

6. ЗАСТОСУВАННЯ ЛАЗЕРІВ В ДІАГНОСТИЦІ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ

6.1. Особливості лазерних технологій діагностики біологічних об'єктів на основі поляриметричного та матричного підходів

Поява лазерів дозволила значно підвищити точність систем біомедицинської діагностики та спростити процес вимірювань. Лазерним джерелам властиві гостра направленість випромінювання, висока монохроматичність та спектральна густина енергії, вони здатні генерувати імпульси малої тривалості (до 10^{-14} с) та керувати поляризацією випромінювання. Це стимулювало розвиток нових методик виявлення та ідентифікації біооб'єктів, вивчення їх будови, а також дослідження природи процесів, які в них відбуваються.

Використання поляризованого лазерного світла як окремого механізму для визначення оптико-анізотропних властивостей біологічних об'єктів сьогодні дозволяє створювати нові методи та системи медичної діагностики складних об'єктів з координатно розподіленими параметрами, до яких відносяться всі типи біологічних структур.

Серед переваг поляризаційних лазерних методів відзначається широкий робочий діапазон довжин хвиль, висока чутливість і точність, обумовлені незалежністю від флуктуацій інтенсивності зондувального лазерного випромінювання [1]. Крім того, вимірювання та дослідження поляризаційних характеристик полів розсіяного біологічними об'єктами лазерного випромінювання та дослідження характеристик оптично анізотропних середовищ, до яких належать біологічні тканини (БТ) та біологічні рідини (БР), дозволяють підвищити інформативність методів лазерної медичної діагностики.

Сучасні лазерні технології діагностики біологічних об'єктів характеризуються застосуванням поляриметричного та матричного підходів. Група методів, заснована на вимірюванні азимутів та еліптичностей поляризації розсіяного лазерного випромінювання та оперуванні поняттями «матриця когерентності» і «ступень поляризації», носить назву поляриметричних і характеризують кореляційну подібність ортогональних компонент електромагнітних коливань у одній точці поля розсіяного випромінювання [2]. Вимірювання вектора Стокса лазерного випромінювання, розсіяного на БТ, і визначення відповідних елементів матриці Мюллера об'єкту надають можливість отримати найповнішу (статистично усереднену для всіх неоднорідностей біологічного об'єкта) інформацію про поляризаційні властивості останнього в межах матричного підходу [2–4].

Єдина модель описання властивостей біологічних шарів (БШ) як «заморожених» оптично одноосних рідких кристалів, запропонована S.C. Cowin [5], дозволяє будь-який біологічний об'єкт тваринного походження розглядати як аморфно-кристалічну структуру [6, 7]. Жири, неструктуровані білки БТ характеризують аморфну складову БТ і не змінюють поляризацію лазерного випромінювання, розсіяного біологічним об'єктом, зменшуючи лише його амплітуду (інтенсивність) за рахунок поглинання. Кристалічну складову БТ утворюють ниткоподібні двопротенезаломлюючі протеїнових фібрили колагенових білків, еластину, фібрину, міозину БТ, які шляхом фазової модуляції змінюють азимут і еліптичність розсіяного лазерного випромінювання.

В роботах [2, 4, 8] було показано, що сукупність елементів матриці Мюллера БТ характеризує дві основних групи механізмів перетворення стану поляризації сукупністю двопротенезаломлюючих фібрил БТ: «механізми орієнтацій», пов'язані із різними напрямками укладання фібрил архітектонічної сітки; «фазові механізми», що визначаються анізотропією речовини оптично одноосних фібрил.

Отже, запропонована двокомпонентна модель БШ зводить інформацію про оптично тонкий шар БТ (БР) до аналізу лише двох складових: орієнтації оптичної осі фібрили $\rho(x, y)$ та величини $\delta(x, y)$ фазового зсуву в кожній точці (x, y) поляризаційного зображення біологічного шару.

Застосування матричних фотодетекторів та сучасних засобів оброблення зображень в системах лазерної поляриметрії дозволило сформувати такий її перспективний напрямок як зображувальна лазерна поляриметрична діагностика [9–11]. Основною перевагою зазначеного напрямку є можливість дослідження ділянок БШ з більшими площами у порівнянні із методами локальної лазерної поляриметрії БШ, в якій застосовуються окремі фотодіоди.

Одна із класифікацій методів зображувальної лазерної поляриметричної діагностики БТ наведена на рисунку 6.1. Так, на основі поляриметричного підходу сформована група методів вимірювання параметрів поля лазерного випромінювання, перетвореного біологічним шаром (азимут та еліптичність поляризації, фазовий зсув між перпендикулярними складовими амплітуди поляризованого пучка, що пройшов крізь зріз БТ, параметри вектора Стокса об'єктного поля). На основі матричного підходу сформована група методів вимірювання параметрів оптичної анізотропії БШ у вигляді їх орієнтаційно-фазових параметрів, відтворених на основі елементів матриці Мюллера або за результатами прямих методів вимірювань.

Приклади досягнень поляризаційної діагностики оптично тонких БШ (оптична густина $(\tau \leq 0,1)$) можна демонструвати, починаючи з ранньої діагностики катаракти кришталика [12], дослідженні бактеріальних [13, 14] та червоних кров'яних тілець [16], моніторингу стану міокарда при лікувальній

терапії [8], продовжуючи успішними методиками диференціації нормальних і патологічних шарів поверхневих тканин при пухлинних процесах [2, 3, 16–19], ранніми методиками виявлення ракових уражень шкіри [20], знаходження взаємозв'язків між тиском здуття та анізотропією в сечовому міхурі [21], виявлення печінкового фіброзу та цирозу [22] та застосуванні в інших біомедичних програмах.

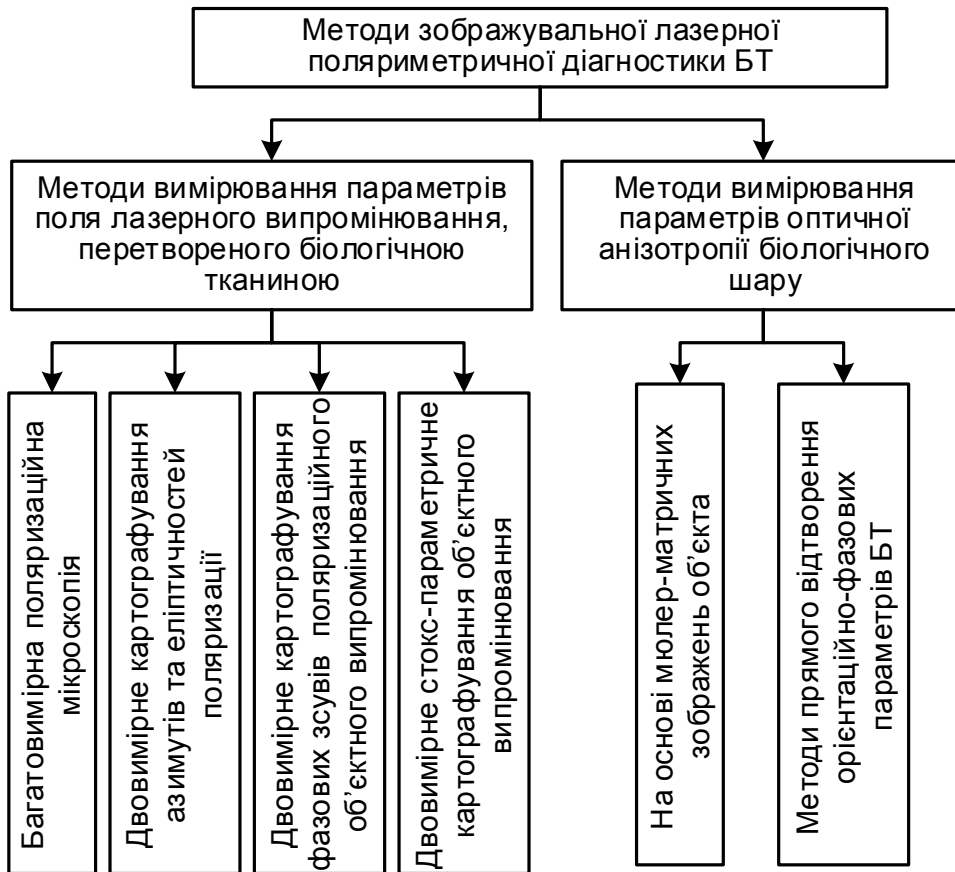


Рисунок 6.1 – Узагальнена класифікація методів зображувальної лазерної поляриметричної діагностики БТ

Серед перспективних розробок зображувальної лазерної поляриметричної діагностики відзначимо методи та системи прямого відтворення координатних розподілів орієнтаційних та фазових параметрів анізотропії біологічних шарів (БШ), поданих у вигляді зображень [23, 24].

Так, зокрема, оцінка достовірності диференціації структури БТ типу «норма» – «патологія» в таких зображувальних системах за методами прямого відтворення та аналізу фазових та орієнтаційних параметрів анізотропії БШ склала відповідно 89,5 % та 83,7 % на довжині хвилі 0,632 мкм [23, 24].

Обмеження отриманого рівня достовірності в таких системах пов'язане із недостатньою інформаційною повнотою вимірювань, яка обумовлена, зокрема, вимірюваннями та аналізом параметрів анізотропії БТ лише на одній довжині хвилі.

В той же час, відомі зображальні поляриметричні системи, описані в роботах [25, 26], забезпечують можливість вимірювань параметрів анізотропії на основі мюллер-матричних зображень БТ на двох довжинах хвиль 0,632 мкм та 0,487 мкм (або 0,405 мкм). Разом з тим, застосування в таких системах опосередкованого методу вимірювання параметрів мікроструктурної анізотропії БШ при відсутності їх комплексного аналізу та відсутності формування моделей підтримки прийняття рішень (ППР) є стримуючими факторами для отримання максимально високого рівня достовірності діагностики.

В той же час, інтерпретація лікарем-діагностом зображень орієнтаційно-фазових параметрів БТ та їх інформативних параметрів в процесі діагностування вимагає багато зусиль та часу при постановці діагнозу, негативно впливаючи на достовірність поставленого діагнозу.

Отже, розроблення системи підтримки прийняття рішення для діагностики БТ на основі аналізу їх орієнтаційно-фазових зображень дозволить підвищити достовірність та оперативність оцінювання патологічних станів.

Таким чином, розширення інформаційної повноти вимірювань системою прямого відтворення орієнтаційних та фазових параметрів анізотропії БШ шляхом проведення вимірювання на двох довжинах хвиль із наступним комплексним інтелектуалізованим аналізом отриманих розподілів з формуванням ППР є основними чинниками подальшого підвищення достовірності діагностики гістологічних зрізів БТ в системах зображувальної поляриметрії.

Спочатку розглянемо варіант підвищення достовірності діагностики молочних залоз за рахунок вимірювань азимутів та еліптичностей поляризації зображень плівок плазми крові, проведених на двох довжинах хвиль, в автоматизованій системі поляризаційної діагностики плівок плазми крові.

6.2. Метод та система двохвильової лазерної поляриметрії плівок плазми крові при оцінюванні патологічних станів молочних залоз

Зазначений напрямок розвинуто в способі ранньої діагностики і диференціації стадії раку молочних залоз (МЗ) [27], який займає 20 % в структурі захворюваності жінок злоякісними пухлинами в більшості розвинених країн світу. Діагностування здійснюється шляхом виявлення патологічних змін на лазерних зображеннях гістологічних зрізів МЗ та статистичного аналізу змін спектрів потужності поляризаційних розподілів їх зображень. Проте високий травматизм способу не дозволяє його ефективно застосовувати на ранніх стадіях захворювання та для моніторингу ефективності діагностування.

В той же час, враховуючи більшу доступність та меншу травматичність при одержанні зразків біологічних рідин людини для лабораторних досліджень у порівнянні з гістологічними зрізами біологічних тканин, а також

двопроменезаломлюючу властивість біологічних рідин, створюється можливість розроблення систем лазерної поляриметрії біологічних рідин для діагностування патологій різних типів біологічних тканин та органів людини.

Відомо, що зміна біохімічної структури плазми крові внаслідок виникнення відхилень від нормального фізіологічного стану людини супроводжується зміною концентрації амінокислот альбуміну і глобуліну у плазмі крові. Це обумовлює відповідні зміни поляризаційних характеристик плівок плазми крові при патологічних захворюваннях людини.

Рисунок 6.2 ілюструє серію мікроскопічних поляризаційних зображень оптико анізотропної полікристалічної мережі зразків плівок плазми крові пацієнтів всіх груп: група 1 (стан МЗ – «норма»); група 2 (стан МЗ – «мастопатія»); група 3 (стан МЗ – «рак»).

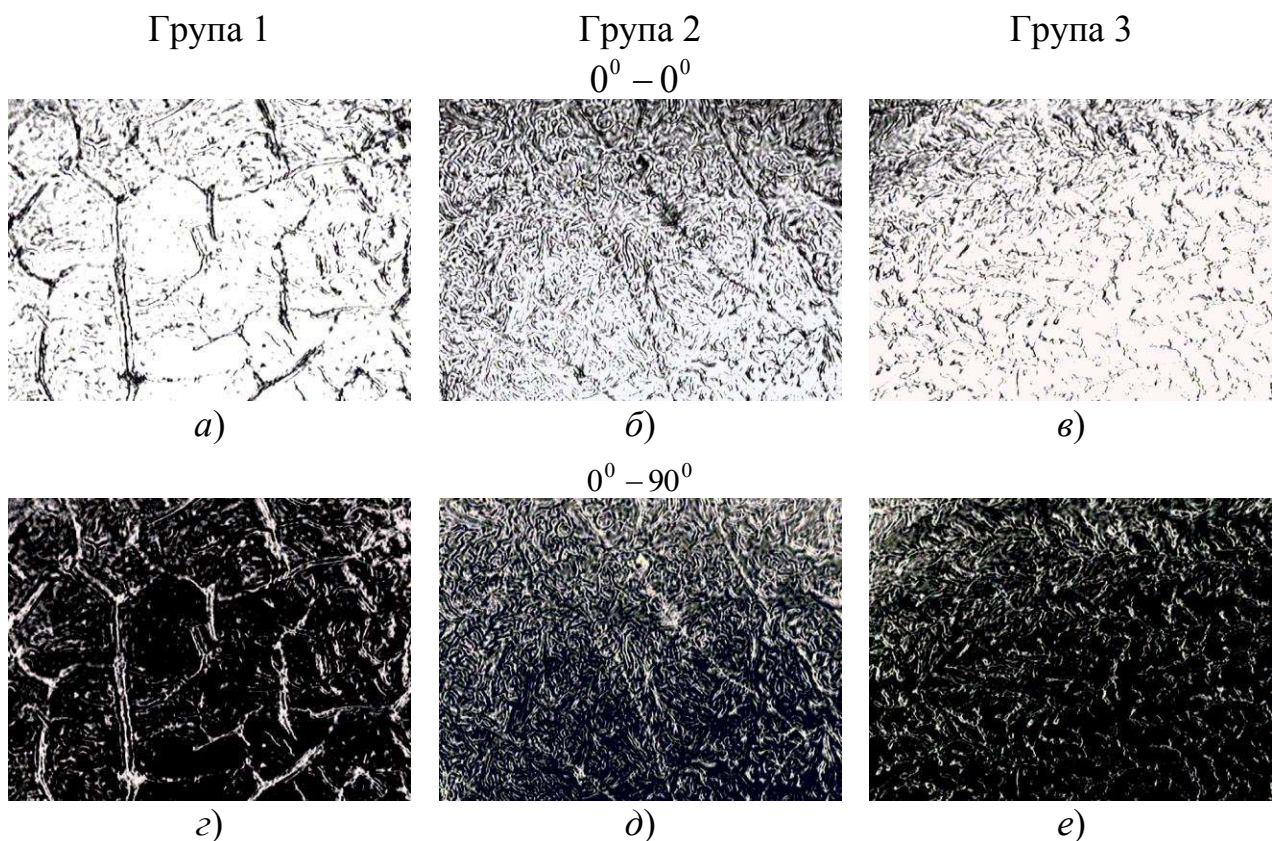


Рисунок 6.2 – Класичні ($0^0 - 0^0$) і поляризаційно – візуалізовані ($0^0 - 90^0$) лазерні зображення полікристалічних мереж білків плівок плазми крові трьох груп: група 1– норма (фрагменти (а), (з)); група 2 – мастопатія (фрагменти (б), (д)); група 3 – рак молочної залози (фрагменти (в), (е))

В основу моделювання оптичних властивостей плазми крові покладено положення про анізотропію протеїнових мереж біологічних тканин [3]:

– плівка плазми крові людини розглядається у вигляді двокомпонентної аморфно-кристалічної структури;

– кристалічна компонента сформована сукупністю (мережею) кристалів

альбуміну і глобуліну;

– оптично рідкі кристали амінокислот володіють властивостями оптично одноосних двоприменезаломлюючих кристалів, які характеризуються матричним оператором Мюллера наступного вигляду

$$\{Z\}_j = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & z_{22} & z_{23} & z_{24} \\ 0 & z_{32} & z_{33} & z_{34} \\ 0 & z_{42} & z_{43} & z_{44} \end{pmatrix}, \quad (6.1)$$

де

$$z_{ik}(\rho, \delta) = \begin{cases} z_{22} = \cos^2 2\rho + \sin^2 2\rho \cos \delta; \\ z_{23;32} = \cos 2\rho \sin 2\rho (1 - \cos \delta); \\ z_{33} = \sin^2 2\rho + \cos^2 2\rho \cos \delta; \\ z_{34;43} = \pm \cos 2\rho \sin \delta; \\ z_{24;42} = \pm \sin 2\rho \sin \delta; \\ z_{44} = \cos \delta. \end{cases} \quad (6.2)$$

Тут ρ – напрямок оптичної осі кристалу амінокислоти; $\delta = 2\pi/\lambda \Delta n d$ – фазовий зсув, який вноситься між ортогональними складовими амплітуди лазерної хвилі довжиною λ , що проходить крізь білок з поперечним геометричним розміром d та показником двоприменезаломлення Δn .

Класичне визначення матриці Мюллера $\{Z\}$ полягає в тому, що такий математичний оператор вичерпно повно характеризує процеси трансформації вектора Стокса оптико – анізотропними біологічними шарами [2, 3, 28]

$$S^* = \{Z\}S_0, \quad (6.3)$$

де S_0, S^* – вектора Стокса опромінюючого і об'єктного пучків.

З урахуванням (6.3) можна записати вектор Стокса S^* у розгорнутому вигляді

$$S^* = \begin{pmatrix} 1 \\ S_2 \\ S_3 \\ S_4 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 \\ z_{22}S_2^0 + z_{23}S_3^0 + z_{24}S_4^0 \\ z_{32}S_2^0 + z_{33}S_3^0 + z_{34}S_4^0 \\ z_{42}S_2^0 + z_{43}S_3^0 + z_{44}S_4^0 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 \\ \cos 2\alpha \cos 2\beta \\ \sin 2\alpha \cos 2\beta \\ \sin 2\beta \end{pmatrix}, \quad (6.4)$$

де α – азимут поляризації об’єктної лазерної хвилі;
 β – еліптичність поляризації об’єктної лазерної хвилі.

