

高光谱显微成像技术及其在病理学检测中的应用

王诗雨, 刘 腾, 郑智德, 马云腾

东北大学, 辽宁 沈阳

收稿日期: 2022年5月11日; 录用日期: 2022年6月29日; 发布日期: 2022年7月6日

摘 要

在临床实践中, 病理学检测通常需要化学染色等多个繁杂步骤且成本昂贵, 在术中病理检测等应用中存在极大的局限性。利用高光谱显微成像技术, 不仅可对病理组织切片进行无损和快速成像, 还可采集到病理组织切片丰富的光谱信息, 在对高光谱显微图像进一步数据处理后, 可获得关于病理组织切片的生理、生化信息, 进而实现快速、准确的病理诊断。高光谱显微成像技术具有图谱合一的特点, 避免了化学染色法对组织样本的伤害, 不影响标本进行其它检测。本文主要介绍了高光谱显微成像技术及其发展趋势, 其中着重阐述了一种新型的可编程高光谱显微成像技术及其所实现的光学染色功能, 随后重点介绍了高光谱显微成像技术在病理学检测中的应用现状。

关键词

高光谱显微成像技术, 光学染色, 病理学检测

Hyperspectral Microscopic Imaging Technology and Its Application in Pathological Examination

Shiyu Wang, Teng Liu, Zhide Zheng, Yunteng Ma

North-Eastern University, Shenyang Liaoning

Received: May 11th, 2022; accepted: Jun. 29th, 2022; published: Jul. 6th, 2022

Abstract

In clinical practice, pathological examination usually requires many complicated steps, such as

chemical staining, which is expensive and has great limitations in the application of intraoperative pathological examination. By using hyperspectral microscopic imaging technology, not only can pathological tissue sections be imaged nondestructively and quickly, but also rich spectral information of pathological tissue sections can be collected. After further data processing of hyperspectral microscopic images, physiological and biochemical information about pathological tissue sections can be obtained, and then rapid and accurate pathological diagnosis can be realized. Hyperspectral microscopic imaging technology has the characteristics of atlas integration, which avoids the damage of chemical staining to tissue samples and does not affect other detection of samples. This paper mainly introduces the hyperspectral microscopic imaging technology and its development trend, in which a new type of programmable hyperspectral microscopic imaging technology and its optical staining function are emphasized. Then, the application status of hyperspectral microscopic imaging technology in pathological examination is emphatically introduced.

Keywords

Hyperspectral Microscopic Imaging Technology, Optical Staining, Pathological Detection

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

病理检测主要是通过组织活检,即采用钳取、穿刺、局部切除等方式,从患者病变处获取病变组织进行病理诊断的一种方法。通过固定、取材、包埋、切片、染色等一系列方法制作出病理切片,由病理医师通过大体观察组织学和细胞学镜下观察,结合组织化学、免疫组织化学等观察方法,来综合对病变做出病理诊断[1]。病理检查主要是为了明确病变性质,及时做出准确的病理诊断,为临床治疗、评估预后提供重要的理论依据。病理诊断比临床上单纯根据病史、症状和体征做出的分析性诊断,以及利用各种影像做出的诊断,更具有客观性和准确性。

在临床病理检测中常常需要染色来获得病理切片,而传统化学染色方法步骤繁杂且成本十分昂贵,耗时长,其每一个步骤和环节都可能影响最终检测结果。尤其在化学染色中由于固定剂类型不合适[2],染色试剂不适当[3]和切片性能较差等产生的问题均会对检测结果产生巨大影响。另外,在实际临床病理工作中,常遇到经一种染色后不能确诊进而需要进一步标记的情况,然而染色后的样本通常难以重复利用或需褪色后再行染色等复杂操作。高光谱显微成像技术,利用所采集到的病理组织切片丰富的光谱信息并经进一步数据处理后,可获取关于病理组织切片的生理、生化信息,进而实现快速、准确的病理诊断,可有效避免化学染色法对组织样本的伤害。近年来随着高光谱显微成像技术的日趋成熟,其在病理检测中的应用也逐渐成为人们研究的热点。此外,本文还进一步阐述了一种新型的可编程高光谱显微成像技术及其所实现的光学染色功能。与传统化学染色方法对比,光学染色由于没有使用染色剂进行操作,减少了操作过程中造成的图像误差并保留完整标本,而且成像速度上有大幅度提高,进一步提高了高光谱显微成像技术在临床病理检测中的应用范围。

2. 高光谱显微成像技术

高光谱显微技术将高光谱成像和生物显微镜相结合,由于高光谱成像技术光谱分辨率高、光谱波段多、图谱合一,近年来得到了广泛的应用。与传统显微成像相比,它可对生物组织切片同时获取目标的

