze spočívá v udržování konstantní rychlosti průtoku fantomem až do konce měření. Všechny tři fáze jsou kontinuálně snímány OCT systémem v jednom fixním řezu fantomem (rovina řezu je naznačena na Obr. 3.3 vpravo nahoře). Výstupem měření je sekvence obrazů s četností 10 obrazů za sekundu.

Popsaná procedura byla provedena třikrát pro každou rychlost průtoku nosného média fantomem uvedenou výše a se dvěma velikostmi nanotyčinek. Dvoje různé nanotyčinky byly použity s cílem simulovat různé podmínky uvnitř tkáně.



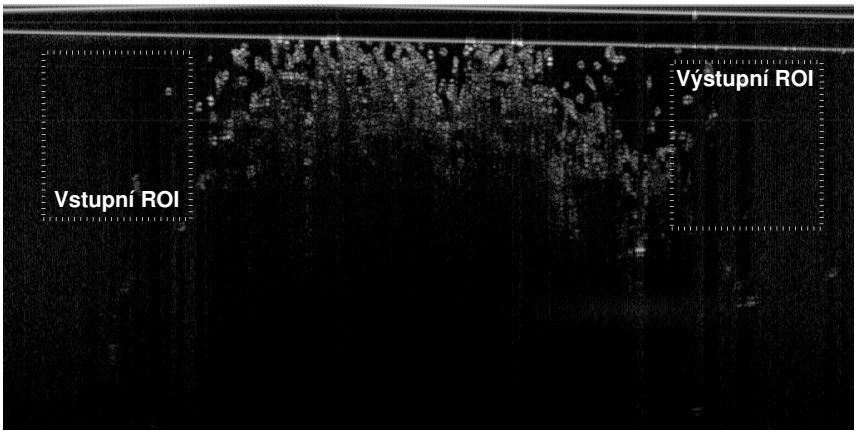
Obr. 4.7: Principiální schéma perfuzního experimentu s extracelulátní matricí a jeho reálné zapojení s detailem fantomu.

4.4.2 Zpracování dat

Pro zpracování byla použita surová interferenční data z OCT systému bez jakéhokoli předzpracování. Další zpracování i analýza dat proběhla v prostředí MATLAB (verze R2012b). Příklad jednoho intenzitního obrazu ze sekvence je na Obr. 4.8, jsou na něm znázorněny dvě oblasti zájmu (ROI). První ROI označuje oblast, odkud byla vypočítána vstupní diluční křivka, druhá potom odpovídá výstupní diluční křivce. Oblasti zájmu byly vybrány v místech těsně před a těsně za oblastí, která odpovídá extracelulární matrici. Rozměry obou ROI jsou přibližně 170 $\times$ 200 pixelů ($1,00 \times 1,17$ mm). Hlavní myšlenkou bylo popsat materiál simulující tkáň, což bylo provedeno perfuzní analýzou dat získaných z oblastí blízko materiálu, ale ne uvnitř něj. Oblasti zájmu jsou také umístěny blízko povrchu s cílem eliminovat vliv útlumu. Útlum je také eliminován umístěním ROI bezprostředně mimo materiál simulující tkáň, jehož útlum by mohl ovlivnit extrahované diluční křivky. Proto byl také zvolen popsaný vstupně-výstupní model.

Každá diluční křivka byla vypočítána jako medián z pixelů v ROI, odpovídá tedy mediánové intenzitě signálu. Obr. 4.9 ukazuje příklad dilučních křivek. Myšlenka extrakce mediánové hodnoty byla inspirována metodami redukce speklí [41].

Na vstupní ($c_{tep}(t)$) a odpovídající výstupní ($c_{žil}(t)$) diluční křivky byla apli-



Obr. 4.8: Oblasti zájmu pro výpočet dilučních křivek.

kována dekonvoluční metoda. Cílem této procedury bylo srovnání různých modelů impulsní charakteristiky $h(t)$ a nalezení nejlepšího modelu, který bude poskytovat vypočítané výstupní křivky $c_{žil,vyp}(t)$, které budou nejlépe kopírovat křivky měřené.

Ze vstupní křivky $c_{tep}(t)$ a modelované impulsní charakteristiky $h(t)$ je vypočítána výstupní křivka $c_{žil,vyp}(t) = c_{tep}(t) * h(t)$. Parametry modelu implusní charakteristiky jsou upravovány v průběhu optimalizace s cílem minimalizovat reziduální funkci [22]

$$\min_{\mathbf{p}} \sum_{t} \left| c_a(t) * q(t, \mathbf{p}) - c_v(t) \right|^2 , \tag{4.13}$$

kde $c_{tep}(t)$ a $c_{žil}(t)$ zmíněné výše jsou měřené vstupní a výstupní diluční křivky, $h(t, \mathbf{p})$ je odhadovaná impulsní charakteristika a $\mathbf{p}$ je vektor jejích proměnných parametrů, které jsou odhadovány v průběhu optimalizace.

Pro řešení tohoto dekonvolučního problému neomezené nelineární optimalizace byla použita simplexová vyhledávací metoda [24]. Je to metoda přímého vyhledávání, která používá pouze hodnoty funkce bez jakékoli derivativní informace. Vstupní hodnoty parametrů modelu byly náhodně vybrány z rozsahů uvedených v Tab. 4.1. Tyto rozsahy byly testovány a zvoleny s ohledem na reálné tvary naměřených křivek. Minimalizace byla opakována dvacetkrát kvůli eliminaci problémů s lokálními extrémy. Nejlepší výsledek parametrů modelu byl vybrán podle nejnižší hodnoty kritéria (vztah (4.4.2)).

Všechny modely a jejich parametry byly kromě výsledku optimalizace analyzovány také s ohledem na jejich závislost na rychlosti průtoku.

Tab. 4.1: Počáteční hodnoty parametrů modelů.