На основі (6.4) одержимо вирази для визначення азимута α і еліптичності β поляризації об’єктної лазерної хвилі

$$\alpha = 0,5 \operatorname{arctg} \left(\frac{S_3}{S_2} \right) \equiv u[z_{ik}(\rho, \delta)]; \quad (6.5)$$

$$\beta = 0,5 \operatorname{arcsin}(S_4) \equiv p[z_{ik}(\rho, \delta)]. \quad (6.6)$$

Чотири параметри $S_1 - S_4$ вектора Стокса обраховують за співвідношеннями

$$\begin{aligned} S_1 &= I_0 + I_{90}, \\ S_2 &= I_0 - I_{90}, \\ S_3 &= I_{45} - I_{135}, \\ S_4 &= I_{\otimes} - I_{\oplus}, \end{aligned} \quad (6.7)$$

де S_1 – повна інтенсивність випромінювання,

S_2 – різниця інтенсивностей складових лінійної поляризації з азимутом 0° аналізатора I_0 та з азимутом 90° аналізатора I_{90} ;

S_3 – різниця інтенсивностей складових лінійної поляризації з азимутом 45° аналізатора I_{45} та з азимутом 135° аналізатора I_{135} ;

S_4 – різниця інтенсивностей випромінювання з правою I_{\otimes} циркуляційною поляризацією та лівою I_{\oplus} циркулярною поляризацією.

З аналізу співвідношень (6.5) і (6.6) випливає, що стан поляризації (α, β) перетвореного лазерного випромінювання визначається відповідними локальними орієнтаційно-фазовими (ρ, δ) параметрами полікристалічної сітки білків півки плазми крові.

Іншими словами, за умови координатної неоднорідності розподілів $\rho(X, Y)$ і $\delta(X, Y)$ в площині шару плазми крові людини, формується відповідне поляризаційно-неоднорідне зображення з розподілами $\alpha(X, Y)$ і $\beta(X, Y)$.

Останні, за умов одноразового розсіяння є поляризаційними «відбитками» орієнтаційно – фазової структури полікристалічної сітки біологічних кристалів білків півки плазми крові.

В результаті проведеного об’єктивного аналізу координатних розподілів азимутів та еліптичностей поляризації лазерних зображень зразків плазми крові експериментально виявлено діапазони зміни значень їх статистичних моментів,

кореляційної площі, дисперсії і кореляційного моменту при різних патологічних процесах МЗ [28].

Диференціація патологій МЗ на основі визначених інформативних параметрів фазових параметрів лазерних поляризаційних зображень плівок плазми крові, наведена в роботі [29], проводилась експертами без автоматизації процесу прийняття рішення, що зменшувало достовірність висунутих гіпотез про стан МЗ.

Тому подальше підвищення достовірності діагностування патологій МЗ до 90–95 % за допомогою лазерного поляризаційного картографування азимутів та еліптичностей зображень плівок плазми крові було здійснено шляхом проведення автоматизованої підтримки прийняття рішень (ППР) на основі нейромережевого підходу [30]. Перспективи застосування нейромережевого аналізу отриманих інформативних параметрів обумовлюють можливість окрім достовірної ідентифікації патології молочних залоз відслідковувати рівень загальних змін в структурі досліджуваного об'єкту.

Одним із чинників подальшого покращення достовірності діагностики МЗ за поляризаційним та фазовим картографуванням лазерних зображень плівок плазми крові можна визнати введення додаткових інформативних поляризаційних параметрів плівок плазми крові, отриманих на другій довжині хвилі її лазерного опромінення.

В процесі досліджень було розроблено метод двохвильової лазерної поляриметрії плівок плазми крові при діагностуванні патології молочних залоз, який є удосконаленням відомого однохвильового поляризаційного метода лазерної поляризаційної діагностики [30].

Розроблений метод містить таку послідовність дій:

- послідовне опромінення біологічного шару плівки плазми крові лінійно поляризованими лазерними пучками на довжинах хвиль 675 нм та 405 нм, які сформовано шляхом пропускання відповідного лазерного випромінювання через лінійний поляризатор, з наступною поляризаційною селекцією утворених лазерних зображень біологічного шару за допомогою аналізатора;

- реєстрація в площині камери серії встановлених мікроскопічних поляризаційно відфільтрованих зображень плівки плазми крові, за якими алгоритмічно отримують двовимірні розподіли азимутів та еліптичностей поляризації зображення біологічного шару на двох довжинах хвилі;

- аналіз статистичних характеристик координатного та автокореляційного розподілів азимутів та еліптичностей оптико-анізотропної структури плівки плазми крові із визначенням інформативних параметрів для подальшої диференціації їх змін, обумовлених патологічними станами молочних залоз;

- нейромережеве оброблення результатів отриманих інформаційних параметрів, обумовлених патологічними станами біологічної структури;

– інтерпретація результатів нейромережевого оброблення з пошуком та розрахунком відстані в просторі ознак з найближчими відомими парами «параметри-діагноз» в базі даних.

Відому архітектуру системи стокс-поляриметричного картографування та аналізу лазерних зображень біологічних шарів, описану детально в роботі [30], було удосконалено для діагностування стану МЗ за результатами поляризаційного картографування на двох довжинах хвиль 675 нм і 405 нм, та доповнено блоками керування та експертного аналізу (рисунок 6.3).

Зразки плазми крові для діагностики патологій МЗ готувались в таких умовах: крапля плазми крові з піпетки наносять на підкладку з оптично однорідного скла таким чином, щоб плазма рівномірно розтікалася по поверхні скла. Утворена плівка просушувалася при кімнатній температурі протягом 24 годин.

Підготовлений препарат на скельці розміщують в об'єктному блоці системи. Його опромінюють по черзі пучком низько когерентного лазерного випромінювання, сформованого лазерним модулем HLDPM12-675-405-25 з довжинами хвиль відповідно 405 і 675 нм, вихідною потужністю 0,025 Вт та напругою живлення 3,3 В. Лазерний пучок, розширений коліматором до необхідного діаметра, пропускають через скремблер для руйнування когерентності та фазову чвертьхвильову пластинку, яка формує лазерний пучок з довільним азимутом та еліптичністю поляризації $I(\alpha, \beta)$ шляхом обертання площини пропускання лінійного поляризатора Π у межах $0^\circ \leq \Theta \leq 180^\circ$. За допомогою проєкційного блоку та блоку поляризаційного аналізу А формують поляризаційно відфільтровані зображення досліджуваного зразка плівки плазми крові в площині цифрової світлочутливої камери.

Блок поляризаційного аналізу А, як описано в [30], включає в себе поляризатор-аналізатор та фазову пластинку $\lambda/4$. За їх допомогою формуються необхідні типи поляризовано відфільтрованого лазерного випромінювання, розсіяного зразком: чотири варіанти лінійно відфільтрованого поляризаційного лазерного випромінювання з інтенсивностями відповідно $I_0, I_{90}, I_{45}, I_{135}$ та правоциркулярно і лівоциркулярно відфільтроване лазерне випромінювання з інтенсивностями I_{\otimes}, I_{\oplus} .

Програмний модуль формування мікрокоманд в комп'ютері системи посилає стек сигналів до блоку мікроконтролерного керування, який подає відповідні сигнали до двигунів через драйвери крокових двигунів. Їх основними функціями є керування поворотами та позиціонуванням двигунів, в результаті чого здійснюються необхідні обертальні рухи лінійних поляризаторів та фазових пластинок.

За допомогою блоку алгоритмічного визначення та селекції мап азимутів та еліптичностей поляризації зображення плівки плазми крові програмно

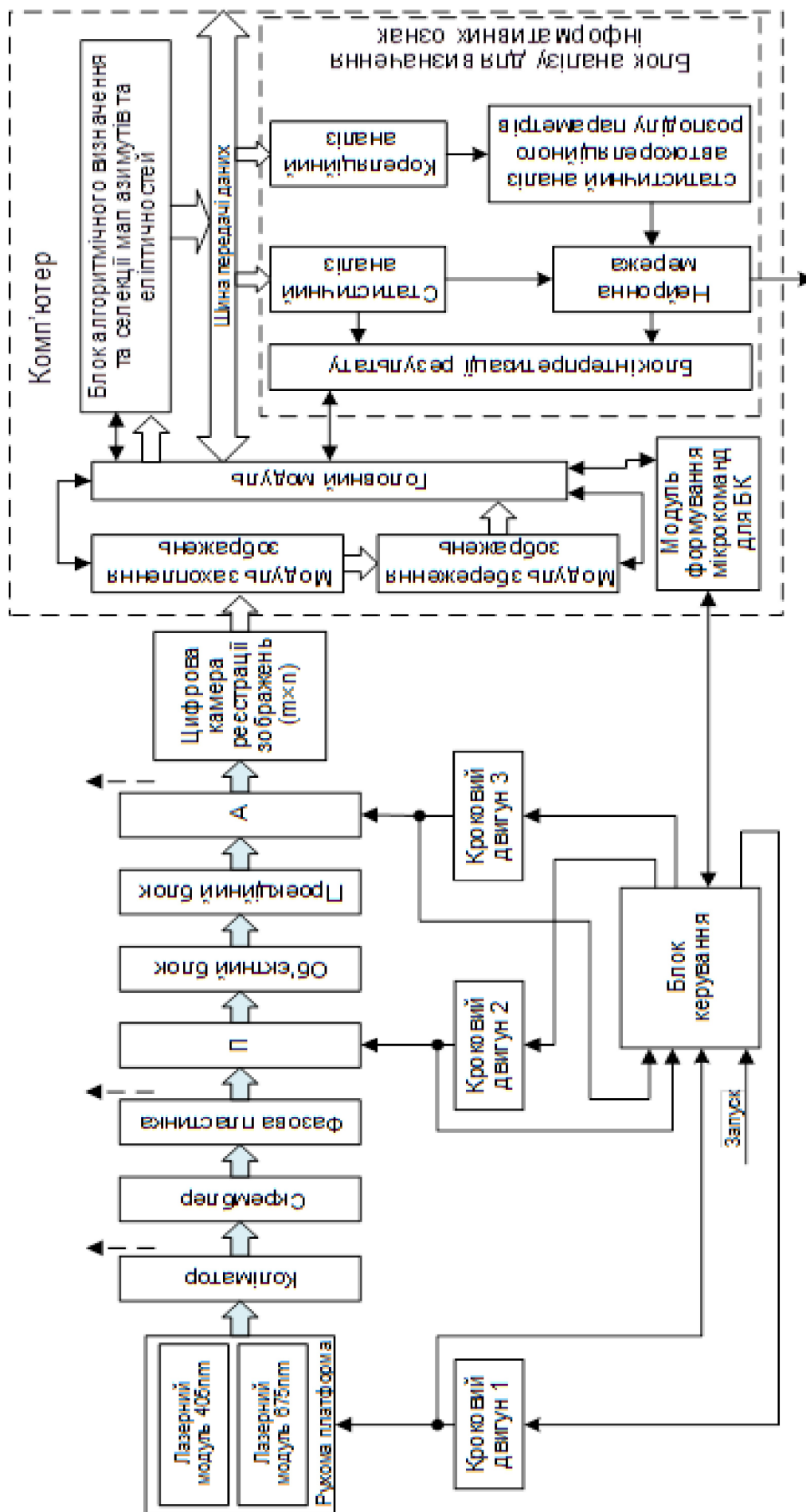


Рисунок 6.3 – Схема структурна системи двохвильової лазерної поляриметрії плівки плазми крові для діагностики патологій МЗ

реалізують обчислення розподілів $\alpha(X,Y)$ і $\beta(X,Y)$ за параметрами вектора Стокса за формулами (6.5), (6.6).

Подальший статистичний аналіз отриманих двовимірних розподілів азимутів $\alpha(X,Y)$ та еліптичностей $\beta(X,Y)$, отриманих в межах роздільної здатності камери ($X=1:640, Y=1:480$), полягає у обчисленні та аналізі статистичних моментів 1-го–4-го порядку $M_1 \div M_4$ за формулами

$$\begin{aligned} M_1 &= \frac{1}{XY} \sum_{j=1}^{XY} (\alpha; \beta)_j; M_2 = \sqrt{\sum_{j=1}^{XY} (\alpha^2; \beta^2)_j} \frac{1}{XY}; \\ M_3 &= \frac{1}{M_2^3} \frac{1}{XY} \sum_{j=1}^{XY} (\alpha^3; \beta^3)_j; M_4 = \frac{1}{M_2^4} \frac{1}{XY} \sum_{j=1}^{XY} (\alpha^4; \beta^4)_j. \end{aligned} \quad (6.8)$$

Проведення кореляційного аналізу зазначених двовимірних розподілів $\alpha(X,Y)$ і $\beta(X,Y)$ здійснюється на основі обчислення автокореляційної функції $K_{\alpha;\beta}(\Delta X)$ кожного розподілу по одній із координат.

Подальший аналіз отриманих автокореляційних функцій (АКФ) азимутів та еліптичностей поляризації зображень проводиться із визначенням кореляційної площі S та кореляційних моментів 2-го та 4-го порядків Q_2 і Q_4 від АКФ за співвідношеннями

$$S = \int_0^X K_{\alpha;\beta}(\Delta X) d(\Delta X), \quad (6.9)$$

$$\begin{aligned} Q_2 &= \sqrt{\frac{1}{XY} \sum_{j=1}^{XY} K_{\alpha;\beta}^2(\Delta X)_j}; \\ Q_4 &= \frac{1}{Q_2^2} \frac{1}{XY} \sum_{j=1}^{XY} (K_{\alpha;\beta}^4(\Delta X))_j. \end{aligned} \quad (6.10)$$

Отримані значення параметрів $M_1 - M_4, S, Q_2, Q_4$ використовуються як інформативні параметри досліджуваних розподілів азимутів та еліптичностей поляризації зображень плівок плазми крові, на основі яких проводиться подальша діагностика стану молочних залоз із використанням нейромережі.

На рисунках 6.4–6.5 зображено приклади розподілів вимірних інтенсивностей лазерних поляризаційних зображень плівки плазми крові з діагнозами «рак молочної залози» на довжинах хвиль 675 нм та 405 нм.

На рисунках 6.6–6.7 зображено приклади розподілів вимірних інтенсивностей лазерних поляризаційних зображень плівки плазми крові з діагнозами «норма молочної залози» на довжинах хвиль 675 нм та 405 нм.

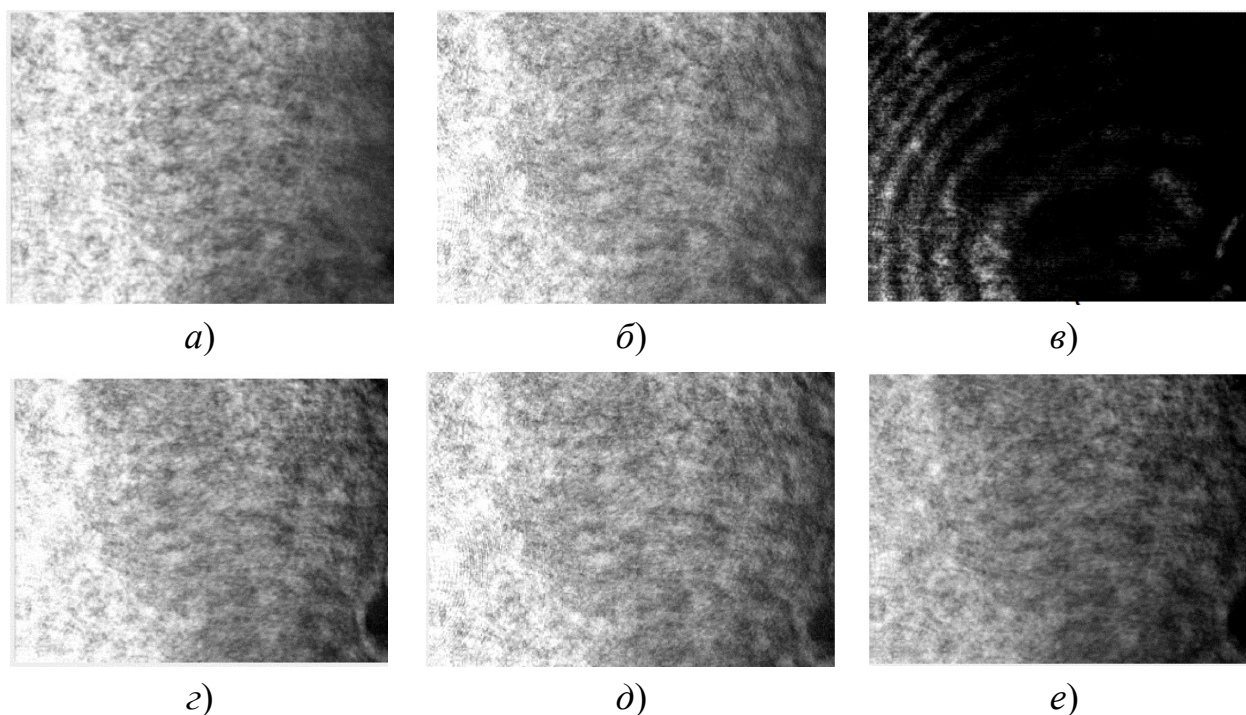


Рисунок 6.4 – Приклад інтенсивностей поляризаційно відфільтрованих зображень плівки плазми крові людини з діагнозом «рак МЗ» на довжині хвилі 675 нм: а) I_0 ; б) I_{45} ; в) I_{90} ; г) I_{135} ; д) I_{\otimes} ; е) I_{\oplus}

