

ОСНОВИ БАГАТОФУНКЦІОНАЛЬНОЇ МЮЛЛЕР-МАТРИЧНОЇ  
ПОЛЯРИЗАЦІЙНОЇ ТА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЇ ТОМОГРАФІЇ  
БІОЛОГІЧНИХ ШАРІВ

Частина 1

УШЕНКО Ю.О. УШЕНКО В.О. ОЛАР О.В.

ББК 22.34, 22.341.3

О

УДК 535.361; 535.555

Рецензенти:

доктор технічних наук, професор,  
завідувач кафедри загальної фізики та фотоніки Вінницького національного  
технічного університету (ВНТУ),

***С.В. Павлов***

доктор фізико-математичних наук, професор,  
завідувач кафедри оптики фізичного факультету КНУ ім. Т. Шевченка,

***Л.В. Поперенко***

доктор фізико-математичних наук, професор, професор кафедри фізики  
напівпровідників, завідувач відділу НДІ фізики і хімії твердого тіла УжНУ,

***О.О. Грабар***

Ушенко Ю.О., Ушенко В.О.,

Олар О.В.

О Основи багатофункціональної мюллер-матричної поляризаційної  
та флуоресцентної томографії біологічних шарів. Ч.1. – Чернівці: ,  
2021. – 347 с.

ISBN

У монографії наведені результати розробки нових, інформаційно-повних та експериментально відтворюваних підходів до аналізу оптичної анізотропії біологічних тканин і рідин, нові азимутально-інваріантні методи стоксполариметрії з використанням алгоритмів поляризаційної реконструкції та просторово-частотної фільтрації об'єктних полів при розробці об'єктивних критеріїв оцінювання та диференціації ступеня важкості патології досліджуваних зразків.

Монографія розрахована для наукових працівників, викладачів ЗВО, аспірантів та лікарів-діагностів.

ББК 22.34, 22.341.3

Монографія написана за підтримки Національного фонду досліджень України, грант 2020.02/0061

ISBN





Наукова команда проєкту “Новітні методи і системи багатфункціональної мюллер-матричної поляризаційної і флуоресцентної томографії мікро на наноструктури мереж біологічних кристалів” Національного фонду досліджень України 2020.02/0061.

Зліва-направо: Ушенко Юрій Олександрович – керівник проєкту, ГНС, д. ф.-м.н., зав.кафедри комп’ютерних наук ЧНУ ім. Ю.Федьковича;  
 Ушенко Володимир Олександрович – Пров.фахівець, канд. ф.-м.н.;  
 Михайлова Ольга Юріївна – СНС, канд. ф.-м.н.;  
 Дуболазов Олександр Володимирович – СНС, д. ф.-м.н.;  
 Горський Михайло Петрович – СНС, канд. ф.-м.н.;  
 Олар Олександр Валеріувич – СНС, канд. ф.-м.н.;  
 Солтис Ірина Василівна – СНС, канд. ф.-м.н.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	9
Розділ 1. МЕТОДИ І ЗАСОБИ БАГАТОПАРАМЕТРИЧНОЇ МІКРОСКОПІЇ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД).....	13
1.1. Обробка оптичних зображень біологічних структур в медицині. ....	13
1.1.1. Медичні мікроскопічні зображення.....	13
1.1.2. Системи обробки медичних зображень.....	16
1.2. Системи пасивної поляриметрії зображень світлорозсіюючих об'єктів і сцен.....	18
1.2.1. Одновимірні поляриметри.....	18
1.2.2. Двовимірні поляриметри.....	19
1.2.3. Тривимірні поляриметри.....	19
1.3. Методи і засоби поляризаційно-чутливої оптичної когерентної томографії біологічних шарів.....	20
1.4. Фізичні основи, методи та засоби мюллер-матричної лазерної поляриметрії біологічних шарів.....	23
1.4.1. “Одноточкове” поляризаційне картографування мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин.....	24
1.4.2. “Одноточкове” поляризаційне картографування мікроскопічних зображень полікристалічних плівок біологічних рідин.....	26
1.4.3. Вейвлет-аналіз поляризаційних мап полікристалічних мереж плівок плазми крові.....	30
1.4.4. Діагностичні можливості методу стоксполяриметрії з використанням просторово-частотної фільтрації.....	33
1.5. Фізичні основи, методи і засоби “двоточнової” поляризаційно-кореляційної мікроскопії.....	37
1.5.1. Комплексний ступінь взаємної поляризації об'єктних полів біологічних тканин.....	38
1.5.2. Експериментальна апробація КСВП-картографування мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин.....	41

1.6. Діагностичні застосування кореляційного підходу до аналізу деполаризації полів випромінювання, розсіяного біологічними шарами.....	43
1.7. Методи флуоресцентної діагностики біологічних структур..	48
1.8. Діагностичні можливості індукованої лазером флуоресценції цитологічних змивів при онкологічних захворюваннях.....	51
1.9. Підвищення ефективності флуоресцентної діагностики новоутворень шкіри і слизових оболонок в офтальмоонкології.....	60
1.10. Поляризація флуоресценції біологічних шарів.....	63
Розділ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	67
2.1. Методи експериментальних досліджень дослідження.....	67
2.1.1. Багатофункціональна поляризаційна мікроскопія біологічних шарів.....	67
2.1.2. Багатофункціональна поляризаційно-кореляційна мікроскопія біологічних шарів.....	68
2.1.3. Лазерна автофлуоресцентна поляриметрія біологічних шарів.....	69
2.2. Методи аналізу двовимірних розподілів даних багатофункціональної поляризаційної та автофлуоресцентної мікроскопії біологічних шарів.....	70
2.2.1. Статистичний аналіз.....	70
2.2.2. Кореляційний аналіз.....	71
2.2.3. Фрактальний аналіз.....	72
2.2.4. Вейвлет аналіз.....	73
2.2.5. Просторово-частотний аналіз.....	74
2.3. Сукупність параметрів оцінки даних багафункціональної поляризаційної та автофлуоресцентної мікроскопії біологічних шарів.....	75
2.4. Принципова схема та характеристики мікрополяриметра. .	77
2.4.1. Поляризаційна та поляризаційно-кореляційна мікроскопія біологічних шарів.....	77
2.4.2. Система поляризаційної фазометрії.....	78
2.4.3. Стоксполяриметр з просторово-частотною фільтрацією...	80
2.4.4. Автофлуоресцентна лазерна поляриметрія.....	81
2.5. Характеристика об'єктів дослідження.....	82

2.6. Висновки до розділу 2.....	87
Розділ 3. МЕТОДИ Й ЗАСОБИ БАГАТОФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ПОЛЯРИЗАЦІЙНОЇ МІКРОСКОПІЇ ОПТИЧНО АНІЗОТРОПНИХ БІОЛОГІЧНИХ ШАРІВ.....	89
3.1. Аналітичне обґрунтування моделі узагальненої фазової анізотропії біологічного шару.....	89
3.2. Комп'ютерне моделювання взаємозв'язків азимутально- інваріантних мюллер-матричних зображень та параметрів фазової анізотропії планарних мереж біологічних кристалів.....	93
3.3. Азимутальна структура поляризаційних мап і мюллер- матричних зображень полікристалічних мереж реальних біологічних тканин і рідин людини.....	114
3.4. Азимутально-інваріантна багатофункціональна поляризаційна мікроскопія оптико-анізотропних біологічних шарів .....	117
3.5. Азимутально-інваріантне поляризаційне картографування гістологічних зрізів біологічних тканин.....	118
3.6. Азимутально-інваріантне мюллер-матричне картографування гістологічних зрізів біологічних тканин.....	129
3.7. Методи й засоби фазометрії мікроскопічних зображень оптико-анізотропних біологічних об'єктів.....	135
3.8. Висновки до розділу 3.....	147
Розділ 4. МЕТОДИ Й ЗАСОБИ ПОЛЯРИЗАЦІЙНО- КОРЕЛЯЦІЙНОЇ МІКРОСКОПІЇ ОПТИЧНО АНІЗОТРОПНИХ БІОЛОГІЧНИХ ШАРІВ.....	149
4.1. Аналітичне обґрунтування “двоточкового” поляризаційно- кореляційного аналізу проявів фазової анізотропії біологічних шарів на основі визначення комплексного ступеня взаємної анізотропії.....	149
4.2. Комп'ютерне моделювання розподілів значень КСВА планарних полікристалічних мереж.....	154
4.3. Багатофункціональна поляризаційно-кореляційна мікроскопія оптичної анізотропії біологічних шарів.....	159
4.4. КСВА диференціація змін оптичної анізотропії гістологічних зрізів біологічних тканин і плівок біологічних рідин.....	160

4.4.1. Інформативність методу поляризаційно-кореляційного картографування гістологічних зрізів біопсії пухлин стінки матки.....	162
4.5. Поляризаційно-кореляційна мікроскопія планарних оптично анізотропних мереж полікристалічних плівок біологічних рідин.....	163
4.6. Взаємозв'язок між азимутально-інваріантними поляризаційною та поляризаційно-кореляційною мікроскопією біологічних шарів.....	168
4.6.1. Кореляційний підхід до опису топографічної структури вектор-параметричних і мюллер-матричних зображень полікристалічних мереж.....	168
4.6.2. Методика визначення кореляційного К-контуру оптично анізотропних біологічних шарів.....	169
4.6.3. Комп'ютерне моделювання структури кореляційних К-контурів оптично анізотропних мереж різної геометрії.....	170
4.7. Кореляційні К-контури полікристалічних мереж реальних біологічних тканин і плівок біологічних рідин.....	178
4.8. Висновки до розділу 4.....	191
Розділ 5. ДИФЕРЕНЦІАЛЬНА ПОЛЯРИЗАЦІЙНА ТА ПОЛЯРИЗАЦІЙНО-КОРЕЛЯЦІЙНА МІКРОСКОПІЯ ОПТИЧНО АНІЗОТРОПНИХ БІОЛОГІЧНИХ ШАРІВ.....	195
5.1. Вейвлет-аналіз розподілів значень азимутально-незалежних поляризаційних і мюллер-матричних зображень оптично-анізотропних мереж біологічних тканин і полікристалічних плівок біологічних рідин.....	196
5.1.1. Коротка теорія вейвлет-аналізу.....	196
5.1.2. Вейвлет-аналіз поляризаційних мап і мюллер-матричних зображень просторово-структурованої фібрилярної мережі гістологічного зрізу міокарда.....	198
5.1.3. Вейвлет-аналіз розподілів значень мюллер-матричних інваріантів полікристалічної плівки ліквору.....	202
5.1.4. Масштабно-селективна диференціація мюллер-матричних зображень полікристалічних мереж доброякісно зміненої тканини шийки матки.....	204

5.1.5. Масштабно-селективна диференціація мюллер-матричних зображень полікристалічних плівок біологічних рідин.....	208
5.2. Просторово-частотна фур'є-фазометрія лазерного випромінювання перетвореного планарними полікристалічними мережами.....	211
5.2.1. Просторово-частотна та поляризаційно-фазова фільтрація мікроскопічних зображень оптично тонких біологічних шарів.....	212
5.3. Метод просторово-частотного та поляризаційно-фазового картографування мікроскопічних зображень полікристалічних плівок синовіальної рідини.....	218
5.4. Поляризаційно-кореляційна фур'є мікроскопія оптично анізотропних мереж біологічних тканин і плівок біологічних рідин.....	222
5.4.1. Коротка теорія КСВА-картографування з просторово-частотною фільтрацією мікроскопічних зображень.....	223
5.4.2. КСВА-картографування гістологічних зрізів тканини шийки матки з просторово-частотною фільтрацією поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень.....	224
5.5. Висновки до розділу 5.....	230
Розділ 6. БАГАТОФУНКЦІОНАЛЬНА ЛАЗЕРНА АВТОФЛУОРЕСЦЕНТНА ПОЛЯРИМЕТРІЯ ОПТИЧНО АНІЗОТРОПНИХ БІОЛОГІЧНИХ ШАРІВ.....	232
6.1. Мюллер-матричне картографування оптично анізотропних молекулярних флуорофорів біологічних тканин при діагностиці раку.....	232
6.1.1. Теорія методу лазерної автофлуоресцентної поляриметрії мереж біологічних кристалів.....	232
6.1.2. Експериментальна реалізація лазерної автофлуоресцентної поляриметрії.....	238
6.2. Лазерна автофлуоресцентна поляриметрія порфіринів.....	245
6.2.1. Поляризаційна структурність автофлуоресцентних зображень біологічних шарів.....	246

6.2.2.	Поляризаційно-варіабельна	автофлуоресцентна	
біопсія.....			251
6.2.3.	Поляризаційно-варіабельна	автофлуоресцентна	
цитологія.....			256
6.3.	Спектрально-селективна	лазерна	автофлуоресцентна
поляриметрія оптично анізотропних структур біологічних тканин у			
діагностиці раку.....			262
6.3.1.	Метод	спектрально-селективної	лазерної
автофлуоресценції.....			263
6.3.2.	Метод	спектрально-селективної	лазерної
автофлуоресцентної поляриметрії.....			267
6.4.	Висновки до розділу 6.....		279
ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТА ВИСНОВКИ.....			281
СПИСОК ЦИТОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....			285
Додаток А.....			312
Додаток Б.....			314
Додаток В.....			329
Додаток Г.....			336
Додаток Д.....			344

## ВСТУП

Оптичні методи діагностики біологічних об'єктів та візуалізації їх структури займають одне з провідних місць завдяки їх високій інформативності, можливості багатофункціонального (фотометричного, спектрального, поляризаційного та кореляційного) моніторингу досліджуваного середовища. Можна стверджувати, що остаточно сформувався та інтенсивно розвивається новий науковий напрямок – оптика біологічних тканин і рідин [1]. Її основними складовими є теоретичні та експериментальні дослідження переносу фотонів у біологічних тканинах. Серед них виокремився самостійний напрямок – поляризаційна оптика біологічних тканин [2]. Справа в тому, що аналіз поляризаційних характеристик розсіяного випромінювання дозволяє отримувати якісно нові результати [3] про морфологічний та фізіологічний стан біологічних тканин. Зокрема про катаракту кришталика; концентрацію глюкози у тканинах хворих на діабет; злоякісні зміни органів людини.

Більшість біологічних тканин характеризується оптичною анізотропією як на мікроскопічному, так і на макроскопічному рівнях [4]. Відомо, що оптична анізотропія на макроскопічному рівні, викликана просторово впорядкованою фібрилярною структурою протеїнових молекул, обумовлює лінійне двопроменезаломлення. Разом з тим, на даний час недостатньо вивченими є інші механізми анізотропії (оптична активність, дихроїзм) мікроскопічного (молекулярного) рівня структури біологічних об'єктів. Тому, для опису взаємодії поляризованого світла з такими складними системами необхідні багатопараметричні аналітичні підходи. До таких відносяться вектор-параметричне описання світлових пучків та мюллер-матричне представлення поляризаційних властивостей біологічних шарів [5]. На цій основі розроблено різноманітні системи поляризаційної та мюллер-матричної діагностики оптичної анізотропії біологічних об'єктів. Узагальненням даного напрямку поляриметричних досліджень оптики стала лазерна поляриметрія мікроскопічних зображень біологічних тканин [6]. Такий розділ оптики біологічних тканин базується на використанні методів поляризаційного (координатні розподіли значень азимутів і еліптичності поляризації – “поляризаційні мапи”) та мюллер-



матричного (координатні розподіли значень матричних елементів – “мюллер-матричні зображення”) картографування мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин і полікристалічних плівок біологічних рідин. З метою визначення об’єктивних параметрів, які характеризують зміни оптичної анізотропії застосовувався комплексний статистичний, кореляційний та фрактальний аналіз розподілів значень сукупності точок поляризаційних мап мікроскопічних зображень і мюллер-матричних зображень біологічних шарів [7, 8]. В подальшому такі методи будемо називати “одноточковими”.

Основним недоліком “одноточкового” поляриметричного та мюллер-матричного картографування виявилася погана відтворюваність експериментальних даних внаслідок азимутальної залежності величини азимута та еліптичності поляризації, а також більшості матричних елементів від повороту зразку відносно напрямку опромінення. З 16 елементів матриці Мюллера лише 4 є азимутально-незалежними, які в подальшому будемо називати мюллер-матричними інваріантами (ММІ). Тому актуальним є відпрацювання добре відтворюваних (азимутально-незалежних), більш точних методів лазерної поляриметрії шляхом застосування сукупності ММІ та їх комбінацій.

Узагальненням вказаних методів поляриметричного та мюллер-матричного картографування став кореляційний (“двоточковий”) підхід до аналізу координатних розподілів значень азимутів та еліптичності поляризації полів когерентного випромінювання, запропонований та розвинений у [9]. Такий аналіз теоретичного застосовано [10] для описання кореляційної узгодженості між станами поляризації різних точок поляризаційно-неоднорідних лазерних полів шляхом використання “двоточкового” параметру – комплексного ступеня взаємної поляризації (КСВП). На цій основі розроблено азимутально-незалежні експериментальні методики прямого аналізу оптичної анізотропії біологічних шарів шляхом застосування іншого параметру – комплексного ступеня взаємної анізотропії (КСВА), який характеризує кореляційну узгодженість напрямів оптичних осей і величини двопротоменезаломлення полікристалічних мереж.

Паралельно до поляриметричної та кореляційної мікроскопічної діагностики структури біологічних тканин і рідин інтенсивно розвиваються методи, що засновані на діагностичному використанні ефектів флуоресценції білкових молекул та їх комплексів. На цій основі сформувався самостійний напрям оптичної діагностики – флуоресцентна спектрофотометрія, яка ефективно застосовується у діагностиці раку органів людини [11].

Новим кроком у розвитку методів оптичної діагностики біологічних шарів стало успішне поєднання поляриметричного і флуоресцентного методів [12]. Тому перспективним завданням біомедичної оптики виявляється розвиток мюллер-матричного описання оптичної анізотропії біологічних шарів на більш загальний випадок флуоресценції двопротинезаломлюючих мереж оптично активних молекулярних комплексів з фазовою анізотропією. У практичному аспекті актуальною є розробка спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії мікроскопічних зображень біологічних тканин і рідин. Слід очікувати, що об'єднання методів поляризаційного, мюллер-матричного, поляризаційно-кореляційного картографування та лазерної автофлуоресцентної поляриметрії повинно дати нову інформацію про морфологічну та оптично анізотропну структуру біологічних тканин і рідин на мікро- та макрорівнях їх організації. Така інформація актуальна в багатьох фундаментальних застосуваннях біомедичної оптики – дифузійна та фотоакустична томографія, флуорометрія, оптична когерентна томографія, фазова і конфокальна мікроскопія. Можна стверджувати, що оптична діагностика на основі поляризаційної, поляризаційно-кореляційної мікроскопії та автофлуоресцентної поляриметрії потребує подальшого розвитку в плані визначення взаємозв'язків між розподілами параметрів оптичної анізотропії біологічних шарів та експериментально вимірними розподілами параметрів поляризації мікроскопічних та автофлуоресцентних зображень.

Отже, актуальність нашого дослідження зумовлена необхідністю розробки нових комплексних підходів до аналізу лазерних полів біологічних тканин і рідин, пошуку нових азимутально-незалежних методів стокс-поляриметрії, фазометрії, мюллер-матричного картографування; поляризаційно-кореляційного картографування

полікристалічних біологічних мереж, а також лазерної автофлуоресцентної поляриметрії у діагностиці та диференціації проявів механізмів їхньої фазової анізотропії.

## Розділ 1

# МЕТОДИ І ЗАСОБИ БАГАТОПАРАМЕТРИЧНОЇ МІКРОСКОПІЇ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ

## 1.1. Обробка оптичних зображень біологічних структур в медицині

### 1.1.1. Медичні мікроскопічні зображення

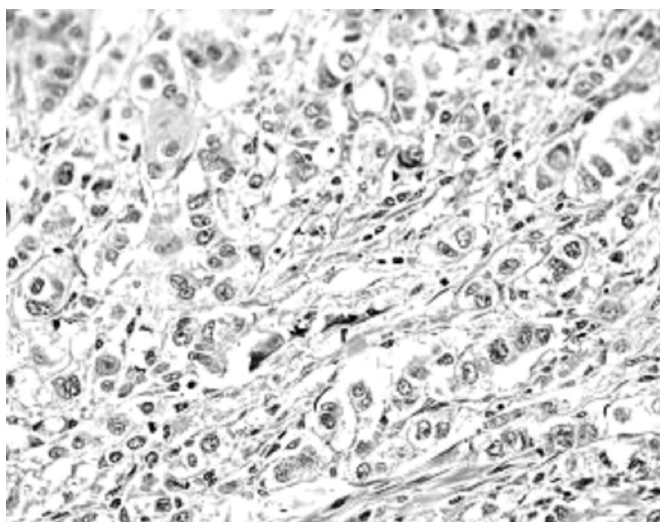
На тканинному і клітинному рівнях дослідження патологічних процесів зазвичай проводяться за допомогою оптичної мікроскопії [13-15]. Завдяки застосуванню методів кількісної морфології анатомо-клінічного дослідження можна визначити оптичні, геометричні, і топологічні характеристики, як для окремих об'єктів дослідження, так і для всього зображення в цілому, які дозволяються описати патологічну картину [16-22].

Медичні зображення прийнято класифікувати по способу їх одержання і галузі, до якої вони відносяться. Виділяють декілька видів медичних зображень [23], основними серед них являються анатомічні (фотографії, рентгенівські знімки, зображення, одержані методами УЗД, ядерно-магнітного резонансу (ЯМР), моделі комп'ютерного томографу) та гістологічні (зображення оптичної і електронної мікроскопії) [24-29].

Дослідженню гістологічних і цитологічних зображень присвячені достатньо багато публікацій, однак більшість із них спрямована на вирішення окремих задач, в яких розглядаються методи дослідження просторової організації клітинних структур, трьохвимірна реконструкція за знімками біологічних структур, що володіють певними видами симетрії [30-32]; голографічний синтез об'ємних медичних і біологічних об'єктів за їхніми ракурсними знімками, одержаних в режимі вторинних електронів [33]; моделювання гіпотетичної молекулярної структури об'єкту шляхом розрахунку плоского зображення та співставлення з істинним зображенням [34]; автоматичне дослідження геометричних і оптичних

характеристик клітинних структур, які спостерігаються в оптичному мікроскопі [35-37]; відновлення первинної структури біополімерів за набором їх фрагментів [33, 38] та ін.

В оптичній мікроскопії існує декілька методів дослідження зображень: світле поле, темне поле, фазовий контраст, інтерференційні методи контрастування, флуоресцентні методи. На гістологічних зображеннях оптичної мікроскопії визначити інформативні об'єкти доволі не просто. Це пов'язано із слабкоконтрастним зображенням клітин і клітинних структур, складністю організації тканини та її структури, наявністю в полі зору різноманітної групи клітин і значною неоднорідністю тканини як фону (рис. 1.1) .



**Рис. 1.1.** Гістологічне зображення оптичної мікроскопії [30]

При обробці медичних зображень оптичної мікроскопії найбільш важливу роль відіграють характеристики зашумленості зображення, однорідність фону, оптичні і геометричні характеристики об'єктів і т.д.

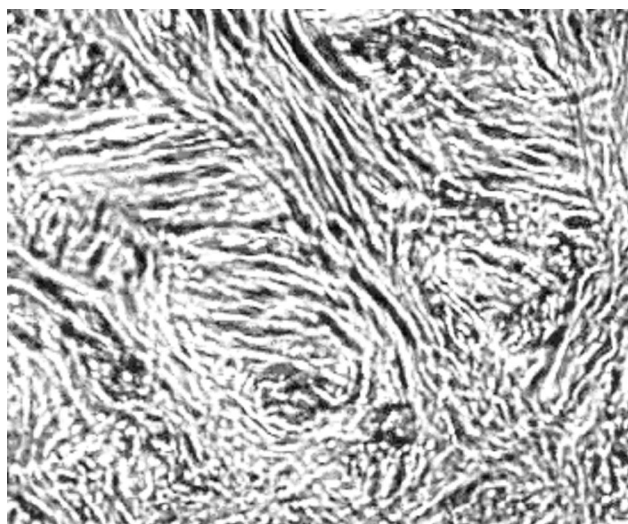
Об'єктом гістологічних досліджень з використанням світлової мікроскопії виступають гістологічні зрізи біологічних тканин. Існує декілька основних типів біологічних тканин [32-36]: епітеліальна, сполучна, м'язова, системи тканин внутрішніх середовищ. Кожна з них має індивідуальну структуру.

Клітини епітеліальної тканини (рис. 1.2) зазвичай виконують захисну і секреторні функції. Тому вони розташовуються шарами і щільно прилягають один до одного.



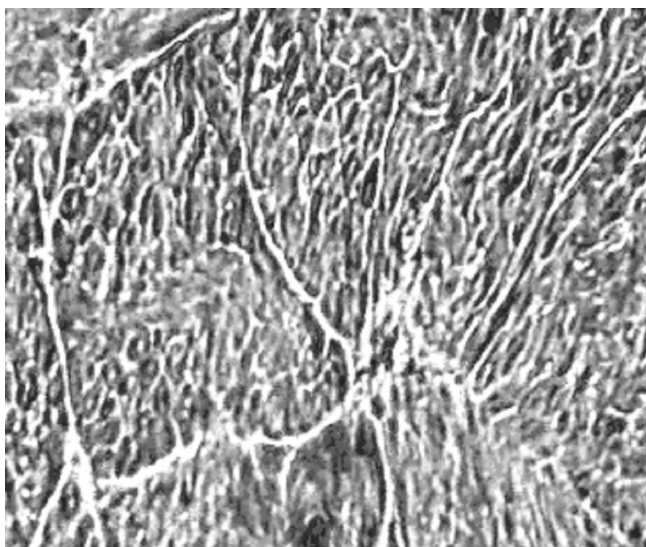
**Рис. 1.2.** Гістологічне зображення фрагменту епітеліальної тканини (високий призматичний епітелій нирки кролика) [30]

Сполучна тканина (рис. 1.3) має велику кількість функцій, але головне її завдання полягає у підтриманні цілісності інших тканин. Зображення тканини визначається як фон з розташованими на ньому гістологічними об'єктами (клітинами, волокнами та судинами).



**Рис. 1.3.** Гістологічні зображення щільної сполучної тканини шкіри пальця людини [30]

М'язова тканина також має складну структуру. М'язові волокна зібрані у пучки, які, в свою чергу, являються складовою частиною більш складних об'єднань. Ця структура відображається на зображеннях м'язової тканини (рис. 1.4).



**Рис. 1.4.** Гістологічні зображення фрагментів гладкої м'язової тканини [30]

### **1.1.2. Системи обробки медичних зображень**

Останнім часом роботи зі створення аналізаторів зображень мікрооб'єктів ведуться у двох напрямках. Перший напрямок – створення серійних спеціалізованих пристроїв різних класів і можливостей. Їх спеціалізація полягає в тому, що деякі геометричні та денситометричні параметри об'єктів або їх зображень визначаються в самому пристрої.

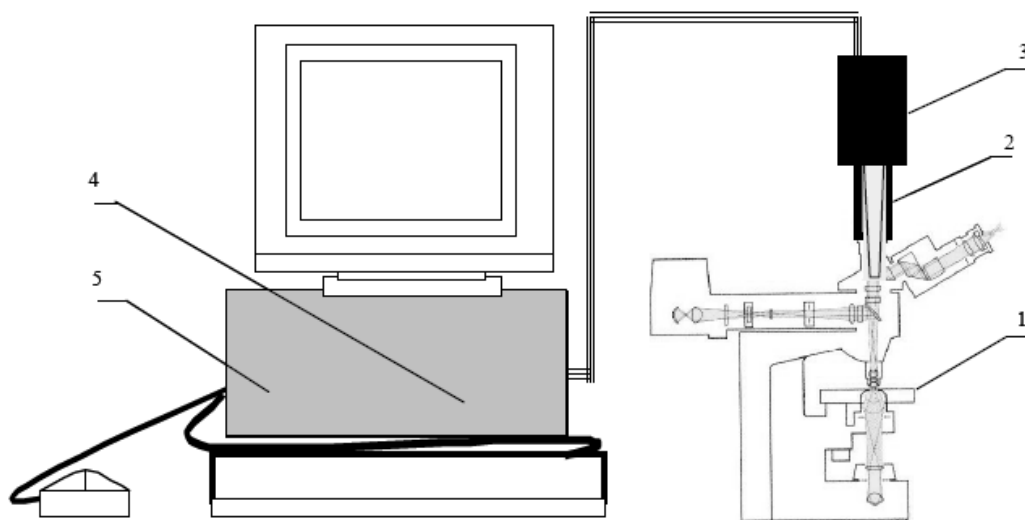
Спеціалізовані аналізатори успішно застосовуються при аналізі проб з лейкоцитами і еритроцитами [38], при визначенні розмірів [35] і зміні ДНК в ядрах окремо лежачих клітин [33].

Другий напрямок - розробка універсальних комп'ютерних комплексів, в яких завдання аналізу зображень повністю покладається на обчислювальну машину. У цьому випадку з'являється можливість аналізувати такі характеристики зображень, як форма і текстура.

Отримання цифрових зображень оптичної мікроскопії зазвичай виконується за допомогою спеціалізованих систем, які найчастіше мають наступну структуру (рис. 1.5):

- персональний комп'ютер стандартної конфігурації;
- модуль електронного введення телевізійного сигналу в комп'ютер, який забезпечує перетворення відеосигналу в код з дискретністю більше 24 двійкових розрядів з можливими масштабуванням і фільтрацією зображення;
- світловий мікроскоп;
- телевізійний датчик;
- комплект системного програмного забезпечення.

Зображення формуються в результаті проходження (відображення в разі темного поля) світлового пучка через препарат. Телевізійна камера приймає образ, сформований пучком, і передає його в якості електронного сигналу на фреймграббер, який оцифровує його і формує зображення.



**Рис. 1.5.** Принципова схема роботи системи аналізу зображень: 1 - мікроскоп; 2 - фотонасадка; 3 - ПЗС-камера, 4 - фреймграббер; 5 - комп'ютер [30]

З фізичної точки зору можна констатувати, що такі системи дають інформацію про біологічні об'єкти у вигляді координатного



розподілу інтенсивності у площині досліджуваного шару. Іншими словами, така інформація відповідає класичній топографічній структурі мікроскопічного зображення біологічного шару. Разом з тим, існують різноманітні інші параметри та характеристики таких зображень. Зокрема, наявність оптичної анізотропії біологічних об'єктів обумовлює наявність фазової та поляризаційної модуляції оптичного випромінювання у площині досліджуваного препарату [30-39]. Тому актуальним є розгляд оптичних зображувальних систем, які дозволяють реєструвати поляризаційні та фазові розподіли відповідних зображень.

## **1.2. Системи пасивної поляриметрії зображень світлорозсіюючих об'єктів і сцен**

Зображувальна поляриметрія – окремий випадок загальної поляриметрії, яка присвячена відображенню розподілів станів поляризації у площині об'єкту або об'єктній сцені, що нас цікавить [40]. Поляризаційні зображення широко застосовуються у галузях дистанційного зондування [41-43], в мікроскопії [44-47], а також для виробничого моніторингу [48-53].

Для поляриметрії зображень, часто найбільш зручно представити інформацію про поляризацію з використанням формалізму вектора Стокса [53 - 70]. Розрізняють декілька типів поляриметрів призначених для вимірювання параметрів вектора Стокса.

### **1.2.1. Одновимірні поляриметри**

Найпростішою можливістю використання поляриметрії в області обробки зображень є розміщення аналізатора поляризації перед камерою, обертання площини пропускання якого забезпечує максимальний контраст між об'єктом і фоном. Подібні методи були використані в підводних зйомках, щоб пом'якшити ефект розсіювання з використанням лінійних і циркулярних поляризаційних фільтрів при неполяризованому і поляризованому освітленні [54-56].

### 1.2.2. Двовимірні поляриметри

У завданнях підвищення відношення сигнал-шум використовують поляриметри, що здійснюють вимірювання двох параметрів вектора Стокса. Головна ідея функціонування таких пристроїв базується на існуванні відмінності між поляризацією випромінювання, перетвореного об'єктом і світлорозсіюючим середовищем, в якому він знаходиться. Такі системи знайшли застосування у ряді завдань оптичного зондування для підвищення контрасту зображення об'єктів на світлорозсіяному фоні. Завдяки цьому збільшується відстань, на якій такі об'єкти можуть бути виявлені з підвищенням відношення сигнал-шум від 2 до 3 [57, 58].

### 1.2.3. Тривимірні поляриметри

Найбільш поширеним класом зображувального поляриметра є пристрій, призначений для вимірювання  $S_0$ ,  $S_1$ , і  $S_2$ . Самий ранній відомий приклад з повним лінійним Стокс поляриметричним зображенням наведений у [48]. Інші системи були розроблені у всіх областях оптичного спектру, які виконують повну лінійну поляриметрію [59-61].

У деяких випадках, необхідно володіти повною інформацією про координатні розподіли лінійних та циркулярних станів поляризації, розсіяного об'єктом електромагнітного випромінювання. Такі системи називають системами зображувальної поляриметрії. Розрізняють два типи зображувальних стоксполіариметрів – пасивні та активні.

Для пасивної системи формування зображення вектор Стокса, повинен оцінюватися для кожного пікселя у досліджуваній об'єктній сцені [62]. Такі системи є основними поляриметричними зондами, за допомогою яких досліджують оптично-неоднорідні об'єкти [63-70].

У всіх активних поляриметрах для освітлення об'єкту використовують джерело випромінювання з відомими та контрольованими параметрами. Таке джерело може випромінювати різнополяризовані пучки світла, які після перетворення аналізуються системою поляризаторів та фазових пластинок. Для кожного стану поляризації опромінюючого пучка у межах кожного пікселя

вимірюється повний набір параметрів вектора Стокса. За рахунок цього обчислюються координатні розподіли елементів матриці Мюллера досліджуваного об'єкту.

У роботі [64] визначили матрицю Мюллера за сукупністю поляриметричних зображень зразків у монохроматичному світлі. У роботі [59] запропоновано поляриметричну систему з використанням білого джерела світла, яке було спектрально відфільтровано перед “входом” в CCD-камеру. У [61] використано лазерне джерело у якості опромінювача.

Зазначені системи зображувальної поляриметрії забезпечують можливість одержання та цифрової обробки поляризаційно-неоднорідних зображень поверхневої структури однократно або багатократно розсіюючих біологічних шарів. Разом із тим, невідомою залишається безпосередня інформація про об'ємну будову таких об'єктів. Таку нішу заповнюють методи оптичної та поляризаційно-чутливої оптичної когерентної томографії.

### **1.3. Методи і засоби поляризаційно-чутливої оптичної когерентної томографії біологічних шарів**

Поляризаційно-чутлива оптична когерентна томографія (ПЧОКТ) є одним із найбільш багатообіцяючих перспективних напрямків розвитку оптичної когерентної томографії (ОКТ) [71-120].

Вимірюванням поляризаційних властивостей зразків біологічної тканини на додачу до оцінки відбиваючої здатності (коефіцієнту відбивання), ПЧОКТ забезпечує підвищення контрасту при виконанні кількісних вимірювань. Взагалі, ПЧОКТ була охарактеризована як універсальний інструмент для аналізу цілісності тканини в реальному часі, що дазується на використанні явища двопротенезаломлення. ПЧОКТ використовувалася у багаточисельних біомедичних застосуваннях, починаючи від визначення глибини опіків до діагностики раку та оцінювання якості колагену [65-75], її найбільш вдале застосування відноситься до офтальмології [93].

За допомогою ПЧОКТ можуть бути отримані такі зображення ока як двопротенезаломлюючі структури типу нервового волокна сітківки, деполяризуючі тканини типу пігментного епітелію сітківки та

недеполяризуючі структури типу фоторецепторного шару [101].

Параметри деполаризації ПЕС можуть бути використані для сегментації цього шару. ПЕС є цікавим з точки зору вікової деградації жовтої плями, де цей шар відіграє ключову роль у розвитку хвороби. Правда часто буває важко ідентифікувати цей процес використовуючи коефіцієнт відбивання в стандартних ОКТ зображеннях [103–111].

Двопроменезаломлення може бути оцінене, шляхом використання ПЧОКТ, й може слугувати маркером у діагностиці глаукоми на додачу до товщини шару нервового волокна [112–117]. У передньому сегменті ока такі структури як склера, сполучна тканина та трабекулярна мережа можуть бути розрізнені за їх поляризаційними властивостями [118, 119].

Сучасний технологічний прогрес призвів до суттєвого збільшення у швидкості отримання зображень та чутливості шляхом використання методу детектування у фур'є-площині [86–93].

Використання високошвидкісних камер лінійного сканування у спектрометрах, що базуються на ОКТ у фур'є площині було продемонстровано аксіальне сканування зі швидкістю у декілька сотень кілогерц [120]. Для клінічного застосування швидке отримання зображень є важливим для отримання більшого набору даних за короткий час. Це полегшує отримання об'ємних зображень зі зменшеною кількістю артефактів, що вибиваються внаслідок рух. Спекл-шум може бути зменшений і контраст зображення підвищений внаслідок сканування поперечного перерізу декілька разів із усереднюванням по кадрах.

Розвиток новітніх лазерних пристроїв став ключовою технологією для реалізації ОКТ у фур'є області, коли використовуються джерела зі змінною частотою. Були винайдені полігонні сканери, що базуються на лазерах зі змінною частотою порядку декількох сотень та навіть мільйонів змін за секунду [85–89]. Окрім високого рівня зміни частоти, багато лазерів випромінюють у вузькому спектральному інтервалі [100, 104]. У фур'є-області вузька лінія та відповідна велика довжина когерентності дозволяють отримувати зображення на глибинах до декількох міліметрів.

Для вимірювання поляризаційних властивостей зразка за

допомогою ПЧОКТ його опромінюють світлом з відомим станом поляризації використовуючи недеполяризуючу оптику або волокно з подальшим детектуванням ОКТ сигналу у поляризаційно чутливому реєструючому модулі [71, 86, 91].

Системи з недеполяризуючою оптикою мають перевагу внаслідок того, що стан поляризації зонduючого випромінювання може бути добре визначений, тому вони широко застосовуються для отримання офтальмологічних зображень.

Волоконно-оптичні системи забезпечують додаткову зручність та застосовуються у ендоскопії, але мають недолік пов'язаний із тим, що волокно, внаслідок змін двоприменезаломлення, викликає зміни у стані поляризації опромінюючого пучка. З цих причин, в системах, які засновані на одномодовому волокні зазвичай використовуються два різні стани поляризації з відомим співвідношенням інтенсивності на додачу до поляризаційно чутливого детектування [72, 112]. Це вимагає або послідовного зондування випромінюванням із двома станами поляризації або мультиплексування таких пучків. Методи ПЧОКТ використовують послідовне опромінення з двома або більше станами поляризації, що потребує послідовної реєстрації, а це, у свою чергу, проявляється у зменшенні швидкості отримання зображень та у збільшенні фазового шуму. Навпаки, у схемах із мультиплексуванням швидкість отримання та якість зображення краща завдяки одночасній реєстрації сигналів із двома станами поляризації опромінюючого випромінювання [104, 105]. Цей підхід базується на використанні ОКТ із джерелами зі змінною частотою та поляризаційну модуляцію на основі електрооптичних та акустооптичних пристроїв [82, 97, 118].

В основу адекватної оцінки даних покладаються оптичні моделі біологічних тканин. Це дуже важливо в дослідженнях патогенезу хвороб та розробці нової терапії для хвороб сітківки таких як глаукома або діабетичної ретинопатії. В даний гістологія є золотим стандартом у цих дослідженнях. Для ОКТ і ПЧОКТ існують перспективи стати новим об'єктивним стандартом у дослідженнях, де патологічні зміни сітківки можуть бути візуалізовані у реальному часі [81].

Отже, застосування двовимірних поляризаційно-чутливих систем діагностики двоприменезаломлення відкриває нові можливості у дослідженні розподілів оптичної анізотропії біологічних тканин різних

типів. Зображувальна поляриметрия виокремилися у самостійний напрямок фундаментальних і прикладних досліджень в біомедичній оптиці. Проте, зазначена галузь біомедичної діагностики потребує подальшої систематизації, як у сенсі використання єдиних модельних підходів до аналізу формування полів розсіяного випромінювання, так і до застосування єдиних алгоритмів обробки одержаних даних.

#### **1.4. Фізичні основи, методи та засоби мюллер-матричної лазерної поляриметрії біологічних шарів**

Все різноманіття біологічних структур є оптично неоднорідними. Їх можна розбити на два великих основних класи [121-124]:

- Багатократно розсіюючі тканини шкіри, стінки судин, мозку і т.ін. Для описання оптичних властивостей таких об'єктів використовують модель багатократного розсіювання скалярних хвиль у випадково-неоднорідному середовищі з поглинанням [125-129].
- Однократно розсіюючі середовища - оптично тонкі шари біологічних тканин та плівок біологічних рідин, оптичні властивості яких описуються за допомогою моделі одноразового розсіювання впорядкованого середовища зі щільно наповненими центрами розсіювання [125-129].

Спільним "знаменником" всіх методик діагностики структури та стану біологічних об'єктів є інформаційна повнота одержаних оптичних (спектрофотометричних, поляризаційних або кореляційних) даних.

Найбільш інформативними та експериментально доступними є мюллер-матричні дослідження явищ світлорозсіяння біологічними тканинами і рідинами [123]. Суть цього методу [125, 130, 131] добре відома, а сам метод широко експериментально апробований в багаточисельних дослідженнях [132-149].

Виділяють два основні підходи в дослідженнях структури матриць Мюллера.

Перший, - це дослідження кутових залежностей елементів матриці Мюллера. Даний підхід є інтегральним, який визначає взаємозв'язки між оптичними властивостями біологічного об'єкту та статистично усередненими за всіма оптичними неоднорідностями

значеннями матричних елементів [132-135, 138-141]. Такий мюллер-матричний метод виявився діагностично чутливим до зміни оптичної анізотропії біологічних шарів різних типів. Зокрема, індикатрисис (кутові залежності) значень елементів матриці Мюллера кришталіків ока людини виявились залежними від форми і дисперсії розмірів розсіювачів. Завдяки цьому реалізована диференціація поляризаційних властивостей нормальних й катарактальних кришталіків [132 – 135, 157 – 159]. Виявлено фізичні чинники таких відмінностей - поява великих несферичних частинок в об'ємі каламутного кришталіку.

Статистичні мюллер-матричні дослідження були також ефективно використані для офтальмологічних досліджень різноманітних тканин ока від рогівки до ретини. Такий підхід дозволив діагностувати інші офтальмологічні захворювання, такі як глаукома [156 - 164]. Окрім цього виявлено спосіб детектування невеликих внутрішніх крововиливів за рахунок сильного розсіяння на еритроцитах [152].

Зазначені індикатрисні мюллер-матричні методи стали базою для розробки сукупності різноманітних часткових моделей, використання яких дозволяє прогнозувати процеси перетворення біологічними шарами стану поляризації оптичного випромінювання [159 – 177].

Другий підхід - лазерної поляриметрії, базується на можливості одержання координатних розподілів значень параметрів поляризації та величин матричних елементів (Мюллер-матричних зображень) у точках площині досліджуваного оптично-неоднорідного біологічного шару [136, 137, 142 – 149]. Такий підхід у подальшому будемо називати "одноточковим".

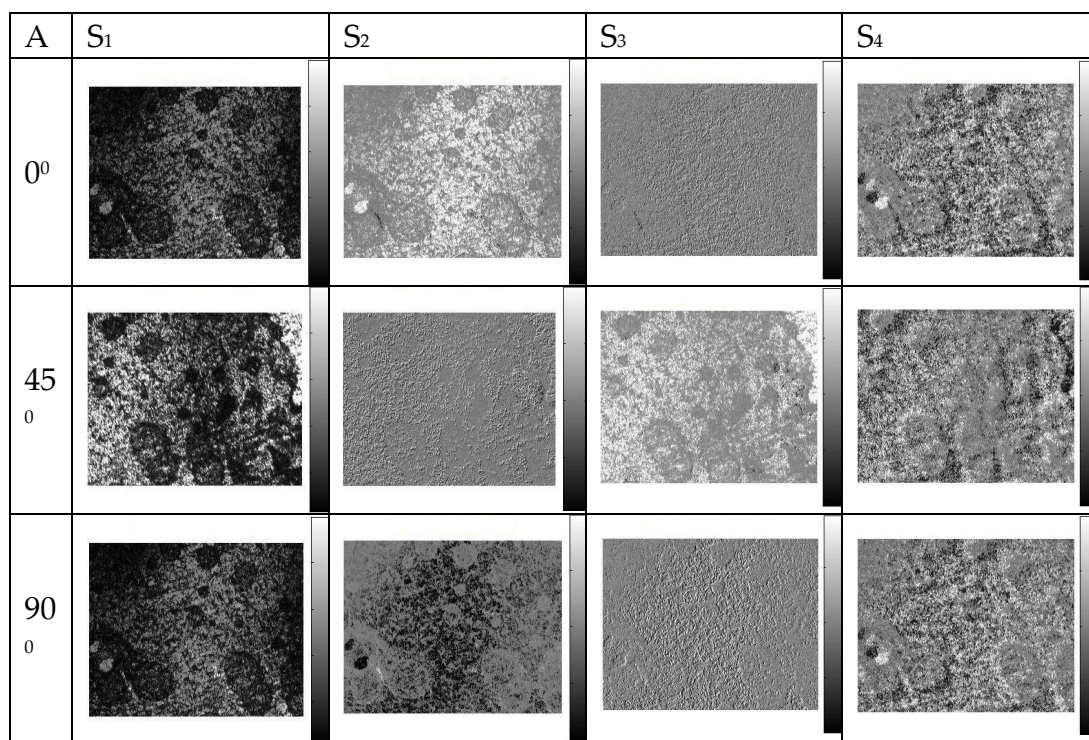
#### **1.4.1. "Одноточкове" поляризаційне картографування мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин**

Даний параграф містить аналіз результатів трансформації біологічними тканинами координатних розподілів значень параметрів вектора Стокса поляризаційно-неоднорідних об'єктних полів, які були проведені у серії експериментальних досліджень [163-165]. В якості

об'єктів використовувались гістологічні зрізи сполучної тканини людини.

На рис. 1.6 наведено координатні розподіли значень параметрів вектора Стокса  $S_i(x, y)$  поляризаційно-неоднорідних об'єктних полів гістологічних зрізів сполучної тканини [163].

Одержані у роботах [163-165] дані виявили, що для кожного сталого азимута поляризації  $\alpha_0 = \text{const}$  опромінюючої лазерної хвилі формуються індивідуальні координатні розподіли  $S_i(x, y)$ .



**Рис. 1.6.** Координатні розподіли значень параметрів вектора Стокса поляризаційно-неоднорідного об'єктного поля сполучної тканини у ближній зоні дифракції для різних азимутів  $\alpha_0 = 0^\circ; 45^\circ; 90^\circ$  лазерного випромінювання [163]

У результаті виконаних досліджень [163-165] встановлено взаємозв'язки між змінами значень статистичних моментів 1-го - 4-го порядків, які характеризують розподіли величини параметрів Стокса, і змінами аналогічних параметрів, обчислених для розподілів напрямів оптичних осей і фазових зсувів, що вносяться



двопроменезаломлюючими протеїновими кристалами шарів епітеліальної, сполучної та м'язової тканини.

Разом з тим, головним недоліком двовимірної стоксполяриметрії мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин є азимутальна залежність (рис. 1.6) одержаних даних. У цьому сенсі такі фундаментально важливі результати не в повній мірі (у сенсі їх лабораторної відтворюваності) є придатними до прикладних застосувань.

З іншого боку, “поза увагою” двовимірної стоксполяриметрії залишилось широке коло, легко доступних біологічних об’єктів – біологічних рідин. Такі об’єкти являють собою планарні полікристалічні мережі, що сформовані різноманітними за конфігурацією та оптичними властивостями біохімічних кристалів. Головна привабливість поляризаційного картографування таких структур пов’язана із можливістю використання одержаних даних у широкомасштабних скринінгових дослідженнях.

#### **1.4.2. “Одноточкове” поляризаційне картографування мікроскопічних зображень полікристалічних плівок біологічних рідин**

У [166] було виявлено поляризаційну неоднорідність мікроскопічних зображень полікристалічних структур плівок біологічних рідин людини, які складаються з основних типів амінокислот – альбуміну, глобуліну та ін.

Основні результати вказаного дослідження ілюструють рис. 1.7, рис. 1.8. Тут представлена серія мікроскопічних зображень кристалічних шарів альбуміну (рис. 1.6), глобуліну (рис. 1.7) одержаних в лінійно поляризованому випромінюванні для різних ( $0^{\circ}; 45^{\circ}; 90^{\circ}; 135^{\circ}$ ) значень кута  $\Theta$  між площинами пропускання аналізатора та поляризатора.

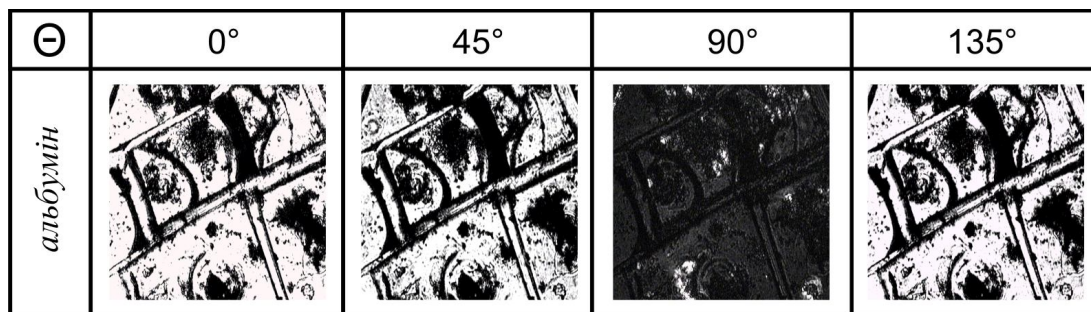


Рис. 1.7. Поляризаційно відфільтровані мікроскопічні зображення шару альбуміну [166]

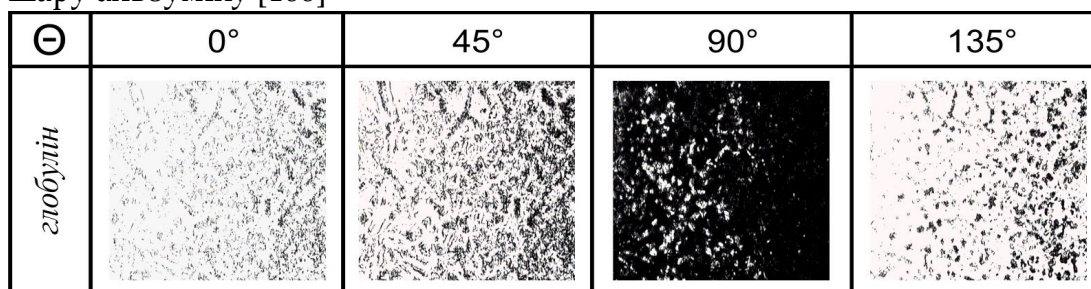


Рис. 1.8. Поляризаційно відфільтровані мікроскопічні зображення шару глобуліну [166]

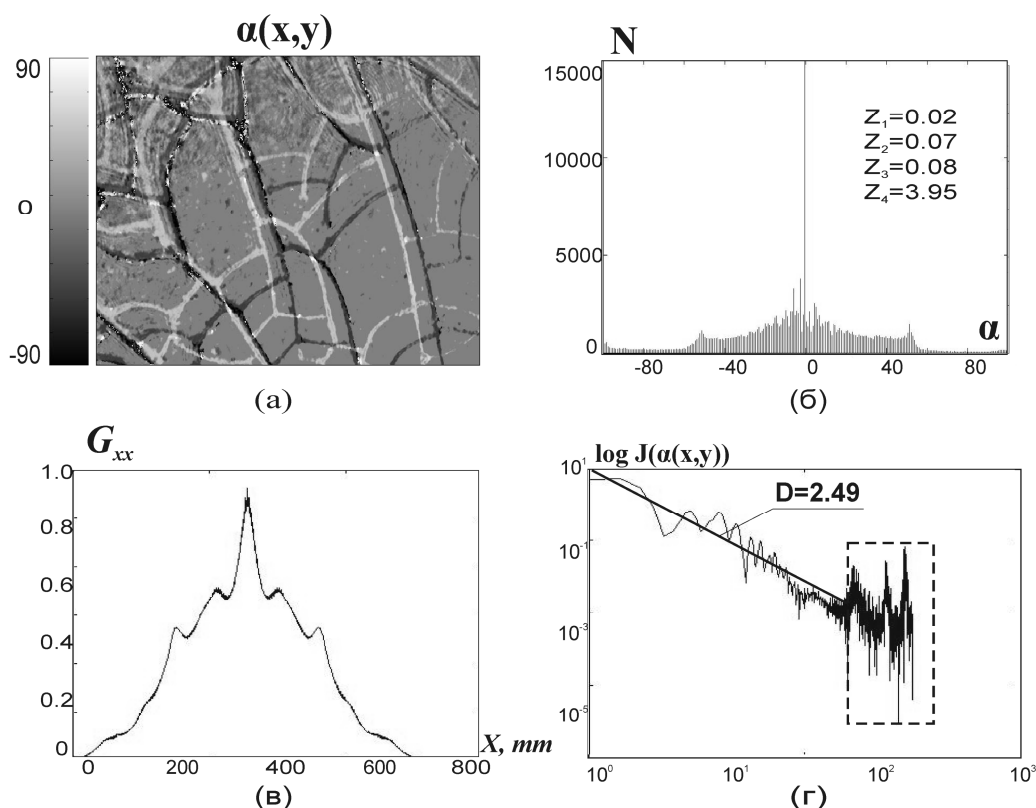
Проведені дослідження процесів перетворення амплітудно – фазових параметрів лазерного випромінювання полікристалічними шарами різних типів амінокислот виявили їхню оптичну анізотропію. На цій основі у циклі праць [167-173], які систематизовані у дисертації [174] розроблено основи поляризаційного картографування полікристалічних плівок біологічних рідин на прикладі плазми крові. Тут досліджувався взаємозв'язок між оптично-анізотропними властивостями кристалічних амінокислот плазми крові людини та поляризаційно-неоднорідною структурою мікроскопічних зображень.

Результати таких досліджень ілюструють рис. 1.9 і рис. 1.10, де наведені:

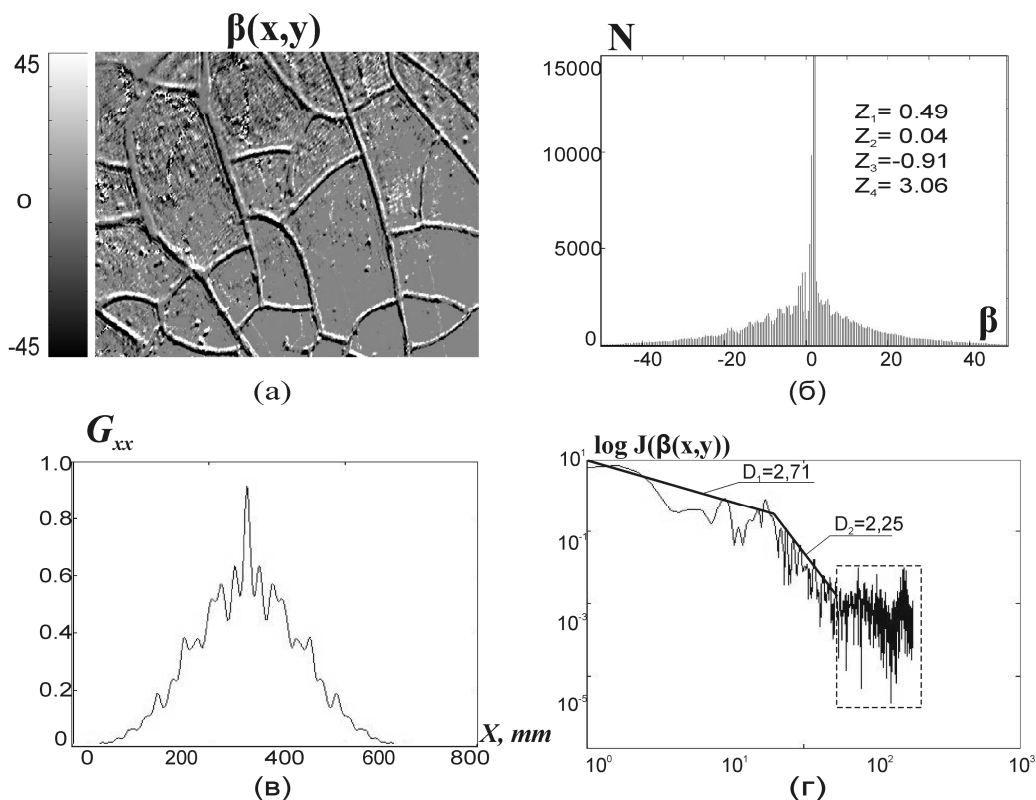
- координатні розподіли значень азимутів  $\alpha(x,y)$  (рис. 1.9.(а)); еліптичності  $\beta(x,y)$  (рис. 1.10(а)) поляризації мікроскопічних зображень полікристалічних плівок плазми крові;
- гістограми  $h(\alpha)$  (рис. 1.9(б)) та  $h(\beta)$  (рис. 1.10(б)) розподілу значень поляризаційних параметрів мікроскопічних зображень полікристалічних плівок плазми крові;

- автокореляційні функції координатних розподілів значень  $\alpha(x,y)$  (рис. 1.9(в)) та  $\beta(x,y)$  (рис. 1.10(в)) мікроскопічних зображень полікристалічних плівок плазми крові;
- логарифмічні залежності спектрів потужності  $(\lg J(\alpha) - \lg(d^{-1}))$  (рис. 1.9(г)) та  $(\lg J(\beta) - \lg(d^{-1}))$  (рис. 1.10(г)) розподілів значень поляризаційних параметрів мікроскопічних зображень полікристалічних плівок плазми крові.

У роботах [178-181] встановлено, що мікроскопічні зображення таких плівок складаються з двох складових - великомасштабних ділянок з однорідною поляризацією  $\alpha^*(x,y) = \alpha_0 = 0^0$  і поляризаційно-неоднорідних ділянок  $\alpha(\Delta x, \Delta y) = const; \beta(\Delta x, \Delta y) = const$ , - лазерні зображення елементів полікристалічної альбумін - глобулінової сітки.



**Рис. 1.9.** Поляризаційна мапа азимутів  $\alpha(x,y)$  (а), її статистичні (б), кореляційні (в) та фрактальні (г) розподіли (пояснення у тексті) плазми крові здорової людини [174]



**Рис. 1.10.** Поляризаційна мапа еліптичності  $\beta(x,y)$  (а), її статистичні (б), кореляційні (в) та фрактальні (г) розподіли (пояснення у тексті) плазми крові здорової людини [174]

Кореляційний і фрактальний аналіз розподілів значень азимута поляризації мікроскопічного зображення шару плазми крові здорової людини виявили практично самоподібну структуру у межах всього діапазону зміни геометричних розмірів від 50 мкм до 1000 мкм.

Для плівки плазми крові людини з запальним процесом має місце трансформація статистичної і фрактальної структури поляризаційних мап азимутів  $\alpha(x,y)$  і еліптичності  $\beta(x,y)$  відповідного мікроскопічного зображення.

Одержані у [170-173] результати було покладено в основу розробки та обґрунтування методів оптичної діагностики та диференціації різних типів патології людського організму на основі лазерної поляриметрії полікристалічних структур плазми крові людини.

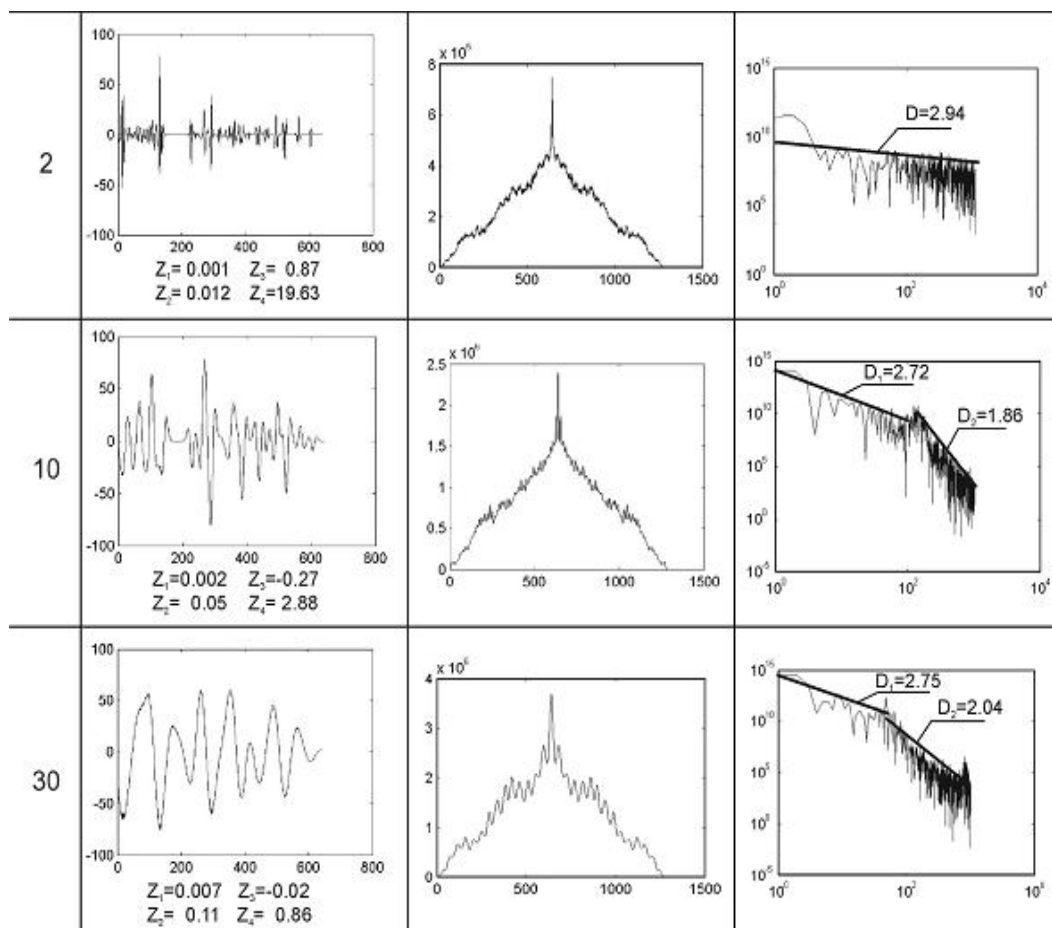
Разом з тим такі планарні оптично-анізотропні біологічні шари володіють достатньо слабкою здатністю до модуляції значень азимута та еліптичності поляризації лазерного випромінювання. Тому для покращення чутливості “одноточкової” поляриметрії необхідним є розробка додаткових засобів обробки та аналізу розподілів значень поляризаційних мап мікроскопічних зображень планарних полікристалічних мереж біохімічних кристалів.

#### **1.4.3. Вейвлет-аналіз поляризаційних мап полікристалічних мереж плівок плазми крові**

Застосування вейвлет-підходу дозволяє селективно вивчати закономірності координатних розподілів значень азимутів  $\alpha(x, y)$  та еліптичності  $\beta(x, y)$  поляризації мікроскопічних зображень плівок плазми крові у різних діапазонах (масштабах) геометричних розмірів біохімічних кристалів. Це було системно досліджено у циклі праць [168, 172, 174].

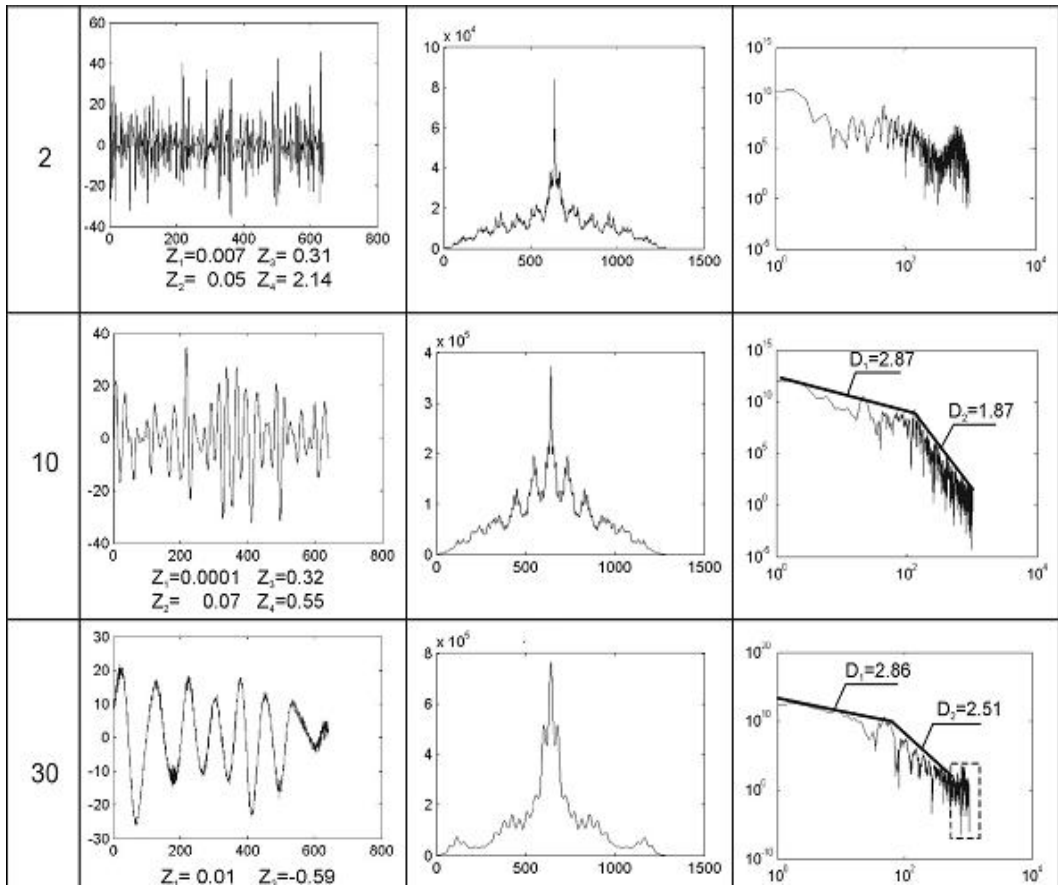
У роботах [178, 182-184, 189, 190] запропонована комплексна методика статистичного, кореляційного і фрактального аналізу розподілів значень вейвлет-коефіцієнтів на різних масштабах полікристалічних структур. Результати такого аналізу розподілів величини амплітуди таких коефіцієнтів ( $W_{a=const;b=1 \div m}$ ) наведено на серії рис. 1.11 і рис. 1.12.

У [174] шляхом вейвлет – аналізу розподілів поляризаційних параметрів мікроскопічних зображень плівок плазми крові встановлено взаємозв’язок між величинами статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли значень амплітуди вейвлет – коефіцієнтів поляризаційних мап, та розподіли напрямів оптичних осей і величини двопротенезаломлення парціальних кристалів альбуміну і глобуліну на різних масштабах їх геометричних розмірів.



**Рис. 1.11.** Статистичні (статистичні моменти  $Z_i$  - ліва колонка), кореляційні (центральна колонка) та фрактальні (фрактальні розмірності  $D_i$  - права колонка) параметри розподілів значень вейвлет – коефіцієнтів  $\overline{W}_{a=const; b=1 \div m}$  поляризаційної мапи азимутів  $\alpha(x, y)$  мікроскопічного зображення плівки плазми крові здорової людини [174]

Виявлені статистичні і фрактальні критерії діагностики орієнтаційно - фазової структури різних масштабних рівнів полікристалічних мереж альбуміну і глобуліну за розподілами амплітуд вейвлет – коефіцієнтів, обчислених для множин значень азимута і еліптичності поляризації мікроскопічних зображень плівок плазми крові.



**Рис. 1.12.** Статистичні (статистичні моменти  $Z_i$  - ліва колонка), кореляційні (центральна колонка) та фрактальні (фрактальні розмірності  $D_i$  - права колонка) параметри розподілів значень вейвлет – коефіцієнтів  $\bar{W}_{a=const, b=l+m}$  поляризаційної мапи азимутів  $\alpha(x, y)$  мікроскопічного зображення плівки плазми крові людини з ішемічною хворобою серця [174]

До таких критеріїв відноситься трансформація мультифрактального у випадковий розподіл величини амплітуд вейвлет – коефіцієнтів, які характеризують множини значень еліптичності поляризації мікроскопічного зображення плівки плазми крові, взятої у хворого на серцеву недостатність.

У рамках статистичного підходу виявлено, що зростання асиметрії та ексцесу, що характеризують розподіли величини

амплітуди вейвлет – коефіцієнтів, обчислених для множин азимута і еліптичності поляризації мікроскопічних зображень мереж кристалів глобуліну плівки плазми крові на локальному масштабі ( $d = 10\text{мкм} \div 15\text{мкм}$ ) геометричних розмірів обумовлено гострим запальним процесом.

Одержані результати дозволили продемонструвати зростання чутливості даного методу масштабно-селективної обробки двовірних розподілів значень поляризаційних мап мікроскопічних зображень плівок плазми крові. Фізично це обумовлює розширення функціональних можливостей “одноточкової” мікроскопії полікристалічних плівок біологічних рідин.

Разом з тим, така методика є виключно теоретичною і суттєво залежною від вибору конкретної аналітичної вейвлет-функції, що “сканує” розподіли значень азимута та еліптичності поляризації мікроскопічного зображення.

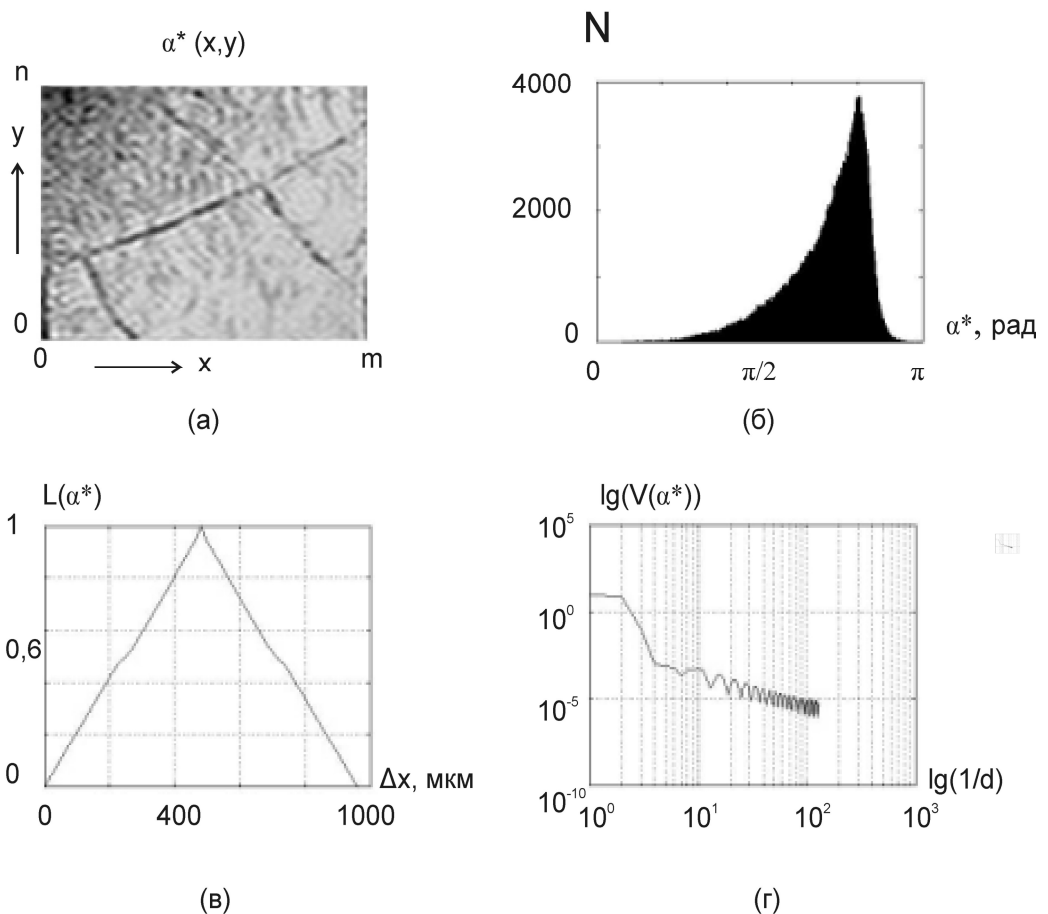
Більш привабливим та об’єктивним виявився інший напрям поляриметрії – стоксполариметрія на основі просторово-частотної фільтрації поляризаційно-неоднорідних об’єктних полів у Фур’є площині.

#### **1.4.4. Діагностичні можливості методу стоксполариметрії з використанням просторово-частотної фільтрації**

Вперше такий підхід був запропонований у роботах [175, 176] та систематизований у [177].

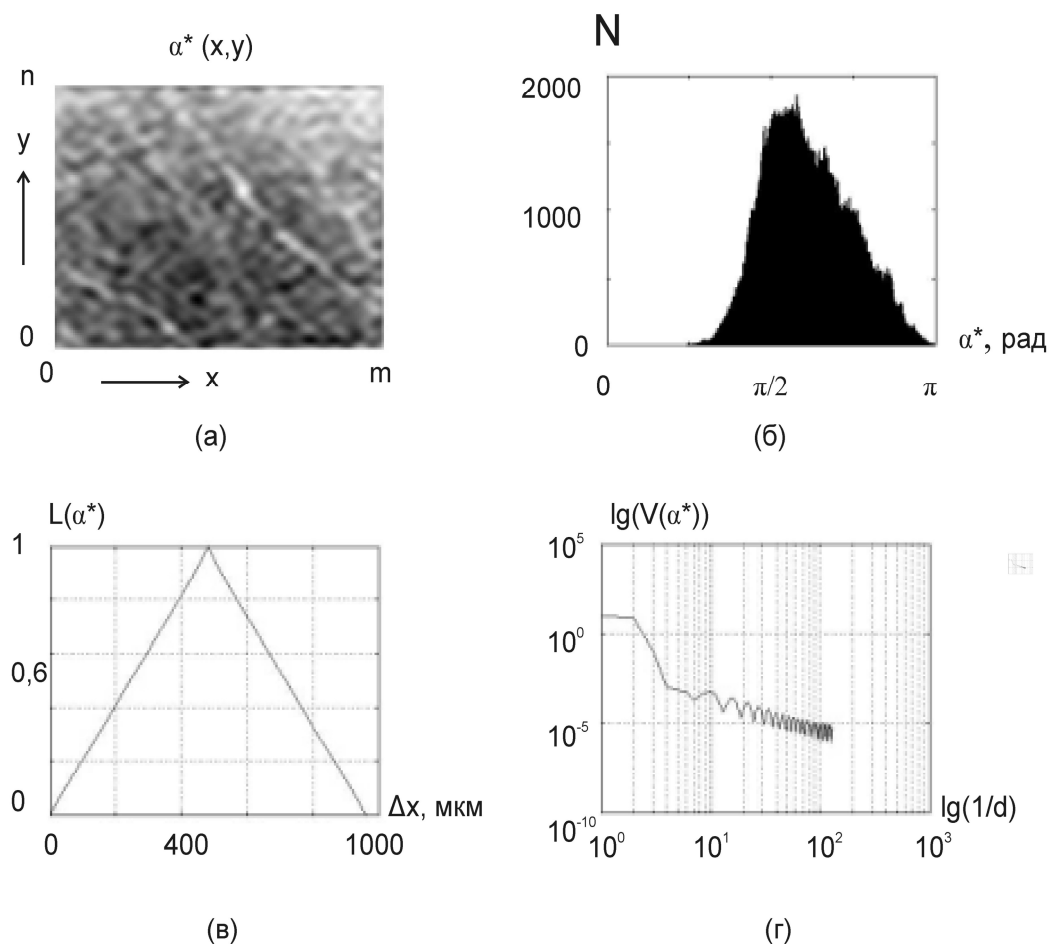
Діагностичні можливості методу стоксполариметрії з використанням просторово-частотної фільтрації розподілів азимутів поляризації мікроскопічних зображень полікристалічних плівок плазми крові донорів та хворих на рак простати ілюструють залежності, що наведені на рис. 1.13 і рис. 1.14.





**Рис. 1.13.** Великомасштабна (“альбумінова”) мапа ( $\alpha^*(x,y)$  - (а)), гістограма ( $N(\alpha^*)$  - (б)), автокореляційна функція ( $L(\Delta x)$  - (в)), логарифмічна залежність спектру потужності ( $\lg V - \lg d^{-1}(\tau)$ ) розподілу значень азимута поляризації мікроскопічного зображення ( $d(x,y)$ ) плівок плазми крові здорової людини [177]

Порівняльний аналіз результатів дослідження [175-177] сукупності статистичних, кореляційних та масштабно самоподібних параметрів, які характеризують розподіли значень азимута  $\alpha^*(x,y)$  виявив більш асиметричну будову гістограм їх випадкових значень у мікроскопічному зображенні плівок плазми крові здорової людини (рис. 1.13 (б)) у порівнянні з аналогічним розподілом, обчисленим для плівки плазми крові хворого на рак простати (рис. 1.14 (б)).



**Рис. 1.14.** Великомасштабна (“альбумінова”) мапа ( $\alpha^*(x,y)$  - (а)), гістограма ( $N(\alpha^*)$  - (б)), автокореляційна функція ( $L(\Delta x)$  - (в)), логарифмічна залежність спектру потужності ( $\lg V - \lg d^{-1}$  (г)) розподілу значень азимута поляризації мікроскопічного зображення ( $d(x,y)$ ) плівок плазми крові людини хворої на рак простати [177]

У рамках кореляційного аналізу виявлено монотонне спадання автокореляційних функцій розподілів значень азимута поляризації  $\alpha^*(x,y)$  мікроскопічних зображень плівок плазми крові обох типів (рис. 1.13 (в); рис. 1.14 (в)). Це вказує на координатну однорідність розподілів значень азимутів поляризації в мікроскопічних зображеннях мережі кристалів альбуміну.

