

Analyse calibrée par ordinateur de la concentration muqueuse en hémoglobine dans l'œsophage en endoscopie électronique

H. WITT, G. MANNEBERG *, S. KAKU, K. TAKAHAMA, P. SLEZAK

Section of Gastrointestinal Radiology and Endoscopy, Department of Diagnostic Radiology, Karolinska Hospital, 171 76 Stockholm (Sweden)

* Department of Optical Physics, Royal Institute of Technology, 100 44 Stockholm (Sweden)

Calibrated computer analysis of mucosal hemoglobin concentration in esophagus using electronic endoscopy

RÉSUMÉ

Le vidéoendoscope électronique couplé à un détecteur monochromatique (CCD-chip pour Charge Coupled Device) permet la détermination du contenu en hémoglobine de la muqueuse par analyse d'image. La lumière de l'endoscope est composée de trois couleurs primaires (rouge, vert et bleu). L'hémoglobine est le pigment dominant de la muqueuse du tube digestif. L'hémoglobine absorbe la lumière verte, mais réfléchit la plus grande partie de la lumière rouge, rendant ainsi possible l'estimation du contenu en hémoglobine de la muqueuse en utilisant la différence d'intensité lumineuse des images rouge et verte. L'étude de quinze patients présentant un œsophage macroscopiquement normal et dix patients avec une œsophagite macroscopique démontre la faisabilité d'une estimation par ordinateur du contenu en hémoglobine de la muqueuse grâce à l'analyse de l'image endoscopique avec un programme spécialement conçu à cet effet. L'estimation par ordinateur du contenu en hémoglobine de la muqueuse (index Hb) révèle que celui-ci est significativement élevé au niveau des zones inflammées par rapport à la muqueuse normale.

SUMMARY

Electronic Videoendoscopy operating a monochrome Charge Coupled Device (CCD-chip) enables analysis of the mucosal hemoglobin content by image processing. Light from the endoscope is composed of the three primary colours (red, green and blue). Haemoglobin is the most dominant pigment in the mucosa of the gastrointestinal tract. Haemoglobin absorbs the green light, but reflects most of the red light, so it is therefore possible to estimate the haemoglobin content in the mucosa using the difference in light intensity of the red and green image. The study of fifteen patients with macroscopically normal esophagus and ten patients with macroscopically esophagitis demonstrates the feasibility of the computerised estimation of the mucosal hemoglobin content by means of image processing of the endoscopic image with a special designed software. The computerised estimation of the mucosal hemoglobin content (Hb-index) reveals that the Hb-index is significantly elevated in the areas with inflammation compared to the normal mucosa.

INTRODUCTION

Le vidéoendoscope est supérieur au fibroscope grâce à sa meilleure résolution. La vidéoendoscopie nous fournit la possibilité de procéder à l'analyse des images obtenues grâce à l'endoscope électronique. La muqueuse pathologique a très souvent, subjectivement, une coloration (objectivement, ceci correspond à une différence d'absorption du spectre) différente de la muqueuse normale. L'analyse des couleurs par ordinateur permet une quantification dans une zone muqueuse de coloration hétérogène. La vidéoendoscopie électronique permet l'estimation du contenu en hémoglobine de la muqueuse par analyse d'image [1-6]. La lumière de l'endoscope est composée de trois couleurs primaires (rouge, vert et bleu). Le

CCD chip (Charge Coupled Device) est un détecteur monochromatique. La couleur de l'image endoscopique est obtenue grâce à l'utilisation d'un séparateur de couleurs rotatif (RGB), qui est un filtre avec une fréquence de 20 cycles par seconde.

L'hémoglobine est le pigment dominant de la muqueuse du tube digestif. L'hémoglobine absorbe la lumière verte, mais réfléchit la plus grande partie de la lumière rouge, rendant ainsi possible l'estimation du contenu en hémoglobine de la muqueuse en utilisant la différence d'intensité lumineuse des images rouge et verte.

L'analyse de la circulation dans la muqueuse pourrait contribuer à une meilleure définition du processus pathologique au sein de celle-ci. Par exemple, la

Tirés à part : H. WITT, Dept. of Diagnostic Radiology, Section of Gastrointestinal Radiology and Endoscopy, Karolinska Hospital, S - 171 76 Stockholm, Sweden.

Mots-clés : analyse d'image, contenu en hémoglobine de la muqueuse, œsophagite.

Key-words : computerized image processing, esophagitis, mucosal hemoglobin content.

micro-circulation mucoale est importante dans le développement ou la cicatrisation d'ulcérations [5, 7-9].

Aucune observation n'a été rapportée à ce jour sur la distribution de l'hémoglobine dans la muqueuse de l'œsophage de patients souffrant d'œsophagite.