Model	Parametr	Rozsah
Exponenciální	α	0.1–1 s^{-1}
Gamma	k	0.1–3
	τ	0.1–3 s
Lagged	λ	0.1–5 s^{-1}
	μ	0.1–2 s
	σ	0.1–2 s
LDRW	μ	0.1–5 s
	λ	0.1–5

Pozn.: Rozsah pro každý model byl stanoven pomocí analýzy vlivu každého parametru na tvar křivky a s ohledem na časové vlastnosti měřených koncentračních křivek.

4.4.3 Výsledky a diskuze

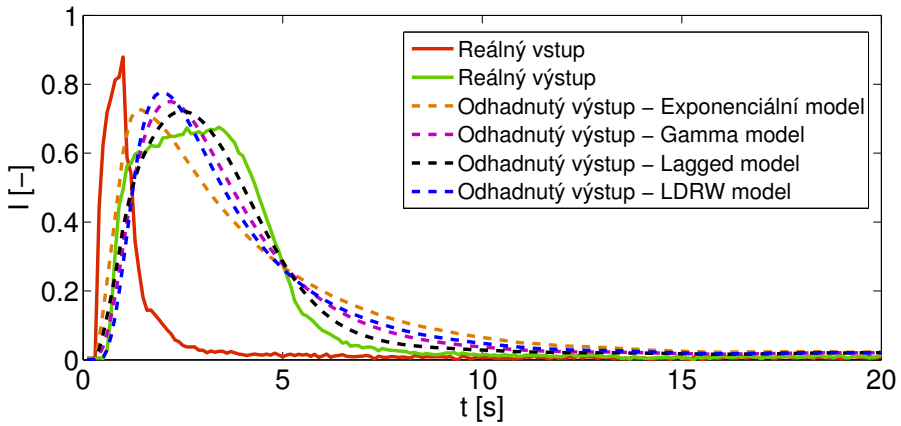
Výsledky optimalizace impulsních charakteristik simplexní metodou jsou vyhodnoceny a diskutovány v následující podkapitole. V další podkapitole je analyzován a diskutován vztah mezi parametry modelů a rychlostí průtoku. Diskutován je také vliv obou druhů nanotyčinek. Výsledky získané metodou genetického algoritmu jsou diskutovány zvlášť v poslední podkapitole.

Výsledky optimalizace

Jako příklad je uveden Obr. 4.9, kde jsou znázorněny naměřené i vypočítané diluční křivky pro průtok 1000 µl·min^{-1} a všechny modely, které byly použity. Vstupní křivka je znázorněna červenou linkou, naměřená výstupní křivka zelenou linkou a modelované vypočítané výstupní křivky jsou znázorněny čárkovaně.

Jak je možné vidět, modelované křivky ne zcela přesně aproximují naměřenou výstupní křivku, ale kvalita se liší pro různé modely i pro různé hodnoty rychlosti průtoku. Nejlepších výsledků z hlediska hodnoty optimalizačního kritéria dosáhl Lagged model v celém rozsahu testovaných průtoků (viz Tab. 4.2). Hodnoty uvedené v závorkách v této tabulce představují rozptyl minimalizačního kritéria pro 20 náhodných opakování s různou inicializací.

Z Tab. 4.2 je zřejmé, že hodnota kritéria je větší pro nízké hodnoty průtoku, z čehož vyplývá, že zvolené modely a metodologie jsou vhodnější pro vyšší rychlosti průtoku. Také jsme vypozorovali, že tvar vypočítaných výstupních křivek koresponduje s naměřenými lépe v náběžné části než v sestupné. Dalším problematickým místem je tvar křivek v oblasti maxima, kde byl problém s aproximací fáze plató.



Obr. 4.9: Příklad dilučních křivek pro nanotyčinky A12N-10-1400 a rychlost průtoku 1000 µl·min^{-1}.

Tab. 4.2: Nejlepší hodnoty minimalizačního kritéria pro různé modely a hodnoty rychlosti průtoku.

A12N-10-1400

Model	**Rychlost průtoku [µl·min^{-1}]**			
	200	500	1000	2000
Exp.	1,78 (±0,00)	1,27 (±0,00)	1,18 (±0,00)	0,35 (±0,00)
Gamma	1,75 (±0,00)	1,08 (±0,00)	0,79 (±0,00)	0,27 (±0,00)
Lagged	**1,27 (±3,90)**	**0,65 (±0,79)**	**0,51 (±0,38)**	**0,19 (±0,35)**
LDRW	1,35 (±0,00)	1,25 (±0,00)	1,00 (±0,00)	0,34 (±0,00)

A12N-25-1400

Model	**Rychlost průtoku [µl·min^{-1}]**			
	200	500	1000	2000
Exp.	9,21 (±0,00)	4,97 (±0,00)	3,37 (±0,00)	2,68 (±0,00)
Gamma	9,20 (±0,00)	4,56 (±0,00)	2,59 (±0,00)	1,70 (±0,00)
Lagged	**8,18 (±11,25)**	**3,51 (±2,91)**	**1,78 (±0,84)**	**1,35 (±0,22)**
LDRW	10,75 (±0,00)	5,66 (±0,00)	3,30 (±0,00)	1,99 (±0,00)

Pozn.: Číslo v závorce představuje rozptyl optimalizačního kritéria. Pokud je tato hodnota 0,00, optimalizace skončila identickým výsledkem v každém opakování.

Výsledky optimalizace byly též hodnoceny pomocí hodnot R^2, které hodnotí kvalitu proložení. To je shrnuto v Tab. 4.3. Hodnota R^2 byla počítána mezi $c_{žil,vyp}$ a $c_{žil}$. Nejvyšší hodnoty, a tedy i nejlepší kvality proložení, dosáhl Lagged model.

Další srovnání modelů bylo provedeno z hlediska perfuzních parametrů. Srovnávali jsme dva perfuzní parametry AUC a MTT (Mean Transit Time), opět získané z $c_{žil,vyp}$ a $c_{žil}$. Výsledky jsou uvedeny v Tab. 4.3. Tučně zvýrazněné položky reprezentují hodnoty, které jsou nejblíže naměřeným hodnotám. Nejlepších výsledků dosáhl opět Lagged model, což dokazuje jeho převahu nad ostatními testovanými modely. Jeho jedinou nevýhodou je závislost na zvolených inicializačních hodnotách parametrů, což je pravděpodobně způsobeno tím, že má tyto parametry tři (na rozdíl od ostatních modelů, které mají dva parametry).