У рамках фрактального аналізу встановлена масштабна самоподібність двовірних розподілів значень азимутів поляризації в мікроскопічних зображеннях полікристалічних плівок плазми крові (рис. 1.13 (г); рис. 1.14 (г)).

У [177] приведена сукупність об'єктивних параметрів, значення яких чутливі до змін двопротенезаломення полікристалічних мереж плівок плазми крові людини з раком простати:

- статистичні моменти 3-го і 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли значень  $\alpha^*(x, y)$  низькочастотної складової поляризаційної мапи азимута поля в мікроскопічному зображенні плівки плазми крові. Міжгрупові відмінності цих значень складають від 7 ( $M_3$ ) до 10 ( $M_4$ ) разів;

- кореляційні моменти 2-го і 4-го порядків, які характеризують залежності автокореляційних функцій, що розраховані для поляризаційних розподілів значень  $\alpha^*(x, y)$  у полі мікроскопічних зображень плівки плазми крові. Міжгрупові відмінності цих значень складають від 2,2 ( $K_2$ ) до 4 ( $K_4$ ) разів;

Отже, у проаналізованих роботах [175-177], відмічено та фізично обгрунтовано взаємозв'язок між статистичними і кореляційними моментами 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли оптичних осей та фазових зсувів та розподіли значень азимутів та еліптичності поляризації мікроскопічних зображень полікристалічних плівок плазми крові.

Проте, такі експериментальні дослідження є азимутально-залежними від кута повороту зразка відносно напрямку опромінення. Одним з варіантів розширення функціональних можливостей та уникнення азимутальної залежності даних, що одержуються за допомогою поляриметричних вимірювань є кореляційні, так звані “двоточкові” підходи до аналізу полів розсіяного біологічними шарами випромінювання.

### 1.5. Фізичні основи, методи і засоби “двоточкової” поляризаційно-кореляційної мікроскопії

Для аналізу поляризаційно-неоднорідних полів оптичного випромінювання у циклі досліджень [178-190] запропоновано новий підхід, який базується на узагальненні матриці когерентності  $\{K(r, \tau)\}$  поляризаційною матрицею когерентності  $\{\Phi(r_1, r_2, \tau)\}$  для двох точок  $(r_1, r_2)$

$$\{K(r, \tau)\} \Rightarrow \{\Phi(r_1, r_2, \tau)\}; \quad (1.1)$$

$$\left\| \begin{array}{cc} \langle U_x(r, \tau) U_x^*(r, \tau) \rangle & \langle U_x(r, \tau) U_y^*(r, \tau) \rangle \\ \langle U_y(r, \tau) U_x^*(r, \tau) \rangle & \langle U_y(r, \tau) U_y^*(r, \tau) \rangle \end{array} \right\| \Rightarrow \left\| \begin{array}{cc} \langle U_x(r_1, \tau) U_x^*(r_2, \tau) \rangle & \langle U_x(r_1, \tau) U_y^*(r_2, \tau) \rangle \\ \langle U_y(r_1, \tau) U_x^*(r_2, \tau) \rangle & \langle U_y(r_1, \tau) U_y^*(r_2, \tau) \rangle \end{array} \right\| \quad (1.2)$$

Згідно рівняння (1.2) головним параметром, який характеризує кореляцію між станами поляризації об’єктного поля в різних точках  $(r_1, r_2)$  з інтенсивностями  $I(r_1, \tau); I(r_2, \tau)$ , є комплексний ступінь взаємної поляризації  $V(r_1, r_2, \tau)$  [181, 182]. Даний параметр записують у наступному вигляді

$$V^2(r_1, r_2, \tau) = 4 \frac{v_1^2 + v_2^2 + v_3^2}{I(r_1, \tau) I(r_2, \tau)}, \quad (1.3)$$

де коефіцієнти  $v_i$  визначаються виразами

$$\begin{aligned} v_1 &= \frac{\langle U_x(r_1, \tau) U_x^*(r_2, \tau) \rangle - \langle U_y(r_1, \tau) U_y^*(r_2, \tau) \rangle}{2}; \\ v_2 &= \frac{\langle U_x(r_1, \tau) U_y^*(r_2, \tau) \rangle + \langle U_y(r_1, \tau) U_x^*(r_2, \tau) \rangle}{2}; \\ v_3 &= i \frac{\langle U_x(r_1, \tau) U_y^*(r_2, \tau) \rangle - \langle U_y(r_1, \tau) U_x^*(r_2, \tau) \rangle}{2} \end{aligned} \quad (1.4)$$

та означають різниці величин видності інтерференційних картин, сформованих хвилями, що йдуть від точок  $r_1, r_2$  та вимірюваних крізь поляризаційний фільтр з різним азимутом площини пропускання. При цьому,  $v_1$  – різниця для кутів обертання площини пропускання аналізатора  $0^\circ, 90^\circ$ ;  $v_2$  – для кутів  $45^\circ, 135^\circ$ ;  $v_3$  – для фазовозсуваючих пластинок з правою та лівою циркуляціями.

Індекси  $x$  і  $y$  вказують на стан поляризації, а кутові скобки описують часове усереднення.

### 1.5.1. Комплексний ступінь взаємної поляризації об'єктних полів біологічних тканин

У даному параграфі приведено аналіз матеріалів [191, 192], які ілюструють можливість визначення дійсної та уявної частини комплексного ступеня взаємної поляризації шляхом вимірювання станів поляризації лазерної хвилі у різних точках об'єктного поля.

Величина комплексного ступеня взаємної поляризації для двох точок  $(r_1, r_2)$  лазерного зображення біологічної тканини визначається співвідношенням

$$V(r_1, r_2) = \frac{(U_x(r_1)U_x(r_2) - U_y(r_1)U_y(r_2))^2 + 4U_x(r_1)U_x(r_2)U_y(r_1)U_y(r_2)\exp(i(\delta_2(r_2) - \delta_1(r_1)))}{(U_x^2(r_1) + U_y^2(r_1))(U_x^2(r_2) + U_y^2(r_2))}. \quad (1.5)$$

Основні характеристичні значення параметру  $V$  для точок  $(r_1, r_2)$  з різними типами поляризації (колінеарні та ортогональні; лінійні з різними азимутами; лінійні та циркулярні і т.ін.) наведені в таблиці 1.1.

**Таблиця 1.1.** Значення комплексного ступеня взаємної поляризації  $V(r_1, r_2)$  двох точок  $(r_1, r_2)$  з різними типами світлових коливань

$U(r_1)$	$U(r_2)$	$V(r_1, r_2)$
$U_x(r_1); U_x(r_1) + U_y(r_1)\exp(i\delta)$	$U_x(r_2); U_x(r_2) + U_y(r_2)\exp(i\delta)$	1
$U_x(r_1)$	$U_x(r_2) + U_y(r_2)$	$\frac{U_x^2(r_2)}{U_x^2(r_2) + U_y^2(r_2)}$
$U_x(r_1)$	$U_x(r_2) + iU_y(r_2)$	0.5
$U_x(r_1); U_x(r_1) + U_y(r_1)\exp(i\delta)$	$U_y(r_2); U_x(r_2) - U_y(r_2)\exp(i\delta)$	0

Отже, введений у [181, 182], комплексний ступінь взаємної поляризації  $V(r_1, r_2)$  виявився чутливим до зміни станів поляризації у різних точках об'єктного поля і був використаний у якості нового, додаткового діагностичного параметру оцінювання структури поляризаційно-неоднорідних полів, сформованих біологічними об'єктами.

Однією з головних переваг поляризаційної корелометрії у порівнянні з методами лазерної поляриметрії є азимутальна інваріантність (незалежність від орієнтації  $\rho$  оптичної осі двоприменезаломлюючого кристала) параметру  $V$ , який згідно (1.5) визначається відносно сталого базису розкладу  $(XOY)$  амплітуди лазерного випромінювання.

На даний час відомі діагностичні методи [136, 156, 159], що базуються на експериментальному дослідженні статистичних ( $M^{(s)}$ ) і фрактальних ( $\eta$ ) параметрів координатних розподілів значень дійсної частини  $\text{Re}[V(X, Y)]$  комплексного ступеня взаємної поляризації  $V(X, Y)$  мікроскопічних зображень біологічних тканин різної морфологічної будови і фізіологічного стану

$$\text{Re}[V(r_1, r_2)] = \frac{(E_x(r_1)E_x(r_2) - E_y(r_1)E_y(r_2))^2 + 4E_x(r_1)E_x(r_2)E_y(r_1)E_y(r_2)\cos(\delta_2(r_2) - \delta_1(r_1))}{(E_x^2(r_1) + E_y^2(r_1))(E_x^2(r_2) + E_y^2(r_2))}. \quad (1.6)$$

З метою виявлення додаткових інформаційних можливостей поляризаційної корелометрії мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин у [191] вираз (1.5) для комплексного ступеня взаємної поляризації  $V$  було представлено через реальну та уявні частини

$$V(r_1, r_2) = \frac{(U_x(r_1)U_x(r_2) - U_y(r_1)U_y(r_2))^2 + 4U_x(r_1)U_x(r_2)U_y(r_1)U_y(r_2)(\cos\delta_{12} + i\sin\delta_{12})}{(U_x^2(r_1) + U_y^2(r_1))(U_x^2(r_2) + U_y^2(r_2))} \quad (1.7)$$

Тут  $\delta_{12} = \delta_2(r_2) - \delta_1(r_1)$  - різниця фаз у точках мікроскопічного зображення з координатами  $r_1$  і  $r_2$ .

Із (1.7) визначалася дійсна ( $\text{Re}\{V\}$ ) та уявна ( $\text{Im}\{V\}$ ) частини комплексного ступеня взаємної поляризації  $V$

$$\text{Re}\{V(r_1, r_2)\} = \frac{(U_x(r_1)U_x(r_2) - U_y(r_1)U_y(r_2))^2 + 4U_x(r_1)U_x(r_2)U_y(r_1)U_y(r_2)\cos\delta_{12}}{(U_x^2(r_1) + U_y^2(r_1))(U_x^2(r_2) + U_y^2(r_2))} \quad (1.8)$$

$$\text{Im}\{V(r_1, r_2)\} = \frac{4U_x(r_1)U_x(r_2)U_y(r_1)U_y(r_2)\sin\delta_{12}}{(U_x^2(r_1) + U_y^2(r_1))(U_x^2(r_2) + U_y^2(r_2))}. \quad (1.9)$$

На основі виразів (1.8) і (1.9) Ангельска А.О одержала [191] аналітичні вирази для модуля  $|V|$  і фази  $\Psi$  комплексного ступеня взаємної поляризації  $V$

$$|V| = (\text{Re}\{V\})^2 + (\text{Im}\{V\})^2; \quad (1.10)$$

$$\Psi = \arctg \frac{\text{Im}\{V\}}{\text{Re}\{V\}}. \quad (1.11)$$

Співвідношення (1.10) і (1.11) з урахуванням виразів (1.7) – (1.9) набувають вигляду

$$|V| = \frac{A^2 + B^2 + 2AB \cos \delta_{12}}{C^2} = Q(\rho_{12}) + W(\rho_{12}, \delta_{12}); \quad (1.12)$$

$$\Psi = \arctg \frac{B \sin \delta_{12}}{A + B \cos \delta_{12}} \equiv R(\rho_{12}, \delta_{12}), \quad (1.13)$$

де

$$\begin{cases} A = (U_x(r_1)U_x(r_2) - U_y(r_1)U_y(r_2))^2; \\ B = 4U_x(r_1)U_x(r_2)U_y(r_1)U_y(r_2); \\ C = (U_x^2(r_1) + U_y^2(r_1))(U_x^2(r_2) + U_y^2(r_2)). \end{cases} \quad (1.14)$$

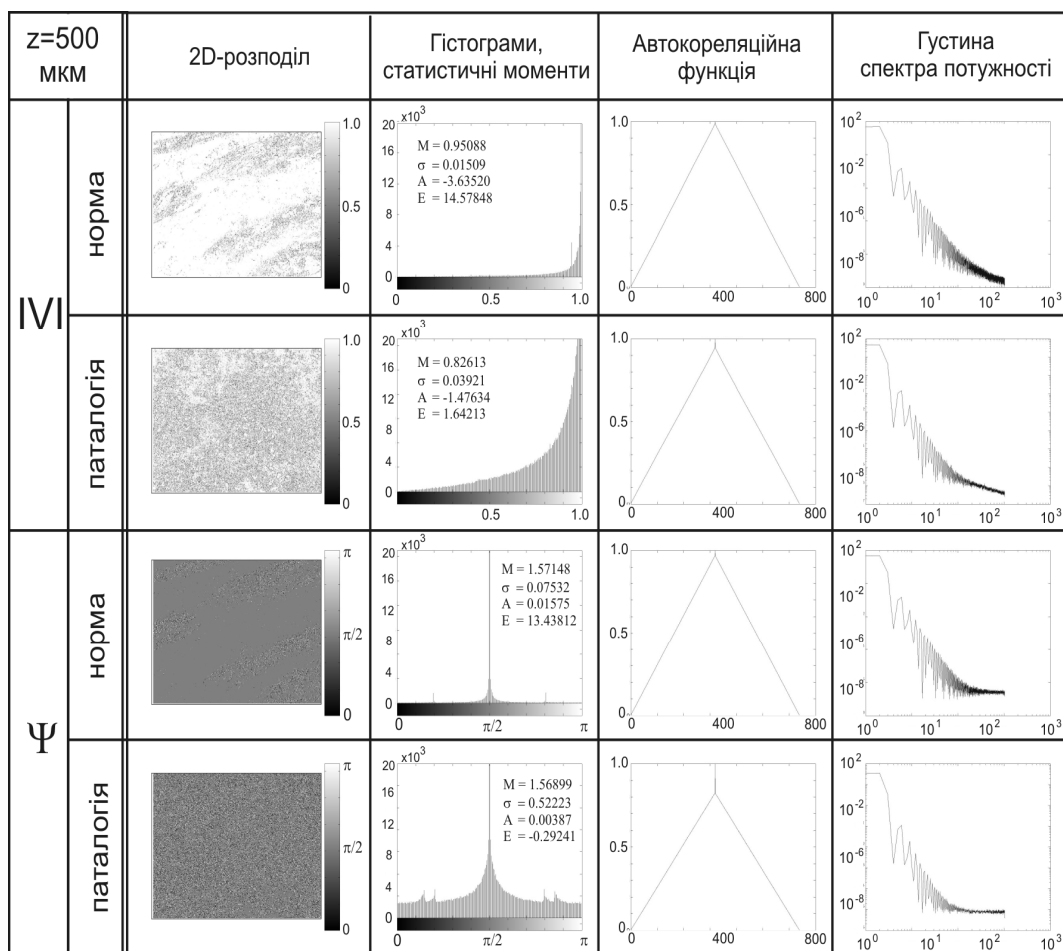
Аналіз виразів (1.12) і (1.14) виявив, що  $Q(\rho_{12}) > W(\rho_{12}, \delta_{12})$ . На основі цього було встановлено, що модуль  $|V|$  комплексного ступеня взаємної поляризації  $V$  залежить розподілу напрямів оптичних осей  $(\rho(x, y) \rightarrow \begin{cases} U_x = U \cos \rho; \\ U_y = U \sin \rho. \end{cases} \rightarrow \operatorname{tg} \rho \equiv \operatorname{tg} \Theta)$  сітки біологічних кристалів.

Разом з тим, фазова складова  $\Psi$  комплексного ступеня взаємної поляризації є чутливою до змін величини оптичної анізотропії  $(\delta(\Delta n))$  речовини двопротенезаломлюючих структур.

### 1.5.2. Експериментальна апробація КСВП-картографування мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин

На рис. 1.15 приведені статистичні моменти, автокореляційні функції, логарифмічні залежності спектрів потужності розподілів значень модуля і фази комплексного ступеня взаємної поляризації мікроскопічних зображень гістологічних зрізів здорової і патологічно зміненої тканини міометрія, зареєстрованого у граничній зоні дифракції ( $z = 500 \text{ мкм}$ ).





**Рис. 1.15.** Координатна (2D), статистична  $M_{|V|;\Psi}^{s=1;2;3;4}$ , кореляційна  $K_{|V|;\Psi}$  і фрактальна  $(\lg J_{|V|;\Psi} - \lg v)$  структура модуля  $|V|$  і фази  $\Psi$  комплексного ступеня взаємної поляризації  $V$  мікроскопічного зображення здорової і патологічно зміненої тканини міометрія [191]

У [207] аналітично обґрунтована та експериментально підтверджена діагностична чутливість до змін оптичної анізотропії багатошарових біологічних тканин на основі застосування нових фізичних параметрів, - модуля і фази КСВП лазерних об'єктних полів, що характеризують кореляційну подібність станів поляризації.

Установлено, що найбільш чутливими до зміни орієнтацій оптичних осей сітки біологічних кристалів оптично тонких шарів тканин жіночої репродуктивної сфери є асиметрія та ексцес, які

характеризують розподіли значень модуля КСВП. Зміна двопротенезаломлення позаклітинної матриці виявляється у зміні ексцесу, що характеризує гостроту піку розподілу значень КСВП.

На основі цього здійснена диференціація доброякісних і злоякісних пухлин тканини міометрія та реалізована диференціація ранніх (дисплазія) передракових змін оптичних властивостей сітки біологічних кристалів тканини шийки матки.

Даний напрямок поляризаційно-кореляційних досліджень було узагальнено аналізом формування локальної деполіризації полів розсіяного випромінювання.

### **1.6. Діагностичні застосування кореляційного підходу до аналізу деполіризації полів випромінювання, розсіяного біологічними шарами**

Для характеристики скалярних полів розсіяного когерентного випромінювання застосовують кореляційний підхід [178, 179, 187-190], який базується на використанні співвідношень між ортогональними складовими  $E_x, E_y$  комплексної амплітуди лазерної хвилі. За цих умов кожна точка такого поля характеризується матрицею когерентності  $\{J\}$

$$\{J\} = \begin{vmatrix} J_{xx} & J_{xy} \\ J_{yx} & J_{yy} \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} E_x E_x^* & E_x E_y^* \\ E_y E_x^* & E_y E_y^* \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} (U_x)^2 & U_x U_y \exp(-i\delta_{xy}) \\ U_x U_y \exp(i\delta_{xy}) & (U_y)^2 \end{vmatrix}. \quad (1.15)$$

Тут  $\delta_{xy}$  – фазовий зсув між ортогональними складовими амплітуди лазерної хвилі.

Результати перетворення амплітуди і фази когерентного випромінювання фазово-неоднорідним шаром, розглянуті у попередніх параграфах, описують матричним рівнянням вигляду

$$(E) = \{D\}(E^{(0)}) \leftrightarrow \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \end{pmatrix} = \begin{vmatrix} d_{11} & d_{12} \\ d_{21} & d_{22} \end{vmatrix} \begin{pmatrix} E_x^{(0)} \\ E_y^{(0)} \end{pmatrix}, \quad (1.16)$$

де  $(E^{(0)})$  і  $(E)$  – вектори Джонса опромінюючого та перетвореного об'єктом лазерного пучка;

У [195] для опису структури багатократно розсіяних поляризаційно-неоднорідних полів когерентного випромінювання запропоновано інший підхід, що базується на визначенні кореляції між ортогональними складовими амплітуди у кожній точці такого поля.

Головна ідея зазначеного підходу полягає у визначенні модуля комплексного ступеня когерентності (КСК), який характеризує кореляційну подібність між ортогональними складовими амплітуди у точках  $r_1$  і  $r_2$  поля розсіяного випромінювання. Показано, що величина даного комплексного параметру визначається виразом

$$\mu(r_1, r_2) = \left[ \frac{\text{Tr}(W^\diamond(r_1, r_2)W(r_1, r_2))}{\text{Tr}W(r_1, r_1) \cdot \text{Tr}W(r_2, r_2)} \right]. \quad (1.17)$$

Тут  $W(r_1, r_2)$  – матриця густини, що визначається згідно з такою формулою

$$W(r_1, r_2) = \begin{bmatrix} E_x^*(r_1)E_x(r_2) & E_x^*(r_1)E_y(r_2) \\ E_y^*(r_1)E_x(r_2) & E_y^*(r_1)E_y(r_2) \end{bmatrix}, \quad (1.18)$$

де  $W^\diamond(r_1, r_2)$  – ермітово-спряжена матриця до  $W(r_1, r_2)$ ;  $\text{Tr}$  – шпур (слід) матриці.

З аналізу виразів (1.17) і (1.18) випливає, що інтервал зміни комплексного ступеня когерентності лежить у межах  $0 \leq \mu(r_1, r_2) \leq 1$ .

З фізичної точки зору КСК  $\mu(r_1, r_2)$  містить інформацію про кореляцію між ортогональними компонентами амплітуди лазерного випромінювання та дорівнює одиниці тільки у випадку повної кореляції між усіма її компонентами у точках  $r_1$  та  $r_2$  поля розсіяного випромінювання.

У [195] розглянуто можливість застосування даного кореляційного підходу до опису поляризаційно-неоднорідного поля,

перетвореного біологічним шаром. З цією метою вираз для матриці густини об'єктного поля після взаємодії в одній точці з біологічною тканиною переписано наступним чином

$$W_{out}(r) = D^\diamond(r) \cdot W_{in}(r) \cdot D(r). \quad (1.19)$$

Тут  $D(r)$  – матриця Джонса біологічного шару в точці з координатою  $r$ ;  $D^\diamond(r)$  – ермітово спряжена матриця Джонса;  $W_{in}(r)$  – поперечно-спектральна матриця густини зонduючого лазерного пучка, що визначається у вигляді

$$W_{in}(r) = \begin{bmatrix} E_x^{(0)*}(r)E_x^{(0)}(r) & E_x^{(0)*}(r)E_y^{(0)}(r) \\ E_y^{(0)*}(r)E_x^{(0)}(r) & E_y^{(0)*}(r)E_y^{(0)}(r) \end{bmatrix}. \quad (1.20)$$

Аналіз виразу комплексного ступеня когерентності  $\mu_{12}$  виявив, що модуль даного параметру  $|\mu(r)|$  у кожній точці  $r$  поля розсіяного когерентного випромінювання незалежно від стану поляризації світлових коливань є сталою величиною

$$|\mu(r)| = T(r) = 1,0. \quad (1.21)$$

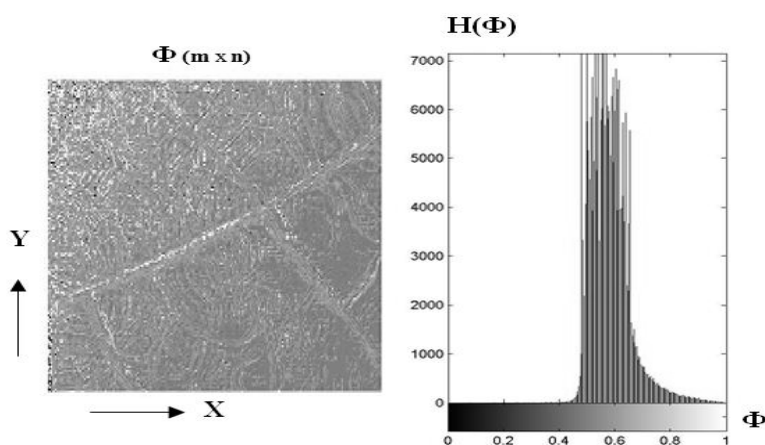
Окрім цього, вирази  $|\mu(r)|$  і  $T(r)$  не містять інформацію про величину фазового зсуву  $\delta_{xy}(r)$  між ортогональними складовими амплітуди  $U_x(r), U_y(r)$  лазерного випромінювання.

Фазову інформацію про структуру поля лазерного випромінювання одержано шляхом визначення уявної складової  $\Phi(\mu(r)) \equiv \Phi(r)$  комплексного ступеня когерентності – фаза КСК (ФКСК)

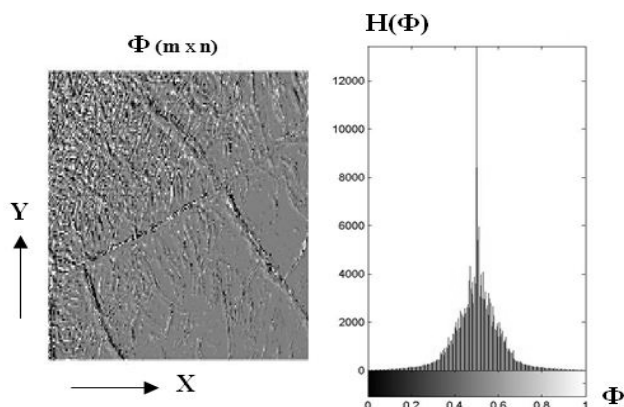
$$\Phi(r) = \frac{2U_x(r)U_y(r)\cos\delta_{xy}(r)}{U_x^2(r) + U_y^2(r)}. \quad (1.22)$$

На рис. 1.16, рис. 1.17 представлена серія координатних розподілів (ліві фрагменти) і гістограми розподілу (праві фрагменти) випадкових значень ФКСК  $\Phi(m \times n)$ , розсіяного шарами рідини скловидного тіла трупa (біоманекена) людини у різні часи  $T$  ( $T = 6$  год – рис.;  $T = 48$  год – рис. 1.30) після настання смерті.

Згідно з даними досліджень часової трансформації розподілів значень азимутів і еліптичності поляризації поля лазерного випромінювання і використовуючи дані методів поляризаційного картографування оптично-тонких шарів гістологічних зрізів тканин трупa людини, момент часу  $T^*$ , починаючи з якого  $R_{i=1-4}^{\Phi}(T^* + \Delta T) \approx \text{const}$ , можна вважати давністю настання смерті.



**Рис. 1.16.** Координатна структура (ліва частина) та гістограма (права частина) розподілу значень ФКСК поля лазерного випромінювання, розсіяного шаром рідини скловидного тіла ока через 6 годин після настання смерті [195]



**Рис. 1.17.** Координатна структура (ліва частина) та гістограма (права частина) розподілу значень ФКСК поля лазерного випромінювання, розсіяного шаром рідини скловидного тіла ока через 48 годин після настання смерті [195]

Головним результатом досліджень [195] є аналітично обґрунтована й експериментально підтверджена діагностична ефективність аналізу полів розсіяного лазерного випромінювання на основі використання нового параметра – ФКСК.

На цій основі вперше установлені фізичні механізми дифракційної трансформації величини статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли значень ФКСК поля багатократно розсіяного лазерного випромінювання.

Зазначимо, що проаналізовані нами методи “одноточкової” поляризаційної та “двоточкової” поляризаційно-коерляційної мікроскопії оптично-анізотропних біологічних шарів несуть інформацію про зміни лінійного та циркулярного двопротоменезаломлення на тканинному рівні будови фібрилярних протеїнових сіток. У цьому сенсі ми маємо справу з дослідженням мікроскопічних двомірних розподілів значень поляризаційних і поляризаційно-кореляційних параметрів, які характеризують морфологічну будову гістологічних зрізів біологічних тканин.

Разом з тим, більш чутливим до зміни будови таких об’єктів є більш дрібномасштабний рівень – молекулярні комплекси, що є основою формування усіх макроструктур біологічної тканини.

З оптичної точки зору такі молекулярні комплекси можуть бути дослідженими шляхом використання фундаментального фізичного явища – флуоресценції.

### 1.7. Методи флуоресцентної діагностики біологічних структур

У даний час відомо, що раннє виявлення і радикальне лікування передракових захворювань (дисплазія або внутрішньо епітеліальна неоплазія шийки матки) є ефективним заходом для запобігання інвазивного раку. У зв'язку з цим великого значення набувають діагностичні методи для організації масового скринінгу населення. Особливий інтерес представляють експресні та інструментальні методи, на основі яких можуть бути створені високочутливі тест-системи. Подібні методи можуть бути розроблені на основі флуоресцентних та імунно-флуоресцентних вимірювань.

Діагностичні можливості флуоресцентних методів в онкології, в першу чергу, пов'язані з флуоресценцією ендогенних і екзогенних порфіринів, накопичуваних в пухлинних клітинах [201-206]. За розподілом флуоресціюючих порфіринів або фотосенсибілізаторів другого покоління (наприклад фталоціанинів) можлива побудова зображення пухлини *in vivo* при невеликій глибині її залягання, в тому числі з використанням лазерного збудження [207-209].

Великі діагностичні можливості флуоресцентних методів були продемонстровані в разі передраку цервікального каналу. У якості діагностичного алгоритму використовувалися відмінності у формі лінії та інтенсивності флуоресценції цервікальної тканини в області 420-440 нм при збудженні випромінюванням азотного лазера (337 нм) *in vivo* [209].

Сучасна реалізація флуоресцентної спектроскопії, заснована на реєстрації лазерно-індукованої флуоресценції, дозволила істотно збільшити чутливість методу і досліджувати не тільки автофлуоресценцію біологічних тканин, але і тканинних екстрактів, розчинів мікробіопсії, біологічних рідин і змивів [210-212].

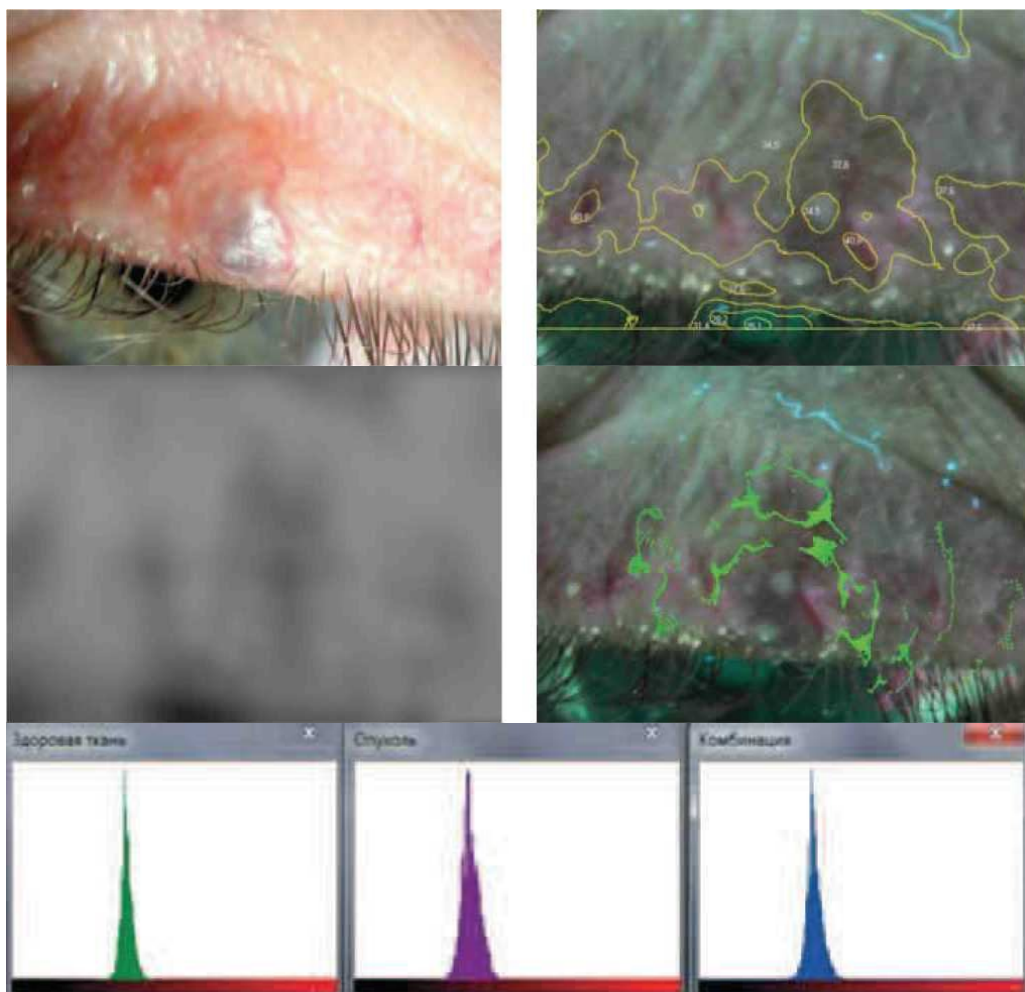
Встановлено, що інтенсивність флуоресценції НАД-Н в змивах з шийки матки корелює з перебігом і ступенем важкості онкологічного

захворювання шийки матки і може стати основою для створення методів діагностики на основі флуоресцентної спектроскопії та імунофлуоресцентних методів.

Флуоресцентна діагностика захворювань шкіри і слизових оболонок заснована на короточасній фотолюмінесценції, тобто нетривалому світінні речовини, що виникає після поглинання ним світлового випромінювання [213]. З усіх флуорофорів організму найбільший інтерес для онкології представляє протопорфірин IX, попередник гема, зміст якого достовірно вище в активно подільних пухлинних клітинах, ніж у здорової тканини [210]. З метою діагностики можливе визначення відносного вмісту протопорфірину IX у зацікавленій ділянці тканини методом локальної спектроскопії або за допомогою аналізу флуоресцентних зображень. Другий напрямок є більш перспективним, тому що дозволяє проводити просторову оцінку розподілу флуорофора і візуалізувати межі новоутворення. Для аналізу можуть бути використані дані індукованої аутофлуоресценції ендогенного протопорфірину IX. Застосування екзогенних флуорофорів (фотосенсибілізаторів) недоцільно внаслідок тривалості ефекту. Незважаючи на привабливість нативної аутофлуоресценції протопорфірину IX, не пов'язаної з введенням в організм токсичних і дорогих індукторів флуоресценції, її широке застосування довгий час стримувалося відсутністю надійних методів математичного аналізу флуоресцентних зображень, які дозволяють детектувати слабе світіння протопорфіріна IX в його природній концентрації. Був розроблений метод визначення ймовірнісної оптичної межі новоутворення на основі аналізу контрастності флуоресцентного зображення.

Методика проведення аутофлуоресцентної діагностики детально описана в [213]. Для освітлення досліджуваної зони використовувалися 2 люмінесцентні лампи з максимумами збуджуючого випромінювання - 390, 415 і 433 нм. Фіксацію зображення здійснювали за допомогою цифрової фотокамери «Canon EOS 350». Обробку зображень проводили в програмі «Канцерплот». В основу даної роботи покладено диференціальний спектральний аналіз, згідно з яким у будь-якій точці зображення с координатами (x, y) визначається дольова участь червоного каналу (рис. 1.18).





**Рис. 1.18.** Типова аутофлуоресцентна картина доброякісного новоутворення. Гемангіома (гіст.). *Примітка.* а - абсорбційна фотографія; б - аутофлуоресцентне зображення з нанесеними ізолініями; в - поле ймовірності проходження межі пухлина / здорова тканина; г - імовірнісна межа пухлина / здорова тканина; д - функції розподілу яскравості червоного каналу для ділянки здорової тканини (ліворуч) і пухлини (у середині), а також синтетична функція для ділянки, на 50% зайнятого пухлиною (справа) [213]

**Таблиця 1.2.** Порівняльна оцінка чутливості і специфічності флуоресцентної діагностики з використанням тільки дельти проліферації і поєднання дельти проліферації і коефіцієнта інтерпозиції

Результати оцінки специфічності і чутливості з використанням тільки дельти проліферації				
	Доброякісні н/у	Злоякісні н/у		
Позитивний	12	40	Специфічність	0,69
Негативний	27	18	Чутливість	0,70
Результати оцінки специфічності і чутливості з використанням дельти проліферації і коефіцієнта інтерпозиції				
Позитивний	6	40	Специфічність	0,85
Негативний	33	18	Чутливість	0,71

*Примітка.* Н/у - новоутворення.

Методи лазерної флуоресцентної діагностики набули широкого розповсюдження у детектуванні та диференціації онкологічних станів різноманітних органів людини [214-216].

Таке широке та ефективне застосування даної методики у різноманітних галузях медицини обумовлює необхідність подільшого розвитку із урахуванням не тільки фотометричних та спектральних параметрів авто флуоресценції, але й поляризаційних.

### 1.8. Поляризація флуоресценції біологічних середовищ

Застосування поляризації флуоресценції пропонує унікальні переваги над традиційними методами отримання флуоресцентних зображень та їх кількісної оцінки. В дослідженнях поляризації флуоресценції флуорофори, що пов'язані з біологічними зразками та хімічними сполуками, допомагають пояснити внутрішні приховані досліджувані механізми. На відміну від стандартних флуоресцентних методик, вимірювання поляризації флуоресценції може бути

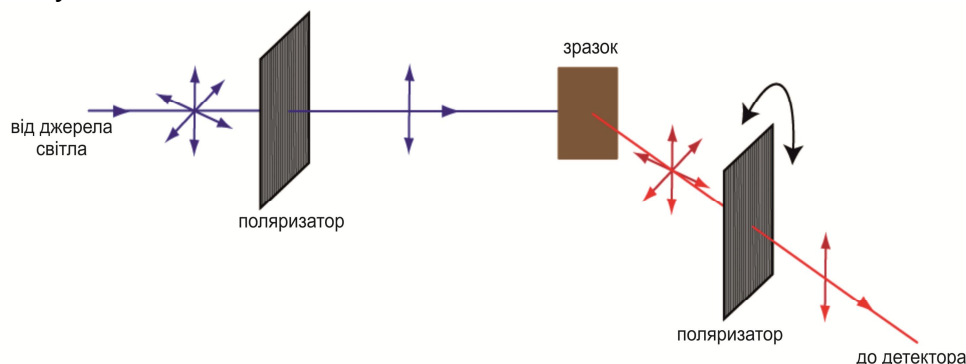
здійснено швидко й точно використовуючи відносно прості інструменти (порівняно зі складними інструментами наукових досліджень). Тому прикладні застосування, такі як високопродуктивний скрінг - ключова технологія в дослідженнях ліків, зробило техніку поляризації флуоресценції широко розповсюдженою. Прогресивно більш складні дослідження на молекулярному рівні проводяться з використанням мікроскопічних поляризаційно флуоресцентних досліджень. Детальна технічна інформація про теорію та застосування поляризації флуоресценції присутня в літературі [217,218].

### 1.8.1. Коротка теорія методу

Взаємодія лінійно поляризованого світла з флуорофором може бути описана в межах концепції електричного *диполя*. Флуорофори, як правило, мають дипольний момент, та *дипольний момент збудження* флуорофору може відрізнятися від його *дипольного моменту випромінювання*. Дипольний момент флуорофору також знаходиться під впливом факторів навколишнього середовища. Коли електричне поле збуджуючого світла паралельне до дипольного моменту поглинання флуорофору, він має найбільший шанс до поглинання фотону, що призводить до його переважного збудження поміж сімейства опромінюваних флуорофорів. З іншого боку, коли дипольний момент поглинання є перпендикулярним до збуджуючого електричного поля, тоді флуорофор не може бути збуджений. Окрім того, коли збуджений флуорофор перевипромінює світло, випромінювання поляризоване паралельно до площини його диполя. Ці явища складають основу для поляризаційно флуоресцентних досліджень. Вони мають місце в усіх флуоресцентних застосуваннях на молекулярному рівні.

Рисунок 1.19 ілюструє основний принцип, який використовується в звичайних флуоресцентно поляризаційних дослідженнях. Флуоресцентно мічений зразок опромінюється лінійно поляризованим світлом на довжині хвилі поглинання флуорофора і більша довжина хвилі випромінювання від зразка проходить крізь

поворотний лінійний поляризаційний фільтр (аналізатор) перед детектуванням.



**Рис. 1.19.** Вимірювання поляризації флуоресценції

Монохроматичний пучок опромінює флуорофори у зразку. В залежності від орієнтації диполів поглинання, окремі молекули флуорофору переважно збуджуються. Випромінювання від флуоресцентного зразка можна розглядати як ще одне джерело світла, що складається з комбінації сигналів від диполів випромінювання окремих молекул флуорофора. Якщо дипольні моменти поглинання і випромінювання всіх флуорофорів узгоджені з вектором електричного поля опромінюючого променя (плоскополяризоване світло), тоді сигнал випромінювання буде також плоскополяризованим. Тим не менш, це, як правило, не так. Таким чином, сигнал випромінювання є частково деполаризованим внаслідок випадкової орієнтації флуорофорів. Поляризатор, що розташовується перед детектором використовується для виявлення інтенсивності випромінюваного світла в даній площині поляризації. Вимірювання інтенсивності здійснені з поляризатором (аналізатором) орієнтованим ортогонально до електричного поля опромінюючого променя (*опорної* площини) позначають  $I_{\perp}$ , та  $I_{\parallel}$  - коли орієнтація аналізатора є співвісною з опорною площиною.

Співвідношення отриманих з використанням двох різних вимірів інтенсивності флуоресценції (див. рис. 1) являє собою міру ступеня поляризації випромінювання. Два вирази, які використовуються як взаємозамінні для вивчення поляризації - це "поляризаційне

відношення" ( $p$ ) і "анізотропія випромінювання" ( $r$ ). Ці безрозмірні величини розраховуються наступним чином [217]:

Поляризаційне відношення ( $p$ )

$$p = \frac{I_{\parallel} - I_{\perp}}{I_{\parallel} + I_{\perp}}$$

Анізотропія випромінювання ( $r$ )

$$r = \frac{I_{\parallel} - I_{\perp}}{I_{\parallel} + 2I_{\perp}}$$

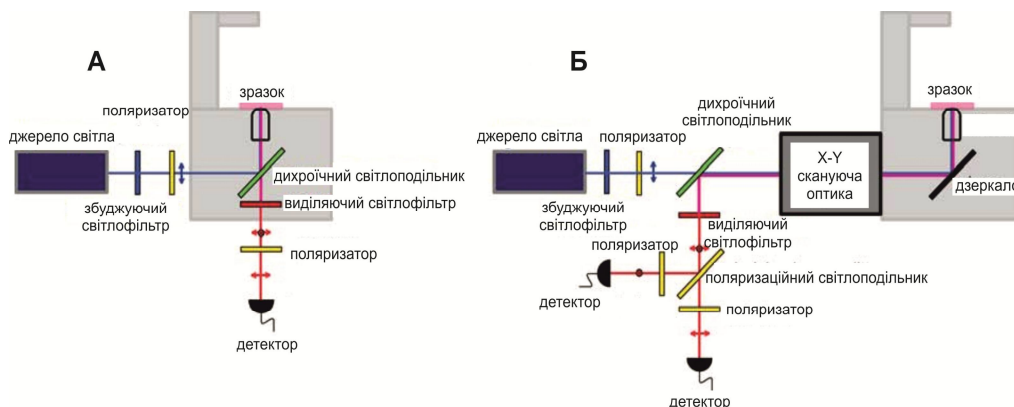
### 1.8.2. Застосування поляризації флуоресценції

Вимірювання поляризації флуоресценції (або анізотропії) додає ще один вимір спостереження флуоресцентному експерименту. Цей додатковий вимір може надати інформацію про локальне довкілля, час життя флуоресценції та молекулярну масу. Для вивчення поляризації флуоресценції використовуються різні інструменти.

#### *Поляризаційно флуоресцентна мікроскопія*

В залежності від вимог, поляризаційні флуоресцентні дослідження можуть бути здійснені безпосередньо або з використанням вимірювань із розділенням у часі (наприклад, мікроскопії часу життя флуоресценції). Такі вимірювання можна здійснювати у часовій або частотній області з використанням широкопольних або скануючих методів (див. рис. 1.20).

Поляризаційні флуоресцентні дослідження однозначно дозволяють визначити хімічне й фізичне оточення макромолекул у внутрішньоклітинних середовищах. Навіть у межах даного флуоресцентного експерименту, поляризаційні вимірювання надають "безкоштовну" додаткову інформацію до даних первинного флуоресцентного експерименту.



**Рис. 1.20.** Поляризаційна флуоресцентна мікроскопія: (А) Схема широкопольної системи візуалізації. (Б) Скануюча система. У залежності від області застосування для отримання сигналу випромінювання використовуються піксельний (CCD-камера) або безпіксельний (лавинний фотодіод) детектори.

Наприклад, флуоресцентне резонансне передавання енергії (ФРПЕ) використовується для вивчення молекулярних взаємодій на дуже малих відстанях (як правило, менше, ніж 10 нм). Зазвичай ФРПЕ відноситься до гетеро-ФРПЕ, тобто, ФРПЕ відбувається між двома (або більше) різними типами флуорофорів, що складаються з донорно-акцепторних пар. Існує кілька підходів до вивчення гетеро-ФРПЕ, що вимірюють зміни властивостей (таких як час життя або інтенсивність) донора і акцептора. Тим не менш, інший тип ФРПЕ, що відбувається між тими самими видами флуорофора, називається гомо-ФРПЕ, може бути вивчений тільки за допомогою вимірювання поляризації флуоресценції. За наявності гомо-ФРПЕ не спостерігається ані змін інтенсивності флуоресценції, ані змін часу життя флуорофору. Поляризація флуоресценції дозволяє ідентифікувати гомо-ФРПЕ внаслідок того, що флуорофори, які безпосередньо збуджені поляризованим світлом випромінюють високополяризований сигнал, навідміну від підсімейства тих, які були збуджені за допомогою гомо-ФРПЕ. Тому за відсутності інших факторів деполаризації, гомо-ФРПЕ призводить до зменшення анізотропії флуоресценції. Дослідження гомо-ФРПЕ за допомогою вимірювання поляризації флуоресценції було використане у деяких досліджень в біологічних середовищах. Наприклад, гомо-ФРПЕ дослідження дозволяють визначати

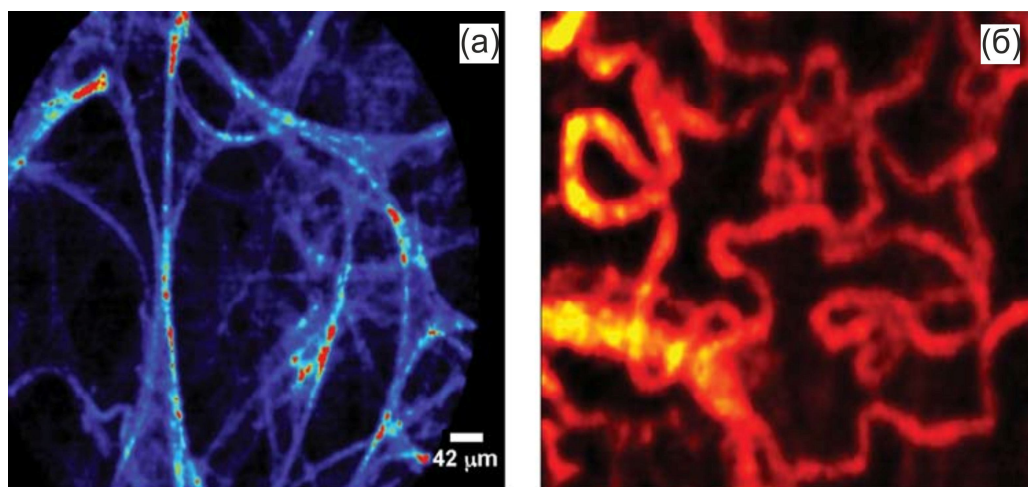
олігомеризовані стани мембранних білків і вивчати неоднорідності в ліпідному порядку в плазматичних мембранах клітин. Такі дослідження пояснили складні об'єднання молекулярних станів і як вони пов'язані з біологічними функціями.

Поляризаційна флуоресцентна мікроскопія повного внутрішнього відбивання (рис. 1.20А) інший варіант з існуючих технік флуоресцентної мікроскопії, який був використаний для вивчення рухливості моторних білків, таких як міозини уздовж актинових ниток. Цей метод дозволяє навіть вивчати орієнтації окремих молекул. Опромінюючи зразок лінійно поляризованим випромінюванням з різними азимутами стає можливим розуміння нахилу і обертання окремих молекул [219].

Унікальні переваги, що пропонує напрямок вивчення поляризації флуоресценції знайшли широке застосування у таких методах дослідження як високопродуктивний скрінінг. Тим не менш, весь його потенціал досі залишається незатребуваним для дослідницьких цілей.

### **1.8.3. Технології отримання флуоресцентних молекулярних зображень**

Існує декілька технологій, розроблених для візуалізації флуоресценції в живих тканинах. Зокрема, конфокальна, двохфотонна, та багатофотонна мікроскопії надали додаткової інформації для розуміння у сфері біології шляхом отримання зображень флуорофорів з великою роздільною здатністю (0,5-3мкм) на глибині до декількох сотень мікрометрів [220]. Останнім часом ці технології були адаптовані до гнучких волоконних зондів, які можна використовувати в ендоскопічних методах для отримання зображень об'єктів, які раніше були недоступні. Деякі характерні зображення нормальних людських альвеол та пухлинних судин передміхурової залози миші показані на рисунку 1.21



**Рис. 1.21.** Конфокальні зображення, отримані *in-vivo* гнучким волоконно-оптичним зондом (650 мкм). (а) Нормальні людські альвеоли: Візуалізація нормальної легені, з відмінною альвеолярною мікроархітектурою. (б) *In-vivo* зображення ангиогенезу: Візуалізація пухлинних судин в передміхурової залози миші після введення розчину FITC-Dextran (500 kDa) у хвіст миші.

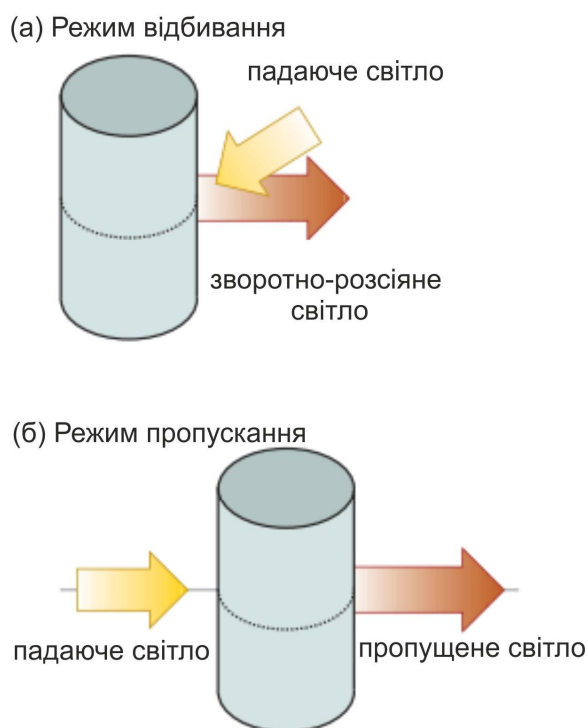
### **Отримання плоских зображень**

Найбільш поширений метод для реєстрації флуоресценції з глибини тканини, пов'язаний з освітлення тканини плоскою хвилею, тобто розширеним світловим пучком, й детектуванням сигналів флуоресценції, що випромінюються в напрямку камери. Ці методи, як правило, називають плоскими методами, й вони можуть бути застосовані в режимах відбивання або пропускання.

**Режим відбивання (фотографічний).** Для неінвазивного одержання інформації стосовно флуоресцентної активності поверхневих і підповерхневих шарів зразку, можна застосувати фотографічні методи у флуоресцентному режимі. У даному методі опромінення та реєстрація відбитого поверхнею тканини світла відбувається з одного й того самого боку, як показано на рис. 2а. За аналогією з мікроскопією, цей метод називається методом на відбивання, також відомий як отримання флуоресцентних зображень на відбивання. Внаслідок дифузної природи фотонів у тканині, світло, яке опромінює поверхню буде поширюватися на кілька міліметрів у глибину, та за відповідної довжини хвилі може збуджувати не тільки



поверхневі, але й підповерхневі флуорофори. Флуоресценція в подальшому може бути зареєстрована високочутливим пристроєм із зарядовим зв'язком (CCD-камерою) з використанням відповідних фільтрів.

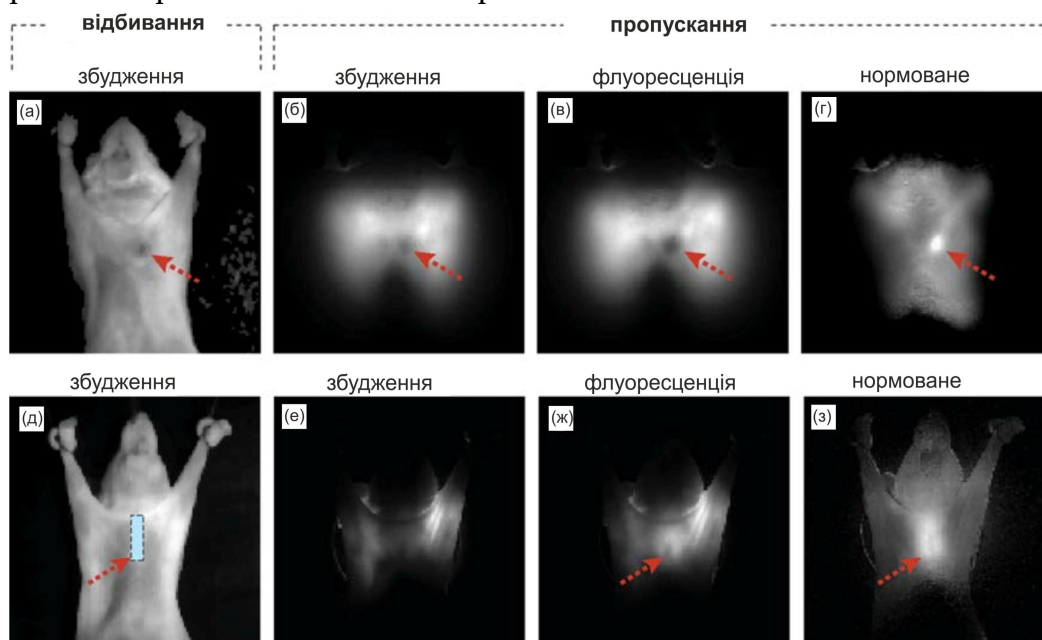


**Рис.1.22.** Реалізація отримання плоских зображень. (а) Метод на відбивання - опромінення й реєстрація відбуваються з одного й того самого боку від зразка. (б) Метод на пропускання - опромінення й реєстрація відбуваються на протилежних сторонах від зразка.

Методи на відбивання об'єднують простоту освоєння та експлуатації з високою продуктивністю. Як такі, вони отримали широку популярність і зробили внесок у розвиток напрямку флуоресцентної молекулярної візуалізації [221,222]. З іншого боку, вони володіють деякими значними недоліками, оскільки не мають роздільної здатності по глибині, і не враховують нелінійних залежностей виявленого сигналу під час розповсюдження у глибині й у навколишніх тканинах [223]. Отже, хоча й інтенсивність зареєстрованої флуоресценції лінійно залежить від концентрації

флуорофорів (концентрації флуорофорів у пухлині), вона має сильну нелінійну залежність в залежності від глибини знаходження ураження (пухлини), а також оптичних властивостей пухлини й навколишніх тканин [224]. Додаткове обмеження методу полягає в тому, що поверхнева флуоресцентна активність може зменшити контраст або "екранувати" підповерхневу флуоресцентну активність.

**Режим пропускання.** Режим пропускання - це альтернативний режим отримання плоских зображень.



**Рис. 1.23.** Приклади отримання зображень на пропускання [19]. (Верхній рядок) Ракова пухлина миші. (а) Зображення на відбивання на довжині хвилі збудження. (б) Зображення на пропускання на довжині хвилі збудження. (в) Флуоресцентне зображення. (г) Нормоване зображення. (Нижній рядок) Посмертне зображення флуоресцентного зонда-трубки введенного у мишу. (д) Зображення на відбивання на довжині хвилі збудження. (е) Зображення на пропускання на довжині хвилі збудження. (ж) Флуоресцентне зображення. (з) Нормоване зображення.

У даному методі тканина опромінюється з одного боку, а з іншого боку реєструється відносно послаблене світло (тіньограма) або випромінювання флуоресценції. Схема реалізації даного методу приведена на рис. 1.22б. Даний метод був використаний ще в 1929 році

[225] для отримання зображень молочної залози людини (метод також називають діафанографія) і використовується до сьогодні, залучаючи передові методи освітлення, виявлення й сканування. З іншого боку, метод флуоресценції на пропускання значно менш вивчений, і тільки нещодавно отримав поширення в томографії ракових пухлин невеликих тварин [226].

Перспективними в плані розширення функціональних можливостей даних методів є мюллер-матричні підходи до описання механізмів формування поляризації флуоресценції, які дозволяють вичерпно повног пов'язати оптичну анізотропію біологічних тканин та розподіли інтенсивності у точках поляризаційно-неоднорідних зображень [227-229].

### **1.9. Структурно-логічні схеми багатofункціональної поляризаційно-кореляційної мікроскопії та лазерної автофлуоресцентної поляриметрії**

Проаналізоване у даному розділі успішне діагностичне застосування багато параметричних методів лазерної поляриметрії у діагностиці морфологічної структури оптично тонких шарів біологічних тканин об'єктивно стимулює подальший їхній розвиток і розповсюдження на більш широке коло об'єктів біологічного походження.

Окрім цього, актуальним є розробка даного напрямку оптичної діагностики не тільки на морфологічному, але й на молекулярному рівнях.

Виходячи з цього можна виділити наступні найбільш важливі завдання:

1. Розробка мюллер-матричного описання узагальненої моделі оптичної анізотропії полікристалічних мереж біологічних тканин і рідин з урахуванням не тільки лінійного двопроменезаломлення але й циркулярного двопроменезаломлення.
2. Виявлення сукупності діагностично актуальних вектор-параметричних параметрів, які характеризують прояви різних механізмів фазової анізотропії.

3. Розробка методів азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування біологічних тканин і рідин. Визначення на цій основі основних алгоритмів взаємозв'язків між величинами мюллер-матричних інваріантів та параметрами, що описують фазову анізотропію мереж біологічних кристалів.
4. Пошук та обґрунтування можливостей масштабно-селективного аналізу координатних розподілів вектор-параметричних та мюллер-матричних зображень біологічних шарів (вейвлет-аналіз, просторово-частотна узгоджена Фур'є фільтрація) ;
5. Розробка нових кореляційних підходів до аналізу двовірних розподілів значень ступеня узгодженості параметрів, які описують лінійне та циркулярне двопротенезаломлення фібрилярних мереж. Обґрунтування принципів “двоточкової” поляризаційно-кореляційної мікроскопії (кореляційні підходи на основі комплексного ступеня взаємної анізотропії (КСВА));
6. Аналіз топографічної структури вектор-параметричних та мюллер-матричних зображень сіток біологічних кристалів та їх поляризаційно-неоднорідних зображень для діагностики фізіологічного стану основних типів тканин людини.
7. Пошук та обґрунтування взаємозв'язків методами поляризаційного (“одноточкового”) та поляризаційно-кореляційного (“двоточкового”) аналізу процесів перетворення лазерного випромінювання біологічними шарами та створення на цій основі нових методів і систем діагностики оптично анізотропних структур.
8. Розробка принципів і методів спектрально-селективної лазерної автофлуоресцентної поляриметрії біологічних шарів.

Зазначені завдання ілюструють наступні структурно-логічні схеми (рис. 1.24, рис. 1.25) дослідження.



**Рис. 1.24.** Структурно-логічна схема багатомірної поляризаційної та поляризаційно-кореляційної мікроскопії біологічних шарів

Структурно-логічна схема багатомірної  
флуоресцентної поляризаційної наноскопії  
біологічних шарів



**Рис. 1.25.** Структурно-логічна схема багатомірної флуоресцентної поляризаційної наноскопії біологічних шарів

### 1.10. Висновки до розділу 1

1. Проведено аналітичний огляд літератури з питань об'єктивної обробки координатних розподілів значень інтенсивності та топографічної будови класичних (гістологічних) мікроскопічних зображень біологічних препаратів. На цій основі констатовано можливість розширення функціональних можливостей традиційної гістології шляхом урахування оптичних властивостей (анізотропії) речовини досліджуваних біологічних шарів.
2. Проаналізовано основні системи і принципи зображувальної поляриметрії. Установлено найбільш перспективні, з точки зору

інформаційної повноти, експериментальні двовимірні (CCD) стокс-поляриметричні та мюллер-матричні розташування для дослідження біологічних шарів.

3. Проаналізовано у межах моделі лінійного двопротоменезаломлення механізми формування розподілів значень азимутів і еліптичності поляризації полів розсіяного випромінювання, а також взаємозв'язки між розподілами величини двопротоменезаломленням фібрилярних мереж та поляризаційними розподілами мікроскопічних зображень гістологічних зрізів основних типів біологічних тканин людини.
4. Проаналізовано можливості діагностики змін оптичної анізотропії біологічних тканин (взаємозв'язки між змінами величини статистичних моментів 1-го - 4-го порядків, які характеризують розподіли значень параметрів Стокса, і змінами розподілів напрямів оптичних осей і значень фазових зсувів, що вносяться двопротоменезаломлюючими протейновими кристалами шарів епітеліальної, сполучної та м'язової тканини, які формують тканини органів простати, міометрію, ендометрію жіночої репродуктивної сфери) шляхом застосування двовимірної стоксполяриметрії мікроскопічних зображень.
5. Розглянуто діагностичні можливості поляризаційного картографування планарних мереж біохімічних кристалів на прикладі планарної полікристалічної плівки плазми крові. У рамках комплексного статистичного, кореляційного та фрактального аналізу установлений набір оптико-фізичних критеріїв, які характеризують зміни лінійного двопротоменезаломлення планарних полікристалічних мереж, що пов'язані із виникненням різної патології (запалення, серцева недостатність, рак) організму людини.
6. Виявлена можливість підвищення чутливості поляризаційного картографування оптично анізотропних біологічних шарів шляхом застосування масштабно-селективного вейвлет аналізу розподілів значень мап азимута та еліптичності поляризації.
7. Виявлена ефективність застосування "двоточкового" кореляційного підходу до аналізу поляризаційно-неоднорідних

полів розсіяного випромінювання. Проаналізовано фізичний зміст діагностичного параметру – комплексного ступеня взаємної поляризації (КСВП) та його складових – модуля і фази. Установлено, що найбільш чутливими до зміни орієнтацій оптичних осей сітки біологічних кристалів оптично тонких шарів тканин жіночої репродуктивної сфери є асиметрія та ексцес, які характеризують розподіли значень модуля КСВП; зміна двопротинезаломлення позаклітинної матриці виявляється у зміні ексцесу, що визначає гостроту піку розподілу значень КСВП. На основі цього здійснена діагностика виникнення доброякісної пухлини (фіброміоми) тканини міометрія та реалізована диференціація ранніх (дисплазія) передракових змін оптичних властивостей сітки біологічних кристалів тканини шийки матки.

8. Проаналізовано можливості аналізу багатократно розсіяних полів оптичного випромінювання на основі застосування поляризаційно-кореляційного параметру – фази комплексного ступеня когерентності (ФКСК). Установлені фізичні механізми дифракційної трансформації величини статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли значень ФКСК поля лазерного випромінювання, розсіяного оптично-анізотропними шарами.
9. Проведено огляд діагностичних можливостей виявлення патології біологічних тканин на основі аналізу інтенсивності їх флуоресценції. Виявлені основні типи ендогенних флуорофорів та спектральні діапазони найбільш інтенсивної флуоресценції. Проаналізовано метод спектральної селекції автофлуоресцентних зображень біологічних тканин.
10. На основі аналізу механізмів формування поляризації автофлуоресценції виявлено нові фізичні можливості покращення чутливості та відтворюваності методів діагностики зміни оптичної анізотропії біологічних шарів.
11. Розроблені та обґрунтовані структурно-логічні схеми дослідження, що базуються на:



- поєднанні “одноточкових” (поляризаційних) і “двоточкових” (поляризаційно-кореляційних) підходів до аналізу мікроскопічних зображень біологічних шарів;
- використанні у дослідженнях принципу азимутально-інваріантного картографування мереж біологічних кристалів;
- поляризаційному та мюллер-матричному аналізі явища лазерної автофлуоресценції;
- комплексному застосуванні статистичного, кореляційного і фрактального аналізу двомірних розподілів значень поляризаційних, мюллер-матричних, поляризаційно-кореляційних та автофлуоресцентних зображень (“мап”) оптично анізотропних мереж біологічних кристалів.

## Розділ 2

# МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 2.1. Методи експериментальних досліджень

#### 2.1.1. Багатофункціональна поляризаційна мікроскопія біологічних шарів

До переліку методів багатофункціональної поляризаційної мікроскопії відносяться:

1. Двомірна стокс-поляриметрія - вимірювання координатних (у межах площини світлочутливої площадки  $m \times n = 1280 \times 960$  пікселів цифрової камери) параметрів вектора Стокса  $S_i(m \times n)$  мікроскопічного зображення біологічного препарату. В подальшому розподіли  $S_i(m \times n)$  будемо називати стокс-параметричними зображеннями;

2. Поляриметрія мікроскопічних зображень біологічних шарів - вимірювання координатних розподілів значень азимута  $\alpha(m \times n)$  та еліптичності  $\beta(m \times n)$  поляризації у точках мікроскопічного зображення. В подальшому розподіли  $\alpha(m \times n)$  та  $\beta(m \times n)$  будемо називати поляризаційними мапами;

3. Фазометрія мікроскопічних зображень біологічних шарів - вимірювання розподілу фазових зсувів  $\varphi(m \times n)$  між ортогональними складовими амплітуди лазерного випромінювання у точках мікроскопічного зображення біологічного шару. В подальшому розподіли  $\varphi(m \times n)$  будемо називати фазовими мапами;

4. Мюллер-матричне картографування - вимірювання координатних розподілів елементів матриці Мюллера  $f_{ik}(m \times n)$  у площині біологічного шару. В подальшому розподіли  $f_{ik}(m \times n)$  будемо називати мюллер-матричними зображеннями;

5. Фур'є стокс-поляриметрія з використанням просторово – частотної фільтрації на етапі формування поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень - вимірювання сукупності

високочастотних та низькочастотних складових стокс-параметричних  $S_i(m \times n)$  зображень біологічних шарів.

6. Фур'є мюллер-матричне картографування - вимірювання сукупності високочастотних та низькочастотних складових оптичних полів, що формують мюллер-матричні  $f_{ik}(m \times n)$  зображення біологічних шарів.

Спільним “знаменником” усіх вищенаведених (п.п. 1-6) методів є визначення або обчислення значень набору поляризаційних  $(\alpha, \beta, S_{i=1;2;3;4} : f_{ik})$  і фазових  $(\varphi)$  параметрів у кожному окремому пікселі (“точці”) цифрової камери. У цьому сенсі такі методи поляриметрії можна вважати згідно узагальнюючого поляриметрию підходу, викладеному у праці Е.Борна [178] “одноточковими”. Результатом застосування методів “одноточкової” поляризаційної та фазової мікроскопії є двовимірні  $(m \times n)$  розподіли параметрів  $q(\alpha, \beta, S_i, f_{ik}, \varphi)$ , які у подальшому будемо називати “мапами” або “вектор-параметричними зображення”, або “мюллер-матричними зображеннями”.

### 2.1.2. Багатофункціональна поляризаційно-кореляційна мікроскопія біологічних шарів

Узагальненням поляризаційних (“одноточкових”) методів стали поляризаційно-кореляційні підходи, розвинені у серії праць Дж.Терво [179], Дж.Мовілла [180], Дж.Еліс та А.Догаріу [181]. Головна ідея даного підходу базується на визначенні кореляційної подібності амплітудних, фазових та поляризаційних параметрів сусідніх точок електромагнітного поля. У цьому сенсі такий узагальнений підхід до аналізу було визначено Ф.Горі [183], як “двоточковий”.

До переліку поляризаційно-кореляційних (“двоточкових”) методів дослідження оптично-анізотропних біологічних шарів та їх мікроскопічних зображень відносяться наступні:

1. “Метод КСВА” - поляризаційно-кореляційне картографування оптико-анізотропних мереж біологічних шарів - вимірювання координатних розподілів значень модуля комплексного ступеня взаємної анізотропії (КСВА)  $|W(m \times n)|$ . Даний параметр характеризує

ступінь кореляційної узгодженості параметрів оптичної анізотропії (напрямок оптичної осі  $\gamma$  і фазовий зсув  $\phi$ ) сусідніх точок полікристалічної структури біологічного шару. В подальшому розподіли  $|W(m \times n)|$  будемо називати будемо називати поляризаційно-кореляційними мапами біологічних шарів.

2. Метод кореляційних К-контурів, які відповідають півширині автокореляційної функції координатного розподілу значень модуля КСВА та визначають взаємозв'язок між даними "одноточкової" поляризаційної мікроскопії (стокс-поляриметричне та мюллер-матричне картографування) та "двоточкового" поляризаційно-кореляційного картографування оптично анізотропних мереж біологічних шарів.

### 2.1.3. Лазерна автофлуоресцентна поляриметрія біологічних шарів

До переліку методів багатофункціональної лазерної автофлуоресцентної поляриметрії відносяться:

1. Поляризаційно-варіабельна фотометрія - вимірювання координатних розподілів інтенсивності  $I^\phi(m \times n)$  автофлуоресцентних мікроскопічних зображень біологічних шарів для різних станів поляризації зонduючого лазерного пучка. В подальшому розподіли  $I^\phi(m \times n)$  будемо називати мапами інтенсивності поляризаційних автофлуоресцентних зображень.

2. Автофлуоресцентна стокс-поляриметрія - вимірювання координатних (у межах площини світлочутливої площадки  $m \times n = 1280 \times 960$  пікселів цифрової камери) параметрів вектора Стокса  $S^\phi_i(m \times n)$  мікроскопічного автофлуоресцентного зображення біологічного препарату. В подальшому розподіли  $S^\phi_i(m \times n)$  будемо називати стокс-параметричними автофлуоресцентними зображеннями.

3. Автофлуоресцентна поляриметрія - вимірювання координатних розподілів значень азимута  $\alpha^\phi(m \times n)$  та еліптичності  $\beta^\phi(m \times n)$  поляризації у точках мікроскопічного автофлуоресцентного зображення. В подальшому розподіли

$\alpha^\phi(m \times n)$  та  $\beta^\phi(m \times n)$  будемо називати поляризаційними мапами автофлуоресценції.

4. Мюллер-матричне автофлуоресцентне картографування - вимірювання координатних розподілів елементів матриці Мюллера автофлуоресценції біологічного шару  $f^\phi_{ik}(m \times n)$ . В подальшому розподіли  $f^\phi_{ik}(m \times n)$  будемо називати мюллер-матричними зображеннями автофлуоресценції.

## 2.2. Методи аналізу двовимірних розподілів даних багатofункціональної поляризаційної та автофлуоресцентної мікроскопії біологічних шарів

У попередньому розділі була наведена сукупність параметрів, які експериментально вимірюються методами багатомірної поляризаційної, поляризаційної-кореляційної мікро- та автофлуоресцентної наноскопії шарів біологічних тканин і рідин. З метою спрощення подальшого аналізу позначимо всю їхню сукупність

$$\text{наступним чином } q \equiv \left[ \begin{pmatrix} S_i \\ \alpha \\ \beta \\ \phi \\ f_{ik} \end{pmatrix}, (|W|), \begin{pmatrix} I^\phi \\ S^\phi_i \\ \alpha^\phi \\ \beta^\phi \\ f^\phi_{ik} \end{pmatrix} \right].$$

### 2.2.1. Статистичний аналіз

Для оцінки розподілів випадкових величин  $q$  визначаються їх гістограми та розраховується сукупність статистичних моментів першого-четвертого порядків, які характеризують такі розподіли [7, 8, 20-22].

Статистичний момент 1-го порядку (середнє)

$$M_1 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |(q)_i|. \quad (2.1)$$

Статистичний момент 2-го порядку (дисперсія)

$$M_2 = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (q)_i^2} \quad (2.2)$$

Статистичний момент 3-го порядку (асиметрія)

$$M_3 = \frac{1}{M_2^3} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (q)_i^3 \quad (2.3)$$

Статистичний момент 4-го порядку (експес) або міра гостроти “піку” розподілу випадкової величини

$$M_4 = \frac{1}{M_2^4} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (q)_i^4 \quad (2.4)$$

$N$  - кількість (1280×960) пікселів цифрової камери.

### 2.2.2. Кореляційний аналіз

Для розрахунку автокореляційних функцій координатних розподілів  $q$  нами використане наступне класичне співвідношення [7, 8, 20-22]

$$K(\Delta x, \Delta y) = \lim_{\substack{x \rightarrow 0 \\ y \rightarrow 0}} \frac{1}{m \times n} \int_0^x \int_0^y [q^*(x = 1 \div m, y = 1 \div n)] [q^*(x - \Delta x, y - \Delta y)] dx dy \quad (2.5)$$

Тут  $(\Delta x, \Delta y)$  “кроки” з якими змінюються координати  $(x, y)$  розподілів  $q^*(x, y) = q(x, y) - \bar{q}$ , де  $\bar{q}$  - середнє значення, що визначене у межах всього масиву даних.

Наш підхід базується на припущенні того, що будь-який азимутально-асиметричний координатний розподіл можна оцінити шляхом розкладу у двох взаємно перпендикулярних напрямках  $Ox, Oy$ . На основі цього ми застосували наступну методику автокореляційної обробки розподілів значень  $q(x, y)$ :

1. Знаходження координатного розподілу автокореляційної функції параметру  $q$  шляхом “порядкового” сканування вздовж напрямку  $Ox$

$$K_x(q) = \begin{bmatrix} q^*(x_{11} + \Delta x) \dots & q^*(x_{1n} + n\Delta x) \\ q^*(x_{m1} + \Delta x) \dots & q^*(x_{mn} + n\Delta x) \end{bmatrix}. \quad (2.6)$$

2. Знаходження координатного розподілу автокореляційної функції параметру  $q$  шляхом “постовпчикowego” сканування вздовж напрямку  $Oy$

$$K_y(q) = \begin{bmatrix} q^*(x_{11} + \Delta x) \dots & q^*(x_{m1} + m\Delta x) \\ q^*(x_{1n} + \Delta x) \dots & q^*(x_{mn} + m\Delta x) \end{bmatrix}. \quad (2.7)$$

3. У результаті одержується дві ортогональні  $(K_x, K_y)$  автокореляційні функції, які характеризують особливості кореляційної структури розподілів  $q$  у двох взаємно перпендикулярних напрямках.

Надалі для характеристики азимутальної асиметрії двовірних координатних розподілів  $q$  будемо використовувати співвідношення між значеннями півширини ортогональних автокореляційних функцій. Такий параметр назовемо коефіцієнтом асиметрії.

### 2.2.3. Фрактальний аналіз

Фрактальний аналіз проводився шляхом розрахунку логарифмічних залежностей  $(\lg L(q) - \lg(d^{-1}))$  спектрів потужності розподілів випадкових величин  $q$ . Тут де  $d^{-1}$  просторові частоти, що визначаються геометричними розмірами  $(d)$  структурних елементів стохастичних і мюллер-матричних зображень біологічного шару. Далі залежності  $\lg L(q) - \lg(d^{-1})$  апроксимуються методом найменших квадратів у криві  $\Phi(\eta)$ . За виглядом одержаних кривих проводиться класифікація координатних розподілів  $q$  [7, 8, 20-22]:

- розподіли  $q$  - фрактальні при постійному значенні кута нахилу  $\eta = \text{const}$  залежності  $\Phi(\eta)$  для 2-3 декад зміни розмірів  $d$ ;

- розподіли  $q$  - мультифрактальні за умови наявності декількох постійних кутів нахилу  $\Phi(\eta)$ ;
- розподіли  $q$  - випадкові за умови відсутності стабільних кутів нахилу  $\Phi(\eta)$  у всьому інтервалі зміни розмірів  $d$ .

#### 2.2.4. Вейвлет аналіз

Серед основних аналітичних способів масштабно-селективного

$$\text{оцінювання розподілів } q \equiv \left[ \begin{pmatrix} S_i \\ \alpha \\ \beta \\ \phi \\ f_{ik} \end{pmatrix}, (|W|), \begin{pmatrix} I^\Phi \\ S^\Phi_i \\ \alpha^\Phi \\ \beta^\Phi \\ f^\Phi_{ik} \end{pmatrix} \right] \text{ є вейвлет-аналіз [22].}$$

За допомогою вейвлет-функції розподіл  $q$  можна розкласти в ряд

$$q(x) = \sum_{a,b=-\infty}^{\infty} Q_{ab} \Omega_{ab}(x), \quad (2.8)$$

де  $\Omega_{ab}(x) = \Omega(ax - b)$  - базова функція, що утворена з функції-прототипу зміщенням  $b$  та масштабуванням -  $a$ , а коефіцієнти такого розкладу визначаються наступним чином

$$Q_{ab} = \int q(x) \Omega_{ab}(x) dx \quad (2.9)$$

Вейвлет-перетворення добре виявляє як низькочастотні, так і високочастотні характеристики розподілу на різних координатних масштабах ("математичний мікроскоп"). Якщо продовжувати аналогію з математичним «мікроскопом», то параметр зсуву  $b$  фіксує точку фокусування мікроскопу, масштабний коефіцієнт  $a$  – збільшення, і вибір базисного вейвлету  $\Omega$  – оптичні властивості мікроскопу.



У нашій роботі ми використовуємо МНАТ-вейвлет (друга похідна Гаусової функції). Така функція має вузький енергетичний спектр та два рівних нулю моменти (нульовий та перший). Вона добре пристосована для аналізу складних сигналів [22]. Математичний вираз для МНАТ-вейвлета наступний

$$\Omega(t) = \frac{d^2}{dt^2} e^{-t^2/2} = (1-t^2)e^{-t^2/2}. \quad (2.10)$$

Результатом вейвлет-перетворення одномірного розподілу є двомірний масив амплітуд  $Q(a, b)$ . Розподіл цих значень в просторі ( $a$  - просторовий масштаб,  $b$  - просторова координата або локалізація) дає інформацію про еволюцію відносного вкладу компонент різного масштабу в досліджуваний розподіл і називається спектром вейвлет-коефіцієнтів  $Q(a, b)$

$$Q(a, b) = \frac{1}{|a|^{1/2}} \int_{-\infty}^{+\infty} q(x) \Omega\left(\frac{t-b}{a}\right) dt. \quad (2.11)$$

### 2.2.5. Просторово-частотний аналіз

Найпростіший просторовий фільтр для обробки зображень [21] містить дві лінзи із співпадаючими по локалізації задньою (для першої лінзи) та передньою (для другої лінзи) фокальними площинами, і фільтр-транспарант, розташований у цій площині  $P_2$  (рис. 2.1).