Le but de cette étude est de présenter une nouvelle méthode de calibration pour l'analyse par ordinateur du contenu en hémoglobine chez des patients avec un œsophage normal et chez des patients souffrant d'œsophagite.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

25 patients soumis à une endoscopie haute du tube digestif ont été inclus dans cette étude. Quinze patients avaient un œsophage macroscopiquement normal, et se répartissaient en 4 femmes et 11 hommes (âge compris entre 28 et 83 ans, moyenne : 57,1 ans). Dix patients présentaient une œsophagite macroscopique, et se répartissaient en 3 femmes et 7 hommes (âge compris entre 55 et 84 ans, moyenne : 72 ans). La classification de Savary-Millers [10] fut utilisée pour évaluer le degré d'œsophagite à l'endoscopie de même que la classification histo-pathologique d'Ismali Beigi [11]. Trois patients avaient une œsophagite de grade II selon la classification de Savary Miller et 7 une œsophagite de grade III. À l'histopathologie, un patient avait une œsophagite de grade I, 5 une œsophagite de grade II et 3 une œsophagite de grade III. Chez un patient, il n'y eut pas de biopsie prélevée. L'examen endoscopique fut réalisé dans des conditions standard avec un système Olympus EVIS 10. Après l'examen de routine du duodénum et de l'estomac, l'extrémité de l'endoscope était placée à la partie distale de l'œsophage. Un petit cathéter blanc gradué en centimètres était passé à travers le canal à biopsies de l'endoscope. Les images étaient obtenues en gardant l'extrémité de l'endoscope le plus près possible de l'axe de l'œsophage.

Comme nous l'avons montré dans un article antérieur [12], la balance des couleurs en illumination change très rapidement avec la distance par rapport à la source lumineuse quand on regarde dans un organe tubulaire et rougeâtre tel que l'œsophage en raison de la diminution du rapport de la lumière directe (blanche) sur la lumière réfléchie (rouge). Ceci constitue la plus grande source d'erreur dans la quantification par ordinateur des zones inflammées. Le rapport entre le rayon de l'organe tubulaire et la distance d'observation ne doit pas varier de plus de 20-30 %, si on ne fait pas de corrections de couleur en raison de l'illumination. Ceci diminuerait sévèrement l'applicabilité de la technique. Une méthode simple pour éviter cette erreur est de normaliser le signal RGB mesuré par rapport à un signal RGB provenant d'un objet connu de couleur blanche (par exemple, le petit cathéter blanc introduit dans le canal à biopsies de l'endoscope). Ceci est réalisé en divisant le signal RGB provenant de la zone étudiée par le signal RGB

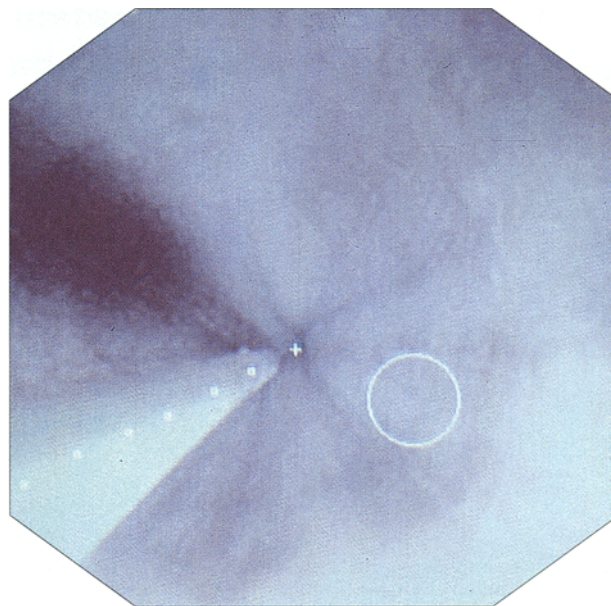


Figure 1

Un patient avec un œsophage macroscopiquement normal. En utilisant la formule : $\text{index Hb} = 32 \times \log V_r/V_g$, l'index Hb fut calculé à 3,37 avec une calibration globale.

A patient with macroscopically normal esophagus. Using the formula $\text{Hb-index} = 32 \times \log V_r/V_g$ the Hb-index was calculated to 3,37 with global calibration.

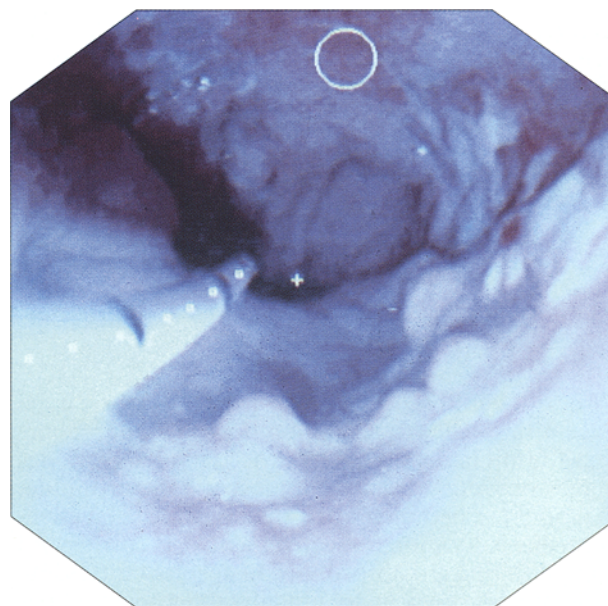


Figure 2

Un patient avec une œsophagite sévère. L'index Hb calibré pour la muqueuse pathologique fut calculé à 19,91.

A patient with severe esophagitis. The calibrated Hb-index from the pathologic mucosa was calculated to 19,91.

provenant d'un point sur l'objet blanc choisi par l'opérateur et à égale distance de la source d'illumination. Ceci peut être fait localement, ce qui demanderait beaucoup de temps, ou globalement, ce qui nécessite d'assumer que l'organe étudié est cylin-

drique (plus ou moins). Ceci présupposé, le programme demande à l'opérateur d'indiquer le centre de symétrie et de distribuer un nombre de points le long du cathéter blanc qui sont utilisés comme points de normalisation. Ainsi le programme peut calculer le facteur de normalisation pour la plus grande partie de l'image (Fig. 1 et 2). Les points proches du centre de symétrie et un certain nombre de points très éloignés sur l'image (très proches des optiques de l'endoscope) doivent être exclus.