形态图像信息和光谱信息, 提供更多维度的信息进行病理分析, 辅助医生和医学研究者从另一个角度研究生物切片。

高光谱显微成像系统主要由成像光谱仪、CCD 相机和显微镜三部分组成。它可按照多种不同的分类标准进行分类, 例如工作波段有紫外、红外、可见光等; 测量光谱的类型有反射光谱、荧光光谱、拉曼光谱等; 光谱色散方式有棱镜、光栅等; 采集高光谱数据方式有扫描式和快照式等。本文将按照采集高光谱数据方式分别介绍扫描式、快照式高光谱显微成像技术和一种新型的可编程高光谱显微成像技术。

2.1. 扫描式高光谱显微成像技术

扫描式高光谱显微成像系统按照扫描方式的不同可进一步分别为摆扫式、推扫式和凝视式。表 1 展示了这 3 种成像方式的技术特点。

Table 1. Characteristics of the three imaging modalities

表 1. 三种成像方式特点

	成像方式		
	摆扫式	推扫式	凝视式
扫描方式	纵横两个方向空间扫描	单一方向空间扫描	光谱扫描
光谱色散元件	棱镜、光栅	棱镜、光栅	可调滤光器或 F-P 干涉仪
光谱分辨率	6.0	0.6~3.0	3.0
采集时间	90.0	240.0~300.0	8.0~12.0

摆扫式成像方式来自于遥感获取数据的过程, 当获取事物反射光谱数据时, 需调整光路接收光谱信息, 由于其内部的小镜片扫描的方向垂直于飞行路径, 两个方向上的空间扫描一次只能收集单个像素, 因此这种采集高光谱数据的方式也被称为逐点扫描。结合显微成像, 需要在水平方向上移动样本或者移动扫描位置来变换目标像素点, 如图 1(a)所示, 所以这种系统的硬件上更加复杂, 在采集数据方面消耗时间较长, 且效率比较低, 实用性比较差。

推扫式成像也被称为线性扫描, 空间两个维度信息通过自扫描和平台运动实现, 视场内的光信号依次经过物镜、入射狭缝和准直模块、色散元件, 并成像于 CCD 相机[4]。推扫式和摆扫式一样都需要解决帧同步和图像拼接的问题。考虑到显微成像对外界扰动敏感, 上述两种机械扫描都需要额外的防震设施[5]。与摆扫式不同是推扫式光谱成像一次扫描不是以点为单位, 而是以列为单位采集像素点的空间信息和光谱信息, 如图 1(b)所示, 所以采集的时间效率更高, 图像的光谱分辨率和空间分辨率也会因此有所提升。由于推扫式光谱仪不需要像摆扫式光谱仪一样有外置扫摆装置, 体积较小, 更加适合应用于生物医学领域。综合来看, 无论是从成像质量还是成像效率出发, 推扫式都相对更好一些, 实用性更强。

凝视式成像方式与传统相机类似, 但一次性仅获得目标在单个波段的空间信息, 其采集的高光谱图像的光谱分辨率通常低于其他采集扫描式获取的图像, 常常无法实现高光谱分辨率的目标成像。由于凝视式高光谱仪内部没有复杂的光路结构, 体积较小, 而且各波段的信息并非同一时刻扫描完成, 因此它不适用于探测运动中的事物。凝视式每采集一个波段, 需要二维滤波器如 LCTF 将原光谱滤波成一个窄带光谱然后投射到探测器上, 如图 1(c)所示。从某种意义上说, 这种滤波方式可视为光谱维的推扫。相对于一维推扫式系统, 凝视型滤波速度更快, 避免使用复杂的机械设置[6] [7] [8] [9] [10]。凝视式的独特性在于扫描的是光谱维度, 而成像的是空间维度, 所以当需要对扫描的光谱信息进行后处理时, 选择凝视式更好。

2.2. 快照式高光谱成像方式

快照式高光谱成像方式无需扫描，能够单次直接投射光谱数据到探测器上，如图 1(d)所示，一次性获取目标物体的图像信息和光谱信息。其内部不存在动态调节组件，具有抗干扰、快速成像的能力，因此适用于动态事物，可满足实时监测的需求[11]。一般此类系统依赖高光谱在空间上的冗余性，通过牺牲空间分辨率来增加光谱分辨率。如采用 DMD 来对空间信息进行调制，以复用光谱信息实现高光谱成像。此外，这类系统还需要使用复杂的还原算法对采集到的数据重建，需要消耗较长的计算时间才能获得最终的高光谱显微图像。