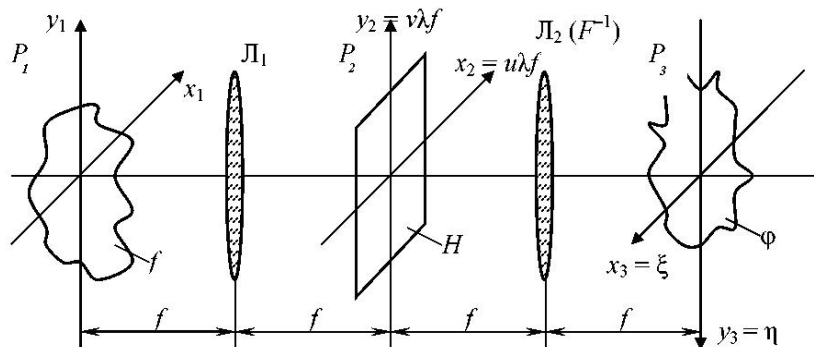


Рис. 2.1. Схема оптичної просторової фільтрації [21]

Теорія просторово-частотної фільтрації добре відома [178]. Тому у відповідній частині роботи буде наведено детальний аналітичний опис та обґрунтування даного методу лише стосовно аналізу стохастично-параметричних і мюллер-матричних зображень біологічних шарів.

### 2.3. Сукупність параметрів оцінки даних багафункціональної поляризаційної та автофлуоресцентної мікроскопії біологічних шарів

Завдяки застосуванню вищенаведених методів одержуються наступні параметри оцінки даних багафункціональної поляризаційної та автофлуоресцентної мікроскопії біологічних шарів:

1. Статистичні моменти 1-4-го порядків, які характеризують розподіли параметрів  $q$  -  $M_1; M_2; M_3; M_4$ ;

2. Кореляційні моменти 2-го і 4-го порядків, які характеризують півширину та гостроту піку автокореляційних функцій розподілів параметрів  $q$  -  $M^K_2; M^K_4$ . Такі параметри мають сенс статистичних моментів  $M_2; M_4$ , які обчислені для розподілу значень функції  $K(q)$ ;

3. Дисперсія  $D$  розподілу  $\lg L(q) - \lg(d^{-1})$ ;

4. Асиметрія кореляційного К-контурів розподілу  $q$  -  $\xi = \frac{P_{\max}}{P_{\min}}$ , де

$P_{\max}, P_{\min}$  - максимальна та мінімальна півширини автокореляційних функцій  $K_x(q), K_y(q)$ , які в подальшому будемо називати "ортогональними";

5. При проведенні наших досліджень зразків біологічних шарів, взятих у різних груп пацієнтів, будемо використовувати загальноприйняту у доказовій медицині термінологію – "операційні характеристики діагностичної сили того чи іншого методу вимірювання розподілів  $q$ ":

- Інтерпретація "позитивний" для пацієнтів з наявністю захворювання. Це "істинно позитивний випадок" –  $(TP)$ .
- Інтерпретація "негативний" для пацієнтів з відсутністю захворювання. Це "істинно негативний випадок" –  $(TN)$ .

- Інтерпретація “позитивний” для пацієнтів з відсутністю захворювання. Це “хибно позитивний випадок” – ( $FP$ ).
- Інтерпретація “негативний” для хворих з наявністю захворювання. Це “хибно негативний випадок” – ( $FN$ ).

Для характеристики інформативності наших діагностичних методів використано групу об’єктивних параметрів, які називають *операційними характеристиками*.

*Чутливість* ( $Se$ ) – це пропорція правильних позитивних результатів ( $TP$ ) діагностичного методу серед усіх хворих пацієнтів ( $D_+$ )

$$Se = \frac{TP}{D_+} 100\%. \quad (2.12)$$

- *Специфічність* ( $Sp$ ) – це пропорція правильних від’ємних результатів ( $TN$ ) методики серед групи здорових пацієнтів ( $D_-$ )

$$Sp = \frac{TN}{D_-} 100\%. \quad (2.13)$$

- *Точність* ( $Ac$ ) – пропорція правильних результатів ( $TP + TN$ ) тесту серед всіх обстежених пацієнтів ( $D_+ + D_-$ )

$$Ac = \frac{TP + TN}{D_+ + D_-} 100\%. \quad (2.14)$$

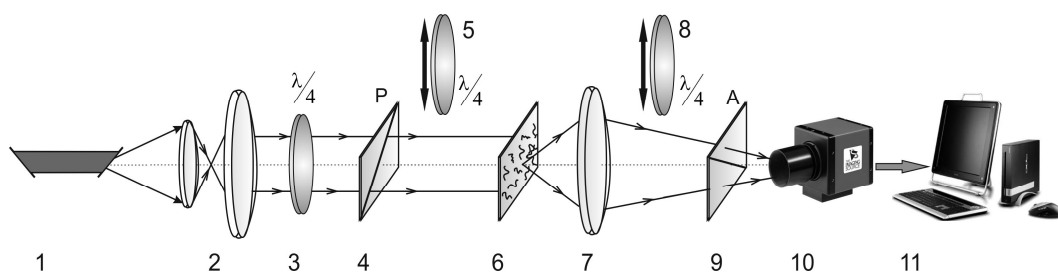
Якщо  $D_+ = D_-$ , то  $Ac$  називають *збалансованою точністю*.

Точність, таким чином, відображає кількість правильних діагнозів одержаних у результаті випробовувань методів поляризаційної, поляризаційно-кореляційної мікроскопії та лазерної автофлуоресцентної поляриметрії біологічних шарів.

## 2.4. Принципова схема та характеристики мікрополяриметра

### 2.4.1. Поляризаційна та поляризаційно-кореляційна мікроскопія біологічних шарів

На рис. 2.2 представлена традиційна оптична схема мікрополяриметра, в якій реалізується поляризаційна мікроскопія гістологічних зрізів біологічних тканин та полікристалічних плівок біологічних рідин людини [7, 8, 20-22]



**Рис. 2.2.** Оптична схема поляриметра, де 1 – He-Ne лазер; 2 – коліматор; 3 – стаціонарна чвертьхвильова пластинка; 5, 8 – механічно рухомі чвертьхвильові пластинки; 4, 9 – поляризатор і аналізатор; 6 – біологічний шар; 7 – поляризаційний мікрооб’єктив; 10 – CCD камера; 11 – персональний комп’ютер [7, 8, 20-22]

Опромінювання зразків 6 проводилося паралельним ( $\varnothing = 2 \times 10^3 \mu\text{m}$ ) слабоінтенсивним ( $W=5,0 \text{ мВт}$ ) пучком He-Ne лазера ( $\lambda=0,6328 \mu\text{m}$ ). Поляризаційний опромінювач складається з чвертьхвильових пластинок 3, (Achromatic True Zero-Order Waveplate) і поляризатора 4 (B+W Kaesemann XS-Pro Polarizer MRC Nano).

Біологічний шар 6 послідовно зондувався лазерним пучком із наступними типами поляризації: лінійна з азимутами  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $+45^\circ$  і права циркуляція ( $\otimes$ ).

Поляризаційні зображення біологічного шару за допомогою поляризаційного мікрооб’єктиву 7 (Nikon CFI Achromat P, фокусна відстань – 30мм, числова апертура – 0,1, збільшення – 4x) проектувалося у площину світлочутливої площадки ( $m \times n = 1280 \times 960$  пікселей) CCD-камери 10 (The Imaging Source

DMK 41AU02.AS, monochrome 1/2" CCD, Sony ICX205AL (progressive scan); роздільна здатність – 1280x960; розмір світлочутливої площадки – 7600x6200мкм; чутливість – 0,05 lx; динамічний діапазон – 8 bit, SNR – 9 bit).

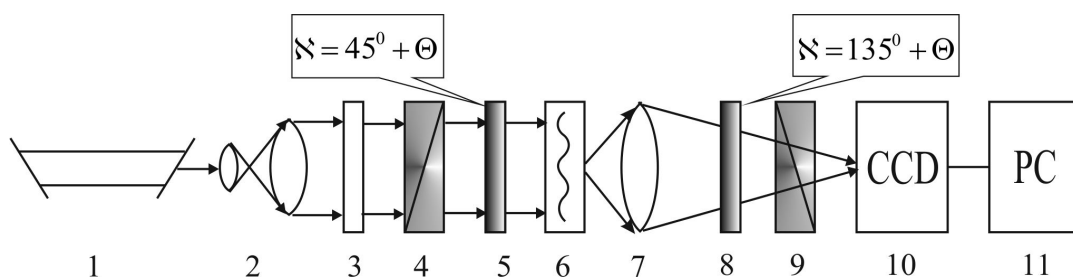
Аналіз зображень біологічних шарів 6 здійснювався за допомогою поляризатора 9 і чвертьхвильової пластинки 8.

Зазначена схема (рис. 2.2) не відрізняється від класичного стоксполариметра, що використовувався у багаточисельних дослідженнях біологічних тканин і рідин. Разом із тим, наше експериментальне розташування має принципову відмінність від попередніх схем лазерної поляриметрії. В якості проєкційного оптичного пристрою ми застосували спеціалізований, виправлений на поляризаційні аберації мікрооб'єктив 7. Це дозволяє суттєво підвищити не тільки чутливість, але й достовірність поляризаційної та поляризаційно-кореляційної мікроскопії біологічних шарів.

Окрім вищенаведеного оптичного розташування застосовувалися два його різновиди – система поляризаційної фазометрії та стоксполариметр з просторово-частотною фільтрацією поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень.

#### 2.4.2. Система поляризаційної фазометрії

Оптична схема реалізації такого методу наведена на рис. 2.3 [131].



**Рис. 2.3.** Оптична схема поляриметра - фазометра, де 1 – He-Ne лазер; 2 – коліматор; 3, 5, 8 – стаціонарні чвертьхвильові платівки; 4, 9 – поляризатор та аналізатор відповідно; 6 – об'єкт дослідження; 7 – мікрооб'єктив; 10 – CCD камера; 11 – персональний комп'ютер.

Для одержання інформації про координатний розподіл фазових зсувів між ортогональними складовими амплітуди лазерного випромінювання у точках мікроскопічного зображення біологічного шару 6 площини пропускання і напрямки головних оптичних осей основних поляризаційних елементів – поляризаторів 4; 9 і фазових пластинок " $\lambda/4$ " 3; 8 – орієнтують під кутами  $\aleph = 45^\circ + \Theta$  і  $\aleph = 135^\circ + \Theta$ .

За таких умов [131] інтенсивність кожної точки поляризаційно-відфільтрованого зображення визначається співвідношенням

$$I = I_0 2 \sin^2 \frac{\varphi}{2}. \quad (2.15)$$

Тут  $I_0$  - інтенсивність падаючого на біологічний шар лазерного пучка;  $I$  - інтенсивність у точці поляризаційно-відфільтрованого мікроскопічного зображення.

Таким чином, шляхом реєстрації розподілу інтенсивності у площині поляризаційно-відфільтрованого мікроскопічного зображення біологічного шару, можна одержати координатний розподіл фазових зсувів  $\varphi(m \times n)$ .

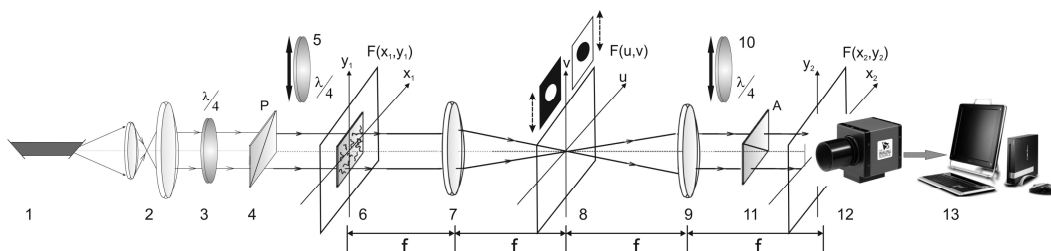
$$\varphi = \begin{pmatrix} \varphi_{11} & \dots & \varphi_{1n} \\ & \varphi_{jk} & \\ \varphi_{m1} & \dots & \varphi_{mn} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 2\arcsin\sqrt{0,5\bar{I}_{11}} & \dots & 2\arcsin\sqrt{0,5\bar{I}_{1n}} \\ & 2\arcsin\sqrt{\bar{I}_{jk}} & \\ 2\arcsin\sqrt{0,5\bar{I}_{m1}} & \dots & 2\arcsin\sqrt{0,5\bar{I}_{mn}} \end{pmatrix}. \quad (2.16)$$

Тут  $\bar{I}_{jk} = \frac{I_{jk}}{I_0}$  - нормовані значення інтенсивності у межах

окремих пікселів світлочутливої площадки цифрової камери 10 (рис. 2.4).

### 2.4.3. Стоксполариметр з просторово-частотною фільтрацією

На рис. 2.4 представлена схема стокс-полариметра з просторово-частотною фільтрацією [21, 175-177].



**Рис. 2.4.** Оптична схема стокс-полариметра з використанням просторово-частотної фільтрації, де 1 – He-Ne лазер; 2 – коліматор; 3 – стаціонарна чвертьхвильова платівка; 5, 10 – механічно рухомі чвертьхвильові платівки; 4, 11 – поляризатор та аналізатор відповідно; 6 – об’єкт дослідження; 7, 9 – мікрооб’єктиви; 8 – низькочастотний та високочастотний фільтри (транспаранти), 12 – CCD камера; 13 – персональний комп’ютер [177]

Освітлення зразка 6 проводилося паралельним ( $\varnothing = 10^4$  мкм) пучком He-Ne лазера ( $\lambda = 0,6328$  мкм; потужність  $W = 5$  мВт). Поляризаційний освітлювач складався з чвертьхвильових платівок 3, 5 та поляризатора 4.

Біологічний шар 6 розміщувався у фокальній площині поляризаційного мікрооб’єктива 7 (фокусна відстань  $f = 30$  мм, збільшення  $4X$ , числова апертура  $NA = 0,1$ ).

У задній фокальній площині розташовувався просторово-частотний (низькочастотний або високочастотний) фільтр 8.

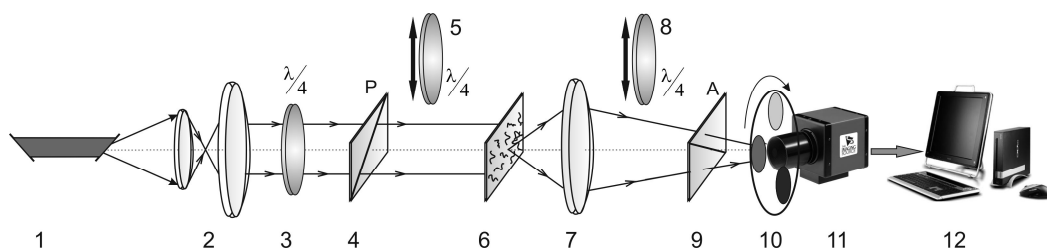
Поляризаційний мікрооб’єктив 9 (фокусна відстань  $f = 30$  мм, збільшення  $4X$ , числова апертура  $NA = 0,1$ ) розташовувався на фокусній відстані від частотної площини об’єктива 7.

Координатний розподіл інтенсивності такого поля реєструвався в площині світлочутливої CCD-камери The Imaging Source DMK 41AU02.AS 12 (розмір світлочутливої площадки

$N = m \times n = 1280 \times 960$  пікселів), яка знаходилася також на фокальній відстані від мікрооб'єктиву 9.

#### 2.4.4. Автофлуоресцентна лазерна поляриметрія

На рис. 2.5 наведена схема модифікованого для досліджень автофлуоресценції біологічних шарів лазерного мікрополяриметра.



**Рис. 2.5.** Оптична схема лазерного поляризаційного автофлуоресцентного стоксполариметра

Для збудження автофлуоресценції у розташуванні стоксполариметра (рис. 2.6) ми використали “синій” напівпровідниковий лазер LSR405ML-LSR-PS-II з довжиною хвилі  $\lambda = 0,405 \text{ мкм}$  і потужністю  $W = 50 \text{ мВт}$ .

Вимірювання координатних розподілів інтенсивності автофлуоресценції  $I_{\lambda}^{\Phi}$  біологічних шарів 6 у площині світлочутливої площадки цифрової камери 11 здійснювалося з використанням смугових світлофільтрів 10 із наступними максимумами спектрального пропускання  $\lambda_{\text{max}}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ ,  $\lambda_{\text{max}}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$  і  $\lambda_{\text{max}}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$ .

Вищенаведені схеми лазерного мікрополяриметра були метрологічно повірені у ДП Укрметтестстандарт. Одержано сертифікаційне свідоцтво № 37/3703 від 01 листопада 2013 р. на роботу даного пристрою (Див. **Додаток А**).

Метрологічні характеристики пристрою наведені у **Додатку Б**.



## 2.5. Характеристика об'єктів дослідження

В якості об'єктів дослідження використовувалися оптично-тонкі (геометрична товщина  $l = 15 \text{ мкм} - 35 \text{ мкм}$ , коефіцієнт ослаблення  $\tau < 0,1$ ) шари гістологічних зрізів біологічних тканин людини та мазки її рідин.

З фізичної точки зору такі зразки являють собою оптично-анізотропні недеполяризуючі (такі що змінюють, модулюють значення азимуту та еліптичності поляризації) шари. Зазначений вибір об'єктів має фундаментальне та прикладне значення.

*Фундаментальне* - у товщі таких зразків реалізується одноразова взаємодія лазерного випромінювання зі структурними елементами (просторово-детерміновані фібрили, волокна, пучки та утворені ними оптично-анізотропні сітки; неструктуровані оптично-ізотропні ліпіди, пігменти тощо). У результаті такої взаємодії відбувається координатна по площині біологічного шару модуляція величин азимуту та еліптичності поляризації. При цьому формується поляризаційно-неоднорідне зображення такого шару. Характерною відзнакою такого процесу є однозначний взаємозв'язок між станами поляризації у точках такого зображення та параметрами оптичної анізотропії (двопроменезаломлення - напрямок оптичної осі  $\gamma$ , величина фазового зсуву  $\phi$  між ортогональними компонентами поляризації; оптична активність - величина кута повороту площини поляризації  $\theta$ ).

*Прикладне* - такі біологічні шари є класичним об'єктом клінічних медико-біологічних мікроскопічних досліджень. Прямі дослідження мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин людини різної морфологічної будови та фізіологічного стану забезпечують можливість безпосереднього порівняння одержаних

даних  $q \equiv \left[ \begin{pmatrix} S_i \\ \alpha \\ \beta \\ \phi \\ f_{ik} \end{pmatrix}, (|W|), \begin{pmatrix} I^\phi \\ S^\phi_i \\ \alpha^\phi \\ \beta^\phi \\ f^\phi_{ik} \end{pmatrix} \right]$  із результатами найбільш точної та

достовірної гістологічної діагностики - "золотий" стандарт. Виходячи з

цього такі дослідження в подальшому будемо називати "поляризаційно-кореляційна біопсія" або "автофлуоресцентна біопсія".

Вивчення розподілів  $q$  мікроскопічних зображень мазків біологічних рідин дозволяє здійснити нетравматичну попередню та опосередковану оцінку тієї чи іншої патології. Це відкриває широкі можливості застосування методів поляризаційно-кореляційної мікроскопії та лазерної автофлуоресцентної поляриметрії у скринінгових масових обстеженнях. В подальшому такі дослідження будемо називати "поляризаційно-кореляційна цитологія" або "автофлуоресцентна цитологія".

Отже, системне вивчення даних дозволяє одержати багатомірну й, головне, об'єктивну інформацію про особливості оптико-анізотропної структури різноманітних біологічних тканин і рідин людини.

З іншого боку, така структура є похідною від змін біохімічного складу досліджуваних шарів. Останні, в свою чергу, є наслідками виникнення та перебігу патології. Виходячи з цього стає можливою поляризаційно-кореляційна та автофлуоресцентна диференціація таких зразків.

Зауважимо, що для достовірного діагностичного заключення потрібне статистичне опрацювання одержаних розподілів  $q$ :

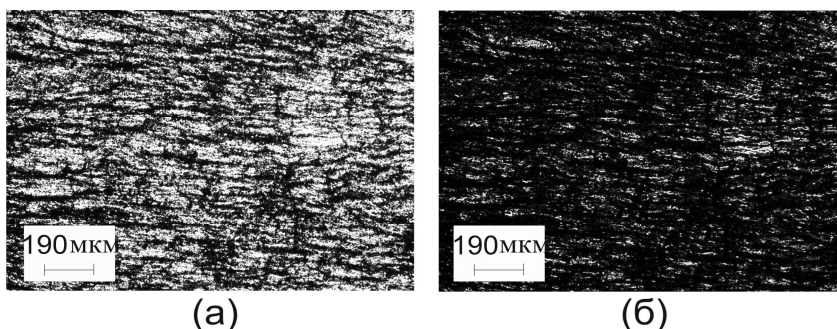
- визначення статистично достовірної репрезентативної вибірки;
- обчислення методом перехресної перевірки однорідності такої вибірки;
- обчисленні величини довірчого інтервалу;
- визначенні чутливості, специфічності та точності методів поляризаційно-кореляційної мікроскопії та лазерної автофлуоресцентної поляриметрії для кожного з параметрів  $q$ .

Вибір зразків пов'язаний із наступними причинами:

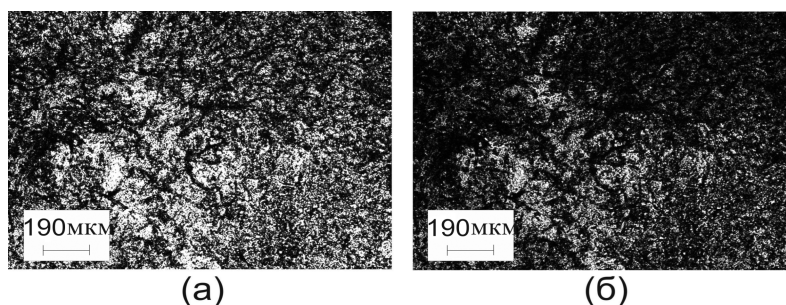
*Гістологічні зрізи біологічних тканин:*

- Тканини з упорядкованою (рис. 2.6) та розупорядкованою (рис. 2.7) будовою двопротенезаломлюючих фібрилярних мереж.
- Паренхіматозні тканини органів людини з кластерною (неорієнтованою) оптико-анізотропною будовою (рис. 2.8).

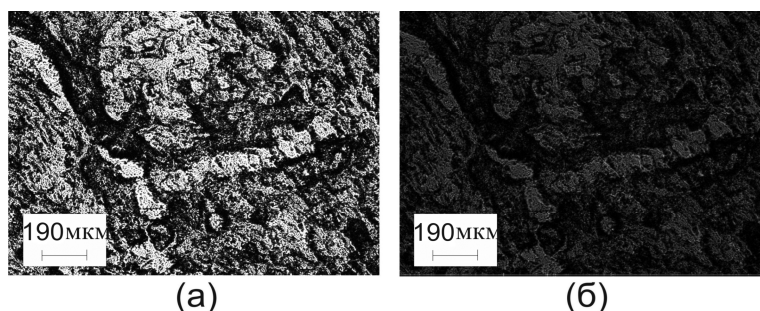
- Тканини з доброякісними та злоякісними змінами (рис. 2.9, рис. 2.10).



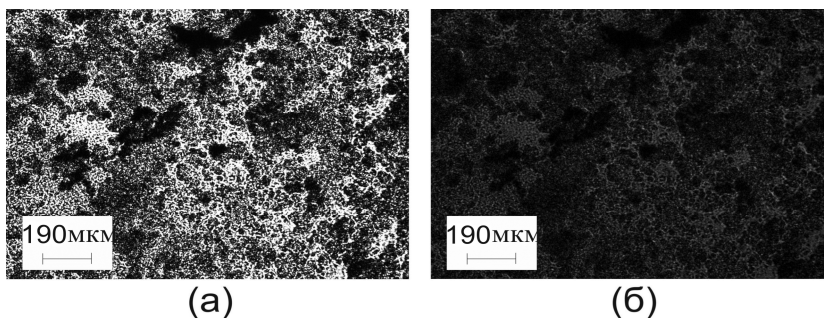
**Рис. 2.6.** Мікроскопічні зображення (1280x960) гістологічного зрізу тканини міокарду одержані у співвісних ( $0^{\circ} - 0^{\circ}$ ) - (а) та перехрещених ( $0^{\circ} - 90^{\circ}$ ) - (б) поляризаторі-аналізаторі



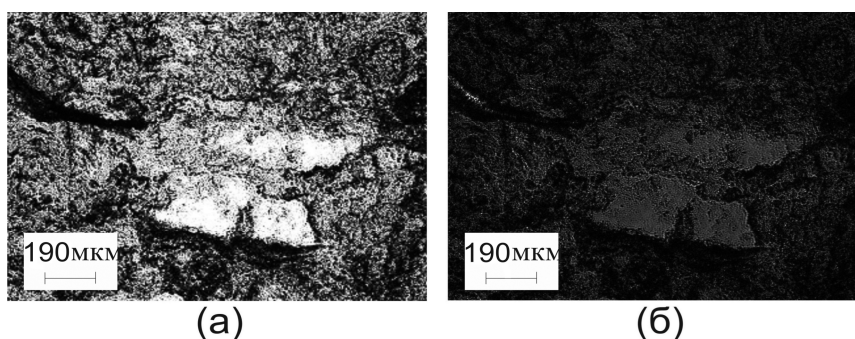
**Рис. 2.7.** Мікроскопічні зображення (1280x960) гістологічного зрізу тканини мозку одержані у співвісних ( $0^{\circ} - 0^{\circ}$ )- (а) та перехрещених ( $0^{\circ} - 90^{\circ}$ ) - (б) поляризаторі-аналізаторі



**Рис. 2.8.** Мікроскопічні зображення (1280x960) гістологічного зрізу доброякісної пухлини (аденома) простати одержані у співвісних ( $0^{\circ} - 0^{\circ}$ ) - (а) та перехрещених ( $0^{\circ} - 90^{\circ}$ ) - (б) поляризаторі-аналізаторі



**Рис. 2.9.** Мікроскопічні зображення (1280x960) гістологічного зрізу біопсії шийки матки у передраковому стані (дисплазія) одержані у співвісних ( $0^0 - 0^0$ ) - (а) та перехрещених ( $0^0 - 90^0$ ) - (б) поляризаторі-аналізаторі



**Рис. 2.10.** Мікроскопічні зображення (1280x960) гістологічного зрізу біопсії злоякісної пухлини (аденокарцинома) шийки матки одержані у співвісних ( $0^0 - 0^0$ ) - (а) та перехрещених ( $0^0 - 90^0$ ) - (б) поляризаторі-аналізаторі

Порівняльний аналіз структури наведених мікроскопічних зображень рис. 2.6 - рис. 2.10 підтвердив наявність оптично-анізотропної структури біологічних тканин різної морфології та патології.

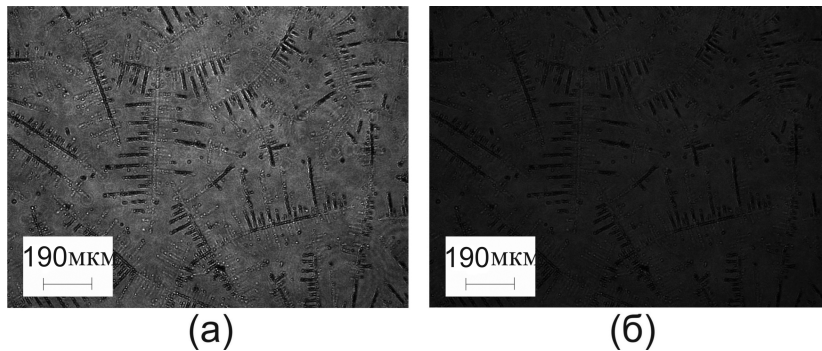
З іншого боку кожний розглянутий біологічний шар характеризується індивідуальними кількісними та топографічними проявами такої анізотропії. Багатопараметрична мікро- та наноскопічна оцінка таких проявів і є базисом для розробки комплексу об'єктивних методик багатомірної мікроскопії.

*Мазки біологічних рідин:*

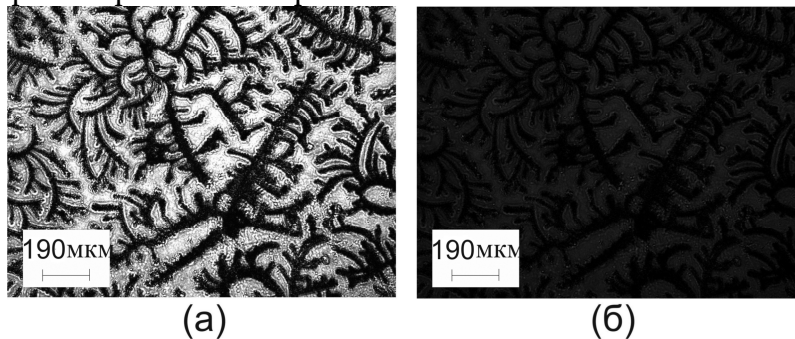
- Плазма крові донора (рис. 2.30).

- Синовіальна рідина суглоба з ревматоїдним артритом (рис. 2.31).
- Жовч пацієнта з діабетом II ступеню (рис. 2.32).

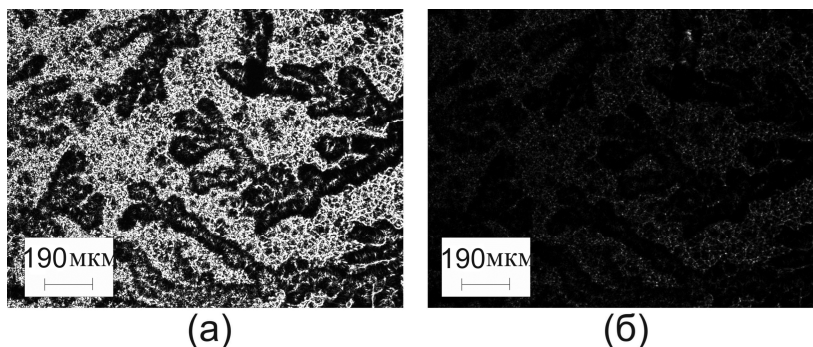
Порівняльний аналіз мікроскопічних зображень (рис. 2.11 - рис. 2.13) мазків біологічних рідин людини виявив прояви їх оптично-анізотропної складової.



**Рис. 2.11.** Мікроскопічні зображення (1280x960) мазка плазми крові донора одержані у співвісних ( $0^{\circ} - 0^{\circ}$ ) - (a) та перехрещених ( $0^{\circ} - 90^{\circ}$ ) - (б) поляризаторі-аналізаторі



**Рис. 2.12.** Мікроскопічні зображення (1280x960) синовіальної рідини суглоба з ревматоїдним артритом одержані у співвісних ( $0^{\circ} - 0^{\circ}$ ) - (a) та перехрещених ( $0^{\circ} - 90^{\circ}$ ) - (б) поляризаторі-аналізаторі



**Рис. 2.13.** Мікроскопічні зображення (1280x960) жовчі пацієнта з діабетом II ступеню одержані у співвісних ( $0^0 - 0^0$ ) - (а) та перехрещених ( $0^0 - 90^0$ ) - (б) поляризаторі-аналізаторі

Для виготовлення біологічних шарів використовувалася стандартна медико-біологічна методика.

Гістологічні зрізи одержувалися на заморожувальному мікротомі.

Плівки біологічних рідин одержувалися шляхом нанесення краплі на оптично-однорідне скло з наступним просушуванням при кімнатній температурі.

Забір зразків для цитології проводився після промивання шийки матки 0,9% розчином Na-Cl. За допомогою ложечки Фолькмана здійснювалися зіскрібок з поверхні шийки матки й цервікального каналу. Отриманий матеріал наносився на скляну підкладку.

## 2.6. Висновки до розділу 2:

1. Наведено та охарактеризовано сукупність методів поляризаційної (“одноточкової”) мікроскопії біологічних шарів:
  - стокс-поляриметрія мікроскопічних цифрових зображень біологічних шарів;
  - поляриметрія мікроскопічних зображень біологічних шарів;
  - фазометрія мікроскопічних зображень біологічних шарів;
  - мюллер-матричне картографування біологічних шарів;

- стокс-поляриметричне і мюллер-матричне картографування біологічних шарів з просторово-частотною фільтрацією у Фур'є площині.
2. Наведено та охарактеризовано сукупність методів поляризаційно-кореляційної ("двоточкової") мікроскопії біологічних шарів:
    - "метод КСВА" - поляризаційно-кореляційне картографування оптико-анізотропних мереж біологічних шарів;
    - метод кореляційних К-контурів, які характеризують координатні розподіли КСВА біологічних шарів.
  3. Представлено методики лазерної аутофлуоресцентної поляриметрії біологічних шарів:
    - поляризаційно-варіабельна фотометрія;
    - аутофлуоресцентна стокс-поляриметрія;
    - аутофлуоресцентна поляриметрія.
  4. Виділено основні групи інформаційних параметрів
 
$$q \equiv \left[ \begin{pmatrix} S_i \\ \alpha \\ \beta \\ \phi \\ f_{ik} \end{pmatrix}, (|W|), \begin{pmatrix} I^\phi \\ S^{\phi_i} \\ \alpha^\phi \\ \beta^\phi \\ f^{\phi_{ik}} \end{pmatrix} \right]$$
 та проаналізовано сукупність методів
- комплексного статистичного, кореляційного, фрактального, вейвлет, фур'є аналізу одержаних даних.
5. Наведено основні дані про метрологічні параметри лазерного мікрополяриметра та визначено точність вимірювань інформаційних параметрів  $q$ .
  6. Обґрунтовано вибір об'єктів дослідження та проаналізовані їхні основні оптичні властивості.

Матеріали розділу викладено в роботах [169], [234], [235], [241], [248], [261], [263-265], [269], [279-288].

### Розділ 3

## МЕТОДИ Й ЗАСОБИ БАГАТОФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ПОЛЯРИЗАЦІЙНОЇ МІКРОСКОПІЇ ОПТИЧНО АНІЗОТРОПНИХ БІОЛОГІЧНИХ ШАРІВ

Даний розділ містить результати:

2. Мюллер-матричного описання явища фазової анізотропії полікристалічних біологічних шарів з лінійним та циркулярним двопротенезаломленням.
3. Комп'ютерного моделювання взаємозв'язків між двомірними азимутально-незалежними (інваріантними до кута повороту зразка відносно напрямку опромінення) вектор-параметричними і мюллер-матричними зображеннями та розподілами напрямів оптичних осей і фазових зсувів, які вносяться модельними полікристалічними сітками циліндрів з прямолінійними та колоподібними оптичними осями.
4. Апробації методу азимутально-інваріантного поляризаційного та мюллер-матричного картографування біологічних шарів.
5. Аналітичного обґрунтування та експериментальної апробації методу поляризаційно-фазової фільтрації мікроскопічних зображень полікристалічних плівок біологічних рідин.

### 3.1. Аналітичне обґрунтування моделі узагальненої фазової анізотропії біологічного шару

В основу опису проявів оптичної анізотропії біологічних тканин покладено наступні модельні уявлення [1, 3, 135-140]

1. Амінокислоти та утворені ними поліпептидні ланцюги (первинна структура білка) володіють *циркулярним двопротенезаломленням* або *оптичною активністю* й характеризуються наступним матричним оператором [21, 130]



$$\{A\} = \begin{vmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & a_{22} & a_{23} & 0 \\ 0 & a_{32} & a_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{vmatrix}, \quad (3.1)$$

де

$$a_{ik} = \begin{cases} a_{22} = a_{33} = \cos 2\theta; \\ a_{23} = -a_{32} = \sin 2\theta. \end{cases} \quad (3.2)$$

Тут  $\theta$  - кут повороту площини поляризації світлового пучка відносно площини падіння.

2. Фібрилярні (вторинна структура) протеїнові мережі, які утворені поліпептидними ланцюгами, характеризуються *лінійним двопроменезаломленням*. Оптичні прояви такого механізму вичерпно повно описуються наступною матрицею Мюллера [130, 136]

$$\{B\} = \begin{vmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & b_{22} & b_{23} & b_{24} \\ 0 & b_{32} & b_{33} & b_{34} \\ 0 & b_{42} & b_{43} & d_{44} \end{vmatrix}, \quad (3.3)$$

де

$$b_{ik} = \begin{cases} b_{22} = \cos^2 2\gamma + \sin^2 2\gamma \cos \phi; \\ b_{23} = b_{32} = \cos 2\gamma \sin 2\gamma (1 - \cos \phi); \\ b_{33} = \sin^2 2\gamma + \cos^2 2\gamma \cos \phi; \\ b_{24} = -b_{42} = \sin 2\gamma \sin \phi; \\ b_{34} = -b_{43} = \cos 2\gamma \sin \phi; \\ b_{44} = \cos \phi. \end{cases} \quad (3.4)$$

Тут  $\gamma$  - напрям укладання фібрил, який визначає орієнтацію оптичної осі;  $\phi$  - фазовий зсув між лінійно-поляризованими ортогональними складовими амплітуди світлового пучка.

З урахуванням усіх механізмів фазової анізотропії (співвідношення (3.1)-(3.4)) матриця Мюллера біологічного шару може бути записана у вигляді добутку парціальних операторів, які характеризують оптичну активність та лінійне двопротоменезаломлення полікристалічних мереж [21, 27]

$$\{F\} = \{A\}\{B\} = f_{11}^{-1} \times \begin{vmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & f_{22} & f_{23} & f_{24} \\ 0 & f_{32} & f_{33} & f_{34} \\ 0 & f_{42} & f_{43} & f_{44} \end{vmatrix}. \quad (3.5)$$

Зазначимо, що розгорнутий вигляд співвідношення (3.5) залежить від послідовності парціальних матричних операторів  $\{A\}$  і  $\{B\}$ . Таку тезу демонструють наступні вирази

$$\{\tilde{F}\} = \{A\}\{B\} = \begin{vmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & (b_{22}a_{22} + b_{32}a_{23}) & (b_{23}a_{22} + b_{33}a_{23}) & (b_{24}a_{22} + b_{34}a_{23}) \\ 0 & (b_{22}a_{32} + b_{32}a_{33}) & (b_{23}a_{32} + b_{33}a_{33}) & (b_{24}a_{32} + b_{34}a_{33}) \\ 0 & b_{42} & b_{43} & b_{44} \end{vmatrix} \quad (3.6)$$

$$\{F\} = \{B\}\{A\} = \begin{vmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & (b_{22}a_{22} + b_{23}a_{32}) & (b_{22}a_{23} + b_{23}a_{33}) & b_{24} \\ 0 & (b_{32}a_{22} + b_{33}a_{32}) & (b_{32}a_{23} + b_{33}a_{33}) & b_{34} \\ 0 & (b_{42}a_{22} + b_{43}a_{32}) & (b_{42}a_{23} + b_{43}a_{33}) & b_{44} \end{vmatrix} \quad (3.7)$$

Проте, порівняльний аналіз (3.6), (3.7) виявив стабільність до комутації парціальних матричних операторів  $\{A\}$  і  $\{B\}$  двох

матричних елементів  $f_{11}, f_{44}$ . З іншого боку, у роботах [42-46] показано, що такі елементи є азимутально-інваріантними, тобто незалежними від кута ( $\Theta$ ) обертання зразка

$$f_{11}(\Theta) = \text{const}; f_{44}(\Theta) = \text{const}. \quad (3.8)$$

Окрім цього, азимутально-інваріантними є наступні комбінації матричних елементів

$$\begin{cases} [f_{22} + f_{33}](\Theta) = \text{const}; \\ [f_{23} - f_{32}](\Theta) = \text{const}. \end{cases} \quad (3.9)$$

На перший погляд співвідношення (3.9) не є стабільними до комутації парціальних матричних операторів  $\{A\}$  і  $\{B\}$  (див (3.6), (3.7)). Іншими словами,  $f_{22,33} \neq \tilde{f}_{22,33}$  і  $f_{23,32} \neq \tilde{f}_{23,32}$ . Проте, якщо врахувати явний вигляд елементів парціальних матричних операторів  $\{A\}$ , співвідношення (3.1) і  $\{B\}$ , співвідношення (3.3), то можна показати, що

$$\frac{f_{23} - f_{32}}{f_{22} + f_{33}} = \frac{\tilde{f}_{23} - \tilde{f}_{32}}{\tilde{f}_{22} + \tilde{f}_{33}} \equiv \Delta f. \quad (3.10)$$

Аналіз приведених обертових інваріантів (3.8), (3.10) виявляє їх індивідуальне "інформаційне" навантаження, обумовлене різним вкладом механізмів фазової анізотропії (3.1)-(3.4) полікристалічної мережі

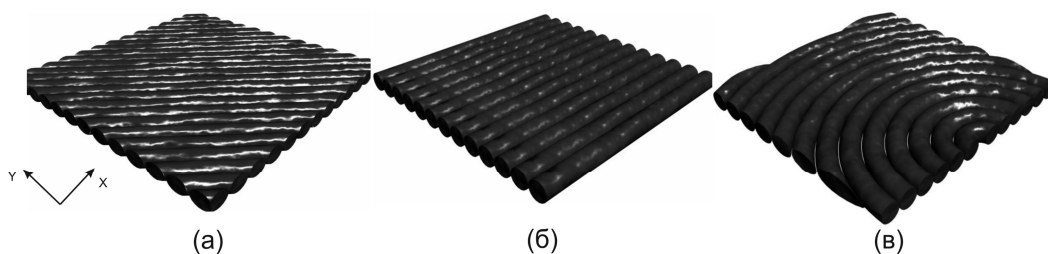
$$f_{44} = \cos \phi; \quad (3.11)$$

$$\Delta f = \text{tg } 2\theta. \quad (3.12)$$

### 3.2. Комп'ютерне моделювання взаємозв'язків азимутально-інваріантних мюллер-матричних зображень та параметрів фазової анізотропії планарних мереж біологічних кристалів

У даному параграфі наведено матеріали комп'ютерного моделювання залежності координатних розподілів значень вектор-параметричних та мюллер-матричних зображень від різних типів полікристалічних мереж (рис. 3.1):

- Планарні сітки прямолінійних оптично-анізотропних циліндрів з постійним значенням двопроменезамлення - **об'єкт I** (Рис. 3.1(а, б));
- Планарні сітки циліндрів з колоподібними оптичними осями та постійним значенням двопроменезамлення - **об'єкт II** (Рис. 3.1(в));
- Планарні сітки прямолінійних оптично-анізотропних циліндрів із модульованим вздовж напрямку оптичної осі значенням двопроменезамлення - **об'єкт III** (Рис. 3.1(а, б));
- Планарні сітки циліндрів з колоподібними оптичними осями та з модульованим значенням двопроменезамлення - **об'єкт IV** (Рис. 3.1(в))



**Рис. 3.1.** Геометрична структура полікристалічних планарних **об'єктів I-IV**

Даний вибір об'єктів дозволяє в достатньо повній мірі охопити різноманіття поляризаційних властивостей реальних мереж протеїнових фібрил, які характеризуються широким спектром зміни поперечних геометричних розмірів та напрямків укладання.

Відомо [1, 3, 124, 125], що кожна фібрила являє собою циліндричну протейнову нитку з різноманітними - від прямолінійного (кісткова та м'язова тканина, сухожилля) до криволінійного (сполучна та епітеліальна тканина) напрямками укладання.

Патологічним станам біологічних тканин відповідають наступні трансформації будови фібрилярних сіток - "упорядкування-розупорядкування" напрямків укладання фібрил, диференціація поперечних розмірів і відповідні до цього зміни розподілу двопроменезаломлення [135-140, 157].

Досліджувалися координатні розподіли:

- 4-го параметру вектора Стокса  $S_4$  (фазове вектор-параметричне зображення), який характеризує фазову структуру поляризаційних зображень **об'єктів I-IV**;
- матричного елементу  $f_{44}$  (фазове мюллер-матричне зображення [165]), який характеризує розподіли двопроменезаломлення **об'єктів I-IV**;
- матричного елементу  $f_{34}$  (орієнтаційно-фазове мюллер-матричне зображення [170]), який характеризує орієнтаційну та двопроменезаломлюючу будову **об'єктів I-IV**.

Одержана сукупність вектор-параметричних та мюллер-матричних зображень об'єктів усіх типів аналізувалась в межах статистичного (обчислювалися статистичні моменти 1-4 порядків) [7, 8, 20-22], кореляційного (обчислювалися автокореляційні функції) [7, 8, 20-22] та фрактального (обчислювалися логарифмічні залежності спектрів потужності) [7, 8, 20-22] підходів.

### Об'єкт I

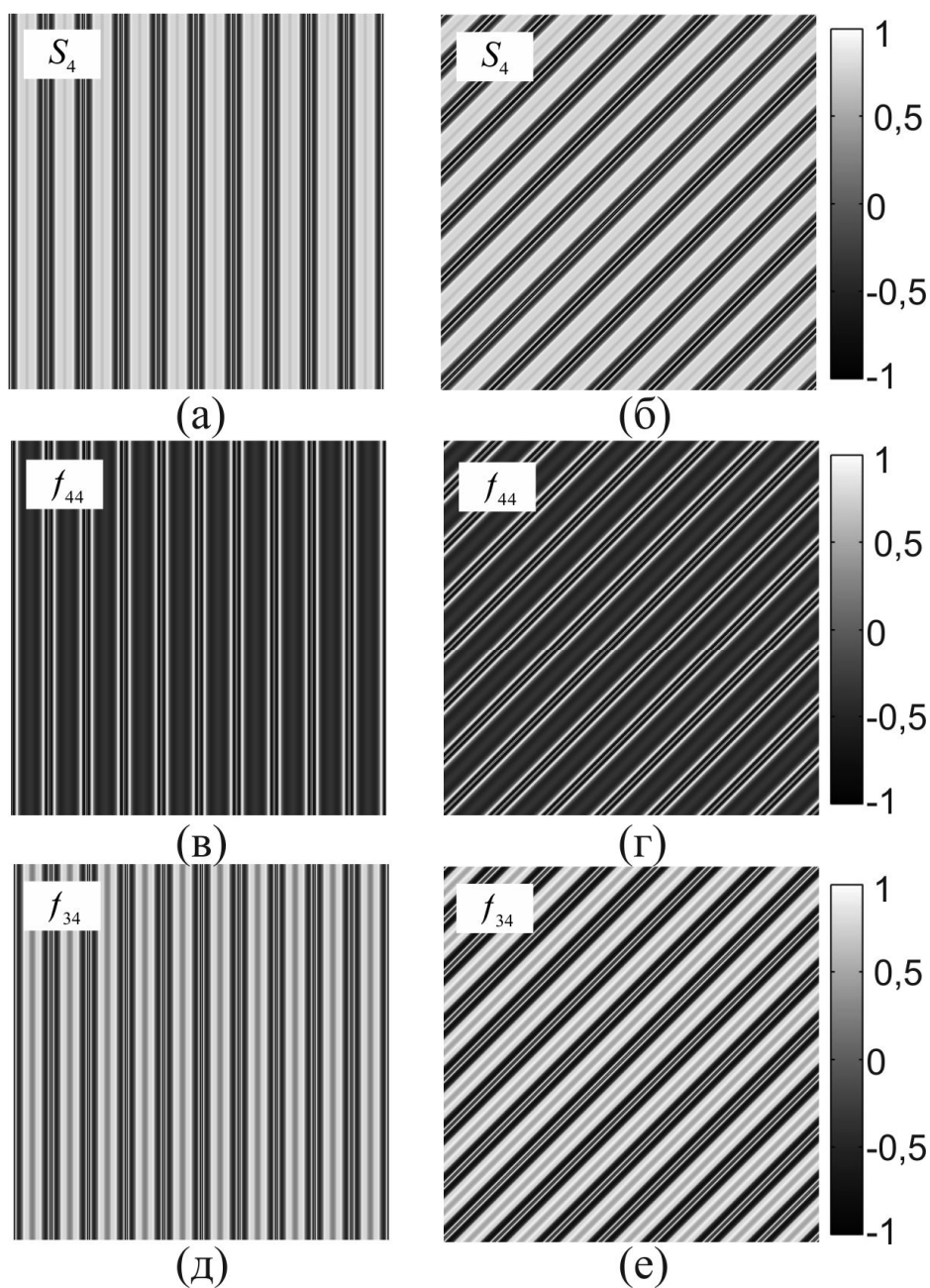
На серії рис. 3.2 – рис. 3.4 приведено результати комп'ютерного моделювання координатних розподілів  $S_4$ ,  $f_{44}$  і  $f_{34}$  (Рис. 3.2); двовимірні автокореляційні (Рис. 3.3) та логарифмічні залежності спектрів потужності таких розподілів (Рис. 3.4), які характеризують оптико-анізотропні властивості **об'єкту I**.

З одержаних даних видно, що всі без виключення вектор-параметричні та мюллер-матричні зображення мають індивідуальну топографічну структуру (див. параграф 3.1, співвідношення (3.1)-(3.4))

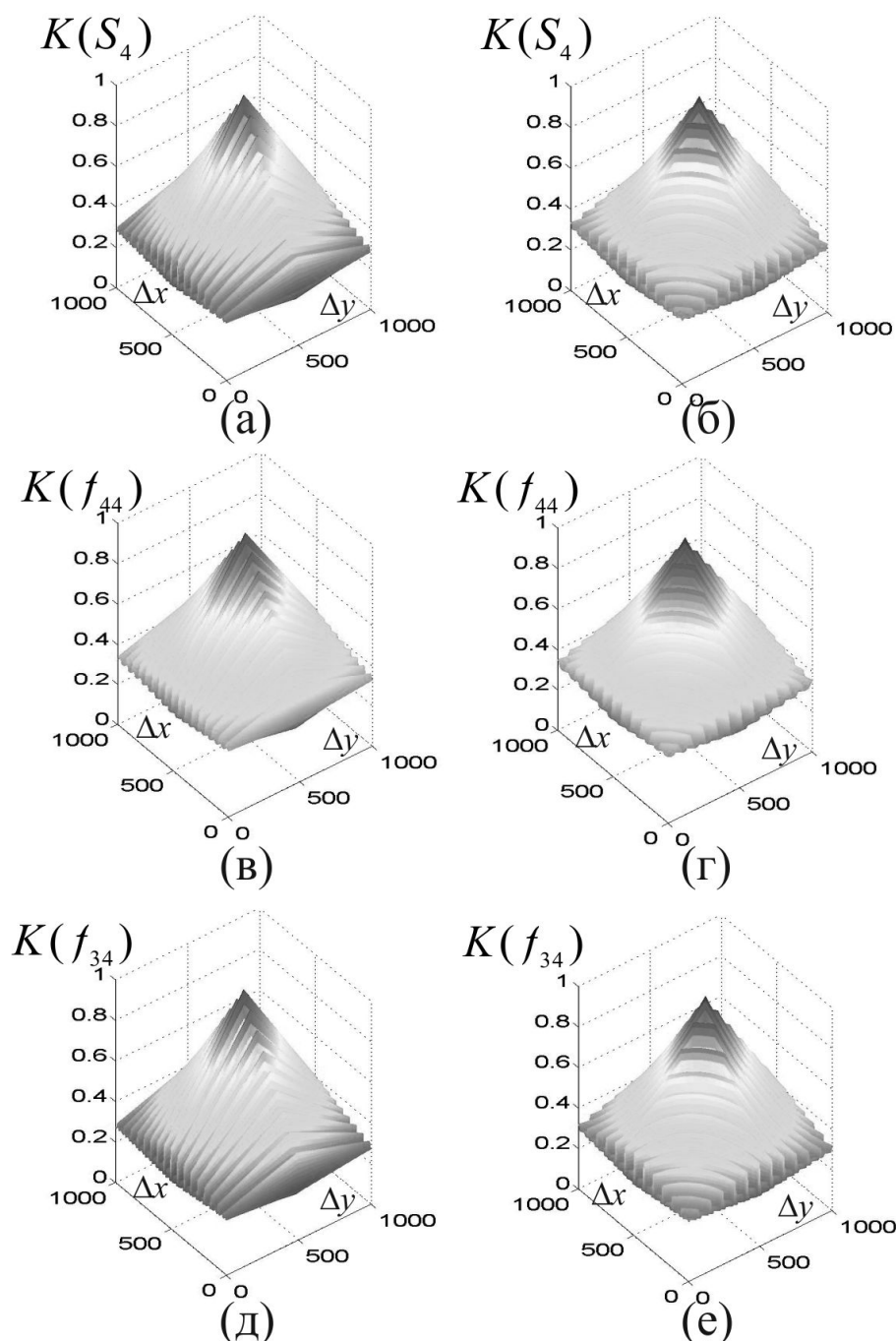
та характеризуються гармонічно координатно розподіленими власними значеннями (Рис. 3.2). Локальні ж значення параметру вектора Стокса або елементу матриці Мюллера в кожній точці таких віртуальних зображень планарних полікристалічних сіток визначаються конкретною величиною фазового зсуву, сформованого зміною оптичного шляху - геометричного перерізу двопротинезаломлюючого циліндра у даній точці (співвідношення (3.5)).

Сукупність автокореляційних функцій координатних розподілів значень вектор-параметричних та мюллер-матричних зображень **об'єкту I**, як і передбачено в теорії кореляційного аналізу гармонічних сигналів [7, 8, 20-22, 136, 171, 173], являють собою плавно спадаючі з гармонічною модуляцією власних значень залежності (Рис. 3.3).

Однією із складових аналітичного розгляду двомірних розподілів значень вектор-параметричних та мюллер-матричних зображень є фрактальний підхід. Разом із тим коректне застосування цього підходу у рамках комп'ютерного моделювання утруднене. Дана обставина пов'язана із незначною у статистичному сенсі кількістю структурних елементів, які формують двопротинезаломлюючі сітки.

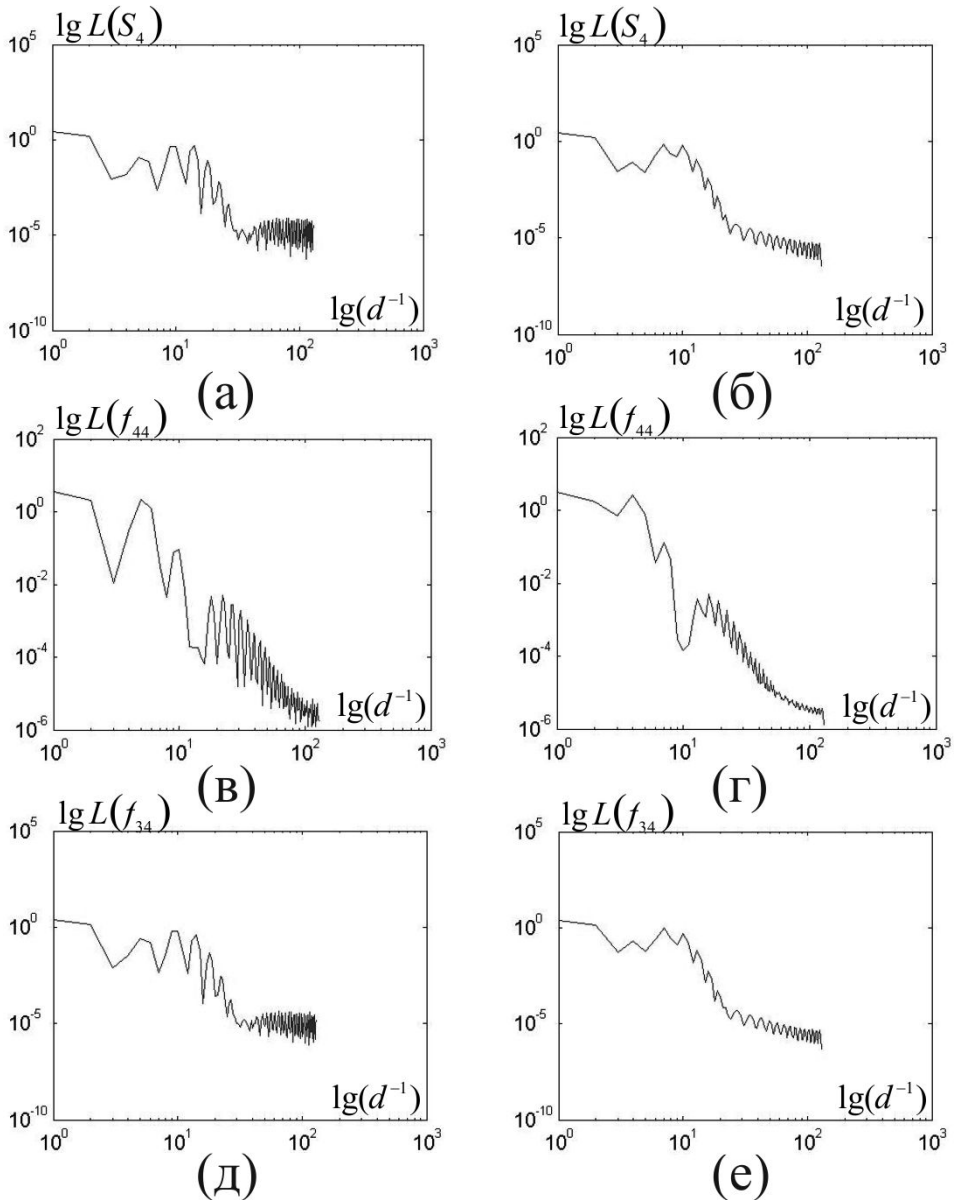


**Рис. 3.2.** Вектор-параметричні (а, б) та мюллер-матричні (в-е) зображення планарних сіток прямолінійних циліндрів з постійним значенням двопроменезаломлення та різними напрямками оптичних осей



**Рис. 3.3.** Автокореляційні функції розподілів значень вектор-параметричних (а, б) та мюллер-матричних (в-е) зображень планарних сіток прямолінійних циліндрів з постійним значенням двоприменезаломлення та різними напрямками оптичних осей





**Рис. 3.4.** Логарифмічні залежності спектрів потужності розподілів значень вектор-параметричних (а, б) та мюллер-матричних (в-е) зображень планарних сіток прямолінійних циліндрів з постійним значенням двопроменезаломлення та різними напрямками оптичних осей

Тому у подальшому наш модельний аналіз буде сконцентрований на виявленні основних тенденцій зміни структури просторово-частотних спектрів координатних розподілів значень вектор-

параметричних та мюллер-матричних зображень у залежності від трансформації розподілів параметрів анізотропії. У результаті такого аналізу можна буде виявити опосередковані взаємозв'язки між масштабно-самоподібною будовою таких зображень та розподілами параметрів, які описують фазову анізотропію планарних сіток оптично анізотропних циліндрів з прямолінійними та криволінійними оптичними осями. Така інформація буде референтною у фрактальному аналізі (визначенні методом найменших квадратів апроксимуючих кривих логарифмічних залежностей спектрів потужностей) розподілів значень вектор-параметричних та мюллер-матричних зображень реальних біологічних шарів.

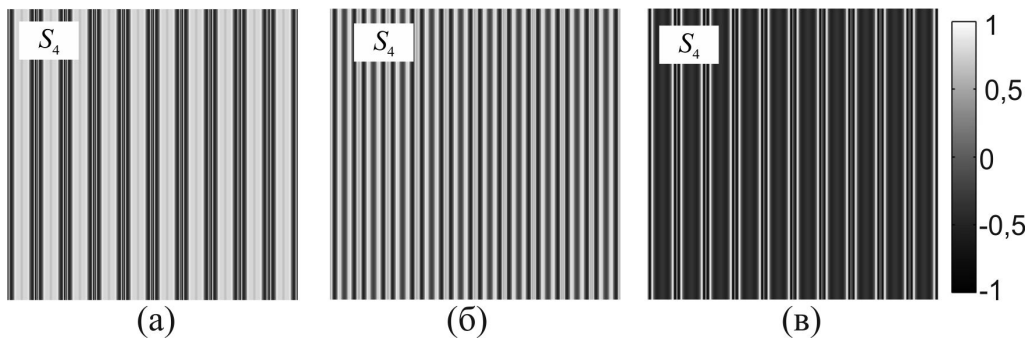
Комп'ютерне моделювання віртуальних зображень планарної сітки – **об'єкт I** виявило, що логарифмічні залежності спектрів потужності розподілів їх значень характеризуються декількома нахилами апроксимуючих кривих (Рис. 3.4). Даний факт вказує на наявність "доменної" (вузькі частотні діапазони) структури просторово-частотних розподілів значень вектор-параметричних та мюллер-матричних зображень **об'єкту I** (див. розділ 2, параграф 2.4.3. Така структура просторово-частотних спектрів обумовлена наявністю дискретних (геометрично обмежених) структурних розмірів таких зображень, які сформовані обмеженою кількістю двопротинезаломлюючих циліндрів з детермінованими геометричними розмірами.

Порівняльний аналіз сукупності вектор-параметричних та мюллер-матричних зображень планарних сіток прямолінійних циліндрів з різним напрямками оптичних осей (Рис. 3.2 (а, в, д) і (б, г, е)) виявив азимутальну залежність топографічної будови орієнтаційно-фазового мюллер-матричного зображення  $f_{34}(m \times n)$  (Рис. 3.2 (д, е)).

У межах кореляційного та фрактального аналізу така азимутальна трансформація виявляється у зміні періоду модуляції власних значень автокореляційних залежностей (Рис. 3.3 (д, е)), а також у зміні кутів нахилів апроксимуючих кривих логарифмічних залежностей спектрів потужності розподілу значень відповідного елементу матриці Мюллера (Рис. 3.4 (д, е)).

Окрім цього, виявлена азимутальна залежність від стану поляризації зондуєчого **об'єкт I** лазерного пучка розподілу значень вектор-параметричного зображення  $S_4$ , які визначаються параметрами (напрямок оптичної осі та фазові зсуви між ортогональними лінійно- та циркулярно поляризованими складовими амплітуди), що характеризують фазову анізотропію (співвідношення (3.1)-(3.4)).

Рис. 3.5. ілюструє відповідну залежність координатної структури даного вектор-параметричного зображення планарної сітки прямолінійних циліндрів від зміни стану поляризації опромінюючого лазерного випромінювання.



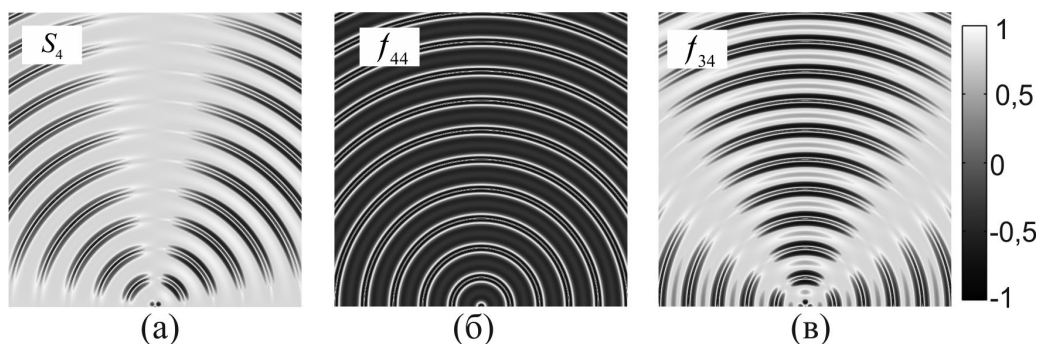
**Рис. 3.5.** Вектор-параметричні зображення  $S_4$  об'єкту I, обчислені для лінійно- ((1,1,0,0) - (а), (1,0,1,0) - (б)) та циркулярно- ((1,0,0,1) - (в)) поляризованих опромінюючих пучків

### Об'єкт II

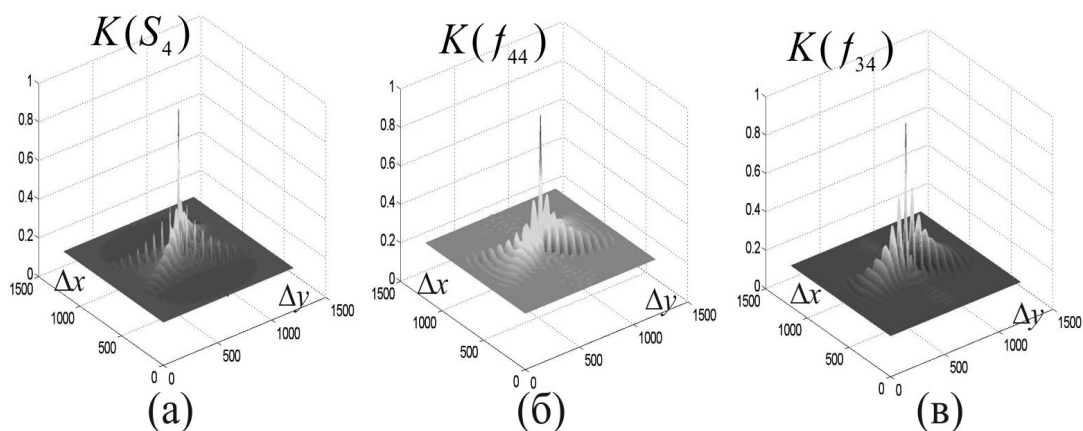
Вплив зміни геометрії укладання циліндрів з колоподібними оптичними осями у площині двопротенезаломлюючої сітки (**об'єкт II**) на топографічну, кореляційну та масштабно-самоподібну структуру вектор-параметричних та мюллер-матричних зображень ілюструють Рис. 3.6-Рис. 3.8.

Аналіз одержаних двомірних розподілів (Рис. 3.6) виявив "ускладнення" (формування сукупності локальних кластерів – замкненні контури однакових значень) топографічної будови координатних розподілів вектор-параметричного  $S_4$  (Рис. 3.6 (а)) та мюллер-матричних  $f_{44,34}$  (Рис. 3.6 (б, в)) зображень планарної сітки

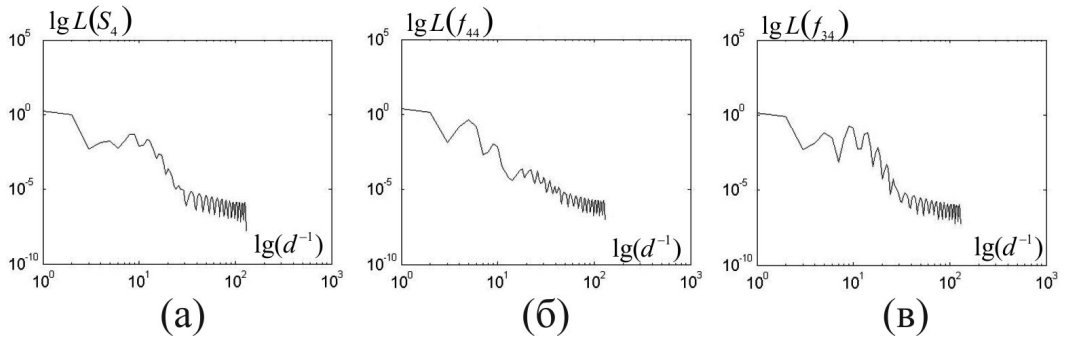
двопроменезаломлюючих циліндрів з колоподібними оптичними осями (об'єкт II).



**Рис. 3.6.** Вектор-параметричне (а) та мюллер-матричні (б, в) зображення планарної сітки оптично-анізотропних циліндрів з колоподібними оптичними осями та постійним значенням двопронезаломлення



**Рис. 3.7.** Автокореляційні функції розподілів значень вектор-параметричного (а) та мюллер-матричних (б, в) зображень планарної сітки оптично-анізотропних циліндрів з колоподібними оптичними осями та постійним значенням двопронезаломлення



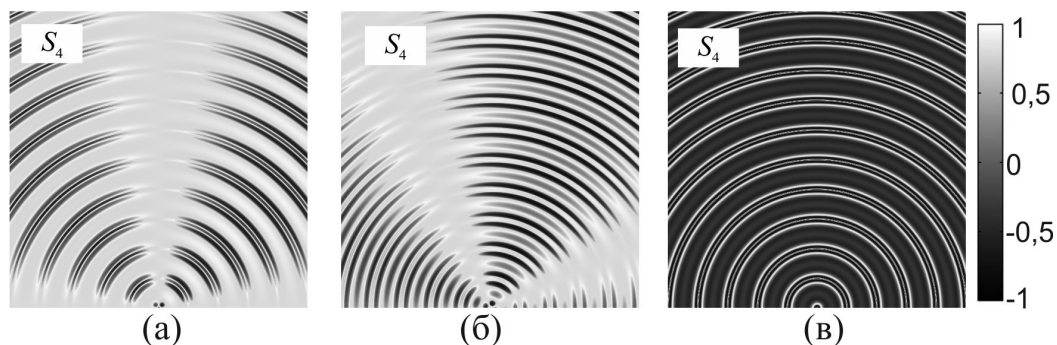
**Рис. 3.8.** Логарифмічні залежності спектрів потужності розподілів значень вектор-параметричного (а) та мюллер-матричних (б, в) зображень планарної сітки оптично-анізотропних циліндрів з колоподібними оптичними осями та постійним значенням двопроменезаломлення

Найбільш виразно “кластерна” будова спостерігається для мюллер-матричного зображення елементу  $f_{34}$  (Рис. 3.6(в)), значення якого у кожній точці площини **об’єкту II**, одночасно визначаються зміною напрямку оптичної осі  $\gamma$  (напрям дотичної до криволінійного циліндру у цій точці) та величиною фазового зсуву  $\phi$  (величина геометричного перерізу).

Координатні розподіли четвертого параметру вектора Стокса  $S_4$  (Рис. 3.6(а)) і фазового мюллер-матричного зображення  $f_{44}$  (Рис. 3.6(б)) азимутально-симетричні завдяки координатно-подібному для всіх точок **об’єкту II** детермінованому розподілу фазових зсувів.

Проте, навіть у такій геометрично-симетричній ситуації має місце залежність топографічної структури вектор-параметричного зображення  $S_4$  від зміни стану поляризації опромінюючого пучка - Рис. 3.9.

Як видно, для кожного стану поляризації опромінюючого пучка реалізується індивідуальна топографічна будова відповідного вектор-параметричного зображення планарної сітки оптично-анізотропних циліндрів з колоподібними оптичними осями.



**Рис. 3.9.** Вектор-параметричні зображення  $S_4$  об'єкту II, обчислені для лінійно- ((1,1,0,0) - (а), (1,0,1,0) - (б)) та циркулярно- ((1,0,0,1) - (в)) поляризованих опромінюючих пучків

Якщо порівняти результати комп'ютерного моделювання оптично-анізотропних властивостей та поляризаційних зображень сіток різної геометрії (Рис. 3.2, - прямолінійні циліндри, Рис. 3.6 – криволінійні циліндри) можна відмітити ускладнення топографічної побудови вектор-параметричного та мюллер-матричного зображень об'єкту II.

Відповідні зміни, що виявляються у формуванні системи кластерів (Рис. 3.6 (в), Рис. 3.9(а, б)), а також у змінах автокореляційних (Рис. 3.7) та логарифмічних залежностей спектрів потужності (Рис. 3.8) розподілів значень четвертого параметру вектора Стокса  $S_4$  (Рис. 3.7(а), Рис. 3.8(а)) та орієнтаційно-фазового  $f_{34}$  матричного елементу (Рис. 3.7(в), Рис. 3.8(в)).

Виявлено:

- розраховані автокореляційні залежності трансформуються у більш швидко спадаючі криві з меншою півшириною та амплітудою модуляції власних значень у площині вектор-параметричного  $S_4$  та орієнтаційно-фазового  $f_{34}$  мюллер-матричного зображень об'єкту II (Рис. 3.3(а, д), Рис. 3.7(а, в));
- збільшується кількість нахилів ламаної апроксимуючої кривої до логарифмічних залежностей спектрів потужності розподілів значень у площині вектор-параметричного  $S_4$  та мюллер-матричних  $f_{34,44}$  зображень об'єкту II (Рис. 3.4,

Рис. 3.8) за рахунок розширення діапазону просторових частот.

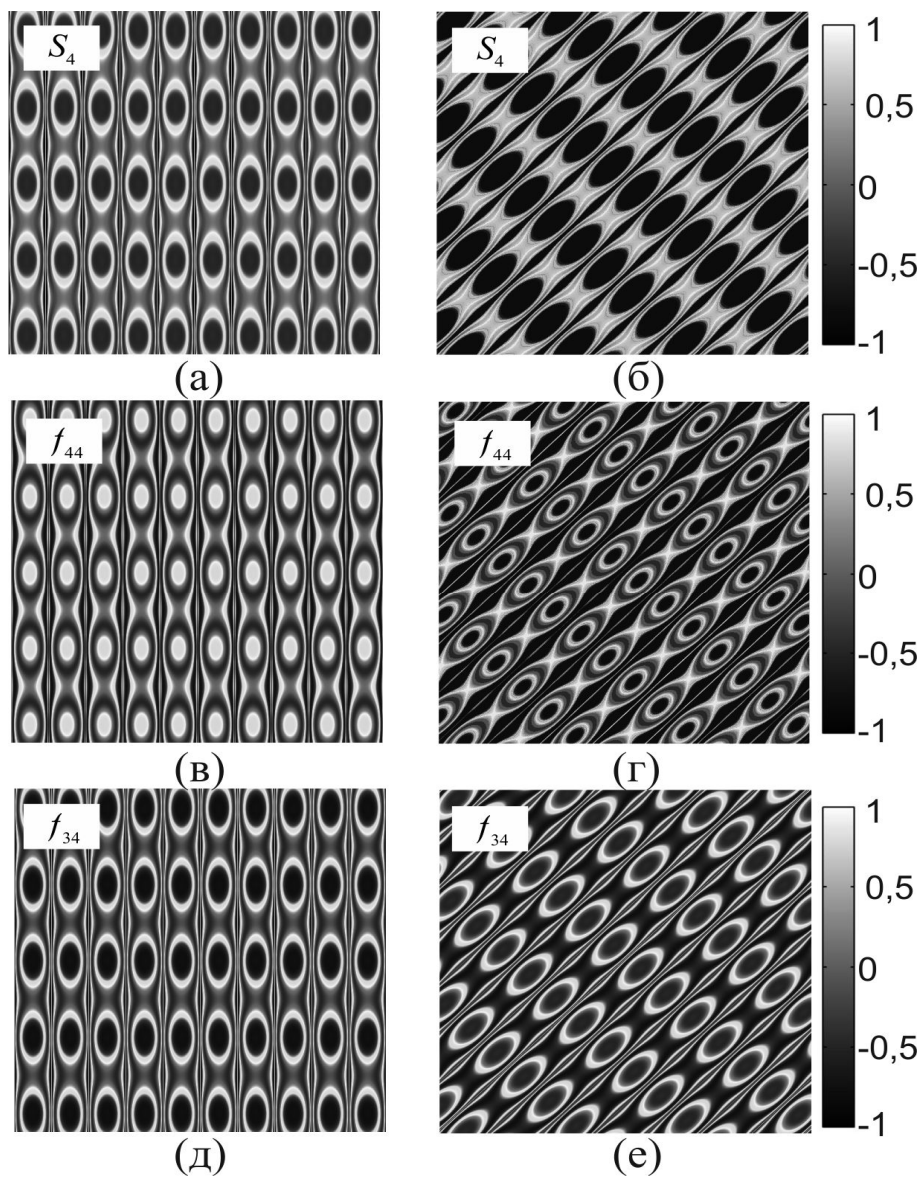
Наведені результати комп'ютерного моделювання стосуються планарних сіток оптично-анізотропних циліндрів різної геометрії із сталим значенням двоприменезаломлення  $\Delta n = \text{const}$ .

Разом із тим, у реальних оптично анізотропних сітках реалізується більш складна ситуація - координатна залежність величини двоприменезаломлення, як у межах однієї фібрили, так і всієї мережі [1-5, 20-22, 135, 136]. У зв'язку з цим, актуальним є розгляд механізмів формування вектор-параметричних та мюллер-матричних зображень **об'єктів I, II** із модульованою величиною двоприменезаломлення.