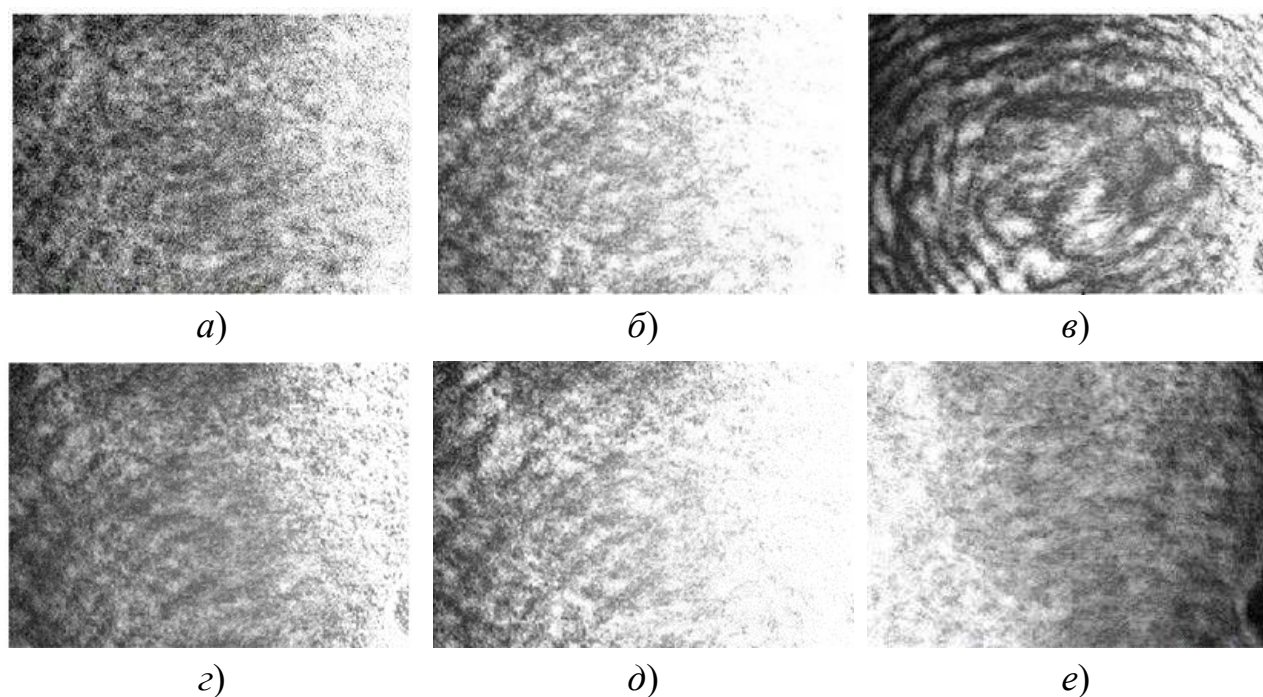


Рисунок 6.5 – Приклад інтенсивностей поляризаційно відфільтрованих зображень плівки плазми крові людини з діагнозом «рак МЗ» на довжині хвилі 405 нм: I_0 (а); I_{45} (б); I_{90} (в); I_{135} (г); I_{\otimes} (д); I_{\oplus} (е)

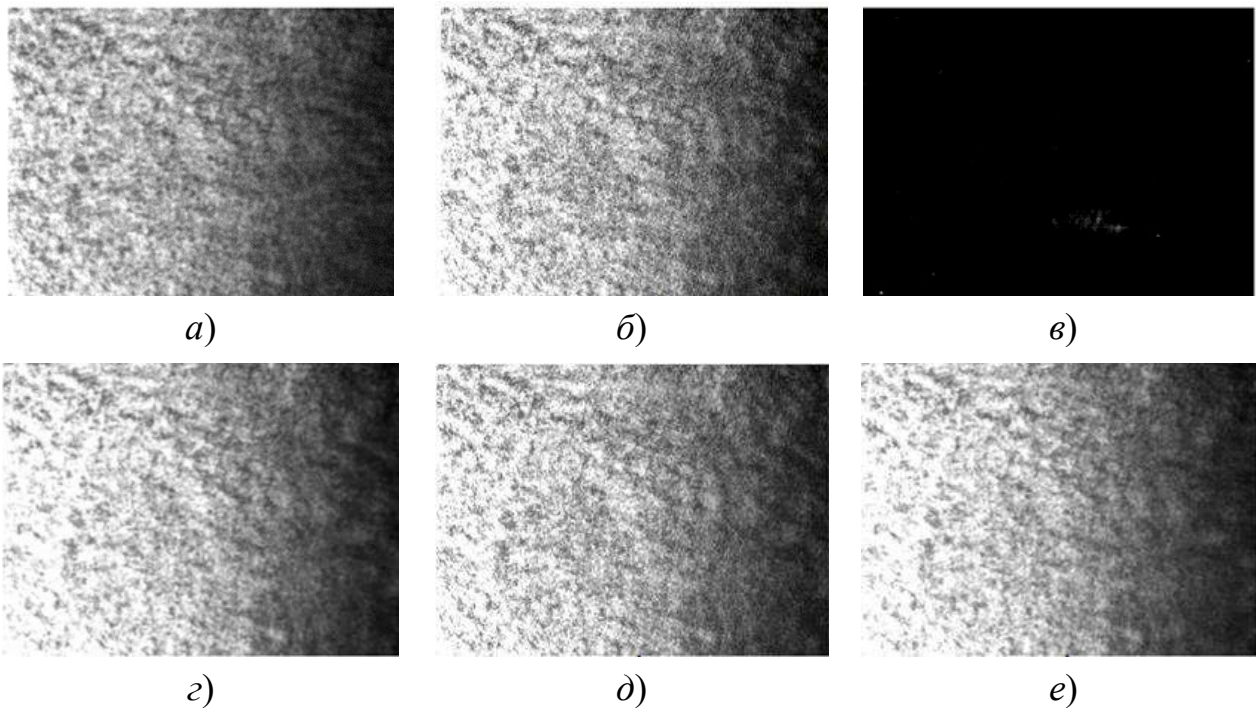


Рисунок 6.6 – Приклад інтенсивностей поляризаційно відфільтрованих зображень плівки плазми крові людини з діагнозом «норма МЗ» на довжині хвилі 675 нм: I_0 (a); I_{45} (б); I_{90} (в); I_{135} (г); I_{\otimes} (д); I_{\oplus} (е)

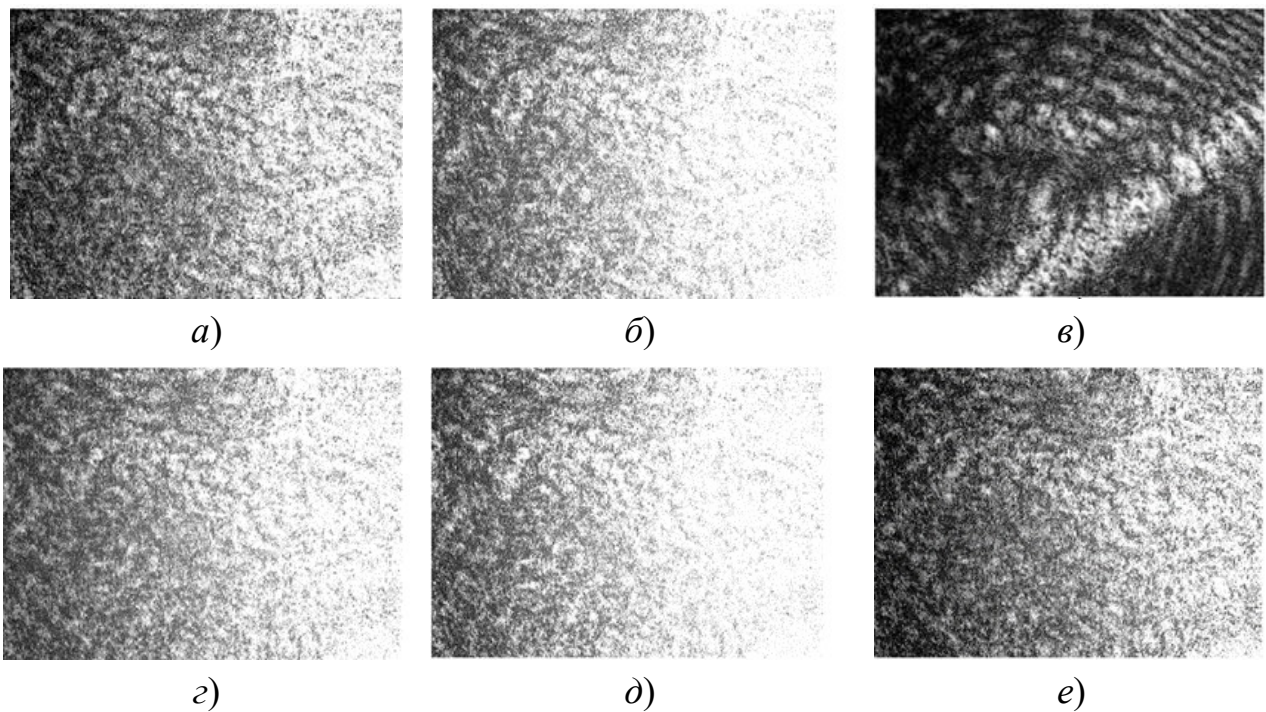


Рисунок 6.7 – Приклад інтенсивностей поляризаційно відфільтрованих зображень плівки плазми крові людини з діагнозом «норма МЗ» на довжині хвилі 405 нм: I_0 (a); I_{45} (б); I_{90} (в); I_{135} (г); I_{\otimes} (д); I_{\oplus} (е)

В таблиці 6.1 наведено оцінки статистичних моментів $M_1 - M_4$, кореляційної площі S та кореляційного моменту Q_4 розподілів азимутів та еліптичностей лазерних зображень зразків плазми крові пацієнтів групи А з референтним діагнозом «норма МЗ» (20 зразків) та пацієнтів групи В з референтним діагнозом «рак МЗ» (17 зразків), виміряних на довжинах хвиль 675 нм та 405 нм.

Таблиця 6.1 – Оцінки статистичних та кореляційних параметрів розподілів $\alpha, \beta(m \times n)$ лазерних зображень зразків плазми крові різних груп пацієнтів на двох довжинах хвиль

	Група А – норма (20 зразків)				Група В – рак МЗ (17 зразків)			
	α		β		α		β	
	405 нм	675 нм	405 нм	675 нм	405 нм	675 нм	405 нм	675 нм
M_1	0,13 $\pm 0,2$	0,74 $\pm 0,05$	0,75 $\pm 0,08$	0,81 $\pm 0,1$	0,12 $\pm 0,15$	0,16 $\pm 0,04$	0,81 $\pm 0,09$	0,78 $\pm 0,09$
M_2	0,06 $\pm 0,1$	0,013 $\pm 0,004$	0,11 $\pm 0,3$	0,064 $\pm 0,008$	0,13 $\pm 0,02$	0,013 $\pm 0,08$	0,41 $\pm 0,05$	0,054 $\pm 0,006$
M_3	0,05 $\pm 0,004$	0,07 $\pm 0,006$	0,03 $\pm 0,01$	0,014 $\pm 0,003$	0,08 $\pm 0,01$	0,13 $\pm 0,06$	0,18 $\pm 0,04$	0,024 $\pm 0,011$
M_4	2,08 $\pm 0,08$	0,5 $\pm 0,1$	2,64 $\pm 0,09$	3,8 $\pm 0,18$	1,7 $\pm 0,04$	0,6 $\pm 0,2$	0,68 $\pm 0,07$	3,9 $\pm 0,34$
S	1,3 $\pm 0,4$	2,07 $\pm 0,6$	9,3 $\pm 1,9$	18,8 $\pm 6,7$	2,1 $\pm 0,7$	1,8 $\pm 0,4$	7,9 $\pm 1,4$	20,2 $\pm 5,4$
Q_2	0,02 $\pm 0,013$	2,3 $\pm 0,9$	5,2 $\pm 1,4$	2,9 $\pm 0,13$	0,02 $\pm 0,01$	3,2 $\pm 1,3$	5,8 $\pm 1,9$	4,1 $\pm 3,6$
Q_4	0,75 $\pm 0,11$	0,02 $\pm 0,004$	0,02 $\pm 0,005$	0,03 $\pm 0,011$	0,81 $\pm 0,19$	0,02 $\pm 0,003$	0,01 $\pm 0,006$	0,018 $\pm 0,015$

Виділені сірим кольором комірки в таблиці 6.1 демонструють значення оцінок статистичних та кореляційних параметрів розподілів азимутів та еліптичностей поляризації лазерних зображень, виміряних на двох довжинах хвиль, які є найбільш інформативними ознаками при подальшій диференціації станів МЗ типу «норма»–«патологія». Проте враховуючи всі визначені в таблиці 6.1 характеристики розподілів, подані у вигляді вектора вхідних даних, доцільно використати нейромережу для програмної класифікації досліджуваних зразків плазми крові.

Використовуючи модель нейронної мережі типу персептрон [30] із сигмоїдною активаційною функцією, методом навчання з учителем із

донавчанням мережі в системі MATLAB та методом налаштування ваг мережі у вигляді мінімізації середньоквадратичної помилки з мінімальною кількістю нейронів 33, на виході нейромережі було сформовано вектор стовбець зі значеннями належності досліджуваного зразка до відповідних груп А чи В.

За результатами експериментальних досліджень із використанням нейронної мережі для формування результату класифікації «норма МЗ» – «рак МЗ» оцінка достовірності діагностуванні молочних залоз за методом двохвильової лазерної поляриметрії плівок плазми крові склала 95%. Це в середньому краще на 1–2 % у порівнянні із відомими методами-аналогами, що використовують лише одну довжину хвилі лазерного випромінювання для діагностики молочних залоз за плівками плазми крові.

6.3. Двохвильові лазерні прямі методи та системи діагностики орієнтаційно-фазової структури гістологічних зрізів біологічних тканин

Орієнтаційно-фазова структура оптично тонкого біологічного зрізу визначається двовимірним розподілом його орієнтаційних параметрів (орієнтаційна мапа) та двовимірним розподілом його фазових параметрів (фазова мапа).

Під орієнтаційною мапою $\rho(X,Y)$ гістологічного зрізу БТ розмірністю (X,Y) розуміємо матрицю (цифрове зображення) зазначеної розмірності, в кожному елементі якої записано відповідне значення кута $\rho_{ij} (i = \overline{1:X}; j = \overline{1:Y})$ нахилу дотичної до напрямку укладання фібрили зрізу (рисунок 6.8, а) з діаметром перерізу d та значенням Δn показника двопронезаломлення.

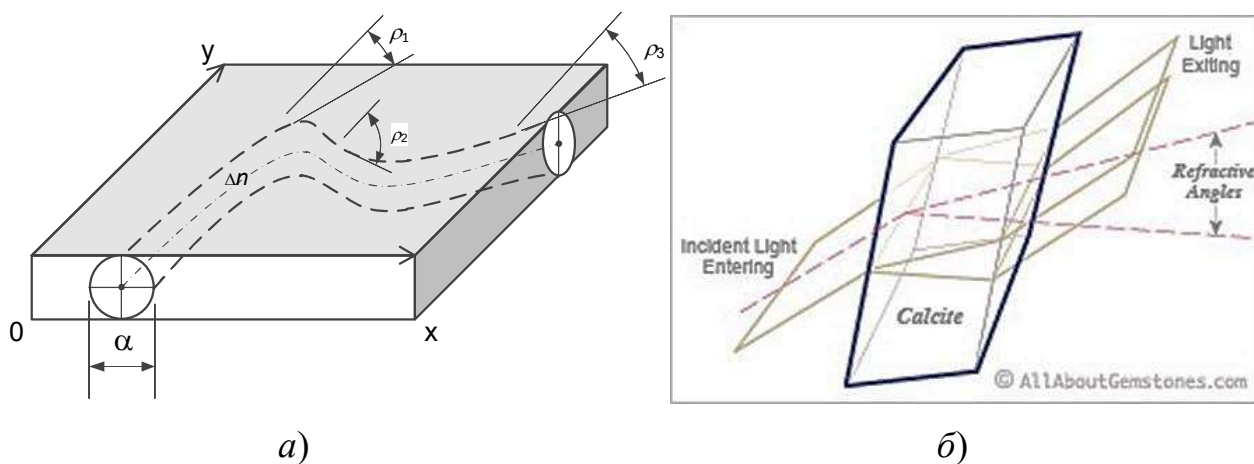


Рисунок 6.8 – Графічна інтерпретація параметрів анізотропії зрізу БТ: орієнтаційного параметру (а); фазового параметру (б)

Під фазовою мапою $\delta(X, Y)$ гістологічного зрізу БТ розмірністю (X, Y) розуміємо матрицю (зображення) зазначеної розмірності, в кожному елементі якої записано відповідне значення фазового зсуву $\delta_{ij} (i = \overline{1: X}; j = \overline{1: Y})$ між двома променями лазерного пучка з довжиною хвилі λ , що пройшов через фібрилу з показником двопроренезаломлення Δn та діаметром d (рисунок 6.8, б), яке визначається за формулою $\delta = 2\pi/\lambda \Delta n d$.

Основні вимоги до матеріалів дослідження: оптично тонкі плоскі нативні гістологічні зрізи БТ (коефіцієнт екстинції $\leq 0,1$), підготовлені за спеціальною технологією приготування лікарем. Так, після забору препарату зразки БТ заморожувались, потім нарізались на зрізи з геометричною товщиною 10–15 мкм за допомогою мікротома. Фарбування зразків на етапі підготовки не відбувалось.

Отримані зразки заморожених гістологічних зрізів зберігались в холодильній камері при відповідній температурі $+ 3^\circ \text{C}$.

Матеріали дослідження мають застосовуватись в однакових часових рамках. Діаметри фібрил, що попадатимуть в площу опромінюючого лазерного поляризованого пучка складають 2 мм.

При розрахунках мінімального числа зразків зрізів БТ у досліджуваних вибірках «норми» та «патології» використовуватиметься довірчий рівень ймовірності $P = 0,95$.

Довжини хвиль 632 нм та 450 нм лазерного випромінювання, на яких проводитиметься дослідження в системах поляриметрії, обрані, враховуючи експериментально виявлену в дослідженнях [25, 26, 30–32] іншими методами чутливість параметрів мікроструктурної анізотропії БШ при взаємодії з поляризованим випромінюванням лазера вказаного діапазону, до морфологічних змін БТ, обумовлених патологічними станами.

Опираючись на відомі теоретичні засади однохвильового лазерного методу прямого відтворення та аналізу орієнтаційної мікроструктури оптичного тонкого зрізу БТ [23] та враховуючи чутливість поля лазерного поляризаційного випромінювання діапазону довжин хвиль 632–450 нм [32], розсіяного зразком, до змін орієнтації фібрилярних волокон зрізів БШ, обумовлених патологічними станами, розроблено двоххвильовий метод оцінювання змін орієнтаційної мікроструктурної анізотропії гістологічних зрізів БТ, обумовлених патологічними станами [33].

Розроблений метод містить таку послідовність дій [33].

1. Почергово опромінюють оптично тонкий гістологічний зріз біологічного шару серіями лінійно поляризованих пучків напівпровідникових лазерів на двох довжинах хвиль відповідно 0,632 мкм і 0,450 мкм, які характеризуються покроковим змінюванням азимутів α поляризації в діапазоні від 0 до π .

2. Здійснюють на кожному кроці поляризаційну фільтрацію серії пропущених через зріз БШ пучків напівпровідникових лазерів на двох довжинах хвиль за допомогою ортогонально орієнтованих поляризатора та аналізатора, що на кожному кроці синхронно обертаються на кут, рівний поточному значенню азимута α поляризації.

3. Реєструють за допомогою камери серії поляризаційно відфільтрованих інтенсивностей зображень $I^\alpha(X, Y)$, отриманих для кожного азимуту поляризації α на двох довжинах хвиль, за якими одержують алгоритмічно серії координатних розподілів $\rho(X, Y)$ орієнтацій оптичних осей полікристалічної мережі БШ, виходячи із умови: якщо інтенсивність світла будь-якого пікселя зазначеного зображення з координатами (x, y) є нульовою $I^\alpha(x, y) = 0$, то у відповідній точці зрізу біологічного шару орієнтація оптичної осі збігається із азимутом поляризації опромінюючого пучка $\rho^\alpha(x, y) = \alpha$.