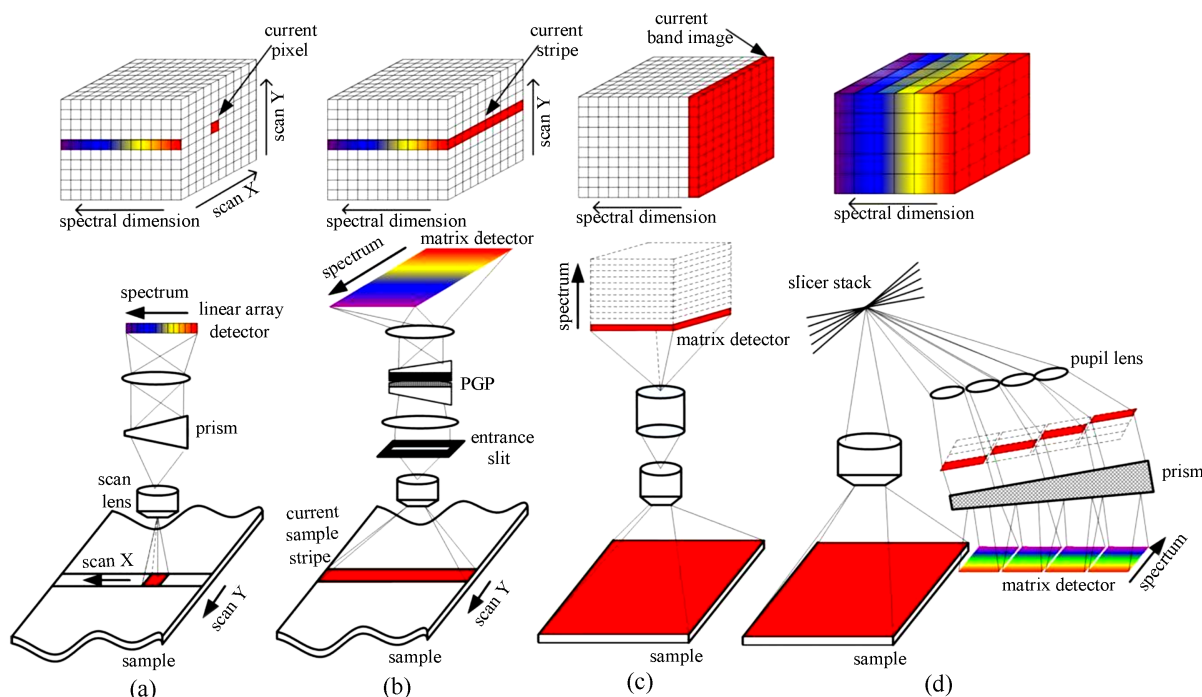


Figure 1. Typical hyperspectral imaging methods [5]: (a) Pendulum sweep type; (b) Push sweep type; (c) Gaze type; (d) Snapshot type

图 1. 典型的几种高光谱成像方式[5]: (a) 摆扫式; (b) 推扫式; (c) 凝视型; (d) 快照型

2.3. 可编程高光谱成像技术及光学染色的实现

2.3.1. 可编程滤光系统

基于 DMD 的可编程滤光片由光栅、空间光调制器与会聚镜三部分构成。空间光调制器采用数字微镜器件 DMD，充分利用其对空间光的灵活快速调制能力。与传统液晶空间光调制器不同的是，其作为编码孔径器件可以充分发挥其高通量、高信噪比和灵活编码的特点[12]。该滤光片中合光衍射光栅用于反转分光衍射光栅的色散过程，两块光栅具有相同的参数。

2.3.2. 可编程高光谱显微成像系统

可编程高光谱显微成像系统与可编程滤光系统相比，添加了照明器件、显微镜以及计算机，如图 2 所示。

一次像面出射的光经过物镜后平行入射到分光衍射光栅将光谱进行色散，色散后的光谱经过会聚镜聚焦到多频带光谱选择器 DMD 平面，并形成色散光谱；DMD 通过内部的每一个小镜片不同角度的反转，自由控制不同波段的光路通过，增强某些波长并抑制其他波长实现按照预先设置的光谱透过率进行光谱