### **Об'єкт III**

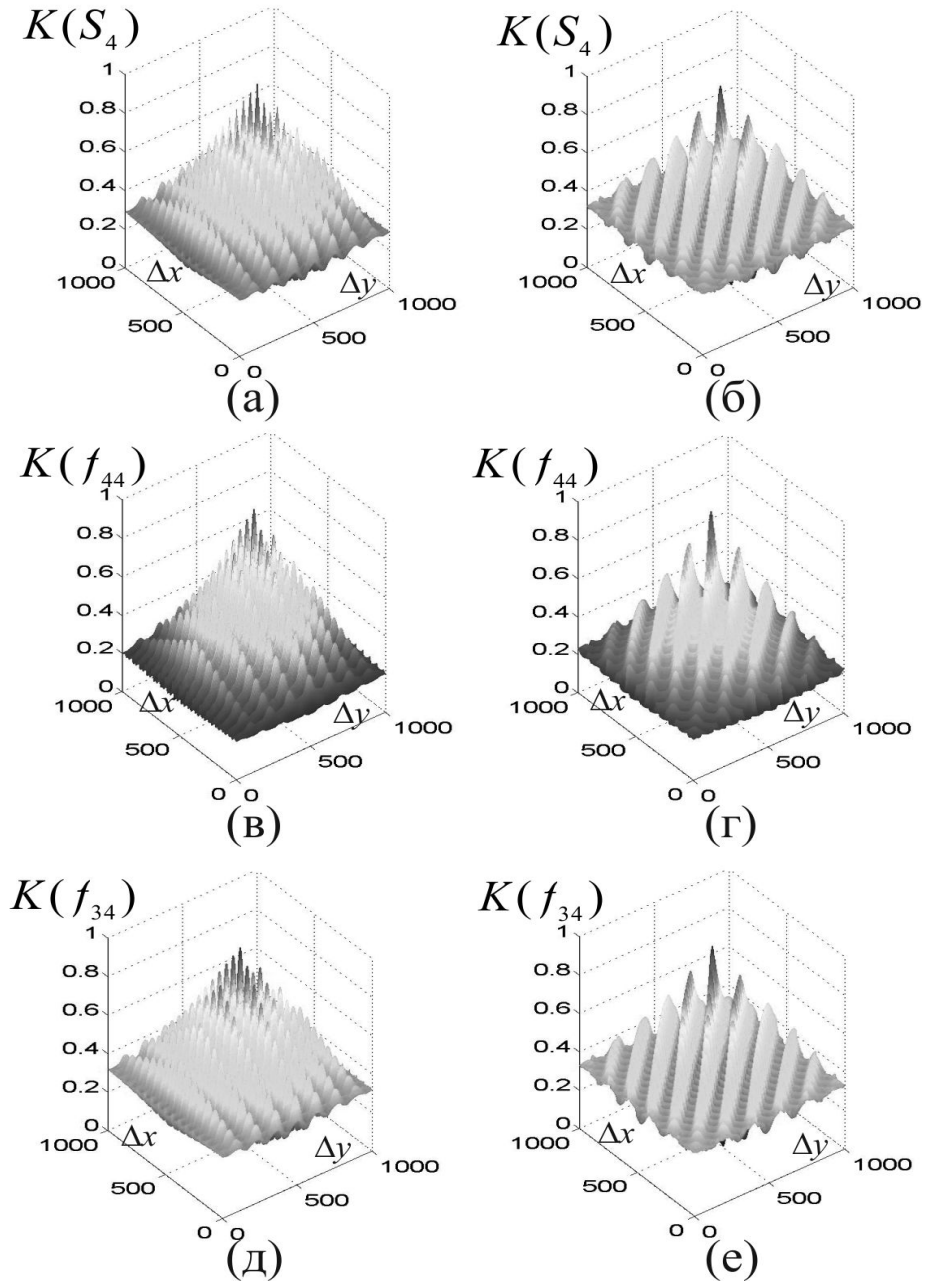
На першому етапі розглядалась ситуація детермінованої гармонічної модуляції величини двоприменезаломлення ( $\Delta n = \Delta n_0 \sin \frac{2\pi x}{L}$ ) вздовж геометричної осі прямолинійного циліндра.

Результати комп'ютерного моделювання координатної, кореляційної та масштабно-самоподібної структури вектор-параметричного  $S_4$  та мюллер-матричних  $f_{34,44}$  зображень **об'єкту III** ілюструють залежності наведені на серії рисунків 3.10-3.12.

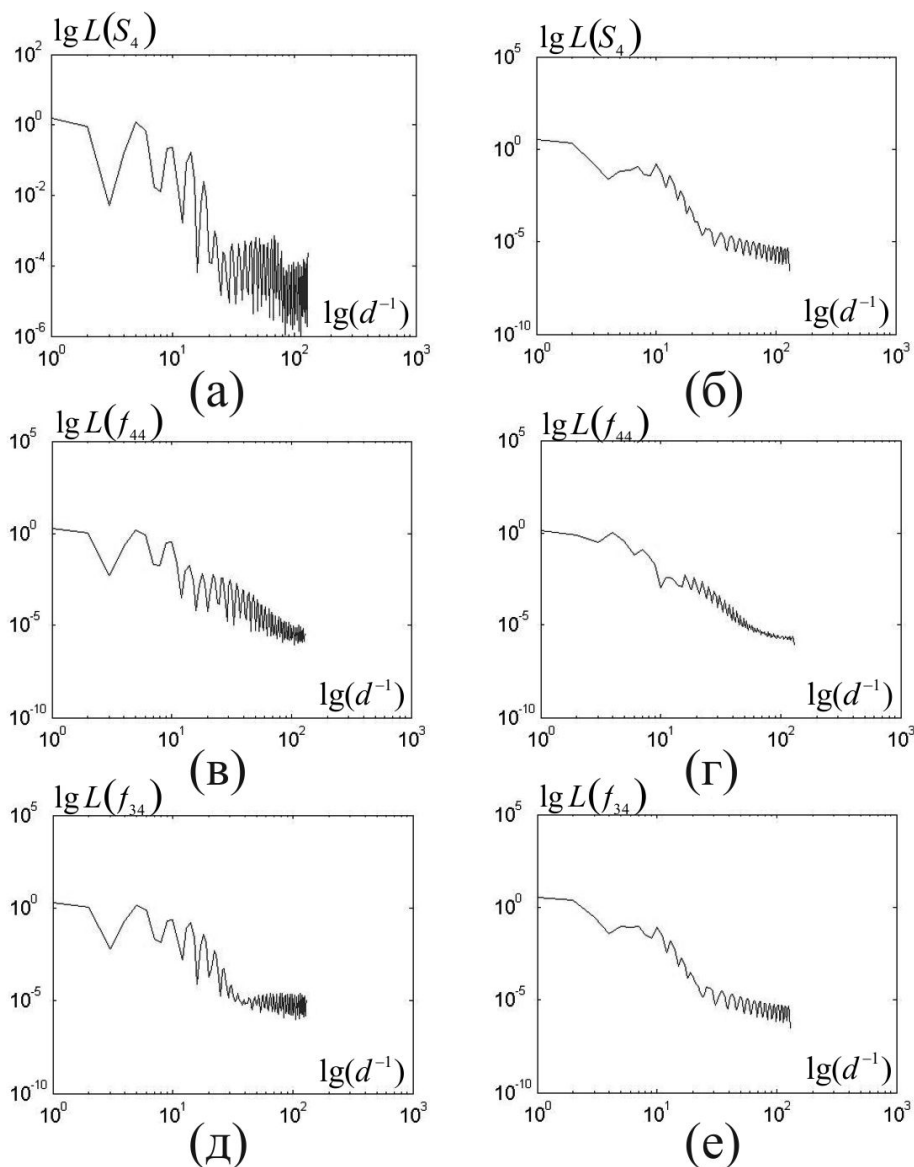


**Рис. 3.10.** Вектор-параметричні (а, б) та мюллер-матричні (в-е) зображення планарних сіток прямолінійних циліндрів з гармонічно розподіленими значеннями двопронезаломлення



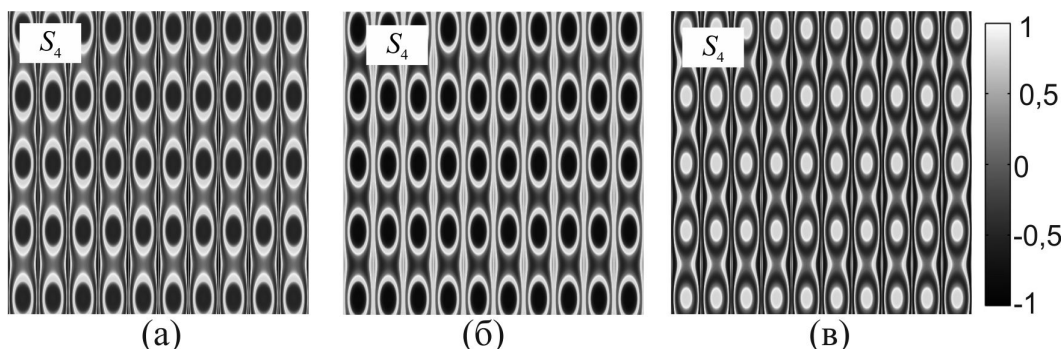


**Рис. 3.11.** Автокореляційні функції розподілів значень вектор-параметричних (а, б) та мюллер-матричних (в-е) зображень планарних сіток прямолінійних циліндрів з гармонічно розподіленими значеннями двопронизаломлення



**Рис. 3.12.** Логарифмічні залежності спектрів потужності розподілів значень вектор-параметричних (а, б) та мюллер-матричних (в-е) зображень планарних сіток прямолінійних циліндрів з гармонічно розподіленими значеннями двопротенезаломлення

Рис. 3.13 ілюструє трансформацію координатних розподілів вектор-параметричного  $S_4$  зображення **об'єкту III** у залежності від зміни стану поляризації зонduючого лазерного випромінювання.



**Рис. 3.13.** Вектор-параметричні зображення  $S_4$  об'єкту III, обчислені для лінійно- ((1,1,0,0) - (а), (1,0,1,0) - (б)) та циркулярно- ((1,0,0,1) - (в)) поляризованих опромінюючих пучків

Порівняльний аналіз одержаних даних комп'ютерного моделювання топографічної структури вектор-параметричного  $S_4$  та мюллер-матричних  $f_{34,44}$  зображень об'єкту III (Рис. 3.10) з аналогічними результатами, одержаними для об'єкту I (Рис. 3.2) виявив:

- формування ансамблю дрібномасштабних кластерів у вигляді замкнених контурів у координатних розподілах значень  $S_4$ ,  $f_{34,44}$  об'єкту III (Рис. 3.10);
- азимутальну залежність від напрямку орієнтації геометричних осей циліндрів топографічної будови координатних розподілів значень вектор-параметричного та мюллер-матричних зображень об'єкту III (Рис. 3.10);
- залежність від стану поляризації опромінюючого пучка координатних розподілів значень вектор-параметричного зображення  $S_4$  об'єкту III (Рис. 3.13);
- зміну (зменшення) періоду модуляції автокореляційних залежностей координатних розподілів значень  $S_4$  та  $f_{34,44}$  об'єкту III (Рис. 3.11);
- формування додаткових нахилів апроксимуючих кривих до логарифмічних залежностей спектрів потужностей розподілів значень вектор-параметричного  $S_4$  та мюллер-матричних  $f_{34,44}$  зображень об'єкту III (Рис. 3.12) за

рахунок формування додаткових дрібномасштабних структурних елементів топографічної будови таких зображень.

З фізичної точки зору одержані результати можна пов'язати із впливом додаткової гармонічної модуляції величини двопротенезаломлення у площині сітки прямолінійних оптично-анізотропних циліндрів.

У даному випадку результуюче значення фазового зсуву  $\phi$ , який визначає величини  $S_4(\phi); f_{34}(\phi); f_{44}(\phi)$ , формується у результаті суперпозиції двох механізмів.

Перший, - зміна величини поперечного геометричного перерізу циліндру і формування відповідного фазового зсуву  $\phi_x$  (співвідношення (3.3)-(3.5)). Такий фазовий зсув є сталим у напрямку геометричної осі циліндру.

Другий, - повздовжня (вздовж геометричної осі циліндру) гармонічна зміна величини двопротенезаломлення  $\phi_y$  (Рис. 3.10).

Суперпозиція таких чинників формує в межах кожного окремого циліндра геометричні місця точок однакового фазового зсуву ( $\phi_{x,y} = const$ ) у вигляді системи окремих замкнених контурів. Тому й у топографічній будові вектор-параметричного  $S_4(\phi_{x,y})$  та мюллер-матричних  $f_{34}(\phi_{x,y}); f_{44}(\phi_{x,y})$  зображень формуються відповідні замкнені кластерні структури (Рис. 3.10).

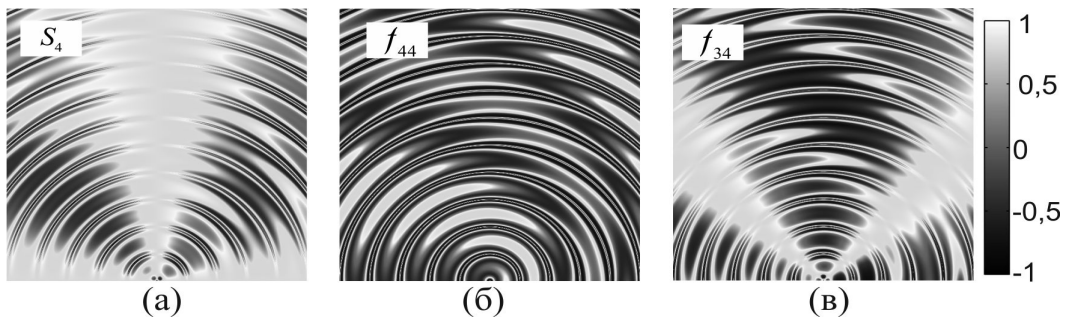
Поряд із цим, на величину орієнтаційно-фазового елементу  $f_{34}(\phi_{x,y})$  впливає і геометричний напрямок оптичної осі  $\gamma$  анізотропного циліндру (співвідношення (3.4)). Тому стає зрозумілою азимутальна залежність координатних розподілів  $S_4, f_{34,44}(\gamma, \phi_{x,y})$  (Рис. 3.10).

Проаналізоване ускладнення топографічної будови серії розглянутих віртуальних поляризаційних і мюллер-матричних зображень планарних полікристалічних мереж за рахунок гармонічної модуляції параметрів анізотропії виявляється у зміні періоду модуляції значень відповідних автокореляційних залежностей (Рис. 3.11).

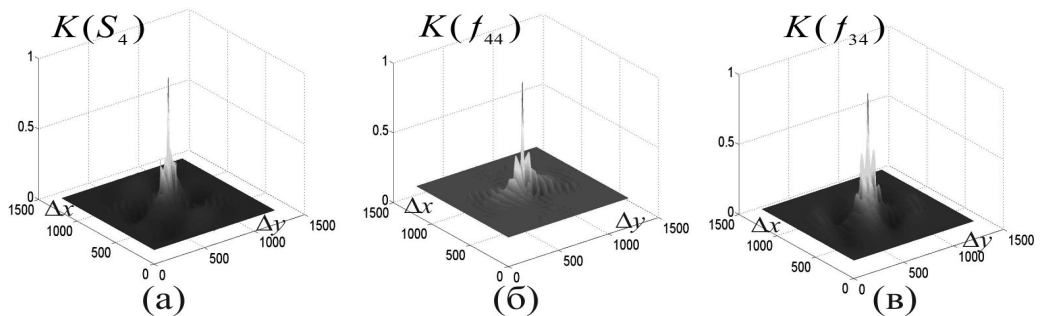
Окрім цього, наявність системи дрібномасштабних замкнених контурів (Рис. 3.10) є причиною виникнення додаткових масштабно-самоподібних множин у відповідних віртуальних зображеннях (Рис.3.12).

#### Об'єкт IV

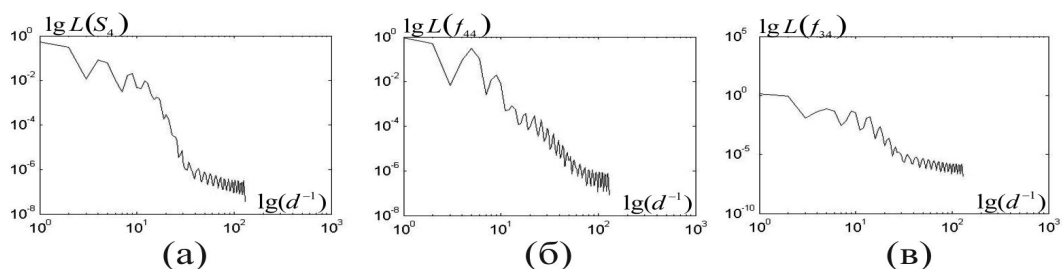
На серії рисунків 3.14-3.16 наведено результати комп'ютерного моделювання координатних розподілів значень вектор-параметричних і мюллер-матричних зображень **об'єкту IV**, а також автокореляційних функцій таких розподілів та логарифмічних залежностей спектрів потужності.



**Рис. 3.14.** Вектор-параметричне (а) та мюллер-матричні (б, в) зображення планарної сітки циліндрів з колоподібними оптичними осями та гармонічно розподіленою величиною двопронезаломлення



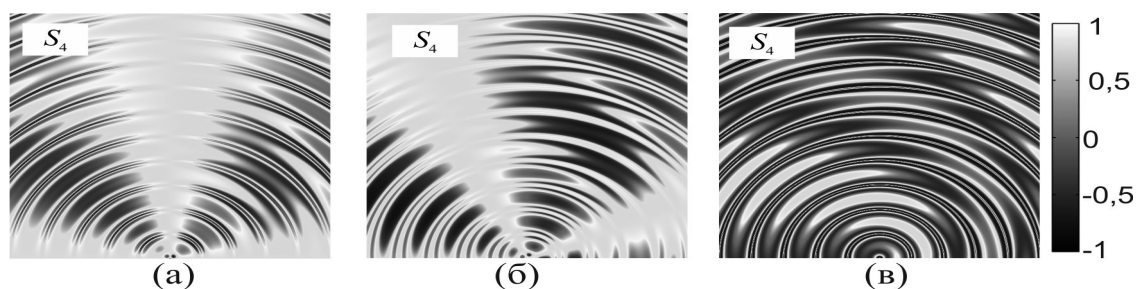
**Рис. 3.15.** Автокореляційні функції розподілів значень вектор-параметричного (а) та мюллер-матричних (б, в) зображень планарної сітки з колоподібними оптичними осями та гармонічно розподіленою величиною двопронезаломлення



**Рис. 3.16.** Логарифмічні залежності спектрів потужності розподілів значень вектор-параметричного (а) та мюллер-матричних (б, в) зображень планарної сітки з колоподібними оптичними осями та гармонічно розподіленою величиною двопронезаломлення

Аналіз одержаних даних виявив подальше ускладнення топографічної (формування систем асиметрично розташованих кластерів - рис. 3.14), кореляційної (швидкопадаючі осцилюючі кореляційні залежності - рис. 3.15) та масштабно-самоподібної (ламани апроксимуючі криві до логарифмічних залежностей - рис. 3.16) будови вектор-параметричного та мюллер-матричних зображень планарної сітки оптично-анізотропних циліндрів з колоподібними оптичними осями та гармонічно розподіленою величиною двопронезаломлення.

Азимутальну залежність координатного розподілу четвертого параметру вектора Стокса зображення **об'єкту IV** від зміни стану поляризації опромінюючого лазерного пучка ілюструє серія залежностей, що наведена на рис. 3.17.



**Рис. 3.17.** Вектор-параметричні зображення  $S_4$  об'єкту IV, обчислені для лінійно- ((1,1,0,0) - (а), (1,0,1,0) - (б)) та циркулярно- ((1,0,0,1) - (в)) поляризованих опромінюючих пучків

Отже, для одержання експериментально відтворюваних даних про прояви оптичної анізотропії різноманітних полікристалічних структур, необхідною вимогою є використання у якості інформаційного масиву азимутально-інваріантних вектор-параметричних або мюллер-матричних зображень таких об'єктів.

З метою кількісного оцінювання трансформації координатної, кореляційної та масштабно-самоподібної будови азимутально-інваріантних вектор-параметричного  $S_4$  та мюллер-матричного  $f_{44}$  зображень планарних полікристалічних сіток усіх типів (об'єкти I-IV) визначалися статистичні моменти 1-го-4-го порядків (розділ 2, параграф 2.2.1, співвідношення (2.1)-(2.4)), кореляційні моменти 2-го і 4-го порядків (розділ 2, параграф 2.2.2) та дисперсія логарифмічних залежностей спектрів потужності (розділ 2, параграф 2.2.3), які характеризують координатні розподіли значень (параметрів вектора Стокса або матричних елементів) таких віртуальних зображень.

Результати вказаних обчислень приведені у таблицях 3.1 і 3.2.

**Таблиця 3.1.** Статистичні, кореляційні та фрактальні параметри, які характеризують розподіли значень вектор-параметричних зображень  $S_4$  об'єктів I-IV

$Q$	$S_4$			
	Об'єкт I	Об'єкт II	Об'єкт III	Об'єкт IV
$M_1$	0,32	0,37	0,31	0,39
$M_2$	0,12	0,19	0,15	0,25
$M_3$	0,43	0,57	0,46	0,63
$M_4$	0,37	0,49	0,34	0,52
$M_2^K$	0,36	0,27	0,34	0,21
$M_4^K$	0,44	0,61	0,48	0,77
$D$	0,28	0,22	0,26	0,24

**Таблиця 3.2.** Статистичні, кореляційні та фрактальні параметри, які характеризують розподіли значень мюллер-матричного зображень  $f_{44}$  об'єктів I-IV

$q$	$f_{44}$			
	Об'єкт I	Об'єкт II	Об'єкт III	Об'єкт IV
$M_1$	0,23	0,27	0,21	0,29
$M_2$	0,16	0,24	0,18	0,23
$M_3$	0,54	0,67	0,56	0,69
$M_4$	0,43	0,59	0,44	0,62
$M_2^K$	0,31	0,25	0,32	0,27
$M_4^K$	0,49	0,68	0,53	0,84
$D$	0,23	0,21	0,24	0,22

Аналіз наведених у таблицях 3.1 і 3.2 даних виявив:

- індивідуальні для кожного типу полікристалічної планарної сітки значення  $M_i, M_i^K, D$ ;
- максимально для розподілів значень вектор-параметричних та мюллер-матричних зображень **об'єктів I-IV** відрізняються величини статистичних моментів 2-4 порядків (до 2 разів), а також кореляційного моменту 4-го порядку (до 1,85 рази).

На основі проведеного комп'ютерного моделювання встановлені найбільш чутливі до змін оптичної анізотропії об'єктивні параметри – статистичні моменти 2-го - 4-го порядків, які характеризують розподіли значень вектор-параметричних і мюллер-матричних зображень, та кореляційний момент 4-го порядку, який характеризує автокореляційні функції таких розподілів.



### 3.3. Азимутальна структура поляризаційних мап і мюллер-матричних зображень полікристалічних мереж реальних біологічних тканин і рідин людини

У даному параграфі наведено матеріали експериментальних досліджень методом мікроскопії вектор-параметричних, поляризаційних мап та мюллер-матричних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин різної морфологічної будови та фізіологічного стану (розділ 2, параграф 2.6).

Вимірювання координатних розподілів значень  $S_i(m \times n)$ ,  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$  та  $f_{ik}(m \times n)$  здійснювалось в експериментальному розташуванні стоксполариметра, оптична схема якого наведена на рис.2.3 (розділ 2, параграф 2.4.1).

Розрахунок мюллер-матричних елементів, які характеризують оптичні властивості досліджуваних зразків, здійснювався згідно з наступним алгоритмом [14-15,150,191]

$$\begin{aligned}
 f_{11} &= 0.5(S_1^0 + S_1^{90}); & f_{21} &= 0.5(S_2^0 + S_2^{90}); & f_{31} &= 0.5(S_3^0 + S_3^{90}); \\
 f_{12} &= 0.5(S_1^0 - S_1^{90}); & f_{22} &= 0.5(S_2^0 - S_2^{90}); & f_{32} &= 0.5(S_3^0 - S_3^{90}); \\
 f_{13} &= S_1^{45} - f_{11}; & f_{23} &= S_2^{45} - f_{21}; & f_{33} &= S_3^{45} - f_{31}; \\
 f_{14} &= S_1^{\otimes} - f_{11}; & f_{24} &= S_2^{\otimes} - f_{21}; & f_{34} &= S_3^{\otimes} - f_{31}; \\
 f_{41} &= 0.5(S_4^0 + S_4^{90}); \\
 f_{42} &= 0.5(S_4^0 - S_4^{90}); \\
 f_{43} &= S_4^{45} - f_{41}; \\
 f_{44} &= S_4^{\otimes} - f_{41}.
 \end{aligned} \tag{3.11}$$

Тут  $S_{i=2,3,4}^{0;45;90;\otimes}$  - елементи вектора Стокса в точках цифрового зображення гістологічного зрізу 6 (рис. 2.3), виміряні для серії лінійно ( $0^0$ ;  $45^0$ ;  $90^0$ ) та право-циркулярно ( $\otimes$ ) поляризованих зондуєчих лазерних пучків

$$\begin{aligned}
S_{i=1}^{0;45;90;\otimes} &= I_0^{0;45;90;\otimes} + I_{90}^{0;45;90;\otimes}; \\
S_{i=2}^{0;45;90;\otimes} &= I_0^{0;45;90;\otimes} - I_{90}^{0;45;90;\otimes}; \\
S_{i=3}^{0;45;90;\otimes} &= I_{45}^{0;45;90;\otimes} - I_{135}^{0;45;90;\otimes}; \\
S_{i=4}^{0;45;90;\otimes} &= I_{\otimes}^{0;45;90;\otimes} + I_{\oplus}^{0;45;90;\otimes}.
\end{aligned} \tag{3.12}$$

Тут  $I_{0;45;90;135;\otimes;\oplus}$  - інтенсивності випромінювання пропущеного лінійним поляризатором 9 з азимутом повороту  $0^0$ ;  $45^0$ ;  $90^0$ ;  $135^0$ , та право- ( $\otimes$ ) й ліво- ( $\oplus$ ) циркулярно поляризованим фільтром 8 і 9 (рис. 2.3).

Визначивши згідно з (3.12) у кожному пікселі світлочутливої площадки набір параметрів Стокса  $S_i$  можна обчислити значення азимуту  $\alpha^*$  та еліптичності  $\beta^*$  поляризації в точках зображення біологічного шару за наступними формулами

$$\begin{aligned}
\alpha^* &= 0,5 \arctg \frac{S_{i=3}}{S_{i=2}}; \\
\beta^* &= 0,5 \arcsin \frac{S_{i=4}}{S_{i=1}}.
\end{aligned} \tag{3.13}$$

Зазначимо, що методи поляризаційного картографування (3.13) оптично-тонких шарів різноманітних біологічних тканин і рідин людини застосовувалися у багаточисельних дослідженнях групи науковців Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича [7, 8, 10, 15, 20-22, 163, 166, 174, 177, 195]. Даний напрям оптичної діагностики одержав назву "лазерна поляриметрія" біологічних тканин і рідин.

З метою подальшого фізичного поглиблення та розширення функціональних можливостей таких досліджень наведемо стислий аналіз попередніх праць.

Розглянемо фундаментальні, прикладні й діагностичні аспекти досліджень лазерної поляриметрії біологічних шарів різної морфологічної будови та фізіологічного стану.

*Фундаментальні.* Полікристалічна структура оптично-тонких, недеполяризованих біологічних шарів спочатку розглядалася у наближенні лінійного двопротинезаломлення фібрилярних протейінових мереж [135, 136].

У [175-177] запропоновані модельні представлення були розширені шляхом урахування оптичної активності молекул полікристалічних плівок біологічних рідин. Разом з тим, відкритим залишається питання обліку впливу механізмів фазовому анізотропії більш широкого кола біологічних шарів, як на тканинному, так і на молекулярному рівнях.

*Прикладні.* Використовувалися методи поляризаційного (координатні розподіли азимутів та еліптичності поляризації) [7, 21, 22, 136] і мюллер-матричного (координатні розподіли матричних елементів) [8, 137, 174] картографування біологічних шарів та їх мікроскопічних зображень.

З метою визначення об'єктивних параметрів, які характеризують зміни розподілів напрямів оптичних осей та величини двопротинезаломлення, застосовувався статистичний аналіз розподілів значень поляризаційних карт і мюллер-матричних зображень біологічних шарів та їх мікроскопічних зображень [136].

Для збільшення чутливості лазерної поляриметрії використовувалися методи сингулярного [20, 166] та вейвлет-аналізу [168, 170, 172, 174] отриманих даних.

Проте, основним недоліком в сенсі широкомасштабного (скринінгового) практичного застосування поляриметричних методик виявилася погана відтворюваність отриманих даних. Тому актуальним завданням є розробка азимутально-інваріантних, добре відтворюваних і, тому більш точних методів поляризаційного й мюллер-матричного картографування гістологічних зрізів біологічних тканин і полікристалічних плівок біологічних рідин.

*Діагностичні.* У [7, 8, 20-22, 136, 140] продемонстрована можливість поляриметричної диференціації зразків біологічних тканин і рідин здорових і хворих людей з високою чутливістю, яка визначається діапазоном відмінності (до одного порядку величини) середніх (у межах контрольної й досліджуваної груп) значень статистичних

моментів, які характеризують розподіли поляризаційних параметрів або елементів матриці Мюллера.

Проте, для клінічного застосування у рутинній лабораторній практиці одного цього показника мало. Необхідним фактором є вимога не тільки високої чутливості, але й гарної відтворюваності методу.

З метою виявлення вказаної азимутальної залежності нами було проведено порівняльні дослідження поляризаційної структурності мікроскопічних зображень гістологічного зрізу міокарду, одержаних для різних станів поляризації опромінюючого пучка. Результати таких досліджень наведено у **Додатку В**.

### 3.4. Азимутально-інваріантна багатофункціональна поляризаційна мікроскопія оптико-анізотропних біологічних шарів

З метою обґрунтування аналітичних та експериментальних засад методів азимутально-інваріантного поляризаційного та мюллер-матричного картографування повернемося ще раз до аналізу модельних уявлень, що характеризують процеси взаємодії лазерного випромінювання із оптично-анізотропними мережами (параграф 3.1, співвідношення (3.1)- (3.10)).

*Поляризаційне картографування*

При дослідженні поляризаційної структури вектор-параметричних зображень  $S_{i=1,2,3,4}(m \times n) = \begin{pmatrix} 1 \\ \cos 2\alpha \cos 2\beta \\ \sin 2\alpha \cos 2\beta \\ \sin 2\beta \end{pmatrix} (m \times n)$

оптично-анізотропних мереж різної конфігурації було виявлено азимутальну стійкість поляризаційних мап азимута

$\alpha(m \times n) = 0,5 \arctg \frac{S_3(m \times n)}{S_2(m \times n)}$  і еліптичності

$\beta(m \times n) = 0,5 \arcsin S_4(m \times n)$  лише за умови опромінення циркулярно

поляризованим пучком  $S_{\otimes} = (1; 0; 0; \pm 1)$ . Іншими словами, координатні розподіли поляризаційних параметрів залишаються незмінними при повороті площини зразка відносно напрямку опромінення набудь який кут  $\Theta$  -  $\{\alpha_{\otimes}(m \times n)\}(\Theta) = const$  та  $\{\beta_{\otimes}(m \times n)\}(\Theta) = const$ .

#### Мюллер-матричне картографування

З аналітичного вигляду результуючої матриці фазової анізотропії (співвідношення (3.6)) видно, що єдиним незалежним від напрямку оптичної осі  $\gamma$  двопротенезаломлюючого кристалу (що еквівалентно куту обертання самого зразку) є елемент  $f_{44} = \cos \phi$ .

Окрім цього, азимутально-незалежною є комбінація матричних елементів  $\frac{f_{23} - f_{32}}{f_{22} + f_{33}} = \tan 2\theta$ . Іншими словами,  $\{f_{44}(m \times n)\}(\Theta) = const$  та  $\{\Delta f(m \times n)\}(\Theta) = const$ . Такі параметри у подальшому будемо називати – “мюллер-матричні інваріанти” – ММІ.

### 3.5. Азимутально-незалежне поляризаційне картографування гістологічних зрізів біологічних тканин

У даній частині роботи наведено результати азимутально-незалежного ( $\{\alpha_{\otimes}(m \times n)\}(\Theta) = const$  і  $\{\beta_{\otimes}(m \times n)\}(\Theta) = const$ ) поляризаційного картографування мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин.

Вимірювання здійснювалось в експериментальному розташуванні, оптична схема якого наведена на рис.2.3 (розділ 2, параграф 2.4.1), для циркулярно поляризованого опромінюючого пучка.

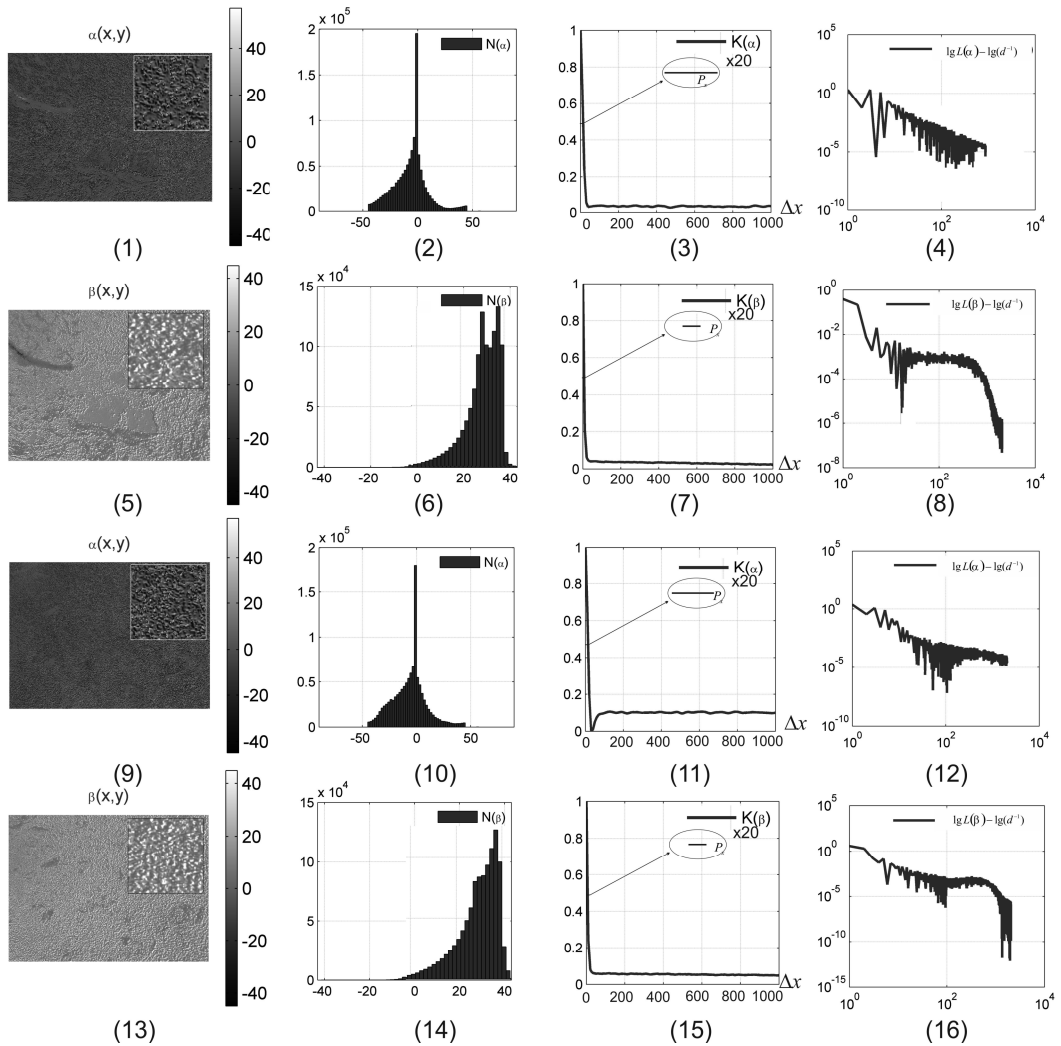
Методика обчислення значень азимута та еліптичності у поляризаційних мапах мікроскопічних зображень гістологічних зрізів наведена у параграфі 3.2 (співвідношення (3.11),(3.12)).

В якості експериментальних зразків використовувалися оптично тонкі (геометрична товщина  $l = 30 \mu\text{м}$ , коефіцієнт ослаблення  $\tau < 0,1$ ) гістологічні зрізи біопсії ендометрію шийки матки з

доброякісним (дисплазія - група I) та злоякісним (аденокарцинома - група II) станом.

Одержані дані оброблялися у рамках трьох взаємодоповнюючих підходів - статистичному, кореляційному та фрактальному (розділ 2, параграфи 2.2.1 – 2.2.3).

На рис. 3.18 наведено поляризаційні мапи азимута  $\alpha(m \times n)$  (рис. 3.18, фрагменти (1), (9), еліптичності  $\beta(m \times n)$  (рис. 3.18, фрагменти (5), (13)); гістограми  $N(\alpha)$  (рис. 3.18, фрагменти (2), (10)),  $N(\beta)$  (рис. 3.18, фрагменти (6), (14)) розподілів випадкових значень у площині мікроскопічних зображень гістологічних зрізів ендометрію у стані дисплазії (рис. 3.18, фрагменти (1)-(8)) та раку (рис. 3.18, фрагменти (9)-(16)), а також відповідні автокореляційні  $K(\alpha)$  (рис. 3.18, фрагменти (3), (11)),  $K(\beta)$  (рис. 3.18, фрагменти (7), (15)) та  $\lg L(\alpha) - \lg(d^{-1})$  (рис. 3.18, фрагменти (4), (12)),  $\lg L(\beta) - \lg(d^{-1})$  (рис. 3.18, фрагменти (8), (16)) залежності.



**Рис. 3.18.** Поляризаційні мапи  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$ , гістограми  $N(\alpha)$ ,  $N(\beta)$ , автокореляційні функції  $K(\alpha)$ ,  $K(\beta)$  та логарифмічні залежності  $\lg L(\alpha) - \lg(d^{-1})$ ,  $\lg L(\beta) - \lg(d^{-1})$  спектрів потужності розподілів станів поляризації мікроскопічних зображень гістологічних зрізів ендометрію. Пояснення у тексті

Проведемо послідовний у межах трьох зазначених підходів аналіз параметрів поляризаційних мап лазерних зображень гістологічних зрізів ендометрію шийки матки обох типів.

### 3.5.1. Статистичний аналіз

Мікроскопічні зображення гістологічних зрізів ендометрію незалежно від його патології є поляризаційно-неоднорідними. На даний факт вказує широкий діапазон зміни поляризаційних параметрів  $-90^{\circ} \leq \alpha \leq 90^{\circ}$  (Рис. 3.18, фрагменти (1), (2), (9), (10)) і  $-45^{\circ} \leq \beta \leq 45^{\circ}$  (Рис. 3.18, фрагменти (5), (6), (13), (14)) у двовірних розподілах  $\alpha(m \times n)$  (Рис. 3.18, фрагменти (1), (9)),  $\beta(m \times n)$  (Рис. 3.18, фрагменти (5), (13)).

Разом із тим, ймовірність випадкових значень  $\alpha$ ,  $\beta$  є різною. Як видно, у гістограмах розподілів поляризаційних параметрів  $N(\alpha)$ ,  $N(\beta)$  наявні локальні екстремуми тієї чи іншої величини (Рис. 3.18, фрагменти (2), (6), (10), (14)).

Зокрема, найбільш виразні екстремуми розподілів  $N(\alpha)$  і  $N(\beta)$  локалізовані в околі значень  $\alpha = 0, \beta = \frac{\pi}{4}$ . Даний факт пов'язаний із наявністю оптично-ізотропної фракції речовини досліджуваних гістологічних зрізів. Прояви оптичної анізотропії виявляються у величині розкиду значень параметрів поляризації; асиметрії та гостроті піку гістограм розподілів випадкових значень відповідних поляризаційних параметрів.

Порівняльний аналіз таких гістограм, визначених для поляризаційних мап мікроскопічних зображень зразків ендометрію різної патології, виявив наступні відмінності між ними.

По-перше, гострота піку розподілів  $N(\alpha)$  одержаних для зразків групи II є меншою (Рис. 3.18, фрагменти (2), (10)).

По-друге, дисперсія розкиду значень еліптичності гістограми  $N(\beta)$ , що характеризує поляризаційну мапу мікроскопічного зображення зразка з групи II, зростає у порівнянні з аналогічною гістограмою, що обчислена для мапи еліптичності мікроскопічного зображення зразка ендометрію з групи I (рис. 3.18, фрагменти (6), (14)).

Проаналізуємо одержані дані з фізичної точки зору. У рамках аналітичного моделювання (параграф 3.1, співвідношення (3.1)-(3.5)) було визначено вплив орієнтаційної ( $\gamma(m \times n)$ ) та фазової ( $\phi(m \times n), \theta(m \times n)$ ) будови планарних оптично-анізотропних мереж (Рис. 3.1) на топографічну структуру вектор-параметричних зображень (Рис. 3.5, Рис. 3.9, Рис. 3.13). При цьому було встановлено взаємозв'язок



між змінами такої будови та варіаціями величини статистичних моментів 1-4-го порядків, які характеризують розподіли значень  $S_{2,3,4}(m \times n)$  (таблиця 3.1, таблиця 3.2).

У нашому випадку азимутально-незалежного картографування вплив зміни розподілу напрямів оптичних осей у площині об'єкту не є актуальним. Виходячи з цього, головним чинником "формування" двомірної структури поляризаційних мап  $\alpha(m \times n), \beta(m \times n)$  є координатна фазова модуляція  $(\{\phi_0 + \theta(m \times n)\} \rightarrow \alpha(m \times n), \{\phi_0 + \delta(m \times n)\} \rightarrow \beta(m \times n))$  опромінюючого зразок циркулярно поляризованого ( $\phi_0 = 90^\circ$ ) лазерного пучка.

У площині гістологічного зрізу тканини ендометрію головними "фазовозсуваючими" структурами є оптично активні ( $\theta(m \times n)$ ) молекули колагенів, міозину та утворені ними поліпептидні ланцюжки, а також двопротенезаломлюючі ( $\phi(m \times n)$ ) фібрилярні мережі таких білків.

Для реального експериментального зразка розподіли  $\theta(m \times n), \phi(m \times n)$  є статистичними за рахунок різної концентрації оптично активних молекул білків, а також різних геометричних розмірів фібрилярної мережі. Тому стає зрозумілою статистичність розподілів поляризаційних параметрів відповідних мікроскопічних зображень. Разом із тим, для доброякісного та злоякісного станів статистика розподілів  $\theta(m \times n), \phi(m \times n)$  у гістологічних зрізах зразків з обох груп є різною.

Зокрема, для аденокарциноми притаманна більша концентрація білкових молекул, які формують "крупномасштабні" фібрилярні паростки пухлини. За рахунок такої морфологічної трансформації зростає лінійне двопротенезаломлення і відповідно до цього розширюється діапазон зміни азимута (Рис. 3.18, фрагменти (9), (10)) поляризації та більш ймовірним стає зростання еліптичності (Рис. 3.18, фрагменти (13), (14)) поляризації у мікроскопічних зображеннях гістологічних зрізів з групи 2.

### 3.5.2. Кореляційний аналіз

Як вже зазначалося, у кожній точці  $(m, n)$  мікроскопічного зображення гістологічного зрізу формується конкретне значення азимуту  $\alpha$  або еліптичності  $\beta$  поляризації, у площині.

З іншого боку, розподіл параметрів  $(\gamma, \phi, \theta)$ , які характеризують фазову анізотропію гістологічного зрізу та визначають значення  $\alpha$  і  $\beta$  у точках його мікроскопічного зображення, залежить від морфологічної, взагалі кажучи координатно-неоднорідної, будови фібрилярної мережі.

Іншими словами, поляризаційні мапи  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$  мікроскопічного зображення гістологічного зрізу ендометрію є також координатно-неоднорідними. Така особливість робить актуальним не тільки статистичний, але й кореляційний аналіз двовірних розподілів поляризаційних параметрів відповідних мікроскопічних зображень досліджуваних зразків. Зазначимо, що така інформація може стати вирішальною при диференціації двох статистично подібних  $(M_{i=1,2,3,4}(\alpha, \beta) = M_{i=1,2,3,4}(\alpha^*, \beta^*))$ , але координатно-неоднорідних поляризаційних мап зображень зразків обох груп.

У якості аналітичного інструментарію кореляційної оцінки двовірних розподілів значень  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$  ми скористалися, добре апробованим [136] до аналізу координатної неоднорідності, автокореляційним методом (розділ 2, параграф 2.2.2, співвідношення (2.5)).

Одержані дані підтвердили координатну неоднорідність, незалежно від типу зразка, розподілів як азимутів так і еліптичності поляризації мікроскопічних зображень. На даний факт вказує швидко спадання обчислених автокореляційних залежностей  $K(\alpha)$  (Рис. 3.18, фрагменти (3), (11)),  $K(\beta)$  (Рис. 3.18, фрагменти (7), (15)).

Порівняльний аналіз таких автокореляційних функцій виявив більш стрімке падіння залежностей  $K(\beta)$ . Така особливість може бути пов'язана з більшою координатною модуляцією значень параметрів  $(\gamma, \phi)$ , які описують лінійне двопротенезаломлення фібрилярної мережі, у порівнянні з координатною зміною величини

циркулярного двопротенезаломлення  $\theta$  оптично активних білкових молекул.

Міжгрупове співставлення автокореляційних залежностей  $K(\alpha)$  (Рис. 3.18, фрагменти (3), (11)),  $K(\beta)$  (Рис. 3.18, фрагменти (7), (15)) виявило протилежні тенденції.

Поляризаційна мапа азимутів  $\alpha(m \times n)$  мікроскопічного зображення зразку аденокарциноми за рахунок зростання концентрації протеїнових молекул стає більш координатно-неоднорідною. Кількісно такі зміни "детектуються" незначним зменшенням півширини та збільшенням гостроти піку автокореляційної функції  $K(\alpha)$  (Рис. 3.18, фрагмент (11)).

Аналогічної трансформації зазнають залежності автокореляційних функцій  $K(\beta)$ , які характеризують розподіли значень поляризаційної мапи еліптичності мікроскопічного зображення такого зразка.  $\beta(m \times n)$  (Рис. 3.18, фрагмент (15)).

Фізично даний факт можна пов'язати зі збільшенням глибини координатної модуляції величин  $\alpha, \beta$  за рахунок зростання концентрації оптично активних протеїнів і геометричних розмірів двопротенезаломлюючих фібрил.

### 3.5.3. Фрактальний аналіз

Даний підхід, базується на аналізі логарифмічних залежностей спектрів потужності розподілів азимутів та еліптичності поляризації (розділ 2, параграф 2.2.3) мікроскопічних зображень гістологічних зрізів обох груп ендометрію, дозволяє додатково оцінити масштабну самоподібність топографічної будови  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$ .

Актуальність таких досліджень пов'язана з масштабно-самоподібною, ієрархічною ("поліпептидний ланцюжок – мікрофібрила – фібрила – волокно – пучок") будовою двопротенезаломлюючих протеїнових мереж біологічних тканин, що знаходяться у нормальному фізіологічному стані [1,16]. Виходячи з цього слід очікувати формування фрактальних або мультифрактальних розподілів значень параметрів поляризації

мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біопсії здорових біологічних тканин.

Головною відмінністю логарифмічних залежностей  $\lg L(\alpha, \beta) - \lg(d^{-1})$ , визначених для поляризаційних мап  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$  мікроскопічних зображень зразків обох типів, є трансформація апроксимуючої кривої  $\Phi(\eta)$ . Установлено, що для поляризаційних мап азимута, які характеризують оптичну анізотропію гістологічних зрізів ендометрію у стані дисплазії, характерна практично фрактальна структура, а для мап еліптичності - мультифрактальна структура. Дане твердження базується на класифікаційному аналізі ступеня самоподібності (розділ 2, параграф 2.2.3).

З такого аналізу випливає наявність одного ( $\eta$ ) або переважно декількох нахилів (у нашому випадку  $\eta_1, \eta_2$ ) апроксимуючої ламаної  $\Phi(\eta)$  (Рис. 3.18, фрагменти (4), (8)).

Для мікроскопічного зображення гістологічного зрізу онкологічно зміненого ендометрію апроксимуюча крива  $\Phi_{\alpha, \beta}(\eta)$  трансформується у ламану з декількома кутами нахилу. Такий факт вказує на формування мультифрактальної структури поляризаційних мап  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$  мікроскопічних зображень зразків з групи 2.

З фізичної точки зору виявлені закономірності можна пояснити наступними причинами.

Перша - фібрилярна мережа тканини ендометрію, що знаходиться у передраковому стані, у порівнянні з фізіологічно нормальною тканиною, не зазнає значних морфологічних змін.

За даними наших експериментів у випадку дисплазії виникає додаткова до основної (здорова тканина) фрактальна множина значень азимута та еліптичності поляризації відповідного мікроскопічного зображення.

Процес формування злоякісної пухлини супроводжується утворенням нових додаткових напрямків росту новоутворених фібрил. За рахунок цього змінюється (мультиплікується) масштабна самоподібність геометрії такої двопроточної мережі. Виходячи з цього, двовірні поляризаційні мапи  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$  відповідного мікроскопічного зображення гістологічного зрізу

ендометрію з групи II набувають мультифрактальної структури. (Рис. 3.18, фрагменти (12), (16)).

#### 3.5.4. Інформативність методу азимутально-інваріантного картографування

З метою можливого прикладного застосування методу азимутально-незалежного картографування було сформовано дві групи гістологічних зрізів загальною кількістю  $n_1 = n_2 \equiv n = 39$ .

Для визначення статистичної достовірності зазначеної репрезентативної вибірки кількості зразків методом перехресної перевірки [15] визначалось середньоквадратичне відхилення  $\sigma^2$  виміряних значень  $M_{i=1,2,3,4}(n)$ . Зазначена кількість зразків забезпечила рівень  $\sigma^2 \leq 0,025$ .

Іншими словами, таке відхилення відповідає значенню довірчого інтервалу  $p < 0,05$ , який забезпечує статистичну достовірність методу азимутально-стабільного картографування у межах репрезентативної вибірки.

На наступному етапі визначались:

- середні (у межах групи 1 та групи 2) величини  $M_{i=1,2,3,4}(\alpha, \beta)$  (розділ 2, параграф 2.2.1) та їх стандартні відхилення  $\pm \sigma$  - таблиці 3.5, 3.6.
- традиційні для доказової медицини операційні характеристики (розділ 2, параграф 2.3, співвідношення (2.12)-(2.14)) - чутливість  $Se$ , специфічність  $Sp$  та збалансована точність  $Ac$ .

Диференціація зразків ендометрію для кожної поляризаційної мапи мікроскопічних зображень гістологічних зрізів ендометрію здійснювалась шляхом перехресного порівняння гістограм  $N(q)$  розподілів випадкових значень поляризаційних параметрів.

Якщо середнє значення того чи іншого параметру  $\bar{q}$  у групі I знаходиться поза стандартним відхиленням  $\sigma$  групи II то відмінність між  $\bar{q}$  вважається статистично достовірною.

**Таблиця 3.3.** Середнє ( $\bar{q}$ ) і стандартне відхилення ( $\pm \sigma$ ) параметрів  $q$  поляризаційних мап  $\alpha(m \times n)$  мікроскопічних зображень зразків ендометрію

$q$	Група I	Група II	$Ac, \%$
$M_1$	$0,62 \pm 0,056$	$0,67 \pm 0,059$	63
$M_2$	$0,25 \pm 0,021$	$0,29 \pm 0,024$	67
$M_3$	$0,93 \pm 0,088$	$1,18 \pm 0,15$	70
$M_4$	$0,83 \pm 0,073$	$0,57 \pm 0,051$	72
$M^K_2$	$0,12 \pm 0,011$	$0,09 \pm 0,008$	67
$M^K_4$	$1,35 \pm 0,12$	$1,87 \pm 0,16$	71
$D$	$0,19 \pm 0,014$	$0,22 \pm 0,018$	61

**Таблиця 3.4.** Середнє ( $\bar{q}$ ) і стандартне відхилення ( $\pm \sigma$ ) параметрів  $q$  поляризаційних мап  $\beta(m \times n)$  мікроскопічних зображень зразків ендометрію

$q$	Група I	Група II	$Ac, \%$
$M_1$	$0,1 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,09$	69
$M_2$	$0,14 \pm 0,011$	$0,17 \pm 0,016$	65
$M_3$	$1,49 \pm 0,13$	$1,12 \pm 0,11$	73
$M_4$	$0,67 \pm 0,059$	$0,45 \pm 0,037$	77
$M^K_2$	$0,11 \pm 0,009$	$0,08 \pm 0,007$	69
$M^K_4$	$1,68 \pm 0,13$	$2,27 \pm 0,21$	74
$D$	$0,14 \pm 0,013$	$0,16 \pm 0,014$	63

Порівняльний аналіз одержаних даних (таблиці 3.3, 3.4) виявив статистичну достовірність відмінностей для всіх параметрів  $q$ , які характеризують поляризаційні мапи мікроскопічних зображень гістологічних зрізів зразків ендометрію, окрім  $D$ .

Разом із тим виявлено міжгрупове перекриття випадкових значень  $\bar{q}$ . Причому, діапазон такого перекриття обернено пропорційний до величини різниці  $\Delta \bar{q}$  між середніми  $\bar{q}$ .

Для поляризаційних мап мікроскопічних зображень гістологічних зрізів групи I і групи II встановлені наступні кількісні критерії:

- $\alpha(m \times n)$   

$$\begin{cases} \Delta M_1(\alpha) = 1,08; \Delta M_2(\alpha) = 1,16; \Delta M_3(\alpha) = 1,27; \Delta M_4(\alpha) = 1,46; \\ \Delta M_2^K(\alpha) = 1,33; \Delta M_4^K(\alpha) = 1,39; \end{cases}$$
- $\beta(m \times n)$   

$$\begin{cases} \Delta M_1(\beta) = 1,3; \Delta M_2(\beta) = 1,21; \Delta M_3(\beta) = 1,34; \Delta M_4(\beta) = 1,49; \\ \Delta M_2^K(\beta) = 1,27; \Delta M_4^K(\beta) = 1,35; \end{cases}$$

Як видно з наведених даних найбільш чутливими ( $\Delta \bar{q} = \max$ ) виявилися статистичні моменти  $M_3$ ,  $M_4$  та  $M_4^K$  (виділено сірим), які характеризують двомірні розподіли поляризаційних параметрів і автокореляційних функцій таких розподілів.

З іншого боку, чим більше  $\Delta \bar{q}$  тим меншим є діапазон перекриття випадкових значень  $q$ . Тому саме для таких параметрів метод азимутально-інваріантного поляризаційного картографування є найбільш інформативним і точним ( $Ac \uparrow$ ).

Одержані результати (таблиці 3.3, 3.4) дозволяють стверджувати про достатньо високий рівень збалансованої точності ( $Ac(\alpha) = 70\% \div 73\%$ ;  $Ac(\beta) = 74\% \div 77\%$ ) запропонованого методу.

Згідно критеріїв доказової медицини досягнутий рівень  $Ac(\alpha, \beta) \propto 70\% \div 77\%$  відповідає хорошій якості діагностичного тесту.

Таким чином представлений метод "одноточкового" азимутально-незалежного поляризаційного картографування мікроскопічних зображень гістологічних зрізів має адекватне аналітичне обґрунтування та добру відтворюваність. Виходячи з цього, у прикладному сенсі, такий метод поляризаційної мікроскопії можна вважати одним із різновидів оптичної біопсії - "поляризаційна біопсія".

Разом із тим, процес поляризаційного картографування мікроскопічних зображень не позбавлений недоліків. Головним з них є процес вимірювання координатних розподілів  $\alpha, \beta$ , які опосередковано характеризують оптичну анізотропію біологічних шарів.

Зокрема, кожне конкретне значення величини азимуту поляризації формується за рахунок одночасних "внесків" лінійного двопроменезаломлення (напрямок оптичної осі  $\gamma$  біологічного кристаліту) та оптичної активності  $\theta$ , яка обумовлена концентрацією протеїнових молекул.

У результаті чого однозначність даного методу погіршується. Виходячи з цього актуальною є розробка азимутально-незалежного методу мюллер-матричного картографування, що несе безпосередню інформацію про різні механізми оптичної анізотропії гістологічних зрізів досліджуваних біологічних тканин.

### 3.6. Азимутально-інваріантне мюллер-матричне картографування гістологічних зрізів біологічних тканин

У даному параграфі наведено результати картографування мюллер-матричних інваріантів (ММІ)  $f_{44}(\Theta) = const$  і  $\Delta f(\Theta) = const$ , які характеризують прояви різних механізмів фазової анізотропії:  $f_{44}(\phi)$  - лінійне двопроменезаломлення,  $\Delta f(\theta)$  - циркулярне двопроменезаломлення (співвідношення (3.11), (3.12)) полікристалічних протеїнових мереж гістологічних зрізів біологічних тканин.

На рис. 3.19 наведено двомірні мюллер-матричні зображення  $f_{44}(m \times n)$  (рис. 3.19, фрагменти (1), (2)), гістограми  $N(f_{44})$  розподілів значень матричного елементу (рис. 3.19, фрагменти (3), (4)), автокореляційні  $K(f_{44})$  (рис. 3.19, фрагменти (5), (6)) і логарифмічні  $\lg L(f_{44}) - \lg(d^{-1})$  залежності (рис. 3.19, фрагменти (7), (8)) таких розподілів, обчислених для гістологічних зрізів ендометрію у стані дисплазії (рис. 3.19, фрагменти (1), (3), (5), (7)) та раку (рис. 3.19, фрагменти (2), (4), (6), (8)).

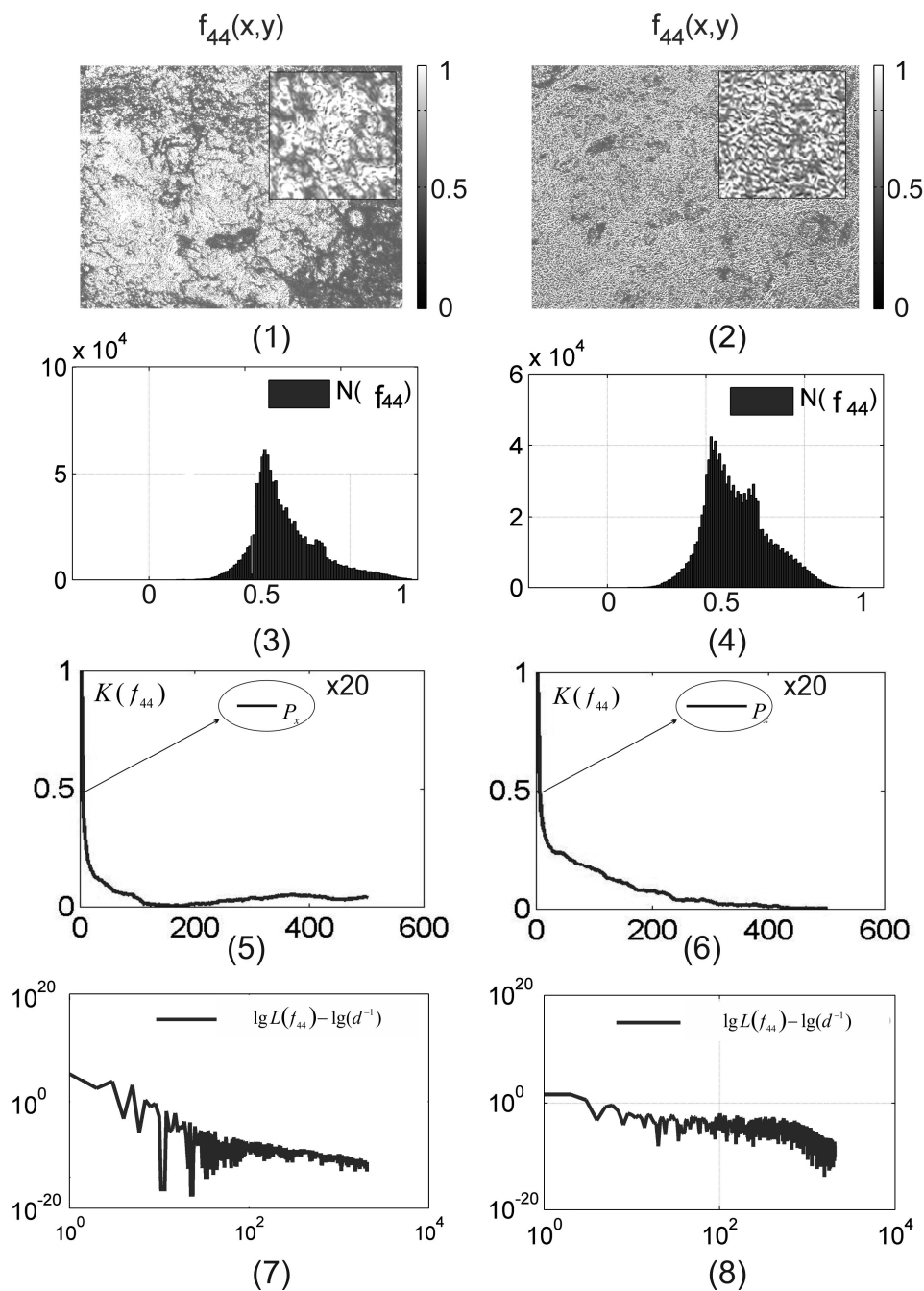


Рис. 3.20 ілюструє серію аналогічних до рис. 3.19 залежностей ММІ  $\Delta f(m \times n)$ .

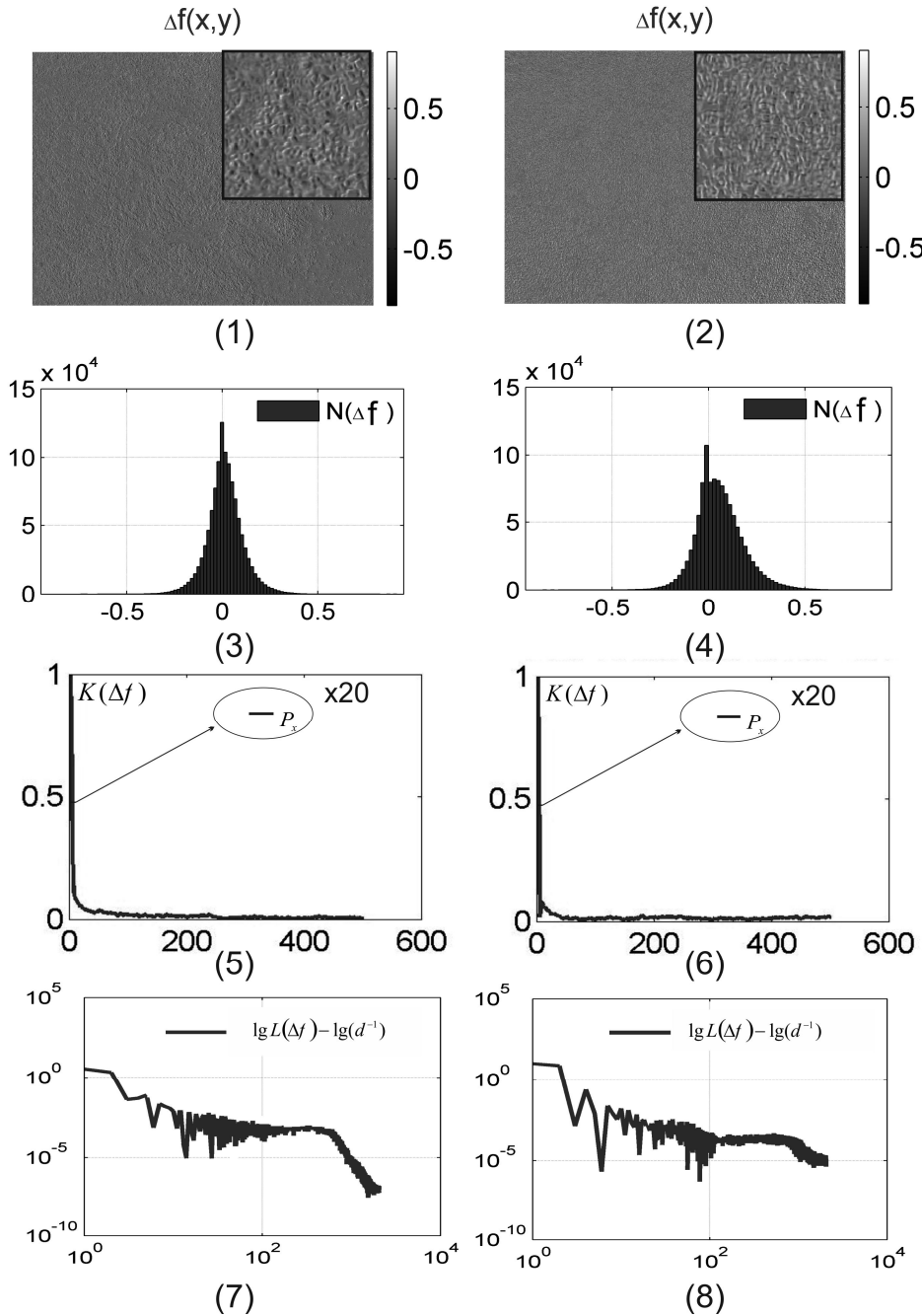
Проведемо послідовний у рамках трьох зазначених підходів аналіз ММІ, які характеризують прояви фазової анізотропії гістологічних зрізів ендометрію шийки матки обох типів.

### 3.6.1. Статистичний аналіз

Гістологічні зрізи ендометрію незалежно від його патології є координатно-неоднорідними за проявами лінійного та циркулярного двопротенезаломлення. На даний факт вказує широкий діапазон зміни значень ММІ  $0 \leq f_{44} \leq 1$  (Рис. 3.19, фрагменти (3), (4)) і  $-0,5 \leq \Delta f \leq 0,5$  (Рис. 3.20, фрагменти (3), (4)) у двомірних розподілах  $f_{44}(m \times n)$  (Рис. 3.19, фрагменти (1), (2)),  $\Delta f(m \times n)$  (Рис. 3.20, фрагменти (1),(2)).



**Рис. 3.19.** Статистичні  $N(f_{44})$ , кореляційні  $K(f_{44})$  та логарифмічні  $\lg L(f_{44}) - \lg(d^{-1})$  залежності, що характеризують ММІ  $f_{44}(m \times n)$  гістологічних зрізів ендометрія обох типів. Пояснення у тексті



**Рис. 3.20.** Статистичні  $N(\Delta f)$ , кореляційні  $K(\Delta f)$  та логарифмічні  $\lg L(\Delta f) - \lg(d^{-1})$  залежності, що характеризують ММІ  $\Delta f(m \times n)$  гістологічних зрізів ендометрія обох типів. Пояснення у тексті

З порівняльного аналізу гістограм розподілів випадкових значень двовірних ММІ обох типів видно, що ймовірність випадкових значень  $f_{44}, \Delta f$  є різною. Так, для гістограм  $N(f_{44})$  притаманна більша ймовірність значень у діапазоні величин  $f_{44} = 0,45 \div 0,65$  (рис. 3.19, фрагменти (3), (4)).

Розподіли  $N(\Delta f)$  характеризуються більш вузьким діапазоном зміни -  $\Delta f_{\max} = -0,25 \div 0,25$  (рис. 3.20, фрагменти (3), (4)).

Такі відмінності можна пояснити наступними фізичними міркуваннями. У параграфі 3.1 було показано, що  $f_{44} \propto \cos \phi$  (лінійне двопротенезаломлення) і  $\Delta f \propto \operatorname{tg} 2\theta$  (циркулярне двопротенезаломлення).

Виходячи з цього стає зрозумілою тенденція ( $f_{44}(\phi) \rightarrow 0$ ) зміни значень ММІ, який характеризує прояви лінійного двопротенезаломлення для зразку злоякісної пухлини ендометрію.

Ми вже зазначали (параграф 3.1), що для двопротенезаломлюючих фібрилярних мереж гістологічного зрізу біопсії такої пухлини значення фазових зсувів зростають  $\phi \uparrow$  або  $(\cos \phi) \downarrow$ . Тому (співвідношення (3.12)) має місце зменшення значень і самого ММІ  $f_{44}(\phi) \downarrow$ .

Навпаки, для оптично активних молекул колагенів, міозину величина іншого ММІ  $\Delta f = \operatorname{tg} 2\theta \uparrow$ , який характеризує оптичну активність молекул, зростає за рахунок збільшення концентрації ( $\theta \uparrow$ ) вказаних циркулярно двопротенезаломлюючих протеїнів.

### 3.6.2. Кореляційний аналіз

Результати застосування кореляційного аналізу двовірних розподілів ММІ  $f_{44}(m \times n), \Delta f(m \times n)$ , які визначаються фазовою анізотропією зразків ендометрію обох груп, представлені серією залежностей на рис. 3.19 (фрагменти (5), (6)) і рис. 3.20 (фрагменти (5), (6)).

Спадання залежностей автокореляційних функцій  $K(f_{44})$  і  $K(\Delta f)$  підтвердило, як і у випадку поляризаційних мап

мікроскопічних зображень (рис. 3.18, фрагменти (3), (7), (11), (15)), координатну неоднорідність проявів лінійного двопротенезаломлення  $f_{44}(\phi)$  та оптичної активності  $\Delta f(\theta)$  гістологічних зрізів зразків ендометрію.

Порівняльний аналіз таких функцій виявив більш стрімке падіння автокореляційних залежностей  $K(\Delta f)$  у порівнянні з  $K(f_{44})$ . Даний факт можна пов'язати з більш дрібномасштабною модуляцією параметра оптичної активності  $\theta$  протейнових молекул у площині гістологічного зрізу. Відповідно до цього півширина автокореляційних функцій  $K(\Delta f)$  розподілу значень  $\Delta f(\theta)$  менша ніж  $K(f_{44})$ , обчислених для розподілу  $f_{44}(\phi)$ . Зворотні тенденції притаманні для гостроти піку таких залежностей (Рис. 3.19, фрагменти (5), (6); Рис. 3.20, фрагменти (5), (6)).

Міжгрупове співставлення автокореляційних функцій ММІ підтвердило проведений фізичний аналіз і виявило зменшення півширини та зростання гостроти піку залежності  $K(\Delta f)$ , обчисленої для ММІ, який характеризує циркулярне двопротенезаломлення гістологічного зрізу біопсії аденокарциноми ендометрію (Рис. 3.20, фрагменти (5), (6)). Протилежна тенденція має місце для залежності  $K(f_{44})$ , яка характеризує розподіл значень ММІ, що описує прояви лінійного двопротенезадломлення (Рис. 3.19, фрагменти (5), (6)).

### 3.6.3. Фрактальний аналіз

Як і у випадку фрактального аналізу поляризаційних мап (Рис. 3.18, фрагменти (4), (8), (12), (16)) мікроскопічних зображень гістологічних зрізів ендометрію виявлено трансформацію апроксимуючої кривої  $\Phi(\eta)$  залежностей  $\lg L(f_{44}) - \lg(d^{-1})$ ,  $\lg L(\Delta f) - \lg(d^{-1})$ , обчислених для спектрів потужності розподілів значень ММІ обох типів.

Установлено, що для розподілів значень ММІ шарів доброякісно зміненого ендометрію притаманна мультифрактальна структура. Криві  $\Phi(\eta)$  - ламані з двома кутами нахилу  $\eta_1, \eta_2$  (Рис. 3.19, 3.20, фрагмент (7)).

Для зразка онкологічно зміненого ендометрію апроксимуюча крива  $\Phi(\eta)$  не має стабільного нахилу у всьому діапазоні геометричних розмірів структурних елементів  $d = 2 \div 2000 \text{ мкм}$  (Рис. 3.19, 3.20, фрагмент (8)). Такий факт вказує на випадковість масштабної структури двовірних розподілів значень ММІ  $f_{44}(m \times n)$  і  $\Delta f(m \times n)$ .

Виявлений результат добре корелює з фізичним аналізом масштабно-самоподібної структури поляризаційних мап мікроскопічних зображень таких зразків (параграф 3.5).

### 3.6.4. Інформативність методу азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування

Визначались середні (в межах групи 1 та групи 2) величини  $M_{i=1,2,3,4}(f_{44}, \Delta f)$  та їх стандартні відхилення  $\mp \sigma$ , а також збалансована точність  $Ac$  - таблиці 3.5, 3.6.

**Таблиця 3.5** Середнє ( $\bar{q}$ ) і стандартне відхилення ( $\pm \sigma$ ) параметрів  $q$  мюллер-матричних зображень  $f_{44}$  зразків ендометрію

$q$	Група 1	Група 2	$Ac, \%$
$M_1$	$0,57 \pm 0,049$	$0,43 \pm 0,035$	71
$M_2$	$0,15 \pm 0,012$	$0,19 \pm 0,016$	69
$M_3$	$0,87 \pm 0,071$	$1,33 \pm 0,12$	75
$M_4$	$0,59 \pm 0,043$	$0,92 \pm 0,089$	80
$M_2^K$	$0,27 \pm 0,018$	$0,33 \pm 0,025$	66
$M_4^K$	$1,08 \pm 0,106$	$0,79 \pm 0,064$	77
$D$	$0,29 \pm 0,024$	$0,33 \pm 0,029$	64

Для мюллер-матричних інваріантів, які характеризують прояви лінійного та циркулярного двоприменезаломлення гістологічних зрізів ендометрію групи I і групи II установлені наступні кількісні критерії:

- $$f_{44}(m \times n) \begin{cases} \Delta M_1 = 1,26; \Delta M_2 = 1,27; \Delta M_3 = 1,53; \Delta M_4 = 1,56; \\ \Delta M_2^K = 1,22; \Delta M_4^K = 1,37; \end{cases}$$

$$\bullet \quad \Delta f(m \times n) \begin{cases} \Delta M_1 = 1,29; \Delta M_2 = 1,27; \Delta M_3 = 1,57; \Delta M_4 = 1,38; \\ \Delta M_2^K = 1,29; \Delta M_4^K = 1,49; \end{cases}$$

**Таблиця 3.6.** Середнє ( $\bar{q}$ ) і стандартне відхилення ( $\pm \sigma$ ) параметрів  $q$  мюллер-матричних зображень  $\Delta f$  зразків ендометрію

$q$	Група 1	Група 2	$Ac, \%$
$M_1$	$0,07 \pm 0,006$	$0,09 \pm 0,008$	66
$M_2$	$0,11 \pm 0,009$	$0,14 \pm 0,012$	68
$M_3$	$0,14 \pm 0,011$	$0,22 \pm 0,017$	77
$M_4$	$0,21 \pm 0,015$	$0,29 \pm 0,019$	82
$M_2^K$	$0,07 \pm 0,005$	$0,09 \pm 0,008$	68
$M_4^K$	$1,59 \pm 0,13$	$2,38 \pm 0,16$	80
$D$	$0,22 \pm 0,014$	$0,26 \pm 0,019$	68

Як видно з наведених даних найбільш чутливими ( $\Delta \bar{q} = \max$ ) виявилися статистичні моменти  $M_3$ ,  $M_4$  та  $M_4^K$ , які характеризують координатні розподіли значень ММІ обох типів -  $f_{44}(m \times n)$ ,  $\Delta f(m \times n)$ .

Порівняльний аналіз (виділено сірим) одержаних результатів (таблиці 3.5, 3.6) із даними азимутально-незалежного поляризаційного картографування, як і фізично передбачалося (параграф 3.5), виявив більшу (на 5%-8%) інформативність та збалансовану точність ( $Ac(f_{44}) = 82\%$ ;  $Ac(\Delta f) = 80\%$ ) мюллер-матричного методу картографування проявів лінійного двопротенезаломлення та оптичної активності полікристалічних фібрилярних мереж гістологічних зрізів міометрію.

Таким чином представлений метод азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування гістологічних зрізів біологічних тканин можна вважати одним із різновидів оптичної біопсії - "мюллер-матрична біопсія".

Разом із тим, дана методика не позбавлена недоліків. Справа в тому, що не можна провести чітку межу між механізмами оптичної активності (структура білкових молекул та їх концентрація) та

лінійного двопротомезаломлення (фібрилярні мережі таких молекул). Виходячи з цього, кожне конкретне значення мюллер-матричних інваріантів  $f_{44}, \Delta f$  формується за рахунок одночасних "внесків" лінійного та циркулярного двопротомезаломлення.

З іншого боку існує "спільний знаменник" таких механізмів оптичної анізотропії - це фазові зсуви, які вони вносяться між ортогонально-поляризованими складовими амплітуди лазерного випромінювання.

Отже, інформативно актуальним є завдання розробки принципів та експериментальної реалізації вимірювання фазових мап (як інтегрального еквіваленту проявів оптичної анізотропії) мікроскопічних зображень біологічних шарів. Слід зазначити, що така методика суттєво розширить функціональні можливості поляризаційного картографування біологічних шарів із низькою модуляцією азимута та еліптичності поляризації.

В першу чергу до таких об'єктів відносяться легкодоступні біологічні рідини. Іншими словами, актуальність методу фазового картографування пов'язана з можливістю безпосередньої диференціації таких полікристалічних біологічних шарів. Результати такого методу мають не тільки фундаментальне значення. У прикладному аспекті вони можуть бути використані як попередні у широкомасштабних скринінгових обстеженнях та суттєво зменшити кількість невиправданих травматичних біопсій.

### **3.7. Методи й засоби фазометрії мікроскопічних зображень оптико-анізотропних біологічних об'єктів**

Під час аналізу фізичних проявів оптичної анізотропії біологічних шарів (співвідношення (3.1)-(3.9)) зазначалась особливість будови полікристалічних плівок біологічних рідин, сформованих різноманітними біохімічними сполуками та їх комплексами (молекули амінокислот, холестерин, білірубін, фібрин).

Такі оптично анізотропні шари являють собою планарні полікристалічні мережі, що сформовані різноманітними біохімічними сполуками. Головною відмінністю таких структур від оптично анізотропних фібрилярних сіток біологічних тканин є планарне



розташування біологічних кристалів із малими ( $d \sim 5 - 15 \mu\text{м}$ ) поперечними геометричними розмірами [136, 166]. Така обставина обумовлює незначну координатну модуляцію азимутів (механізми циркулярного двопроменезаломлення) та еліптичності (механізми лінійного двопроменезаломлення) поляризації, перетвореного такою мережею лазерного випромінювання. Внаслідок цього чутливість методів азимутально-незалежного поляризаційного та мюллер-матричного картографування знижується.

З іншого боку, існує спільний фізичний механізм, який характеризує фазову анізотропію біологічних кристалітів. Таким механізмом є формування фазових зсувів між ортогональними лінійно (двопроменезаломлення) та циркулярно (оптична активність) поляризованими складовими амплітуди лазерного випромінювання.

Зазначимо, що величина фазового зсуву може бути безпосередньо виміряна в експериментальному розташуванні поляризаційно-фазової фільтрації поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень біологічних шарів, оптична схема якого наведена у розділі 2, параграф 2.2, рис. 2.4.