Tab. 4.3: Kvalita proložení (goodness of fit) charakterizovaná hodnotami R^2, střední doby průchodu (MTT) a plochy pod křivkou (AUC) pro každý model a rychlost průtoku [µl·min^{-1}].

R^2

Průtok	**Exponenciální**	**Gamma**	**Lagged**	**LDRW**
200	0.919	0.922	**0.939**	0.885
500	0.884	0.943	**0.973**	0.907
1000	0.863	0.932	**0.965**	0.898
2000	0.860	0.879	**0.906**	0.848

MTT

Průtok	**Exponenciální**	**Gamma**	**Lagged**	**LDRW**	**Measured**
200	14.93	14.93	**13.78**	15.59	**12.46**
500	8.41	8.15	**7.92**	8.35	**6.18**
1000	5.78	5.58	**5.45**	5.70	**3.74**
2000	3.27	3.19	**3.10**	3.27	**2.36**

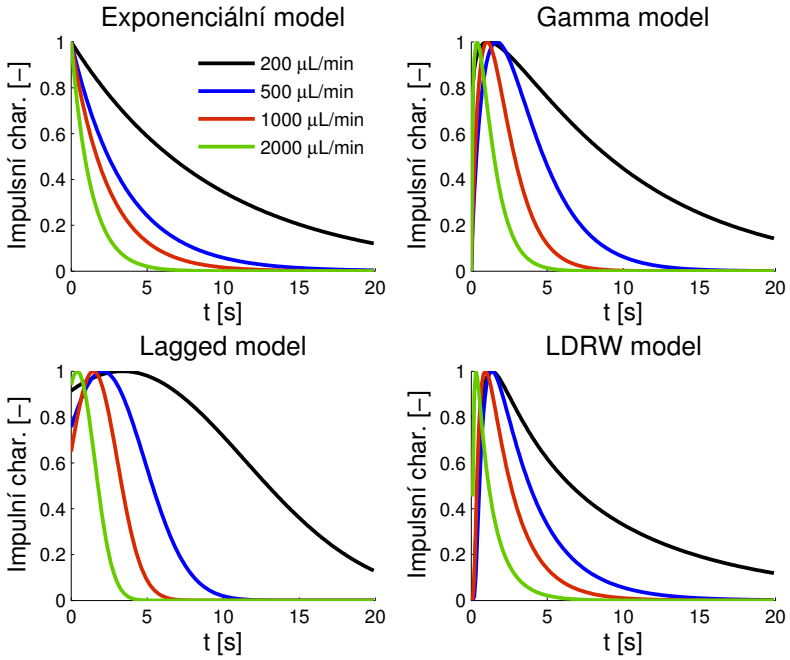
AUC

Průtok	**Exponenciální**	**Gamma**	**Lagged**	**LDRW**	**Measured**
200	145.47	139.88	**136.56**	139.11	**134.57**
500	63.41	59.11	**58.06**	58.84	**56.23**
1000	34.09	32.53	32.66	**32.08**	**28.16**
2000	8.59	8.28	**8.14**	8.29	**7.58**

Pozn.: Tučně zvýrazněné hodnoty odpovídají nejlepším výsledkům. Pro R^2 je to nejvyšší hodnota. Pro AUC a MTT je to hodnota nejbližší k naměřené.

Parametry modelů

Modelované impulsní charakteristiky pro všechny testované modely jsou znázorněny na Obr. 4.10 (nanotyčinky A12N-10-1400, pro vykreslení byly použity mediánové hodnoty ze tří měření, viz níže). Je patrné, že šířka křivek impulsních charakteristik závisí na rychlosti průtoku, tedy pro nižší rychlost průtoku jsou impulsní charakteristiky širší. Impulsní charakteristiky ukazují, jak model tkáně transportuje nanočástice (jejich koncentraci) v případě, že je aplikován ideální bolus.