Les images sont stockées dans un Fujinon Image Manager (PC ADAM avec un capteur d'images d'une capacité de 24-bit). Les images sont ensuite transférées sur un terminal (HP 900/400). L'analyse d'image est réalisée avec le programme XTEND (Sectra Secure Transmission, Linköping, Sweden). Le contenu en hémoglobine de la muqueuse est calculé en utilisant la formule [1-3]: contenu en hémoglobine = $32 \times \log V_r/V_g$; V_r et V_g étant les intensités des images rouge (red) et verte (green) respectivement, normalisées à l'aide du cathéter blanc.

Comme certains pixels peuvent être très bas en V_g , le résultat peut avoir une dispersion statistique assez large (due à une faible valeur pour le dénominateur). Une méthode pour éviter ce problème est d'utiliser la formule: $Hb = 32 \times \log V_r/(V_g \times V_b)$; où on utilise aussi le signal bleu. Ceci peut être justifié du point de vue spectroscopique et ne change pas les valeurs moyennes de manière significative, mais réduit la dispersion statistique d'environ 40 %. Mais comme la première formule est la plus généralement acceptée, nous l'utiliserons dans la présentation ci-dessous.

La valeur du contenu en hémoglobine obtenu de cette façon sera appelée « calibre ». L'index en hémoglobine dans chaque pixel peut être présenté à l'aide de huit couleurs différentes qui correspondent à différents contenus en hémoglobine. Une région d'intérêt (RI) peut être délimitée sur l'image endoscopique et le calcul du contenu moyen en hémoglobine, des

contenus minimum et maximum et de l'écart-type sera montré. L'estimation par ordinateur du contenu en hémoglobine de la muqueuse est défini au moyen d'un index Hb.

RÉSULTATS

Quinze patients présentant un œsophage macroscopiquement normal et dix patients avec une œsophagite observée à l'endoscopie sont inclus dans cette étude.

Les résultats seront présentés pour trois groupes: le groupe 1 correspond aux mesures effectuées chez les patients avec un œsophage normal à l'endoscope, le groupe 2 aux mesures pour les patients avec une muqueuse macroscopiquement normale et une œsophagite (« normale ») et le groupe 3 aux mesures pour les patients avec une œsophagite. Le résultat pour chaque patient est représenté par la valeur moyenne de deux mesures pour chaque zone examinée. Le nombre de valeurs moyennes par patient varie entre 1 et 4.

Un nombre total de 83 valeurs moyennes non calibrées sont incluses dans l'étude: 42 mesures sur des muqueuses normales, 18 mesures sur des muqueuses « normales » et 23 mesures sur des muqueuses pathologiques. Après calibration globale, six de ces valeurs moyennes (13 %) ont été exclues de l'étude à cause d'une illumination inappropriée du cathéter blanc ou d'artéfacts de l'image. Ainsi donc, après calibration, un nombre de 38 valeurs moyennes pour des muqueuses normales, 17 pour des muqueuses « normales » et 22 pour des muqueuses pathologiques ont été incluses dans cette étude.

Les index Hb non calibrés pour chaque groupe sont indiqués entre parenthèses. L'index Hb calibré pour la muqueuse normale était compris entre 2,82 et

TABLEAU I

VALEURS MOYENNE, MINIMUM, MAXIMUM ET MÉDIANE POUR L'INDEX HB DE LA MUQUEUSE CHEZ DES PATIENTS AVEC UNE MUQUEUSE NORMALE À L'ENDOSCOPIE, UNE MUQUEUSE « NORMALE » ET UNE ŒSOPHAGITE, OU UNE MUQUEUSE PATHOLOGIQUE ET UNE ŒSOPHAGITE

	N	moyenne	minimum	maximum	médiane	p
VALEURS CALIBRÉES						
muqueuse normale	38	8,93	2,82	16,88	8,39	1)
muqueuse « normale »	17	6,73	2,97	12,70	7,38	2)
muqueuse pathologique	22	15,97	5,93	25,40	15,70	3)
VALEURS NON CALIBRÉES						
muqueuse normale	42	13,15	6,82	20,56	13,35	4)
muqueuse « normale »	18	10,29	6,10	15,84	9,69	5)
muqueuse pathologique	23	20,33	14,05	37,51	19,59	6)

Les tests de Mann Whitney et de Wilcoxon ont été utilisés pour comparer les données entre les groupes:

- 1) normal versus « normal » $p < 0,05$
- 2) « normal » versus pathologique $p < 0,0001$
- 3) normal versus pathologique $p < 0,0001$
- 4) normal versus « normal » $p < 0,01$
- 5) « normal » versus pathologique $p < 0,0001$
- 6) normal versus pathologique $p < 0,0001$

16,88 ; moyenne : 8,93 (l'index Hb non calibré était compris entre 6,82 et 20,56 ; moyenne : 13,15). L'index Hb calibré pour la muqueuse « normale » était compris entre 2,97 et 12,70 ; moyenne : 6,73 (l'index Hb non calibré était compris entre 6,10 et 15,84 ; moyenne : 0,29). L'index Hb calibré pour la muqueuse pathologique était compris entre 5,93 et 25,40 ; moyenne : 15,97 (l'index Hb non calibré était compris entre 14,05 et 37,51 ; moyenne : 20,33). Les figures 3 et 4 montrent la distribution des valeurs de l'index Hb calibrées et non calibrées pour les muqueuses normales ou pathologiques.