4. Проводять на двох довжинах хвиль статистичний та кроскореляційний аналіз відтворених орієнтаційних мап зрізів БШ для визначення інформативних параметрів подальшої диференціації їх змін, обумовлених патологіями, на основі яких формують автоматично прийняте рішення при діагностиці.

Для реалізації двоххвильового лазерного методу оцінювання змін орієнтаційної мікроструктурної анізотропії зрізів БТ на основі прямого вимірювання та аналізу орієнтаційних мап була розроблена архітектура системи, подана на рисунку 6.9.

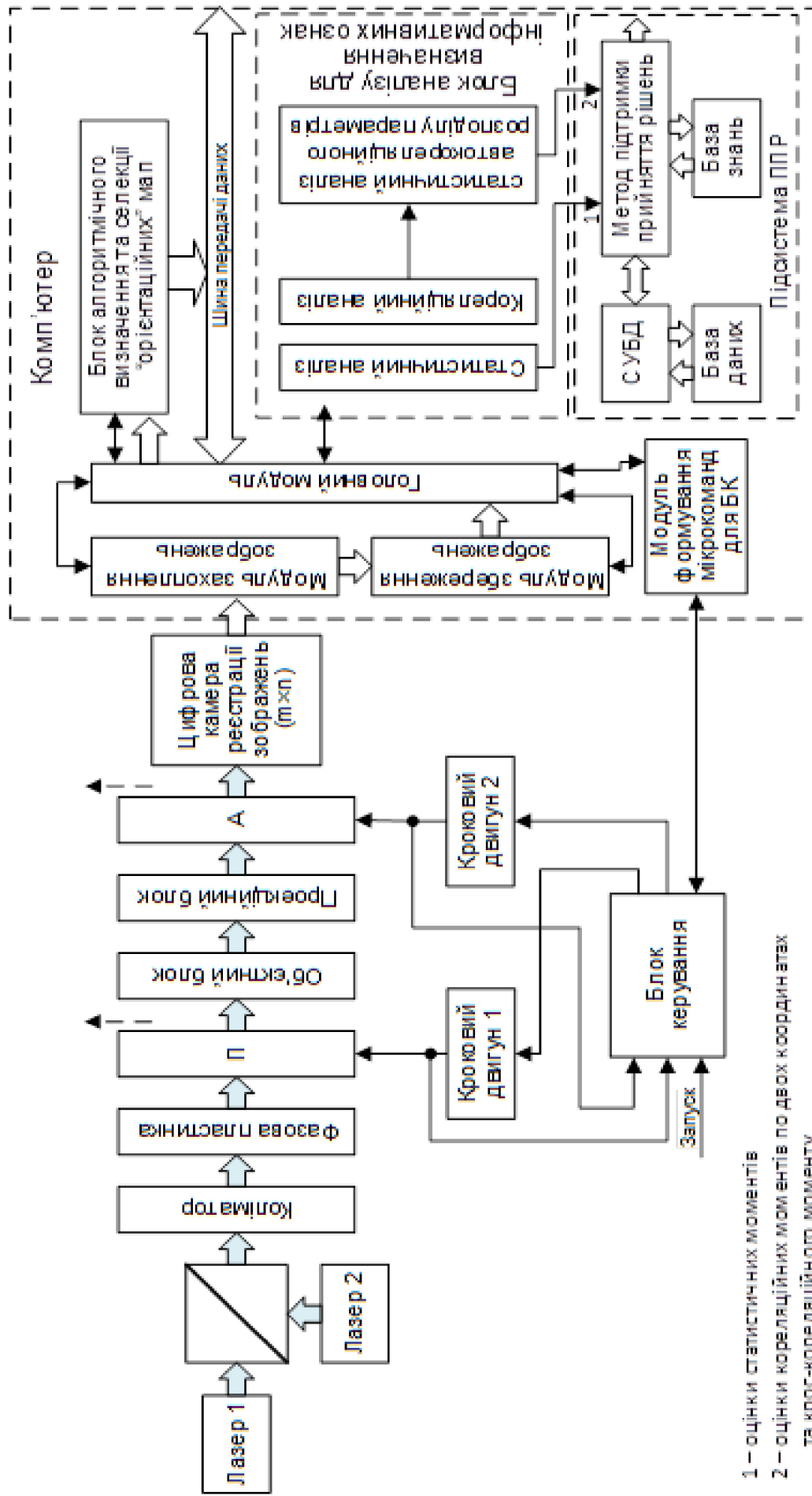
Схема містить автоматизований оптико-електронний вимірювальний канал, який зв'язаний з комп'ютерною підсистемою збереження, аналізу та прийняття рішення, керування якими здійснює блок керування.

Вимірювальний канал містить два напівпровідникові лазери, що випромінюють поляризовані пучки на довжинах хвиль 632 нм та 450 нм відповідно з низькою когерентністю, які через світлооб'єднувач та коліматор утворюють блок опромінення.

Для формування лінійно поляризованого пучка із змінним азимутом поляризації в схемі міститься фазова чвертьхвильова пластинка з віссю швидкого обертання, розташованою під кутом 45° , разом із послідовно розташованим за нею поляризатором П.

Покрокове змінювання азимуту лінійно поляризованого лазерного пучка відбувається в діапазоні від 0 до π , керування цим процесом здійснює блок керування через кроковий двигун 1.

Отже, лазерний пучок вказаного типу поляризації та обраної довжини хвилі пропускають через приготовлений на склі досліджуваний зразок, розташований в об'єктному блоці. Розсіяне зразком поляризаційне випромінювання через проєкційний блок потрапляє на поляризатор, вісь якого розташована ортогонально до поляризатора.



1 – оцінки статистичних моментів
 2 – оцінки кореляційних моментів по двох координатах та крос-кореляційного моменту

Рисунок 6.9 – Схема структурна лазерної двохвильової системи оцінювання орієнтаційної структури гістологічних зрізів

Блок керування через кроковий двигун здійснює управління поворотом осі аналізатора, синхронно з поворотом осі поляризатора на деякий кут α .

Вимірвальний канал також містить світлочутливу камеру, яка реєструє випромінювання, утворене на виході поляризаційного фільтра «поляризатор-схрещений аналізатор», які обертаються одночасно на однаковий кут α .

Тоді можливою є ситуація, коли значення цього азимуту поляризації в точці (x, y) на виході поляризаційного фільтра на обраній довжині хвилі $\lambda_1 = 632$ нм або $\lambda_2 = 450$ нм

$$\alpha(\lambda) = \alpha(\lambda) + 90^\circ \quad (6.11)$$

буде збігатись з кутом орієнтації осі $\rho^{(x,y)}(\lambda)$ фібрили зрізу БТ [23]

$$\tilde{\alpha}^{(x,y)}(\lambda) = \rho^{(x,y)}(\lambda). \quad (6.12)$$

Виявляється ця ситуація окремо на кожній довжині хвилі за аналізом на рівність нулю інтенсивностей пікселів $I_\lambda^\alpha(X, Y)$ відфільтрованого поляризаційного зображення, яке зареєстроване камерою.

На основі відомих теоретичних положень однохвильового лазерного методу прямого відтворення та аналізу фазової мікроструктури оптичного тонкого зрізу БТ [24] та враховуючи чутливість цього параметру до лазерного випромінювання на двох довжинах хвиль в системі лазерної поляриметрії БТ поляризаційного випромінювання діапазону довжин хвиль 632 – 450 нм, розроблено двоххвильовий лазерний метод оцінювання змін фазової мікроструктурної анізотропії зрізів БТ, обумовлених патологічними станами.

Нижче наведені кроки складають суть розробленого методу.

1. Почергово опромінюють оптично тонкий гістологічний зріз біологічного шару лазерним пучком напівпровідникових лазерів з поляризацією «права циркуляція» на двох довжинах хвиль, відповідно 0,632 мкм і 0,450 мкм, та проєкціюють розсіяне гістологічним зрізом поляризоване випромінювання в площину фотокамери із формуванням відповідних зображень на двох зазначених довжинах хвиль.

2. Здійснюють поляризаційну фазову фільтрацію утворених зображень, зафіксованих на двох довжинах хвиль, за допомогою поляризаційного фільтра «ліва циркуляція».

3. Реєструють за допомогою фотокамери поляризаційно відфільтровані інтенсивності двох зображень, зафіксовані на довжинах хвиль 0,632 мкм і 0,450 мкм, за координатним розподілом цих інтенсивностей алгоритмічно визначають відтворену фазову мапу зрізу БТ: $\delta(x, y) = \sqrt{\arccos(I(x, y))}$.

4. Проводять на двох довжинах хвиль статистичний та кроскореляційний аналіз відтворених фазових мап зрізів БТ для визначення інформативних параметрів подальшої диференціації їх змін, обумовлених патологіями, на основі яких формують автоматично прийняте рішення при діагностиці.

Розглянутий метод реалізують на лазерній системі, архітектура якої зображена на рисунку 6.10.

Основні структурні блоки архітектури системи для оцінювання фазової мікроструктурної анізотропії зрізів БТ на основі їх прямого вимірювання та аналізу такі ж, як і в схемі, поданій на рисунку 6.9. Проте їх внутрішня будова та взаємозв'язки відрізняється суттєво.

Блок опромінення також містить два напівпровідникових лазера, які працюють на довжинах хвиль 632 нм і 450 нм, працюючи по чергово.

Вимірювальний канал складається також із: фазового поляризаційного правоциркулярного фільтра, який побудований на поляризаторі П1 і фазовій пластинці ФП1; фазового поляризаційного лівоциркулярного фільтра, побудованого на поляризаторі-аналізаторі А та фазовій пластинці ФП2; об'єктного блоку для розміщення зразка БТ; проекційного блоку у вигляді об'єктива; цифрову камеру. Блок керування здійснює свою функцію керування через чотири крокових двигуни, які дозволяють встановити кути поворотів поляризаторів П1, П2 та фазових пластинок ФП1 та ФП2.

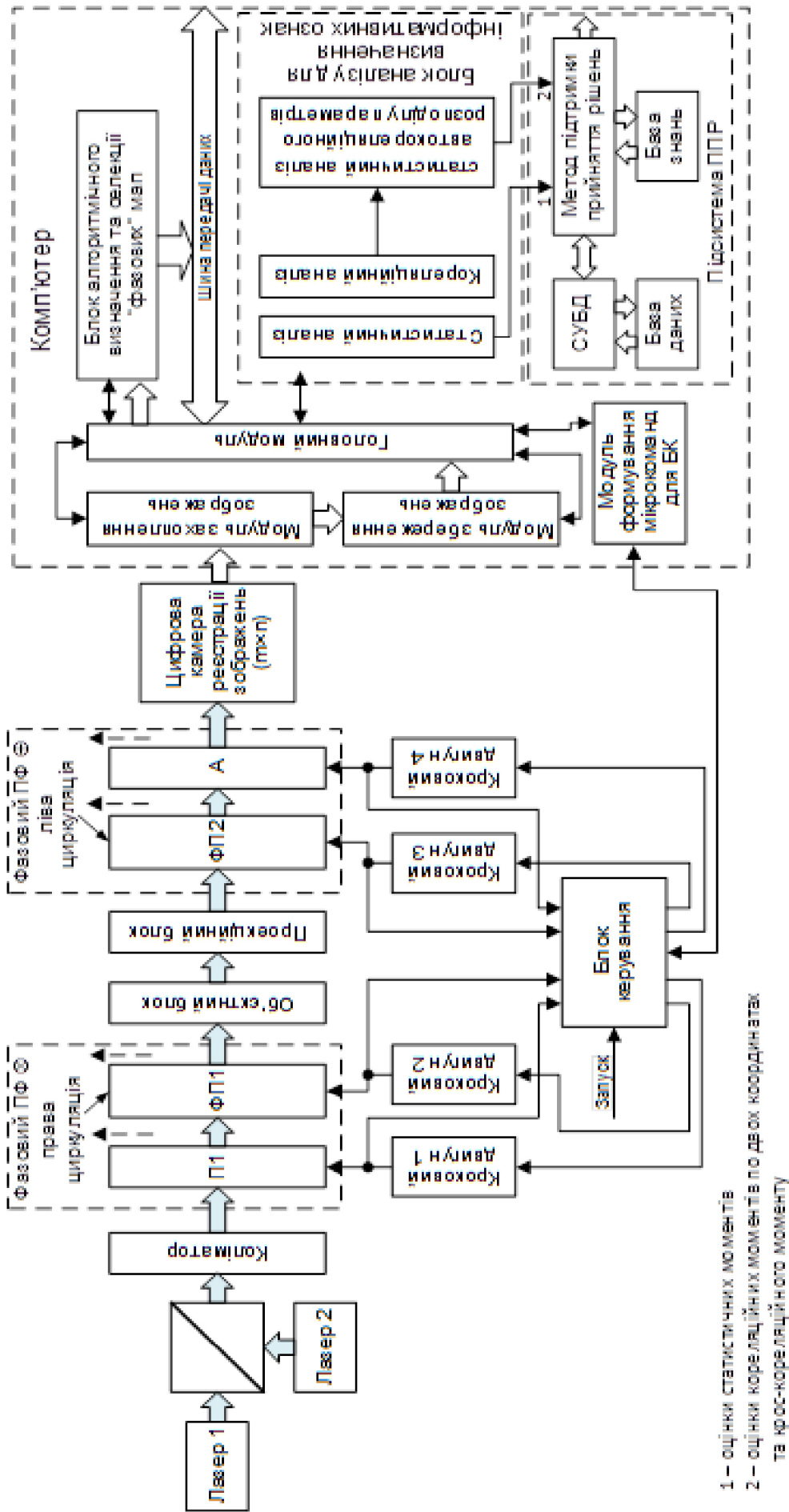
Особливістю комп'ютерного блоку даної системи є наявність блоку алгоритмічного визначення фазових мап, блоку аналізу для визначення інформативних параметрів та підсистеми підтримки прийняття рішень.

Для формування правоциркулярного поляризованого випромінювання лінійно поляризований пучок пропускають спочатку через поляризатор П, що має кут площини пропускання θ , потім через чвертьхвильову пластинку ФП1, швидка вісь якої нахилена під кутом $(45 + \theta)$ відносно площини пропускання поляризатора. Таким випромінюванням опромінюємо зріз БТ, розміщений в об'єктному блоці, розсіяне випромінювання з якого через проекційний блок поступає на лівоциркулярний фільтр. Швидка вісь фазової чвертьхвильової пластинки ФП2 лівоциркулярного фільтра розташовується під кутом 135° до поляризатора-аналізатора П2.

Запис отриманої інтенсивності відфільтрованого зображення здійснюється камерою і пов'язується із фазовим зсувом формульною залежністю, реалізованою відповідним блоком комп'ютерного аналізу

$$\delta^\lambda(x, y) = \arccos \sqrt{I^{(\lambda)}(x, y)}, \quad (6.13)$$

де λ – робоча довжина хвилі, що обирається із ряду $\lambda_1 = 632$; $\lambda_2 = 450$ нм.



1 – оцінки статистичних моментів
 2 – оцінки кореляційних моментів по двох координатах та крос-кореляційного моменту

Рисунок 6.10 – Схема структурна лазерної двохвильової системи оцінювання фазової структури гістологічних зрізів

Особливості комп'ютерного блоку системи визначаються блоком визначення та селекції фазових мап та блоку ППР, який містить базу даних, систему управління базою даних, базу знань, метод, що формує вирішальне правило підтримки прийняття рішення.

Розглянемо математичні основи аналізу вимірних розподілів.

Визначення оцінок статистичних характеристик вимірних розподілів орієнтаційних та фазових мап здійснюється за формулами (6.8).

Для формування інших інформативних параметрів вимірних розподілів орієнтаційних та фазових мап застосовують кореляційний аналіз, в основу якого покладено обчислення автокореляційної функції

$$Corr_{x_{lk}}(\Delta i, \Delta j) = \lim_{\substack{\Delta i \rightarrow 0 \\ \Delta j \rightarrow 0}} \frac{1}{MN} \int_0^i \int_0^j [x_{lk}(i, j)] [x_{lk}(i - \Delta i, j - \Delta j)] didj, \quad (6.14)$$

де $(\Delta i, \Delta j)$ – «кроки», з якими змінюються координати (i, j) ;

x – параметр, який обирається із напрямку ρ орієнтації фібрил та фазового зсуву δ мікроструктури БТ;

M, N – розмірність мап орієнтаційних та фазових мап відповідно.

На основі усереднених автокореляційних функцій, які розглядалися окремо при зсувах по координаті $\overline{Corr}(x)$ та окремо по координаті $\overline{Corr}(y)$, знаходять оцінки статистичних моментів цих функцій $Q_i^\lambda(x), Q_i^\lambda(y)$, які називаються оцінками кореляційних моментів, зокрема по координаті X обчислюються за формулами [32]

$$\begin{aligned} Q_1^\lambda(x) &= \frac{1}{2M} \sum_{s=0}^{2M-1} \overline{Corr}(s); \\ Q_2^\lambda(x) &= \sqrt{\frac{1}{2M-1} \sum_{s=0}^{2M-1} (\overline{Corr}(s) - Q_1^\lambda(x))^2}; \\ Q_3^\lambda(x) &= \frac{1}{(Q_2^\lambda)^3} \frac{1}{2M-1} \sum_{s=0}^{2M-1} (\overline{Corr}(s) - Q_1^\lambda(x))^3; \\ Q_4^\lambda(x) &= \frac{1}{(Q_2^\lambda)^4} \frac{1}{2M-1} \sum_{s=0}^{2M-1} (\overline{Corr}(s) - Q_1^\lambda(x))^4. \end{aligned} \quad (6.15)$$

Для врахування оцінок кореляційних моментів за двома координатами введемо оцінки кроскореляційних моментів dQ_i^λ , як інформативні параметри для диференціації патологічних станів БШ, що реалізуються системами

визначення змін фазової та орієнтаційної мікроструктурної анізотропії зрізів БТ на основі прямого вимірювання.

$$\begin{aligned}
 dQ_1^\lambda &= Q_1^\lambda(x) / Q_1^\lambda(y); \\
 dQ_2^\lambda &= Q_2^\lambda(x) / Q_2^\lambda(y); \\
 dQ_3^\lambda &= Q_3^\lambda(x) / Q_3^\lambda(y); \\
 dQ_4^\lambda &= Q_4^\lambda(x) / Q_4^\lambda(y).
 \end{aligned}
 \tag{6.16}$$

Отже, оцінки статистичних моментів $M_i^\lambda (i = \overline{1:4})$ координатних розподілів ρ та δ , виміряних на певній довжині хвилі $\lambda = \lambda_1; \lambda_2$, та оцінки їх кроскореляційних моментів $dQ_i^\lambda (i = \overline{1:4})$ є інформативними параметрами для подальшої підтримки прийняття рішень.