编码调制；调制后出射的色散光谱经过会聚镜平行入射到合光衍射光栅，经过镜头成像到探测器上，获得滤光后的图像。

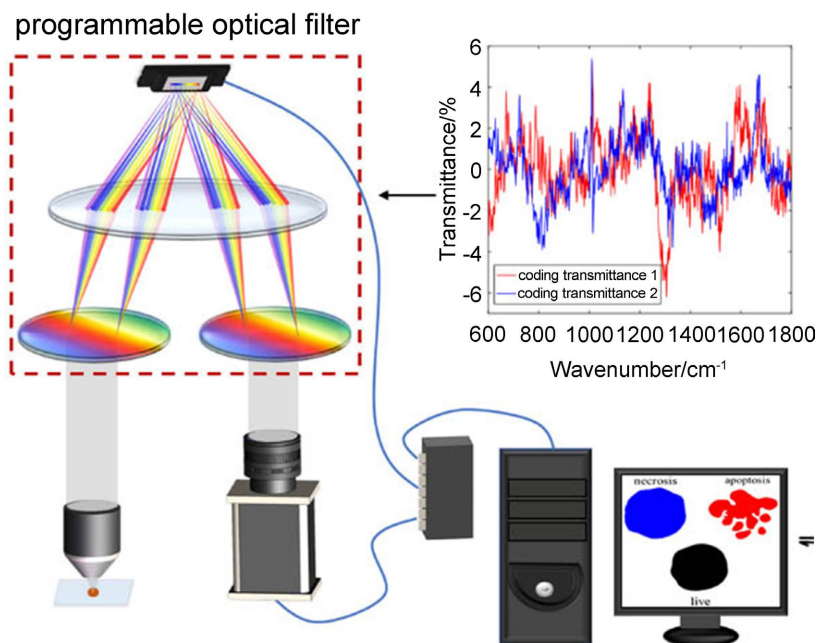


Figure 2. Schematic diagram of a D-D programmable hyperspectral microscopy imaging system based on DMD
图 2. 基于 DMD 的二维可编程高光谱显微成像系统的示意图

2.3.3. 光学染色方法

针对染色方法的研究，国内外大多机构尚且停留在研究传统化学染色方法上，只有极少数刚刚开始对虚拟染色方法的探索。目前加州大学洛杉矶分校 Ozcan 研究团队使用深度学习方法来对无标签组织样本进行虚拟染色[13]，但与原图像吻合率只达到 92%左右。而国内现有采用深度学习对图像进行染色处理的方法，仅仅是停留在对图像的像素数据处理的层面，一般情况下吻合率 85% [14]，只有针对特殊挑选的数据集才能达到 95% [15]。目前这些研究还不能完全取代化学染色方法。本文介绍的可编程高光谱显微成像系统，通过卷积神经网络设计特定的光谱透过率，并利用可编程滤光系统实现该光谱透过率，通过增强目标背景区分度高的波段的透过率并抑制区分度低的波段，进而采集到等效于化学染色后样本的显微图像。

对于可编程高光谱显微成像系统，泛用性强的光谱透过率生成算法是决定最终光谱图像中感兴趣目标分类效果的核心因素。尽管基于 DMD 的可编程滤光片可以投射任意的非负光谱透过率，但只有线性的光谱透过率生成算法能实现单次采集图像代替高光谱数据后处理的最终目标。目前，广泛用于光谱数据处理的主成分分析(PCA)和线性判别分析(LDA)方法已被证明可以直接应用于光谱透过率的生成；此外，线性的卷积神经网络算法也已应用于此可编程滤光系统。

Jiao Lu [16]等基于主成分分析(PCA)和线性判别分析(LDA)相结合，推导了可编程光学滤波片光谱透过率的算法。文章分析了闭塞皮瓣和正常皮瓣的漫反射光谱，通过非负 PCA 方法从漫反射光谱数据中获得前 n 个非负 PCs，通过 LDA 模型压缩到一维得到光谱透过率，理论分类精度达到 98.04%。Fengdi Zhang [17]等人提出了将 CNN 模型编码为光谱透过率的方法，利用数值模拟在 Salinas 等数据集上对该方法进行了评估并与 PCA-LDA 方法对比，分类准确率达到 96.71%，高于同数据集 PCA-LDA 方法 95.58%的准确率，分类效果如图 3 所示。