Le Tableau 1 montre les valeurs de l'index Hb calibrées et non calibrées pour les muqueuses normales, « normales » ou pathologiques. La médiane et les valeurs minimum et maximum sont indiquées. La différence entre la moyenne des trois groupes est statistiquement significative.

Il faut noter qu'on ne peut pas mesurer l'index Hb sur des pseudo-membranes ou sur exsudat et qu'il n'y a pas de corrélation entre l'index Hb calculé et la classification de Savary Miller.

DISCUSSION

Dans cette étude sur l'analyse par ordinateur du contenu muqueux en hémoglobine, il a été possible pour chaque cas d'obtenir des valeurs non calibrées. Pour 6 d'un total de 83 valeurs moyennes non calibrées, la calibration était impossible à cause d'artefacts de l'image ou d'une illumination inappropriée du cathéter blanc. Le cathéter blanc apparaissait rose dans ces cas et si la calibration devait s'effectuer, les valeurs de l'index Hb obtenues dans ces conditions n'auraient pas été correctes. Afin de parvenir à une calibration satisfaisante, on doit garder à l'esprit différents points: l'extrémité de l'endoscope doit être aussi près que possible de l'axe de l'œsophage pendant la prise d'image ; l'opérateur doit choisir avec soin les points de calibration sur le cathéter blanc et éviter le centre de symétrie de l'image endoscopique.

Les valeurs calibrées de l'index Hb pour les muqueuses normales et pathologiques sont montrées sur les figures 3-4. L'index Hb est de manière significative, plus élevé dans les zones inflammées comparées à la muqueuse normale, mais certaines des valeurs se chevauchent. L'index Hb pour la muqueuse « normale » diminue de manière significative par rapport à l'index Hb des muqueuses normales. Ceci est en accord avec les résultats d'autres études sur l'index Hb de l'estomac chez des patients souffrant d'ulcérations gastriques [8, 13-15].

Afin de valider l'analyse par ordinateur des différents contenus muqueux en hémoglobine, des globules rouges ont été resuspendus selon sept concentrations différentes en hémoglobine dans des cuvettes spéciales. La concentration en hémoglobine dans les cuvettes variait entre 4 g/l et 50 g/l. La valeur de l'index Hb calculé grâce à l'analyse d'image par ordinateur fut comparée à la concentration en hémoglobine pour chaque échantillon. L'estimation du contenu en

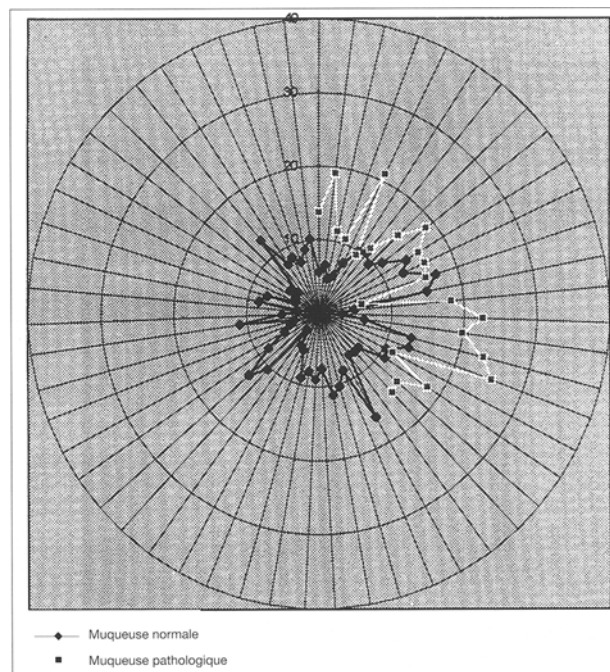


Figure 3

Valeurs de l'index HB calibrées d'une muqueuse normale et d'une muqueuse pathologique.

Calibrated Hb-Index values from normal and pathological mucosa.

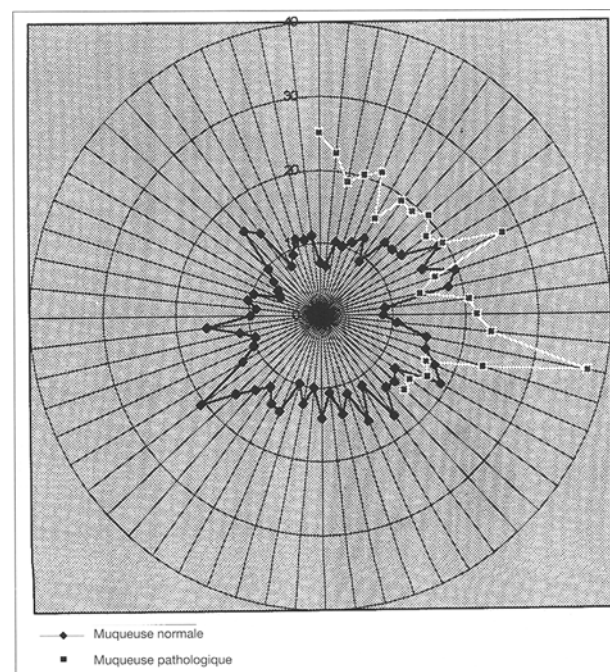


Figure 4

Valeurs de l'index HB non calibrées d'une muqueuse normale et pathologique.