З метою реалізації обох описаних вище методів на одному обладнанні була розроблена архітектура двохвильової лазерної системи прямого відтворення як орієнтаційних, так і фазових параметрів анізотропії зрізів БТ, подана на рисунку 6.11.

Структура вимірювального каналу цієї системи подібна до структури каналу системи, що вимірює за прямим методом фазові мапи (дивись рис. 2.4), проте керування елементами вимірювального каналу суттєво відрізняється від попередніх. Також необхідно забезпечення нових вимог до фазової чвертьхвильової пластинки ФП2 в блоці поляризаційного опромінення та до фазової чвертьхвильової пластинки ФП3 в блоці поляризаційної фільтрації: ФП2 і ФП3 мають усуватись зі шляху розповсюдження лазерного пучка при реалізації прямого метода вимірювання орієнтаційних мап, а також повертати швидко вісь на певний кут. Для цього в систему введено крім 4 крокових двигунів ще два серводвигуни, які керуються блоком керування, і приводять в дію необхідні конструктивні частини зазначених елементів.

В свою чергу блок комп'ютерної обробки містить модуль обробки, в який входять: блок $F1$ аналітичного визначення орієнтаційних мап $\rho^{\lambda_1}(X,Y)$ та $\rho^{\lambda_2}(X,Y)$ на двох довжинах хвиль; блок визначення $F2$ аналітичного визначення фазових мап $\delta^{\lambda_1}(X,Y)$ та $\delta^{\lambda_2}(X,Y)$ на двох довжинах хвиль. Через шину передачі даних всі 4 мапи орієнтаційно-фазових параметрів анізотропії зрізу БТ передаються до модуля аналізу. Модуль аналізу містить відповідні блоки, які реалізують функції $F3 \div F6$, що здійснюють статистичний та кроскореляційний аналіз.

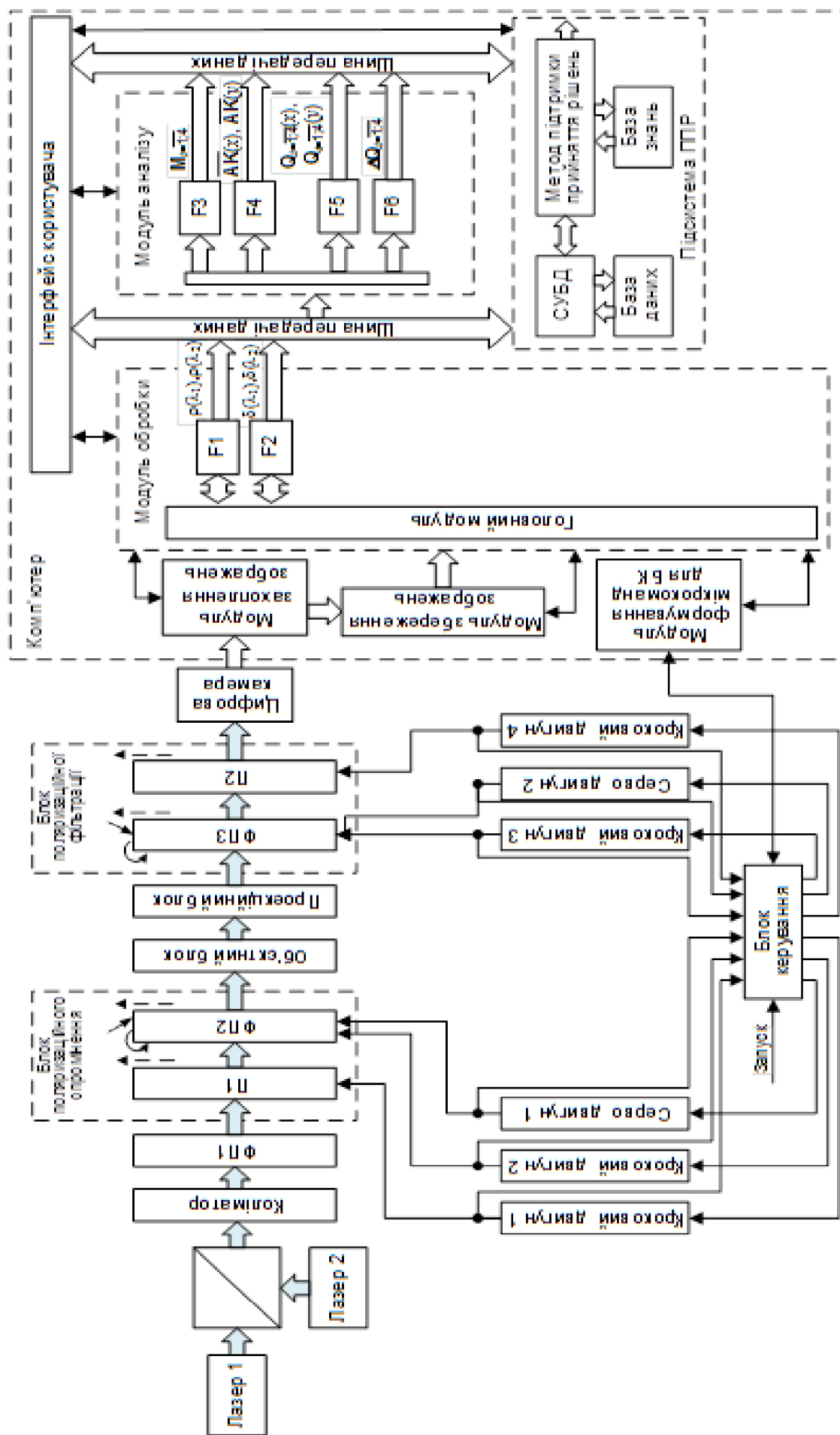


Рисунок 6.11 – Схема структурна лазерної двохвильової системи оцінювання орієнтаційно-фазової структури гістологічних зрізів

В результаті такого комплексного аналізу формуються ознаки для подальшого диференціювання змін мікроструктурної анізотропії зрізів БТ, обумовлених патологіями, яке реалізується блоком підтримки прийняття рішень (ППР).

Особливістю сучасних підсистем ППР є їх інтелектуалізація. При проведенні медичної діагностики за допомогою даної системи з інтелектуальною ППР остання допомагає лікареві в рішенні діагностичних задач шляхом підсилення його інтелектуальних можливостей, при суттєвому зменшенні ступеня суб'єктивізму.

Розглянемо моделі ППР, які застосовуються в лазерних системах діагностування гістологічних зрізів при диференціації станів «норма» – «онкопатологія», побудовані з використанням правил «нечіткої» логіки [34–36].

В результаті проведення вимірювань на лазерній двохвильовій системі оцінювання орієнтаційної структури гістологічних зрізів, наведеній на рисунку 6.11, було одержано по 21 зображенню орієнтаційних та фазових параметрів стану «норма» та по 21 зображенню відповідних параметрів стану «патологія» при онкологічному враженні шийки матки, виміряних на довжинах хвиль 632 нм та 450 нм.

Приклад орієнтаційних мап для стану норма та патологія шийки матки на довжинах хвиль $\lambda_1 = 0,632$ мкм та $\lambda_2 = 0,450$ представлено на рисунку 6.12, статистичні та кроскореляційні моменти з відхиленнями подано в таблиці 6.2.

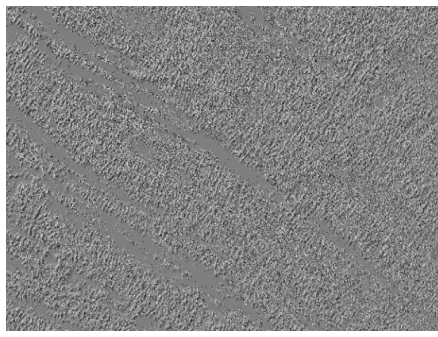
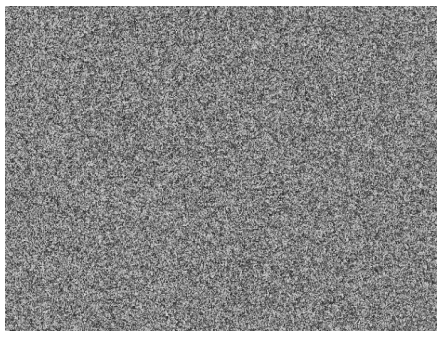
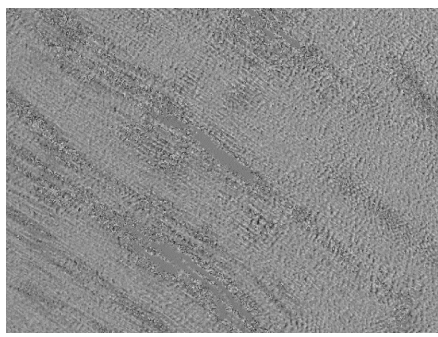
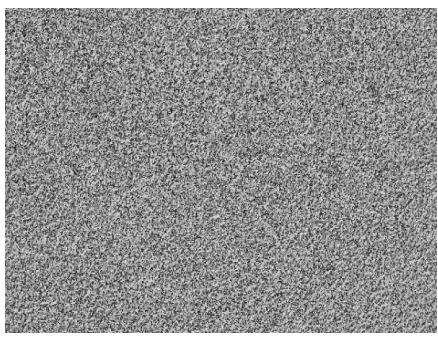
ρ	Норма	Патологія
$\rho(\lambda_1)$		
$\rho(\lambda_2)$		

Рисунок 6.12 – Приклади координатних розподілів орієнтаційних мап гістологічних зрізів шийки матки в станах «норма» та «патологія» на довжинах хвиль $\lambda_1 = 0,632$ мкм та $\lambda_2 = 0,450$

Таблиця 6.2 – Оцінки статистичних та кроскореляційних моментів орієнтаційних мап ρ гістологічних зрізів шийки матки двох груп на довжинах хвиль $\lambda_1 = 0,632$ мкм та $\lambda_2 = 0,450$ мкм

№	$M_{i=1;2;3;4}$	M_1	M_2	M_3	M_4	dQ_1	dQ_2	dQ_3	dQ_4
1	$\rho^n(\lambda_1)$	0,555 $\pm 0,020$	0,565 $\pm 0,020$	1,047 $\pm 0,003$	0,359 $\pm 0,023$	0,255 $\pm 0,091$	0,552 $\pm 0,046$	4,068 $\pm 0,859$	2,484 $\pm 0,384$
2	$\rho^n(\lambda_1)$	0,556 $\pm 0,020$	0,603 $\pm 0,019$	1,176 $\pm 0,008$	0,526 $\pm 0,025$	1,339 $\pm 0,154$	0,920 $\pm 0,006$	0,982 $\pm 0,020$	0,8907 $\pm 0,012$
3	$\Delta M_i(\lambda_1), \Delta Q_i(\lambda_1)$	1,01	1,07	1,12	1,46	5,25	1,66	4,76	2,78
4	$\rho^n(\lambda_2)$	0,514 $\pm 0,020$	0,536 $\pm 0,019$	1,112 $\pm 0,007$	0,375 $\pm 0,021$	0,552 $\pm 0,024$	0,642 $\pm 0,011$	2,482 $\pm 0,153$	1,812 $\pm 0,064$
5	$\rho^n(\lambda_2)$	0,518 $\pm 0,020$	0,567 $\pm 0,018$	1,210 $\pm 0,011$	0,499 $\pm 0,023$	0,876 $\pm 0,034$	0,883 $\pm 0,002$	1,099 $\pm 0,006$	0,964 $\pm 0,004$
6	$\Delta M_i(\lambda_2), \Delta Q_i(\lambda_2)$	1,007	1,06	1,08	1,33	1,59	1,37	2,25	1,87

Для визначення суттєвих відмінностей між нормою та патологією досліджуваного типу БШ було обраховано відповідні коефіцієнти $\Delta M_i(\lambda_1)$ та $\Delta Q_i(\lambda_1)$ за такими формулами:

$$\Delta M_i(\lambda_1) = \frac{M_i^n}{M_i^h}; \quad (6.17)$$

$$\Delta Q_i(\lambda_1) = \frac{Q_i^h}{Q_i^n}. \quad (6.18)$$

Аналогічно для довжини хвилі λ_2 проводяться обчислення відповідних вищенаведених коефіцієнтів. На їх основі встановлено інформативні ознаки подальшої класифікації зразків групи норма та групи патологія. Так, для координатного розподілу елементів орієнтаційної мапи інформативними ознаками є такі:

- оцінка ексцесу координатного розподілу M_4 на довжині хвилі λ_1 ;
- оцінка кроскореляційних моментів 1-го – 4-го порядків, $dQ_1 - dQ_4$ на довжині хвилі λ_1 ;
- оцінка ексцесу координатного розподілу M_4 на довжині хвилі λ_2 ;
- оцінка кроскореляційних моментів 1-го – 4-го порядків $dQ_1 - dQ_4$ на довжині хвилі λ_2 .

За принципами нечіткого формулювання вирішального правила визначаються діапазони змінювання кожного із поданих в таблиці 6.2 параметрів орієнтаційних мап нечіткими термами. Нечіткі рівні являють собою виділення таких рівнів (таблиця 6.3); Н – низький, НС – нижче середнього, С – середній, ВС – вище середнього, В – високий, причому кожен з них характеризується функціями приналежності на інтервалі [0; 1].

Таблиця 6.3 – Розкиди статистичних та кроскореляційних параметрів орієнтаційних мап БТ для кожного з рівнів на довжині хвилі λ_1

	Н	НС	С	ВС	В
M_1	0,534655– 0,539835	0,539835– 0,550196	0,550196– 0,560557	0,560557– 0,570917	0,570917– 0,576098
M_2	0,544927– 0,554552	0,554552– 0,573800	0,573800– 0,593049	0,593049– 0,612298	0,612298– 0,621922
M_3	1,043970– 1,061464	1,061464– 1,096452	1,096452– 1,131441	1,131441– 1,166429	1,166429– 1,183923
M_4	0,336195– 0,363010	0,363010– 0,416640	0,416640– 0,470270	0,470270– 0,523900	0,523900– 0,550715
dQ_1	0,164046– 0,330159	0,330159– 0,662384	0,662384– 0,994609	0,994609– 1,326834	1,326834– 1,492947
dQ_2	0,505477– 0,558143	0,558143– 0,663476	0,663476– 0,768808	0,768808– 0,874140	0,874140– 0,926807
dQ_3	0,962288– 1,457885	1,457885– 2,449079	2,449079– 3,440274	3,440274– 4,431468	4,431468– 4,927065
dQ_4	0,878390– 1,127084	1,127084– 1,624473	1,624473– 2,121862	2,121862– 2,619251	2,619251– 2,867946

Враховуючи інформативні ознаки для побудови моделі вирішального правила при вимірюванні орієнтаційних мап, побудовано таблицю 6.4 відповідності станів застосованим діапазонам нечітких термів.

Таблиця 6.4 – Відповідність станів «норма шийки матки» – «рак шийки матки» діапазонам нечітких термів при вимірюванні орієнтаційних мап при $\lambda_1 = 632$ нм

Стан БТ	M_4	dQ_1	dQ_2	dQ_3	dQ_4
Норма	Н	Н	Н	С	С
	НС	НС	НС	ВС В	ВС В
Патологія	ВС	ВС	В	Н	Н
	В	В			

Математична модель вирішального правила для прийняття рішення про наявність патології (рак шийки матки) в лазерній двохвильовій системі на основі прямого відтворення та аналізу орієнтаційної структури гістологічних зрізів із застосуванням «нечіткої» логіки при $\lambda_1 = 632$ нм має вигляд:

$$\begin{aligned} \eta^{\text{патологія}}(M_4(\rho), dQ_1(\rho), dQ_2(\rho), dQ_3(\rho), dQ_4(\rho)) = \\ \{[\eta^{BC}(M_4(\rho)) \wedge \eta^{BC}(dQ_1(\rho)) \wedge \eta^B(dQ_2(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_3(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_4(\rho))] \vee \\ [\eta^{BC}(M_4(\rho)) \wedge \eta^B(dQ_1(\rho)) \wedge \eta^B(dQ_2(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_3(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_4(\rho))] \vee \\ [\eta^B(M_4(\rho)) \wedge \eta^{BC}(dQ_1(\rho)) \wedge \eta^B(dQ_2(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_3(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_4(\rho))] \vee \\ [\eta^B(M_4(\rho)) \wedge \eta^B(dQ_1(\rho)) \wedge \eta^B(dQ_2(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_3(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_4(\rho))]\}, \end{aligned} \quad (6.19)$$

де $\eta^{\text{патологія}}(M_4, dQ_1 \div dQ_4)$ – функція приналежності до стану «патологія»;

$\eta^H, \eta^{HC}, \eta^C, \eta^{BC}, \eta^B$ – функції належності нечітких термів H, HC, C, BC, B.

Аналітична модель функцій приналежності η для відповідних нечітких термів на інтервалі $[P_1; P_1 + 4h]$ має вигляд [37]:

$$\eta^H(p) = \begin{cases} -\frac{0.5}{h}p + 1 + \frac{0.5}{h}P_1, p \in [P_1; P_1 + h], \\ -\frac{1}{6h}p + \frac{P_1}{6h} + \frac{4}{6}, p \in [P_1 + h; P_1 + 4h]. \end{cases} \quad (6.20)$$

$$\eta^{HC}(p) = \begin{cases} \frac{1}{2h}p + 0.5 - \frac{1}{2h}P_1, p \in [P_1; P_1 + h], \\ -\frac{1}{2h}p + 1.5 + \frac{P_1}{2h}, p \in [P_1 + h; P_1 + 2h], \\ -\frac{1}{4h}p + 1 + \frac{P_1}{4h}, p \in [P_1 + 2h; P_1 + 4h]. \end{cases} \quad (6.21)$$

$$\eta^C(p) = \begin{cases} \frac{1}{2h}p - \frac{1}{2h}P_1, p \in [P_1; P_1 + 2h], \\ -\frac{1}{2h}p + 2 + \frac{P_1}{2h}, p \in [P_1 + 2h; P_1 + 4h]. \end{cases} \quad (6.22)$$

$$\eta^{BC}(p) = \begin{cases} \frac{1}{4h}p - \frac{1}{4h}P_1, p \in [P_1; P_1 + 2h], \\ \frac{1}{2h}p - 0.5 - \frac{P_1}{2h}, p \in [P_1 + 2h; P_1 + 3h], \\ -\frac{1}{2h}p + 2.5 + \frac{P_1}{2h}, p \in [P_1 + 3h; P_1 + 4h], \end{cases} \quad (6.23)$$

$$\eta^B(p) = \begin{cases} \frac{1}{6h}p - \frac{1}{2h}P_1, & p \in [P_1; P_1 + 3h], \\ \frac{1}{2h}p - 1 - \frac{P_1}{2h}, & p \in [P_1 + 3h; P_1 + 4h]. \end{cases} \quad (6.24)$$

На рисунку 6.13 зображено графік функцій належності нечітких термів на інтервалі $[P_1; P_1 + 4h]$ [37].