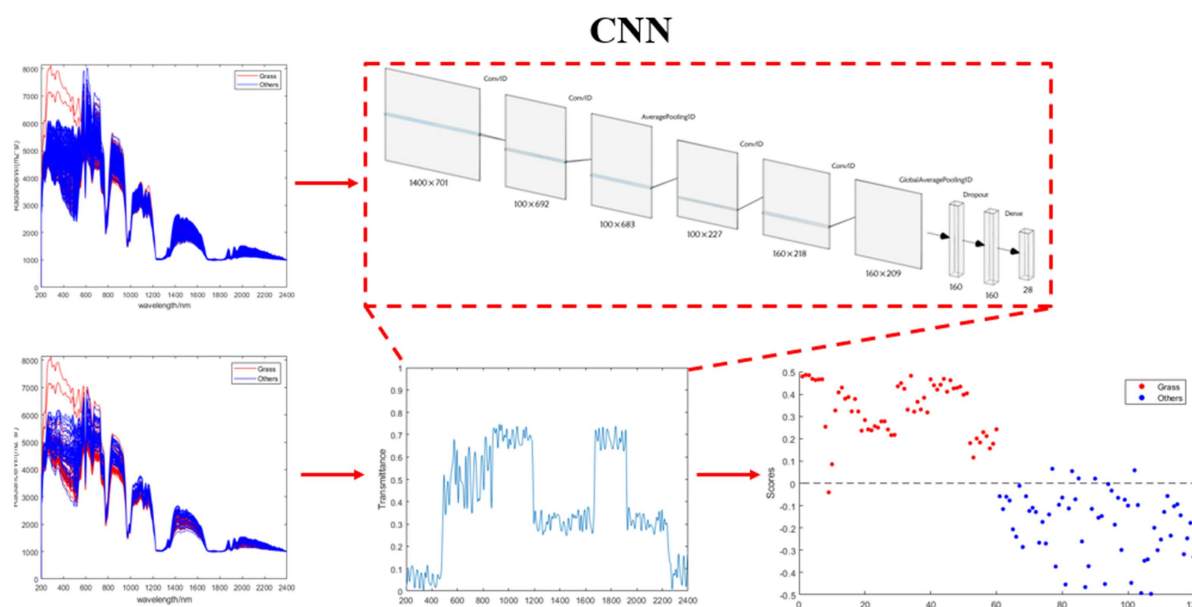


Figure 3. CNN classification effect

图 3. CNN 分类效果

3. 高光谱显微成像技术在病理学检测中的应用

近年来高光谱显微成像在病理学检测中得到了广泛的应用。由于组织细胞的病理变化常常随着内部成分的变化而变化，当入射光作用于病变组织并产生效应时，所探测到的光谱就会与正常组织细胞的光谱有所不同。因此可以实现无损、快速检测病灶的目标。

3.1. 癌细胞识别与探测

高光谱显微成像技术可以帮助快速识别生物组织中癌细胞同时查看癌细胞在体内的分布情况,其依据原理是对组织切片中的正常细胞和癌细胞进行光谱采集,得到光谱和空间数据,并依此建立数学模型,对细胞种类进行鉴别,进而实现对癌细胞分布的可视化并且精准快速检测癌细胞[18]。Akbari [19]等利用高光谱成像技术对前列腺癌进行检测,提取癌组织和正常组织的光谱特征,如图 4 所示,使用最小二乘支持向量机对其进行分类,使高光谱图像分类方法的灵敏性和特异性分别为 $92.8\% \pm 2.0\%$ 和 $96.9\% \pm 1.3\%$ 。Halicek [20]等利用高光谱成像技术获得的光谱信息对头颈部肿瘤进行肿瘤边缘分类,在鳞状细胞癌与正常口腔组织中,其准确性、灵敏性和特异性分别为 81%、84% 和 77%;在甲状腺癌中,其准确性、灵敏性和特异性分别为 90%、91% 和 88%。

3.2. 皮肤疾病的检测与诊断

2006 年, Dicker 等用高光谱显微成像系统对用常规苏木伊红染色的良性和恶性皮肤组织标本进行成像,发现正常皮肤、良性病变和恶性黑色素瘤病变的光谱特征不同,如图 5 所示,同时采用波形交叉相关分析方法对不同光谱进行分类,正确率超过 85% [21]。Greenman 等[22]使用高光谱成像系统研究糖尿病患者以及正常人体前臂和脚的血红蛋白饱和度,发现糖尿病人皮肤的血红蛋白饱和度与正常人相比,略有减少。Khaodhiar 等[23]将高光谱成像用于预测糖尿病足溃疡愈合的临床研究中,HT 指数预测愈合的灵感度、特异性、阳性和阴性预测值分别为 93%、86%、93% 和 86%。在此基础上, Yudovcky 等[24]使用光谱范围为 450~700 nm 的高光谱成像系统来评估糖尿病足溃疡发展的风险和预测其愈合可能性。

Seroul 等[25]结合人体皮肤的整个可见光谱图像对皮肤表皮厚度、黑色素体积分数、血液体积分数、血氧饱和度、胆红素体积分数等五个参数进行了定量测量,并灰度标定这些参数,观察皮肤的各种区域。

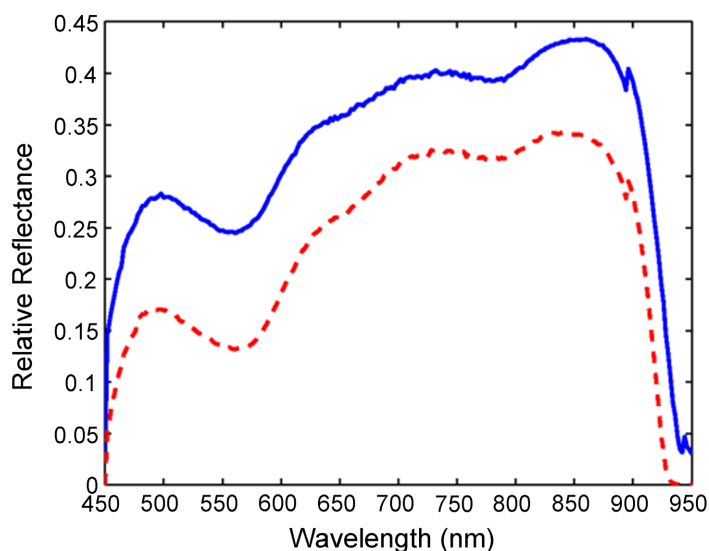


Figure 4. The average value of the spectral characteristics of cancer tissue (dashed line) and normal tissue (solid line) in typical mice [19]