Uncalibrated Hb-Index values from normal and pathological mucosa.

hémoglobine corrélait la concentration en hémoglobine dans la cuvette (nos données non publiées).

L'estimation de la distribution du sang dans la muqueuse gastrique apparaît comme un élément important pour élucider le rôle de la circulation

muqueuse dans la physiopathologie des maladies gastro-intestinales. Le fort taux en hémoglobine sur les bords de l'ulcère semble correspondre à la vascularisation et à la re-épithélialisation en marge de l'ulcère qui nécessitent un apport abondant en oxygène ainsi que d'autres substances [7-9, 13-15]. L'analyse du contenu en hémoglobine de la muqueuse grâce à l'analyse de l'image endoscopique par ordinateur pourrait aussi être utilisée pour d'autres portions du tube digestif, par exemple lors de maladies inflammatoires de l'estomac et du côlon. Les résultats obtenus pour de tels organes pourraient même être meilleurs que ceux obtenus pour l'œsophage où l'on est confronté à différents artéfacts, principalement dus à la motilité et à des contraintes géométriques.

La retouche des images d'endoscopie électronique en augmentant les signaux rouge, vert ou bleu ont démontré une excellente résolution d'image de la micro-circulation et des marges des lésions [16-19].

L'estimation approximative du flux sanguin muqueux à partir de la vitesse des globules rouges mesurée par laser à effet Doppler contient un facteur limitant lié à la motilité. Il est aussi possible que la compression du tissu par la sonde laser Doppler perturbe la micro-circulation, et ceci est un autre inconvénient de cette méthode [20-22]. Nos résultats préliminaires non publiés dans une étude où l'estimation par ordinateur du contenu muqueux en hémoglobine chez des patients avec un œsophage normal à l'endoscopie et chez des patients avec une œsophagite était comparée aux mesures du flux sanguin muqueux obtenues par le Laser Doppler endoscopique, ont montré une bonne corrélation.

Des moyens non invasifs de mesure du flux sanguin de la muqueuse gastrique grâce à la technique

d'élimination du gaz H ou la spectrophotométrie de réflectance ont été décrites dans de nombreuses autres études [7-9, 13-15].

Toutes les méthodes mentionnées ci-dessus (laser Doppler, élimination du gaz H ou spectrophotométrie de réflectance) prennent du temps. L'appréciation en temps réel de l'index Hb de la muqueuse grâce à l'analyse de l'image endoscopique par ordinateur a été décrite à l'origine par Tsuji en 1987. Cette méthode non invasive est assez rapide. L'analyse d'image par ordinateur permet d'analyser la distribution de l'hémoglobine dans la muqueuse pour une zone beaucoup plus vaste qu'avec ces autres méthodes. La comparaison du contenu en hémoglobine déterminé par l'analyse de l'image endoscopique par ordinateur ou par élimination du gaz H ou spectrophotométrie de réflectance a montré une bonne corrélation [2].

CONCLUSION

L'analyse directe du contenu en hémoglobine de la muqueuse chez des patients avec une œsophagite comparée à des patients avec un œsophage macroscopiquement normal grâce à l'analyse de l'image endoscopique par ordinateur est possible, et la méthode peut révéler des contenus différents en hémoglobine dans la muqueuse pour ces deux groupes. Les résultats obtenus avec les mesures calibrées semblent être supérieurs à ceux obtenus sans calibration. La méthode peut être utile pour étudier la micro-circulation muqueuse dans le développement et la cicatrisation de maladies inflammatoires.

RÉFÉRENCES

1. TSUJI S., SATO N., KAWANO S., FIKUDA M., NAGANO K., OGIHARA T. *et al.* — The functional imaging of the mucosal hemodynamics using electronic endoscopy. *Gastroenterological Endoscopy*, 1987, 29, 481-485.
2. TSUJI S., SATO N., KAWANO S., KAMADA T. — Functional imaging for the analysis of the mucosal blood hemoglobin distribution using electronic Endoscopy. *Gastrointestinal Endoscopy*, 1988, 34, 332-336.
3. TSUJI S., SATO N., KAWANO S., KAMADA T. — Prediction of gastric ulcer healing in the view of mucosal hemodynamics using electronic Endoscopy and reflectance Spectrophotometry. *Gastroenterology*, 1988, 94, A466.
4. TSUJI S., KAWANO S., HAYASHI N., TSUJI M., OGIHARA T., KAMADA T. *et al.* — Analysis of mucosal Blood Hemoglobin Distribution in Gastric Ulcers by Computerized Color Display en Electronic Endoscopy. *Endoscopy*, 1991, 23, 321-324.
5. SATO N., TSUJI S., KAWANO S., HAYASHI N., TSUJI M., ISHIGAMI Y. *et al.* — Computer-Assisted two-dimensional Analysis of Gastric Mucosal Hemoglobin Distribution using Electronic Endoscopy. *Endoscopy*, 1992, 24, 522-526.
6. TAKAYA Y., TSUNODA S., ITOH M., OSHIMA H. — Study on analysis of gastric mucosal blood flow by electronic endoscopic image. *Nippon Ika Daigaku Zasshi*, 1994, 61, 295-305.
7. SATO N., KAMADA T., SHICHIRI M., KAWANO S., ABE H., HAGAHARA B. — Measurements of hemoperfusion and oxygen sufficiency in gastric mucosa in vivo. *Gastroenterology*, 1979, 76, 814-819.
8. SATO N., KAMADA T., KAWANO S., FUKUDA M., ABE H. — Microcirculation, mucosal oxygen utilisation and gastric ulcer. In: Koo A, Lam S K, Smaje L H eds. *Microcirculation of the Alimentary Tract*. Singapore: *World Scientific Publ. Co.*, 1983, 303-312.
9. SATO N., KAWANO S., TSUJI S., KAMADA T. — Microvascular Basis of Gastric Mucosal Protection. *J. Clin. Gastroenterology*, 1988, 10, s13-s18.
10. SAVARY M., MILLER G. — The Esophagus — Handbook and Atlas of Endoscopy. Solothurn: *Verlag Gassmann AG*. 1978.
11. ISMAIL-BEIGI F., HORTON P.F., POPE C. E. — Histological consequences of gastroesophageal reflux in man. *Gastroenterology*, 1970, 58, 163-174.
12. MANNEBERG G., WITT H., SLEZAK P. — Quantitative Endoscopic Classification of esophagitis by means of computerised image processing. Part one, theoretical background. *Hepato. Gastroenterology*, 1995, 42, 135-138.