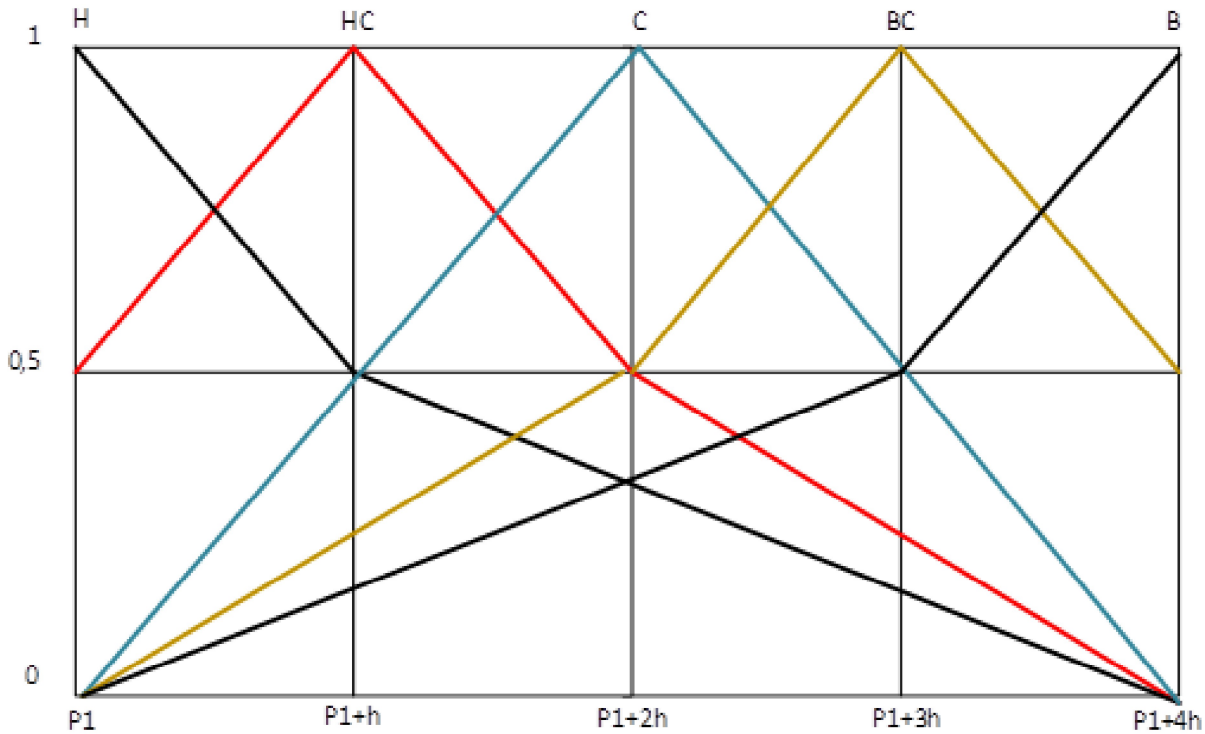


Рисунок 6.13 – Залежність функцій приналежності нечітких термів на проміжку $[P_1; P_1 + 4h]$

«Нечітка» модель вирішального правила для прийняття рішення про наявність патології в лазерній двошхвильовій системі на основі прямого відтворення та аналізу орієнтаційної структури гістологічних зрізів із застосуванням «нечіткої» логіки на довжині хвилі $\lambda_2 = 450$ нм має вигляд :

$$\begin{aligned} \eta^{\text{патологія}}(M_4(\rho), dQ_1(\rho), dQ_2(\rho), dQ_3(\rho), dQ_4(\rho)) = \\ \{[\eta^{BC}(M_4(\rho)) \wedge \eta^{BC}(dQ_1(\rho)) \wedge \eta^B(dQ_2(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_3(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_4(\rho))] \vee \\ [\eta^{BC}(M_4(\rho)) \wedge \eta^B(dQ_1(\rho)) \wedge \eta^B(dQ_2(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_3(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_4(\rho))] \vee \\ [\eta^B(M_4(\rho)) \wedge \eta^{BC}(dQ_1(\rho)) \wedge \eta^B(dQ_2(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_3(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_4(\rho))] \vee \\ [\eta^B(M_4(\rho)) \wedge \eta^B(dQ_1(\rho)) \wedge \eta^B(dQ_2(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_3(\rho)) \wedge \eta^H(dQ_4(\rho))]\}. \end{aligned} \quad (6.25)$$

Співвідношення (6.19)–(6.25) були імплементовані у програмне забезпечення системи, наведеної на рисунку 6.9, для формування підтримки прийняття рішення лікарем при діагностиці онкопатологічного стану шийки матки.

Достовірність отриманих результатів діагностики за лазерним двоххвильовим методом на основі прямого відтворення та аналізу орієнтаційної структури гістологічних зрізів наводиться далі.

Приклад фазових мап для стану норма та патологія шийки матки на довжинах хвиль $\lambda_1 = 0,632$ мкм та $\lambda_2 = 0,450$ мкм представлено на рисунку 6.14, статистичні та кроскореляційні моменти з відхиленнями подано в таблиці 6.5.

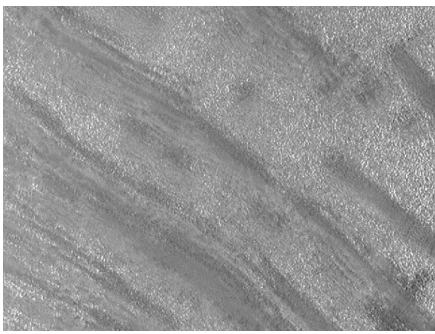
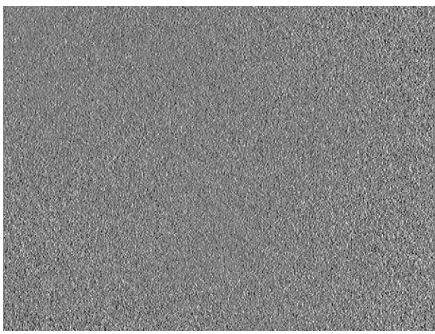
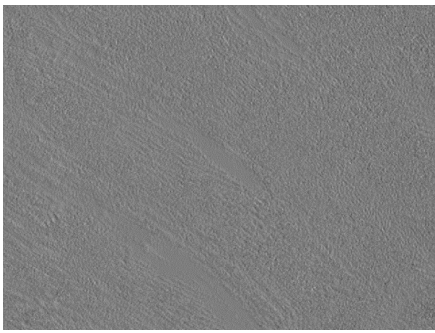
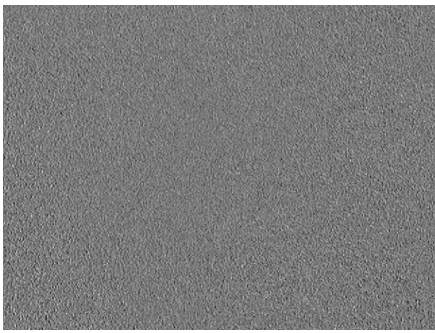
δ	Норма	Патологія
$\delta(\lambda_1)$		
$\delta(\lambda_2)$		

Рисунок 6.14 – Приклади координатних розподілів фазових мап гістологічних зрізів шийки матки в станах «норма» та «патологія» на довжинах хвиль $\lambda_1 = 0,632$ мкм та $\lambda_2 = 0,450$ мкм

Було встановлено інформативні ознаки фазової діагностики зразків БТ на двох довжинах хвиль, а саме:

- оцінки кроскореляційних моментів 1-го, 2-го, 4-го порядків dQ_1, dQ_2, dQ_4 на довжині хвилі λ_1 ;
- оцінка кроскореляційних моментів 1-го – 4-го порядків dQ_1, dQ_2, dQ_3, dQ_4 на довжині хвилі λ_2 .

В таблиці 6.6 представимо «нечіткі» рівні параметрів фазових мап.

Таблиця 6.5 – Оцінки статистичних та кроскореляційних моментів розподілів елементів фазових мап гістологічних зрізів шийки матки двох груп на довжинах хвиль $\lambda_1 = 0,632$ мкм та $\lambda_2 = 0,450$ мкм

№	$M_{i=1;2;3;4}$	M_1	M_2	M_3	M_4	$Q_1(y)$	$Q_2(y)$	$Q_3(y)$	$Q_4(y)$
1	$\delta^n(\lambda_1)$	0,502 ±0,020	0,504 ±0,020	1,010 ±0,001	0,261 ±0,021	0,195 ±0,026	0,200 ±0,028	1,157 ±0,036	0,074 ±0,011
2	$\delta^n(\lambda_1)$	0,485 ±0,020	0,494 ±0,020	1,048 ±0,004	0,276 ±0,020	0,270 ±0,008	0,272 ±0,007	1,038 ±0,005	0,087 ±0,007
3	$\Delta M_i(\lambda_1), \Delta Q_i(\lambda_1)$	1,03	1,02	1,03	1,05	1,384	1,360	1,11	1,17
4	$\delta^n(\lambda_2)$	0,582 ±0,020	0,589 ±0,020	1,040 ±0,003	0,387 ±0,023	0,047 ±0,007	0,079 ±0,004	4,500 ±0,507	0,226 ±0,021
5	$\delta^n(\lambda_2)$	0,518 ±0,020	0,540 ±0,019	1,115 ±0,009	0,387 ±0,019	0,266 ±0,002	0,268 ±0,002	1,035 ±0,001	0,085 ±0,001
6	$\Delta M_i(\lambda_2), \Delta Q_i(\lambda_2)$	1,12	1,09	1,07	1,00	5,65	3,39	4,34	2,65

Таблиця 6.6 – Розкиди статистичних та кроскореляційних параметрів фазових мап БТ для кожного з рівнів на довжині хвилі λ_1

	Н	НС	С	ВС	В
M_1	0,465259– 0,472398	0,472398– 0,486677	0,486677– 0,500956	0,500956– 0,515235	0,515235– 0,522374
M_2	0,473986– 0,480235	0,480235– 0,492735	0,492735– 0,505234	0,505234– 0,517734	0,517734– 0,523983
M_3	1,008885– 1,014294	1,014294– 1,025114	1,025114– 1,035933	1,035933– 1,046753	1,046753– 1,052163
M_4	0,240475– 0,247422	0,247422– 0,261318	0,261318– 0,275214	0,275214– 0,289110	0,289110– 0,296058
Q_1^y	0,169793– 0,183244	0,183244– 0,210146	0,210146– 0,237048	0,237048– 0,263950	0,263950– 0,277401
Q_2^y	0,172600– 0,185890	0,185890– 0,212470	0,212470– 0,239050	0,239050– 0,265630	0,265630– 0,278920
Q_3^y	1,032840– 1,052831	1,052831– 1,092814	1,092814– 1,132796	1,132796– 1,172779	1,172779– 1,192770
Q_4^y	0,064229– 0,067482	0,067482– 0,073986	0,073986– 0,080490	0,080490– 0,086995	0,086995– 0,090247

Враховуючи вищевизначені інформативні ознаки для побудови моделі вирішального правила при вимірюванні фазових мап, отримано таблицю 6.9 відповідності станів застосованим діапазнам нечітких термів.

Таблиця 6.9 – Відповідність станів «норма» – «патологія» діапазнам нечітких термів при вимірюванні орієнтаційних мап при $\lambda_1 = 632$ нм

Стан БТ	Q_1^Y	Q_2^Y	Q_4^Y
Норма	Н	Н	Н
	НС	НС	НС
	С	С	С
			ВС
Патологія	ВС	ВС	ВС
	В	В	В

Математична модель вирішального правила для прийняття рішення про наявність патології (рак шийки матки) в лазерній двохвильовій системі на основі прямого відтворення та аналізу фазової структури гістологічних зрізів із застосуванням «нечіткої» логіки при $\lambda_1 = 632$ нм має вигляд:

$$\begin{aligned}
 \eta^{\text{патологія}}(Q_1^Y(\delta), Q_2^Y(\delta), Q_4^Y(\delta)) = & \\
 & \{[\eta^{BC}(Q_1^Y(\delta)) \wedge \eta^{BC}(Q_2^Y(\delta)) \wedge \eta^{BC}(Q_4^Y(\delta))] \vee \\
 & [\eta^{BC}(Q_1^Y(\delta)) \wedge \eta^{BC}(Q_2^Y(\delta)) \wedge \eta^B(Q_4^Y(\delta))] \vee \\
 & [\eta^{BC}(Q_1^Y(\delta)) \wedge \eta^B(Q_2^Y(\delta)) \wedge \eta^{BC}(Q_4^Y(\delta))] \vee \\
 & [\eta^{BC}(Q_1^Y(\delta)) \wedge \eta^B(Q_2^Y(\delta)) \wedge \eta^B(Q_4^Y(\delta))] \vee \\
 & [\eta^B(Q_1^Y(\delta)) \wedge \eta^{BC}(Q_2^Y(\delta)) \wedge \eta^{BC}(Q_4^Y(\delta))] \vee \\
 & [\eta^B(Q_1^Y(\delta)) \wedge \eta^{BC}(Q_2^Y(\delta)) \wedge \eta^B(Q_4^Y(\delta))] \vee \\
 & [\eta^B(Q_1^Y(\delta)) \wedge \eta^B(Q_2^Y(\delta)) \wedge \eta^{BC}(Q_4^Y(\delta))] \vee \\
 & [\eta^B(Q_1^Y(\delta)) \wedge \eta^B(Q_2^Y(\delta)) \wedge \eta^B(Q_4^Y(\delta))]\}. \tag{6.26}
 \end{aligned}$$

де $\eta^{\text{патологія}}(dQ_1, dQ_2, dQ_4)$ – функція приналежності до стану «патологія»;

$\eta^H, \eta^{HC}, \eta^C, \eta^{BC}, \eta^B$ – функції належності нечітких термів Н, НС, С, ВС, В.

«Нечітка» модель вирішального правила для прийняття рішення про наявність патології в системі, яка розробляється, на основі вимірювання та аналізу фазових параметрів БТ, виміряних на довжині хвилі $\lambda_2 = 450$ нм, виглядає так:

$$\begin{aligned}
 \eta^{\text{патологія}}(Q_1^Y(\delta), Q_2^Y(\delta), Q_3^Y(\delta), Q_4^Y(\delta)) = & \\
 & \{[\eta^B(Q_1^Y(\delta)) \wedge \eta^B(Q_2^Y(\delta)) \wedge \eta^H(Q_3^Y(\delta)) \wedge \eta^H(Q_4^Y(\delta))]\}. \tag{6.27}
 \end{aligned}$$

Співвідношення (6.26) – (6.27) були імплементовані у програмне забезпечення системи, наведеної на рисунку 6.10, для формування підтримки прийняття рішення лікарем при діагностиці онкопатологічного стану шийки матки.

Отже, розроблено методи та системи оцінювання змін орієнтаційної та фазової анізотропії зрізів БТ на основі їх прямого вимірювання та аналізу на довжинах хвиль 632 нм і 450 нм. Це дозволяє збільшити кількість статистичних та кореляційних параметрів, на основі яких виявляються ознаки для подальшої диференціації станів «норма» та «патологія» зрізів БТ, що сприяє підвищенню достовірності подальшого діагностування.

Для визначення достовірності діагностики конкретного типу захворювання за допомогою даної системи було досліджено препарати у вигляді заморожених нативних гістологічних зрізів шийки матки двох груп: 21 зразок зі станом «норма» та 21 зразок зі станом «патологія» (рак шийки матки).

За допомогою вимірювань на даній системі було отримано по 21 мапі орієнтаційних та фазових параметрів стану «норма» та по 21 мапі відповідних параметрів стану «патологія», виміряних на довжинах хвиль 632 нм та 450 нм. Вони були опрацьовані за допомогою власно розробленого програмного забезпечення, яке здійснювало визначення інформативних статистичних та кроскореляційних ознак вказаних 8 типів мап мікроструктурної анізотропії БШ, що отримані на двох довжинах хвиль. Були автоматично отримані рекомендовані рішення по кожному зразку і прописані в бази даних. На основі їх аналізу було отримано таблицю 6.10 із розподілами зразків за результатами проведеної на системі діагностики.

В таблиці 6.10 застосовуються позначення: для істинних результатів тесту, відповідно, позитивних та негативних (TP, TN); для хибних, відповідно, позитивних та негативних (FN, FP) результатів. На їх основі розраховується достовірність D диференціації станів норма-патологія БШ у вигляді

$$D = \frac{TP + TN}{TP + FP + TN + FN}. \quad (6.28)$$

Аналіз отриманих результатів достовірностей діагностики показує, що як при вимірюванні та аналізу орієнтаційних мап, так при вимірюванні та аналізу фазових мап, проведених на довжинах хвиль 632 нм та 450 нм, підвищуються показники достовірності у порівнянні з аналогами [23, 24].

Так, маємо підвищення достовірності діагностики гістологічних зрізів з 83,7 % у випадку застосування однохвильового лазерного прямого метода відтворення орієнтаційних мап БШ [23] до значень 92,8 % при $\lambda_1=632$ нм, і 90,5 % при $\lambda_2=450$ нм у випадку застосування удосконаленого двоххвильового прямого лазерного метода вимірювань орієнтаційних параметрів БШ.

Таблиця 6.10 – Показники достовірності диференціації станів норма – патологія БТ за результатами тесту для різних методів відтворення мікроструктурної анізотропії БТ на двох довжинах хвиль

Параметр	Розподілення зразків за результатами тесту, зразків				Достовірність, %
	TP	FN	TN	FP	
Орієнтаційні мапи ρ ($\lambda_2 = 450$ нм)	19	2	19	2	90,5 %
Орієнтаційні мапи ρ ($\lambda_1 = 632$ нм)	19	2	20	1	92,8 %
Фазові мапи ρ ($\lambda_2 = 450$ нм)	20	1	20	1	95,2 %
Фазові мапи ρ ($\lambda_1 = 632$ нм)	20	1	20	1	95,2 %

Так, для методів прямого вимірювання фазових параметрів БШ маємо підвищення достовірності діагностування гістологічних зрізів шийки матки з 89,5 % для аналога [24] до значень достовірності 95,2 % при $\lambda_1 = 632$ нм та при $\lambda_2 = 450$ нм у випадку застосування удосконаленого двохвильового прямого лазерного метода вимірювань фазових мап БШ.

6.4. Лазерний двохвильовий метод та система мюллер-матричної поляризаційної діагностики гістологічних зрізів

Відомо багато методик, які використовують визначення та аналіз мюллер-матричних зображень (ММЗ) БТ для проведення на їх основі лазерної діагностики гістологічних зрізів БТ.

Роботи вчених I. Ahmad [38], Dr. Antonello De Martino, T. Novikova, Ye Wang [22], S. Alali, A. Vitkin [16], Ушенка О.Г. [2, 3, 7, 8] присвячені розвитку методів мюллер-матричного картографування БТ, як інструментарію для ранньої лазерної поляризаційної діагностики ракових захворювань.