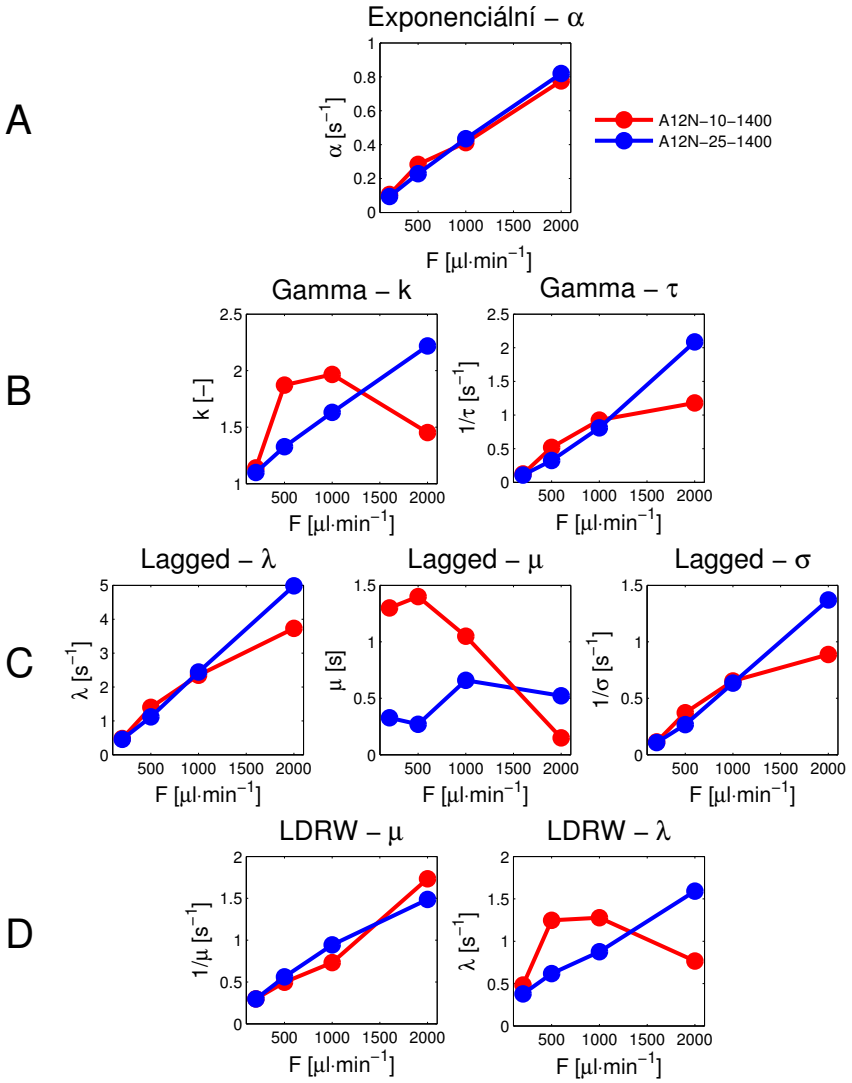


Obr. 4.10: Impulsní charakteristiky pro nanotyčinky A12N-10-1400, všechny testované modely a rychlosti průtoku.

Dále jsme zkoumali vztah mezi parametry modelů, rychlostí průtoku a velikostí nanočástic (viz Obr. 4.11). V každém grafu je znázorněna mediánová hodnota ze tří provedených měření. Analyzované modely mají různé parametry, nicméně každý z modelů má alespoň jeden parametr se vztahem k rychlosti průtoku. Ostatní parametry pak odkazují na jinou fyzikální vlastnost prostředí napodobujícího tkáň.

Jediným parametrem exponenciálního modelu je parametr α a ovlivňuje šířku křivky, z čehož vyplývá jeho závislost na rychlosti průtoku. Z Obr. 4.11A lze jasně vyčíst lineární trend. Tato vzrůstající tendence souhlasí s předpokladem, jelikož nárust hodnoty exponentu způsobuje zužování křivky. Žádný statistický rozdíl mezi oběma typy nanotyčinek nebyl patrný.

Gamma model má dva parametry τ a k. Parametr τ je nepřímo úměrný k parametru α exponenciálního modelu a má tedy také závislost na rychlosti průtoku.



Obr. 4.11: Hodnoty parametrů a jejich závislost na rychlosti průtoku. Červená barva pro nanotyčinky A12N-10-1400, modrá pro 12N-25-1400.

V Obr. 4.11B je tedy znázorněna jeho reciproká hodnota kvůli snazší porovnatelnosti obou modelů. Linearita τ je také patrná, ale se saturací v případě menších nanotyčinek a vyšších hodnot rychlosti průtoku. Parametr k vyjadřuje počet kompartmentů. V našem případě parametr k nabývá hodnot v rozsahu od přibližně 1 do 2,5, což odpovídá prezentovanému modelu. Hlavní kompartment může být interpretován jako mísení nanočástic v objemu, kam je injektován bolus (vstupní céva). V případě vyšších hodnot rychlosti průtoku může být očekávána větší tendence k mísení a turbulencím. Pro malé nanočástice hodnota k klesá s vyšší rychlostí průtoku, což vede k tomu, že se celý systém chová již jen jako jediný kompartment.

Prvním parametrem Lagged modelu je parametr λ, který reprezentuje rychlostní konstantu exponenciálního mísicího kompartmentu. Je tudíž srovnatelný s rychlostní konstantou exponenciálního modelu. Jeho závislost na rychlosti průtoku je tedy velmi podobná předchozím modelům (Obr. 4.11C). Další dva parametry μ a σ se vztahují ke Gaussovskému kompartmentu, který reprezentuje mísení před tkáňovým modelem. Parametr σ ovlivňuje šířku křivky a je tudíž závislý na rychlosti průtoku. Vyšší hodnoty σ odpovídají pomalému mísení při nízkých rychlostech průtoku a naopak. Parametr μ má význam Gaussovské střední hodnoty a určuje polohu vrcholu křivky. Rozsah hodnot parametru μ je přibližně 0–1,4 sekundy, což je velmi málo ve srovnání s dobou trvání experimentu. Také není patrná žádná závislost na rychlosti průtoku. Můžeme tedy tento parametr považovat za nevýznamný.

Posledním testovaným modelem je LDRW model s parametry μ a λ. Parametr μ je také lineárně závislý na rychlosti průtoku (Obr. 4.11D) a může být srovnáván s odpovídajícími na průtoku závislými parametry ostatních modelů. Parametr λ poskytuje informaci o relativním významu difuze a konvekce. Jeho hodnota my měla vzrůstat s rostoucí rychlostí průtoku, kde převažuje konvekce. To je možné pozorovat pouze pro větší nanotyčinky. Křivka příslušející malým nanočásticím vykazuje spíše saturaci a mírný pokles, což souvisí se změnami vlivu konvekce a difuze kvůli turbulencím. Obr. 4.11 odhaluje zajímavou souvislost mezi parametrem λ LDRW modelu a parametrem k Gamma modelu, který odpovídá počtu kompartmentů. Jelikož je parametr λ_{LDRW} úměrný Pecletovu číslu, tato souvislost s k_{Gamma} naznačuje, že difuze převažuje nad konvekcí.

Dále bylo ukázáno, že parametry se vztahem k rychlosti průtoku mají (nezávisle na modelu) na rychlosti průtoku lineární závislost. To bylo testováno lineárním proložením a hodnotou R^2, která měla rozsah 0.4914–0.9996, s nejlepšími výsledky pro exponenciální a Lagged model a nejhoršími výsledky pro model Gamma. Tento parametr lze tedy použít jako indikátor průtoku v perfuzní analýze založené na aplikaci bolusu. Mimoto Gamma model poskytuje parametr k (neceločíselný počet kompartmentů), který může být použit pro charakterizaci nebo lepší pochopení zkoumané tkáně. Lagged model poskytuje nejlepší výsledky proložení tvaru výstupních křivek pro všechny rychlosti průtoku z hlediska minimalizačního kritéria (Tab. 4.2). Model LDRW nám pak může pomoci lépe pochopit fyzikální procesy spojené s difuzí a konvekcí v kapilárách.