13. KAMADA T., KAWANO S., SATO N., FUKUDA M., FUSAMOTO H., ABE H. — Gastric mucosal blood distribution and its changes in the healing process of gastric ulcer. *Gastroenterology*, 1983, 84, 1541-1546.
14. LEUNG F.W., SLODOWNIK E., JENSEN D.M., VAN DEVENTER G.M., GUTH P.H. — Gastroduodenal mucosal hemodynamics by endoscopic reflectance spectrophotometry. *Gastrointestinal Endoscopy*, 1987, 33, 284-289.
15. KAWANO S., SATO N., TSUJI S., HAYASHI N., TSUJI M., MASUDA E. *et al.* — Two-dimensional Computer Color Graphics of Gastric Mucosal Blood Distribution in Normal Subjects and Ulcer Patients. *Endoscopy*, 1991, 23, 317-320.
16. DOI T., MIYAHARA T., KANAZAWA M., WATANABE K., KAWAGUCHI J., RIKITAKE K. *et al.* — Diagnostic significance of image enhancement for electronic endoscopic pictures — clinical evaluation of image enhancement using the component of RGB. *Gastroenterological Endoscopy*, 1988, 30, 1877-1897.
17. SUZUKI K., KOHLI Y., KATOH T., TADA T., ITOH S. — Study on image processing of electronic endoscopic pictures of the stomach. *Gastroenterological Endoscopy*, 1989, 31, 896-904.
18. YOKOYAMA S. — Real time color enhancement of electronic endoscopic pictures. *Gastroenterological Endoscopy*, 1989, 31, 1450-1458.
19. FUJINO M.A., KAWAIT, MOROZUMI A., YAMAMOTO Y., IKEDA M., SUZUKI H. — Endoscopic image manipulation: State of the ate. *Endoscopy*, 1992, 24 suppl 12, 516-521.
20. SHEPHERD A.P., RIEDEL G.L. — Continuous measurement of intestinal mucosal blood flow by laser Doppler Velocimetry. *Am. J. Physiology*. 1982, 242, G668-672.
21. KVERNEBO K., LUNDE O.C., STRANDEN E., LARSEN S. — Human gastric blood circulation evaluated by endoscopic Laser Doppler flowmetry. *Scand. J. Gastroenterology*, 1986, 21, 685-692.
22. JOHANSSON K. — Regional blood flow and reflux gastritis in the resected stomach. *Endoscopy*, 1994, 26, 745-747.

INTRODUCTION

Videoendoscopy is superior to fiberendoscopy due to the high resolution. Videoendoscopy provides us with a possibility to perform digital processing of the electronic endoscopic image. Pathological mucosa has very often subjectively a color (objectively; difference in absorption spectrum) which is different from that of the normal mucosa. Computerized color analysis enables quantification of a mucosal area with inhomogeneous coloration.

Electronic Videoendoscopy enables analysis of the mucosal hemoglobin content by image processing [1-6]. Light from the endoscope is composed of the three primary colors (red, green and blue). The CCD chip (Charge coupled device) is a monochromatic sensor. The color in the endoscopic image is produced by using a rotating color separation RGB — filter which have a frequency of 20 cycles per second.

Hemoglobin is the most dominant pigment in the mucosa of the gastrointestinal tract. Hemoglobin absorbs the green light but reflects most of the red light. Therefore it is possible to estimate the hemoglobin content in the mucosa using the difference of the light intensity of the red and green image.

The assessment of mucosal circulation might contribute to better definition of a pathological process in the mucosa. E.g. the mucosal microcirculation is important in the development and healing of ulcerations [5, 7-9].

No reports are yet available on the mucosal hemoglobin distribution in esophagus in patients with esophagitis.

The aim of this study is to present a new calibrating method for computer analysis of the mucosal hemoglobin content in patients with macroscopically normal esophagus and in patients with esophagitis.

MATERIAL AND METHODS

25 patients who underwent upper GI-endoscopy at our unit were included in this study.