Важливим моментом методики таких вимірювань є їх азимутальна незалежність, що забезпечується використанням циркулярно поляризованого опромінюючого біологічний шар лазерного пучка, з подальшою поляризаційно-фазовою фільтрацією сформованого зображення.

Отже, вказаний метод може бути використаний як допоміжний для діагностики структури оптично-тонких полікристалічних плівок. У нашій роботі ми розглянемо два етапи таких досліджень – фундаментальний (виявлення взаємозв'язків між двомірними розподілами фаз та розподілами параметрів, які характеризують механізми фазової анізотропії) і прикладний (статистичний між груповий аналіз зразків біологічних рідин донорів та хворих пацієнтів).

*Фундаментальний.* В якості об'єкту експериментального дослідження було використано плівки плазми крові взятої у попередньо обстеженого здорового донора. Вибір такого об'єкту пов'язаний із декількома факторами.

Перше, - плівки плазми крові є класичним об'єктом для багаточисельних досліджень методами поляризаційного та мюллер-матричного картографування [20-22, 136, 166].

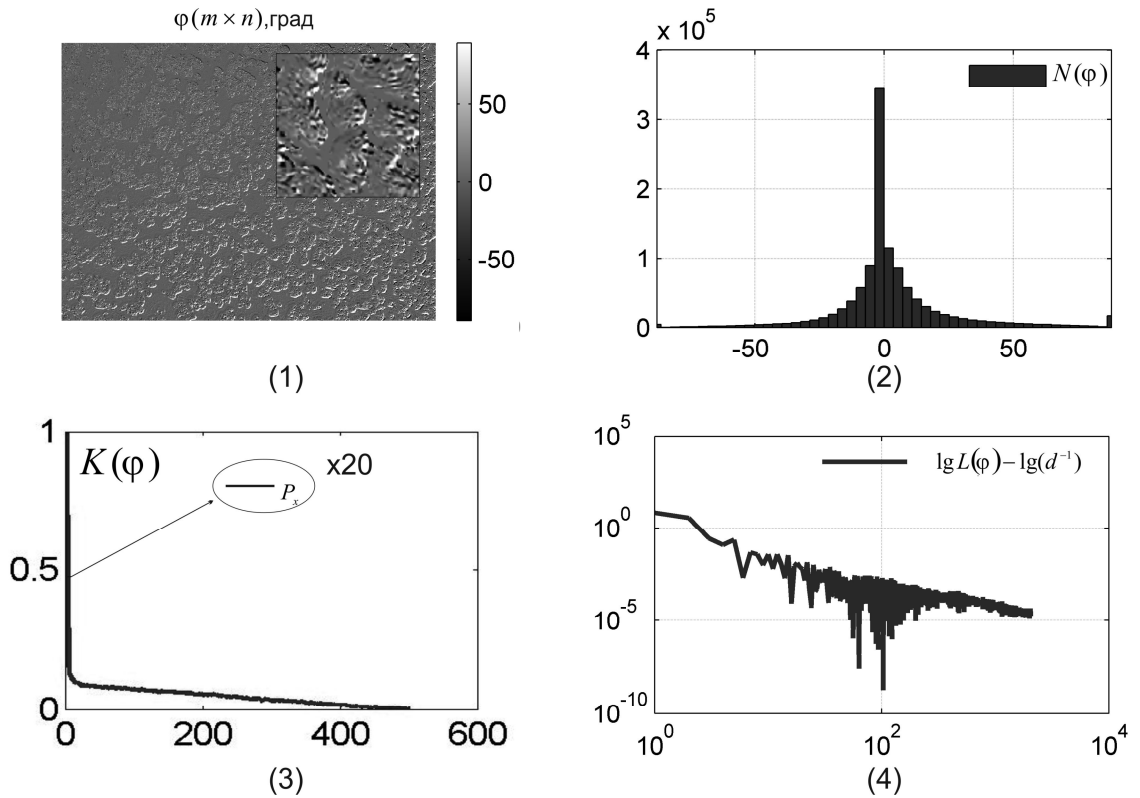
Друге, - біохімічна будова полікристалічної мережі таких шарів добре відома - це планарні мережі голко- та глибокоподібних кристалів альбуміну та глобуліну, відповідно.

Третє, - аналітично побудована та експериментально апробована модель мюллер-матричного опису оптичної анізотропії таких мереж.

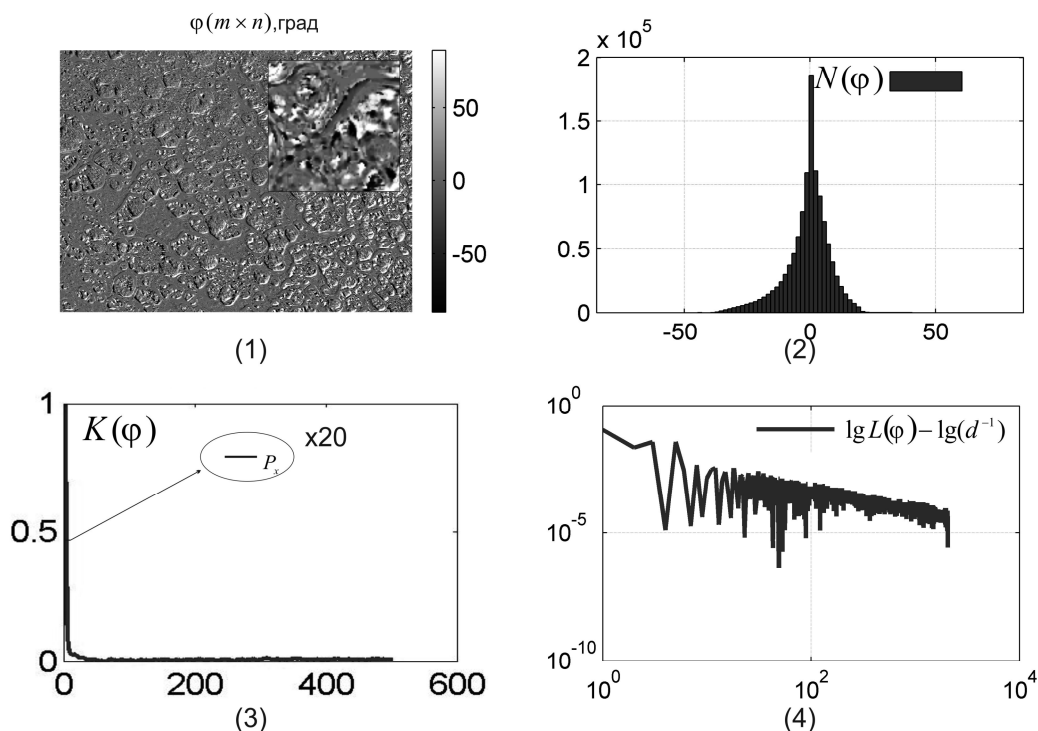
Виходячи з цього, вибір такого об'єкту для методу фазометрії є фізично обґрунтованим та аналітично передбачуваним у сенсі формування координатних розподілів фазових зсувів. Окрім цього, для вивчення діагностичних можливостей методу фазометрії виявлення змін структури планарної полікристалічної мережі було досліджено близький до плазми крові за біохімічними параметрами оптично-тонкий шар ліквору. Ліквор - це спинномозкова рідина, до біохімічного складу якої, поряд із білками альбуміну та глобуліну, входять інші білкові сполуки фібрину та еластину. З фізичної точки зору полікристалічний шар такої рідини володіє більшою фазовозсуваючою здатністю за рахунок вищої концентрації оптично активних молекул білків, які формують двопротинезаломлюючі мережі.

*Прикладний.* Досліджувалась можливість диференціації змін полікристалічної структури однотипних біологічних рідин взятих у здорових (донори) та хворих (різні типи патології) пацієнтів. Зокрема, досліджувалась жовч - "норма-жовчнокам'яна хвороба (ЖКХ)".

Результати експериментального дослідження двомірних розподілів (фрагменти (2)), автокореляційних функцій (фрагменти (3)) та логарифмічних залежностей спектрів потужності (фрагменти (4)) значень фазових мап (фрагменти 1) полікристалічних плівок плазми крові та ліквору приведені на рисунках 3.21 та 3.22 відповідно.



**Рис. 3.21.** Фазова мапа  $\varphi(m \times n)$  (фрагмент 1), гістограма  $N(\varphi)$  (фрагмент 2), автокореляційна функція  $K(\varphi)$  (фрагмент 3) та логарифмічні залежності  $\lg L(\varphi) - \lg(d^{-1})$  спектрів потужності розподілу значень фазових зсувів  $\varphi$ , які вносяться полікристалічною плівкою плазми крові. Пояснення в тексті



**Рис. 3.22.** Фазова мапа  $\varphi(m \times n)$  (фрагмент 1), гістограма  $N(\varphi)$  (фрагмент 2), автокореляційна функція  $K(\varphi)$  (фрагмент 3) та логарифмічні залежності  $\lg L(\varphi) - \lg(d^{-1})$  спектрів потужності розподілу значень фазових зсувів  $\varphi$ , які вносяться полікристалічною плівкою ліквору. Пояснення в тексті

З аналізу одержаних даних видно, що полікристалічні плівки біологічних рідин обох типів характеризуються “індивідуальною” структурою двовірних розподілів значень фазових мап (рис. 3.21, рис. 3.22, фрагменти (1)).

У статистичному аспекті особливості будови полікристалічних мереж таких шарів ілюструють гістограми  $N(\varphi)$  розподілів випадкових значень  $\varphi$  (рис. 3.21, 3.22, фрагменти (2)). Як видно, такі ймовірнісні розподіли характеризуються різною дисперсією, асиметрією та ексцесом (гостротою піку) - таблиця 3.7.

**Таблиця 3.7.** Статистичні, кореляційні та фрактальні параметри, які характеризують фазові мапи полікристалічних плівок біологічних рідин

$q$	плазма крові	ліквор
$M_1$	0,09	0,12
$M_2$	0,14	0,19
$M_3$	0,075	0,11
$M_4$	0,43	0,34
$M^K_2$	0,077	0,056
$M^K_4$	2,24	2,98
$D$	0,24	0,31

У рамках кореляційного (рис. 3.21, рис. 3.22, фрагменти (3)) та фрактального (рис. 3.21, рис. 3.22, фрагменти (4)) підходів також виявлено індивідуальні прояви оптичної анізотропії полікристалічних плівок розглянутих зразків.

Зокрема, автокореляційні функції координатних розподілів значень фазових зсувів шару ліквору характеризуються меншою півшириною у порівнянні з аналогічними залежностями  $K(\varphi)$ , обчисленими для фазових мап  $\varphi(m \times n)$  полікристалічних плівок плазми крові.

Кількісно такі відмінності супроводжуються зменшенням кореляційного моменту 2-го порядку  $M^K_2 \downarrow$  і, навпаки, зростанням гостроти піку -  $M^K_4 \uparrow$ , які характеризують розподіли значень відповідних автокореляційних функцій.

Фізично даний факт можна пов'язати з більшою глибиною фазової модуляції лазерного випромінювання полікристалічною плівкою ліквору за рахунок вищої концентрації в її об'ємі оптично анізотропних біохімічних молекул. Це виявляється у більш дрібномасштабній топографічній структурі координатного розподілу значень фазових зсувів, для якого півширина обчисленої автокореляційної функції  $K(\varphi)$  зменшується.

Разом із тим, двомірні розподіли значень фазових мап  $\varphi(m \times n)$  зразків обох типів фрактальні (рис. 3.21, рис. 3.22, фрагменти (4)). На

даний факт вказує наявність постійного кута нахилу апроксимуючих кривих  $\Phi(\eta)$  логарифмічних залежностей  $\lg L(\varphi) - \lg(d^{-1})$ .

Фізично даний факт можна пов'язати з ідентичними умовами кристалізації біохімічних сполук плівок обох типів.

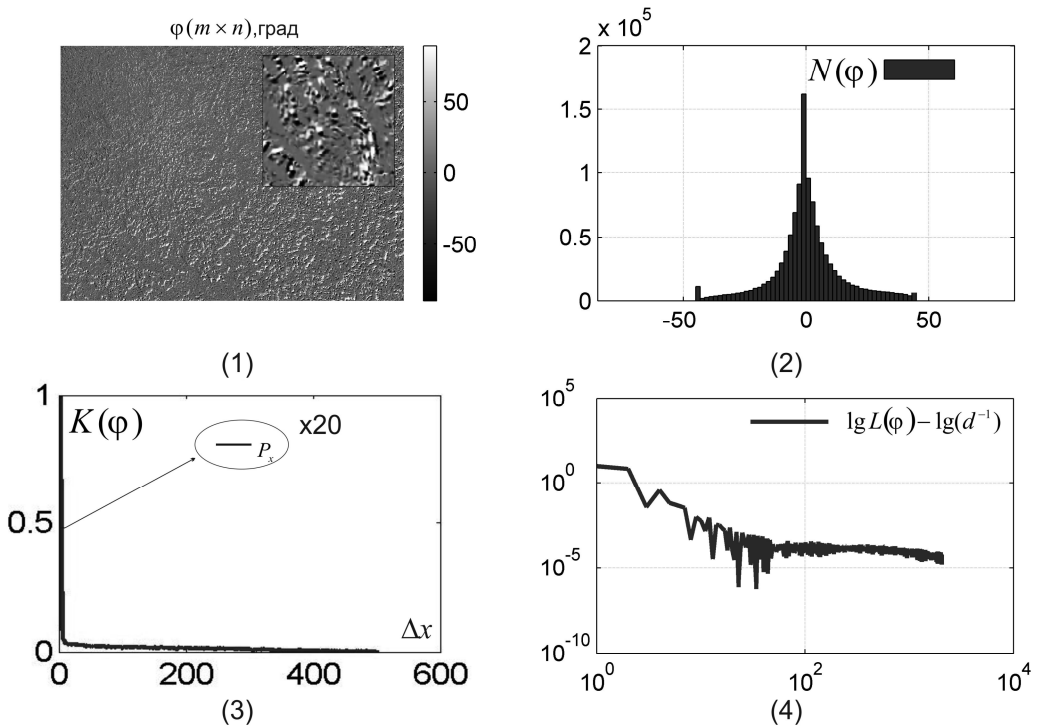
Окрім цього, виявлено незначне зростання дисперсії  $D$ , яка характеризує логарифмічні розподіли  $\log L(\varphi) - \log(d^{-1})$ , обчислені для плівки ліквору.

У наступній частині параграфу приведено результати досліджень можливостей диференціації змін оптичної анізотропії полікристалічних плівок біологічних рідин взятих у донорів та хворих.

### 3.7.1. Жовч - "норма-жовчнокам'яна хвороба"

Результати дослідження статистичних, кореляційних та фрактальних параметрів, які характеризують фазові мапи полікристалічних плівок жовчі обох типів ілюструють залежності, що наведені на рис. 3.23 та рис. 3.24.

Порівняльний аналіз результатів дослідження фазових мап полікристалічних плівок жовчі, взятої у донорів (рис. 3.23) та хворих на ЖКХ (рис. 3.24) виявив дещо вищу (у порівнянні з даними фазометрії плівок плазми крові та ліквору) фазовозсуваючу здатність зразків обох типів (рис. 3.23, рис. 3.24, фрагменти (2)).

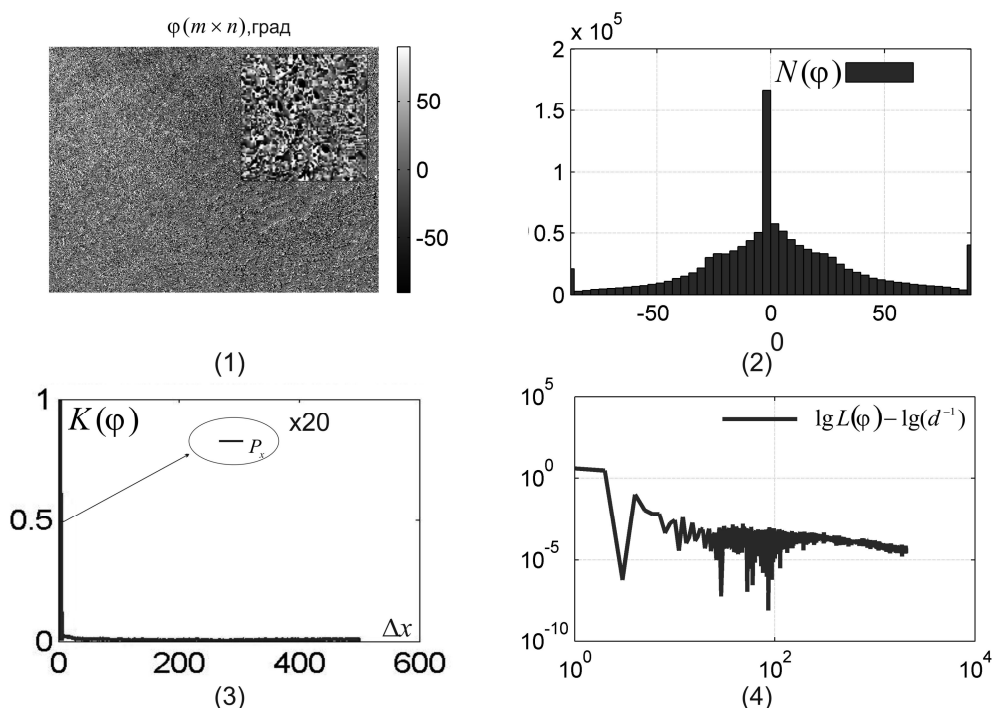


**Рис. 3.23.** Фазова мапа  $\varphi(m \times n)$  (фрагмент 1), гістограма  $N(\varphi)$  (фрагмент 2), автокореляційна функція  $K(\varphi)$  (фрагмент 3) та логарифмічні залежності  $\lg L(\varphi) - \lg(d^{-1})$  спектрів потужності розподілу фазових зсувів  $\varphi$  (фрагмент 4), які вносяться полікристалічною плівкою жовчі донора. Пояснення в тексті

З фізичної точки зору зростання величини фазових зсувів між ортогональними складовими амплітуди лазерного випромінювання, які вносяться полікристалічними плівками жовчі, можна пов'язати зі специфікою біохімічної будови її полікристалічної компоненти.

Відомо, що основними оптично-анізотропними сполуками жовчі є рідкокристалічні мережі кристалів трьох типів:

- голчасті кристали жирних кислот;
- кристали моногідрату холестеролу;
- кристали білірубінату кальцію.



**Рис. 3.24.** Фазова мапа  $\varphi(m \times n)$  (фрагмент 1), гістограма  $N(\varphi)$  (фрагмент 2), автокореляційна функція  $K(\varphi)$  (фрагмент 3) та логарифмічні залежності  $\lg L(\varphi) - \lg(d^{-1})$  спектрів потужності розподілу фазових зсувів  $\varphi$  (фрагмент 4), які вносяться полікристалічною плівкою жовчі взятої у хворого на ЖКХ. Пояснення в тексті

Концентрація таких сполук достатньо висока. Зокрема, у випадку наявності патології (порушення обміну речовин) може утворюватися твердокристалічна фаза – конкременти різного розміру.

Іншими словами, оптична анізотропія таких плівок є більшою у порівнянні з плівками плазми та ліквору, що були попередньо досліджені.

Разом із тим полікристалічна структура плівки жовчі взятої у хворого на ЖКХ відрізняється від аналогічного зразка донора.

Зокрема, розподіли  $N(\varphi)$  випадкових значень фазової мапи плівки жовчі хворого пацієнта володіють більшим середнім та дисперсією (рис. 3.23, рис. 3.24, фрагменти (2)). Виявлений факт вказує на вищий ступінь кристалізації речовини жовчі пацієнта з ЖКХ.



Підтвердженням цьому є зменшення півширини автокореляційних залежностей  $K(\varphi)$  (рис. 3.23, рис. 3.24, фрагменти (3)) за рахунок зростання фазової модуляції у площині даного зразка.

У рамках фрактального підходу виявлено зростання дисперсії, яка характеризує логарифмічні залежності  $\lg L(\varphi) - \lg(d^{-1})$  спектрів потужності розподілів значень фазових мап плівки жовчі хворого на ЖКХ пацієнта. Це можна пов'язати з формуванням (у випадку ЖКХ) додаткової множини крупномасштабних біохімічних кристалів.

Для фазових мап мікроскопічних зображень полікристалічних плівок жовчі групи I і групи II установлені наступні відмінності між статистичними та кореляційними параметрами – таблиця 3.8:

$$\varphi(m \times n) \begin{cases} \Delta M_1 = 1,18; \Delta M_2 = 1,24; \Delta M_3 = 1,15; \Delta M_4 = 1,43; \\ \Delta M_2^K = 1,13; \Delta M_4^K = 1,29; \end{cases}$$

**Таблиця 3.8.** Статистичні, кореляційні та фрактальні параметри, які характеризують фазові мапи полікристалічних плівок жовчі

$q$	норма $n_1 = n_2 = 47$	ЖКХ $n_1 = n_2 = 47$	$Ac$ $n_1 = n_2 = 47$
$M_1$	$0,11 \pm 0,008$	$0,13 \pm 0,011$	69%
$M_2$	$0,15 \pm 0,012$	$0,21 \pm 0,015$	75%
$M_3$	$0,13 \pm 0,011$	$0,15 \pm 0,012$	67%
$M_4$	$0,33 \pm 0,027$	$0,23 \pm 0,014$	80%
$M_2^K$	$0,064 \pm 0,0051$	$0,072 \pm 0,0052$	65%
$M_4^K$	$1,49 \pm 0,12$	$1,92 \pm 0,15$	78%
$D$	$0,26 \pm 0,021$	$0,29 \pm 0,022$	63%

Як видно з наведених даних найбільш чутливими ( $\Delta \bar{q} = \max$ ) виявилися статистичні моменти  $M_2$ ,  $M_4$  та  $M_4^K$ .

Одержані результати (таблиця 3.8 – виділено сірим) дозволяють стверджувати про достатньо високий рівень збалансованої точності ( $Ac(\varphi) = 75\% \div 80\%$ ) запропонованого методу. Згідно критеріїв

доказової медицини досягнутий рівень відповідає хорошій якості діагностичного тесту.

### 3.8. Висновки до розділу 3:

1. Проведене комп'ютерне моделювання взаємозв'язків між розподілами значень параметрів вектора Стокса і матричних елементів в азимутально-незалежних вектор-параметричних і мюллер-матричних зображеннях та розподілами напрямів оптичних осей і фазових зсувів, які вносяться планарними оптично-анізотропними мережами прямолінійних і криволінійних циліндрів. Установлені найбільш чутливі до змін оптичної анізотропії об'єктивні параметри – статистичні моменти 2-го - 4-го порядків, які характеризують розподіли значень вектор-параметричних і мюллер-матричних зображень, та кореляційний момент 4-го порядку, який характеризує гостроту піку автокореляційних функцій таких розподілів.
2. Експериментально досліджено статистичну (статистичні моменти 1-го – 4-го порядків), кореляційну (автокореляційні функції) і фрактальну (логарифмічні залежності спектрів потужності) структуру азимутально-незалежних вектор-параметричних і мюллер-матричних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин і планарних полікристалічних плівок біологічних рідин. Установлена кореляція між даними аналітичного моделювання таких двомірних розподілів та результатами експериментальних вимірювань таких розподілів для різноманітних оптично тонких біологічних шарів.
3. Експериментально апробований метод азимутально-інваріантного поляризаційного та мюллер-матричного картографування оптичної анізотропії гістологічних зрізів біологічних тканин характеризується високим рівнем збалансованої точності діагностики патології органів людини -  $Ac \sim 85\%$ .
4. У рамках азимутально-інваріантної фазометрії встановлено взаємозв'язки між змінами оптичної анізотропії полікристалічних плівок біологічних рідин організму людини з

різною нозологією (жовч – “норма - ЖКХ”) та статистичними  $M_2$ ,  $M_4$ , і кореляційними моментами  $M_4^K$ , які характеризують координатні розподіли значень фазових зсувів. Досягнуто хороший рівень збалансованої точності -  $Ac \sim 75\%$ .

Матеріали розділу викладено в роботах [230-233], [236], [237], [239], [240], [244], [245], [249-251], [253], [255], [257], [267], [274], [279-282], [285], [288].

#### Розділ 4

### МЕТОДИ Й ЗАСОБИ ПОЛЯРИЗАЦІЙНО-КОРЕЛЯЦІЙНОЇ МІКРОСКОПІЇ ОПТИЧНО-АНІЗОТРОПНИХ БІОЛОГІЧНИХ ШАРІВ

Даний розділ роботи містить результати:

- Аналітичного обґрунтування методології багатомірної поляризаційно-кореляційної мікроскопії оптично-тонких гістологічних зрізів біологічних тканин і плівок біологічних рідин шляхом введення нового параметру - комплексного ступеня взаємної анізотропії (КСВА) (розділ 2, параграф 2.1.2).
- Розробки методики експериментального вимірювання координатних розподілів модуля поляризаційно-кореляційного параметру КСВА, який характеризує полікристалічні мережі оптично-тонких біологічних шарів.
- Комп'ютерного моделювання взаємозв'язків між розподілами значень модуля КСВА та розподілами напрямів оптичних осей і фазових зсувів між ортогональними лінійно- та циркулярно поляризованими складовими амплітуди лазерного випромінювання.
- Експериментального дослідження двомірних розподілів значень модуля КСВА гістологічних зрізів біологічних тканин і плівок біологічних рідин у рамках статистичного, кореляційного та фрактального підходів.
- КСВА-диференціації змін оптичної анізотропії гістологічних зрізів біологічних тканин і полікристалічних плівок біологічних рідин.
- Аналітичного обґрунтування взаємозв'язку між азимутально-інваріантними поляризаційною та поляризаційно-кореляційною мікроскопією біологічних шарів шляхом введення нового параметру "кореляційного К-контуру" (розділ 2, параграф 2.1.2).
- Експериментальної апробації методики визначення кореляційного К-контуру координатних розподілів значень модуля КСВА полікристалічних мереж гістологічних зрізів біологічних тканин і плівок біологічних рідин.

#### 4.1. Аналітичне обґрунтування “двоточкового” поляризаційно-кореляційного аналізу проявів фазової анізотропії біологічних шарів на основі визначення комплексного ступеня взаємної анізотропії

Введений у [10, 191, 192] та проаналізований у розділі 1, параграф 1.3 “двоточковий” параметр - комплексний ступінь взаємної поляризації  $V(r_1, r_2)$  - є чутливим до координатної зміни станів поляризації об’єктного поля і був використаний в якості нового діагностичного параметру при оцінюванні полікристалічної структури біологічних об’єктів.

Однією з головних переваг поляризаційної корелометрії у порівнянні з методами азимутально-незалежної лазерної поляриметрії є наявність інформації не тільки про величину фазового зсуву між ортогональними компонентами амплітуди лазерної хвилі, але й про специфіку розподілу орієнтацій оптичних осей полікристалічної мережі біологічного шару.

У розділі 3, параграф 3.1, співвідношення (3.1)-(3.6) для описання механізмів фазової анізотропії було введено узагальнений матричний оператор лінійного та циркулярного двопротинезаломленн

$$\{D\} = \{B\}\{A\} = \begin{bmatrix} \sin^2 \gamma + \cos^2 \gamma \exp(-i\phi) & \sin \gamma \cos \gamma (1 - \exp(-i\phi)) \\ \sin \gamma \cos \gamma (1 - \exp(-i\phi)) & \cos^2 \gamma + \sin^2 \gamma \exp(-i\phi) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \cos \theta & -\sin \theta \\ \sin \theta & \cos \theta \end{bmatrix}$$

Тут  $\gamma$  - напрям укладання фібрил,  $\phi$  - фазовий зсув між лінійно-поляризованими ортогональними складовими амплітуди світлового пучка;  $\theta$  - кут повороту площини поляризації світлового пучка, перетвореного білковим ланцюгом.

З урахуванням виразу матриці Джонса  $\{D\}$ , для азимутально-інваріантної ситуації зондування біологічної тканини циркулярно поляризованим пучком, можна визначити взаємозв’язок фазової анізотропії біологічного шару та поляризаційної структури його зображення

$$\begin{pmatrix} U_x(r) \\ U_y(r) \end{pmatrix} = \frac{1}{\sqrt{2}} \begin{pmatrix} d_{11}(r) & d_{12}(r) \\ d_{21}(r) & d_{22}(r) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 \\ i \end{pmatrix} = \frac{1}{\sqrt{2}} \begin{pmatrix} d_{11}(r) + id_{12}(r) \\ d_{21}(r) + id_{22}(r) \end{pmatrix}. \quad (4.1)$$

Вираз (4.1) дає можливість аналітичного запису “одноточкового” (у кожній точці) взаємозв’язку між амплітудними (мікроскопічне зображення) і оптично анізотропними параметрам (оптично-тонкий біологічний шар)

$$\begin{cases} U_x(r) = f(\gamma, \phi, \theta); \\ U_y(r) = g(\gamma, \phi, \theta). \end{cases} \quad (4.2)$$

У рамках “двоточкового” підходу [178, 179, 191, 193], за аналогією з параметром КСВП  $V(r_1, r_2)$  (розділ 1, співвідношення (1.5)-(1.7)), можна ввести інший кореляційний параметр  $W(r_1, r_2)$  – комплексний ступень взаємної анізотропії (КСВА). Він безпосередньо характеризує ступень узгодженості лінійного та циркулярного двопроменезаломлення різних точок полікристалічної мережі біологічного шару.

$$V \begin{pmatrix} U_x(r_1, r_2) \\ U_y(r_1, r_2) \end{pmatrix} \rightarrow W \begin{pmatrix} f(d_{ik}(r_1, r_2)) \\ g(d_{ik}(r_1, r_2)) \end{pmatrix}. \quad (4.3)$$

Таким чином, для визначення аналітичного вигляду КСВА ми можемо скористатися співвідношеннями (1.5)-(1.7) (розділ 1, параграф 1.5) із урахуванням співвідношень (3.1)-(3.4) та (4.1)

$$W(r_1, r_2) = \frac{\{d_{11}(r_1, r_2) + d_{12}(r_1, r_2) + d_{21}(r_1, r_2) + d_{22}(r_1, r_2)\}^2}{I(r_1)I(r_2)}, \quad (4.4)$$

Тут  $d_{ik}(r_1, r_2)$  - узагальнені матричні елементи наступного вигляду

$$\begin{cases} d_{11}(r_1, r_2) = d_{11}(r_1)d_{11}(r_2); \\ d_{12}(r_1, r_2) = d_{12}(r_1)d_{12}(r_2); \\ d_{21}(r_1, r_2) = d_{21}(r_1)d_{21}(r_2); \\ d_{22}(r_1, r_2) = d_{22}(r_1)d_{22}(r_2), \end{cases} \quad (4.5)$$

де  $d_{ik}$  – елементи матриці Джонса  $\{D\}$ .

В основу експериментального вимірювання модуля комплексних елементів  $d_{ik}$ , а відповідно й модуля КСВА, покладений підхід, який запропонований у [131, 166]. Тут матрицю  $\{D\}$  записують у вигляді дійсної  $R_{ik}$  та уявної (фазові кути)  $\Theta_{ik}$  складових

$$\{D\} = \begin{pmatrix} R_{11}(r)\exp\Theta_{11}(r) & R_{12}(r)\exp\Theta_{12}(r) \\ R_{21}(r)\exp\Theta_{21}(r) & R_{22}(r)\exp\Theta_{22}(r) \end{pmatrix}, \quad (4.6)$$

Величини  $R_{ik}$  вимірюються наступним чином:

- опромінюють зразок лінійно-поляризованим пучком світла з азимутом  $\alpha_0 = 0^0$ ;
- обертають площину пропускання поляризатора на кути  $\Omega = 0^0; \Omega = 90^0$  і вимірюємо інтенсивності пропущеного випромінювання  $I_0^0; I_{90}^0$ ;
- опромінюють зразок лінійно-поляризованим пучком світла з азимутом  $\alpha_0 = 90^0$ ;
- обертають площину пропускання поляризатора на кути  $\Omega = 0^0; \Omega = 90^0$  і вимірюємо інтенсивності пропущеного випромінювання  $I_0^{90}; I_{90}^{90}$ ;
- розраховують дійсні складові  $R_{ik}$

$$\begin{cases} R_{11} = \sqrt{I_0^0}; \\ R_{12} = \sqrt{I_{90}^0}; \\ R_{21} = \sqrt{I_0^{90}}; \\ R_{22} = \sqrt{I_{90}^{90}}. \end{cases} \quad (4.7)$$

Величини фазових кутів  $\Theta_{ik}$  вимірюються наступним чином:

- опромінюють зразок право ( $\otimes$ ) циркулярно-поляризованим пучком світла;
- обертають площину пропускання поляризатора на кути  $\Omega = 0^0; \Omega = 90^0$  і вимірюємо інтенсивності пропущеного випромінювання  $I_0^\otimes; I_{90}^\otimes$ ;
- розраховують різниці фазових кутів  $\theta_{11} - \theta_{12}$  і  $\theta_{22} - \theta_{21}$  елементів  $d_{ik}$

$$\theta_{11} - \theta_{12} = 0,5 \arcsin \left( \frac{2I_0^\otimes - R_{11}^{0,5} - R_{12}^{0,5}}{R_{11} R_{12}} \right) \equiv A; \quad (4.8)$$

$$\theta_{22} - \theta_{21} = 0,5 \arcsin \left( \frac{2I_{90}^\otimes - R_{22}^{0,5} - R_{21}^{0,5}}{R_{22} R_{21}} \right) \equiv B. \quad (4.9)$$

- опромінюють зразок лінійно-поляризованим пучком світла з азимутом  $\alpha_0 = 45^0$
- обертаємо площину пропускання поляризатора на кути  $\Omega = 0^0; \Omega = 90^0$  і вимірюємо інтенсивності пропущеного випромінювання  $I_0^{45}; I_{90}^{45}$ ;
- розраховуємо різниці фазових кутів  $\theta_{11} - \theta_{21}$  і  $\theta_{22} - \theta_{12}$  уявної частини елементів  $d_{ik}$

$$\theta_{11} - \theta_{21} = 0,5 \arccos \left( \frac{2I_0^{45} - R_{11}^{0,5} - R_{12}^{0,5}}{R_{11} R_{12}} \right) \equiv C; \quad (4.10)$$

$$\theta_{22} - \theta_{12} = 0,5 \arccos \left( \frac{2I_{90}^{45} - R_{22}^{0,5} - R_{21}^{0,5}}{R_{22} R_{21}} \right) \equiv D. \quad (4.11)$$

- із виразів (4.8)-(4.11) визначаємо сукупність фазових кутів  $\Theta_{ik}$



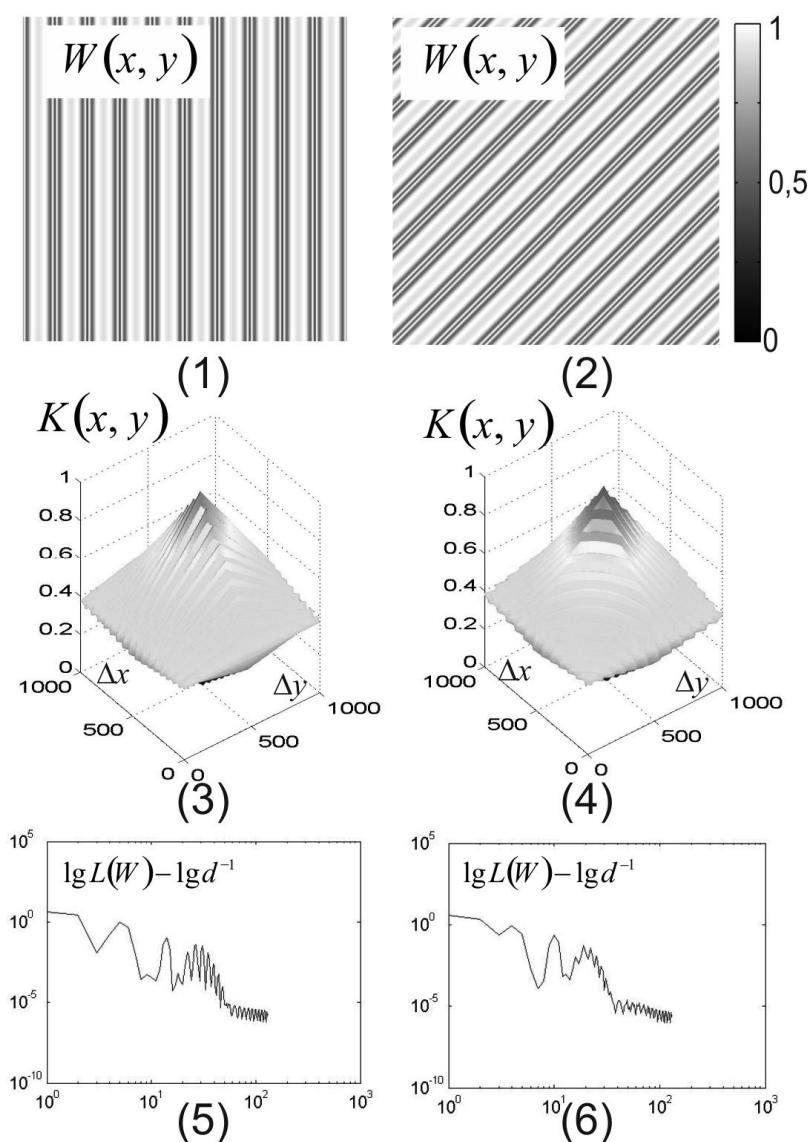
$$\begin{cases} \Theta_{11} = 0.5(3C - A - 3B - D); \\ \Theta_{12} = 0.5(3C - 3A - 3B - D); \\ \Theta_{21} = 0.5(C - A - 3B - D); \\ \Theta_{22} = 0.5(C - A - B - D). \end{cases} \quad (4.12)$$

Таким чином, розрахунок координатних розподілів значень модуля комплексного ступеня взаємної анізотропії (в подальшому викладенні модуля КСВА) біологічного шару здійснюється у відповідності з алгоритмом (4.4)-(4.12).

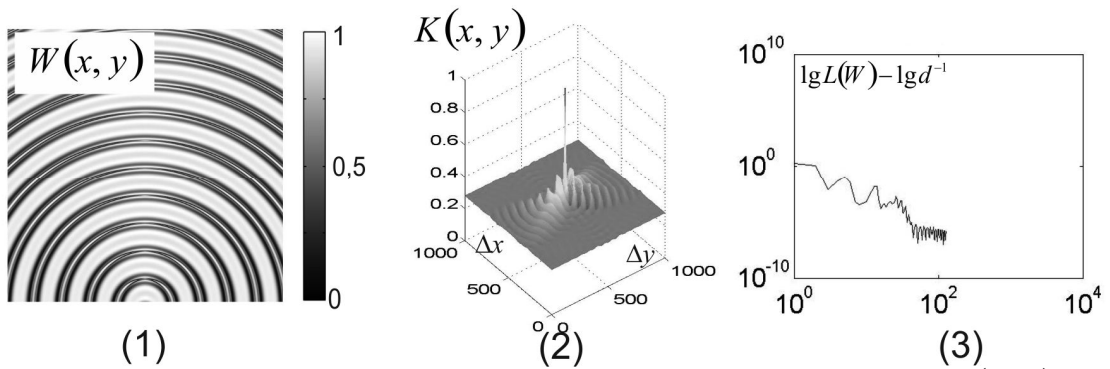
#### **4.2. Комп'ютерне моделювання розподілів значень модуля КСВА планарних полікристалічних мереж**

У даному параграфі наведено матеріали комп'ютерного моделювання координатних розподілів ("поляризаційно-кореляційних мап оптичної анізотропії") значень модуля КСВА  $W(x, y)$  (співвідношення (4.4)-(4.12)) різних типів планарних полікристалічних оптично-анізотропних мереж "об'єкт I - IV" (розділ 3, параграф 3.2).

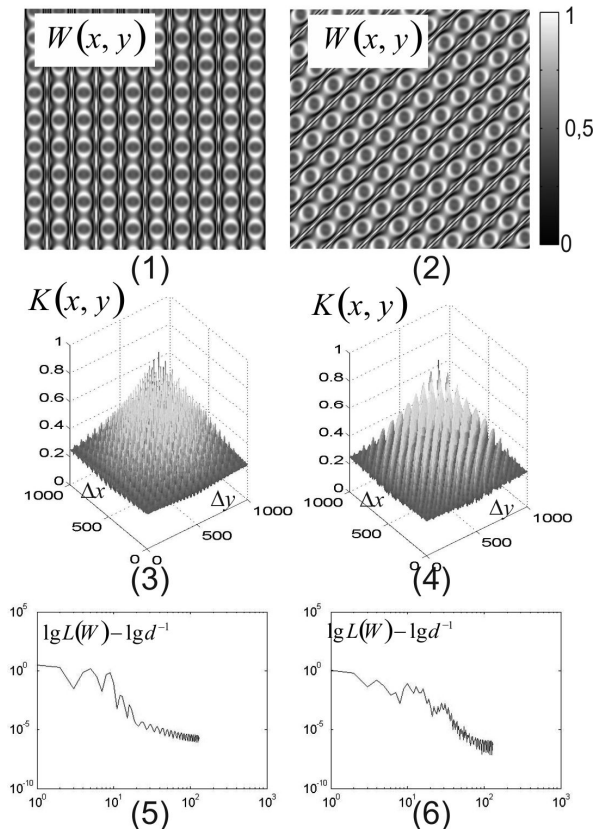
Одержані дані про координатну, кореляційну та фрактальну структуру поляризаційно-кореляційних мап оптичної анізотропії  $W(x, y)$  зазначених типів планарних сіток ілюструють залежності, що наведені на серії рис. 4.1 – рис. 4.4.



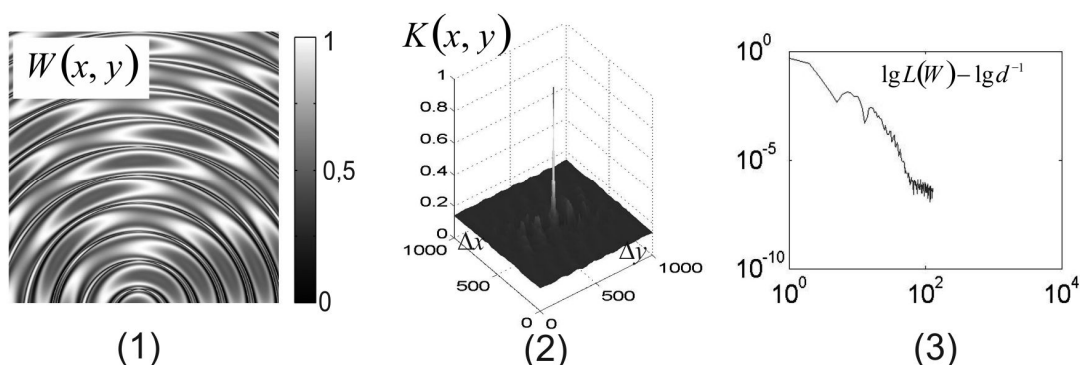
**Рис. 4.1.** Координатні розподіли значень модуля КСВА  $W(x, y)$  ((1),(2)), автокореляційні функції  $K(x, y)$  ((3),(4)) і логарифмічні залежності спектрів потужності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  ((5),(6)) об'єкту I



**Рис. 4.2.** Координатний розподіл значень модуля КСВА  $W(x, y)$  (1), автокореляційна функція  $K(x, y)$  (2) і логарифмічна залежність спектру потужності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  (3) об'єкту II



**Рис. 4.3.** Координатні розподіли значень модуля КСВА  $W(x, y)$  ((1),(2)), автокореляційні функції  $K(x, y)$  ((3),(4)) і логарифмічні залежності спектрів потужності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  ((5),(6)) об'єкту III



**Рис. 4.4.** Координатний розподіл значень модуля КСВА  $W(x, y)$  (1), автокореляційна функція  $K(x, y)$  (2) і логарифмічна залежність спектру потужності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  (3) **об'єкту IV**

Порівняльний аналіз набору координатних розподілів значень модуля КСВА  $W(x, y)$  (фрагменти (1),(2)), їх автокореляційних функцій  $K(x, y)$  (фрагменти (3),(4)) і логарифмічних залежностей спектрів потужності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  (фрагменти (5),(6)), які характеризують оптичну анізотропію **об'єктів I – IV**, виявив:

- індивідуальні за періодами координатної модуляції та наявністю різномасштабних кластерів топографічні розподіли значень модуля КСВА  $W(x, y)$  всіх типів планарних мереж оптично анізотропних циліндрів (рис. 4.1 – рис. 4.4, фрагменти (1),(2));
- швидке спадання залежностей автокореляційних функцій  $K(x, y)$ , обчислених за координатними розподілами значень модуля КСВА поляризаційно-кореляційних мап оптичної анізотропії **об'єктів I – IV** (рис. 4.1 – рис. 4.4, фрагменти (3),(4));
- особливості (декілька нахилів апроксимуючих кривих) логарифмічних залежностей спектрів потужності розподілів значень КСВА;
- формування більш плавних "мононахилених" апроксимуючих кривих логарифмічних залежностей спектрів потужності розподілів значень модуля КСВА сіток циліндрів із колоподібними оптичними осями та модульованими параметрами (рис. 4.1 – рис. 4.4, фрагменти (5),(6)).

Результати комп'ютерного моделювання вказують на високу чутливість значень поляризаційно-кореляційного параметра КСВА  $W(d_{ik})$  (співвідношення (4.3)-(4.12)) до зміни параметрів  $(b_{ik}(\gamma, \phi))$  лінійного (співвідношення (3.3),(3.4)) та циркулярного  $(a_{ik}(\theta))$  (співвідношення (3.1),(4.2)) двопронизаломлення планарних полікристалічних мереж.

З аналізу аналітичного виразу для КСВА впливає безпосередній вплив на його величину координатної зміни напрямку оптичної осі  $\gamma$ , величин фазових зсувів  $\phi$  і  $\theta$  у площині **об'єктів I – IV**. Зрозуміло, що чим складнішим є координатний розподіл параметрів  $\gamma, \phi, \theta$  (**об'єкти II і IV**), тим більш складною є топографічна будова координатних розподілів значень модуля КСВА або поляризаційно-кореляційних мап оптичної анізотропії  $W(x, y)$ . У рамках кореляційного підходу це виявляється у більш стрімкому спаданні значень автокореляційних функцій  $K(W)$ . Фрактальний аналіз вказує на формування мультифрактальних розподілів  $W(x, y)$ .

Результати кількісного статистичного, кореляційного та фрактального аналізу координатних розподілів значень КСВА **об'єктів I – IV** приведені у таблиці 4.1.

**Таблиця 4.1** Статистичні моменти 1-го – 4-го порядків  $M_{i=1;2;3;4}$ , кореляційні моменти 2-го і 4-го порядків  $M_{i=2;4}^K$ , дисперсія  $D$ , які характеризують координатні розподіли  $W(x, y)$  зображень планарних сіток **об'єктів I – IV**

$q$	об'єкт I	об'єкт II	об'єкт III	об'єкт IV
$M_{i=1}$	0,06	0,09	0,11	0,13
$M_{i=2}$	0,08	0,11	0,13	0,15
$M_{i=3}$	0,36	0,44	0,57	0,63
$M_{i=4}$	1,63	1,32	1,12	0,89
$M_{i=2}^K$	0,27	0,21	0,18	0,15
$M_{i=4}^K$	1,15	1,04	0,87	0,63
$D$	0,32	0,29	0,27	0,24

Порівняльний аналіз сукупності об'єктивних параметрів, які характеризують розподіли значень модуля КСВА планарних **об'єктів I – IV** виявив:

- різним типам оптично-анізотропних сіток відповідають індивідуальні значення об'єктивних параметрів  $q(W)$ , які характеризують гістограми, автокореляційні функції та просторово-частотні структури розподілів значень модуля КСВА;
- у рамках статистичного підходу найбільш чутливими до трансформації параметрів оптичної анізотропії планарних полікристалічних мереж циліндрів з прямолінійними та колоподібними оптичними осями виявилися статистичні моменти вищих порядків  $M_{i=3;4}(W)$ , які характеризують асиметрію та гостроту піку гістограм розподілів значень КСВА таких сіток;
- у рамках кореляційного підходу найбільш чутливим до зміни фазової анізотропії для серії **об'єктів I – IV** параметром виявився ексцес  $M_{i=4}^K$ , що характеризує гостроту піку автокореляційних функцій  $K(W)$ ;
- у рамках фрактального підходу виявлено, що дисперсія  $D$ , яка характеризує розподіл екстремумів логарифмічні залежностей  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  значень модуля КСВА **об'єктів I – IV** незначно змінюється.

#### **4.3. Багатофункціональна поляризаційно-кореляційна мікроскопія оптичної анізотропії біологічних шарів**

Можливості “двоточкової” поляризаційно-кореляційної мікроскопії на прикладі гістологічного зрізу впорядкованої міозинової мережі міокарду та полікристалічної плівки ліквору наведені у додатку Г.

#### 4.4. КСВА диференціація змін оптичної анізотропії гістологічних зрізів біологічних тканин і полікристалічних плівок біологічних рідин

Даний параграф містить результати досліджень можливості поляризаційно-кореляційної диференціації проявів оптичної анізотропії, що обумовлені онкологічними змінами стінки матки.

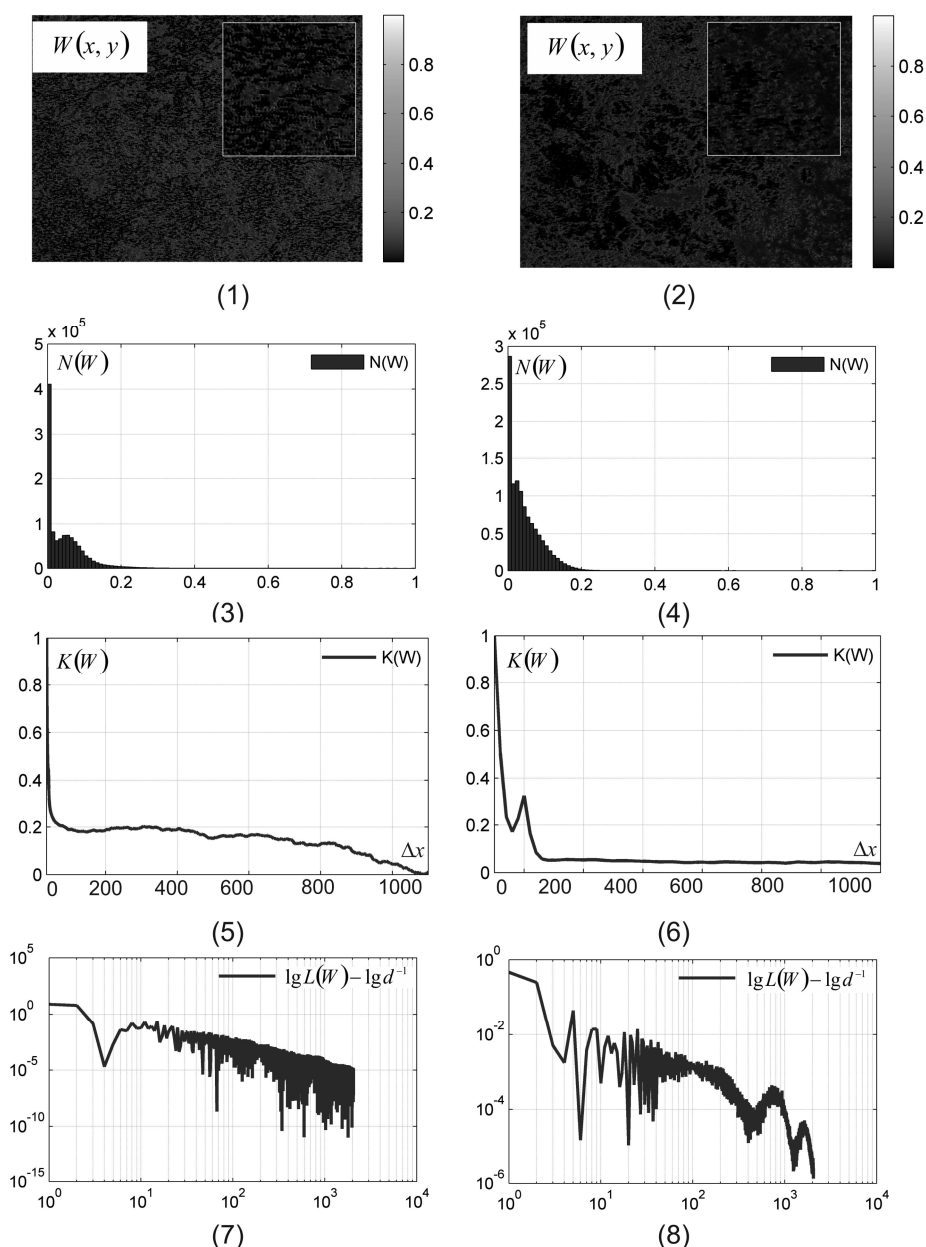
На рис. 4.5 наведено поляризаційно-кореляційні КСВА мапи  $W(m \times n)$  (фрагменти (1), (2)); гістограми  $N(W)$  (фрагменти (3), (4)); автокореляційні функції  $K(W)$  (фрагменти (5),(6)) та логарифмічні залежності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  спектрів потужності розподілів значень модуля КСВА у площині гістологічних зрізів фіброміоми (фрагменти (1), (3), (5), (7)) та аденокарциноми (фрагменти (2), (4), (6), (8)).

З аналізу параметрів  $q(M_{i=1;2;3;4}; M_{i=2;4}^K; D)$ , які характеризують поляризаційно-кореляційні КСВА мапи гістологічних зрізів біопсії пухлин стінки матки обох типів, виявлено наступні основні відмінності. Зростання дисперсії ( $M_2(W) \uparrow$ ), асиметрії ( $M_3(W) \uparrow$ ) та зменшення ексцесу ( $M_4(W) \downarrow$ ), які характеризують гістограми  $N(W)$  розподілів значень модуля КСВА зразка злоякісної аденокарциноми (рис. 4.5, фрагменти (3),(4)).

Виявлений сценарій зміни статистичної структури підтверджує дані комп'ютерного моделювання (розділ 4, рис. 4.1 - рис. 4.4) та експериментальної апробації методики КСВА-картографування гістологічного зрізу міокарда (Додаток Г).

По-перше, для зразків стінки матки патологічна трансформація пов'язана з ростом фазової анізотропії фібрилярної мережі зразку злоякісної пухлини (розділ 3, параграф 3.4). Внаслідок цього, зростає ймовірність формування значень модуля КСВА, що відмінні від екстремального  $W = 0$ .

По-друге, - розширення діапазону зміни випадкових значень модуля КСВА у площині гістологічного зрізу аденокарциноми є причиною зростання координатної неоднорідності поляризаційно-кореляційних мап  $W(x, y)$ . гострота піку  $M_4^K \uparrow$  зростає за рахунок відповідного зменшення радіусу кореляції таких розподілів для автокореляційних залежностей  $K(W)$ , обчислених для зразків з групи 2 (Рис. 4.5, фрагменти (5), (6)).



**Рис. 4.5.** Поляризаційно-кореляційні КСВА мапи  $W(m \times n)$  (фрагменти (1), (2)); гістограми  $N(W)$  (фрагменти (3), (4)); автокореляційні функції  $K(W)$  (фрагменти (5),(6)) та логарифмічні залежності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  спектрів потужності розподілів значень модуля КСВА у площині гістологічних зрізів групи 1 (фрагменти (1), (3), (5), (7)) та групи 2 (фрагменти (2), (4), (6), (8)). Пояснення у тексті



По-третє – трансформація орієнтаційної структури та зростання фазової анізотропії фібрилярних мереж онкологічно зміненої стінки матки призводить до формування випадкових розподілів значень поляризаційно-кореляційних мап  $W(x, y)$  (Рис. 4.5, фрагменти (7), (8)).

#### 4.4.1. Інформативність методу поляризаційно-кореляційного КСВА – картографування гістологічних зрізів біопсії пухлин стінки матки

Результати порівняльного аналізу усереднених (у межах відповідних груп зразків) значень об'єктивних параметрів  $q(W)$ , які характеризують двомірні розподіли значень модуля КСВА, наведено у таблиці 4.2.

**Таблиця 4.2** Статистичні моменти 1-го – 4-го порядків  $M_{i=1;2;3;4}$ , кореляційні моменти 2-го і 4-го порядків  $M_{i=2;4}^K$ , дисперсія  $D$ , які характеризують координатні розподіли  $W(x, y)$  гістологічних зрізів біопсії пухлин стінки матки

$q$	$W(x, y)$		$Ac, \%$
	фіброміома	аденокарцинома	
$M_{i=1}$	$0,09 \pm 0,007$	$0,11 \pm 0,008$	67%
$M_{i=2}$	$0,12 \pm 0,011$	$0,15 \pm 0,012$	74%
$M_{i=3}$	$0,74 \pm 0,072$	$0,96 \pm 0,084$	88%
$M_{i=4}$	$1,35 \pm 0,12$	$1,02 \pm 0,103$	90%
$M_{i=2}^K$	$0,11 \pm 0,0094$	$0,09 \pm 0,0083$	71%
$M_{i=4}^K$	$1,48 \pm 0,12$	$1,93 \pm 0,14$	86%
$D$	$0,18 \pm 0,013$	$0,22 \pm 0,18$	71%

Установлені наступні кількісні критерії міжгрупових відмінностей значень об'єктивних параметрів, які характеризують поляризаційно-кореляційні КСВА мапи  $W(m \times n)$  гістологічних зрізів групи 1 та групи 2

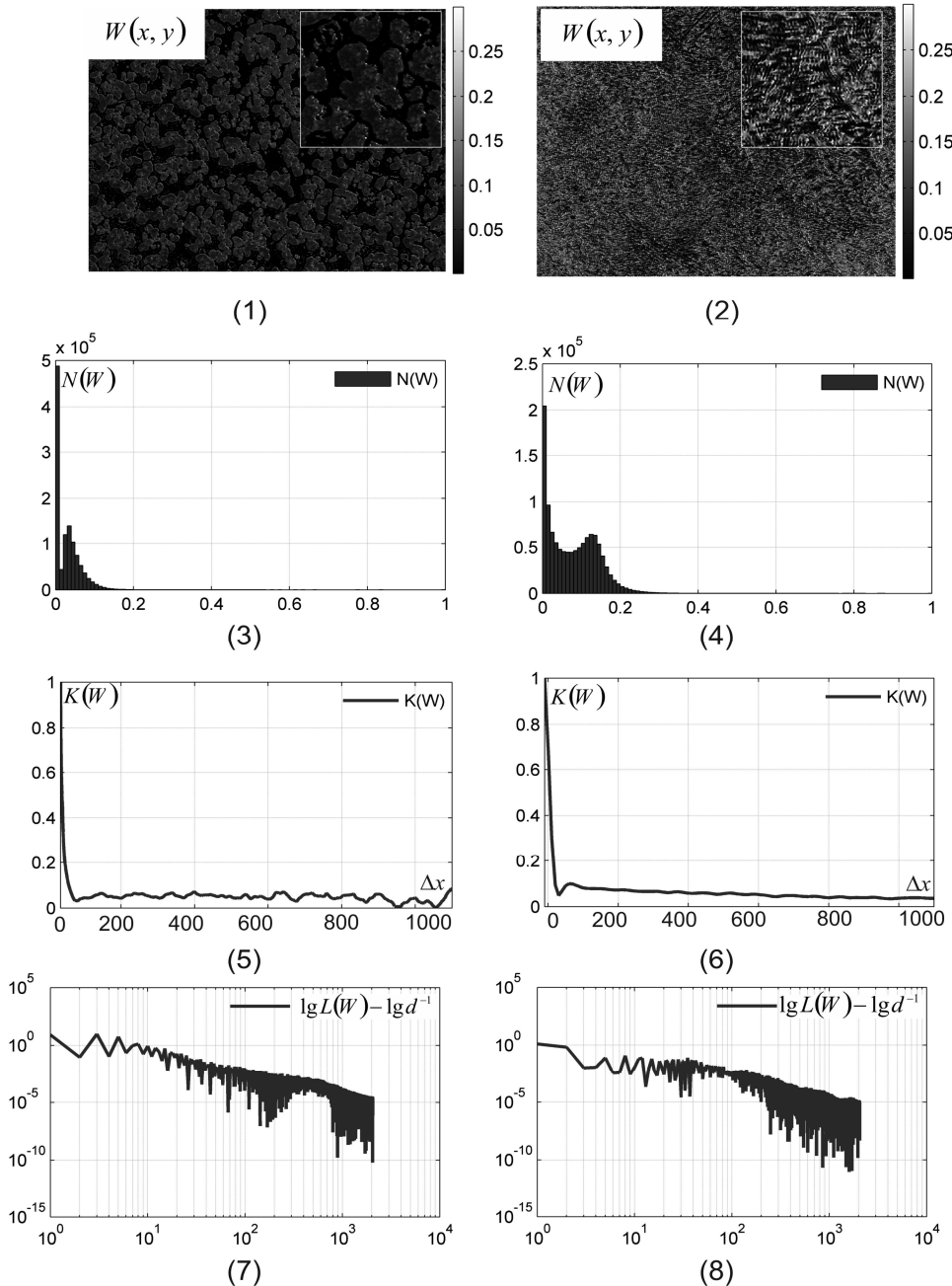
$$W(m \times n) = \begin{cases} \Delta M_1 = 1,22; \Delta M_2 = 1,26; \Delta M_3 = 1,34; \Delta M_4 = 1,36; \\ \Delta M_2^K = 1,22; \Delta M_4^K = 1,31. \end{cases}.$$

Одержані результати показали, що найбільш чутливі ( $\Delta \bar{q} = \max$ ) до змін фазової анізотропії полікристалічних мереж параметри - статистичні моменти  $M_3$ ,  $M_4$  та кореляційний момент  $M_4^K$ , які характеризують двомірні розподіли значень модуля КСВА у рамках статистичного та кореляційного аналізу. Такий результат корелює з фізичним аналізом зміни оптичної анізотропії фібрилярних мереж гістологічного зрізу злоякісної пухлини та даними комп'ютерного моделювання (розділ 4, параграф 4.2) змін розподілів напрямів оптичних осей та фазових зсувів між ортогонально-поляризованими складовими амплітуди лазерного пучка. При цьому, досягнуто максимально високий рівень збалансованої точності -  $Ac(W) = 86\% - 90\%$ , який вищий (на 10%-20%) за точність азимутально-інваріантного поляризаційного та мюллер-матричного картографування.

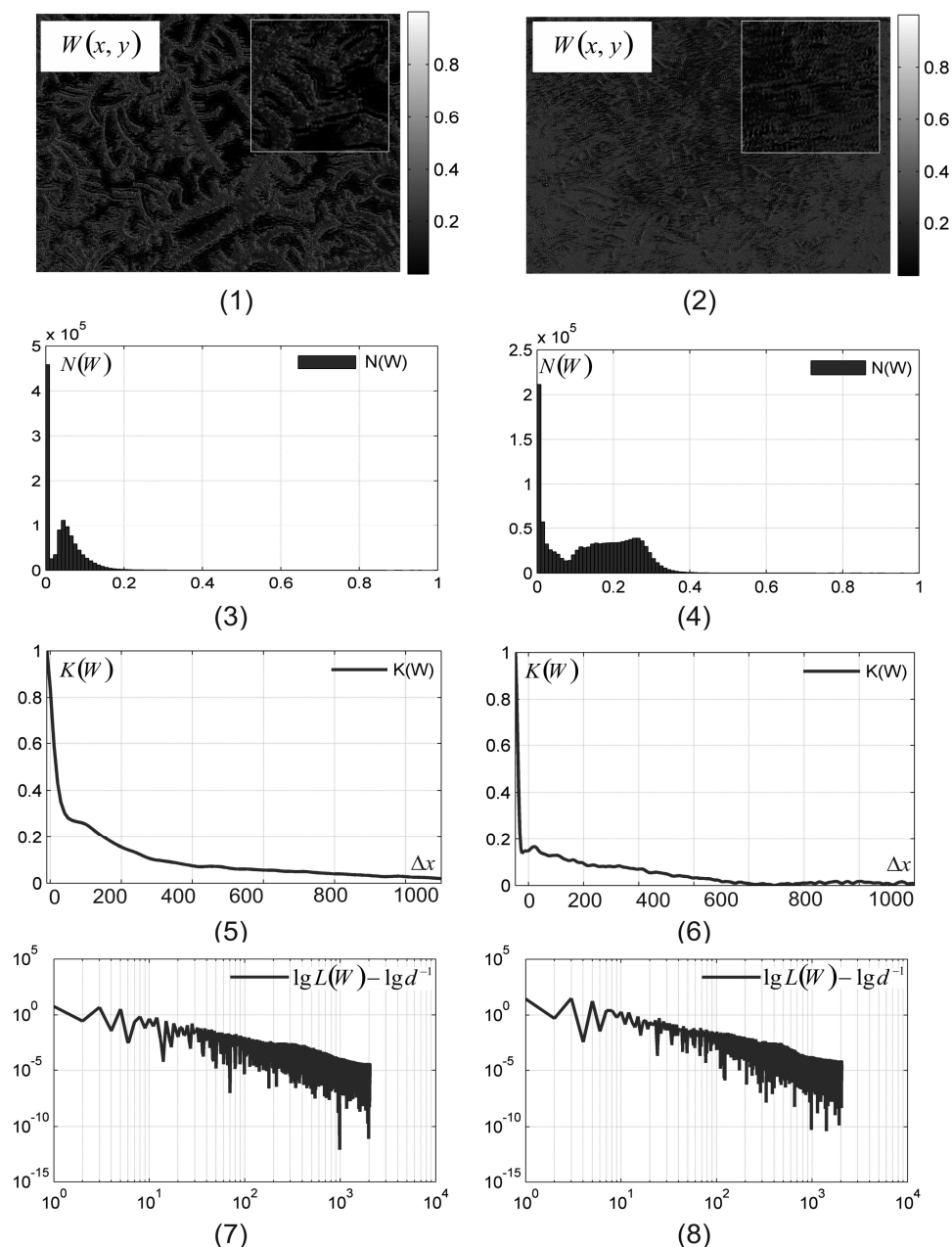
Досягнута ефективність діагностичного тесту на основі поляризаційно-кореляційної мікроскопії підтверджує актуальність пошуку додаткових можливостей для покращення ефективності диференціації проявів оптичної анізотропії плівок різноманітних рідин організму людини.

#### **4.5. Поляризаційно-кореляційна мікроскопія планарних оптично-анізотропних мереж полікристалічних плівок біологічних рідин**

На серії рис. 4.6, рис. 4.7 наведено поляризаційно-кореляційні мапи  $W(m \times n)$  (фрагменти (1), (2)); гістограми  $N(W)$  (фрагменти (3), (4)); автокореляційні функції  $K(W)$  (фрагменти (5), (6)) та логарифмічні залежності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  спектрів потужності розподілів значень модуля КСВА у площині мікроскопічних зображень плівок жовчі (рис. 4.6), а також випоту (рис. 4.7).



**Рис. 4.6.** Поляризаційно-кореляційні мапи  $W(m \times n)$  (фрагменти (1), (2)); гістограми  $N(W)$  (фрагменти (3), (4)); автокореляційні функції  $K(W)$  (фрагменти (5), (6)) та логарифмічні залежності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  спектрів потужності розподілів значень модуля КСВА плівок жовці групи 1 (фрагменти (1), (3), (5), (7)) та групи 2 (фрагменти (2), (4), (6), (8)). Пояснення у тексті



**Рис. 4.7.** Поляризаційно-кореляційні мапи  $W(m \times n)$  (фрагменти (1), (2)); гістограми  $N(W)$  (фрагменти (3), (4)); автокореляційні функції  $K(W)$  (фрагменти (5),(6)) та логарифмічні залежності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  спектрів потужності розподілів значень модуля КСВА півок випоту групи 1 (фрагменти (1), (3), (5), (7)) та групи 2 (фрагменти (2), (4), (6), (8)). Пояснення у тексті

Порівняльний аналіз сукупності параметрів  $q(M_{i=1;2;3;4}; M_{i=2;4}^K; D)$ , які характеризують розподіли значень модуля КСВА (поляризаційно-кореляційні мапи) полікристалічних мереж жовчі та випоту, виявив основні критерії для диференціації їх властивостей – статистичні  $(M_3, M_4)$  і кореляційний  $(M_4^K)$  моменти 4-го порядку, а також формування мультифрактальних розподілів  $W(m \times n)$ .

Результати інформаційного аналізу діагностичної ефективності КСВА-картографування плівок жовчі та випоту, що базується на використанні зазначених об'єктивних критеріїв, приведені у таблицях 4.3, 4.4.

**Таблиця 4.3.** Статистичні моменти 1-го – 4-го порядків  $M_{i=1;2;3;4}$ , кореляційні моменти 2-го і 4-го порядків  $M_{i=2;4}^K$ , дисперсія  $D$ , які характеризують координатні розподіли значень  $W(x, y)$  плівок жовчі

$q$	$W(x, y)$		$Ac, \%$
	Норма	ЖКХ	
$M_{i=1}$	$0,08 \pm 0,0053$	$0,1 \pm 0,008$	67%
$M_{i=2}$	$0,11 \pm 0,009$	$0,13 \pm 0,011$	69%
$M_{i=3}$	$0,61 \pm 0,056$	$0,82 \pm 0,077$	85%
$M_{i=4}$	$1,96 \pm 0,19$	$1,23 \pm 0,11$	82%
$M_{i=2}^K$	$0,11 \pm 0,0097$	$0,1 \pm 0,0084$	65%
$M_{i=4}^K$	$1,68 \pm 0,13$	$2,27 \pm 0,23$	83%
$D$	$0,21 \pm 0,015$	$0,24 \pm 0,19$	67%

Установлено такі між групові відмінності для об'єктивних параметрів, які характеризують поляризаційно-кореляційні мапи полікристалічних плівок жовчі:

$$\begin{cases} \Delta M_1 = 1,25; \Delta M_2 = 1,18; \Delta M_3 = 1,34; \Delta M_4 = 1,59; \\ \Delta M_2^K = 1,03; \Delta M_4^K = 1,35; \end{cases}$$

**Таблиця 4.4.** Статистичні моменти 1-го – 4-го порядків  $M_{i=1;2;3;4}$ , кореляційні моменти 2-го і 4-го порядків  $M_{i=2;4}^K$ , дисперсія  $D$ , які характеризують координатні розподіли значень  $W(x, y)$  плівок випоту

$q$	$W(x, y)$		$Ac, \%$
	гострий апендицит	серозний апендицит	
$M_{i=1}$	$0,06 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,014$	67%
$M_{i=2}$	$0,09 \pm 0,013$	$0,11 \pm 0,016$	69%
$M_{i=3}$	$0,67 \pm 0,12$	$0,89 \pm 0,21$	75%
$M_{i=4}$	$1,63 \pm 0,29$	$1,12 \pm 0,15$	72%
$M_{i=2}^K$	$0,08 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,012$	61%
$M_{i=4}^K$	$2,04 \pm 0,39$	$2,79 \pm 0,48$	74%
$D$	$0,15 \pm 0,025$	$0,18 \pm 0,35$	65%

Для полікристалічних плівок випоту встановлено наступні відмінності

$$\begin{cases} \Delta M_1 = 1,24; \Delta M_2 = 1,22; \Delta M_3 = 1,33; \Delta M_4 = 1,46; \\ \Delta M_2^K = 1,26; \Delta M_4^K = 1,37; \end{cases}$$

Головним результатом поляризаційно-кореляційної мікроскопії є більша чутливість (виділено сірим) КСВА–картографування полікристалічних мереж у порівнянні з багатомірними техніками поляризаційної (розділ 3, таблиці 3.5 – 3.10) мікроскопії плівок біологічних рідин.

Для розглянутих груп об'єктів інформативність КСВА–картографування набуває максимального рівня збалансованої точності -  $Ac(W) = 75\% - 85\%$ .

#### 4.6. Взаємозв'язок між азимутально-інваріантними поляризаційною та поляризаційно-кореляційною мікроскопією біологічних шарів

##### 4.6.1. Кореляційний підхід до опису топографічної структури вектор-параметричних і мюллер-матричних зображень полікристалічних мереж

У роботі [191] було виявлено різноманітну (переважно замкнену) структуру топографічних розподілів поляризофот (S - контурів) у мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин, які визначаються геометричним місцем точок екстремальних значень еліптичності поляризації  $\beta(r) = 0$  та  $\beta(r) = \frac{\pi}{4}$ .

Такі дані було отримано у межах “одноточкового” поляризаційно-сингулярного підходу до аналізу вектор-параметричних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин [20].

“Двоточковий” аналіз топографічних розподілів поляризофот відповідних мікроскопічних зображень виявив те, що поперечному розміру S - контуру (відстань від точки циркулярної поляризації до лінії, утвореної точками лінійної поляризації, –  $\Delta r_s$ ) відповідає лінія, що утворена у площині перерізу півширини двомірної автокореляційної функції  $K(V(x, y))$  розподілу значень КСВП (розділ 1, параграф 1.3).

Іншими словами, визначивши КСВП-мапу у площині мікроскопічного зображення гістологічного зрізу біологічної тканини та розрахувавши відповідну йому автокореляційну функцію  $K(V(x, y))$ , можна встановити середньостатистичну відстань від С - точок ( $\beta(x, y) = 0,25\pi$ ) до L - ліній ( $\beta = 0$ ), які визначають границі S - контура. Такий параметр має сенс середньостатистичного розміру S - контура.

Нами для аналізу оптично анізотропних біологічних об'єктів запропоновано інший “двоточковий” параметр – комплексний ступень взаємної анізотропії (КСВА), модуль якого характеризує кореляційну узгодженість параметрів анізотропії різних точок

полікристалічної мережі (розділ 4, параграф 4.1, співвідношення (4.1) – (4.12)).

Таким чином, шляхом визначення закономірностей формування координатних розподілів значень модуля КСВА можна встановити аналогічний взаємозв'язок між “двоточковими” поляризаційно-кореляційними мапами та “одноточковими” мюллер-матричними зображеннями полікристалічної структури шарів біологічних тканин і рідин. На цій основі можна розробити нові підходи до кореляційного оцінювання координатної структури азимутально-інваріантних мюллер-матричних зображень полікристалічних мереж.

#### **4.6.2. Методика визначення кореляційного К-контуру оптично анізотропних біологічних шарів**

В основу визначення топографічної структури кореляційного контуру (“К-контур”) оптичної анізотропії полікристалічних мереж біологічного шару покладено кроскореляційний аналіз, який базується на:

- обчисленні двовірної автокореляційної функції  $K(W(x, y))$  розподілів значень КСВА  $W(x, y)$ ;
- визначенні лінії перерізу на рівні  $K(W(x, y)) = 0,5$ , яка і визначає геометричне місце точок кореляційного К-контуру полікристалічної мережі.

Для кількісної оцінки середньостатистичних розмірів К-контуру необхідно:

- обчислити серії автокореляційних залежностей розподілу значень КСВА у двох взаємно ортогональних напрямках ( $Ox$  і  $Oy$ ) згідно наступного алгоритму:

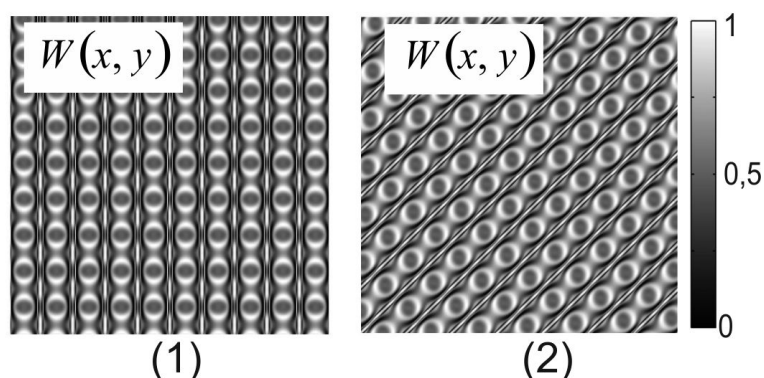


$$\left\{ \begin{array}{l} K(W, X, y) \rightarrow \left( \begin{array}{l} K_{y=1}(\Delta x); \Delta x = 1, \dots, m \\ \dots\dots\dots \\ K_{y=n}(\Delta x); \Delta x = 1, \dots, m \end{array} \right) \rightarrow \bar{K}(\Delta x) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n K_i(\Delta x); \\ \\ K(W, x, Y) \rightarrow \left( \begin{array}{l} K_{x=1}(\Delta y); \Delta y = 1, \dots, n \\ \dots\dots\dots \\ K_{x=m}(\Delta y); \Delta y = 1, \dots, n \end{array} \right) \rightarrow \bar{K}(\Delta y) = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m K_i(\Delta y). \end{array} \right. \quad (4.13)$$

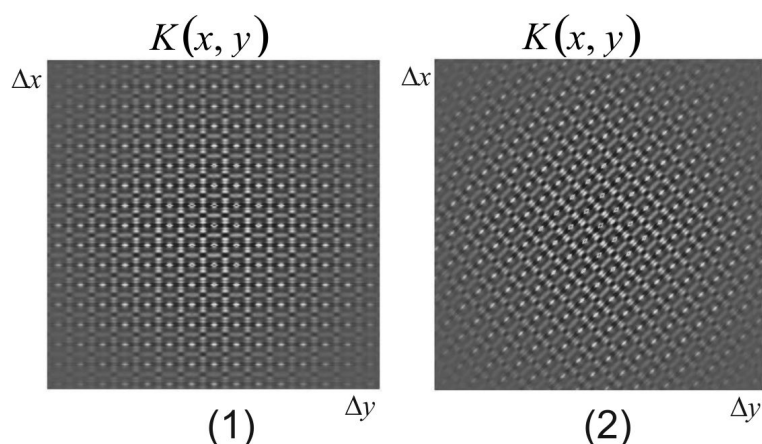
### Об'єкт III

На рис. 4.8 наведені координатні розподіли значень модуля КСВА  $W(x, y)$  такої планарної полікристалічної мережі та відповідна двовірсна автокореляційна функція  $K(W, x, y)$  таких розподілів.