Parametry každého modelu mají specifický fyzikální význam. V každém modelu lze najít parametr se vztahem k rychlosti průtoku; může být tedy odhadnuta perfuze tkáně při použití v reálné situaci. Ostatní parametry mají různý význam v popisu tkáně. Ze zkoumané tkáně mohou být také odhadnuty dva běžně používané parametry (MTT, AUC). MTT má význam střední doby, kterou krev putuje kapilární sítí. Oba tyto parametry závisí na prokrvení a objemu toku krve v tkáni. Obvykle

se počítají přímo z koncentračních křivek naměřených v tkáni, které jsou ovlivněny AIF. Námi prezentovaný postup nám umožňuje omezit vliv AIF a extrahovat AUC a MTT přímo z odhadovaných modelů.

4.4.4 Shrnutí

V této části práce jsme ukázali novou aplikaci OCT pro perfuzní analýzu s použitím přístupu založeného na aplikaci bolusu. Prezentované výsledky jsou založeny na modelu napodobujícím tkáň, jednoduchém kapilárním modelu tkáně. Napodobení tkáně je samozřejmě omezené. V reálné tkáni lze očekávat odlišné chování v důsledku interakcí mezi nanočásticemi, stěnami krevních cév a krevními částicemi. Použité nanočástice mohou být jak intravaskulární, tak extravaskulární/extracelulární, v závislosti na jejich velikosti, povrchovém náboji a také na velikosti pórů cév, obzvláště nádorových [55]. V současné době byly v OCT použity modifikované chitosan-polyethylenglykolové nanočástice k překonání hematoencefalické bariéry [1]. Pomocí OCT byl sledován transport stříbrných nanočástic (5–46 nm) dovnitř a ven z embrya dania pruhovaného (*Danio rerio*) přes chorionovou membránu [26]. To jsou příklady aplikací, kde je možné použít prezentovaný přístup ke kvantifikaci vyšetřované tkáně.

Aplikace našeho jednoduchého fantomu je prvním krokem v této oblasti kvantitativního zobrazování pomocí OCT. Základní princip této dekonvoluční perfuzní metody mohl být takto otestován a vyhodnocen. Vlastnosti nanovláknové extracelulární matrice, která v našem fantomu imituje tkáň, nám dovolily použití pouze omezeného rozsahu hodnot rychlosti průtoku, což mohlo ovlivnit optimalizaci a analýzu modelů. Nicméně Lagged model má tři volné parametry, což nám umožňuje nastavit různé vlastnosti a tvary a tím pádem obsáhnout různé podmínky. Interpretace těchto parametrů je také realativně přímočará. Ukázali jsme, že každý z testovaných modelů obsahuje parametr s lineární závislostí na rychlosti průtoku. Použili jsme dva druhy nanočástic, abychom simulovali odlišné podmínky, což se ale potvrdilo pouze pro parametr k Gamma modelu a parametr λ LDRW modelu. Tyto dva modely jsou relativně komplexní a jejich parametry mohou z různých pohledů popsat vlastnosti zkoumané tkáně.

Jedním z budoucích kroků může být testování prezentovaného přístupu na reálné tkáni (nádorové nebo na zvířecím modelu). Pro použití v reálných předklinických nebo i klinických aplikacích musí být vyřešen problém útlumu. Útlum se skládá z útlumu vlivem tkáně a útlumu vlivem nanočástic. Na toto téma již bylo publikováno několik metod [10, 44]. Další záležitostí je recirkulace nanočástic, nicméně jednoprůchodová varianta se dá považovat za aproximaci nebo může být rozšířen konvoluční model do komplexnější podoby. V neposlední řadě je také důležitá kompenzace pohybu (vznikajícího například při dýchání) registračními metodami.

5 ZÁVĚR

Počáteční části této dizertační práce byly věnovány rozboru základní teorie OCT, dále kontrastním látkám, a to jak teoreticky, tak z praktického hlediska, kde bylo popsáno testování vybraných kontrastních látek. Následně bylo teoreticky pojednáno o fantomech pro OCT a jejich dosavadním vývoji. Poté byly popsány konkrétní implementace fantomů vytvořených v rámci této práce, tedy jednoduchý jednovláknový perfuzní fantom, na kterém byl prokázán prostup nanočástic skrz stěnu vlákna, dále skleněný jednovláknový perfuzní fantom, který sloužil k ověření použitelnosti diluční teorie s OCT, a nakonec perfuzní fantom s extracelulární matricí (v textu byl také použit termín tkáňový fantom), vytvořený pro ověření základní perfuzní teorie na OCT.

V hlavní praktické části práce byla největší pozornost věnována perfuzní analýze v OCT, přičemž po teoretickém rozboru obecných prvků perfuzní analýzy a perfuzních modelů následovaly praktické výsledky aplikace diluční teorie v OCT pro odhad průtoku a studie testující základní teorii perfuze na OCT pomocí tkáňového fantomu.

Při ověření možnosti odhadu průtoku pomocí OCT a diluční teorie byl použit skleněný jednovláknový fantom. Jako kontrastní látka byl aplikován Intralipid, přičemž byl prokázán lineární vztah mezi intenzitou v obraze a koncentrací kontrastní látky. Výsledky se ukázaly být srovnatelné s přesností dosaženou jinými modalitami využívajícími taktéž diluční metodu.

Pomocí jednoduchého kapilárního modelu tkáně reprezentovaného fantomem s extracelulární matricí byla ukázána nová aplikace OCT pro perfuzní analýzu s použitím přístupu založeného na aplikaci bolusu. Byl otestován a vyhodnocen základní princip této dekonvoluční perfuzní metody. Bylo testováno několik perfuzních modelů, přičemž bylo ukázáno, že každý z testovaných modelů obsahuje parametr s lineární závislostí na rychlosti průtoku. Aplikace tohoto jednoduchého modelu je tak prvním krokem v oblasti kvantitativního zobrazování pomocí OCT.