图 4. 典型小鼠中癌症组织(虚线)和正常组织(实线)的光谱特征平均值[19]

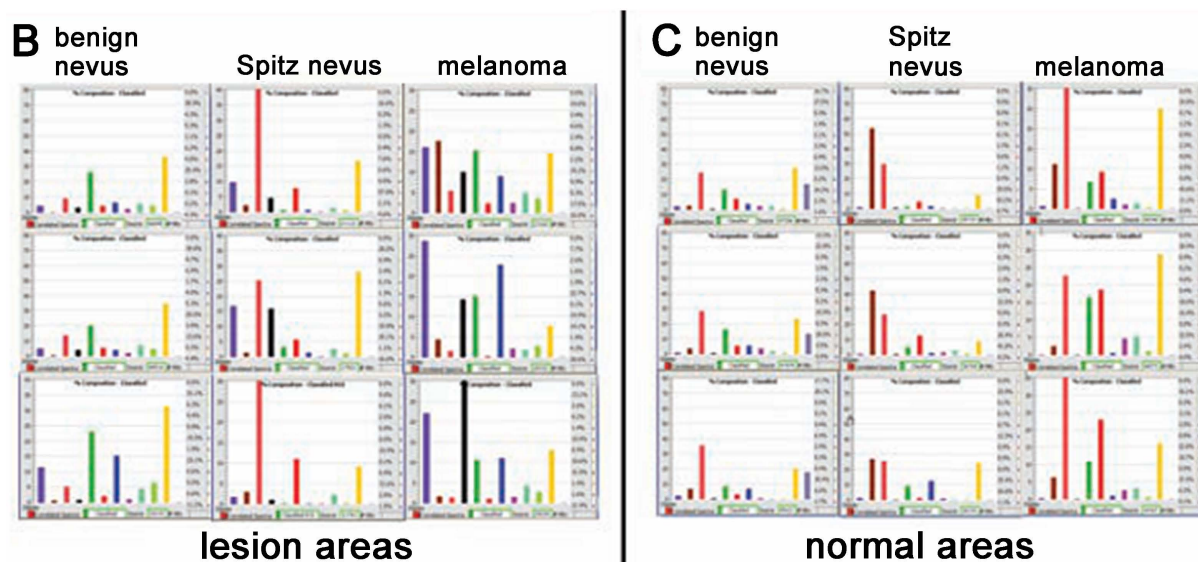


Figure 5. Comparison of spectral characteristics of (left) diseased and (right) normal regions from three different tissues [21]

图 5. 来自三种不同组织的(左)病变区域和(右)正常区域的光谱特征比较[21]

3.3. 体内组织和器官疾病诊断

高光谱显微成像广泛地用于胃、肾以及动脉等体内组织和器官的疾病诊断。Akbari [26]团队采集了手术切除胃组织的高光谱图像,比较正常组织与癌变组织的光谱,发现了癌变组织与正常组织的光谱特征的不同,找到癌变组织的特征光谱,并将此波段数据输入 LS-SVM 进行训练,最终分类灵敏度与特异性达到了 93%和 91%。Siqi Zhu [27]等对高光谱图像中胃组织切片的光谱信息进行分析以找到正常细胞和癌细

胞光谱特征的不同,进行鉴别。Kiyotoki 等[28]应用高光谱成像系统对胃组织进行检测,发现在 600~800 nm 范围内肿瘤粘膜的平均光谱吸收率高于正常粘膜组织,利用肿瘤目标识别算法对光谱信号进行评价和分类,分别获得了 78.8%、92.5%、85.6%的灵敏度、特异性和检测准确率。Goto [29]等对胃组织进行高光谱成像并获取组织的光谱信息用于区分肿瘤与正常粘膜。

4. 结语

本文主要阐述了高光谱显微成像技术及其在病理学检测中的应用,此外还介绍了一种新型的可编程高光谱显微成像技术及其所实现的光学染色功能。目前,受制于化学染色的局限性,难以实现高效的病理学检查,利用高光谱显微成像技术,可对病理组织切片进行无损和快速成像,同时获得光谱信息,在对高光谱显微图像进一步数据处理后,可获取关于病理组织切片的生理、生化信息,进而实现快速、准确的病理诊断。