Топографічна будова поляризаційно-кореляційної мапи оптичної анізотропії **об'єкту III** (рис. 4.8) характеризується азимутально-асиметричною двовірною автокореляційною функцією  $K(W, x, y)$  розподілу значень КСВА - рис. 4.9.

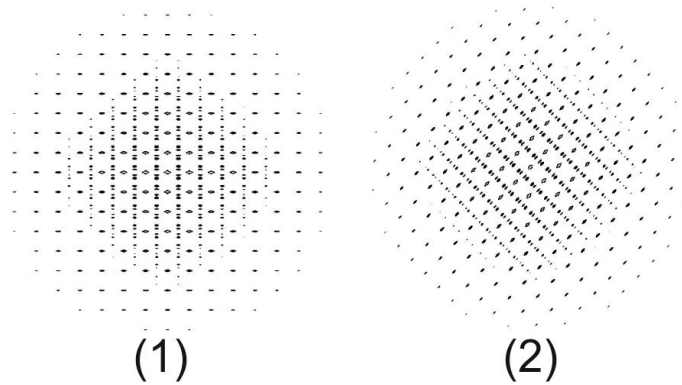


**Рис. 4.8.** Координатні розподіли значень параметру КСВА  $W(x, y)$  мережі прямолінійних циліндрів з гармонічною фазовою модуляцією - **об'єкт III**



**Рис. 4.9.** Двовірсна автокореляційна функція  $K(W, x, y)$  координатного розподілу значень параметру КСВА  $W(x, y)$  мережі прямолінійних циліндрів з гармонічною фазовою модуляцією - **об'єкт III**

Конфігурацію кореляційного К-контурів сітки прямолінійних циліндрів із гармонічним законом фазової модуляції вздовж напрямку оптичних осей ілюструє рис. 4.10.



**Рис. 4.10.** Кореляційний К-контур координатного розподілу значень модуля КСВА мережі прямолінійних циліндрів з гармонічною фазовою модуляцією - **об'єкт III**

Як видно (рис. 4.10) автокореляційна функція гармонічного (рис. 4.10) координатного розподілу значень  $W(x, y)$  планарної мережі прямолінійних циліндрів із гармонічною фазовою модуляцією являє собою ансамбль кореляційних К-контурів.

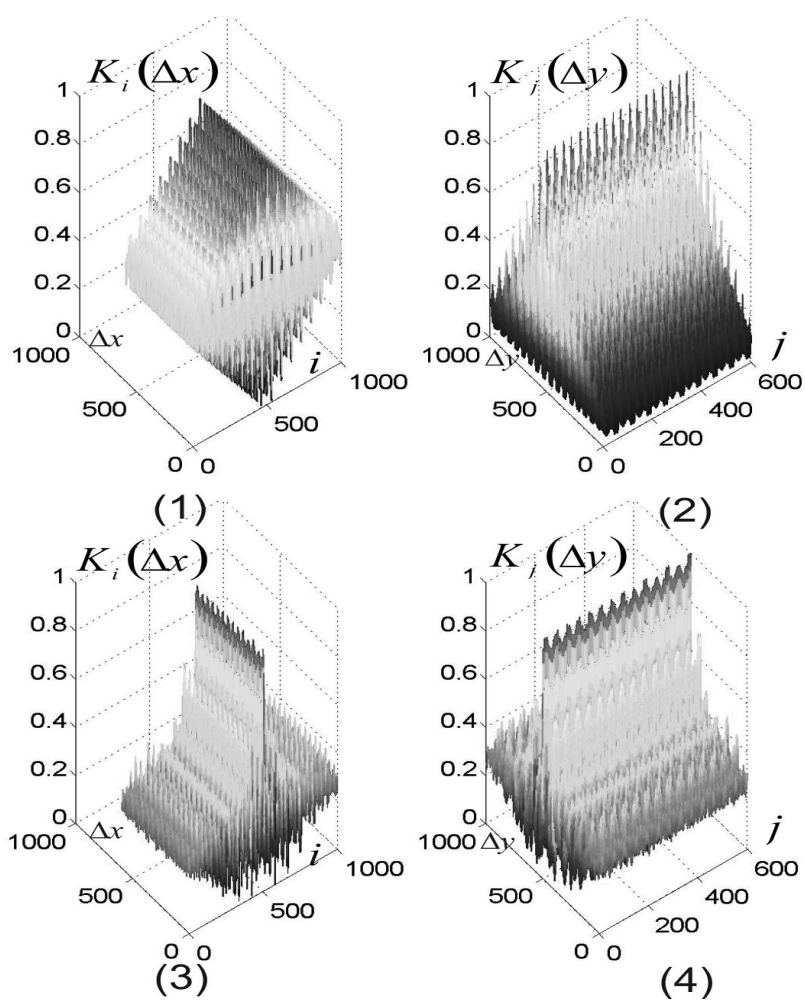
Така топографічна структура обумовлена наявністю значних флуктуацій власних значень кроскореляційних (розділ 2, параграф 2.2.2) функцій (рис. 4.11), які виникають внаслідок повільного спадання за рахунок обмеженої (статистично незначної) кількості оптично анізотропних циліндрів планарної сітки.

Кожен локальний К-контур у межах окремого циліндру являє собою замкнену криволінійну асиметричну топографічну структуру.

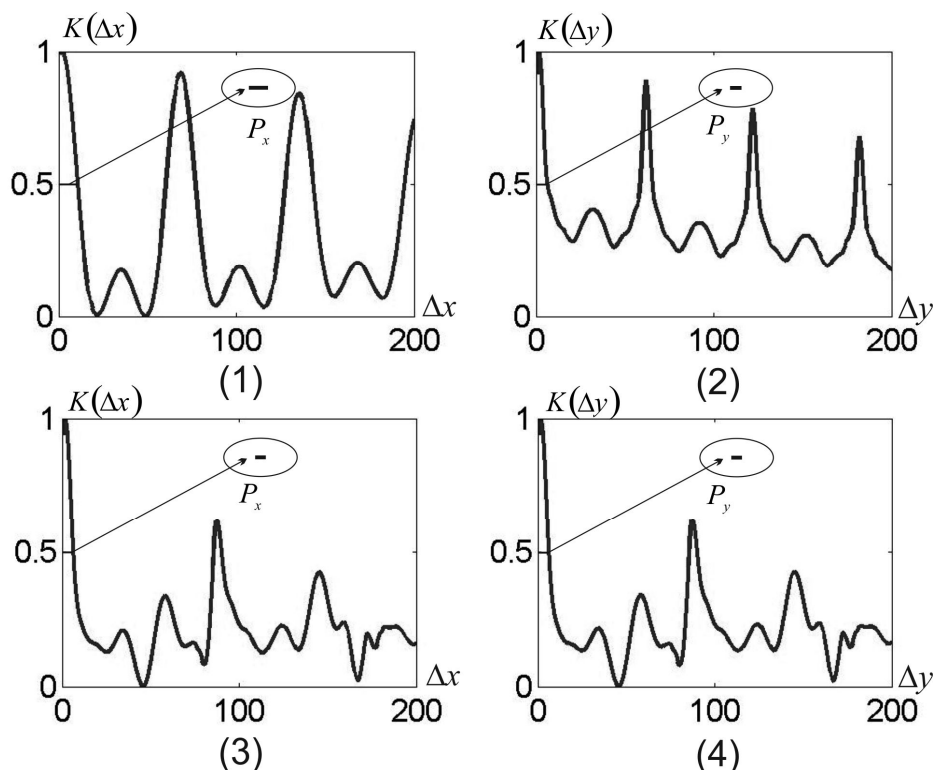
Безпосереднє використання сукупності таких двомірних кореляційних залежностей для характеристики та диференціації оптично анізотропних мереж різних типів утруднено.

Тому надалі об'єктивне оцінювання конфігурації К-контурів проводилося у рамках кроскореляційного аналізу (співвідношення (4.13), (4.14)).

Відповідні результати наведено на рис. 4.11 і рис. 4.12.



**Рис. 4.11.** Кроскореляційні функції  $K_i(\Delta x), K_j(\Delta y)$  координатного розподілу значень модуля КСВА  $W(x, y)$  мережі прямолінійних циліндрів з гармонічною фазовою модуляцією - **об'єкт III**

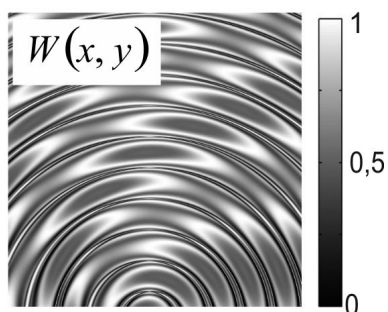


**Рис. 4.12.** Середньостатистичні півосі кореляційного К-контурів координатного розподілу значень модуля КСВА  $W(x, y)$  мережі прямолінійних циліндрів з гармонічною фазовою модуляцією - **об'єкт III**

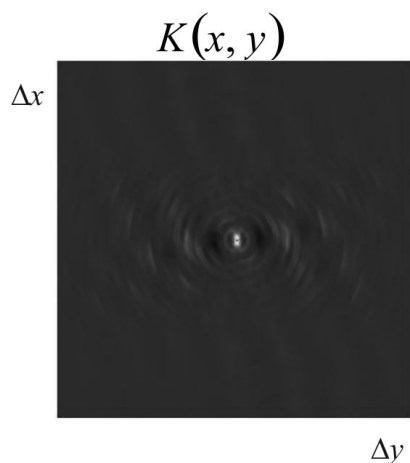
Наведені на рис. 4.11 двовимірні кроскореляційні функції  $K_i(\Delta x), K_j(\Delta y)$  за рахунок різних законів модуляції параметрів фазової анізотропії характеризуються різною будовою для ортогональних напрямків сканування координатного розподілу значень параметру КСВА **об'єкту III**. Тому кореляційний К-контур такого розподілу  $W(x, y)$  володіє асиметрією середньостатистичних розмірів своїх взаємно перпендикулярних осей (рис. 4.12).

#### **Об'єкт IV**

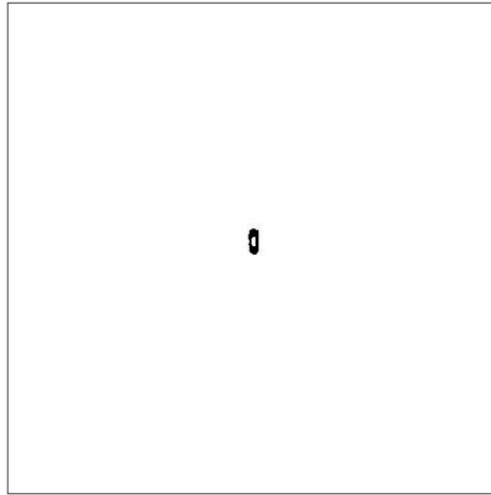
На серії рис. 4.13 – рис. 4.17 наведено результати, що ілюструють можливості крос-кореляційного аналізу координатного розподілу значень модуля КСВА  $W(x, y)$  сітки циліндрів із колоподібними осями та синусоїдальним законом фазової модуляції – **об'єкт IV**.



**Рис. 4.13.** Координатні розподіли значень модуля КСВА  $W(x, y)$  мережі циліндрів з колоподібними осями та гармонічною фазовою модуляцією - **об'єкт IV**



**Рис. 4.14.** Двовимірна автокореляційна функція  $K(W, x, y)$  координатного розподілу значень модуля КСВА  $W(x, y)$  мережі циліндрів з колоподібними осями та гармонічною фазовою модуляцією – **об'єкт IV**

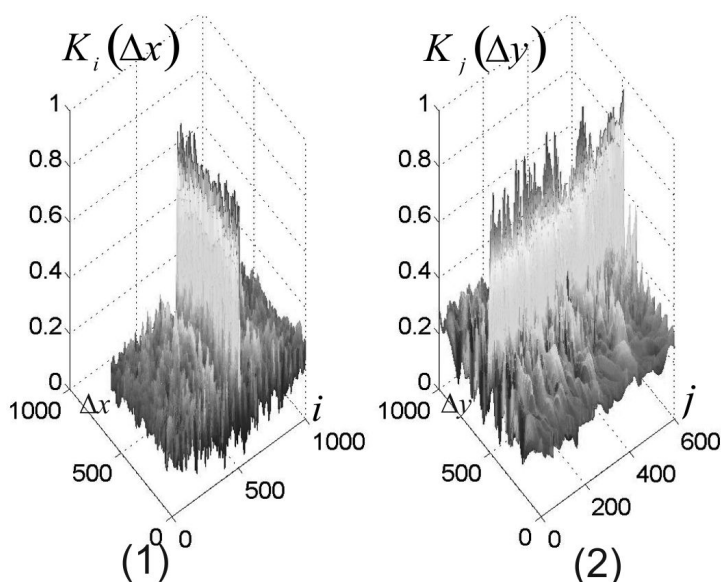


**Рис. 4.15.** Кореляційний К-контур координатного розподілу значень модуля КСВА мережі циліндрів з колоподібними осями та гармонічною фазовою модуляцією - **об'єкт IV**

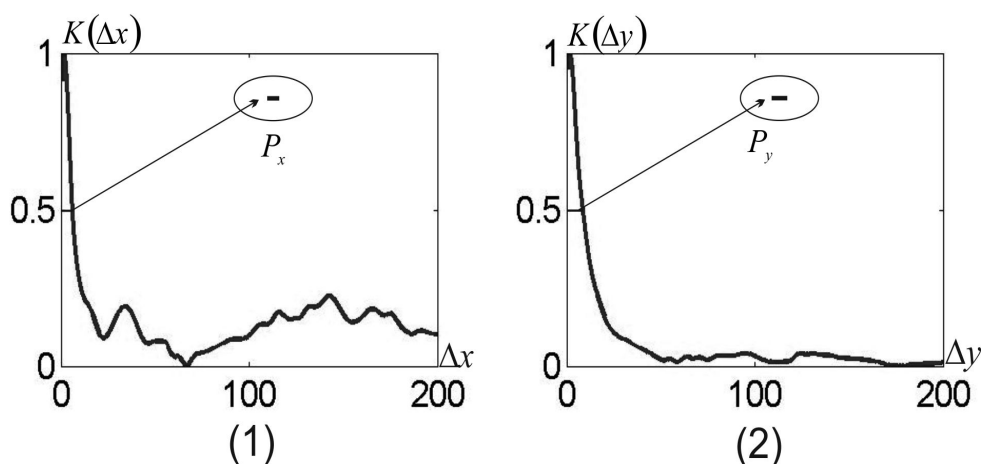
Порівняльний аналіз одержаних даних виявив суттєві відмінності між конфігураціями К-контурів оптично-анізотропних сіток (рис. 4.10 – **об'єкт III** і рис. 4.15 – **об'єкт IV**).

Кореляційний К-контур мережі циліндрів з колоподібними оптичними осями та координатною модуляцією параметрів анізотропії являє собою замкнену криву (рис. 4.15). Така замкнена топографічна структура обумовлена більш швидким спаданням власних значень двовимірної автокореляційної функції  $K(W, x, y)$  (рис. 4.14) у порівнянні з аналогічною залежністю, що обчислена для двовимірного розподілу значень модуля КСВА **об'єкту III** (рис. 4.12).

Залежності автокореляційних функцій  $K_i(\Delta x), K_j(\Delta y)$ , визначених у ортогональних напрямках сканування для **об'єкту IV** (рис. 4.16), більш складні, ніж аналогічні функції, обчислені для розподілів значень модуля КСВА **об'єкту III** (рис. 4.11).



**Рис. 4.16.** Кроскореляційні функції  $K_i(\Delta x), K_j(\Delta y)$  координатного розподілу значень модуля КСВА  $W(x, y)$  мережі циліндрів з колоподібними осями та гармонічною фазовою модуляцією - **об'єкт IV**



**Рис. 4.17.** До визначення півосей кореляційного К-контуру координатного розподілу модуля КСВА  $W(x, y)$  мережі прямолінійних циліндрів з гармонічною фазовою модуляцією - **об'єкт IV**



Установлено, що коефіцієнт асиметрії  $\xi$  (співвідношення (4.14)) кореляційного К-контурну сітки циліндрів з колоподібними оптичними осями (рис. 4.17) у 1,85 разів менший, ніж аналогічний параметр, визначений для впорядкованої за напрямками оптичних осей мережі (рис. 4.12).

Таким чином, шляхом комп'ютерного моделювання топографічної будови К-контурів ми продемонстрували можливість диференціації орієнтаційно-фазової структури полікристалічних мереж з використанням кроскореляційного підходу, базується на визначеному взаємозв'язку між "одноточковими" азимутально-незалежними і "двоточковими" КСВА-методами картографування таких об'єктів.

Виходячи з цього впливає актуальне завдання експериментальної апробації такого кореляційного підходу, визначення його можливостей у розділенні проявів оптичної анізотропії реальних полікристалічних структур гістологічних зрізів біологічних тканин і плівок біологічних рідин.

#### **4.7. Кореляційні К-контури полікристалічних мереж реальних біологічних тканин і плівок біологічних рідин**

З метою проведення порівняльного аналізу інформаційної ефективності "К-контурного" аналізу та методів азимутально-інваріантної поляризаційної мікроскопії об'єктами експериментального дослідження було обрано спільні групи оптично-тонких біологічних шарів (розділ 3, параграфи 3.2, 3.3).

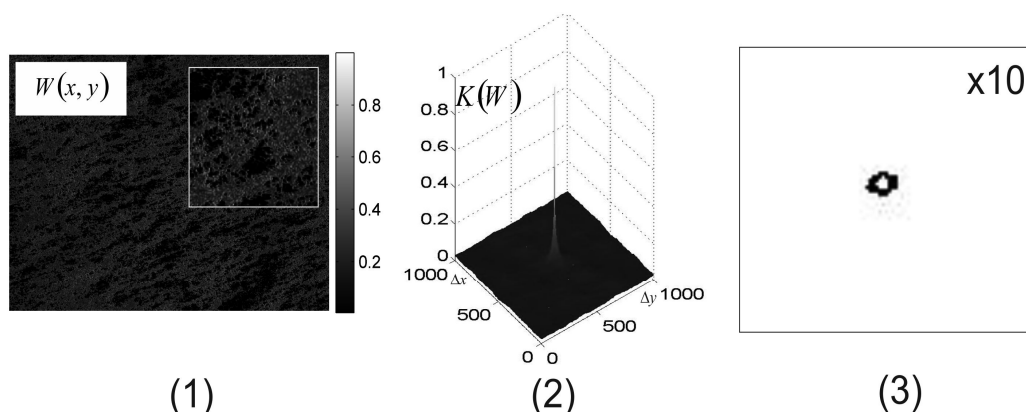
У рамках *"фундаментального аналізу"* досліджувалися гістологічні зрізи міокарду та полікристалічна плівка ліквору. У межах *"прикладного аналізу"* – біопсія доброякісних і злоякісних пухлин стінки матки, полікристалічні плівки жовчі та випоту органів з різною патологією.

##### **4.7.1. "Фундаментальний аналіз"**

Результати застосування методу кроскореляційного аналізу проявів оптичної анізотропії просторово впорядкованої фібрилярної

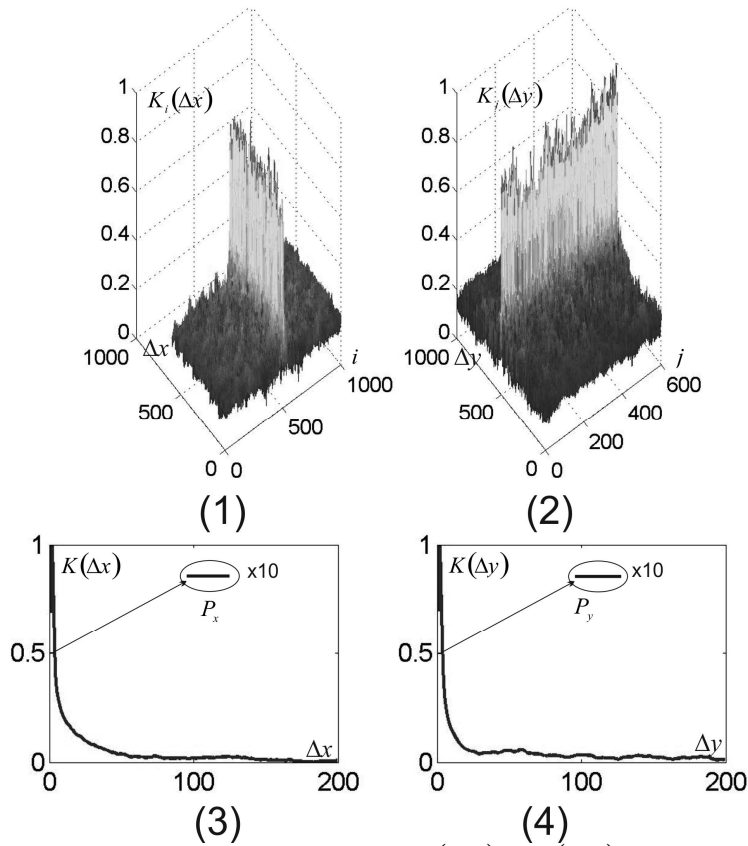
мережі біологічної тканини на прикладі гістологічного зрізу міокарду наведено на серії залежностей рис. 4.18 і рис. 4.19.

Аналогічні дані про кореляційну структуру полікристалічної мережі іншого типу – планарна полікристалічна плівка біохімічних молекул ліквору – ілюструють рис. 4.20 і рис. 4.21.

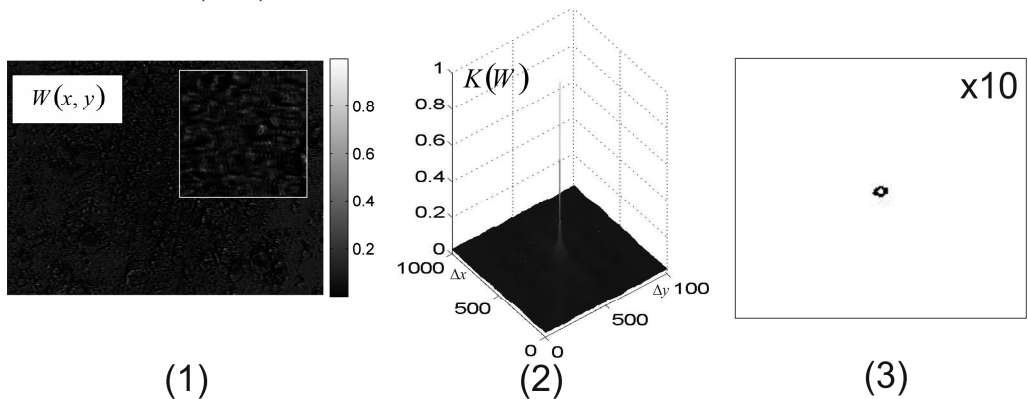


**Рис. 4.18.** Координатний розподіл значень  $W(x, y)$  (фрагмент (1)), двовимірна автокореляційна функція  $K(W, x, y)$  (фрагмент (2)) та кореляційний К-контур (фрагмент (3)) гістологічного зрізу міокарду

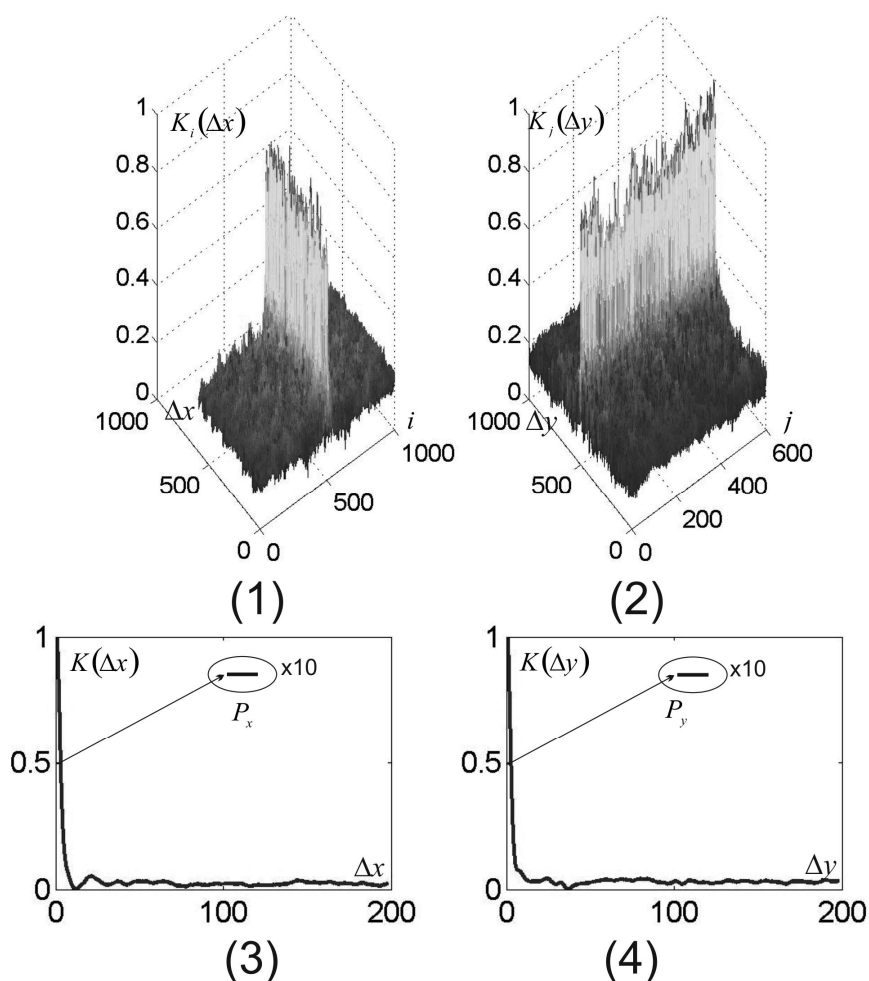
Аналіз експериментально виміряних авто- (рис. 4.18, рис. 4.20) і кроскореляційних функцій (рис. 4.19, рис. 4.21) масиву значень КСВА  $W(x, y)$  полікристалічних структур гістологічного зрізу міокарду (рис. 4.18, рис. 4.19) і плівки ліквору (рис. 4.20 рис. 4.21) виявив суттєве зменшення осциляцій і більш швидке спадання залежностей  $K(W, x, y)$  і  $K_i(\Delta x), K_j(\Delta y)$  у порівнянні з теоретично обчисленими функціями, що характеризують оптичну анізотропію об'єкту III і об'єкту IV).



**Рис. 4.19.** Кроскореляційні функції  $K_i(\Delta x), K_j(\Delta y)$  (фрагменти (1),(2)) та середньостатистичні ортогональні розміри К-контур (фрагмент (3)) розподілу  $W(x, y)$  гістологічного зрізу міокарду



**Рис. 4.20.** Координатний розподіл значень  $W(x, y)$  (фрагмент (1)), двовимірна автокореляційна функція  $K(W, x, y)$  (фрагмент (2)) та кореляційний К-контур (фрагмент (3)) полікристалічної плівки ліквору



**Рис. 4.21.** Кроскореляційні функції  $K_i(\Delta x), K_j(\Delta y)$  (фрагменти (1),(2)) та середньостатистичні ортогональні розміри К-контуру (фрагмент (3)) розподілу  $W(x, y)$  полікристалічної плівки ліквору

Фізично такий факт можна пояснити суттєво більшим масивом усереднення за розподілами випадкових значень параметрів анізотропії  $\gamma, \phi, \theta$  реальних біологічних кристалів (розділ 3, параграф 3.1, співвідношення (3.1)-(3.6)) при обчисленні кожного конкретного значення кореляційних залежностей  $K(W, x, y)$  і  $K_i(\Delta x), K_j(\Delta y)$ .

Проте, результати кроскореляційного аналізу визначені, як шляхом комп'ютерного моделювання (рис. 4.10– рис. 4.17), так і експериментально (рис. 4.18– рис. 4.21) мають спільні тенденції.

По-перше, - асиметрія топографічної будови К-контурів, які характеризують полікристалічні мережі віртуальних і реальних біологічних шарів усіх типів.

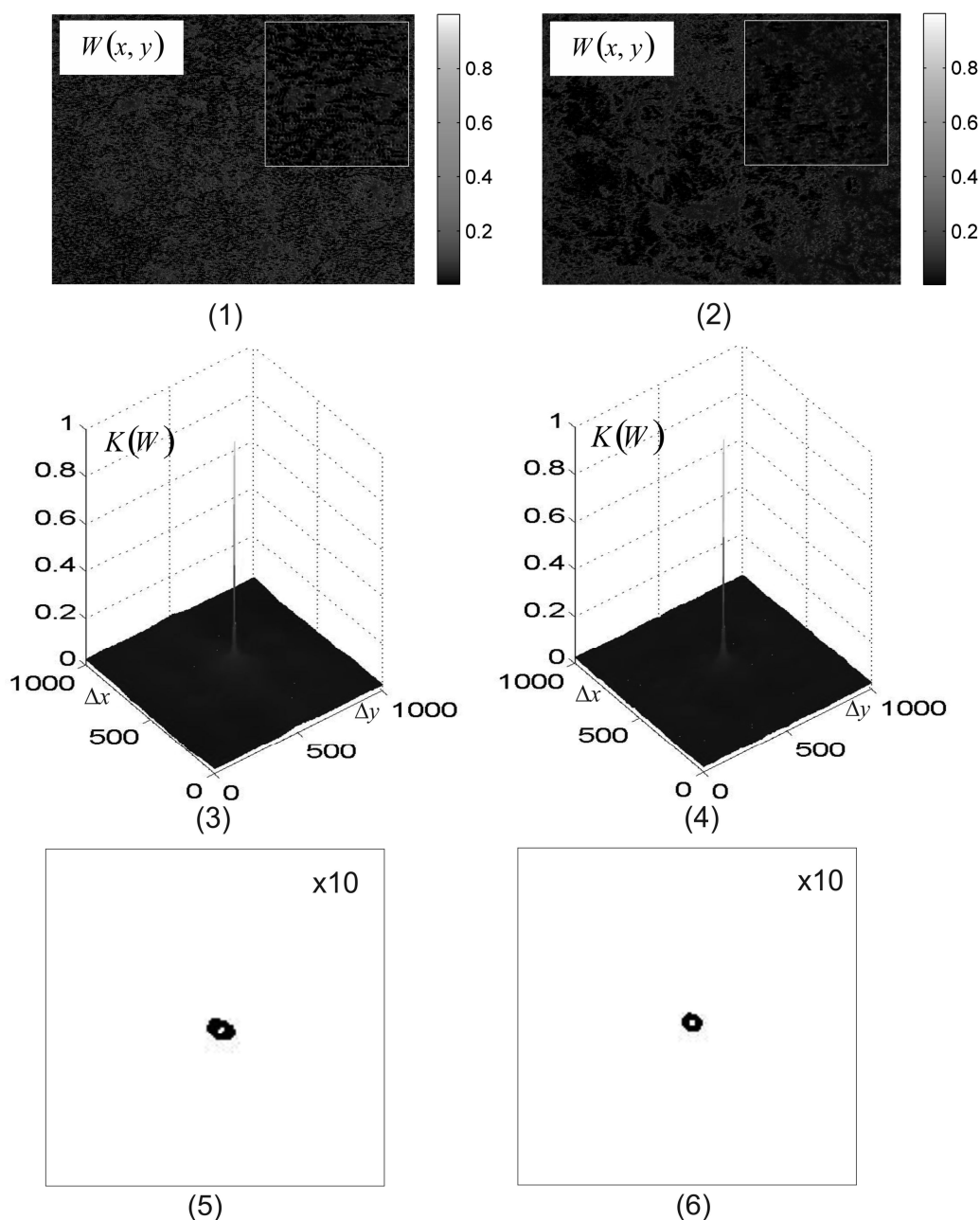
По-друге, - більш швидке спадання авто-  $K(W, x, y)$  і крос-  $K_i(\Delta x), K_j(\Delta y)$  кореляційних залежностей, що характеризують оптичну анізотропію планарних сіток **об'єкту IV** (рис. 4.14, рис. 4.16 і рис. 4.17) і плівки ліквору (рис. 4.20, рис. 4.21) у порівнянні з аналогічними залежностями, обчисленими для **об'єкту III** (рис. 4.11, рис. 4.13, рис. 4.14) і шару міокарду (рис. 4.18, рис. 4.19). Даний факт можна пов'язати із дрібномасштабною модуляцією параметрів анізотропії  $(\gamma, \phi, \theta)$  таких об'єктів.

По-третє, - коефіцієнт асиметрії К-контурів розподілів значень КСВА впорядкованих за орієнтаціями оптичних осей мереж біологічних кристалів **об'єкту III** (рис. 4.12) і гістологічного зрізу міокарду (рис. 4.19) вищий у 1,85 рази ніж аналогічний кореляційний параметр розупорядкованих мереж **об'єкту IV** (рис. 4.17) і біологічних кристалів плівки ліквору (рис. 4.21).

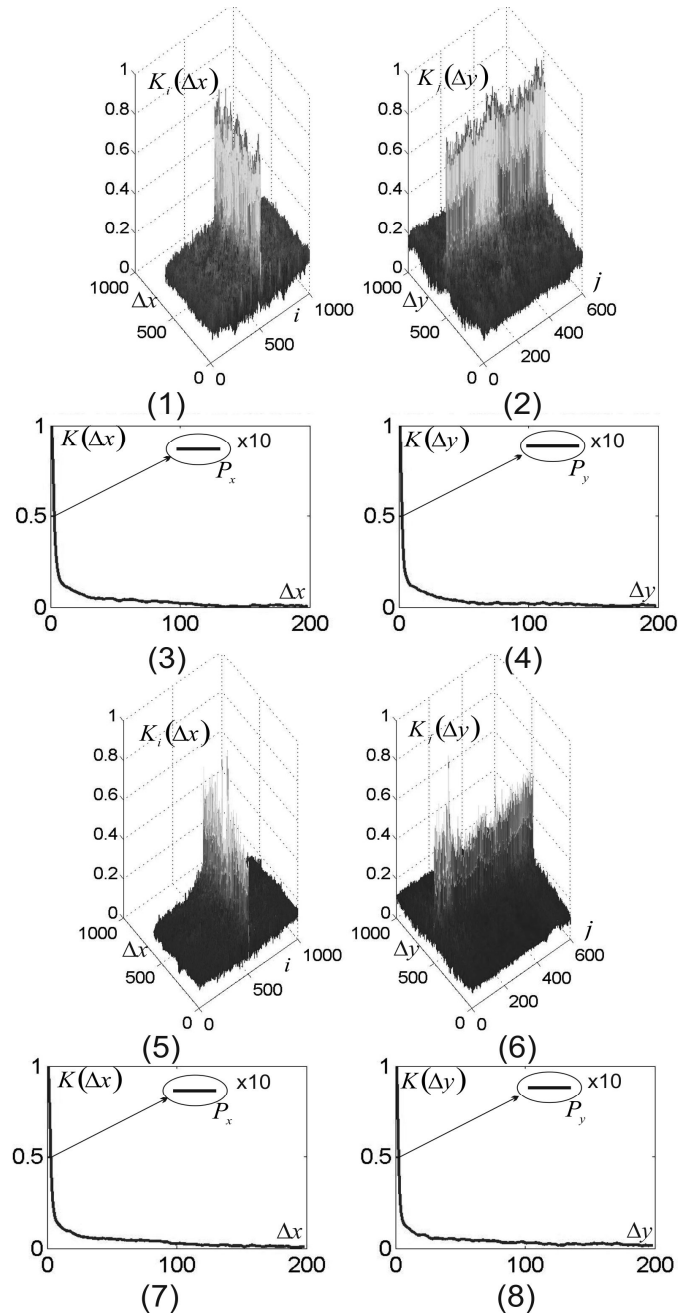
Виявлені закономірності і тенденції було покладено в основу дослідження можливостей кроскореляційного аналізу процесів зміни оптичної анізотропії, обумовлених виникненням або наявністю патології органів організму людини.

#### 4.7.2. "Прикладний аналіз"

Результати застосування методу кроскореляційного аналізу змін оптичної анізотропії фібрилярних мереж гістологічних зрізів фіброміоми та аденокарциноми стінки матки наведено на серії залежностей рис. 4.22 і рис. 4.23.

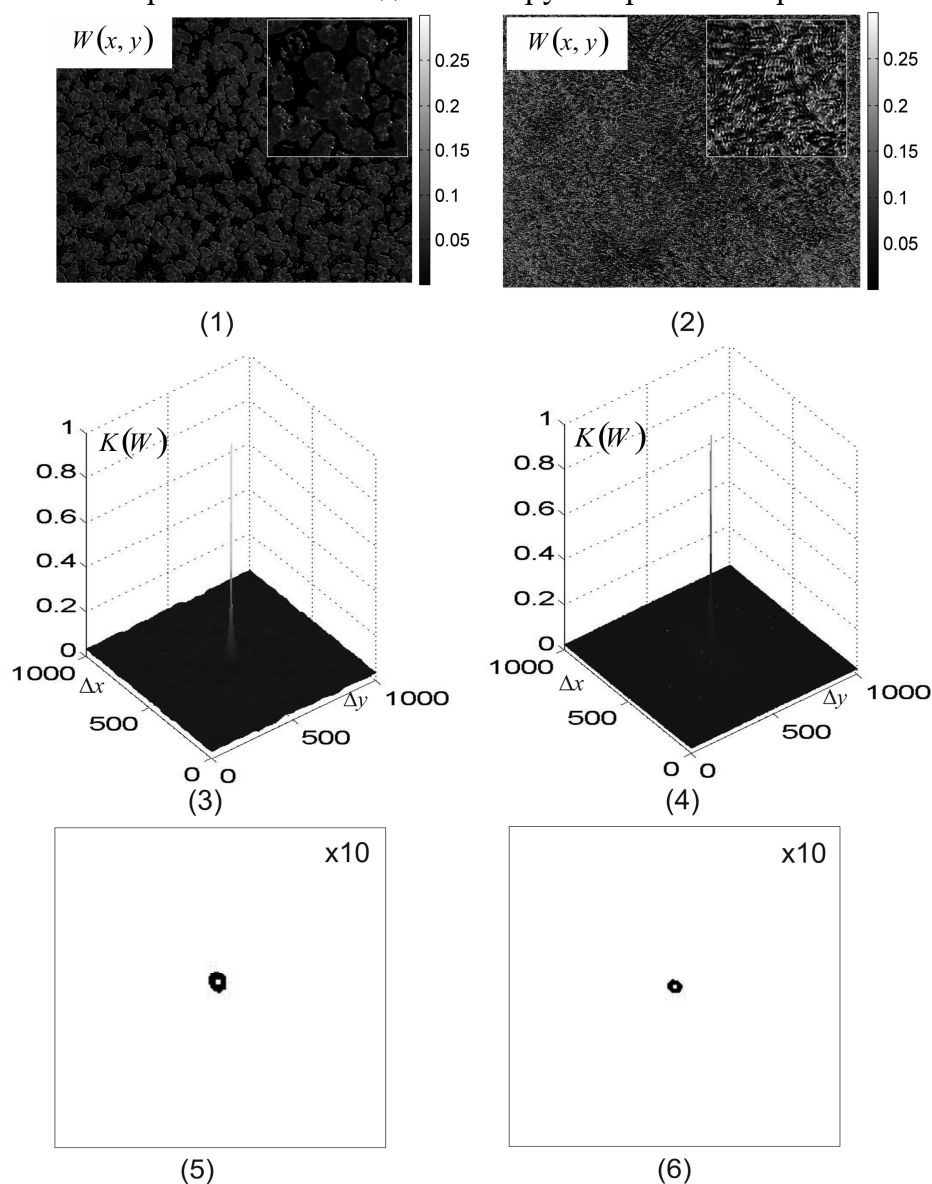


**Рис. 4.22.** Координатні розподіли значень  $W(x, y)$  (фрагменти (1),(2)), двовимірні автокореляційні функції  $K(W, x, y)$  (фрагменти (3),(4)) та кореляційні К-контури (фрагменти (5),(6)) гістологічних зрізів біопсії фіброміоми (фрагменти (1),(3),(5)) і аденокарциноми (фрагменти (2),(4),(6))



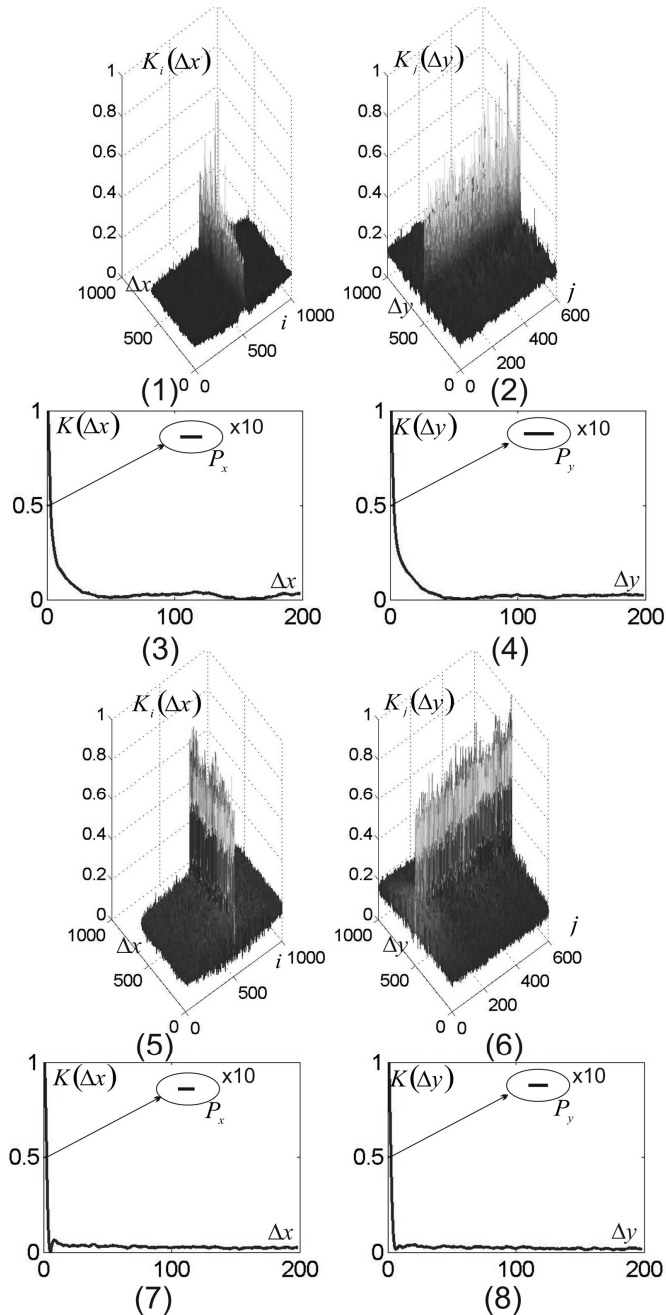
**Рис. 4.23.** Кроскореляційні функції  $K_i(\Delta x), K_j(\Delta y)$  (фрагменти (1) - (8)) та середньостатистичні ортогональні розміри К-контурів (фрагмент (9),(10)) розподілів значень  $W(x, y)$  гістологічних зрізів біопсії фіброміоми (фрагменти (1),(2),(5),(6),(9)) і аденокарциноми (фрагменти (3),(4),(7),(8),(10))

Аналогічні дані про кореляційну структуру розподілів параметрів фазової анізотропії полікристалічної мережі плівок жовчі здорових і хворих на ЖКХ людей ілюструють рис. 4.24 і рис. 4.25.



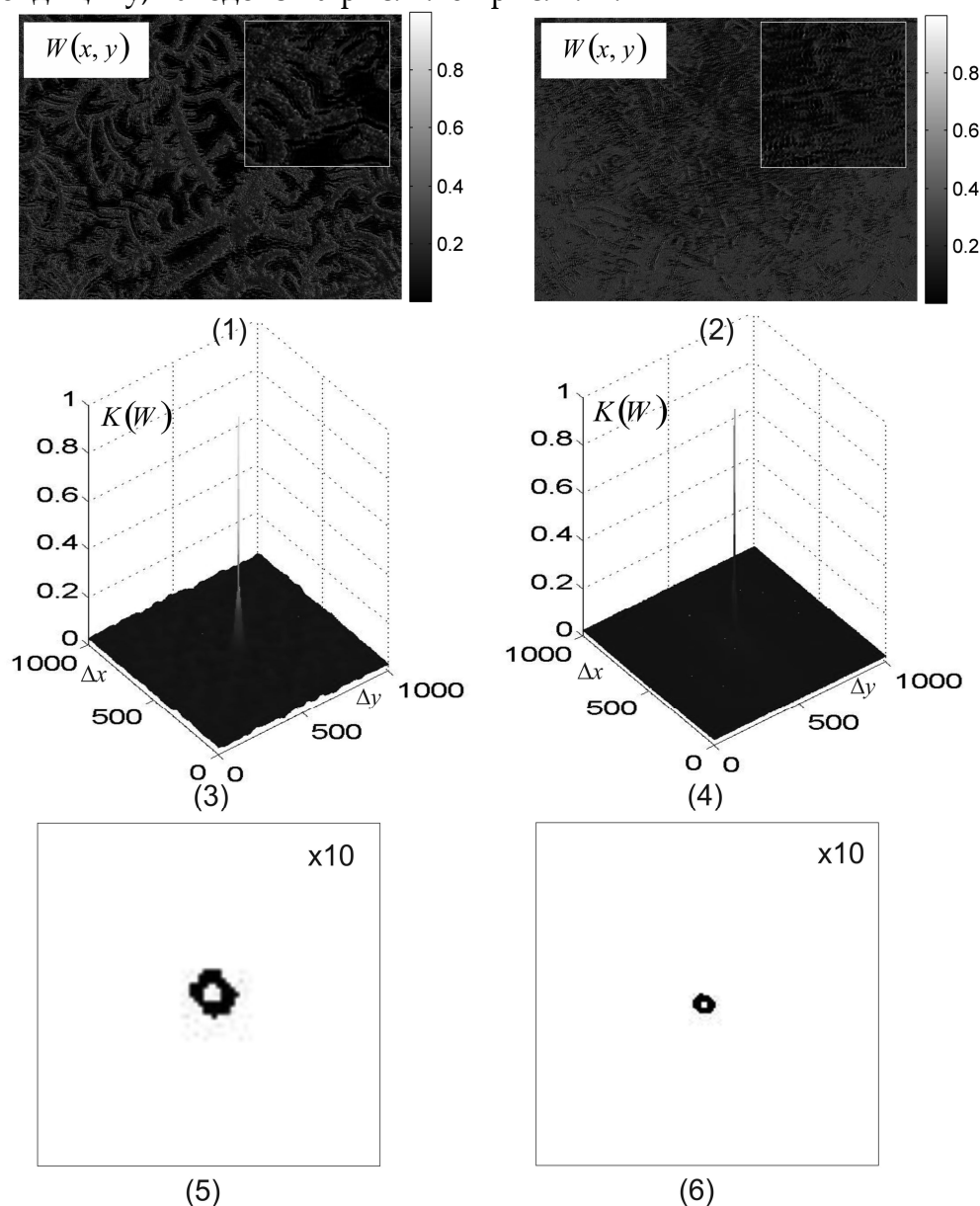
**Рис. 4.24.** Координатні розподіли значень  $W(x, y)$  (фрагменти (1),(2)), двовимірні автокореляційні функції  $K(W, x, y)$  (фрагменти (3),(4)) та кореляційні К-контури (фрагменти (5),(6)) полікристалічних плівок жовчі донорів (фрагменти (1),(3),(5)) і хворих на ЖКХ (фрагменти (2),(4),(6))



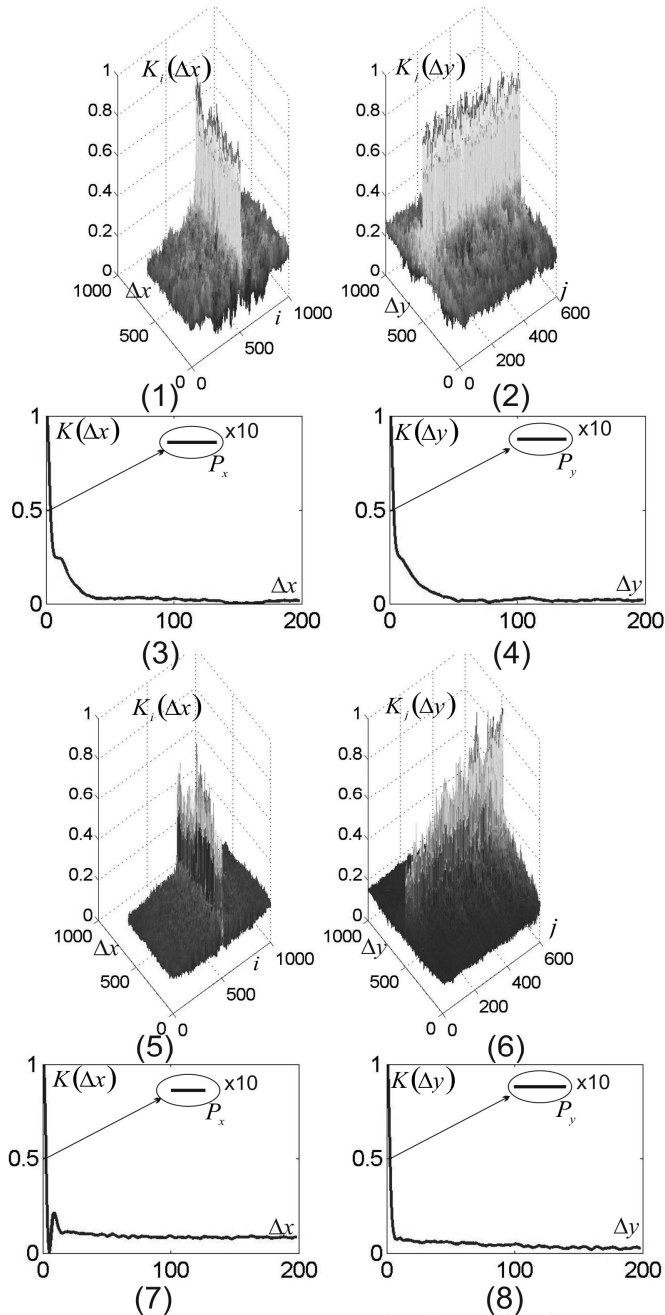


**Рис. 4.25.** Кроскореляційні функції  $K_i(\Delta x), K_j(\Delta y)$  (фрагменти (1) - (8)) та середньостатистичні ортогональні розміри К-контурів (фрагмент (9),(10)) розподілів  $W(x, y)$  полікристалічних плівок жовчі донорів (фрагменти (1),(2),(5),(6),(9)) і хворих на ЖКХ (фрагменти (3),(4),(7),(8),(10))

Кореляційні залежності, що характеризують зміни оптичної анізотропії полікристалічних плівок випоту гострого та серозного апендициту, наведено на рис. 4.26 і рис. 4.27.



**Рис. 4.26.** Координатні розподіли значень  $W(x, y)$  (фрагменти (1),(2)), двовимірні автокореляційні функції  $K(W, x, y)$  (фрагменти (3),(4)) та кореляційні К-контури (фрагменти (5),(6)) полікристалічних плівок випоту гострого (фрагменти (1),(3),(5)) і і серозного апендициту (фрагменти (2),(4),(6))



**Рис. 4.27.** Кроскореляційні функції  $K_i(\Delta x), K_j(\Delta y)$  (фрагменти (1) - (8)) та середньостатистичні ортогональні розміри К-контурів (фрагмент (9),(10)) розподілів значень  $W(x, y)$  полікристалічних плівок випоту гострого (фрагменти (1),(2),(5),(6),(9)) і серозного апендициту (фрагменти (3),(4),(7),(8),(10))

З одержаних даних видно, що коефіцієнт асиметрії (розділ 2, параграф 2.2.2) кореляційних контурів координатних розподілів значень модуля КСВА гістологічних зрізів доброякісно та злоякісно зміненої тканини стінки матки, а також плівок біологічних рідин різний.

Для гістологічного зрізу біопсії доброякісної пухлини фіброміоми К-контур асиметричний за рахунок наявності напрямків зростання двопротинезаломлюючих фібрил. Для аналогічного зразку ракової пухлини асиметрія кореляційного К-контур зменшується  $\xi \rightarrow 1$ .

З фізичної точки зору таку трансформацію проявів оптичної анізотропії можна пов'язати з наступними факторами. Для зразка аденокарциноми притаманна більша концентрація білкових молекул, які формують "великомасштабні" достатньо рівномірно за напрямками укладання в об'ємі гістологічного зрізу розподілені паростки пухлини. За рахунок цього зростає фазова анізотропія (розділ 3, параграф 3.1, співвідношення (3.1)-(3.12)) новоутвореної фібрилярної сітки. Це, в свою чергу, призводить до розширення співрозмірного до доброякісного стану діапазону зміни значень модуля КСВА. Тому півширини відповідних кроскореляційних функцій також співрозмірні. За рахунок цього коефіцієнт асиметрії кореляційного К-контур, який характеризує полікристалічну фібрилярну мережу зразку аденокарциноми,  $\xi \rightarrow 1$ .

Аналогічні, хоча і менш виразні, тенденції виявлено і у результаті кроскореляційного аналізу координатних розподілів значень модуля КСВА, що характеризує зміни полікристалічної будови плівок біологічних рідин внаслідок наявності тієї чи іншої патології.

Зокрема, для хворих на ЖКХ, коефіцієнт асиметрії кореляційного К-контур полікристалічних плівок жовчі зменшується у 1,15 рази (рис. 4.26, рис. 4.27). Для зразків плівок випоту гострого та серозного апендициту величина подібної зміни складає 1,21 рази (рис. 4.26, рис. 4.27).

Кількісно відмінності середньостатистичних розмірів кореляційних К-контурів двовірних розподілів значень КСВА та інформаційні можливості кроскореляційного аналізу ілюструють дані, що наведені у таблиці 4.5.

**Таблиця 4.5.** Коефіцієнт асиметрії  $\xi$  кореляційних К-контурів, які характеризують координатні розподіли  $W(x, y)$  біологічних шарів

Патологія		$Ac, \%$
фіброміома	аденокарцинома	80%
$\xi = 1,25 \pm 0,11$	$\xi = 1,05 \pm 0,094$	
норма	ЖКХ	74%
$\xi = 1,47 \pm 0,12$	$\xi = 1,13 \pm 0,11$	
гострий апендицит	серозний апендицит	71%
$\xi = 1,11 \pm 0,094$	$\xi = 1,04 \pm 0,082$	

Установлено, що збалансована точність даного кроскореляційного методу для гістологічних зрізів біологічних тканин відповідає хорошему рівню діагностичного тесту  $Ac = 80\%$ . Для плівок біологічних рідин такий рівень задовільний -  $Ac = 71\% - 74\%$ .

Якщо співставити одержані результати (таблиця 4.5) з інформаційними можливостями методів азимутально-незалежного поляризаційного (таблиці 3.5, 3.6 -  $Ac = 70\% - 75\%$ ); мюллер-матричного (таблиці 3.8, 3.9 -  $Ac = 75\% - 85\%$ ) картографування, а також методами КСВА-картографування (таблиці 4.3, 4.4 -  $Ac = 85\% - 90\%$ ), то можна констатувати:

- достатню діагностичну ефективність методу визначення К-контурів у завданні диференціації проявів оптичної анізотропії фібрилярних мереж сформованих доброякісних і злоякісних пухлин -  $Ac = 80\%$ ;
- більш високий рівень збалансованої точності ( $Ac = 71\% - 74\%$ ) даного поляризаційно-кореляційного методу у диференціації полікристалічних плівок біологічних рідин у порівнянні з азимутально-інваріантними методами поляризаційної мікроскопії.

Головною перевагою і відзнакою даного методу є достатній (достовірний) рівень статистичного усереднення за рахунок кроскореляційного аналізу проявів оптичної анізотропії полікристалічних мереж біологічних шарів.

Окрім цього, визначення кореляційних К-контурів дозволяє встановити взаємозв'язок між інформаційними можливостями (збалансованою точністю) методів азимутально-незалежного поляризаційного та мюллер-матричного картографування, а також поляризаційно-кореляційними методами КСВА- картографування. У цьому сенсі такий підхід являє собою "спільний" знаменник поляризаційної та поляризаційно-кореляційної мікроскопії, що визначає достовірність одержаної інформації. Виходячи з цього, впливає актуальність подальшого поглибленого системного багатопараметричного аналізу процесів і закономірностей зміни оптичної анізотропії у більш складних випадках, коли необхідні:

- діагностика проявів оптичної анізотропії біологічних тканин на ранніх (до пухлинних) формах раку;
- виявлення та диференціація передракових (доброякісних) змін полікристалічних структур біологічних тканин органів людини;
- опосередкована диференціальна діагностика типу і ступеня важкості патології на основі "одноточкового" і "двоточкового" детектування параметрів фазової анізотропії полікристалічних плівок біологічних рідин.

Для розв'язання таких фундаментальних і прикладних завдань об'єктивно актуальним є підвищення чутливості шляхом розробки низки нових методик експериментальних досліджень та алгоритмів обробки одержаних даних.

#### 4.8. Висновки до розділу 4:

1. На основі кореляційного підходу до описання поляризаційно-неоднорідних лазерних полів розроблено оригінальний метод аналізу полікристалічних оптично-анізотропних мереж гістологічних зрізів біологічних тканин і плівок біологічних рідин шляхом використання нового поляризаційно-кореляційного параметру – комплексного ступеня взаємної анізотропії (КСВА), що характеризує ступінь узгодженості параметрів фазової анізотропії різних точок біологічного шару. Одержано аналітичний вигляд КСВА, визначено його фізичний зміст та діапазони зміни відносних значень модуля КСВА у

- залежності від зміни двопротенезаломлення та оптичної активності.
2. Розроблена методика визначення координатних розподілів значень модуля КСВА оптично-тонких біологічних шарів на основі застосування матричного формалізму описання фазової анізотропії з наступним експериментальним вимірюванням дійсної та уявної складової матричних елементів та покроковим скануванням одержаних двомірних масивів.
  3. Проведене комп'ютерне моделювання взаємозв'язків між розподілами значень КСВА та розподілами напрямів оптичних осей, фазових зсувів, які вносяться планарними оптично-анізотропними мережами циліндрів з прямолінійними та колоподібними оптичними осями. Установлені найбільш чутливі до змін оптичної анізотропії об'єктивні параметри – статистичні моменти 2-го і 4-го порядків, які характеризують розподіли значень модуля КСВА, та кореляційний момент 4-го порядку, який характеризує гостроту піку автокореляційних функцій таких розподілів.
  4. Експериментально досліджено статистичну (статистичні моменти 1-го – 4-го порядків), кореляційну (автокореляційні функції) і фрактальну (логарифмічні залежності спектрів потужності) структуру розподілів значень модуля КСВА просторово-структурованих фібрилярних мереж гістологічних зрізів біологічних тканин і планарних полікристалічних плівок біологічних рідин. Установлена кореляція між даними аналітичного моделювання двомірних КСВА-мап і результатами їх експериментальних вимірювань для різноманітних оптично-тонких біологічних шарів.
  5. Експериментальна апробація методу КСВА–картографування у диференціації проявів оптичної анізотропії гістологічних зрізів біопсії доброякісних і злоякісних пухлин стінки матки виявила найбільш чутливі параметри - статистичні моменти  $M_3$ ,  $M_4$ , які характеризують координатні розподіли значень КСВА, та кореляційний момент  $M_4^K$ , який визначає гостроту піку автокореляційної функції таких розподілів. Досягнуто максимально високий рівень збалансованої точності

діагностичного тесту на основі використання зазначених параметрів -  $Ac(W) = 86\% - 90\%$ . Такий результат вищий за точність азимутально-незалежного “одноточкового” поляризаційного та мюллер-матричного інваріантного картографування змін оптичної анізотропії полікристалічних мереж гістологічних зрізів біологічних тканин.

6. Установлено взаємозв'язки між змінами оптичної анізотропії полікристалічних плівок біологічних рідин організму людини з різною нозологією (жовч – “норма - ЖКХ”; випіт “гострий – серозний апендицит”) та величинами статистичних  $M_3$ ,  $M_4$ , і кореляційних  $M_4^K$  моментів, які характеризують координатні розподіли ЗНАЧЕНЬ КСВА. Для розглянутих груп планарних полікристалічних об'єктів діагностична інформативність КСВА-картографування набуває максимального рівня збалансованої точності -  $Ac(W) = 75\% - 85\%$ .
7. Аналітично обґрунтовано взаємозв'язок між поляризаційною та поляризаційно-кореляційною мікроскопією оптично-тонких біологічних шарів шляхом визначення кореляційного К-контуру на рівні півширини двовірної автокореляційної функції координатного розподілу значень модуля КСВА полікристалічної мережі.
8. З метою визначення середньостатистичних розмірів кореляційного К-контуру розроблено метод кроскореляційного аналізу КСВА-мап оптично-анізотропних біологічних шарів, введено новий кількісний параметр – коефіцієнт асиметрії К-контуру та проведено комп'ютерне моделювання даного параметру для різних типів координатних розподілів напрямів оптичних осей та фазових зсувів, які вносяться планарними мережами циліндрів з прямолінійними і колоподібними оптичними осями.
9. Експериментальна апробація методики визначення кореляційного К-контуру розподілів значень модуля КСВА гістологічних зрізів біологічних тканин і плівок біологічних рідин виявила достатню діагностичну ефективність методу у завданні диференціації проявів оптичної анізотропії фібрилярних мереж сформованих доброякісних і злоякісних



пухлин -  $Ac = 80 - 85\%$ , а також більш високий рівень збалансованої точності ( $Ac = 70 - 75\%$ ) даного поляризаційно-кореляційного методу у диференціації полікристалічних плівок біологічних рідин у порівнянні з азимутально інваріантними методами поляризаційної мікроскопії.

Матеріали розділу викладено у роботах [238], [242], [243], [247], [252], [254], [258], [260], [262], [283].

## Розділ 5

### ДИФЕРЕНЦІАЛЬНА ПОЛЯРИЗАЦІЙНА ТА ПОЛЯРИЗАЦІЙНО-КОРЕЛЯЦІЙНА МІКРОСКОПІЯ ОПТИЧНО-АНІЗОТРОПНИХ БІОЛОГІЧНИХ ШАРІВ

Даний розділ містить результати:

1. Обґрунтування аналітичних можливостей застосування вейвлет-аналізу азимутально-незалежних координатних розподілів значень параметрів багатофункціональної поляризаційної мікроскопії оптично-анізотропних мереж гістологічних зрізів біологічних тканин і полікристалічних плівок біологічних рідин.
2. Застосування вейвлет-аналізу розподілів значень поляризаційних параметрів (азимута та еліптичності поляризації) і мюллер-матричних інваріантів, які характеризують лінійне та циркулярне двопротинезаломлення фібрилярної сітки міокарду та планарної мережі біохімічних кристалів полікристалічної плівки ліквору.
3. Виявлення можливостей ранньої діагностики та диференціації ступеня важкості передракових станів тканини шийки матки, а також диференціація типу і важкості запального процесу колінного суглоба людини на основі визначених взаємозв'язків між статистичними моментами 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли амплітуд вейвлет-коефіцієнтів на різних масштабах МНАТ-функції та розподіли параметрів, які описують фазову анізотропію біологічних шарів.
4. Діагностичної ефективності методу поляризаційно-фазової та просторово-частотної фільтрації мікроскопічних зображень полікристалічних плівок біологічних рідин - (плазма крові - передракові стани; синовіальна рідина – запалення колінного суглоба; жовчі – наявність ЖКХ; випіт – гострий і серозний апендицит).
5. Обґрунтування діагностичної ефективності методу просторово-частотної фільтрації КСВА-мап, які характеризують прояви лінійного та циркулярного двопротинезаломлення різних точок фібрилярних мереж передракових станів шийки матки.

## 5.1. Вейвлет-аналіз розподілів значень азимутально-незалежних поляризаційних і мюллер-матричних зображень оптично-анізотропних мереж біологічних тканин і полікристалічних плівок біологічних рідин

### 5.1.1. Коротка теорія вейвлет-аналізу

Серед основних способів локального оцінювання координатних розподілів  $q = \left\{ \alpha(x, y); \beta(x, y); f_{44}(x, y); \Delta f(x, y); \right\}$  є вейвлет-аналіз [22]. Такий метод

використовувався у дослідженнях двовірної структури поляризаційних мап полікристалічних плівок плазми крові [168, 174].

У рамках мюллер-матричного формалізму на різних масштабах геометричних розмірів протеїнових фібрил вивчалися координатні розподіли значень матричних елементів, які характеризують оптичну анізотропію полікристалічних мереж біологічних шарів [8].

Одержані результати продемонстрували високу чутливість вейвлет-аналізу до зміни значень параметрів (напрями оптичних осей та фазові зсуви між ортогональними складовими амплітуди лазерного випромінювання), які описують фазову анізотропію мереж протеїнових кристалів.

Разом з тим, одержані результати виявилися азимутально-залежними від обертання площини зразка відносно напрямку опромінення і, тому погано відтворюваними. Виходячи з цього, для розвитку вейвлет-аналізу підходу необхідно системне вивчення можливостей даного методу в аналізі азимутально-незалежних поляризаційних мап і мюллер-матричних інваріантів (розділ 3, параграфи 3.3, 3.4), які характеризують полікристалічну структуру гістологічних зрізів біологічних тканин і полікристалічних плівок біологічних рідин.

Короткі дані про теоретичні засади вейвлет-аналізу таких розподілів  $q = \left\{ \alpha(x, y); \beta(x, y); f_{44}(x, y); \Delta f(x, y); \right\}$  наведено у розділі 2, параграф 2.5.

Застосування такого аналізу дозволяє селективно (роздільно) вивчати закономірності розподілів значень  $q$  у певному, наперед

визначеному, діапазоні зміни геометричних розмірів структури полікристалічної мережі [174].

Локально-масштабований аналіз здійснювався шляхом сканування (по лінійних рядках двовимірної сукупності пікселів  $(m \times n)$  CCD – камери в напрямку  $x$  від 0 до  $n$  пікселів з кроком  $b$  МНАТ – функцією, розміри вікна  $a$  якої змінюються у необхідному, наперед заданому, діапазоні геометричних розмірів. Результатом є обчислення сукупності вейвлет-коефіцієнтів

$$Q_{a,b} = \begin{pmatrix} Q(a_{\min}, b_1) & \cdot & \cdot & Q(a_{\min}, b = m) \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ Q(a_{\max}, b_1) & \cdot & \cdot & Q(a_{\max}, b = m) \end{pmatrix} \quad \text{для кожного рядка } (kl; \dots km)$$

пікселів цифрової камери.

Така множина  $Q_{a,b}(m \times n)$  усереднюється за наступним алгоритмом

$$\bar{Q}_{a,b} = \begin{pmatrix} \bar{Q}(a_{\min}, b_1) = \frac{\sum_{j=1}^m Q_j(a_{\min}, b_1)}{m}; & \cdot & \cdot & \bar{Q}(a_{\min}, b = m) = \frac{\sum_{j=1}^m Q_j(a_{\min}, b_1 = m)}{m}; \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \bar{Q}(a_{\max}, b_1) = \frac{\sum_{j=1}^m Q_j(a_{\max}, b_1)}{m}; & \cdot & \cdot & \bar{Q}(a_{\max}, b = m) = \frac{\sum_{j=1}^m Q_j(a_{\max}, b_1 = m)}{m}. \end{pmatrix} \quad (5.1)$$

Алгоритм (5.1) є аналогом двомірного вейвлет-перетворення, що характеризує координатні розподіли значень  $q = \left\{ \alpha(x, y); \beta(x, y); \right. \\ \left. f_{44}(x, y); \Delta f(x, y) \right\}$ .

### 5.1.2. Вейвлет-аналіз поляризаційних мап і мюллер-матричних зображень просторово-структурованої фібрилярної мережі гістологічного зрізу міокарда

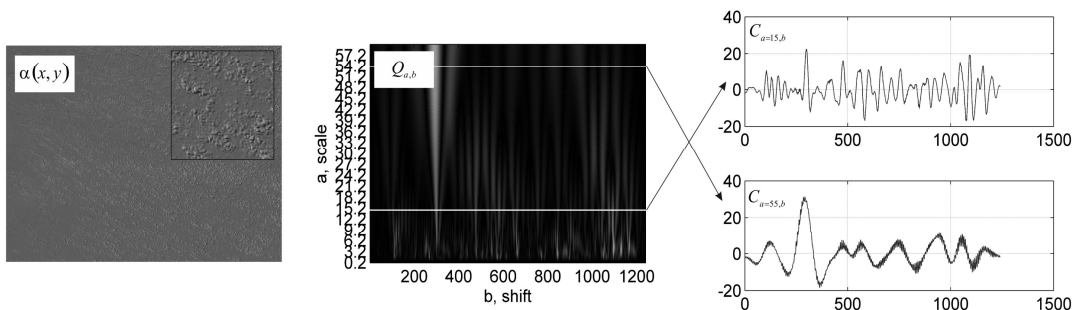
На першому етапі у рамках “фундаментального аналізу” багатомірної поляризаційної мікроскопії досліджувалися “різномасштабні” прояви фазової анізотропії просторово впорядкованої мережі міозинових фібрил гістологічного зрізу міокарда.

Результати досліджень розподілів значень  $q = \left\{ \begin{matrix} \alpha(x, y); \beta(x, y); \\ f_{44}(x, y); \Delta f(x, y) \end{matrix} \right\}$

наведені в серії рис. 5.1 – рис. 5.4.

Кожен з таких рисунків складається з трьох основних фрагментів:

- поляризаційні мапи та мюллер-матричні зображення  $\left\{ \begin{matrix} \alpha(x, y); \beta(x, y) \\ f_{44}(x, y); \Delta f(x, y) \end{matrix} \right\}$  (розділ 3, параграфи 3.3, 3.4);
- двомірні розподіли значень вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b} \left\{ \begin{matrix} \alpha(x, y); \beta(x, y); \\ f_{44}(x, y); \Delta f(x, y) \end{matrix} \right\}$  (співвідношення (5.1));
- лінійні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  вейвлет-мапи  $Q_{a,b}$  на масштабах МНАТ – функції  $a = 15$  та  $a = 55$ .



**Рис. 5.1.** Двомірні розподіли значень азимута поляризації  $\alpha(x, y)$ , вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  для мікроскопічного зображення гістологічного зрізу міокарда

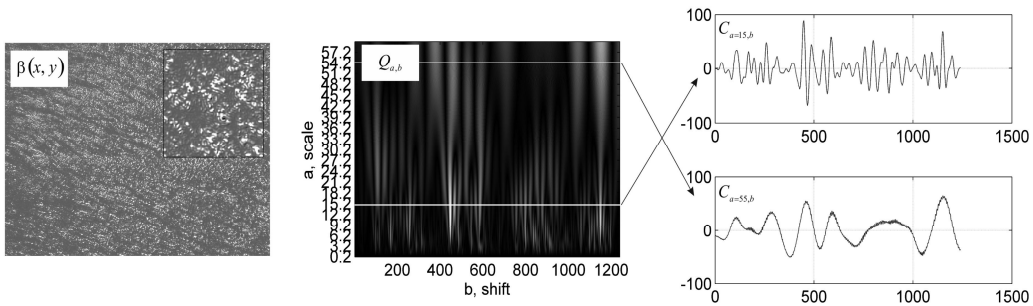


Рис. 5.2. Двомірні розподіли значень еліптичності поляризації  $\alpha(x, y)$ , вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  для мікроскопічного зображення гістологічного зрізу міокарда

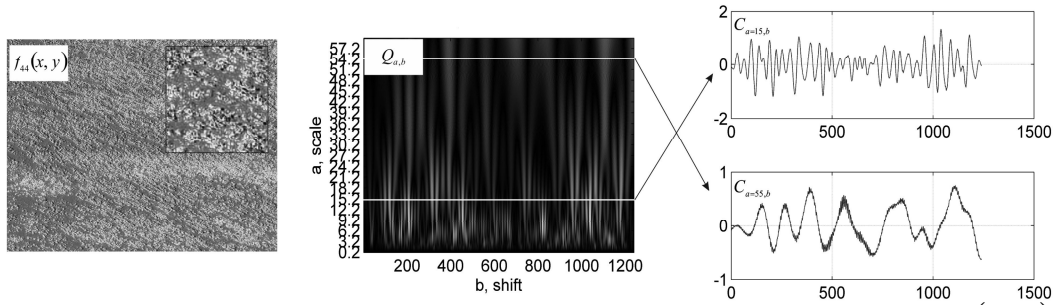


Рис. 5.3. Двомірні розподіли значень матричного елемента  $f_{44}(x, y)$ , вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  для гістологічного зрізу міокарда

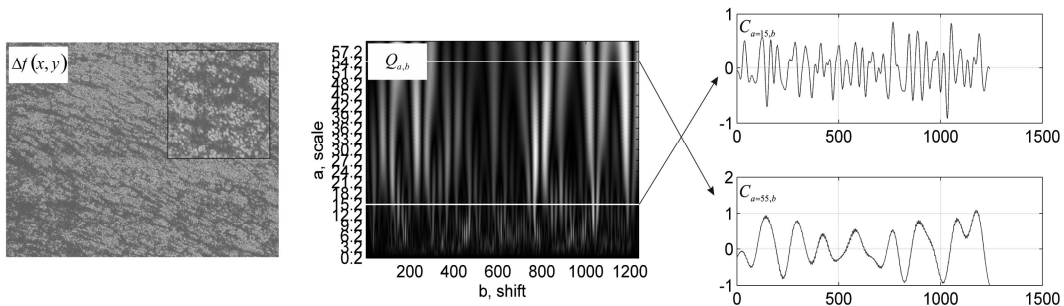


Рис. 5.4. Двомірні розподіли значень мюллер-матричного інваріанта  $\Delta f(x, y)$ , вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  для гістологічного зрізу міокарда

Аналіз одержаних даних виявив різну “будову” розподілів значень вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b} \left\{ \alpha(x, y); \beta(x, y); f_{44}(x, y); \Delta f(x, y) \right\}$  та їх різномасштабних перерізів  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$ .

Вейвлет-мапи  $W_{a,b}$  на всіх масштабах  $a$  вікна МНАТ функції являють собою складні ангармонічні розподіли  $C_{a,b}$ .

З фізичної точки зору такий результат відповідає особливостям структури оптично анізотропної та дискретної за геометричними розмірами фібрилярної мережі міокарда, що сформована поліпептидними ланцюжками оптично активних молекул міозину.

На малих масштабах геометричної будови полікристалічної сітки переважає високочастотна модуляція величини циркулярного двопронезаломлення оптично активних молекул міозину, що формують великомасштабні лінійно двопронезаломлюючі фібрили. Такий механізм проявляється у формуванні відповідної до такої масштабно-геометричної структури ангармонічної модуляції величини амплітуди вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a=\min,b}$  розподілів значень поляризаційних мап і мюллер-матричних зображень  $\left\{ \alpha(x, y); \beta(x, y); f_{44}(x, y); \Delta f(x, y) \right\}$ . Причому, найбільша глибина модуляції спостерігається для лінійних залежностей  $C_{a,b}$ , які характеризують розподіли  $\{\alpha(x, y); \Delta f(x, y)\}$ , що безпосередньо взаємопов’язані із циркулярним двопронезаломленням біологічних кристалів (розділ 3, параграф 3.1, співвідношення (3.1)-(3.2)).

Зворотна картина має місце для великомасштабного вікна МНАТ - функції. На даних масштабах реалізується лінійне двопронезаломлення  $\{\beta(x, y); f_{44}(x, y)\}$  (розділ 3, параграф 3.1, співвідношення (3.3)-(3.4)) просторово структурованих міозинових фібрил. На даний факт вказує наявність модуляції  $C_{a=55,b}$  значень амплітуди вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a=\max,b}$ , які визначені на великих масштабах вікна МНАТ – функції.

Кількісно можливість об’єктивного оцінювання розподілів значень параметрів, які описують лінійне та циркулярне

двопроменезаломлення оптично-анізотропної просторово-структурованої фібрилярної мережі ілюструє таблиця 5.1. Тут наведені величини статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли значень  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a55,b}$ , обчислених вейвлет-коефіцієнтів поляризаційних мап  $(\alpha, \beta)$  і мюллер-матричних зображень  $(f_{44}, \Delta f)$  гістологічного зрізу міокарда.

**Таблиця 5.1.** Статистичні моменти 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a55,b}$  значень вейвлет-коефіцієнтів поляризаційних мап  $(\alpha, \beta)$  і мюллер-матричних зображень  $(f_{44}, \Delta f)$  гістологічного зрізу міокарда

$a$	$q$			
	$\alpha$	$\beta$	$f_{44}$	$\Delta f$
$a_{\min} = 15$	0,01	0,07	0,04	0,02
	42,02	521,4	0,48	0,31
	0,32	0,63	0,37	0,13
	0,63	1,02	0,21	0,93
$a_{\max} = 55$	0,18	2,08	0,03	0,06
	61,59	654,8	0,32	0,25
	1,22	0,78	0,46	0,09
	3,27	0,43	0,92	0,72

Як видно, з наведених у таблиці 5.1 даних, усі статистичні моменти, які характеризують двовимірні розподіли значень вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b} \left\{ \alpha(x, y); \beta(x, y); \right. \left. f_{44}(x, y); \Delta f(x, y) \right\}$  (співвідношення (5.1)), відмінні від нуля.

З іншого боку, для розподілів  $Q_{a,b} \{ \alpha(x, y); \beta(x, y) \}$  суттєво (до двох порядків величини) переважають значення (виділено сірим) дисперсії  $M_{i=2}(C_{a,b}) \uparrow \gg M_{i=1;3;4}(C_{a,b})$ .