Celkově výsledky této dizertační práce ukázaly, že aplikace perfuzní analýzy na OCT data je možná a použitelná.

LITERATURA

[1] Aktaş, Y., Yemisci, M., Andrieux, K. et al. Development and brain delivery of chitosan-PEG nanoparticles fnnctionalized with the monoclonal antibody OX26. *Bioconjugate Chemistry*. 2005, roč. 16, č. 6. S. 1503–1511. ISSN 10431802.

[2] Alsberg, E., Feinstein, E., Joy, M. P. et al. Magnetically-Guided Self-Assembly of Fibrin Matrices with Ordered Nano-Scale Structure for Tissue Engineering. *Tissue Engineering*. 2006, roč. 12, č. 11. S. 3247–3256. ISSN 1076-3279.

[3] Applegate, B. E. a Izatt, J. a. Molecular imaging of endogenous and exogenous chromophores using ground state recovery pump-probe optical coherence tomography. *Optics express*. Oct 2006, roč. 14, č. 20. S. 9142–9155. ISSN 1094-4087.

[4] Au, K. M., Lu, Z., Matcher, S. J. et al. Polypyrrole nanoparticles: A potential optical coherence tomography contrast agent for cancer imaging. *Advanced Materials*. 2011, roč. 23, č. 48. S. 5792–5795. ISSN 09359648.

[5] Ayari, N., Popov, A., Kinnunen, M. et al. Sensing an aqueous Intralipid suspension with optical coherence tomography: reconstruction of the scattering coefficients. In *Proc. SPIE 6536, Saratov Fall Meeting 2006: Coherent Optics of Ordered and Random Media VII*. Jun 2007. S. 65360M–65360M.

[6] Barton, J. a Stromski, S. Flow measurement without phase information in optical coherence tomography images. *Optics express*. Jul 2005, roč. 13, č. 14. S. 5234–9. ISSN 1094-4087.

[7] Brands, J., Vink, H. a Van Teeffelen, J. W. G. E. Comparison of four mathematical models to analyze indicator-dilution curves in the coronary circulation. *Medical and Biological Engineering and Computing*. 2011, roč. 49, č. 12. S. 1471–1479. ISSN 01400118.

[8] Brix, G., Griebel, J., Kiessling, F. et al. Tracer kinetic modelling of tumour angiogenesis based on dynamic contrast-enhanced CT and MRI measurements. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Aug 2010, roč. 37, SUPPL. 1. S. S30–51. ISSN 16197070.

[9] Bykov, A. V., Popov, A. P., Priezzhev, A. V. et al. Multilayer tissue phantoms with embedded capillary system for OCT and DOCT imaging. *Proc. SPIE*. 2011, roč. 8091. S. 80911R–80911R–6.

[10] Chang, S., Flueraru, C., Mao, Y. et al. Attenuation compensation for optical coherence tomography imaging. *Optics Communications*. 2009, roč. 282, č. 23. S. 4503–4507. ISSN 00304018.

[11] Chen, N. T., Souris, J. S., Cheng, S. H. et al. Lectin-functionalized mesoporous silica nanoparticles for endoscopic detection of premalignant colonic lesions. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 2017, roč. 13, č. 6. S. 1941–1952. ISSN 15499642.

[12] Chen, Z., Milner, T. E., Dave, D. et al. Optical Doppler tomographic imaging of fluid flow velocity in highly scattering media. *Optics Letters*. 1997, roč. 22, č. 1. S. 64. ISSN 0146-9592.

[13] Driver, I., Feather, J., King, P. et al. The optical properties of aqueous suspensions of Intralipid, a fat emulsion. *Physics in medicine and biology*. 1989, roč. 34. S. 1927.

[14] Ducros, M., Laubsher, M., Karamata, B. et al. Parallel optical coherence tomography in scattering samples using a two-dimensional smart-pixel detector array. *Optics Communications*. 2002, roč. 202, č. 1. S. 29–35.

[15] Evans, M., Hastings, N. a Peacock, B. *Statistical Distributions*. 4. vyd. [b.m.]: JohnWiley & Sons, Inc., 2000. 221 s. ISBN 0471371246.

[16] Fieselmann, A., Kowarschik, M., Ganguly, A. et al. Deconvolution-based CT and MR brain perfusion measurement: Theoretical model revisited and practical implementation details. *International Journal of Biomedical Imaging*. Jan 2011, roč. 2011. S. 467563. ISSN 16874188.

[17] Gobin, A. M., Lee, M. H., Halas, N. J. et al. Near-infrared resonant nanoshells for combined optical imaging and photothermal cancer therapy. *Nano Letters*. 2007, roč. 7, č. 7. S. 1929–1934. ISSN 15306984.

[18] Gu, P. C., Ye, M., Wei, H. J. et al. Contrasting properties of zinc oxide nanoparticles and titanium dioxide nanoparticles for optical coherence tomography imaging of human normal endometrium tissues and uterine leiomyoma tissues in *ex vivo* study combined with microneedle. *Laser Physics*. 2016, roč. 26, č. 5. S. 055604. ISSN 1054-660X.

[19] Huang, X., Neretina, S. a El Sayed, M. A. Gold nanorods: From synthesis and properties to biological and biomedical applications. *Advanced Materials*. Dec 2009, roč. 21, č. 48. S. 4880–4910. ISSN 09359648.

[20] John, R. a Chaney, E. Dynamics of magnetic nanoparticle-based contrast agents in tissues tracked using magnetomotive optical coherence tomography. *Selected Topics in Quantum*. 2010, roč. 16, č. 3. S. 691–697.

[21] Kennedy, B. F., Loitsch, S., McLaughlin, R. a. et al. Fibrin phantom for use in optical coherence tomography. *Journal of biomedical optics*. 2011, roč. 15, č. 3. S. 030507. ISSN 1560-2281.