Але обмеження рівня достовірності діагностики БШ на основі вказаних відомих поляризаційних лазерних методів пов'язане, зокрема, із недостатньою повнотою вимірювань та аналізу мюллер-матричних зображень, визначених лише на одній довжині хвилі.

Важливим завданням при цьому є розширення функціональних можливостей лазерної системи мюллер-матричної поляризаційної діагностики гістологічних зрізів із підвищенням достовірності діагностики досліджуваних БТ шляхом проведення вимірювання та автоматичної класифікації ММЗ гістологічних зрізів на двох довжинах хвиль лазера.

Матриця Мюллера $\mathbf{Z}^{(x,y)}$ окремого пікселя (x, y) зображення гістологічного зрізу оптично тонкого БШ визначається як матриця Мюллера біологічного кристалу [2, 3]

$$\mathbf{Z}^{(x,y)} = \begin{vmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & z_{22}^{(x,y)} & z_{23}^{(x,y)} & z_{24}^{(x,y)} \\ 0 & z_{32}^{(x,y)} & z_{33}^{(x,y)} & z_{34}^{(x,y)} \\ 0 & z_{42}^{(x,y)} & z_{43}^{(x,y)} & z_{44}^{(x,y)} \end{vmatrix}, \quad (6.29)$$

де $z_{i,j}$ визначається за відомими формулами (6.2), що пов'язують нахил осі орієнтації кристалу ρ та його фазовий зсув θ .

Тоді враховуючи роздільну здатність камери (MxN), яка формує відповідні зображення елементів матриці Мюллера зразка, та зібравши по всій площі зрізу біологічного шару елементи матриці Мюллера з однаковими індексами (l, k), отримаємо координатні розподіли шістнадцяти елементів (ММЗ), які формуються у вигляді

$$\mathbf{Z}_{lk}(X, Y) = \begin{vmatrix} z_{lk}^{(1,1)} & \dots & z_{lk}^{(1,N)} \\ \cdot & \cdot & \cdot \\ z_{lk}^{(M,1)} & \dots & z_{lk}^{(M,N)} \end{vmatrix}. \quad (6.30)$$

За відомим феноменологічним методом визначення ММЗ вимірювання проводять на одній довжині хвилі 0,632 мкм. З розвитком оптико-електронної елементної бази лазерних випромінювачів та матричних відеоприймальних цифрових камер, що працюють у широкому спектральному діапазоні, виникла можливість реалізувати метод двохвильового визначення елементів мюллер-матричних зображень біологічних шарів.

Архітектура лазерної системи мюллер-матричної поляризаційної діагностики гістологічних зрізів для реалізації двохвильового метода наведена на рисунку 6.15.

Схема містить два лазера, що працюють на довжинах хвиль відповідно 0,634 мкм та 0,450 мкм, які через світлооб'єднувач зв'язані із входом багатоканального поляризаційного опромінювача. Останній забезпечує можливість формування 4 типів поляризації: лінійної з відповідними азимутами $0^\circ; 90^\circ; 45^\circ$ (ПФ0, ПФ90, ПФ45) та «права циркуляція» (ПФ \otimes).

За допомогою проєкційного блоку проєктується масштабовано збільшене зображення зрізу БШ, попередньо розташованого в об'єктному блоці, в площину цифрової камери. Як властиво всім поляризаційним системам, разом

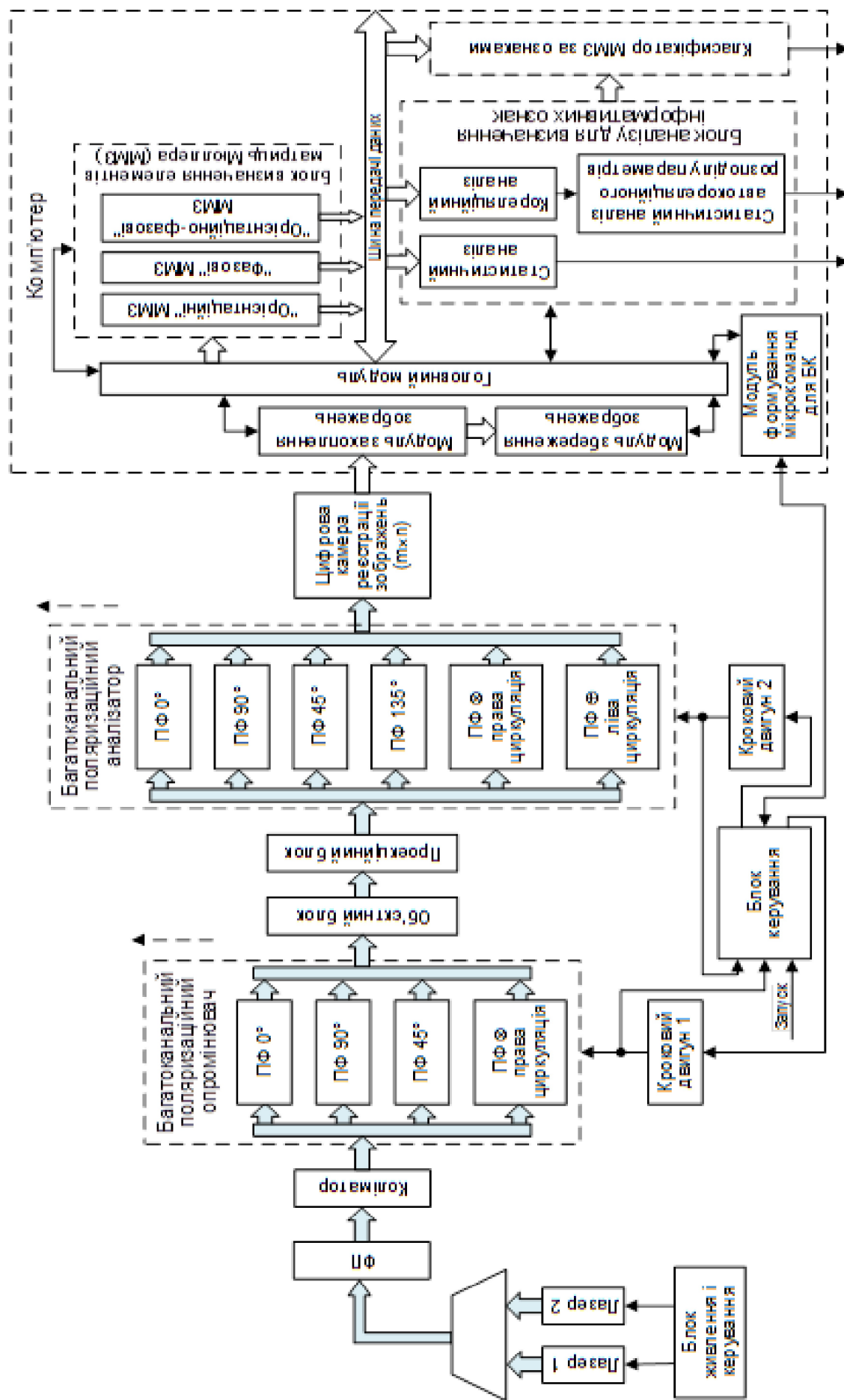


Рисунок 6.15 – Лазерна двошлітова система муллер-матричної поляризаційної діагностики гістологічних зрізів

із блоком поляризаційного опромінення об'єкта система містить багатоканальний поляризаційний аналізатора. Він складається із 6 поляризаційних фільтрів: чотирьох лінійних поляризаційних фільтра ПФ0, ПФ90, ПФ45, ПФ135; одного циркулярного фільтра відповідно з «правою циркуляцією» ПФ⊗ і одного фільтра з «лівою циркуляцією» ПФ⊕. Управління роботою системи здійснюється за допомогою блоку керування та крокових двигунів.

Суть метода двохвильового визначення елементів ММЗ біологічних шарів, що відображається на структурі відповідної лазерної системи, така.

1. Працюємо на першій довжині хвилі лазера 0,635 мкм.

2. На робочій довжині хвилі лазера зондуємо біологічний зріз лазерними пучками одного із чотирьох різних типів поляризації ($\alpha_0 = 0^0; \alpha_0 = 90^0; \alpha_0 = 45^0; \beta_0 = 45^0$), сформованих блоком багатоканального поляризаційного опромінення.

3. На робочій довжині хвилі лазера виконуємо поляризаційну фільтрацію пропущеного через зразок БШ поляризаційного випромінювання за допомогою багатоканального поляризаційного аналізатора. При цьому типи використаних поляризаційних фільтрів $\Theta = (0^0; 90^0; 45^0; 135^0; \otimes; \oplus)$.

4. Реєструємо камерою множину із 24 поляризаційно відфільтрованих зображень.

5. Алгоритмічно на основі відомих співвідношень, обчислюємо розподіли ММЗ типу $z_{ij} (i = \overline{1:4}, j = \overline{1:4})$

$$\begin{aligned} z_{i1} &= 0,5(S_i^0 + S_i^{90}), \\ z_{i2} &= 0,5(S_i^0 - S_i^{90}), \\ z_{i3} &= S_i^{45} - z_{i1}, \\ z_{i4} &= S_i^{\otimes} - z_{i1}, \end{aligned} \tag{6.31}$$

де S_b^a – елемент b -го за номером вектора Стокса при опромінюючому лазерному пучку a -го типу поляризації.

6. Проводимо вимірювання на іншій довжині хвилі 0,450 мкм, повторюючи дії, описані в пунктах 2-4.

Приклади ММЗ гістологічних зрізів шийки матки станів «норма» та «рак шийки матки» наведено на рисунках 6.16 – 6.17, отримані на довжині хвилі 0,635 мкм та на рисунках 6.18-6.19, отримані на довжині хвилі 0,450 мкм.

Для подальших досліджень важливо зазначити, що виділяють дві основні групи ММЗ, які несуть інформацію про певні особливості орієнтаційної та фазової будови полікристалічної структури БШ.

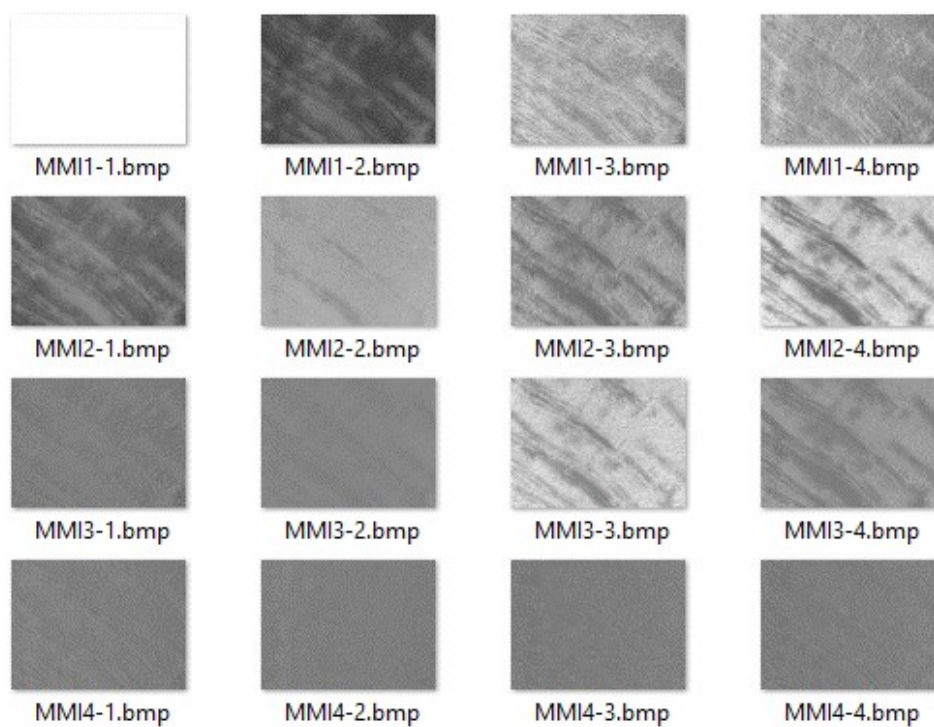


Рисунок 6.16 – ММЗ біологічного шару, виміряні на довжині хвилі 0,635 мкм для стану «норма»

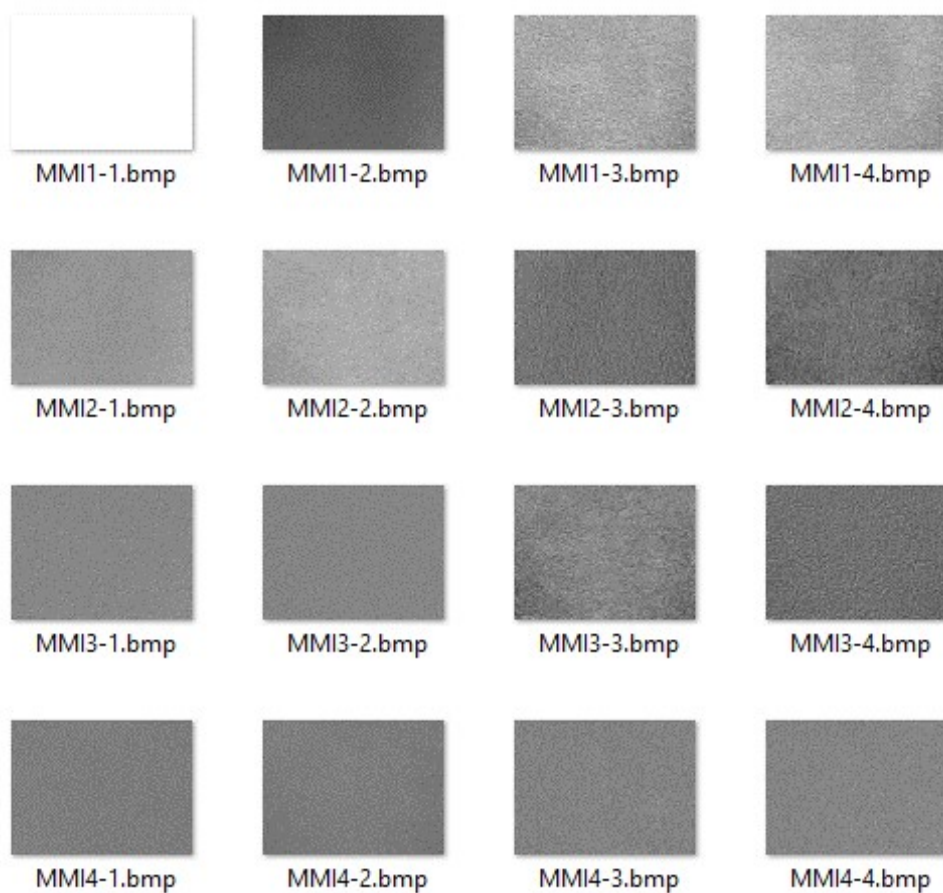


Рисунок 6.17 – ММЗ біологічного шару, виміряні на довжині хвилі 0,635 мкм для стану «патологія»

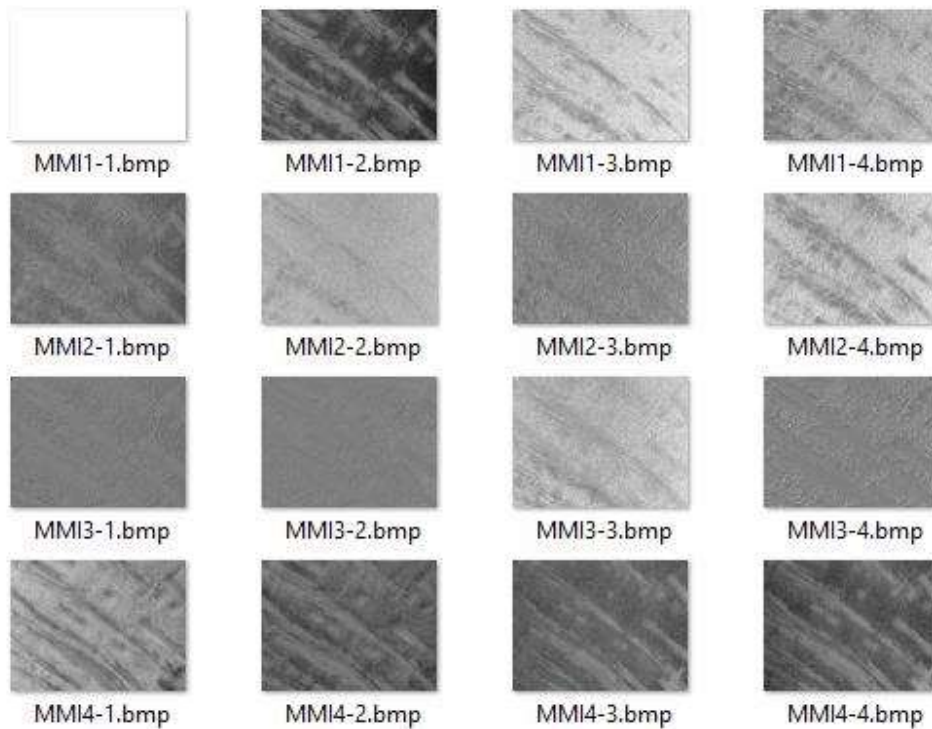


Рисунок 6.18 – ММЗ біологічного шару, виміряні на довжині хвилі 0,450 мкм для стану «норма»

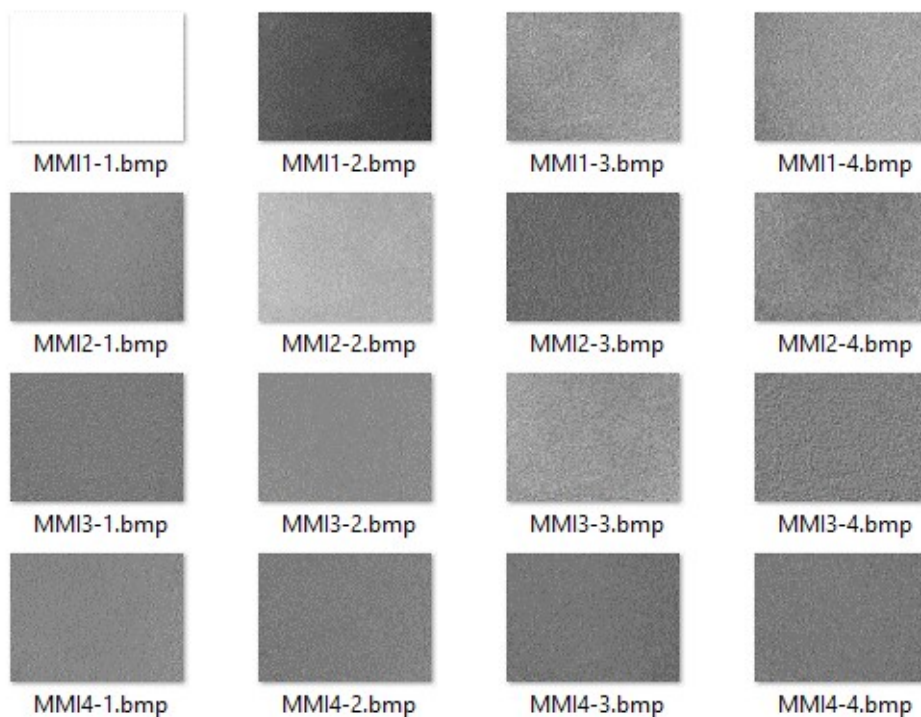


Рисунок 6.19 – ММЗ біологічного шару, виміряні на довжині хвилі 0,450 мкм для стану «патологія»

Так, виділяють першу групу ММЗ, в яких основний внесок у значення елементів відповідних ММЗ дає орієнтаційна складова структури БШ. Це елементи $z_{22}(X, Y)$ та $z_{33}(X, Y)$ – їх називають «орієнтаційними».