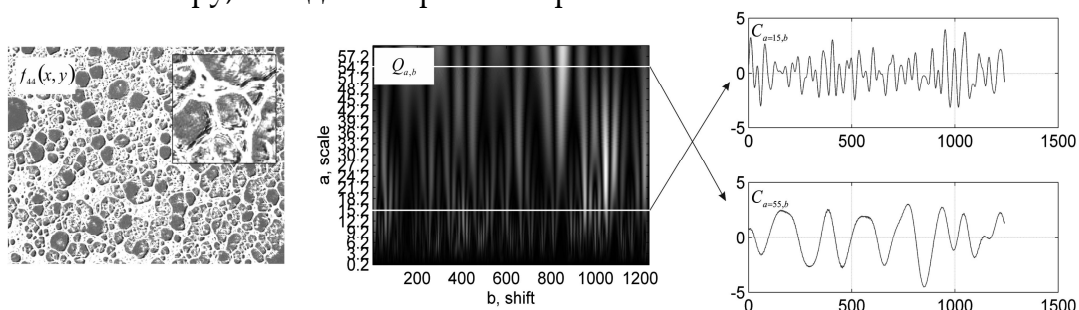
Для розподілів  $Q_{a,b} \{ f_{44}(x, y); \Delta f(x, y) \}$  мають місце співрозмірні варіації значень всього набору статистичних моментів 1-го – 4-го порядків  $M_{i=1;2;3;4}(C_{a,b})$ , які характеризують зазначені розподіли.



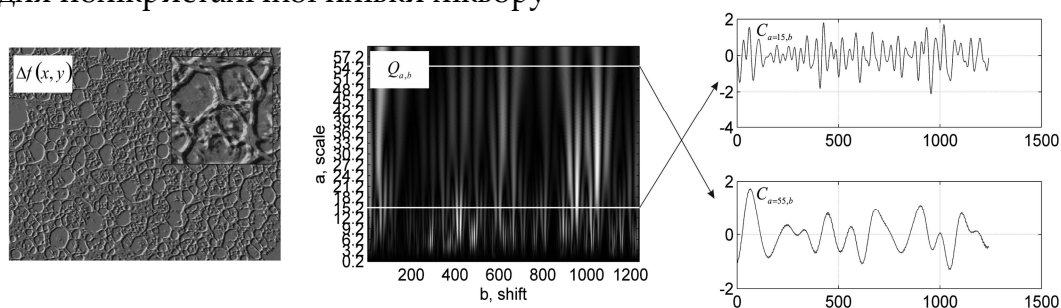
Виходячи з цього, а також беручи до уваги більш високий рівень збалансованої точності  $As$  методів азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування у порівнянні з поляризаційним картографуванням (розділ 3, параграфи 3.2 і 3.3), у подальшому ми зосередимось на об'єктивному аналізі розподілів  $Q_{a,b}\{f_{44}(\phi, x, y); \Delta f(\theta, x, y)\}$ .

### 5.1.3. Вейвлет-аналіз розподілів значень мюллер-матричних інваріантів полікристалічної плівки ліквору

Результати досліджень розподілів значень об'єктивних параметрів  $q = \{f_{44}(x, y); \Delta f(x, y)\}$ , які характеризують прояви лінійного та циркулярного двопронезаломлення полікристалічної плівки ліквору, наведені на рис. 5.5 і рис. 5.6.



**Рис. 5.5.** Двомірні розподіли значень матричного елемента  $f_{44}(x, y)$ , вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  для полікристалічної плівки ліквору



**Рис. 5.6.** Двомірні розподіли значень мюллер-матричного інваріанту  $\Delta f(x, y)$ , вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  для полікристалічної плівки ліквору

Порівняльний аналіз результатів масштабно-селективного сканування двовірних розподілів значень вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}$ , які характеризують прояви фазової анізотропії полікристалічної плівки ліквору, та аналогічного дослідження двопротенезаломлюючої фібрилярної мережі гістологічного зрізу міокарда, виявили подібні тенденції – формування ангармонічних розподілів  $C_{a,b}$  на всіх масштабах  $a$  вікна МНАТ - функції.

Проте, специфіка будови планарної мережі полікристалів амінокислот, фібрину та ін. виявляється у відповідній модуляційній і частотній зміні значень амплітуд вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}$  на різних масштабах вікна  $a$  вейвлет-функції  $\Omega_{a,b}$ , що сканує азимутально-інваріантні мюллер-матричні зображення  $\{f_{44}(x, y); \Delta f(x, y)\}$ .

Кількісно зазначена зміна розподілів величин різномасштабних перерізів  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  двовірних вейвлет-мап  $Q_{a,b}\{f_{44}(x, y); \Delta f(x, y)\}$  призводить до формування інших значень статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують такі розподіли - таблиця 5.2.

**Таблиця 5.2.** Статистичні моменти 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли значень  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  вейвлет-коефіцієнтів мюллер-матричних зображень  $(f_{44}, \Delta f)$  полікристалічної плівки ліквору

$a$	$f_{44}$	$\Delta f$
$a_{\min} = 15$	0,04	0,03
	0,12	0,19
	0,23	0,48
	0,28	0,37
$a_{\max} = 55$	0,14	0,02
	0,22	0,28
	0,42	0,31
	0,73	0,09

З наведених у таблиці 5.2 видно, що всі статистичні моменти 1-го – 4-го порядків, які характеризують різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і

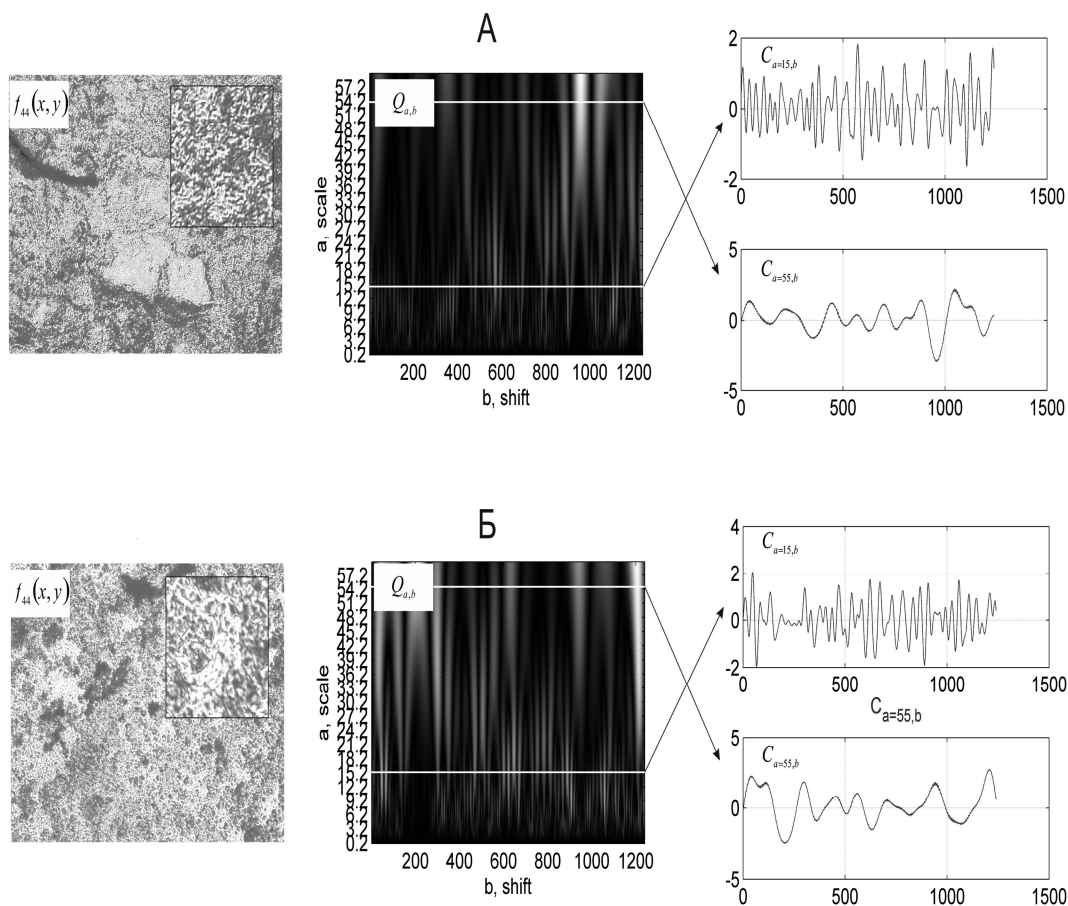
$C_{a55,b}$  двомірних розподілів вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}\{f_{44}(x, y); \Delta f(x, y)\}$ , відмінні від нуля.

Таким чином, нами продемонстрована чутливість на різних масштабах  $a$  вейвлет-сканування ( $Q_{a,b}$ ) двомірних розподілів значень мюллер-матричних зображень  $\{f_{44}(x, y); \Delta f(x, y)\}$  полікристалічних мереж різних типів до зміни лінійного ( $\phi$ ) та циркулярного ( $\theta$ ) двоприменезаломлення таких об'єктів.

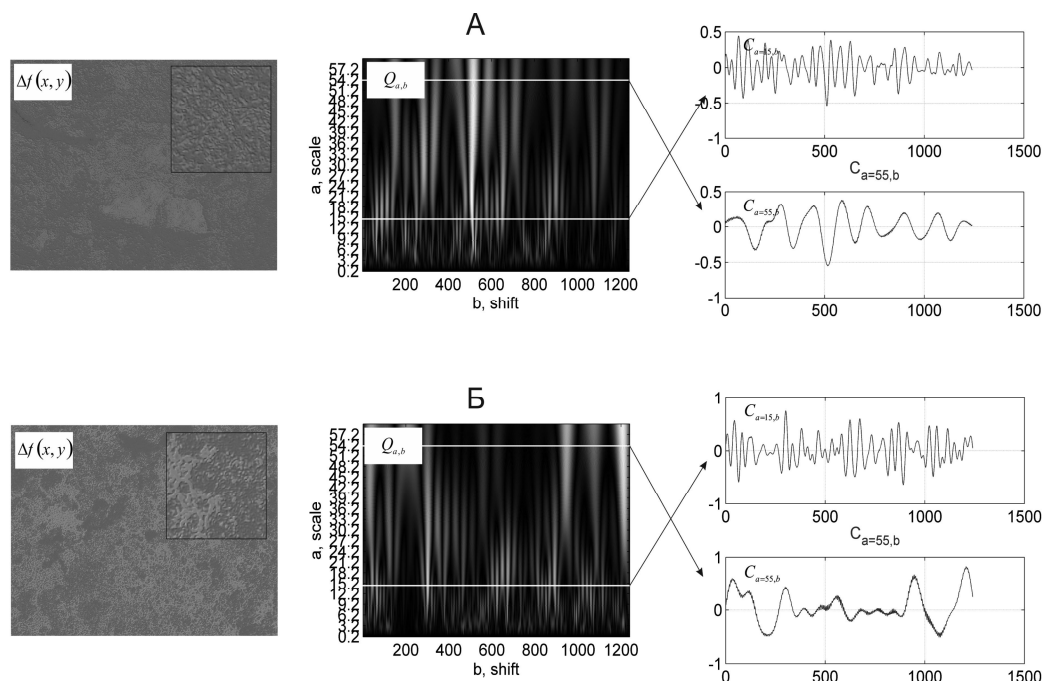
Одержана інформація була покладена в основу розробки методу диференціальної мюллер-матричної мікроскопії слабких змін оптичної анізотропії, що обумовлені ранніми (передраковими) станами або різними стадіями запальних процесів органів людини.

#### **5.1.4. Масштабно-селективна диференціація мюллер-матричних зображень полікристалічних мереж доброякісно зміненої тканини шийки матки**

Результати вейвлет-аналізу азимутально-інваріантних мюллер-матричних зображень зразків тканини шийки матки з різною важкістю передракових (запальних) змін наведено на рис. 5.7 і рис. 5.8.



**Рис. 5.7.** Двомірні розподіли значень матричного елемента  $f_{44}(x, y)$ , вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  для гістологічних зрізів біопсії шийки матки у стані ектонії (фрагмент А) і дисплазії (фрагмент Б)



**Рис. 5.8.** Двомірні розподіли значень мюллер-матричного інваріанту  $\Delta f(x, y)$ , вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  для гістологічних зрізів біопсії шийки матки у стані ектонії (фрагмент А) і дисплазії (фрагмент Б)

Порівняльний аналіз результатів дослідження мап вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}(f_{44})$  і  $Q_{a,b}(\Delta f)$ , які характеризують різномасштабні розподіли значень мюллер-матричних інваріантів фазової анізотропії полікристалічних мереж зразків тканини шийки матки з різним ступенем важкості доброякісних змін, виявив найбільші відмінності між ними на рівні малих масштабів  $a_{\min}$  МНАТ-функції.

На даний факт вказує більша глибина модуляції “дрібномасштабних” залежностей  $C_{a=15,b}$ . Найбільш виразно такі зміни спостерігаються для мюллер-матричних зображень  $\Delta f(\theta, x, y)$ , які описують циркулярне двопротенезаломлення молекул міозину.

Фізично виявлені закономірності можна пов'язати з тим, що ранні (передракові) зміни полікристалічних мереж тканини ендометрію шийки матки відбуваються не на морфологічному

(великомасштабному), а на концентраційному (дрібномасштабному) рівні.

За рахунок зміни концентрації оптично активних молекул внаслідок поглиблення важкості патології зростає рівень циркулярного двопротенезаломлення ( $\theta \uparrow$ ). Відповідно до цього, зростає і глибина модуляції амплітуд вейвлет-коефіцієнтів на малих  $a_{\min}$  масштабах сканування вейвлет-функції  $\Omega_{a,b}$  азимутально-інваріантного мюллер-матричного зображення  $\Delta f(\theta, x, y)$ .

Кількісно такий процес виявляється у зростанні дисперсії  $M_{i=2}(C_{a=15,b}(\Delta f)) \uparrow$  та статистичних моментів вищих порядків  $M_{i=3;4}(C_{a=15,b}(\Delta f)) \uparrow$ , які характеризують розподіли значень дрібномасштабного перерізу  $C_{a=15,b}$  двомірної вейвлет-мапи  $Q_{a,b}\{\Delta f(x, y)\}$  - таблиця 5.3.

**Таблиця 5.3** Статистичні моменти 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли значень  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  вейвлет-коефіцієнтів мюллер-матричних зображень  $(f_{44}, \Delta f)$  гістологічних зрізів біопсії шийки матки

$a$	$f_{44}$		$\Delta f$	
	ектонія	дисплазія	ектонія	дисплазія
$a_{\min} = 15$	$0,05 \pm 0,003$	$0,06 \pm 0,005$	$0,01 \pm 0,001$	$0,015 \pm 0,0012$
	$0,34 \pm 0,025$	$0,39 \pm 0,026$	$0,23 \pm 0,018$	$0,31 \pm 0,021$
	$0,27 \pm 0,021$	$0,33 \pm 0,025$	$0,18 \pm 0,013$	$0,25 \pm 0,024$
	$0,18 \pm 0,014$	$0,22 \pm 0,014$	$0,87 \pm 0,073$	$1,09 \pm 0,097$
$a_{\max} = 55$	$0,04 \pm 0,002$	$0,06 \pm 0,005$	$0,04 \pm 0,003$	$0,05 \pm 0,004$
	$0,21 \pm 0,016$	$0,25 \pm 0,014$	$0,21 \pm 0,016$	$0,28 \pm 0,024$
	$0,43 \pm 0,037$	$0,57 \pm 0,054$	$0,11 \pm 0,011$	$0,15 \pm 0,018$
	$0,79 \pm 0,062$	$0,86 \pm 0,075$	$0,79 \pm 0,071$	$0,96 \pm 0,084$

Установлені наступні відмінності (виділено сірим) між статистичними параметрами, які характеризують розподіли значень різномасштабних перерізів значень вейвлет-мап

$Q_{a,b} \{f_{44}(x, y); \Delta f(x, y)\}$  полікристалічних мереж зразків гістологічних зрізів ендометрію у стані ектонії та дисплазії

$$\Delta f(x, y) \Rightarrow \begin{cases} a_{\min} \rightarrow \Delta M_2 = 1,35; \Delta M_3 = 1,39; \Delta M_4 = 1,25; \\ a_{\max} \rightarrow \Delta M_2 = 1,33; \Delta M_3 = 1,36; \Delta M_4 = 1,22. \end{cases}$$

При цьому досягається високий рівень збалансованої точності ( $Ac = 70\% \div 75\%$ ) запропонованого методу диференціації передракових станів. Згідно критеріїв доказової медицини така точність відповідає хорошій якості діагностичного тесту. Зазначимо, що збалансована точність азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування гістологічних зрізів із різними стадіями доброякісних змін суттєво нижча -  $Ac \sim 60\% \div 65\%$ . Навпаки, точність вейвлет-аналізу двовірних розподілів значень мюллер-матричних інваріантів, які описують лінійне та циркулярне двопротенезаломлення протейнових мереж, у диференціації пухлинних станів досягає відмінної якості  $Ac = 85\% \div 88\%$ .

Таким чином представлений метод вейвлет-аналізу розподілів значень мюллер-матричних інваріантів суттєво розширює функціональні можливості азимутально-незалежного поляризаційного картографування гістологічних зрізів із незначними змінами оптичної анізотропії фібрилярних мереж.

#### **5.1.5. Масштабно-селективна диференціація мюллер-матричних зображень полікристалічних плівок біологічних рідин**

Тут ми розглянемо два випадки застосування вейвлет-аналізу розподілів значень мюллер-матричних інваріантів, які характеризують зміни фазової анізотропії полікристалічних плівок синовіальної рідини суглобу людини з артритом та остеоартрозом.

На рис. 5.9, рис. 5.10 і таблиці 5.4 представлено результати вейвлет-аналізу мюллер-матричних інваріантів, які описують лінійне та циркулярне двопротенезаломлення зразків полікристалічних плівок синовіальної рідини суглоба пацієнтів з різною важкістю запального процесу – артриту та остеоартрозу.

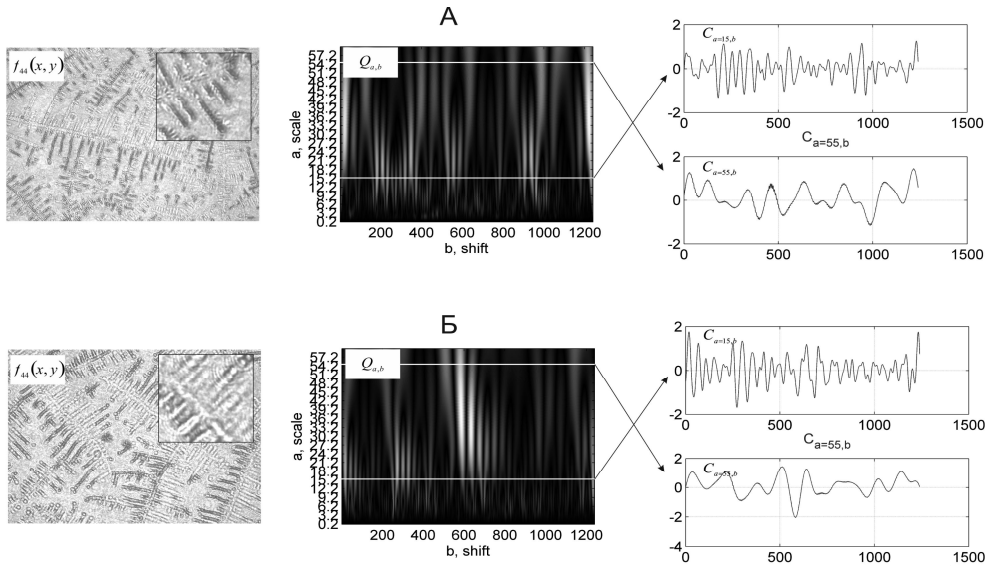


Рис. 5.9. Двомірні розподіли значень матричного елемента  $f_{44}(x, y)$ , вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  для полікристалічних плівок синовіальної рідини суглобу людини з артритом (фрагмент А) та остеоартрозом (фрагмент Б)

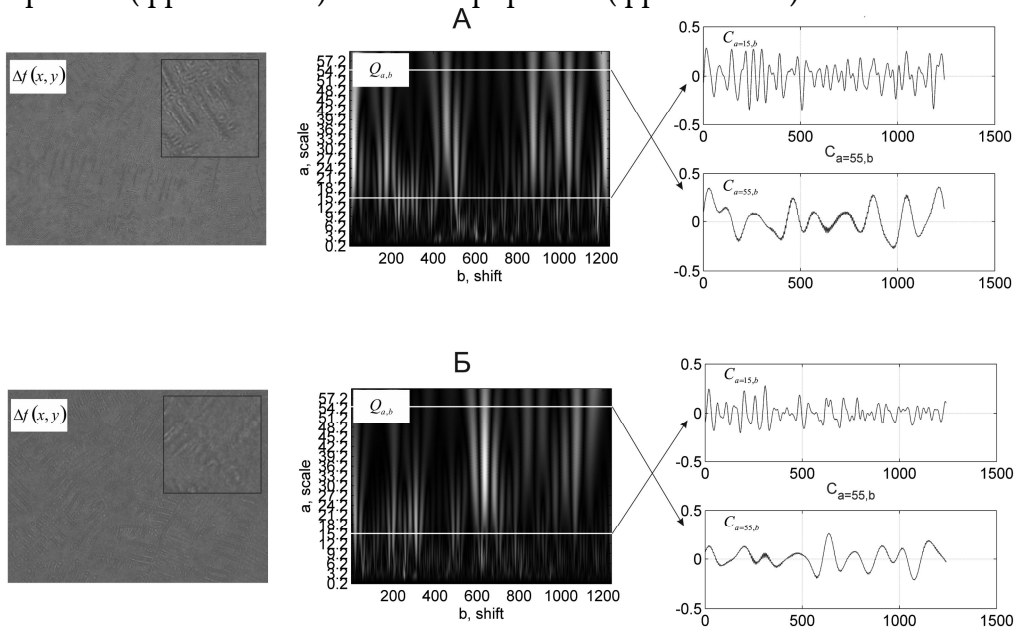


Рис. 5.10. Двомірні розподіли значень мюллер-матричного інваріанту  $\Delta f(x, y)$ , вейвлет-коефіцієнтів  $Q_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  для полікристалічних плівок синовіальної рідини суглобу людини з артритом (фрагмент А) та остеоартрозом (фрагмент Б)



Установлені наступні кількісні критерії (виділено сірим) для статистично достовірної диференціації зразків полікристалічних плівок синовіальної рідини суглоба пацієнтів з артритом і остеоартрозом:

$$\Delta f(x, y) \Rightarrow \begin{cases} a_{\min} \rightarrow \Delta M_2 = 1,22; \Delta M_3 = 1,27; \Delta M_4 = 1,16; \\ a_{\max} \rightarrow \Delta M_2 = 1,19; \Delta M_3 = 1,22; \Delta M_4 = 1,2 \end{cases}$$

При цьому досягнуто хорошого рівня збалансованої точності ( $Ac = 70 \div 75\%$ ) запропонованого діагностичного тесту – таблиця 5.4.

**Таблиця 5.4.** Статистичні моменти 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  вейвлет-коефіцієнтів мюллер-матричних зображень ( $f_{44}, \Delta f$ ) полікристалічних плівок синовіальної рідини суглоба пацієнтів з артритом та остеоартрозом

$a$	$f_{44}$		$\Delta f$	
	артрит	остеоартроз	артрит	остеоартроз
$a_{\min} = 15$	0,036 ± 0,0025	0,042 ± 0,0038	0,011 ± 0,001	0,014 ± 0,0012
	0,19 ± 0,013	0,23 ± 0,016	0,23 ± 0,017	0,28 ± 0,024
	0,31 ± 0,024	0,41 ± 0,037	0,44 ± 0,038	0,56 ± 0,044
	0,43 ± 0,032	0,52 ± 0,043	0,67 ± 0,051	0,78 ± 0,066
$a_{\max} = 55$	0,045 ± 0,0036	0,055 ± 0,0049	0,05 ± 0,0038	0,06 ± 0,0039
	0,22 ± 0,014	0,24 ± 0,014	0,16 ± 0,015	0,19 ± 0,017
	0,51 ± 0,048	0,59 ± 0,049	0,32 ± 0,034	0,39 ± 0,036
	0,87 ± 0,075	0,98 ± 0,089	0,56 ± 0,048	0,67 ± 0,052

Зазначимо, що такий метод масштабно-селективного аналізу проявів механізмів фазової анізотропії відкриває нові можливості не тільки у експресній, ранній діагностиці запальних процесів із латентним (закритим) перебігом, але й у диференціації ступеня важкості таких станів. Проте, всі одержані даним методом результати є наслідком не прямих (найбільш цінних і достовірних) вимірювань, а аналітичної вейвлет-обробки даних поляризаційного і мюллер-матричного картографування з наступною масштабною селекцією проявів механізмів оптичної анізотропії. Тому, важливим наступним

кроком є розробка методик прямого експериментального детектування та розділення проявів механізмів фазової анізотропії різномасштабних лінійно та циркулярно двопротинезаломлюючих полікристалічних мереж біологічних тканин і рідин.

## **5.2. Просторово-частотна фур'є-фазометрія лазерного випромінювання перетвореного планарними полікристалічними мережами**

У даному параграфі запропоновано комплексний метод поляризаційно-фазової та просторово-частотної фільтрації мікроскопічних зображень полікристалічних плівок синовіальної рідини.

Відомо, що будь які патоморфологічні зміни стану організму людини супроводжуються трансформацією біохімічного складу вказаних рідин. Оптично це виявляється у зміні співвідношення між параметрами, які описують механізми фазової анізотропії відповідних полікристалічних мереж. Тому, для подальшого розвитку методів азимутально-інваріантної поляризаційної мікроскопії актуальне завдання оптичного розділення поляризаційно-фазових проявів лінійного та циркулярного двопротинезаломлення.

На даний момент часу метод прямого поляризаційного картографування не розв'язує таку проблему. Одним з можливих рішень може стати метод на основі просторово-частотної фільтрації поляризаційно-неоднорідних полів у площині мікроскопічних зображень полікристалічних плівок біологічних рідин. Така методика з успіхом використовується у розділенні різночастотних складових двовірних розподілів інтенсивності зображень шарів фазово-неоднорідних об'єктів [21]. Ідея такого, нового для біомедичних застосувань, підходу базується на фільтрації просторово-частотних спектрів поляризаційно-неоднорідних зображень сіток біологічних кристалів, для різних геометричних розмірів яких переважає або лінійне, або циркулярне двопротинезаломлення.

Перші, обладійливі результати застосування даного підходу у лазерній поляриметрії гістологічних зрізів біологічних тканин і

полікристалічних плівок біологічних рідин одержано у роботі [177], де розроблено основи Фур'є стоксполариметрії.

У нашій роботі ми удосконалюємо методику Фур'є стоксполариметрії шляхом застосування додаткової поляризаційно-фазової фільтрації лазерних полів, перетворених біологічними шарами.

Оптична реалізація вказаного методу передбачає наступні експериментальні етапи – “пряме Фур'є перетворення” - “просторово-частотна та поляризаційно-фазова фільтрація” - “обернене Фур'є перетворення” поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень біологічних препаратів.

### **5.2.1. Просторово-частотна та поляризаційно-фазова фільтрація мікроскопічних зображень оптично тонких біологічних шарів**

Основні положення оптичної моделі фазової анізотропії полікристалічної структури біологічних шарів детально розглянуті та обґрунтовані у розділі 3, параграф 3.1, співвідношення (3.1)-(3.12) нашої роботи. Тому у цьому параграфі ми викладемо лише короткі раніше наведені теоретичні відомості та деякі нові аналітичні співвідношення, що описують методику просторово-частотної та поляризаційно-фазової фільтрації мікроскопічних зображень оптично тонких біологічних шарів.

В якості базового положення ми скористалися припущенням про те, що планарна полікристалічна мережа плівки біологічної рідини являє собою комбінацію біологічних кристалів двох конформаційних типів:

- Великомасштабні ( $100\text{мкм} \div 150\text{мкм}$ ) голкоподібні кристали (альбумін, фібрин, кристали жовчних кислот) з переважним лінійним двопротинезаломленням. Оптична анізотропія таких біологічних кристалів характеризується наступним джонс-матричним оператором

$$\{B\} = \begin{bmatrix} \sin^2 \gamma + \cos^2 \gamma \exp(-i\phi) & \sin \gamma \cos \gamma (1 - \exp(-i\phi)) \\ \sin \gamma \cos \gamma (1 - \exp(-i\phi)) & \cos^2 \gamma + \sin^2 \gamma \exp(-i\phi) \end{bmatrix}. \quad (5.2)$$

Тут  $\gamma$  - напрямок оптичної осі голкоподібного кристалу у площині плівки,  $\phi = \left(2\pi/\lambda\right)\Delta n l$  - величина фазового зсуву між ортогональними складовими амплітуди лазерної хвилі з довжиною  $\lambda$ , яка пройшла геометричний шлях  $L$  крізь кристал з лінійним двопронезаломленням  $\Delta n$ .

• Дрібномасштабні ( $5\text{мкм} \div 20\text{мкм}$ ) глибокоподібні кристали (глобулін, білірубінат кальцію, холестерол) з переважним циркулярним двопронезаломленням або оптичною активністю, яка характеризується матрицею Джонса

$$\{A\} = \begin{vmatrix} \cos \theta & \sin \theta \\ -\sin \theta & \cos \theta \end{vmatrix}. \quad (5.3)$$

Тут  $\theta$  - кут обертання площини поляризації лазерної хвилі.

За рахунок різних механізмів оптичної анізотропії (співвідношення (5.2) і (5.3)) полікристалічної плівки біологічної рідини відбувається амплітудно-фазова модуляція лазерного випромінювання.

Аналітично вказаний процес описує матричне рівняння

$$\begin{pmatrix} E_x(\gamma, \phi, \theta) \\ E_y(\gamma, \phi, \theta) \end{pmatrix} = \{B\}\{A\} \begin{pmatrix} E_{0x} \\ E_{0y} \end{pmatrix}. \quad (5.4)$$

Тут  $\begin{pmatrix} E_{0x} \\ E_{0y} \end{pmatrix}$  і  $\begin{pmatrix} E_x(\gamma, \phi, \theta) \\ E_y(\gamma, \phi, \theta) \end{pmatrix}$  - вектори Джонса опромінюючої та перетвореної об'єктом лазерних хвиль.

Традиційно координатний розподіл значень фаз  $\varphi(x, y)$  у площині мікроскопічного зображення біологічного шару визначався методом поляризаційного картографування [136] з використанням наступного алгоритму

$$\varphi(x, y) = \arctg \frac{\tg 2\beta(x, y)}{\sin 2\alpha(x, y)}. \quad (5.5)$$

Тут  $\alpha$  - азимут,  $\beta$  - еліптичність поляризації.

У нашому випадку значення поляризаційних ( $\alpha, \beta$ ) та амплітудно-фазових ( $E_x(\gamma, \phi, \theta), E_y(\gamma, \phi, \theta)$ ) параметрів пов'язані наступними співвідношеннями [175, 176]

$$\alpha(\gamma, \phi, \theta) = 0,5 \arctg \left( \frac{E_x(\gamma, \phi, \theta)E_y^*(\gamma, \phi, \theta) - E_y(\gamma, \phi, \theta)E_x^*(\gamma, \phi, \theta)}{E_x(\gamma, \phi, \theta)E_x^*(\gamma, \phi, \theta) - E_y(\gamma, \phi, \theta)E_y^*(\gamma, \phi, \theta)} \right); \quad (5.6)$$

$$\beta(\gamma, \phi, \theta) = 0,5 \arcsin \left( \frac{i(E_y(\gamma, \phi, \theta)E_x^*(\gamma, \phi, \theta) - E_x(\gamma, \phi, \theta)E_y^*(\gamma, \phi, \theta))}{E_x(\gamma, \phi, \theta)E_x^*(\gamma, \phi, \theta) + E_y(\gamma, \phi, \theta)E_y^*(\gamma, \phi, \theta)} \right) \quad . \quad (5.7)$$

Тут \* - позначає комплексно спряжену величину.

З (5.6), (5.7) випливає, що фазова мапа  $\varphi(x, y)$  полікристалічної мережі плівки біологічної рідини сформована впливом (суперпозицією) різних механізмів оптичної анізотропії.

Задача "оптичного розділення" проявів лінійного та циркулярного двопроменезаломлення полікристалічної структури плівки біологічної рідини є важливою та актуальною. Річ у тім, що патологічні зміни організму людини, в першу чергу, пов'язані зі змінами концентрації оптично анізотропних біохімічних молекул, які входять до складу тієї чи іншої рідини.

Для розв'язання такого завдання ми скористаємось методом просторово-частотної фільтрації поля лазерного випромінювання у Фур'є площині (розділ 2, параграф 2.2, рис. 2.5).

Головна ідея такого підходу полягає у наявності різночастотної структури Фур'є спектру зображення біологічних кристалів з різними типами оптичної анізотропії. Таким чином, здійснюючи просторово-частотну фільтрацію можна виділити або низькочастотну (з переважним лінійним двопроменезаломленням) або високочастотну (з переважним циркулярним двопроменезаломленням) складову у поляризаційно-неоднорідному мікроскопічному зображенні полікристалічної плівки біологічної рідини.

Розглянемо такий процес детальніше. Ортогональні компоненти комплексної амплітуди  $E_x, E_y$  кожної точки мікроскопічного зображення шару біологічної рідини є "вхідними" параметрами для дифракційних інтегралів, які визначають процес еволюції розподілу амплітуд від площини об'єкту до фокальної площині поляризаційного мікрооб'єктиву з фокусною відстанню  $f$

$$\begin{cases} U_x(\nu, \mu) = \frac{1}{i\lambda f} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} E_x(x, y) \exp[-i2\pi(x\nu + y\mu)] dx dy; \\ U_y(\nu, \mu) = \frac{1}{i\lambda f} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} E_y(x, y) \exp[-i2\pi(x\nu + y\mu)] dx dy. \end{cases} \quad (5.8)$$

Тут  $U_x, U_y$  - фур'є розподіли комплексних амплітуд  $E_x(\gamma, \phi, \theta)$  і  $E_y(\gamma, \phi, \theta)$  з просторовими частотами  $\nu = \frac{x}{\lambda f}$  and  $\mu = \frac{y}{\lambda f}$ .

Якщо розмістити фільтруючу  $R(\Delta\nu, \Delta\mu)$  або він'єтуючу  $R^{-1}(\Delta\nu, \Delta\mu)$  діафрагму у центральній частині Фур'є площини, то можна виділити відповідну ділянку просторово-частотної структури Фур'є спектру, що сформована переважним впливом лінійного  $\hat{U}(\gamma, \phi, \nu, \mu)$  або циркулярного  $\dot{U}(\theta, \nu, \mu)$  двопротенезаломлення полікристалічної плівки біологічної рідини

$$\begin{cases} \hat{U}(\gamma, \phi, \nu, \mu) = R(\Delta\nu, \Delta\mu)U(\nu, \mu); \\ \dot{U}(\theta, \nu, \mu) = R^{-1}(\Delta\nu, \Delta\mu)U(\nu, \mu). \end{cases} \quad (5.9)$$

Відновити розподіли комплексних амплітуд  $\begin{cases} \hat{E}_x(\gamma, \phi, x, y); \\ \dot{E}_x(\theta, x, y) \end{cases}$  і

$\begin{cases} \hat{E}_y(\gamma, \phi, x, y); \\ \dot{E}_y(\theta, x, y) \end{cases}$  у точках мікроскопічного зображення біологічного

шару можна за допомогою зворотнього Фур'є перетворення

$$\left\{ \begin{aligned} \hat{E}_x(\gamma, \phi, x, y) &= \frac{1}{i\lambda f} \int_{-\infty}^{\infty} R(\Delta\nu, \Delta\mu) \hat{U}_x(\nu, \mu) \exp[i2\pi(x\Delta\nu + y\Delta\mu)] d\nu d\mu; \\ \hat{E}_y(\gamma, \phi, x, y) &= \frac{1}{i\lambda f} \int_{-\infty}^{\infty} R(\Delta\nu, \Delta\mu) \hat{U}_y(\nu, \mu) \exp[i2\pi(x\Delta\nu + y\Delta\mu)] d\nu d\mu; \\ \dot{E}_x(\theta, x, y) &= \frac{1}{i\lambda f} \int_{-\infty}^{\infty} R^{-1}(\Delta\nu, \Delta\mu) \dot{U}_x(\nu, \mu) \exp[i2\pi(x\Delta\nu + y\Delta\mu)] d\nu d\mu; \\ \dot{E}_y(\theta, x, y) &= \frac{1}{i\lambda f} \int_{-\infty}^{\infty} R^{-1}(\Delta\nu, \Delta\mu) \dot{U}_y(\nu, \mu) \exp[i2\pi(x\Delta\nu + y\Delta\mu)] d\nu d\mu. \end{aligned} \right. ; (5.10)$$

Таким чином, просторово-частотна фільтрація забезпечує можливість селекції поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень різномасштабних структур полікристалічної мережі плівки біологічної рідини.

З метою прямого експериментального виділення “фазової” інформації схема Фур’є фільтрації була доповнена двома відомими методиками поляризаційної фільтрації [131].

### 5.2.1.1. Поляризаційно-фазова фільтрація

Для вимірювання розподілу значень фазових зсувів  $\phi$ , сформованих лінійно двопротенезаломлюючими кристалами у площині мікроскопічного зображення, зразок плівки біологічної рідини розміщувався між двома “схрещеними” чвертьхвильовими пластинками ( $\{\Phi_1\}$  і  $\{\Phi_2\}$ ). Площини пропускання поляризаторів ( $\{P_1\}$  і  $\{P_2\}$ ) орієнтовані під кутами  $+45^\circ$  і  $-45^\circ$  (розділ 2, параграф 2.2, рис. 2.5).

Таким чином, для визначення розподілу значень фазових зсувів  $\phi(x, y)$  у “низькочастотному” мікроскопічному зображенні полікристалічної мережі оптично-тонкого біологічного шару необхідно за допомогою цифрової камери зареєструвати двомірний

масив нормованих значень інтенсивності  $\frac{I_\phi(x, y)}{I_0}$  у точках такого зображення (розділ 2, співвідношення (2.15), (2.16)).

### 5.2.1.2. Поляризаційна фільтрація

Для визначення координатного розподілу значень  $\theta(x, y)$  у точках “високочастотного” мікроскопічного зображення полікристалічної мережі зразок біологічної рідини розміщувався між двома схрещеними поляризаторами  $\{P_1\}$  і  $\{P_2\}$  (розділ 2, параграф 2.2, рис. 2.5)

Аналітично процес такої поляризаційної фільтрації описується наступним співвідношенням

$$\dot{E}(x, y) = 0,5 \{P_2\} \{A\} \{P_1\} E_0. \quad (5.11)$$

Розв’язками рівняння (5.15) є наступні вирази

$$\dot{E}(x, y) \times \dot{E}^*(x, y) = I_0 \sin^2 2\theta(x, y) = I_\theta(x, y); \quad (5.12)$$

$$\theta(x, y) = 0,5 \arcsin \sqrt{\frac{I_\theta(x, y)}{I_0}}. \quad (5.13)$$

Таким чином, для визначення (співвідношення (5.13)) розподілу значень фазових зсувів  $\theta(x, y)$  у “високочастотному” мікроскопічному зображенні полікристалічної мережі оптично-тонкого біологічного шару необхідно за допомогою цифрової камери зареєструвати двовірний масив нормованих  $(\frac{I_\theta(x, y)}{I_0})$  значень інтенсивності у точках даного зображення.



### 5.3. Метод просторово-частотного та поляризаційно-фазового картографування мікроскопічних зображень полікристалічних плівок синовіальної рідини

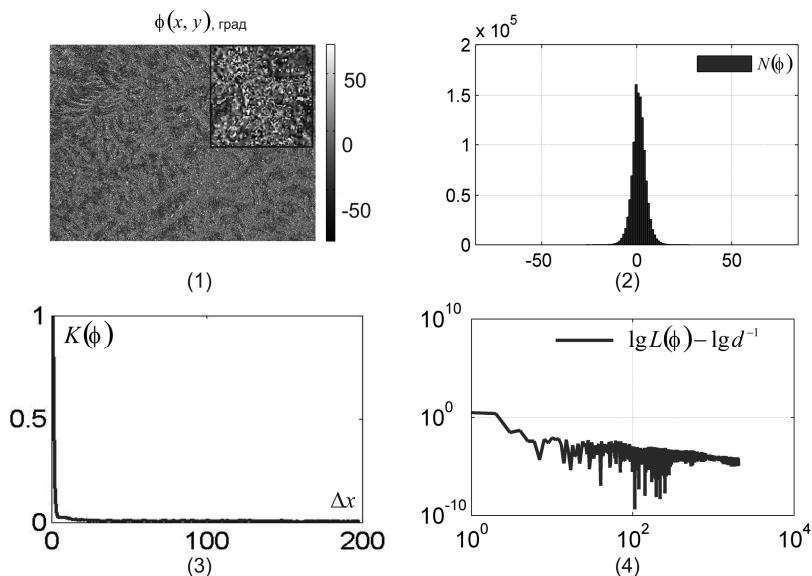
Традиційні рентгенівські та біохімічні методи діагностики важкості запалення колінного суглобу людини не дозволяють оперативно визначати та диференціювати такі стани.

Зокрема для встановлення наявності остеоартрозу потрібно не менше тижня біохімічних досліджень синовіальної рідини.

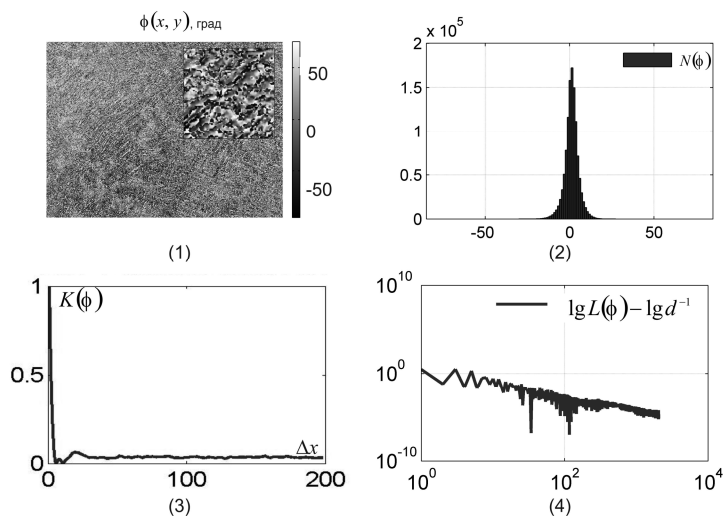
Тому, у рамках прикладного аспекту застосування багатофункціональної поляризаційно-фазової мікроскопії планарних полікристалічних мереж ми дослідили можливості ранньої та експресної диференціації змін фазової анізотропії плівок синовіальної рідини.

На рис. 5.11, рис. 5.12 приведені координатні  $(x, y)$ , імовірнісні  $(N(\phi))$ , кореляційні  $(K(\phi))$  і фрактальні  $(\lg L(\phi) - \lg d^{-1})$  розподіли, що характеризують значення фазових зсувів  $\phi(x, y)$ , які сформовані великомасштабними біохімічними кристалами альбуміну, фібрину полікристалічних плівок синовіальної рідини колінного суглоба пацієнтів з різним ступенем важкості запального процесу – артрит (рис. 5.11) і остеоартроз (рис. 5.12).

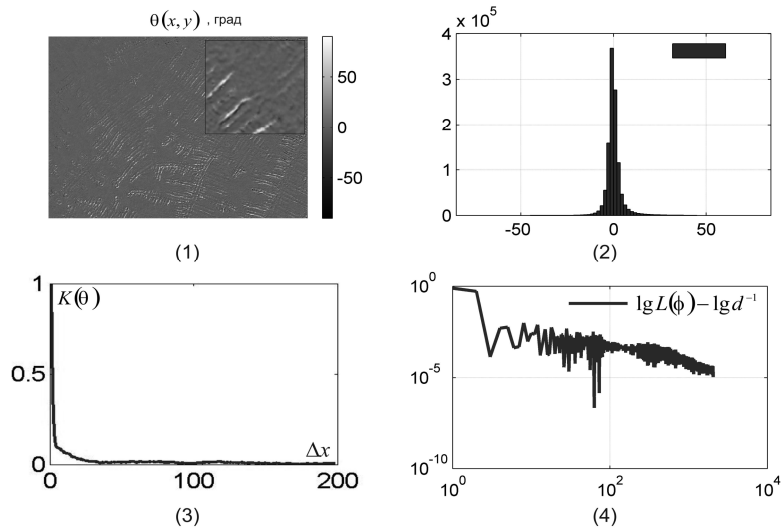
Координатну  $(x, y)$ , імовірнісну  $(N(\theta))$ , кореляційну  $(K(\theta))$  і фрактальну  $(\lg L(\theta) - \lg d^{-1})$  структуру фазових мап  $\theta(x, y)$ , які сформовані циркулярним двопротенезаломленням дрібномасштабної складової полікристалічних плівок синовіальної рідини колінного суглоба пацієнтів з різним ступенем важкості запального процесу ілюструють залежності, що наведені на рис. 5.13 (артрит) і рис. 5.14 (остеоартроз).



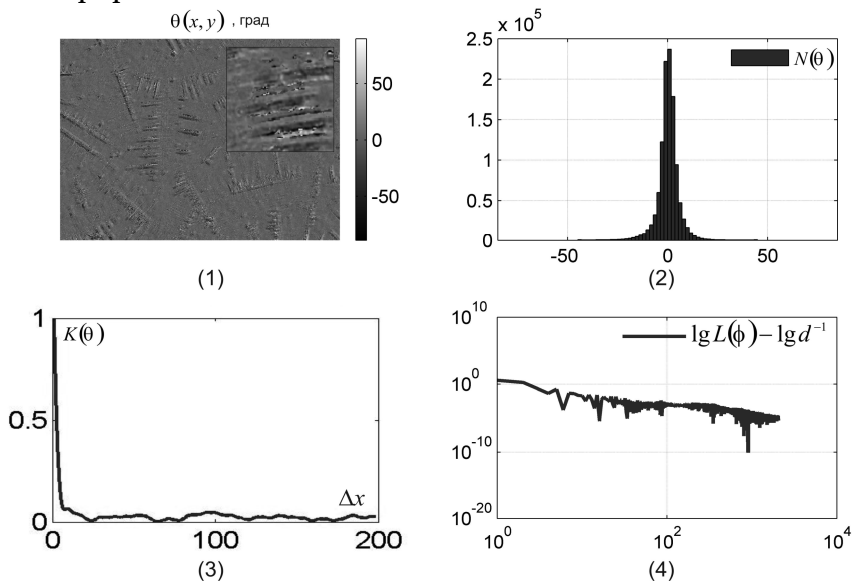
**Рис. 5.11.** Фазова мапа лінійного двопротенезаломлення  $\phi(x, y)$ , гістограма  $N(\phi)$ , автокореляційна функція  $K(\phi)$  та логарифмічна залежність  $\lg L(\phi) - \lg d^{-1}$  спектру потужності розподілу значень фаз  $\phi$  мікроскопічного зображення плівки синовіальної рідини суглоба пацієнта з артритом



**Рис. 5.12.** Фазова мапа лінійного двопротенезаломлення  $\phi(x, y)$ , гістограма  $N(\phi)$ , автокореляційна функція  $K(\phi)$  та логарифмічна залежність  $\lg L(\phi) - \lg d^{-1}$  спектру потужності розподілу значень фаз  $\phi$  мікроскопічного зображення плівки синовіальної рідини суглоба пацієнта з остеоартрозом



**Рис. 5.13.** Фазова мапа циркулярного двопронезаломлення  $\theta(x, y)$ , гістограма  $N(\theta)$ , автокореляційна функція  $K(\theta)$  та логарифмічна залежність  $\lg L(\theta) - \lg d^{-1}$  спектру потужності розподілу значень фаз  $\theta$  мікроскопічного зображення плівки синовіальної рідини суглоба пацієнта з артритом



**Рис. 5.14.** Фазова мапа циркулярного двопронезаломлення  $\theta(x, y)$ , гістограма  $N(\theta)$ , автокореляційна функція  $K(\theta)$  та логарифмічна залежність  $\lg L(\theta) - \lg d^{-1}$  спектру потужності розподілу значень фаз  $\theta$  мікроскопічного зображення плівки синовіальної рідини суглоба пацієнта з остеоартрозом

Порівняльний аналіз одержаних даних про фазовозсуваючу здатність плівок синовіальної рідини на різних масштабах полікристалічної структури даного шару виявив головну відмінність – різне лінійне двопротенезаломлення.

Гістограма  $N(\phi)$  поляризаційно-фазово відфільтрованого низькочастотного мікроскопічного зображення плівки синовіальної рідини пацієнта з остеартрозом ілюструє більшу фазовозсуваючу здатність великомасштабних голкоподібних кристалів.

Автокореляційні та логарифмічні залежності спектрів потужності розподілів значень фаз  $\phi(x, y)$  і  $\theta(x, y)$  у низько- та високо- частотних мікроскопічних зображеннях полікристалічних плівок синовіальної рідини обох груп пацієнтів достатньо подібні. Такий факт можна пов'язати з ідентичними умовами кристалізації плівок синовіальної рідини.

Кількісно фазові розподіли  $\phi(x, y)$  і  $\theta(x, y)$  ілюструє набір параметрів параметрів  $q$ , значення яких приведені у таблиці 5.5. і таблиці 5.6.

**Таблиця 5.5.** Статистичні  $M_{i=1;2;3;4}$ , кореляційні  $M_{i=2;4}^K$  і фрактальні  $D$  параметри, які характеризують фазові розподіли  $\phi(x, y)$

Параметри	Група 1	Група 2
$M_{i=1}$	$0,1 \pm 0,007$	$0,12 \pm 0,008$
$M_{i=2}$	$0,16 \pm 0,012$	$0,21 \pm 0,018$
$M_{i=3}$	$0,41 \pm 0,034$	$0,48 \pm 0,038$
$M_{i=4}$	$0,22 \pm 0,014$	$0,31 \pm 0,026$
$M_{i=2}^K$	$0,075 \pm 0,0063$	$0,06 \pm 0,005$
$M_{i=4}^K$	$1,96 \pm 0,16$	$2,34 \pm 0,22$
$D$	$0,16 \pm 0,013$	$0,19 \pm 0,013$

**Таблиця 5.6.** Статистичні  $M_{i=1;2;3;4}$ , кореляційні  $M_{i=2;4}^K$  і фрактальні  $D$  параметри, які характеризують фазові розподіли  $\theta(x, y)$

Параметри	Група 1	Група 2
$M_{i=1}$	$0,05 \pm 0,004$	$0,06 \pm 0,005$
$M_{i=2}$	$0,1 \pm 0,008$	$0,14 \pm 0,012$
$M_{i=3}$	$0,39 \pm 0,029$	$0,43 \pm 0,037$
$Z_{i=4}$	$0,72 \pm 0,066$	$0,58 \pm 0,045$
$M_{i=2}^K$	$0,08 \pm 0,006$	$0,07 \pm 0,005$
$M_{i=4}^K$	$2,35 \pm 0,21$	$2,96 \pm 0,27$
$D$	$0,25 \pm 0,024$	$0,28 \pm 0,025$

Порівняльний аналіз одержаних даних виявив такі міжгрупові відмінності величин статистичних моментів  $M_{i=1;2;3;4}$ , які характеризують фазові розподіли

$$\phi(x, y) \Rightarrow \left\{ \begin{array}{l} \Delta M_2 = 1,31; \Delta M_3 = 1,17 \Delta M_4 = 1,41; \\ \Delta M_4^K = 1,19. \end{array} \right\};$$

$$\theta(x, y) \Rightarrow \left\{ \begin{array}{l} \Delta M_2 = 1,4; \Delta M_4 = 1,24; \\ \Delta M_4^K = 1,26. \end{array} \right\}$$

Аналіз діагностичної ефективності (розділ 2, параграф 2.3, співвідношення (2.12)-(2.14)) методу поляризаційно-фазової низькочастотної фільтрації мікроскопічних зображень лінійно двопротенезаломлюючих полікристалічних мереж плівок синовіальної рідини виявив високий рівень збалансованої точності  $Ac = 82\% - 88\%$ , який на 5%-8% перевищує показники методів азимутально-інваріантної поляризаційної та поляризаційно-кореляційної мікроскопії.

#### 5.4. Поляризаційно-кореляційна фур'є мікроскопія оптично анізотропних мереж біологічних тканин і плівок біологічних рідин

У даному параграфі дисертаційної роботи узагальнено метод азимутально-незалежного КСВА-картографування (розділ 4)

гістологічних зрізів біологічних тканин шляхом використання просторово-частотної селекції поляризаційно-кореляційних мап велико- та дрібномасштабних структур оптично анізотропних мереж.

На цій основі визначено взаємозв'язки статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують низько- та високочастотні складові розподілів значень модуля КСВА та зміни фазової анізотропії фібрилярних мереж зразків з доброякісними змінами різного ступеня важкості.

#### **5.4.1. Коротка теорія КСВА-картографування з просторово-частотною фільтрацією мікроскопічних зображень**

У розділі 4, параграф 4.1, співвідношення (4.1)-(4.12) аналітично обґрунтовано фізичний зміст поляризаційно-кореляційного параметру КСВА, що характеризує ступень узгодженості параметрів фазової анізотропії в різних точках полікристалічної мережі біологічних кристалів та запропоновано методику вимірювання його координатних розподілів значень модуля КСВА  $W(x, y)$ .

Розглянемо такий підхід на прикладі багатошарової тканини шийки матки, що складається з поверхневого ендометрія (оптично-анізотропні сітки розупорядкованих за напрямками укладання дрібномасштабних колагенових волокон) та підповерхневого (впорядкована мережа великомасштабних міозинових фібрил) міометрію.

Згідно наведеної інформації можна вважати, що для оптично-анізотропної складової шару міометрія ( $l \sim 50 \text{ мкм} \div 200 \text{ мкм}$ ) переважає лінійне двопроменезаломлення.

Для оптично-анізотропної складової дрібномасштабних ( $l \sim 5 \text{ мкм} \div 25 \text{ мкм}$ ;  $L \approx l$ ) морфологічних структур поверхневого шару ендометрія, які містять оптично активні молекули колагену, переважає циркулярне двопроменезаломлення.

Таким чином, у мікроскопічному зображенні ізотропно-анізотропних структур такого об'єкту формується високочастотна  $U(\gamma, \phi)$  і низькочастотна  $U(\theta)$  складові (співвідношення (5.8)-(5.10)).

З фізичної точки зору задача “поляризаційно-кореляційної КСВА-селекції” проявив лінійного  $(\gamma, \phi)$  і циркулярного  $(\theta)$  двопротенезаломлення протейнових фібрілярних сіток шарів міометрію та ендометрію актуальна у диференціальній діагностиці змін фазової анізотропії на ранніх, передракових етапах.

Річ у тім, що на таких етапах виникнення патології локалізовано не на морфологічному (розподіли напрямів оптичних осей  $\gamma(x, y)$  фібрілярних мереж), а на концентраційному рівні. За рахунок цього зростає рівень фазовозсуваючої здатності циркулярно-  $(\theta \uparrow)$  двопротенезаломлюючих мереж.

Із використанням просторово-частотної фільтрації поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень зразків гістологічних зрізів можна роздільно виміряти поляризаційно-відфільтровані низько- та високочастотні складові оптичного поля та обчислити двовимірні масиви елементів матриці Джонса  $b_{ik}(\gamma, \phi) = F(\hat{U})$  і  $a_{ik}(\theta) = F(\dot{U})$  (співвідношення (5.2), (5.3)).

На цій основі одержуємо алгоритми для визначення КСВА-мап лінійного та циркулярного двопротенезаломлення

$$W(\gamma, \phi, r_1, r_2) \sim \frac{\{q_{11}(r_1, r_2) + q_{12}(r_1, r_2) + q_{21}(r_1, r_2) + q_{22}(r_1, r_2)\}^2}{I(r_1)I(r_2)}; \quad (5.14)$$

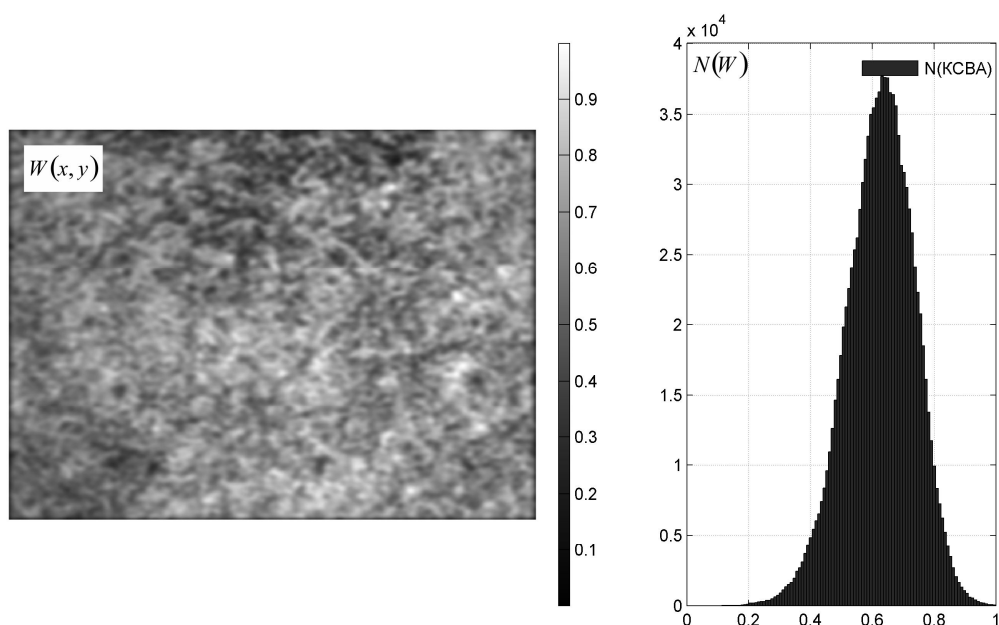
$$W(\theta, r_1, r_2) \sim \frac{\{a_{11}(r_1, r_2) + a_{12}(r_1, r_2) + a_{21}(r_1, r_2) + a_{22}(r_1, r_2)\}^2}{I(r_1)I(r_2)}. \quad (5.15)$$

#### 5.4.2. КСВА-картографування гістологічних зрізів тканини шийки матки з просторово-частотною фільтрацією поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень

У якості об'єктів дослідження використовувалися гістологічні зрізи біопсії тканини шийки матки.

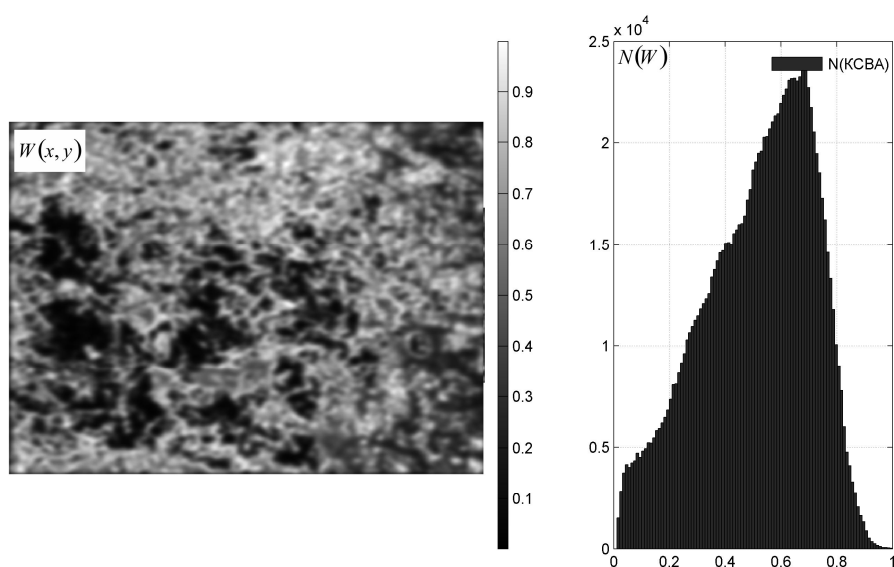
На серії рис. 5.15 – рис. 5.18 приведено координатні мапи  $W(x, y)$  та гістограми  $N(W)$  розподілів значень КСВА за умов низько-

( $W(\phi, x, y)$  - рис. 5.15 і рис. 5.16) і високочастотної ( $W(\theta, x, y)$  - рис. 5.17 і рис. 5.18) фільтрації оптичного поля в площині поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біопсії тканини шийки матки у стані ектонії (рис. 5.15 і рис. 5.17) та дисплазії (рис. 5.16 і рис. 5.18).

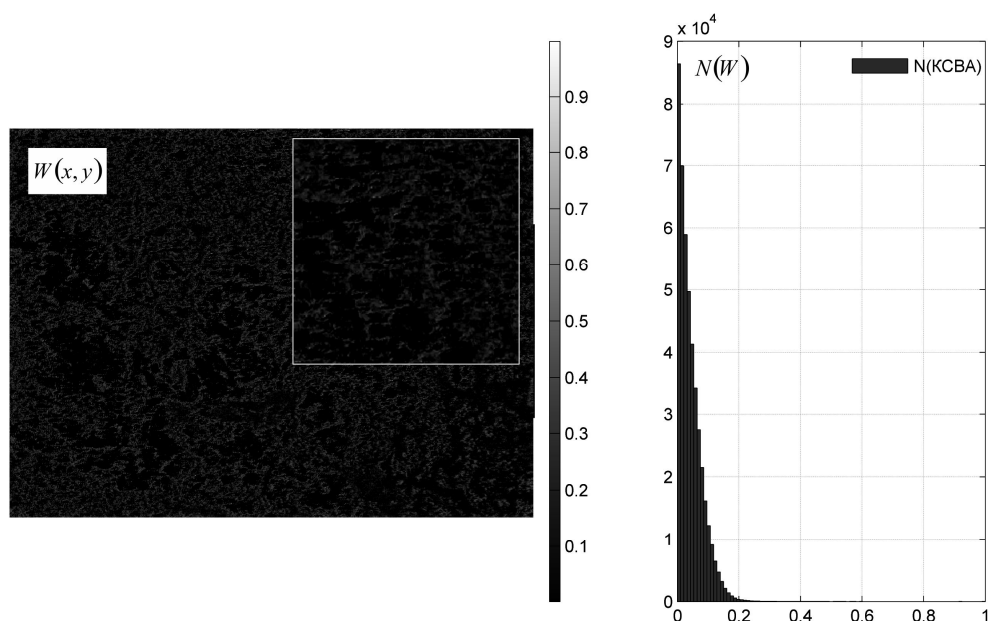


**Рис. 5.15.** Низькочастотна двовірна мапа КСВА лінійного двопротенезаломлення гістологічного зрізу біопсії ендометрія у стані ектонії і гістограма  $N(W)$  розподілу їх значень

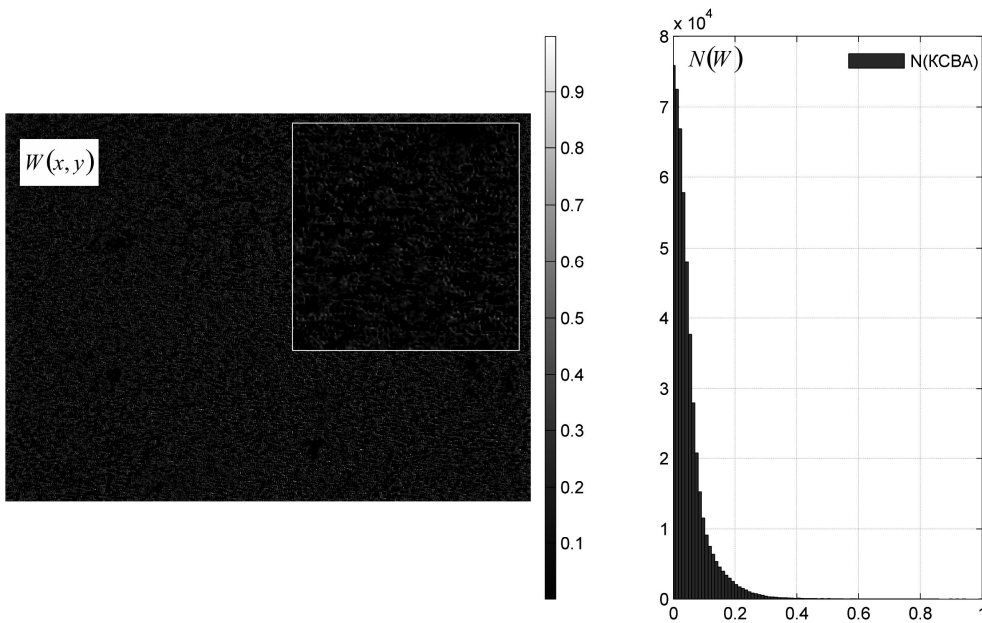




**Рис. 5.16.** Низькочастотна двомірна мапа КСВА лінійного двопротенезаломлення гістологічного зрізу біопсії ендометрія у стані дисплазії і гістограма  $N(W)$  розподілу їх значень



**Рис. 5.17.** Високочастотна двомірна мапа КСВА лінійного двопротенезаломлення гістологічного зрізу біопсії ендометрія у стані ектонії і гістограма  $N(W)$  розподілу їх значень



**Рис. 5.18.** Високочастотна двомірна мапа КСВА лінійного двопроменезаломлення гістологічного зрізу біопсії ендометрія у стані дисплазії і гістограма  $N(W)$  розподілу їх значень

Порівняльний аналіз поляризаційно-кореляційних КСВА-мап гістологічних зрізів біопсії шейки матки виявив наступне:

КСВА  $W_{\gamma, \phi}$  лінійного двопроменезаломлення: Визначено значні відмінності між координатними розподілами значень модуля  $W_{\gamma, \phi}(m \times n)$ , які характеризують лінійне двопроменезаломлення великомасштабних фібрилярних мереж міометрію.

Гістограми  $N(W)$  розподілу значень модуля КСВА зразка у стані дисплазії (рис. 5.16) є більш асиметричними за рахунок зсуву головного екстремуму у бік більших значень  $W_{\gamma, \phi}$ .

Подібні розподіли, визначені для поляризаційно-кореляційної КСВА-мапи зразку у стані ектонії (рис. 5.15), більш симетричні.

Фізично таку структуру координатних розподілів значень модуля КСВА можна пов'язати із зростанням величини фазових зсувів  $\phi \uparrow$ , які формуються лінійно двопроменезадломлюючою мережею міозинових фібрил з групи 2. Внаслідок цього, зростає ступінь

кореляційної узгодженості параметрів (напрями оптичних осей та величини фазових зсувів між ортогональними складовими амплітуди) фазової анізотропії  $\phi(r_1, r_2)$  морфологічно незміненої оптично анізотропної сітки. Тому і зростає ймовірність великих значень у розподілі  $W_{\gamma, \phi}(m \times n)$ , який характеризує оптично анізотропну фібрилярну сітку шару міометрія у стані дисплазії.

Статистично такий процес описується змінами значень набору статистичних моментів 1-го – 4-го порядків  $M_{i=1;2;3;4}(W_{\gamma, \phi})$ , які характеризують розподіли значень модуля КСВА  $W_{\gamma, \phi}(m \times n)$  за умови низькочастотної фільтрації. Для стану дисплазії – зменшується ексцес  $M_4 \downarrow$ , який характеризує гостроту піку гістограм  $N(W_{\gamma, \phi})$ . Інші статистичні моменти, обчислені для такого розподілу, зростають – середнє  $M_1 \uparrow$ , дисперсія  $M_2 \uparrow$  та асиметрія  $M_3 \uparrow$ .

КСВА  $W_\theta$  циркулярного двопроменезаломлення: Механізм формування циркулярного двопроменезаломлення в першу чергу пов'язаний із концентрацією оптично активних молекул колагенів у дрібномасштабній фібрилярній мережі поверхневого шару ендометрію. Проте, застосування високочастотної фільтрації поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень зразків обох типів не виявило значних змін у розподілах випадкових значень модуля КСВА. Гістограми таких розподілів  $N(W_\theta)$ , які характеризують циркулярне двопроменезаломлення колагенових сіток ендометрію у стані ектонії та дисплазії практично співпадають (рис. 5.17 і рис. 5.18). Даний факт можна пов'язати із переважаючим впливом оптично-ізотропної складової ( $W = 0$ ) ендометрію на формування високочастотної складової координатного розподілу значень КСВА мапи.

Для можливого клінічного застосування даного поляризаційно-кореляційного методу детектування слабких змін фазової анізотропії двопроменезаломлюючих фібрилярних мереж з використанням просторово-частотної фільтрації у межах кожної групи зразків визначалися середні множин обчислених випадкових значень статистичних моментів 1-го – 4-го порядків ( $\bar{M}_{i=1;2;3;4}(q)$ ) та стандартні відхилення  $\pm \sigma$  - таблиця 5.7.

**Таблиця 5.7.** Статистичні  $M_{i=1;2;3;4}$  параметри розподілів  $W_{\gamma,\phi}(m \times n)$

$\bar{M}_{i=1;2;3;4}(q)$	$W_{\gamma,\phi}(m \times n)$	
	ектонія $n_1 = 45$	дисплазія $n_2 = 45$
$M_1$	$0,52 \pm 0,044$	$0,64 \pm 0,057$
$M_2$	$0,21 \pm 0,014$	$0,28 \pm 0,016$
$M_3$	$0,56 \pm 0,043$	$0,73 \pm 0,066$
$M_4$	$0,89 \pm 0,077$	$0,72 \pm 0,063$

Порівняльний аналіз одержаних даних виявив найбільші відмінності між середньогруповими значеннями статистичних моментів 3-го і 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли значень модуля КСВА поляризаційно-кореляційних мап великомасштабних лінійно двопротенезаломлюючих фібрилярних сіток підповерхневого шару міометрія  $W(\phi) \Rightarrow \Delta M_3 = 1,37; \Delta M_4 = 1,31$ .

Рівень збалансованої точності діагностичного тесту диференціації запальних, передракових станів тканини шийки матки сягає  $Ac = 70\% - 80\%$ , що відповідає точності диференціації типу сформованих доброякісних (фіброміома) і злоякісних (аденокарцинома) пухлин (розділ 3, параграф 3.4, таблиця 3.5). До речі, рівень збалансованої точності розробленого методу просторово-частотного КСВА-картографування оптично анізотропних мереж біологічних тканин на етапі диференціації сформованих пухлин досягає максимального рівня  $R(\gamma, \phi) \sim 90\% - 95\%$ .

Проте, відомим фактом є поверхнева локалізація більшості раків органів людини. Тому, у найбільш актуальному передраковому періоді виникає необхідність його виявлення та диференціації ступеня важкості.

Одним з найбільш перспективних серед методів оптичної діагностики у цьому напрямку є явище індукованої лазерної автофлуоресценції молекулярних ендогенних флуорофорів біологічних об'єктів. У цьому сенсі відкривається можливість експериментального дослідження не тільки тканинних, але й молекулярних структур.

Іншими словами, застосування з діагностичною метою поляризаційного аналізу явища автофлуоресценції дозволяє перейти від багатомірної поляризаційної мікроскопії до багатомірної лазерної автофлуоресцентної поляриметрії оптично анізотропних біологічних структур.

### 5.5. Висновки до розділу 5

1. Вперше розглянуто застосування вейвлет-аналізу азимутально-незалежних координатних розподілів значень параметрів

$$q = \left\{ \alpha(x, y); \beta(x, y); f_{44}(x, y); \Delta f(x, y) \right\} \text{ багатомірної поляризаційної мікроскопії оптично}$$

анізотропних мереж гістологічних зрізів біологічних тканин і плівок біологічних рідин.

2. Досліджено можливості вейвлет-аналізу двомірних розподілів значень

$$q = \left\{ \alpha(x, y); \beta(x, y); f_{44}(x, y); \Delta f(x, y) \right\} \text{ поляризаційних мап і мюллер-}$$

матричних інваріантів, які характеризують лінійне та циркулярне двопротенезаломлення просторово структурованої фібрилярної сітки міокарда та планарної мережі біохімічних кристалів полікристалічної плівки ліквору. Установлена висока чутливість набору статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли значень амплітуд вейвлет-коефіцієнтів на різних масштабах вікна скануючої

$$\text{розподіли } q = \left\{ \alpha(x, y); \beta(x, y); f_{44}(x, y); \Delta f(x, y) \right\} \text{ МНАТ-функції до змін розподілів}$$

напрямів оптичних осей та фазових зсувів лінійно та циркулярно двопротенезаломлюючих мереж біологічних кристалів.

3. На основі визначених взаємозв'язків між значеннями статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли значень амплітуд вейвлет-коефіцієнтів на різних масштабах МНАТ-функції та розподіли параметрів, що описують механізми фазової анізотропії біологічних шарів, вперше реалізована рання діагностика та диференціація ступеня важкості передракових станів тканини шийки матки із збалансованою точністю  $Ac = 75\%$ , а також диференціація типу і важкості

запального процесу колінного суглоба людини із збалансованою точністю  $Ac = 75\% - 80\%$ .

4. На основі запропонованої моделі узагальненої фазової анізотропії планарних полікристалічних мереж великомасштабних лінійно двопротенезаломлюючих голкоподібних і дрібномасштабних циркулярно двопротенезаломлюючих глибокоподібних кристалів розроблено новий метод поляризаційно-фазової та просторово-частотної фільтрації мікроскопічних зображень полікристалічних плівок біологічних рідин.

5. Знайдено взаємозв'язки між величинами статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують фазові розподіли, сформовані механізмами лінійного та циркулярного двопротенезаломлення полікристалічних плівок біологічних рідин, і фізіологічним станом організму людини. Визначено збалансовану точність ( $Ac = 90\% - 95\%$ ) методу фур'є поляризаційно-фазової фільтрації мікроскопічних зображень полікристалічних плівок біологічних рідин у діагностиці різної патології (плазма крові - передракові стани; синовіальна рідина – запалення колінного суглоба; жовчі – наявність ЖКХ; випіт – гострий і серозний апендицит).

6. У рамках поляризаційно-кореляційного підходу розроблено метод просторово-частотної фільтрації КСВА-мап, які характеризують координатну узгодженість напрямів оптичних осей та величин фазових зсувів між ортогональними лінійно- та циркулярно поляризованими складовими амплітуди лазерного випромінювання, перетвореного полікристалічними мережами біологічних шарів. На цій основі досягнуто високий рівень збалансованої точності діагностичного тесту диференціації запальних, передракових станів тканини шийки матки  $Ac = 75\% - 80\%$ , що відповідає точності диференціації типу сформованих доброякісних (фіброміома) і злоякісних (аденокарцинома) пухлин. Рівень збалансованої точності методу просторово-частотного КСВА-картографування оптично анізотропних мереж біологічних тканин на етапі диференціації сформованих пухлин досягає максимального рівня  $Ac(\gamma, \phi) \sim 90\% - 95\%$ .

Матеріали розділу викладено у роботах [246], [256], [259], [266], [268], [271-273], [277], [286].

## Розділ 6

### БАГАТОФУНКЦІОНАЛЬНА ЛАЗЕРНА АВТОФЛУОРЕСЦЕНТНА ПОЛЯРИМЕТРІЯ ОПТИЧНО АНІЗОТРОПНИХ БІОЛОГІЧНИХ ШАРІВ

#### 6.1. Мюллер-матричне картографування оптично анізотропних молекулярних флуорофорів біологічних тканин при діагностиці раку

У даній частині дисертаційної роботи представлені результати фізичного дослідження поляризаційних проявів лазерної автофлуоресценції оптично-анізотропних структур біологічних тканин.

Запропоновано мюллер-матрична модель опису комплексу механізмів оптичної анізотропії (лінійне і циркулярне двопроменезаломлення, лінійний і циркулярний дихроїзм) таких біологічних шарів.

Визначено взаємозв'язки між параметрами, що описують механізми оптичної анізотропії, та поляризаційними проявами (розподіли азимута та еліптичності поляризації, а також елементів матриці Мюллера) лазерної автофлуоресценції гістологічних зрізів біопсії тканини прямої кишки у різних спектральних областях.

Знайдено величини і діапазони зміни статистичних моментів 1-го-4-го порядків, які описують розподіли азимутально-інваріантних елементів матриць Мюллера автофлуоресценції гістологічних зрізів біопсії тканини прямої кишки.

Визначено інформативність методу лазерної автофлуоресцентної поляриметрії і вперше реалізована диференціація гістологічних зрізів біопсії доброякісних (поліп) і злоякісних (карцинома) пухлин стінки прямої кишки.

##### 6.1.1. Теорія методу лазерної автофлуоресцентної поляриметрії мереж біологічних кристалів

Біологічні тканини представляють собою структурно неоднорідні оптично-анізотропні середовища з поглинанням. Для

опису взаємодії поляризованого світла з такими складними системами необхідні найбільш загальні наближення, що базуються на використанні мюллер-матричного формалізму.

У даний час в біологічних і медичних дослідженнях використовується безліч практичних методик, що базуються на вимірюванні й аналізі матриць Мюллера досліджуваних зразків [1, 3, 4, 8, 136, 141-143, 159, 165, 171].

Паралельно до цього напрямку інтенсивно розвиваються альтернативні спектральні методи, засновані на діагностичному використанні ефектів флуоресценції білкових молекул та їх комплексів. На цій основі одержано хороші по чутливості результати в діагностиці раку органів людини [201-223]. Однак, дана оптична технологія залишається недостатньо точною (специфічною) в диференціації доброякісних і злоякісних станів біологічних тканин. Крім цього, відомі нечисленні публікації, присвячені використанню мюллер-матричного формалізму для аналізу флуоресценції ансамблів оптично активних білкових молекул та їх комплексів [227-229].

Тому перспективним завданням представляється розвиток мюллер-матричної моделі на більш загальний випадок флуоресценції двопротенезаломлюючих мереж оптично активних комплексів біологічних тканин і розробка на цій основі методу спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії.