15 patients had macroscopically normal esophagus, 4 females and 11 males whose age ranged from 28 to 83 years, with a mean age of 57,1 years. Ten patients had macroscopically esophagitis, 3 females and 7 males, age ranging from 55 to 84 years, with a mean age of 72,0 years. Savary-Miller's classification [10] was used for grading esophagitis endoscopically. Histopathologically Ismaili Beigi's [11] classification was used. Three patients had esophagitis grade II according to Savary-Miller's classification and 7 patients esophagitis grade III.

Histopathologically one patient had grade I esophagitis, 5 patients grade II esophagitis and 3 patients grade III esophagitis. In one patient no biopsy was taken.

The endoscopic examination was performed under standard conditions using an Olympus EVIS 10 system. After routine examination of the duodenum and stomach the tip of the endoscope was placed in the distal part of the esophagus. A small white catheter with cm-marks on was passed down the biopsy channel in the endoscope. Images were obtained with the tip of the endoscope kept as close as possible to the axis of the esophagus.

As we have shown in an earlier article [12] illumination color balance changes very rapidly with distance from the light source when looking down a tubular, reddish organ like the esophagus due to the decrease of the ratio of direct (white) light to indirect (red) light. This is the major source of error in computerized quantification of areas with inflammation. The quotient between the radius of the tubular organ and the observation distance must not vary more than some 20-30 %, if no correction for illumination color is done. This would severely restrain the applicability.

A straightforward method to circumvent this error is to normalize the measured RGB-signal with an RGB signal from a known white object (e.g. the small white catheter passed down through the biopsy channel of the endoscope) This is done by dividing the RGB-signal from the region of interest with the RGB-signal from an by operator selected point on the white object at the same distance from the source of illumination.

This could be done locally, which would be very time consuming, or globally which requires us to assume that the organ of interest is cylindrical (more or less). Under such assumptions the program prompts the operator to indicate the center of symmetry and to distribute a number of points along the white catheter which are useful as normalization points. Hence the program can calculate the normalization factor over most of the image. (Fig. 1 and Fig. 2). The points close to the center of symmetry and a number of points very far out in the picture (very close to the endoscope optics) must be excluded.

The endoscopic images are stored in a Fujinon Image Manager (ADAM PC with a 24-bit frame grabber). The images are subsequently transferred to a work station (HP 900/400). The image processing is performed in the program XTEND (Sectra Secure Transmission, Linköping Sweden). The hemoglobin content in the mucosa is calculated using the formula [1-3]:

$$\text{Hemoglobin content} = 32 \text{ Log } V_r / V_g$$

V_r and V_g being the intensity of the red and green image respectively normalized with the white catheter.

As there are pixels which are very low in V_g the result can have a rather large statistical spread (because we have a small value in the denominator).

A method to elude this is to modify the formula to $Hb = 32 \text{ log } V_r / \sqrt{V_g V_b}$

where we also utilize the blue signal. This can be spectroscopically justified and does not change the average values significantly, but reduces the statistical spread with approx. 40%. But as the first formula is the most generally accepted we will use that in the presentation below.

The value of hemoglobin content derived in this way will be termed calibrated henceforth.

The index of hemoglobin content in each pixel can be displayed in eight different colors which correspond

to the different hemoglobin contents. A region of interest (ROI) can be marked out in the endoscopic image and calculation of the mean hemoglobin content, minimum and maximum content and SD will be shown. The computerized estimation of the mucosal hemoglobin content is defined by means of an Hb-index.

RESULTS

Fifteen patients with endoscopically normal esophagus and ten patients with esophagitis endoscopically are included in this study.

The result will be presented in three groups; group one is measurements in patients with endoscopically normal esophagus, group two is measurements on the macroscopically normal mucosa in patients with esophagitis («Normal»), and group three is measurements in patients with esophagitis. The result from each patient is presented as a mean value of two measurements from each examined area. The number of mean values from each patient varied from 1 to 4.

A total number of 83 uncalibrated mean values are included in the study; 42 measurements on normal mucosa, 18 measurements on «normal» mucosa and 23 measurements on pathological mucosa. After the global calibration 6 of the mean values (13%) were excluded from the study because of inappropriate illumination of the white catheter and artefacts in the image. Hence, after calibration a number of 38 mean values on normal mucosa, 17 on «normal» mucosa and 22 mean values on pathological mucosa are included in the study.

The uncalibrated Hb-index values from each group are presented in parenthesis. The calibrated Hb-index from the normal mucosa ranged from 2.82 to 16.88, mean value 8.93. (The uncalibrated Hb-index ranged from 6.82 to 20.56, mean 13.15). The calibrated Hb-

TABLE I

THE MEAN, MINIMUM, MAXIMUM AND MEDIAN VALUES OF THE MUCOSAL HB-INDEX IN ENDOSCOPICALLY NORMAL MUCOSA, IN «NORMAL» MUCOSA IN PATIENTS WITH ESOPHAGITIS AND IN THE PATHOLOGICAL MUCOSA IN PATIENTS WITH ESOPHAGITIS

	N	Mean	Minimum	Maximum	Median	p
CALIBRATED VALUES						
Normal mucosa	38	8.93	2.82	16.88	8.39	1)
«Normal mucosa»	17	6.73	2.97	12.70	7.38	2)
Pathological mucosa	22	15.97	5.93	25.40	15.70	3)
UNCALIBRATED VALUES						
Normal mucosa	42	13.15	6.82	20.56	13.35	4)
«Normal mucosa»	18	10.29	6.10	15.84	9.69	5)
Pathological mucosa	23	20.33	14.05	37.51	19.59	6)

Mann Whitney test and Wilcoxon's test were used for comparisons of data between the groups.