随着压缩感知技术的发展和微机电系统制造能力的提升,利用 DMD 的光调制特性对目标图像进行频谱编码可以提高高光谱成像系统数据采集效率,减少计算量。然而该方法在应用过程中也存在着不足。一方面,应用 DMD 的卷积方式只能对图像光谱信息进行线性分类且无法实现卷积操作中负的权重值;其次,图像采集的速度受 DMD 微镜偏转速度的限制。因此,高光谱成像未来的研究重点应是寻求在光谱数据分类过程中更有针对性更高效的数据降维方法,来减少分类过程中的计算量并提高算法的泛化能力和可理解性,来提高分类效果。最后,在病理学检测领域的光学染色中利用高光谱显微成像技术结合 CNN 网络以及可编程滤光片对光学信号进行处理较少。今后应建立更加完整的高光谱数据库,进一步探索对各种生物组织的染色工作。

致 谢

感谢东北大学医学与生物信息工程学院陈硕副教授、任月天博士生以及生物医学光学实验室其他成员的指导和帮助。感谢基金资助国家级大学生创新创业训练计划资助项目(2200235)编码为 202210145084。中央高校基本科研业务专项资金资助,项目批准号(N182410001)。

参考文献

- [1] 宋其均. 关于病理检查,您想知道的可能都在这[J]. 医师在线, 2020(10): 5.
- [2] 王玉清. 组织固定的探讨[J]. 辽宁医学院学报, 2007, 28(4): 79-80.
- [3] 周闰湘, 袁章军. 浅析高中生物学教材中有关染色剂的几个问题[J]. 生物学通报, 2008, 43(1): 51-52.
- [4] 李伟, 吕蒙, 陈天虹, 楚照耀, 陶然. 高光谱图像在生物医学中的应用[J]. 中国图象图形学报, 2021, 26(8): 1764-1785.
- [5] 苏康. 基于高光谱显微成像的细胞检测研究与应用[D]: [硕士学位论文]. 广州: 暨南大学, 2017.
- [6] Schultz, R., Nielsen, T., Zavaleta, J., Ruch, R., Wyatt, R. and Garner, H.R. (2001) Hyperspectral Imaging: A Novel Approach for Microscopic Analysis. *Cytometry*, **43**, 239-247. [https://doi.org/10.1002/1097-0320\(20010401\)43:4<239::AID-CYTO1056>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1097-0320(20010401)43:4<239::AID-CYTO1056>3.0.CO;2-Z)
- [7] Roblyer, D., Kurachi, C., Gillenwater, A. and Richards-Kortum, R. (2009) *In Vivo* Fluorescence Hyperspectral Imaging of Oral Neoplasia. *Proceedings of SPIE*, **7169**, Article ID: 71690J. <https://doi.org/10.1117/12.807226>
- [8] Studer, V., Bobin, J., Chahid, M., Mousavi, H.S., Candes, E. and Dahan, M. (2012) Compressive Fluorescence Microscopy for Biological and Hyperspectral Imaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109**, E1679-E1687. <https://doi.org/10.1073/pnas.1119511109>
- [9] Pegoraro, A., Slepko, A., Ridsdale, A., Moffatt, D.J. and Stolow, A. (2014) Hyperspectral Multimodal CARS Microscopy in the Fingerprint region. *Journal of Biophotonics*, **7**, 49-58. <https://doi.org/10.1002/jbio.201200171>
- [10] Gao, L., Kester, R.T., Hagen, N. and Tkaczyk, T.S. (2010) Snapshot Image Mapping Spectrometer (IMS) with High Sampling Density for Hyperspectral Microscopy. *Optics Express*, **18**, 14330-14344.