Представником другої групи «є елемент $z_{44}(X,Y)$, який визначається лише фазовими зсувами між ортогональними компонентами зондуючої амплітуди лазерної хвилі. Тому елемент називають «фазовим».

Для експериментально одержаної серії ММЗ біологічних шарів Z_{ik} ММЗ тканини шийки матки в стані «норма» та «патологія» обчислювались характеристики: статистичні моменти $M_{j=1;2;3;4}$ координатного розподілу елементів ММЗ; кроскореляційні моменти $dQ_{j=1;2;3;4}$ автокореляційних розподілів. Результати наведено в таблицях 6.11 та 6.12.

Таблиця 6.11 – Характеристики Z_{44} БШ шийки матки

$M_{i=1;2;3;4}$	M_1	M_2	M_3	M_4	dQ_1	dQ_2	dQ_3	dQ_4
$Z_{44}^{НОРМА}(\lambda_1)$	0,50 ±0,020	0,50 ±0,020	1,02 ±0,002	0,27 ±0,020	0,15 ±0,076	0,26 ±0,047	10,09 ±4,306	6,63 ±2,409
$Z_{44}^{ПАТОЛ}(\lambda_1)$	0,52 ±0,020	0,54 ±0,019	1,08 ±0,005	0,36 ±0,021	0,14 ±0,018	0,19 ±0,014	7,62 ±1,168	3,94 ±0,404
$k_i(\lambda_1) = \frac{M_i^{норма}(dQ_i^{норма})}{M_i^{патол}(dQ_i^{патол})}$	1,04	1,08	1,059	1,333	1,071	1,368	1,324	1,682
$Z_{44}^{НОРМА}(\lambda_2)$	0,38 ±0,020	0,40 ±0,019	1,11 ±0,009	0,21 ±0,016	0,89 ±0,021	0,89 ±0,005	1,20 ±0,026	1,15 ±0,023
$Z_{44}^{ПАТОЛ}(\lambda_2)$	0,48 ±0,019	0,52 ±0,018	1,19 ±0,013	0,42 ±0,018	0,15 ±0,007	0,19 ±0,005	6,52 ±0,436	3,38 ±0,150
$k_i(\lambda_2) = \frac{M_i^{норма}(dQ_i^{норма})}{M_i^{патол}(dQ_i^{патол})}$	1,263	1,3	1,072	2	5,933	4,684	5,43	2,94

Таблиця 6.12 – Характеристики Z_{33} БШ шийки матки

$M_{i=1;2;3;4}$	M_1	M_2	M_3	M_4	dQ_1	dQ_2	dQ_3	dQ_4
$Z_{33}^{НОРМА}(\lambda_1)$	0,74 ±0,019	0,75 ±0,019	1,03 ±0,002	0,62 ±0,028	0,67 ±0,028	0,75 ±0,009	1,31 ±0,035	1,07 ±0,022
$Z_{33}^{ПАТОЛ}(\lambda_1)$	0,50 ±0,020	0,53 ±0,019	1,12 ±0,008	0,38 ±0,020	5,57 ±0,48	2,406 ±0,055	0,12 ±0,006	0,16 ±0,006
$k_i(\lambda_1) = \frac{M_i^{норма}(dQ_i^{норма})}{M_i^{патол}(dQ_i^{патол})}$	1,48	1,415	1,087	1,63	8,31	3,208	10,91	6,687
$Z_{33}^{НОРМА}(\lambda_2)$	0,70 ±0,019	0,71 ±0,019	1,04 ±0,003	0,57 ±0,025	0,84 ±0,042	0,89 ±0,016	1,19 ±0,049	1,09 ±0,032
$Z_{33}^{ПАТОЛ}(\lambda_2)$	0,60 ±0,018	0,65 ±0,017	1,17 ±0,010	0,62 ±0,020	0,57 ±0,003	0,59 ±0,002	1,46 ±0,014	1,37 ±0,287
$k_i(\lambda_2) = \frac{M_i^{норма}(dQ_i^{норма})}{M_i^{патол}(dQ_i^{патол})}$	1,16	1,092	1,125	1,087	1,473	1,5	1,226	1,256

Застосовуючи основні принципи побудови класифікаційного правила на основі «нечіткої» логіки до інформативних ознак ММЗ Z_{44}, Z_{33} гістологічних зрізів шийки матки, було отримано функції приналежності їх відповідних станів «норма» $\mu^{норма}$ і «патологія» $\mu^{патологія}$ на двох довжинах хвиль.

За допомогою вимірювань у двохвильовій системі мюллер-матричної поляризаційної діагностики гістологічних зрізів, наведеній на рисунку 6.15, було отримано по 21 мапі ММЗ типу Z_{33} та Z_{44} стану «норма» та по 21 мапі відповідних параметрів стану «патологія», виміряних на довжинах хвиль 632 нм та 450 нм.

В результаті їх аналізу та подальшої класифікації за виведеними правилами на основі «нечіткої» логіки автоматично отримано рекомендовані рішення по кожному зразку.

На основі їх аналізу було отримано таблицю 6.13 із розподілами зразків за результатами проведеної на системі діагностики.

Як видно із таблиці 6.13 практично всі методи діагностики БТ на основі лазерного двохвильового методу мюллер-матричної поляризаційної діагностики гістологічних зрізів дають підвищення достовірності у порівнянні із аналогами.

Так, для методів вимірювання та класифікації фазових ММЗ маємо покращення достовірності діагностики БТ на 2,7 % при $\lambda_1 = 632$ нм і при $\lambda_2 = 450$ нм у порівнянні із аналогом [24].

Так, для методів вимірювання та класифікації орієнтаційних ММЗ маємо покращення достовірності діагностики БТ на 0,4 % при $\lambda_1 = 632$ нм і при $\lambda_2 = 450$ нм.

Таблиця 6.13 – Показники достовірності діагностики у двохвильовій системі мюллер-матричної поляризаційної діагностики гістологічних зрізів

Параметр	Розподілення зразків за результатами тесту, зразків				Достовірність, %
	TP	FN	TN	FP	
Фазові ММЗ Z_{44} при $\lambda_1 = 635$ нм	20	1	19	2	92,8 %
Фазові ММЗ при $\lambda_2 = 450$ нм	19	2	20	1	92,8 %
Орієнтаційні ММЗ Z_{33} при $\lambda_1 = 635$ нм	19	2	19	2	90,5 %
Орієнтаційні ММЗ Z_{33} при $\lambda_2 = 450$ нм	19	2	19	2	90,5 %

6.5. Висновки

Розроблені метод та лазерна система оцінювання патології молочних залоз на основі картографування, аналізу та нейромережевої класифікації азимутів і еліптичностей поляризації зразків плівок плазми крові за рахунок вимірювань на двох довжинах хвиль 675 нм і 405 нм, дозволили підвищити достовірність діагностування та збільшили функціональні можливості для визначення оцінки процесу лікування хворого.

Удосконалено методи та архітектури лазерних систем оцінювання змін мікроструктурної анізотропії зрізів БТ на основі прямого вимірювання та аналізу двовимірних розподілів орієнтаційних та фазових параметрів анізотропії оптично тонких зрізів БТ на двох довжинах хвиль 632 нм та 450 нм з підтримкою прийняття рішення.

Проведено експериментальні дослідження по оцінюванню змін анізотропії гістологічних зрізів шийки матки, обумовлених патологіями, у двоххвильовій лазерній системі діагностики орієнтаційно-фазової структури гістологічних зрізів. Встановлено зростання достовірності діагностування для орієнтаційних параметрів на 9,1 % – 6,8 % для довжин хвиль 632 нм і 450 нм відповідно та зростання достовірності діагностування для фазових параметрів на 5,7 % для цих же довжин хвиль.

На основі двоххвильового лазерного метода вимірювання ММЗ удосконалено структурну організацію двоххвильового поляриметра БТ, що працює на довжинах хвиль напівпровідникових лазерів 632 нм і 450 нм, за рахунок введення автоматизованого класифікатора мюллер-матричних зображень біологічних шарів, побудованого на основі принципів «нечіткої» логіки.

Визначено зростання достовірності діагностування БШ шийки матки максимум на 2,7 % при аналізі фазових ММЗ на обох довжинах хвиль 635 нм і 450 нм.

Список джерел інформації до розділу 6

1. Юштін К. Е. Похибка вимірювання об'єктів з фазовою анізотропією динамічним Мюллер-поляриметром з модуляцією фазового зсуву / К. Е. Юштін, О. П. Толочин // Вісник Київського університету. – Серія: фізико-математичні науки. – 2009. – №2. – С. 207–212.
2. Основи лазерної поляриметрії. Біологічні тканини людини / [Ушенко О. Г., Ушенко Ю. О., Томка Ю. Я. та ін.]; під ред. О. Г. Ушенка. – Чернівці : Чернівецький нац. ун-т, 2010. – 588 с.
3. Основи лазерної поляриметрії. Біологічні рідини / [Ушенко О. Г.,

Бойчук Т. М., Дуболазов О. В. та ін.]; під ред. О. Г. Ушенка, Т. М. Бойчука – Чернівці: Чернівецький нац. ун-т, 2011. – 656 с.

4. Заболотна Н. І., Шолота В. В., Колівошко А. І. Аналіз методів та систем лазерної поляриметрії для відтворення анізотропних параметрів біологічних шарів // Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології. – 2018, № 2 (36), С. 60–71.

5. Cowin S.C. How is a tissue built? / S.C. Cowin // *Journal of Biomedical Engineering*. – 2000. – V.122, Issue 6. – P. 553–568.

6. Tuchin V.V. Polarized light interaction with tissues / V.V. Tuchin // *Journal of Biomedical Optics*. – 2016. – Vol. 21. – №7 – 071114.

7. Лазерна поляриметрична діагностика в біології та медицині / [О. Г. Ушенко, В. П. Пішак, О. В. Ангельський та ін.]; за ред. В. П. Пішака, О. Г. Ушенка. – Чернівці : Медакадемія, 2000. – 305 с.

8. Ushenko A. G. 2D phase tomography of biotissues: Topological structure value of birefringence / A.G. Ushenko // *Proc.SPIE*. – 2004. – Vol.5477. – P. 438–449.

9. Alalia S. Polarized light imaging in biomedicine: emerging Mueller matrix methodologies for bulk tissue assessment / Sanaz Alalia, Alex Vitkin // *Journal of Biomedical Optics*. – 2015. – Vol. 20(6). – 061104.

10. Maria Rosaria Antonelli. Biomedical applications of polarimetric imaging contrast. Initial studies for scattering media and human tissues. *Medical Physics* [physics.med-ph]. Ecole Polytechnique X, 2011. English. – Режим доступу: <https://pastel.archives-ouvertes.fr/pastel-00652201>.

11. Ghosh N. Turbid medium polarimetry in biomedical imaging and diagnosis / N. Ghosh, A. Banerjee, J. Soni // *Eur. Phys. J. Appl. Phys.* – 2011. – Vol.54. – P. 30001.

12. Brink H. B., Blokland G. J. Birefringence of the human foveal area assessed in vivo with Mueller-matrix ellipsometry / H.B. Brink, G. J. Blokland // *J. Opt. Soc. Am.* – 1988. – Vol.5. – P. 49–57.

13. Van de Merwe W.P. Reproducibility and sensitivity of polarized light scattering for identifying bacterial suspension / W.P. van de Merwe, D.R. Huffman, B.V. Bronk // *Applied Optics*. – 1989. – V. 28. – №23. – P. 5052–5057.

14. Van de Merwe W.P. Polarized light scattering for rapid observation of bacterial size changes / W.P. Van de Merwe, Z.Z. Li, B.V. Bronk, J. Czégé // *Biophysical Journal*. – 1997. – V. 73, №1. – P. 500–506.

15. Hemoglobin polymerization in sickle cells studied by circular polarized light scattering / C.T. Gross, H. Salamon, Hunt A.J. [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 1991. – V.1079. – №2. – P. 152–160.

16. Ghosh N. Tissue polarimetry: concepts, challenges, applications, and outlook / N. Ghosh, I.A. Vitkin // *Journal of Biomedical Optics*. – 2011. – V. 16,

№ 11 – 110801.

17. Лазерна поляриметрія біологічних тканин. Діагностика пухлин жіночих репродуктивних органів / [Ушенко О. Г., Пересунько О. П., Сенютович Р. В. та ін.]; під ред. О. Г. Ушенка, О. П. Пересунька, Р. В. Сенютовича. – Чернівці : Чернівецький нац. ун – т, 2010. – 476 с.

18. Polarimetric imaging for the diagnosis of cervical cancer / M. Anastasiadou, A. De Martino, D. Clement [et al.] // *Phys. Status Solidi C.* – 2008. – V. 5 – P. 1423–1426.

19. Ex-vivo characterization of human colon cancer by Mueller polarimetric imaging / A. Pierangelo, A. Benali, M.O. Antonelli [et al.] // *Optics express.* – 2011. – V.19, № 2. – P. 1582–1593.

20. Smith M. H. Mueller matrix imaging polarimetry in dermatology / M.H. Smith // *Proc. SPIE.* – 2000. – Vol. 3911. – P. 1605–7422.

21. Polarimetric imaging of uterine cervix: a casestudy / A. Pierangelo [et al] // *Opt. Express.* - 2013.- Vol.21(12). – P. 14120–14130.

22. Mueller matrix microscope: a quantitative tool to facilitate detections and fibrosis scorings of liver cirrhosis and cancer tissues / Ye Wang, Honghui He, Jintao Chang [et al.] // *Journal of Biomedical Optics.* – 2016. – Vol. 21(7). – 071112.

23. Zabolotna N.I. Orientational tomography of optical axes directions distributions of multilayer biological tissues birefringent polycrystalline networks / N.I. Zabolotna, R.Y. Dovhaliuk // *Proc. SPIE.* – 2013. – Vol. 8873. – 887313; doi: 10.1117/12.2048634.

24. Zabolotna N.I. System of polarization phasometry of polycrystalline blood plasma networks in mammary gland pathology diagnostics / N.I. Zabolotna, B.P. Oliinychenko, K.O. Radchenko, A.K. Krasnoshchoka, O.K. Shcherba // *Proc. of SPIE.* – 2015. – Vol. 9613. – 961311; doi: 10.1117/12.2187383.

25. Тужанський С. Є. Системи лазерної відеополяриметрії для автоматизованого контролю параметрів неоднорідних біотканин : монографія / С. Є. Тужанський, Г. Л. Лисенко. – Вінниця : ВНТУ, 2011. – 156 с.

26. Ушенко В. О. Вектор-параметрична діагностика та диференціація проявів оптичної анізотропії біологічних полікристалічних мереж : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук : спец. 01.04.05 «Оптика, лазерна фізика» / В. О. Ушенко. – Київ, 2015. – 20 с.

27. Пат.47159 Україна, МПК G 01 N 33/483. Спосіб ранньої діагностики і диференціації стадії раку молочної залози / Унгурян В. П., Ушенко О. Г. – №u2000904079; заявл. 27.04.2009; опубл. 25.01.2010, Бюл.№2.

28. Мінцер О. П. Аналіз розподілів азимутів та еліптичностей поляризації лазерних зображень плазми крові для діагностики патологічних змін молочних залоз / О. П. Мінцер, Н. І. Заболотна, Б. П. Олійниченко // *Фотобіологія та фотомедицина.* – 2011. – №1. – С.118–123.

29. System of polarization phasometry of polycrystalline blood plasma

networks in mammary gland pathology diagnostics / Natalia I. Zabolotna , Bogdan P. Oliinichenko, Kostiantyn O. Radchenko [et al.] // Proc. of SPIE. – 2015. – Vol. 9613, 961311.

30. Заболотна Н. І. Інтелектуалізована система поляризаційного картографування плівок плазми крові у діагностиці онкологічного стану молочних залоз / Н. І. Заболотна, Д. Ю. Локотей, Б. П. Олійниченко // Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології. – 2016. – №1 (31) – С. 39–46.

31. Заболотна Н. І. Інтелектуальний аналіз даних в системі мюллер-матричного картографування плазми крові при ідентифікації раку шлунку / Н. І. Заболотна, В. В. Шолота // Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології. – 2017. – №1 (33) – С. 40–48.

32. Заболотна Н. І., Окарський Г. Г. Система автоматизованої двохвильової мюллер-поляриметрії для оцінювання анізотропної структури гістологічних зрізів // Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології. – 2020, №1 (39). С. 37–47.

33. Заболотна Н. І. Метод двохвильового поляризаційного відтворення та аналізу анізотропної структури гістологічних зрізів [Електронний ресурс]: / Н. І. Заболотна, Г.Г. Окарський // XLIX Науково-технічна конференція факультету комп'ютерних систем і автоматики, березень 2020 р. – Режим доступу: <https://conferences.vntu.edu.ua/index.php/all-fksa/all-fksa-2020/paper/view/8818/7337>.

34. Zadeh L.A. The Concept of a Linguistic Variable and its Application to Approximate Reasoning / Zadeh L. A. // In: Fu, K.S., Tou, J.T. (eds) Learning Systems and Intelligent Robots. Springer, Boston, MA, 1974. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-2106-4_1.

35. Perspectives of the application of medical information technologies for assessing the risk of anatomical lesion of the coronary arteries / Pavlov S. V., Mezhiievska I. A., Wójcik W. [et al.] // Science, Technologies, Innovations. – 2023. – №1(25), 44–55 p.

36. Gupta N., Singh H., Singla J. Fuzzy Logic-based Systems for Medical Diagnosis – A Review / N. Gupta, H. Singh, J. Singla // 3rd International Conference on Electronics and Sustainable Communication Systems (ICESC), Coimbatore, India, 2022, pp. 1058-1062, doi: 10.1109/ICESC54411.2022.9885338.

37. Заболотна Н. І, Бісікало О. В., Шолота В. В. Підтримка прийняття рішень в системі поляризаційної зображальної діагностики гістологічних зрізів за аналізом їх параметрів анізотропії // Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології, 2020. – том 40, №2. – С. 29–40.

38. Ex vivo characterization of normal and adenocarcinoma colon samples by Mueller matrix polarimetry. / Ahmad I., Ahmad M., Khan K. [et al.] // Journal of Biomedical Optics. – 2015. – 20(5):56012. – Режим доступу: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.5.056012>.