- 1) Normal vs «Normal» $p < 0.05$
- 2) «Normal» vs Pathological $p < 0.0001$
- 3) Normal vs pathological $p < 0.0001$
- 4) Normal vs «Normal» $p < 0.01$
- 5) «Normal» vs pathological $p < 0.0001$
- 6) Normal vs pathological $p < 0.0001$

index from the « normal » mucosa varied from 2.97 to 12.70, with a mean value of 6.73. (uncalibrated Hb-index varied from 6.10 to 15.84 mean value 10.29). The calibrated Hb-index from the pathological mucosa ranged from 5.93 to 25.40, mean value 15.97. (The uncalibrated values ranged from 14.05 to 37.51, with a mean value of 20.33). In fig 3 and fig 4 are shown the distribution of the calibrated and uncalibrated Hb-index values from both the normal and the pathological mucosa.

Table I shows the calibrated and uncalibrated Hb-index values from the « normal » mucosa and the pathological mucosa. The median, minimum and maximum values are shown. The difference between the median of the three groups are statistically significant.

It should be stressed that no measurements of the Hb-index must be done on pseudomembranes or exudate and that no correlation of the calculated Hb-index to the Classification by Savary Miller can be done.

DISCUSSION

In this study of computerized assessment of the mucosal hemoglobin content it was possible in all cases to achieve uncalibrated values. In 6 out of the total 83 uncalibrated mean values no calibration could be made because of artefacts in the image or inappropriate illumination of the white catheter. The white catheter then apparently seemed to be pink and if calibration should be made against this, the Hb-index values obtained by this calibration would be incorrect. To achieve a reliable calibration the following must be kept in mind: The tip of the endoscope as close as possible to the axis of the esophagus during imaging. The operator has to be careful choosing the calibration points on the white catheter and marking out the center of symmetry in the endoscopic image.

The calibrated values of the Hb-index from the normal and the pathological mucosa are shown in Fig. 3 and Fig. 4. The Hb-index is significantly higher in the areas with inflammation compared to the normal mucosa, but some overlap between the values exist.

The Hb-index from the « normal » mucosa is significantly decreased compared to the Hb-index from the normal mucosa. This is in accordance with results in other studies of the Hb-index in the stomach in patients with stomach ulcerations [8, 13-15].

To validate the computerized analysis of the different mucosal hemoglobin content, red blood cells were suspended in seven various hemoglobin concentrations in a special cuvette. The hemoglobin concentration in the cuvette varied from 4 g/L to 50 g/L. The value of the calculated Hb-index by means of computerized image processing was compared to the hemoglobin concentration in each sample. The estimated hemoglobin content correlated with the concentration of hemoglobin in the cuvette. (own unpublished data).

Estimation of the gastric mucosal blood distribution appears to be important for elucidating the role of

mucosal blood flow in the pathophysiology of gastrointestinal diseases. The high hemoglobin content at the ulcer margin seems to correspond to vascularization and reepithelization at the ulcer margin which requires an abundant supply of oxygen as well as other substances [7-9, 13-15]. Analysis of the mucosal hemoglobin content by means of computerized image processing of the endoscopic image could also be used in other part of the Gastrointestinal tract, for instance in the inflammatory diseases of the stomach and the colon. The result from such organs might probably be even better than the results achieved in the esophagus where one is facing several artefacts mainly due to the motility and geometrical constrains.

Remodeling electronic endoscopic images with enhancement of the red, green or blue signals have demonstrated excellent imaging of micro-blood vessels and enhancement of margins of lesions [16-19].

Approximation of the mucosal blood flow from red blood cell velocity as measured by laser Doppler has a limiting factor due to motion artifact. Compression on the tissue by the laser Doppler probe may perturb the mucosal microcirculation – is another drawback of this method [20-22]. Own unpublished preliminary results in a study where the computerized estimation of the mucosal hemoglobin content in patients with endoscopically normal esophagus and patients with esophagitis are compared to the endoscopic laser Doppler measurements of the mucosal blood flow have shown good correlation.

Non-invasive measurements of the gastric mucosal blood flow by means of H- gas clearance technique or reflectance spectrophotometry has been described in many studies [7-9, 13-15].

All above mentioned methods (Laser Doppler, H-gas clearance technique and reflectance spectrophotometry) are time consuming. The real time analysis of the mucosal Hb-index by means of computerized image processing of the endoscopic image has first been described by Tsuji in 1987. This non-invasive method is not time-consuming. The computerized image analysis demonstrates the mucosal hemoglobin distribution in a much wider area than the other mentioned methods. Comparisons of the hemoglobin content determined by computerized image analysis of the endoscopic image to reflectance spectrophotometry or H-gas clearance have shown good correlation [2].

CONCLUSION

The direct analysis of the mucosal hemoglobin content in patients with esophagitis compared to patients with macroscopically normal esophagus by means of computerized image processing of the endoscopic image is feasible, and the method can discriminate different hemoglobin content in the mucosa. The results obtained by the calibrated measurements seem to be superior as compared to the uncalibrated procedure. The method may be useful to study the mucosal microcirculation in the development and the healing processes of the inflammatory diseases.