[22] Koh, T. S., Bisdas, S., Koh, D. M. et al. Fundamentals of tracer kinetics for dynamic contrast-enhanced MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2011, roč. 34, č. 6. S. 1262–1276. ISSN 10531807.

[23] Kolář, R. a Podlipná, P. Analysis of Images from Optical Coherence Tomography for the Nanoparticle Transport. In *Miua*. 2014.

[24] Lagarias, J. C., Reeds, J. A., Wright, M. H. et al. Convergence Properties of the Nelder–Mead Simplex Method in Low Dimensions. *SIAM Journal on Optimization*. 1998, roč. 9, č. 1. S. 112–147. ISSN 1052-6234.

[25] Lauri, J., Bykov, a. V., Priezzhev, a. V. et al. Experimental study of the multiple scattering effect on the flow velocity profiles measured in Intralipid phantoms by DOCT. *Laser Physics*. Mar 2011, roč. 21, č. 4. S. 813–817. ISSN 1054-660X.

[26] Lee, K. J., Nallathamby, P. D., Browning, L. M. et al. In vivo imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebrafish embryos. *ACS Nano*. Sep 2007, roč. 1, č. 2. S. 133–143. ISSN 19360851.

[27] Lee, T. Y. Functional CT: Physiological models. *Trends in Biotechnology*. Aug 2002, roč. 20, č. 8. S. S3–S10. ISSN 01677799.

[28] Li, J.-L. a Gu, M. Gold-nanoparticle-enhanced cancer photothermal therapy. *Selected Topics in Quantum Electronics, IEEE Journal of*. 2010, roč. 16, č. 4. S. 989–996.

[29] Liu, G., Lin, A. J., Tromberg, B. J. et al. A comparison of Doppler optical coherence tomography methods. *Biomedical Optics Express*. Oct 2012, roč. 3, č. 10. S. 2669. ISSN 2156-7085.

[30] Loy, G. a Zelinsky, A. Fast radial symmetry for detecting points of interest. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*. 2003, roč. 25, č. 8. S. 959–973. ISSN 01628828.

[31] Mariampillai, A., Leung, M. K. K., Jarvi, M. et al. Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Optics Letters*. Apr 2010, roč. 35, č. 8. S. 1257–1259. ISSN 0146-9592.

[32] Mariampillai, A., Standish, B. A., Moriyama, E. H. et al. Speckle variance detection of microvasculature using swept-source optical coherence tomography. *Optics letters*. Jul 2008, roč. 33, č. 13. S. 1530–1532. ISSN 0146-9592.

[33] Meemon, P., Lee, K.-S. a Rolland, J. P. Doppler imaging with dual-detection full-range frequency domain optical coherence tomography. *Biomedical optics express*. Jan 2010, roč. 1, č. 2. S. 537–552. ISSN 2156-7085.

[34] Murphy, C. J., Thompson, L. B., Alkilany, A. M. et al. The many faces of gold nanorods. *Journal of Physical Chemistry Letters*. Oct 2010, roč. 1, č. 19. S. 2867–2875. ISSN 19487185.

[35] Oh, J., Feldman, M. D., Kim, J. et al. Magneto-motive detection of tissue-based macrophages by differential phase optical coherence tomography. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2007, roč. 39, č. 3. S. 266–272. ISSN 01968092.

[36] Pérez Juste, J., Pastoriza Santos, I., Liz Marzán, L. M. et al. Gold nanorods: Synthesis, characterization and applications. *Coordination Chemistry Reviews*. Sep 2005, roč. 249, 17-18 SPEC. ISS. S. 1870–1901. ISSN 00108545.

[37] Podlipná, P. a Kolář, R. Concentration influence on contrast agents properties in optical coherence tomography. In *Student EEICT Proceedings of the 18th conference*. 2012. S. 350–354.

[38] Podlipná, P. a Kolář, R. Single fiber perfusion phantom for optical coherence tomography. In *Proc. SPIE 8802, Optical Coherence Tomography and Coherence Techniques VI*. 2013. S. 88020Q. ISBN 9780819496515.

[39] Pogue, B. W. a Patterson, M. S. Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry. *Journal of biomedical optics*. 2006, roč. 11, č. 4. S. 041102. ISSN 1083-3668.

[40] Reuter, D. A., Huang, C., Edrich, T. et al. Cardiac output monitoring using indicator-dilution techniques: Basics, limits, and perspectives. *Anesthesia and Analgesia*. 2010, roč. 110, č. 3. S. 799–811. ISSN 00032999.

[41] Schmitt, J. M., Xiang, S. H. a Yung, K. M. Speckle in Optical Coherence Tomography. *Journal of Biomedical Optics*. 1999, roč. 4, č. 1. S. 95. ISSN 10833668.

[42] Skala, M., Tao, Y., Davis, A. et al. *Functional Optical Coherence Tomography in Preclinical Models.* [b.m.]: CRC Press, jun 2011. 281–302 s. ISBN 978-1-4200-9037-6.

[43] Slifstein, M. a Laruelle, M. Models and methods for derivation of in vivo neuroreceptor parameters with PET and SPECT reversible radiotracers. *Nuclear Medicine and Biology.* 2001, roč. 28, č. 5. S. 595–608. ISSN 09698051.

[44] Smith, G. T., Dwork, N., O'Connor, D. et al. Automated, Depth-Resolved Estimation of the Attenuation Coefficient from Optical Coherence Tomography Data. *IEEE Transactions on Medical Imaging.* 2015, roč. 34, č. 12. S. 2592–2602. ISSN 1558254X.

[45] Srikanchana, R., Thomasson, D., Choyke, P. et al. A comparison of pharmacokinetic models of dynamic contrast enhanced MRI. In *Computer-Based Medical Systems, 2004. CBMS 2004. Proceedings. 17th IEEE Symposium on.* [b.m.]: IEEE, 2004. S. 361–366.

[46] Staveren, H. J. van, Moes, C. J., Marie, J. van et al. Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400-1100 nm. *Applied optics.* Nov 1991, roč. 30, č. 31. S. 4507–14. ISSN 0003-6935.