- <https://doi.org/10.1364/OE.18.014330>
- [11] Cui, Q., Park, J., Smith, R.T. and Gao, L. (2020) Snapshot Hyperspectral Light Field Imaging Using Image Mapping Spectrometry. *Optics Letters*, **45**, 772-775. <https://doi.org/10.1364/OL.382088>
- [12] 王月旗. 基于DMD的编码孔径光谱成像光学系统设计[D]: [硕士学位论文]. 长春: 长春理工大学, 2020. <https://doi.org/10.26977/d.cnki.gccgc.2020.000101>
- [13] Rivenson, Y., Wang, H., Wei, Z., de Haan, K., Zhang, Y., Wu, Y., Günaydin, H., *et al.* (2019) Virtual Histological Staining of Unlabelled Tissue-Autofluorescence Images via Deep Learning. *Nature Biomedical Engineering*, **3**, 466-477. <https://doi.org/10.1038/s41551-019-0362-y>
- [14] 李京蓓. 基于深度学习的图像着色技术研究[D]: [硕士学位论文]. 长沙: 国防科技大学, 2019. <https://doi.org/10.27052/d.cnki.gzjgu.2019.000470>
- [15] 贾曦. 基于深度学习的HEp-2细胞荧光染色图像分析[D]: [硕士学位论文]. 深圳: 深圳大学, 2019.
- [16] Lu, J., Ren, Y., Xu, W., Cui, X., Xie, L., Chen, S., Guo, J. and Yao, Y. (2019) A Programmable Optical Filter with Arbitrary Transmittance for Fast Spectroscopic Imaging and Spectral Data Post-Processing. *IEEE Access*, **7**, 119294-119308. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2019.2937095>
- [17] Zhang, F., Zhang, Z., Wei, L., Xu, W., Cui, X. and Chen, S. (2020) Coding Convolutional Neural Networks as Spectral Transmittance for Intelligent Hyperspectral Remote Sensing in a Snapshot. *IEEE Geoscience and Remote Sensing Letters*, **18**, 1635-1639. <https://doi.org/10.1109/LGRS.2020.3005982>
- [18] 陈瑶. 基于高光谱显微系统的癌细胞鉴别[D]: [硕士学位论文]. 广州: 暨南大学, 2020. <https://doi.org/10.27167/d.cnki.gjnu.2020.001050>
- [19] Akbari, H., Halig, L., Schuster, D.M., Fei, B., Osunkoya, A., Master, V., *et al.* (2012) Hyperspectral Imaging and Quantitative Analysis for Prostate Cancer Detection. *Journal of Biomedical Optics*, **17**, Article ID: 076005. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.7.076005>
- [20] Halicek, M., Little, J.V., Wang, X., Patel, M., Griffith, C.C., Chen, A.Y., *et al.* (2018) Tumor Margin Classification of Head and Neck Cancer Using Hyperspectral Imaging and Convolutional Neural Networks. *Medical Imaging 2018: Image-Guided Procedures, Robotic Interventions, and Modeling*, Houston, 12-15 February 2018, Article ID: 1057605. <https://doi.org/10.1117/12.2293167>
- [21] Dicker, D.T., Lrner, J., Van Belle, P., Guerry, D., Herlyn, M., Elder, D.E. and El-Deiry, W.S. (2006) Differentiation of Normal Skin and Melanoma Using High Resolution Hyperspectral Imaging. *Cancer Biology & Therapy*, **5**, 1033-1038.
- [22] Rlpanasyuk, G. (2005) Early Changes in the Skin Microcirculation and Muscle Metabolism of the Diabetic Foot. *Digest of the World Core Medical Journals*, **366**, 1711-1717. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67696-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67696-9)
- [23] Khaodhiar, L., Dinh, T., Schomacker, K.T., Panasyuk, S.V., Freeman, J.E., Lew, R., *et al.* (2007) The Use of Medical Hyperspectral Technology to Evaluate Microcirculatory Chaves in Diabetic Foot Ulcers and to Predict Clinical Outcomes. *Diabetes Care*, **30** 903-910. <https://doi.org/10.2337/dc06-2209>
- [24] Dmitry, Y., Aksone, N. and Laurent, P. (2010) Hyperspectral Imaging in Diabetic Foot Wound Care. *Journal of Diabetes Science and Technology*, **4**, 1099-1113. <https://doi.org/10.1177/193229681000400508>
- [25] Seroul, P., Hbert, M. and Jomier, M. (2014) Hyperspectral Imaging System for *in-Vivo* Quantication of Skin Pigments. *IFSCC*, Paris, 27-30 October 2014, 123-132.
- [26] Akbari, H. and Kosugi, Y. (2011) Cancer Detection Using Infrared Hyperspectral Imaging. *Cancer Science*, **102**, 852-857. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2011.01849.x>
- [27] Zhu, S., Su, K., Liu, Y., Yin, H., Li, Z., Huang, F., *et al.* (2015) Identification of Cancerous Gastric Cells Based on Common Features Extracted from Hyperspectral Microscopic Images. *Biomedical Optics Express*, **6**, 1135-1145. <https://doi.org/10.1364/BOE.6.001135>
- [28] Kiyotoki, S., Nishikawa, J., Okamoto, T., Hamabe, K., Saito, M., Goto, A., *et al.* (2013) New Method for Detection of Gastric Cancer by Hyperspectral Imaging: A Pilot Study. *Journal of Biomedical Optics*, **18**, Article ID: 026010. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.2.026010>
- [29] Goto, A., Nishikawa, J., Kiyotoki, S., Nakamura, M., Nishimura, J., Okamoto, T., *et al.* (2015) Use of Hyperspectral Imaging Technology to Develop a Diagnostic Support System for Gastric Cancer. *Journal of biomedical optics*, **20**, Article ID: 016017. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.1.016017>