[47] Štohanzlová, P. a Kolář, R. Flow rate estimation by optical coherence tomography using contrast dilution approach. In *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media.* [b.m.]: Optical Society of America, 2015. S. 954107. ISBN 9781628417012.

[48] Stohanzlova, P. a Kolar, R. Tissue perfusion modelling in optical coherence tomography. *BioMedical Engineering OnLine.* 2017, roč. 16, č. 1. S. 27. ISSN 1475-925X.

[49] Strouthos, C., Lampaskis, M., Sboros, V. et al. Indicator dilution models for the quantification of microvascular blood flow with bolus administration of ultrasound contrast agents. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control.* 2010, roč. 57, č. 6. S. 1296–1310. ISSN 08853010.

[50] Thompson, H. K., Starmer, C. F., Whalen, R. E. et al. Indicator Transit Time Considered As a Gamma Variate. *Circulation research.* 1964, roč. 14, June. S. 502–515. ISSN 0009-7330.

[51] Thompson, O. B. a Andrews, M. K. Tissue perfusion measurements: multiple-exposure laser speckle analysis generates laser Doppler–like spectra. *Journal of Biomedical Optics.* 2010, roč. 15, č. 2. S. 027015. ISSN 10833668.

[52] Tomlins, P. H. a Wang, R. K. Theory, developments and applications of optical coherence tomography. *Journal of Physics D: Applied Physics*. Aug 2005, roč. 38, č. 15. S. 2519–2535. ISSN 0022-3727.

[53] Xu, C., Ye, J., Marks, D. L. et al. Near-infrared dyes as contrast-enhancing agents for spectroscopic optical coherence tomography. *Optics letters*. Jul 2004, roč. 29, č. 14. S. 1647–1649. ISSN 0146-9592.

[54] Yang, C., Choma, M. a., Lamb, L. E. et al. Protein-based molecular contrast optical coherence tomography with phytochrome as the contrast agent. *Optics letters*. Jun 2004, roč. 29, č. 12. S. 1396–8. ISSN 0146-9592.

[55] Yuan, F., Dellian, M., Fukumura, D. et al. Vascular Permeability in a Human Tumor Xenograft: Molecular Size Dependence and Cutoff Size. *Cancer Research*. Sep 1995, roč. 55, č. 17. S. 3752–3756. ISSN 15387445.

[56] Zagaynova, E. V., Shirmanova, M. V., Kirillin, M. Y. et al. Contrasting properties of gold nanoparticles for optical coherence tomography: phantom, in vivo studies and Monte Carlo simulation. *Physics in medicine and biology*. Sep 2008, roč. 53, č. 18. S. 4995–5009. ISSN 0031-9155.

[57] Zborowski, M. *Magnetic Cell Separation*. 1st ed. Boston: Elsevier, 2007. 265–292 s. ISBN 9780444527547.

[58] Zeng, S., Yong, K.-T., Roy, I. et al. A Review on Functionalized Gold Nanoparticles for Biosensing Applications. *Plasmonics*. Apr 2011, roč. 6, č. 3. S. 491–506. ISSN 1557-1955.

[59] Zhou, F., Wei, H., Ye, X. et al. Influence of nanoparticles accumulation on optical properties of human normal and cancerous liver tissue in vitro estimated by OCT. *Physics in medicine and biology*. 2015, roč. 60, č. 3. S. 1385–97. ISSN 1361-6560.

PUBLIKAČNÍ AKTIVITA AUTORA

1. PODLIPNÁ, P.; HARABIŠ, V. Generátor EKG signálu. In *Student EEICT 2009*. Volume 1. 2009. s. 10-13. ISBN: 978-80-214-3870- 5.
2. PODLIPNÁ, P.; HARABIŠ, V. Multimodální registrace obrazů sítnice. In *Sborník soutěže Student EEICT 2011*. Brno: VUT v Brně, 2011. s. 91-93. ISBN: 978-80-214-4272- 6.
3. PODLIPNÁ, P.; KOLÁŘ, R. Concentration influence on contrast agents properties in optical coherence tomography. In *Student EEICT Proceedings of the 18th conference,* Volume 3. 2012. p. 350-354. ISBN: 978-80-214-4462- 1.
4. PODLIPNÁ, P.; KOLÁŘ, R. Single fiber perfusion phantom for optical coherence tomography. In *Optical Coherence Tomography and Coherence Techniques VI. PROCEEDINGS OF SPIE*. Munich, Germany: 2013. p. 88020Q- 1 (88020Q-6 p.)ISBN: 978-0-8194-9651- 5.
5. SLÁVIK, V.; KOLÁŘ, R.; PODLIPNÁ, P. Laboratorní úlohy pro výuku lékařské diagnostické techniky. In *Trendy v biomedicínskom inžinierstve 2013 - Zborník konferencie*. Košice: Technická univerzita v Košiciach, 2013. s. 27-29. ISBN: 978-80-8086-208- 4.
6. ŠTOHANZLOVÁ, P.; KOLÁŘ, R. Fantom pro optickou koherentní tomografii - použití pro perfuzní analýzu. In *Nové směry v biomedicínském inženýrství*. Brno: UBMI, VUT v Brně, 2014. s. 61-70. ISBN: 978-80-214-5049- 3.
7. KOLÁŘ, R.; PODLIPNÁ, P. Analysis of images from optical coherence tomography for the nanoparticle transport. In *Medical Image Understanding and Analysis*. London: BMVA, 2014. p. 215-221. ISBN: 1-901725-51- 0.
8. ŠTOHANZLOVÁ, P.; KOLÁŘ, R. Flow rate estimation by optical coherence tomography using contrast dilution approach. In *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media*. 9541. Munich: SPIE, 2015. p. 954107- 1 (954107-6 p.)ISBN: 9781628417067.
9. ŠTOHANZLOVÁ, P.; KOLÁŘ, R. Tissue perfusion modelling in optical coherence tomography. *BIOMED ENG ONLINE*, 2017, vol. 16, no. 1, p. 1-16. ISSN: 1475-925X.