У цій частині розділу ми обмежимося розглядом спектрально-селективного ( $\lambda_f = 0,63 - 0,65 \text{ мкм}$ ) випадку люмінесценції оптично активних порфіринів біологічної тканини у червоній області спектра.

В основу розробки методу автофлуоресцентної поляризаційної наноскопії оптично-анізотропних біологічних структур покладено такі модельні положення.

Формування лазерної поляризаційної флуоресценції біологічних тканин ґрунтується на:

- механізмах оптично-анізотропного поглинання (лінійний і циркулярний дихроїзм) [130];
- флуоресценції молекул порфірину ("лінійних" осциляторів) і полікристалічних мереж таких молекул ("еліптичних" осциляторів) [227-229];



- механізмах фазової анізотропії (лінійне і циркулярний двопротенезаломлення фібрилярних мереж), які модулюють часові затримки між ортогональними складовими амплітуди флуоресцентного випромінювання "лінійних" та "еліптичних" осциляторів [136].

Зазначений сценарій аналітично можна описати з використанням мюллер-матричного формалізму.

*Поглинання.* Фібрилярні мережі, що утворені оптично активними поліпептидними білковими ланцюжками, характеризуються *лінійним дихроїзмом*. Оптичні прояви такого механізму описує наступна матриця Мюллера [130]

$$\{\Psi\} = \begin{pmatrix} 1 & \psi_{12} & \psi_{13} & 0 \\ \psi_{21} & \psi_{22} & \psi_{23} & 0 \\ \psi_{31} & \psi_{32} & \psi_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \psi_{44} \end{pmatrix}, \text{ де}$$

$$\varphi_{ik} = \frac{1}{1 + \Delta\tau} \times \begin{cases} \psi_{12} = \psi_{21} = (1 - \Delta\tau) \cos 2\gamma; \\ \psi_{13} = \psi_{31} = (1 - \Delta\tau) \sin 2\gamma; \\ \psi_{22} = (1 + \Delta\tau) \cos^2 2\gamma + 2\sqrt{\Delta\tau} \sin^2 2\gamma; \\ \psi_{23} = \psi_{32} = (1 - \sqrt{\Delta\tau})^2 \cos 2\gamma \sin 2\gamma; \\ \psi_{33} = (1 + \Delta\tau) \sin^2 2\gamma + 2\sqrt{\Delta\tau} \cos^2 2\gamma; \\ \psi_{44} = 2\sqrt{\Delta\tau}. \end{cases} \quad (6.1)$$

Тут  $\Delta\tau = \frac{\tau_x}{\tau_y}$ ,  $\tau_x$ ,  $\tau_y$  – коефіцієнти передавання лінійно поляризованих ортогональних складових амплітуди лазерного випромінювання;  $\gamma$  – орієнтація оптичної осі фібрили в площині гістологічного зрізу біологічної тканини.

Наявність спіральної структури білкових молекул формує *циркулярний дихроїзм*, оптичні прояви якого описує наступний матричний оператор [130]

$$\{\Xi\} = \begin{vmatrix} 1 & 0 & 0 & \xi_{14} \\ 0 & \xi_{22} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \xi_{33} & 0 \\ \xi_{41} & 0 & 0 & 1 \end{vmatrix}, \text{ де } \xi_{ik} = \begin{cases} \xi_{22} = \xi_{33} = \frac{1 - \Delta g^2}{1 + \Delta g^2}; \\ \xi_{14} = \xi_{41} = \pm \frac{2\Delta g}{1 + \Delta g^2}. \end{cases} \quad (6.2)$$

Тут  $\Delta g = \frac{g_{\otimes} - g_{\oplus}}{g_{\otimes} + g_{\oplus}}$ ,  $g_{\otimes}$ ,  $g_{\oplus}$  – коефіцієнти передавання для ліво- ( $\otimes$ )

та право- ( $\oplus$ ) циркулярно поляризованих складових амплітуди збуджуючого флуоресценцію лазерного випромінювання.

*Флуоресценція.* Поляризаційні прояви флуоресценції порфіринів (або інших молекулярних комплексів) характеризує матриця Мюллера ансамблів таких молекул, яка наведена у [227-229]

$$\{N\} = \begin{vmatrix} 1 & \eta_{12} & 0 & 0 \\ \eta_{21} & \eta_{22} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \eta_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \eta_{44} \end{vmatrix}, \text{ де } \eta_{ik} = \eta_{11}^{-1} \begin{cases} \eta_{11} = a - b \sin^2 \vartheta; \\ \eta_{12} = \eta_{21} = -b \sin^2 \vartheta; \\ \eta_{22} = b(1 + \cos^2 \vartheta); \\ \eta_{33} = 2b \cos \vartheta; \\ \eta_{44} = 2c \cos \vartheta. \end{cases} \quad (6.3)$$

Тут  $\vartheta$  – кут розсіювання,  $a$  і  $b$  взаємопов'язані константи, які визначаються для системи "лінійних" осциляторів в ізотропному середовищі наступними співвідношеннями

$$a = 0,5(1 + \langle \cos^2 \varepsilon \rangle), \quad (6.4)$$

$$b = 0,25(3\langle \cos^2 \varepsilon \rangle - 1), \quad (6.5)$$

де  $\varepsilon$  – кут між випромінюванням диполя і азимутом поляризації опромінюючого пучка.

У [227-229] визначені два граничних значення  $\langle \cos^2 \varepsilon \rangle$ :

- система колінеарних диполів –  $\langle \cos^2 \varepsilon \rangle = 3/5$ ;
- система випадково орієнтованих диполів –  $\langle \cos^2 \varepsilon \rangle = 1/3$ .

Параметр  $c$  зв'язаний з оптичною активністю молекул. Тут розглядається випромінювання ансамблів (рідкокристалічних ланцюгів) оптично активних молекул як сукупність "еліптичних осциляторів". У граничному випадку величина зазначеного параметра досягає  $c = 5/16$ .

*Фазова модуляція флуоресценції порфіринів.* Сформоване за рахунок механізмів поглинання (співвідношення (6.1), (6.2)) флуоресцентне випромінювання лінійних та еліптичних осциляторів (співвідношення (6.3) - (6.5)) поширюється в об'ємі оптично-анізотропної біологічної тканини. У результаті відбувається модуляція фазових зсувів між ортогонально-поляризованими складовими амплітуди такого випромінювання.

Основними механізмами такої модуляції є оптична активність амінокислот та поліпептидних ланцюгів  $\{A\}$ , а також двопроменезаломлення протеїнових фібрилярних мереж  $\{B\}$  [21, 136]

$$\{A\} = \begin{vmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & a_{22} & a_{23} & 0 \\ 0 & a_{32} & a_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{vmatrix}, \text{ де } a_{ik} = \begin{cases} a_{22} = a_{33} = \cos 2\theta; \\ a_{23} = -a_{32} = \sin 2\theta. \end{cases} \quad (6.6)$$

Тут  $\theta$  – кут повороту площини поляризації флуоресцентного випромінювання.

$$\{B\} = \begin{Bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & b_{22} & b_{23} & b_{24} \\ 0 & b_{32} & b_{33} & b_{34} \\ 0 & b_{42} & b_{43} & b_{44} \end{Bmatrix}, \text{ де } b_{ik} = \begin{cases} b_{22} = \cos^2 2\gamma + \sin^2 2\gamma \cos \phi; \\ b_{23} = b_{32} = \cos 2\gamma \sin 2\gamma (1 - \cos \phi); \\ b_{33} = \sin^2 2\gamma + \cos^2 2\gamma \cos \phi; \\ b_{24} = -b_{42} = \sin 2\gamma \sin \phi; \\ b_{34} = -b_{43} = \cos 2\gamma \sin \phi; \\ b_{44} = \cos \phi. \end{cases} \quad (6.7)$$

Тут  $\phi$  – фазовий зсув між лінійно поляризованими ортогональними компонентами амплітуди флуоресцентного випромінювання.

Враховуючи всі розглянуті механізми оптично анізотропного поглинання лазерного випромінювання та фазової модуляції флуоресцентного випромінювання порфіринів, результуюча матриця флуоресценції біологічної тканини може бути записана наступним чином

$$\{R\} = \{B\}\{A\}\{N\}\{\Psi\}\{\Xi\} = \begin{Bmatrix} 1 & r_{12} & r_{13} & r_{14} \\ r_{21} & r_{22} & r_{23} & r_{24} \\ r_{31} & r_{32} & r_{33} & r_{34} \\ r_{41} & r_{42} & r_{43} & r_{44} \end{Bmatrix}. \quad (6.8)$$

Аналіз матриці (6.8) показує, що елементи  $r_{ik}$  характеризують суперпозицію механізмів лінійного ( $\Delta\tau$ ) та циркулярного ( $\Delta g$ ) дихроїзму; флуоресценції лінійних ( $\eta_{12;21;22;33}$ ) та еліптичних ( $\eta_{44}$ ) осциляторів з наступною фазовою модуляцією такого випромінювання оптично активними молекулами ( $\theta$ ) та двопротенезаломлюючими ( $\phi$ ) сітками.

При цьому виявляється різний інформаційний зміст матричних елементів.

Так, сукупність елементів  $r_{i=1;k=1;2;3;4}(\eta_{12})$  характеризує флуоресценцію лінійних осциляторів, що виникла за рахунок оптично анізотропного поглинання.

Елементи  $r_{i=2;3;k=1;2;3;4}(\eta_{21;22;33})$  описують фазово-модульовану  $(\phi, \theta)$  флуоресценцію лінійних осциляторів.

Нарешті, величини елементів  $r_{i=4;k=1;2;3;4}(\eta_{21;22;33}, \eta_{44})$  несуть комплексну інформацію про флуоресценцію лінійних  $(\eta_{21;22;33})$  та еліптичних  $(\eta_{44})$  осциляторів в оптично анізотропному середовищі з лінійним та циркулярним двоприменезаломленням фібрилярних мереж.

Зауважимо, що практичне використання всіх елементів у виразі (6.8) утруднене. Причиною цьому є азимутальна залежність більшості матричних елементів - у загальному випадку 12 із 16 елементів змінюються при обертанні зразка навколо осі зондування.

Вирішити цю проблему дозволяють дані досліджень [6, 26, 27]. Тут показано, що азимутально-інваріантними, не залежними від кута  $(\Theta)$  повороту зразка, є наступні елементи матриці  $\{R\}$

$$\begin{cases} r_{11}(\Theta) = const; \\ r_{14}(\Theta) = const; \\ r_{41}(\Theta) = const; \\ r_{44}(\Theta) = const; \end{cases} \quad (6.9)$$

Таким чином, експериментально вимірявши за допомогою цифрової камери координатні розподіли значень матричних елементів  $(q \equiv \{r_{14;41}\})$  у зазначеному спектральному діапазоні  $(\lambda_f = 0,63 - 0,65 \text{ мкм})$ , можна отримати азимутально-незалежну інформацію про флуоресценцію порфіринів оптично-анізотропних структур тканин органів людини.

### 6.1.2. Експериментальна реалізація лазерної автофлуоресцентної поляриметрії

У якості об'єктів дослідження використовувалися дві групи оптично тонких (геометрична товщина  $l \approx 20 \text{ мкм}$ , коефіцієнт ослаблення  $\tau \leq 0,1$ ) гістологічних зрізів біопсії доброякісної (поліп -

група 1 - 27 зразків) і злоякісної (карциноми - група 2 - 26 зразків) пухлини тканини прямої кишки.

Експериментальні вимірювання проводилися у стандартному розташуванні стоксполяриметра (розділ 2, параграф 2.4.2, рис. 2.6) з використанням спектрально-селективного "відсікаючого" світлофільтра ( $\lambda_{\max} = 0,63 \text{ мкм}$ ), що розміщувався перед цифровою камерою.

Для збудження автофлуоресценції ми використовували напівпровідниковий "синій" лазер на нітридах галію з довжиною хвилі  $\lambda = 0,405 \text{ мкм}$  і потужністю  $W = 100 \text{ мВт}$ .

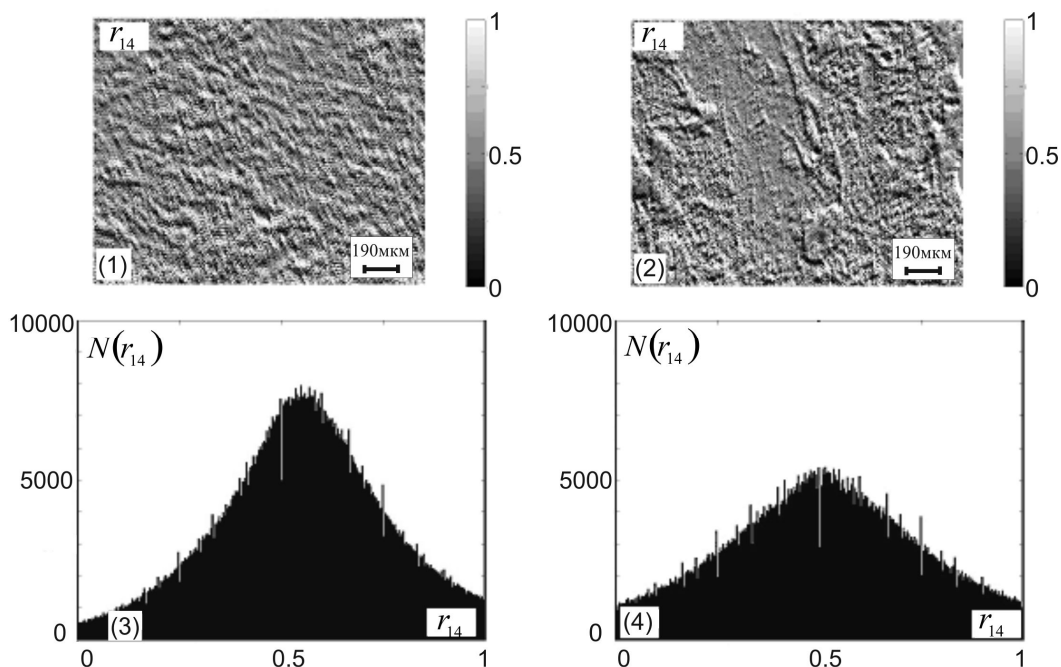
Розраховувався масив ( $m \times n$ ) величин  $q \equiv \{r_{14;41}\}$

$$\begin{cases} r_{14} = S_1^{\otimes} - 0,5(S_1^0 + S_1^{90}); \\ r_{41} = 0,5(S_4^0 + S_4^{90}). \end{cases} \quad (6.10)$$

Тут  $S_{i=1;4}^{0;90;\otimes}$  – параметри вектора Стокса у точках цифрового зображення гістологічного зрізу, виміряні для серії лінійно ( $0^\circ$ ;  $90^\circ$ ) та право- ( $\oplus$ ) циркулярно поляризованих зондуючих лазерних пучків.

На рис. 6.1, рис. 6.2 наведені результати мюллер-матричного картографування лазерної автофлуоресценції ансамблів лінійних ( $r_{14}$  - рис. 6.1) і еліптичних ( $r_{41}$  - рис. 6.2) осциляторів-молекул і полікристалічних ланцюгів порфіринів гістологічних зрізів біопсії доброякісної (фрагменти (1), (3)) і злоякісної (фрагменти (2), (4)) пухлин.

Аналіз координатних розподілів значень мюллер-матричного інваріанта (ММІ)  $r_{14}$  (рис. 6.1, фрагменти (1), (2)), який характеризує процеси перетворення циркулярно поляризованого флуоресцентного випромінювання в лінійно поляризоване (параграф 6.1.1, співвідношення (6.8)), виявляє локалізацію головного екстремуму гістограми  $N(r_{14})$ , визначеної для гістологічного зрізу тканини карциноми, у ділянці менших значень ( $r_{14} \sim 0,5$ ) (рис. 6.1, фрагменти (3) і (4)).



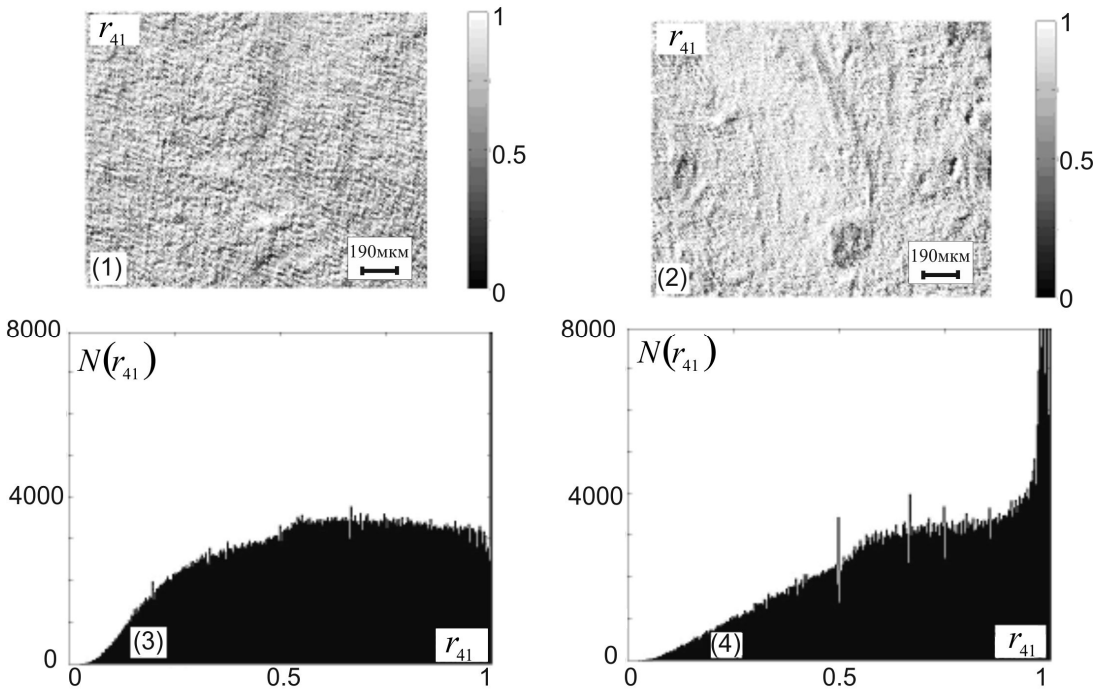
**Рис. 6.1.** Координатні розподіли значень ММІ  $r_{14}$  (фрагменти (1), (2)), гістограми  $N(r_{14})$  (фрагменти (3), (4)) гістологічних зрізів поліпу (фрагменти (1), (3)) і карциноми (фрагменти (2), (4)) прямої кишки

Зворотна картина має місце для розподілів значень ММІ  $r_{41}$  (рис. 6.2, фрагменти (1), (2)), що характеризує процеси перетворення лінійно поляризованого флуоресцентного випромінювання в циркулярно поляризоване (співвідношення (6.8)).

Для гістологічного зрізу злоякісної пухлини характерно збільшення ймовірності екстремальних значень  $r_{41} \rightarrow 1$  (рис. 6.2, фрагмент (4)).

Проаналізуємо отримані результати з фізичної точки зору. У рамках розглянутої нами моделі (параграф 6.1.1, співвідношення (6.1)-(6.9)) флуоресценція порфіринів характеризується набором "лінійних" ( $\eta_{12;21;22;33}(a,b)$ ) і "еліптичних" ( $F_{44}(c)$ ) осциляторів. Зазначені випромінювачі знаходяться в оптично анізотропній матриці з лінійним (співвідношення (6.6)) і циркулярним (співвідношення (6.7)) двопронезаломленням. Відомо [7, 8, 10, 20-22, 136], що орієнтаційно

( $\gamma$ ) - фазова ( $\phi, \theta$ ) структура такої матриці залежить від патології біологічної тканини.



**Рис. 6.2.** Координатні розподіли значень ММІ  $r_{41}$  (фрагменти (1), (2)), гістограми  $N(r_{41})$  (фрагменти (3), (4)) гістологічних зрізів поліпу (фрагменти (1), (3)) і карциноми (фрагменти (2), (4)) прямої кишки

Зокрема, для злоякісних станів характерним є більший рівень розупорядкування за напрямками ( $\Delta\gamma \uparrow$ ) і двопроменезаломлення ( $\Delta n \uparrow$ ) фібрилярної протеїнової мережі.

З іншого боку, в [212, 216, 218, 220] показано, що інтенсивність автофлуоресценції у червоній ділянці спектру зростає по мірі росту і розвитку пухлинного ураження. Це явище може бути пов'язане з рідкокристалічними мережами порфіринів, що накопичуються в тканинах злоякісних новоутворень на різних стадіях їх розвитку. Тому злоякісні стани супроводжуються формуванням, переважаючою над розупорядкованими "лінійними" осциляторами системи



флуоресцентних "еліптичних" випромінювачів

$$\begin{cases} a \downarrow, b \downarrow \rightarrow \eta_{12;21;22;33}(a, b) \downarrow; \\ c \uparrow \rightarrow \eta_{44}(c) \uparrow \end{cases}.$$

Навпаки, для передракових станів характерне переважання більш впорядкованої системи "лінійних" флуоресцентних випромінювачів

$$\begin{cases} a \uparrow, b \uparrow \rightarrow \eta_{12;21;22;33}(a, b) \uparrow; \\ c \downarrow \rightarrow \eta_{44}(c) \downarrow \end{cases}.$$

Вторинна фазова модуляція (співвідношення (6.6),(6.7)) ортогональних складових амплітуди флуоресцентного випромінювання фібрилярними мережами зразків обох типів виявляється у протилежних змінах значень експериментально виміряних мюллер-матричних інваріантів  $r_{14}$  і  $r_{41}$  (співвідношення (6.8)). Оскільки для стану раку характерно зростає двопроменезаломлення ( $\Delta n \uparrow$ ) протейнових структур, то за рахунок збільшення фазового зсуву  $\phi$  (співвідношення (6.7)) зростає величина, пов'язаного з цим MMI  $r_{41} \uparrow$  (співвідношення (6.8)).

Іншими словами, для злоякісних новоутворень реалізується наступний аналітичний сценарій зміни значень MMI

$$\begin{cases} a \downarrow, b \downarrow \rightarrow \eta_{12;21;22;33}(a, b) \downarrow \Rightarrow r_{14} \downarrow; \\ c \uparrow \rightarrow \eta_{44}(c) \uparrow \Rightarrow r_{41} \uparrow \end{cases}.$$

Для тканини у стані доброякісних змін має місце зворотна до онкологічного стану картина

$$\begin{cases} a \uparrow, b \uparrow \rightarrow \eta_{12;21;22;33}(a, b) \uparrow \Rightarrow r_{14} \uparrow; \\ c \downarrow \rightarrow \eta_{44}(c) \downarrow \Rightarrow r_{41} \downarrow \end{cases}.$$

З метою вивчення можливого клінічного використання методики лазерної флуоресцентної поляриметрії були проведені порівняльні випробування даного методу з методом прямого мюллер-матричного картографування двох репрезентативних вибірок гістологічних зрізів зразків з доброякісними та злоякісними змінами. У межах статистично достовірних груп зазначених зразків гістологічних зрізів (довірчий інтервал  $p < 0,001$ ) зразків визначалися:

- усереднені величини і стандартні відхилення статистичних моментів  $M_{i=1;2;3;4}(q)$  - таблиця 6.1 і таблиця 6.3;

- збалансована точність – таблиця 6.2 і таблиця 6.4.

**Таблиця 6.1.** Статистичні моменти 1-го – 4-го порядку, які характеризують розподіли значень ММІ  $r_{14}$  і  $r_{41}$

$M_i$	$r_{14}(\lambda_f)$		$r_{41}(\lambda_f)$	
	Група 1	Група 2	Група 1	Група 2
$M_1$	$0,11 \pm 0,008$	$0,86 \pm 0,079$	$0,14 \pm 0,012$	$0,11 \pm 0,008$
$M_2$	$0,08 \pm 0,007$	$0,26 \pm 0,018$	$0,11 \pm 0,009$	$0,09 \pm 0,007$
$M_3$	$0,92 \pm 0,081$	$0,61 \pm 0,057$	$0,53 \pm 0,048$	$0,79 \pm 0,065$
$M_4$	$1,39 \pm 0,12$	$1,87 \pm 0,16$	$1,04 \pm 0,096$	$1,55 \pm 0,14$

Аналіз наведених даних виявляє чутливість статистичних моментів 3-го і 4-го порядків, які характеризують двомірні розподіли значень  $r_{41}(m \times n)$ , до типу патології тканини прямої кишки. У даному випадку відмінності між їх величинами досягають 50%. З фізичної точки зору, отримані результати можна пов'язати з більшою модуляцією фазових зсувів між лінійно-поляризованими ортогональними складовими амплітуди лазерного випромінювання двопротенезаломлюючою мережею гістологічного зрізу карциноми. Однак, специфічність і точність даного методу виявляються недостатньо високими - таблиця 6.2.

**Таблиця 6.2.** Операційні характеристики методів прямого Мюллер - матричного картографування

$M_i$	$r_{14}(\lambda_f)$			$r_{41}(\lambda_f)$		
	$Se, \%$	$Sp, \%$	$Ac, \%$	$Se, \%$	$Sp, \%$	$Ac, \%$
$M_1$	58	52	55	64	52	53
$M_2$	56	52	54	62	50	56
$M_3$	62	54	58	68	60	64
$M_4$	64	54	59	70	60	65

Як видно (таблиця 6.2) специфічність  $Sp$  і точність  $Ac$  методу прямого азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування полікристалічних фібрилярних мереж гістологічних зрізів поліпа і карциноми не перевищує 60% - 65%.

**Таблиця 6.3.** Статистичні моменти 1-го – 4-го порядку, які характеризують розподіли ММІ  $r_{14}$  і  $r_{41}$  лазерної автофлуоресценції

$M_i$	$r_{14}(\lambda_f)$		$r_{41}(\lambda_f)$	
	Група 1	Група 2	Група 1	Група 2
$M_1$	$0,63 \pm 0,058$	$0,49 \pm 0,031$	$0,68 \pm 0,059$	$0,89 \pm 0,072$
$M_2$	$0,14 \pm 0,012$	$0,18 \pm 0,015$	$0,27 \pm 0,019$	$0,16 \pm 0,013$
$M_3$	$0,33 \pm 0,025$	$0,21 \pm 0,013$	$0,81 \pm 0,077$	$1,69 \pm 0,14$
$M_4$	$0,49 \pm 0,035$	$0,28 \pm 0,015$	$0,67 \pm 0,055$	$1,95 \pm 0,16$

Для статистичних моментів  $M_{i=1;2;3;4}(q)$ , які характеризують розподіли значень ММІ  $r_{14}(\lambda_f)$  і  $r_{41}(\lambda_f)$ , що описують механізми лазерної автофлуоресценції, встановлено такі діапазони міжгрупових відмінностей:

- $r_{14}(\lambda_f)$ :  
 $\Delta M_1 \leftrightarrow 1,28$ ;  $\Delta M_2 \leftrightarrow 1,28$ ;  $\Delta M_3 \leftrightarrow 1,57$ ;  $\Delta M_4 \leftrightarrow 1,75$ ;
- $r_{41}(\lambda_f)$ :  
 $\Delta M_1 \leftrightarrow 1,3$ ;  $\Delta M_2 \leftrightarrow 1,69$ ;  $\Delta M_3 \leftrightarrow 2,08$ ;  $\Delta M_4 \leftrightarrow 2,91$ .

Як видно міжгрупові відмінності між величинами статистичних моментів  $M_{i=1;2;3;4}(r_{41})$  набагато вищі, ніж ті, що були одержані методом прямого азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування оптично-анізотропних фібрилярних мереж (таблиця 6.1).

Одержані результати можна пов'язати з модельним аналізом (співвідношення (6.1) - (6.8)) явища флуоресценції порфіринів, які знаходяться у середовищі з амплітудною та фазовою анізотропією.

Згідно такого аналізу онкологічний стан біологічної тканини характеризується формуванням системи флуоресцентних "еліптичних" випромінювачів ( $\eta_{41} \uparrow$ ) і зростанням двопротенезаломлення фібрилярної мережі карциноми ( $r_{41} \uparrow$ ). Тому має місце зміщення ( $r_{41} \rightarrow 1$ ) головного екстремуму гістограми  $N(r_{41})$ . За рахунок цього суттєво зростають середнє значення ( $M_1 \uparrow$ ), асиметрія ( $M_3 \uparrow$ ) та ексцес ( $M_4 \uparrow$ ), які характеризують розподіли

значень даного MMI. У результаті збільшуються діапазони міжгрупових відмінностей між величинами зазначених статистичних моментів. Тому має місце підвищення інформативності методу азимутально-інваріантного мюллер-матричного флуоресцентного картографування гістологічних зрізів таких зразків - таблиця 6.4.

**Таблиця 6.4.** Операційні характеристики азимутально-інваріантного методу мюллер-матричного флуоресцентного картографування

$M_i$	$r_{14}(\lambda_f)$			$r_{41}(\lambda_f)$		
	$Se, \%$	$Sp, \%$	$Ac, \%$	$Se, \%$	$Sp, \%$	$Ac, \%$
$M_1$	66	58	62	68	60	64
$M_2$	68	54	61	72	62	67
$M_3$	74	66	70	92	78	85
$M_4$	82	70	76	94	82	88

Таким чином, азимутально-інваріантне мюллер-матричне картографування флуоресценції порфіринів оптично-анізотропних фібрилярних мереж виявилось ефективним в диференціальній діагностиці доброякісних (поліп) і злоякісних (карцинома) станів тканини прямої кишки –  $r_{14}$  ( $Ac = 70\% - 76\%$ ) і  $r_{41}$  ( $Ac = 85\% - 88\%$ ).

Наступним кроком досліджень у цьому напрямку було виявлення можливостей автофлуоресцентної диференціації поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень біологічних шарів із слабкими змінами оптичної анізотропії, які обумовлені іншою патологією:

- некротичні зміни міокарду та виявлення гострої коронарної недостатності;
- передракові стани тканини та слизової шийки матки.

## 6.2. Лазерна автофлуоресцентна поляриметрія порфіринів

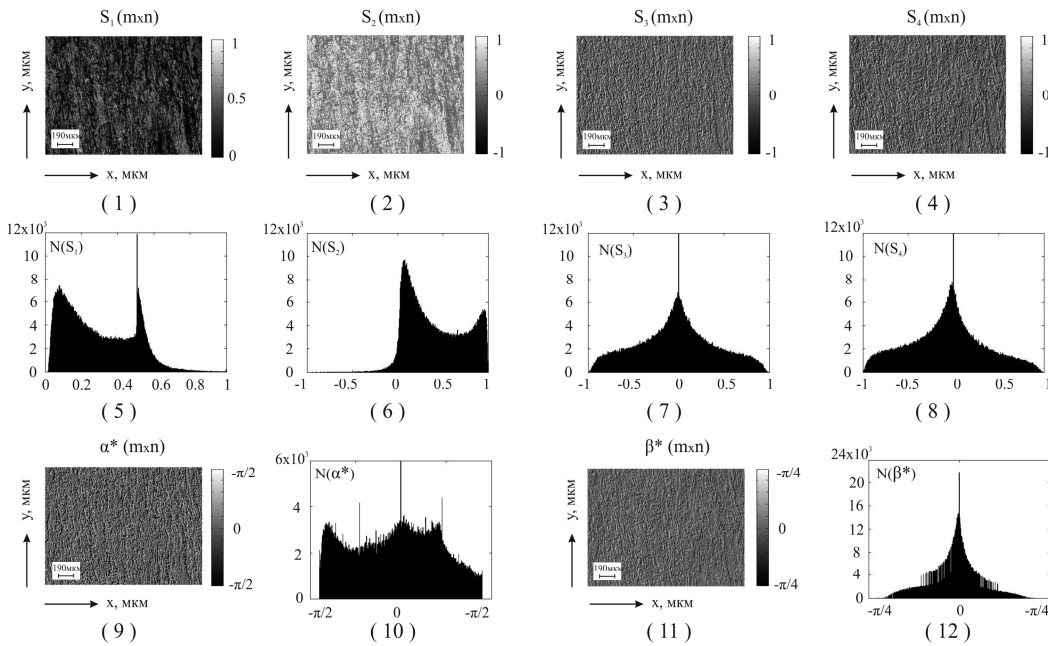
Серед численних напрямків такої діагностики ми виділили такі:

- посмертна діагностика гострого коронарного синдрому - є провідною темою в морфологічних [3] та судово-медичних [172] дослідженнях;
- диференціація доброякісних (дисплазія) і злоякісних (мікроінвазивний рак) станів ендометрію шийки матки, які займають одну з лідируючих позицій в структурі онкологічної захворюваності жіночої репродуктивної сфери;
- "цитологічний скринінг слизової" – первинне виявлення ранніх форм раку ендометрію шийки матки, що зменшує кількість необґрунтованих біопсій, які можуть вести до травмування, місцевої запальної реакції, а також ризику розвитку раку шийки матки.

У цій частині нашої роботи ми зосередимося на розгляді окремого спектрально-селективного діапазону – люмінесценції двопротенезаломлюючих порфіринів біологічних шарів у червоній ділянці спектру -  $\lambda_f = 0,63\text{мкм} - 0,65\text{мкм}$ .

### 6.2.1. Поляризаційна структурність автофлуоресцентних мікроскопічних зображень біологічних шарів

На рис. 6.3 представлені результати дослідження поляризаційної структурності автофлуоресцентних зображень гістологічного зрізу міокарда. Тут наведені двомірні розподіли значень параметрів вектора Стокса  $S_{i=1,2,3,4}^0(m \times n)$  (фрагменти (1) - (4)), поляризаційні карти значень азимута  $\alpha(m \times n)$  і еліптичності  $\beta(m \times n)$  (фрагменти (9), (11)), а також гістограми  $N(S_i)$  (фрагменти (5) - (8)) і  $N(\alpha, \beta)$  розподілів таких значень (фрагменти (10), (12)).



**Рис. 6.3.** Двовірні вектор-параметричні зображення ((1)-(4)), поляризаційні мапи ((9),(11))і та гістограми розподілів значень параметрів вектора Стокса ((5)-(8)) та поляризаційних параметрів ((10)-(12)) автофлуоресцентних мікроскопічних зображень гістологічного зрізу міокарда. Пояснення у тексті

З отриманих даних видно, що автофлуоресцентне мікроскопічне зображення гістологічного зрізу міокарда поляризаційно-неоднорідне. На даний факт вказує широкий діапазон зміни випадкових значень параметрів вектора  $-1 \leq S_{i=2,3,4} \leq 1$ , обчислених у межах сукупності пікселів світлочутливої площадки цифрової камери (рис. 6.3, фрагменти (1) - (4)).

Поляризаційну структуру такого мікроскопічного зображення ілюструють карти двовірних розподілів значень азимута  $\alpha(x, y)$  і еліптичності  $\beta(x, y)$  поляризації (рис. 6.3, фрагменти (9), (11)).

Кількісно поляризаційні карти характеризують гістограми  $N(\alpha^*)$ ;  $N(\beta^*)$  розподілів випадкових значень азимута та еліптичності поляризації (рис. 6.3, фрагменти (10), (12)).

Як видно, мікроскопічне зображення гістологічного зрізу тканини міокарда характеризується практично рівномірним розподілом значень азимута поляризації (рис. 6.3, фрагменти (9), (10)). Карта еліптичності поляризації такого зображення, навпаки (рис. 6.3, фрагмент (11)), характеризується розподілом  $N(\beta^*)$  значень даного параметру з яскраво вираженим екстремумом ( $N(\beta^* = 0) = \max$ ) і швидко спадаючими симетричними "крилами" (рис. 6.3, фрагмент (12)).

Проведений аналіз автофлуоресцентних мікроскопічних зображень гістологічних зрізів інших біологічних тканин, а також цитологічних мазків слизової шийки матки також виявив поляризаційну структурність.

Фізично такий факт можна пояснити розробленими (параграф 6.1.1) модельними уявленнями (співвідношення (6.1) - (6.7)) про механізми флуоресценції молекулярних комплексів, які знаходяться у середовищі з амплітудною та фазовою анізотропією.

Згідно такої моделі, поглинене фібрилярними (поліпептидні ланцюжки комплексів молекул міозину і порфірину тканини міокарда, рідкокристалічні мережі порфіринів слизової шийки матки) сітками, лазерне випромінювання (співвідношення (6.3)) збуджує автофлуоресценцію молекул порфіринів. Індуковане таким чином автофлуоресцентне випромінювання поширюється у двопротинезаломлюючому середовищі (співвідношення (6.2)) та поляризаційно-модулюється (співвідношення (6.4)) за рахунок формування різних фазових зсувів між ортогональними лінійно- та циркулярно поляризованими складовими амплітуди.

У результаті формується автофлуоресцентне зображення такого оптично-анізотропного шару з випадково розподіленими величинами азимута  $\alpha^*$  (співвідношення (6.6)) і еліптичності  $\beta^*$  (співвідношення (6.7)) поляризації.

Діапазони зміни значень поляризаційних параметрів визначаються розподілами напрямків оптичних осей  $\gamma$  і фазових зсувів  $\phi$  біологічних кристалітів.

У цьому сенсі привабливою видається перспектива діагностичного використання параметрів, які характеризують

поляризаційні мапи автофлуоресцентних мікроскопічних зображень біологічних шарів.

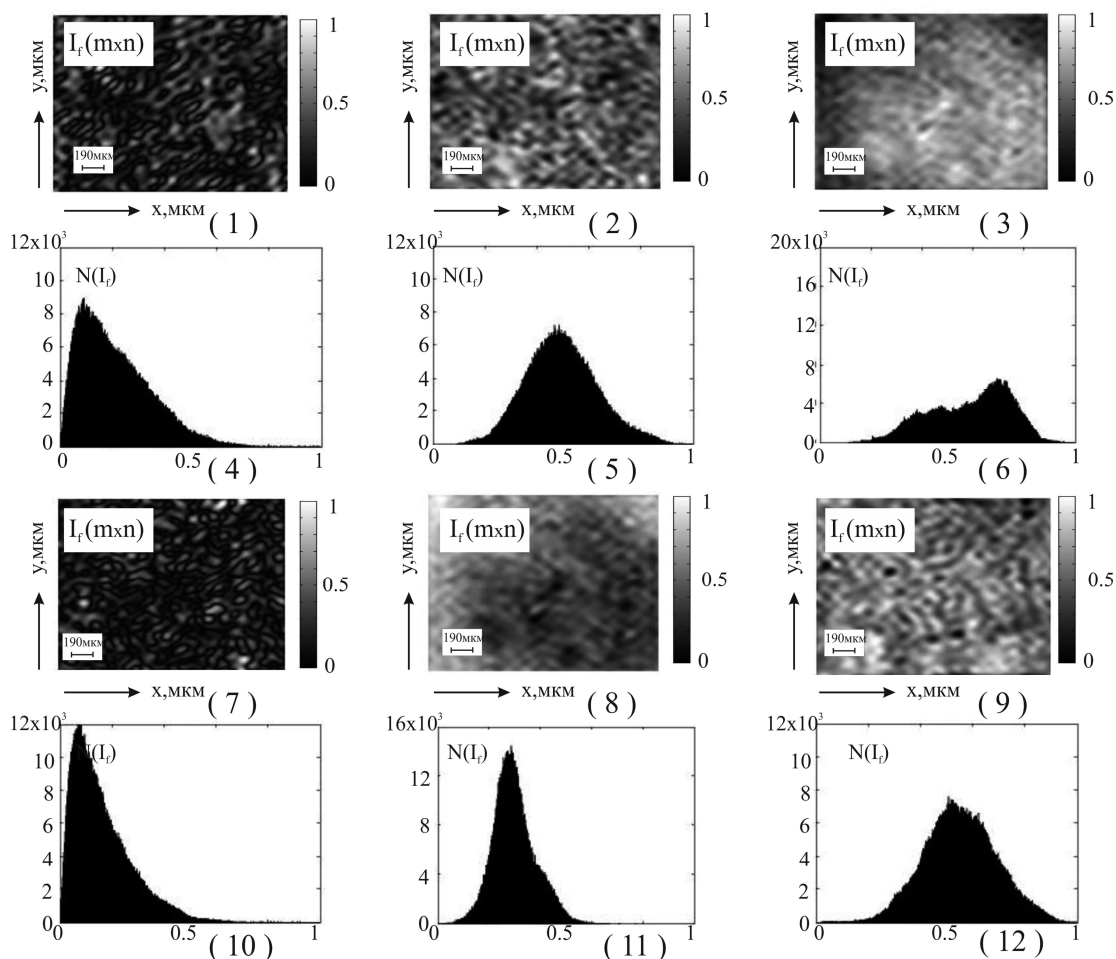
Проте, головним стримуючим фактором клінічного використання поляризаційного картографування виявляється азимутальна залежність результатів даного метода від зміни кута повороту зразка або зміни стану поляризації опромінюючого пучка (розділ 3, параграф 3.2).

Як альтернативу методу традиційного поляризаційного картографування, ми використали явище лінійного дихроїзму біологічних шарів. Для фібрилярних і рідкокристалічних структур біологічних кристалів рівень поглинання залежить від стану поляризації, зонduючого такі фібрилярні мережі, лазерного пучка (співвідношення (6.3)). Тому квантовий вихід і інтенсивність автофлуоресценції  $I_f$  виявляються різними або поляризаційно-залежними.

Нами визначені аналітичні умови поляризаційної оптимізації даного процесу поляризаційного поглинання збуджуючого флуоресценцію лазерного випромінювання (співвідношення (6.8) - (6.10)).

Одержані результати експериментальної реалізації методу поляризаційно-варіабельної автофлуоресценції наведено на рис. 6.4.





**Рис. 6.4.** Поляризаційно-залежні двовірні розподіли гістограми та гістограми значень інтенсивності автофлуоресцентних мікроскопічних зображень біологічних шарів. Пояснення у тексті

Аналіз автофлуоресцентних мікроскопічних зображень біологічних шарів (гістологічний зріз міокарда та цитологічний мазок шийки матки) обох типів (рис. 6.4) підтвердив проведений нами модельний аналіз механізмів формування автофлуоресценції молекулярних комплексів у оптично-анізотропному середовищі (6.1) - (6.7) та її поляризаційної оптимізації (6.8) - (6.10).

Виявлена суттєва залежність інтенсивності  $I_f(m \times n)$  автофлуоресценції у точках мікроскопічного зображення зразків

біологічних шарів різних типів від величини азимута поляризації  $\alpha_0$  опромінюючого лазерного пучка.

Поляризаційні відмінності між локалізацією екстремумів гістограм  $N(I_f)$  розподілів випадкових значень інтенсивності автофлуоресцентних мікроскопічних зображень складають діапазон  $\Delta I_{\max} = 4,5 \div 7,2$  рази (тканина міокарда - фрагменти (4) - (6)) і  $\Delta I_{\max} = 2,9 \div 5,5$  рази (цитологічний мазок - фрагменти (10) - (12)).

Найбільш інтенсивними виявляються автофлуоресцентні мікроскопічні зображення біологічних шарів, які отримані для оптимального значення азимута  $\bar{\alpha}_0$  (рис. 6.4, фрагменти (6), (12)) опромінюючого лазерного пучка.

Головні екстремуми гістограм  $N(I_f)$  розподілів випадкових значень інтенсивності таких автофлуоресцентних мікроскопічних зображень локалізовані в області інтенсивності для гістологічного зрізу тканини міокарда  $I_{\max} = 0,75$ ; для цитологічного мазку слизової шийки матки  $I_{\max} = 0,52$ .

Запропонований підхід був апробований у ряді клінічних завдань онкології та судової медицини: "флуоресцентна біопсія" міокарда, ендометрію шийки матки, а також "флуоресцентна цитологія" - первинне виявлення і диференціація ранніх форм раку (дисплазія - мікроінвазивний рак) шийки матки.

Зауважимо, що даний метод відрізняє об'єктивність і експресність (до 15 хв) у порівнянні з традиційним гістологічним дослідженням.

### 6.2.2. Поляризаційно-варіабельна автофлуоресцентна біопсія

У даному параграфі наведено результати вивчення діагностичних можливостей на основі застосування методу поляризаційно-варіабельної автофлуоресцентної біопсії у диференціації змін оптичної анізотропії наступних груп біологічних шарів:

- гістологічні зрізи міокарда померлих внаслідок ішемічної хвороби серця (ІХС) - група 1;

- гістологічні зрізи міокарда померлих внаслідок гострої коронарної недостатності (ГКН) - група 2.
- гістологічні зрізи ендометрія у стані дисплазії - група 3;
- гістологічні зрізи ендометрія з мікроінвазивним раком - група 4.

Методика поляризаційно-варіабельної лазерної автофлуоресценції базується на модельних уявленнях явища автофлуоресценції (параграф 6.1.1, співвідношення (6.1)-(6.9)) і включає в себе наступні етапи:

1. Вимірювання матриці Мюллера  $\{R\}$ , що характеризує біологічні шари різної морфологічної будови та фізіологічного стану.
2. Шляхом зміни азимута поляризації  $\alpha_0$  опромінюючого пучка можна мінімізувати вплив лінійного дихроїзму (співвідношення (6.3)) за умови

$$\alpha_0^* = \gamma \pm 0.25\pi \rightarrow \Delta\tau = 1. \quad (6.11)$$

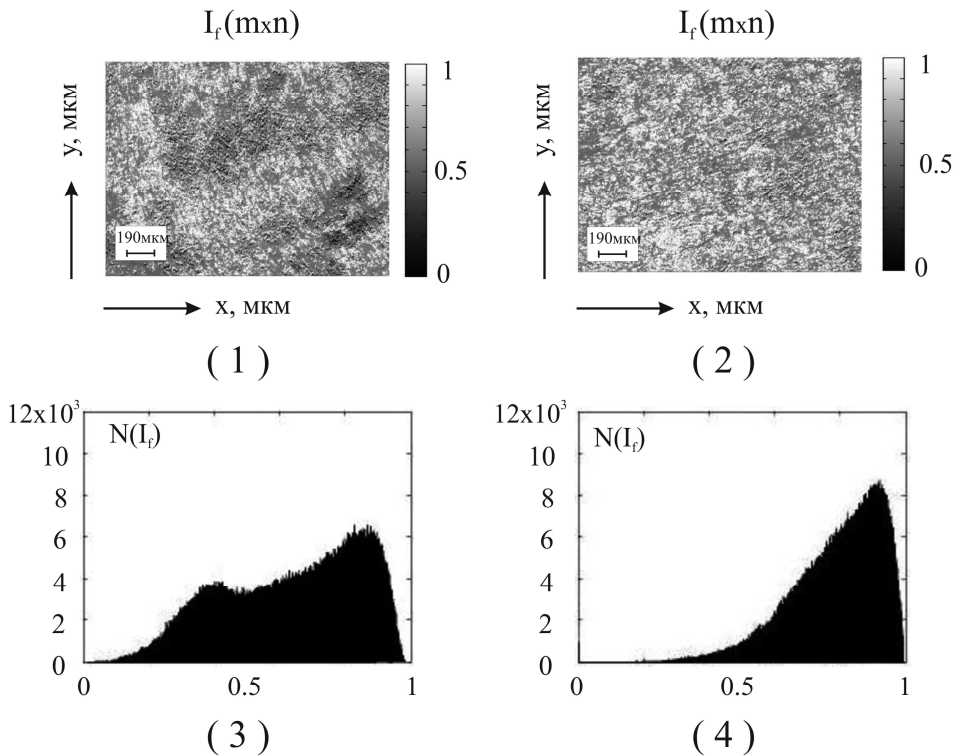
Індикатором реалізації умови (6.11) є мінімізація величини еліптичності поляризації

$$\beta_{\min}^* = 0,5 \arcsin(r_{42} \cos 2\alpha_0^* + r_{43} \sin 2\alpha_0^*). \quad (6.12)$$

3. Опромінення зразка біологічної тканини плоскополяризованим (з азимутутом  $\alpha_0^*$ ) лазерним пучком.
4. Вимірювання розподілу значень інтенсивності  $(I_f(\alpha_0^*))$  в площині автофлуоресцентного мікроскопічного зображення досліджуваного біологічного шару.
5. Статистичний аналіз розподілів значень інтенсивності автофлуоресцентного мікроскопічного зображення досліджуваного біологічного шару.

Діагностичні можливості методики поляризаційно-варіабельної лазерної автофлуоресценції ілюструється даними, представленими на рис. 6.5 (група 1 і група 2) і рис. 6.6 (група 3 і група 4).

Тут представлені автофлуоресцентні зображення  $I_f(m \times n)$  (фрагменти (1), (3)) та гістограми розподілів значень інтенсивності  $N(I_f)$  (фрагменти (2), (4)), що отримані для оптимального стану поляризації  $\bar{\alpha}_0$  зонduючого біологічний шар лазерного пучка.

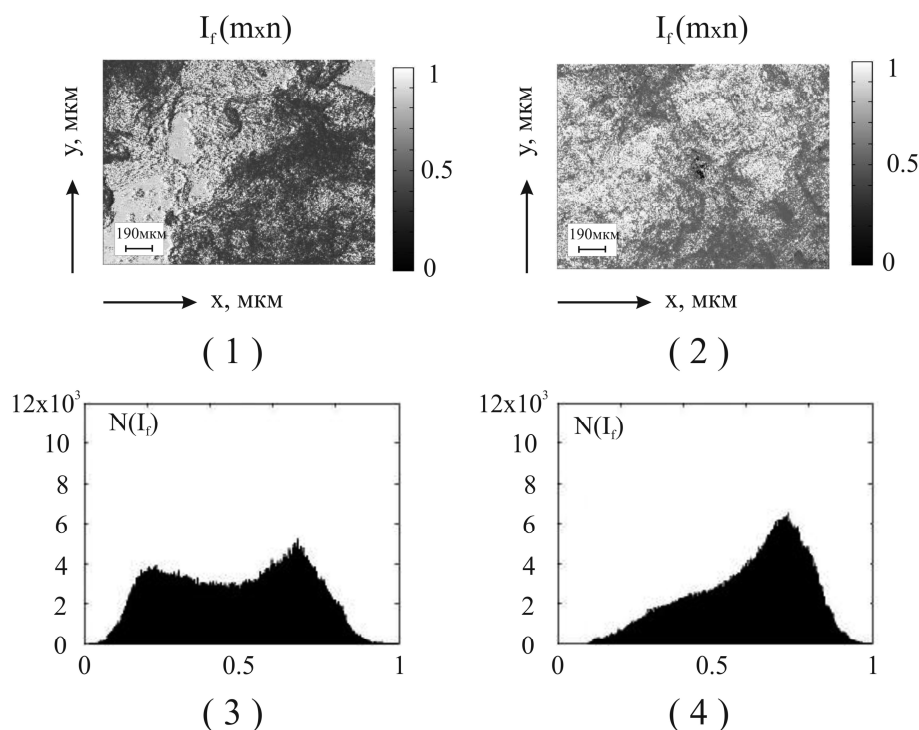


**Рис. 6.5.** Двомірні розподіли інтенсивності ((1),(2)) і гістограми розподілів значень інтенсивності ((3),(4)) автофлуоресцентних мікроскопічних зображень біологічних шарів групи 1 і групи 2. Пояснення у тексті

З отриманих даних видно (рис. 6.5, рис. 6.6), що для різних станів поляризації опромінюючого пучка формуються різні розподіли значень інтенсивності у відповідних мікроскопічних зображеннях біологічних шарів (фрагменти (3), (4)).

Проаналізуємо отримані результати з фізичної точки зору. З розглянутих модельних уявлень випливає, що для одного детермінованого напрямку укладання протеїнової фібрили можна

визначити єдину величину оптимального азимута поляризації ( $\alpha_0^*$ ) збуджуючого автофлуоресценцію лазерного пучка.



**Рис. 6.6.** Двомірні розподіли інтенсивності ((1),(2)) і гістограми розподілів значень інтенсивності ((3),(4)) автофлуоресцентних мікроскопічних зображень біологічних шарів групи 3 і групи 4. Пояснення у тексті

У статистичному сенсі така умова (співвідношення (6.10)) визначається як  $\delta$  – функція, що незалежна від наявності розподілу напрямків укладання фібрил. В той же час, у площині гістологічних зрізів зразків реальних біологічних тканин (групи 1 - 4), реалізується широкий спектр напрямків укладання білкових волокон. Тому стає зрозумілим, що чим більш розупорядкована за напрямками укладання фібрил протеїнова мережа, то тим меншою є поляризаційна залежність інтенсивності лазерної автофлуоресценції і, навпаки.

Розглянемо можливості методу лазерної поляризаційно-варіабельної автофлуоресценції для різної патології біологічних тканин.

*Некротичні зміни.* У площині гістологічних зрізів зразків реальних тканин міокарда (група 1 і група 2), також реалізується широкий спектр напрямків укладання міозинових волокон. Зазначимо, що будова фібрилярної мережі обох типів зразків схожа.

З іншого боку, для тканини міокарда померлого з групи 2 (ГКН) концентрація порфірину є більш високою. Цей факт можна пояснити меншими дегенеративно-дистрофічними змінами, що мають місце для такої патології. Ось чому інтенсивність авто флуоресценції даного зразка для оптимальних умов поляризації зондування виявляється вищою. Кількісно це проявляється у збільшенні півширини гістограми  $N(I_f)$  розподілів значень інтенсивності автофлуоресценції у точках мікроскопічного зображення та зсуві екстремуму даного розподілу в сторону більших значень  $I_f$  (рис. 6.5, фрагмент (4)).

*Онкологічні зміни.* Фібрилярна мережа ендометрія з мікроінвазивним раком (група 4) є більш детермінована у напрямках укладання у порівнянні з тканиною, що знаходиться у стані дисплазії. Така різниця обумовлена новими напрямками фібрилярного росту протейнових волокон злоякісної пухлини.

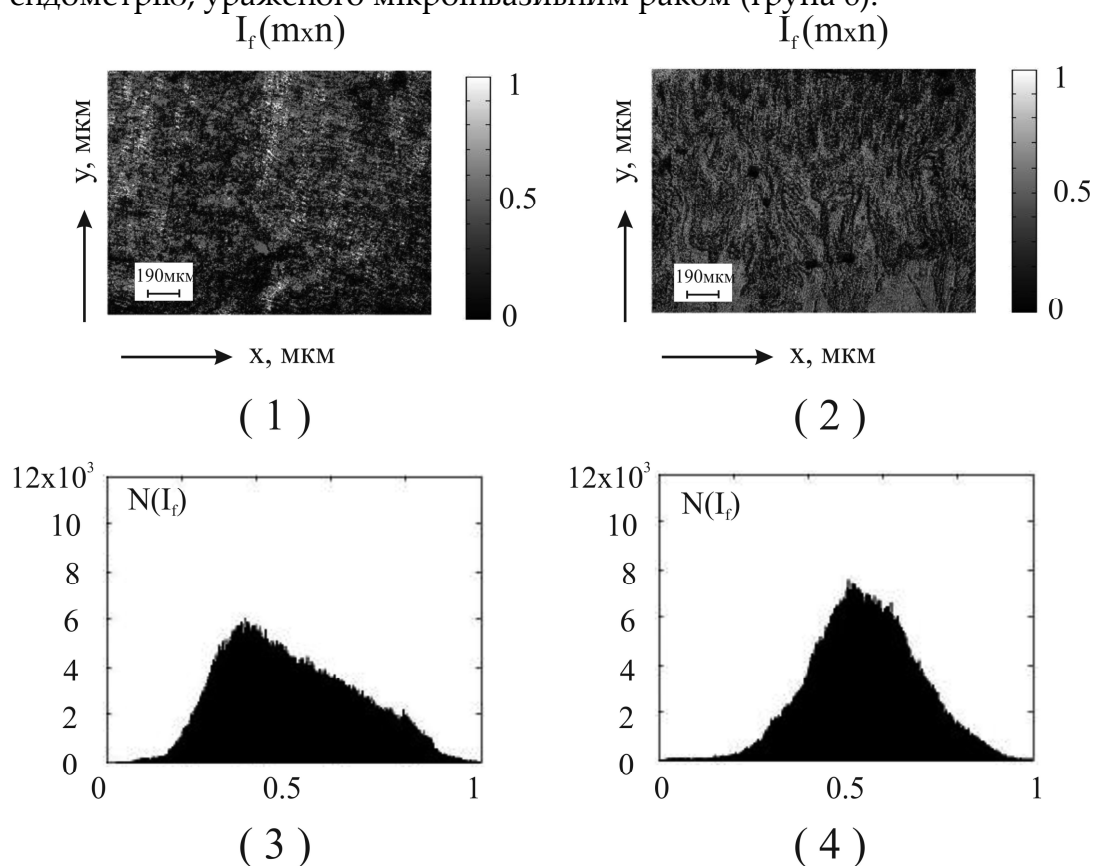
Серед них формується певний переважний напрямок такого росту. Він визначає максимальне поглинання лінійно поляризованого з азимутом  $\alpha_0^*$  лазерного випромінювання, що збуджує флуоресценцію.

Крім цього, у [215, 216, 218, 220] показано, що автофлуоресценція у червоній області спектра зростає у відповідності з ростом і розвитком пухлинного ураження. Таке явище може бути пов'язане із збільшенням концентрації порфіринів, що накопичуються у тканинах злоякісних новоутворень на різних стадіях їх розвитку.

Тому, інтенсивність поляризаційної автофлуоресценції гістологічного зрізу біопсії тканини шийки матки у стані мікроінвазивного раку є вищою в порівнянні із зразком ендометрія з 3 групи, що перебуває у стані дисплазії (рис. 6.5, фрагмент (4)).

### 6.2.3. Поляризаційно-варіабельна автофлуоресцентна цитологія

Порівняльний аналіз отриманих автофлуоресцентних мікроскопічних зображень цитологічних мазків слизової шийки матки обох типів патології (рис. 6.7, фрагменти (1), (2)) виявив більш інтенсивну флуоресценцію порфіринів слизу, взятої з поверхні ендометрію, ураженого мікроінвазивним раком (група 6).



**Рис. 6.7.** Двомірні розподіли інтенсивності ((1),(2)) і гістограми розподілів значень інтенсивності ((3),(4)) автофлуоресцентних мікроскопічних зображень цитологічних мазків групи 5 і групи 6. Пояснення у тексті

Кількісно відмінності між зразками цитологічних мазків слизу шийки матки обох типів патології (групи 5 і 6) ілюструють гістограми розподілу випадкових значень інтенсивності відповідних

автофлуоресцентних мікроскопічних зображень (рис. 6.7, фрагменти (3), (4)).

Як видно для зразка слизу пацієнта з групи 6 гістограма розподілу значень  $N(I)$  характеризується більшою півшириною і зміщеним в сторону більших значень інтенсивності екстремумом (рис. 6.7, фрагмент (4)).

З фізичної точки зору, отримані дані можна пов'язати з впливом на розподіл інтенсивності мікроскопічного зображення автофлуоресценції полікристалічних мереж порфіринів. Для злоякісних станів шийки матки (група 6) концентрація таких ендогенних флуорофорів є великою [215, 216, 218, 220]. Тому дихроїзм таких оптично анізотропних шарів є більшим за дихроїзм мазків слизу ендометрію шийки матки у стані дисплазії (група 5). Відповідно до цього інтенсивність поляризаційної автофлуоресценції для  $\bar{\alpha}_0 = \gamma^*$  цитологічних мазків слизової з мікроінвазивним раком є більшою.

На наступному етапі були проведені статистичні порівняльні дослідження виявлених відмінностей між поляризаційними автофлуоресцентними мікроскопічними зображеннями біологічних шарів всіх типів (таблиці 6.5 і 6.6, рис. 6.8).

З цією метою в межах кожної з шести груп було досліджено  $n = 63$  зразків. Величина репрезентативної вибірки перевірялася методом перехресної перевірки. Встановлено, що величина середньоквадратичного відхилення середньої величини статистичних моментів  $M_{i=1;2;3;4}$  не перевищує 0,025. Даний рівень відповідає величині статистично достовірного довірчого інтервалу  $p < 0,05$ .

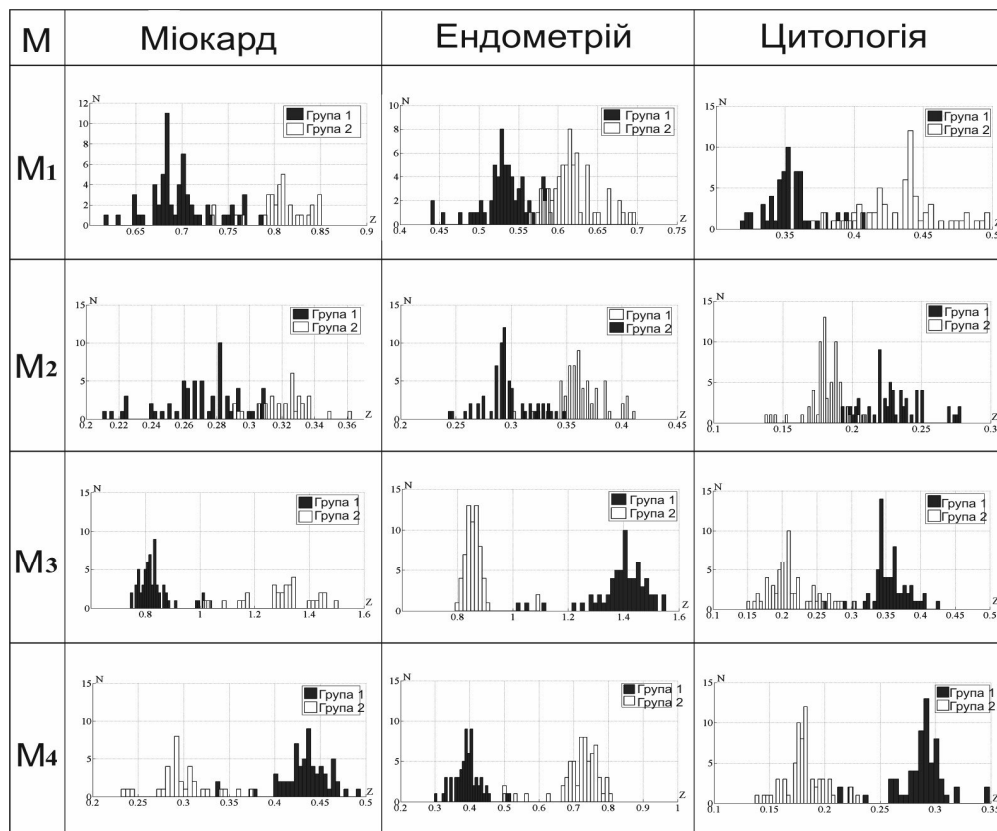
Диференціація зразків біологічних шарів усіх груп здійснювалася шляхом перехресного порівняння чотирьох гістограм розподілів значень статистичних моментів 1-го – 4-го порядків  $M_{i=1;2;3;4}(I_f)$ , які характеризують двомірні множини величини інтенсивності автофлуоресцентних мікроскопічних зображень - рис. 6.8.



**Таблиця 6.5.** Середні ( $\overline{M}_{i=1;2;3;4}$ ) і стандартні відхилення ( $\pm \sigma$ ) статистичних моментів  $M_{i=1;2;3;4}$ , які характеризують розподіли значень інтенсивності автофлуоресцентних мікроскопічних зображень

$M_{i=1;2;3;4}$	міокард ( $n_1 = n_2 = 63$ )		ендометрій ( $n_1 = n_2 = 63$ )		цитологія ( $n_1 = n_2 = 63$ )	
	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4	Група 5	Група 6
$M_1$	$0,69 \pm 0,1$ 8	$0,81 \pm 0,2$ 2	$0,53 \pm 0,1$ 6	$0,62 \pm 0,18$	$0,35 \pm 0,07$ 1	$0,44 \pm 0,0$ 81
$M_2$	$0,27 \pm 0,0$ 49	$0,33 \pm 0,0$ 57	$0,36 \pm 0,0$ 41	$0,29 \pm 0,07$ 2	$0,23 \pm 0,05$ 2	$0,18 \pm 0,0$ 32
$M_3$	$0,81 \pm 0,2$ 3	$1,31 \pm 0,4$ 2	$1,41 \pm 0,3$ 9	$0,86 \pm 0,24$	$0,36 \pm 0,11$	$0,21 \pm 0,0$ 39
$M_4$	$0,43 \pm 0,1$ 2	$0,29 \pm 0,0$ 9	$0,39 \pm 0,1$	$0,73 \pm 0,22$	$0,29 \pm 0,09$	$0,18 \pm 0,0$ 24

Якщо середнє значення статистичного моменту  $\overline{M}_i(I_f)$ , який характеризує розподіл значень інтенсивності автофлуоресцентних мікроскопічних зображень зразків біологічних шарів у групах 1; 2; 3 лежить поза стандартного відхилення  $\sigma$  груп 2; 4; 6, то відмінність вважається статистично достовірною. При цьому актуальним виявляється аналіз області перекриття випадкових значень статистичних моментів  $M_{i=1;2;3;4}(I_f)$ , які визначають чутливість  $Se$ , специфічність  $Sp$  і збалансовану точність  $Ac$  діагностичного методу диференціації змін оптичної анізотропії на основі методу поляризаційно-варіабельної автофлуоресценції, - таблиця 6.5.



**Рис. 6.8.** Гістограми розподілу значень статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують двовимірні автофлуоресцентні зображення біологічних шарів всіх типів

Порівняльний аналіз отриманих даних (таблиця 6.5, рис. 6.8) показав, що відмінності між величинами середніх значень статистичних моментів 1-го – 4-го порядків  $\bar{M}_{i=1;2;3;4}(I_f)$  є статистично достовірними для всіх груп зразків різної морфологічної будови та фізіологічного стану. Разом з тим для всіх гістограм  $N(\bar{M}_i)$  розподілів випадкових значень статистичних моментів всіх порядків має місце міжгрупове перекриття.

Визначені наступні кількісні міжгрупові відмінності між значеннями статистичних моментів  $\bar{M}_{i=1;2;3;4}(I_f)$ , які характеризують двовимірні масиви величин інтенсивності точок автофлуоресцентних мікроскопічних зображень біологічних шарів всіх груп:

- *Міокард* – максимальна відмінність між величинами статистичних моментів  $\bar{M}_{i=1;2;3;4}$  складає 
$$\begin{cases} \Delta M_1 = 1,17; \\ \Delta M_2 = 1,22; \\ \Delta M_3 = 1,62; \\ \Delta M_4 = 1,79. \end{cases}$$
- *Ендометрій* – максимальна відмінність між величинами статистичних моментів  $\bar{M}_{i=1;2;3;4}$  складає 
$$\begin{cases} \Delta M_1 = 1,16; \\ \Delta M_2 = 1,24; \\ \Delta M_3 = 1,64; \\ \Delta M_4 = 1,87. \end{cases}$$
- *Цитологічний мазок* – максимальна відмінність між величинами статистичних моментів  $\bar{M}_{i=1;2;3;4}$  складає 
$$\begin{cases} \Delta M_1 = 1,26; \\ \Delta M_2 = 1,28; \\ \Delta M_3 = 1,71; \\ \Delta M_4 = 1,61. \end{cases}$$

Виявлено, що найбільш чутливими ( $\Delta M_{i=1;2;3;4}(I_f) = \max$ ) до змін оптичної анізотропії полікристалічної структури, обумовленої різноманітними некротичними, патологічними станами біологічних шарів всіх типів, є значення статистичних моментів 3-го і 4-го порядків, які характеризують асиметрію та гостроту піку гістограм  $N(I_f)$  розподілів інтенсивності відповідних автофлуоресцентних мікроскопічних зображень, які одержані поляризаційно-варіабельним методом.

З іншого боку, чим більша відмінність між екстремальними міжгруповими значеннями статистичних моментів  $\Delta M_{i=1;2;3;4}(I_f)$ , тим менше "перекриття" розподілів випадкових значень гістограм  $N(I_f)$  (рис. 6.8).

Тому метод поляризаційно-варіабельної флуоресценції, що базується на обчисленні таких статистичних моментів, які характеризують розподіли інтенсивності відповідних автофлуоресцентних зображень біологічних шарів усіх груп, стає більш інформативним ( $Se \uparrow$ ;  $Sp \uparrow$ ;  $Ac \uparrow$ ) - таблиця 6.6.

**Таблиця 6.6.** Операційні характеристики методу поляризаційно-варіабельної автофлуоресценції

	$M_i$	Міокард		Ендо метрій		Цитологія	
$Se(M_i)$ %	$M_1$	69,8	$a = 44; b = 19$	74,6	$a = 47; b = 16$	66,7	$a = 42; b = 21$
	$M_2$	71,4	$a = 45; b = 18$	76,1	$a = 48; b = 15$	68,2	$a = 43; b = 20$
	$M_3$	90,4	$a = 57; b = 6$	93,7	$a = 59; b = 4$	87,3	$a = 55; b = 8$
	$M_4$	88,9	$a = 56; b = 7$	93,7	$a = 59; b = 4$	88,9	$a = 56; b = 7$
$Sp(M_i)$ %	$M_1$	65,1	$c = 41; d = 22$	71,4	$c = 45; d = 18$	61,9	$c = 39; d = 24$
	$M_2$	66,7	$c = 42; d = 21$	73,0 2	$c = 46; d = 17$	63,5	$c = 40; d = 23$
	$M_3$	87,3	$c = 55; d = 8$	90,5	$c = 57; d = 6$	84,1	$c = 53; d = 10$
	$M_4$	85,7	$c = 54; d = 9$	90,5	$c = 57; d = 6$	85,7	$c = 54; d = 9$
$Ac(M_i)$ %	$M_1$	65,6 5	$a = 44; b = 19;$ $c = 41; d = 22$	73	$a = 47; b = 16;$ $c = 45; d = 18$	64,3	$a = 42; b = 21;$ $c = 39; d = 24$
	$M_2$	69,0 5	$a = 45; b = 18;$ $c = 42; d = 21$	74,5 6	$a = 48; b = 15;$ $c = 46; d = 17$	65,0 5	$a = 43; b = 20;$ $c = 40; d = 23$
	$M_3$	88,8 5	$a = 57; b = 6;$ $c = 55; d = 8$	92,1	$a = 59; b = 4;$ $c = 57; d = 6$	86,5	$a = 55; b = 8;$ $c = 53; d = 10$
	$M_4$	87,3	$a = 56; b = 7;$ $c = 54; d = 9$	92,1	$a = 59; b = 4;$ $c = 57; d = 6$	87,3	$a = 56; b = 7;$ $c = 54; d = 9$

Порівняльний аналіз операційних характеристик методу поляризаційно-варіабельної автофлуоресценції виявив оптимальні (виділено сірим) статистичні параметри для диференціації біологічних шарів усіх розглянутих типів:

$$\begin{cases} Se(M_{3;4}) = 86,7\% - 93,6\%; \\ Sp(M_{3;4}) = 78,2\% - 88,8\%; \dots \\ Ac(M_{3;4}) = 83,5\% - 90,45\% \end{cases}$$

Отримані результати вказують на високий рівень збалансованої точності запропонованого методу. Згідно з критеріями доказової медицини параметри  $Ac(M_{3;4}) \sim 80\%$  відповідають хорошій якості (гістологічні зрізи міокарда та цитологічні мазки слизової шийки матки), а  $Ac(M_{3;4}) \sim 90\%$  - відмінній якості (гістологічні зрізи біопсії ендометрію).

Наступним кроком у розвитку методів лазерної поляризаційної автофлуоресцентної діагностики змін полікристалічної структури гістологічних зрізів біологічних тканин і полікристалічних плівок біологічних рідин став спектрально-селективний аналіз одержаних даних.

### **6.3. Спектрально-селективна лазерна автофлуоресцентна поляриметрія оптично-анізотропних структур біологічних тканин у діагностиці раку**

У даному параграфі представлені результати дослідження лазерної автофлуоресценції оптично-анізотропних структур тканин репродуктивної сфери жінки у різних спектральних діапазонах оптичного випромінювання.

Базуючись на запропонованій у параграфі 6.1 моделі опису комплексної анізотропії (лінійне і циркулярне двопроменезаломлення, лінійний і циркулярний дихроїзм) біологічних шарів встановлено взаємозв'язки між механізмами оптичної анізотропії та поляризаційними проявами автофлуоресценції гістологічних зрізів тканини шийки матки в різних спектральних областях. На цій основі розроблено метод спектрально-селективної лазерної автофлуоресцентної поляриметрії та проведено

порівняльне дослідження діагностичної ефективності цього методу з методом лазерної автофлуоресценції.

### 6.3.1. Метод спектрально-селективної лазерної автофлуоресценції

Відомо, що в кожній області спектрального діапазону результуюча автофлуоресценція являє собою суперпозицію спектрів випромінювання набору флуорофорів з різною локалізацією екстремумів [1, 3, 200].

Для видимого оптичного діапазону можна виділити три такі області:

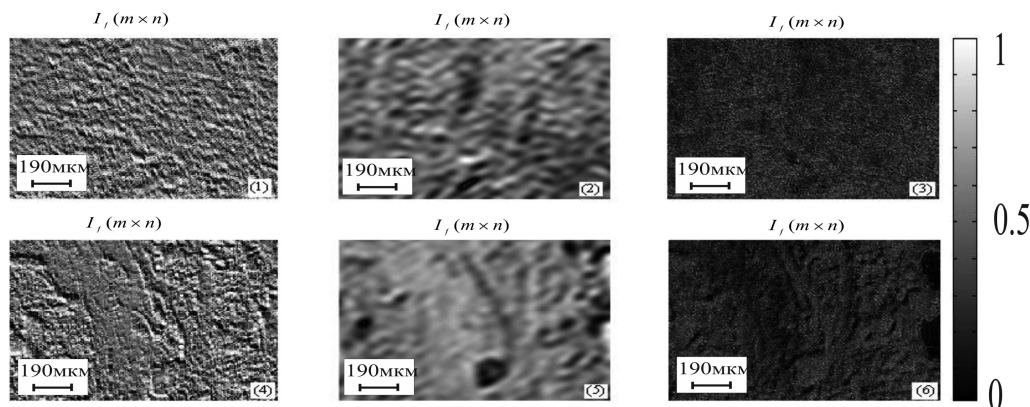
- "короткохвильова" ( $\Delta\lambda_{\max} = 0,45\text{мкм} \div 0,46\text{мкм}$ );
- "середньохвильова" ( $\Delta\lambda_{\max} = 0,5\text{мкм} \div 0,55\text{мкм}$ );
- "довгохвильова" область ( $\Delta\lambda_{\max} = 0,63\text{мкм} \div 0,65\text{мкм}$ ).

Найбільш ефективними ендогенними флуорофорами біологічних шарів для вказаних спектральних ділянок є:

- "Короткохвильова" область – лінійно двопроменезаломлюючі фібрилярні (колаген, еластин) мережі та оптично активний нікотинамідадениннуклеотид (НАД).
- "Середньохвильова" область – лінійно двопроменезаломлюючі фібрили і оптично активні флавіни.
- "Довгохвильова" область – оптично активні порфірини, молекули яких формують рідкокристалічні двопроменезаломлюючі мережі.

Експериментальні дослідження автофлуоресцентних мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біопсії тканини шийки матки у передраковому стані (ектонія - група 1 і дисплазія - група 2 ) проводилися у розташуванні стандартного стоксполариметра (розділ 2, параграф 2.4.2, рис. 2.6) з використанням набору з трьох "відсікаючих" інтерференційних світлофільтрів.

На рис. 6.9 представлена серія спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45\text{мкм}$ ;  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55\text{мкм}$  і  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63\text{мкм}$ ) автофлуоресцентних мікроскопічних зображень зразків обох груп.



**Рис. 6.9.** Автофлуоресцентні зображення гістологічних зрізів шийки матки з ектонією (фрагменти (1) - (3)) і дисплазією (фрагменти (4) - (6)), зареєстровані для:  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  (фрагменти (1) - (4)),  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$  (фрагменти (2) - (5)) і  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$  (фрагменти (3) - (6))

Отримані дані ілюструють наявність лазерної автофлуоресценції гістологічних зрізів тканини шийки матки у всіх спектральних діапазонах.

Для короткохвильової області ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ ) спектру реалізується найвища інтенсивність автофлуоресцентних мікроскопічних зображень (рис. 6.9, фрагменти (1), (4)).

У довгохвильовій області ( $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$ ) спектру такі зображення найменш інтенсивні (рис. 6.9, фрагменти (3), (6)).

Отримані результати можна пов'язати з "короткохвильовою" ультрафіолетовою спектральною локалізацією максимумів автофлуоресценції двопротенезаломлюючих протеїнових мереж (співвідношення (6.1)), утворених оптично активними (співвідношення (6.2)) молекулами.

Порівняльний аналіз автофлуоресцентних мікроскопічних зображень зразків тканини шийки матки з різною патологією виявляє більшу інтенсивність флуоресценції гістологічних зрізів аденокарциноми для всіх спектральних ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ ;  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$  і  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$ ) інтервалів (рис. 6.9, фрагменти (4) - (6)).

**Таблиця 6.7.** Статистичні моменти  $M_{i=1;2;3;4} [I_f(m \times n)]$ , які

характеризують розподіли значень інтенсивності мікроскопічних автофлуоресцентних зображень гістологічних зрізів обох груп (36

зразків) для наступних спектральних діапазонів:  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  ;

$\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$  і  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$

Параметри	$I(\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм})$		$I(\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм})$		$I(\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм})$	
	Група 1	Група 2	Група 1	Група 2	Група 1	Група 2
$M_1$	$0,54 \pm 0,0$ 41	$0,69 \pm 0,05$ 2	$0,35 \pm 0,0$ 24	$0,41 \pm 0,03$ 5	$0,23 \pm 0,01$ 6	$0,32 \pm 0,0$ 24
$M_2$	$0,18 \pm 0,0$ 15	$0,25 \pm 0,01$ 8	$0,14 \pm 0,0$ 13	$0,18 \pm 0,01$ 4	$0,11 \pm 0,01$ 1	$0,16 \pm 0,0$ 13
$M_3$	$0,39 \pm 0,0$ 24	$0,46 \pm 0,03$ 6	$0,19 \pm 0,0$ 15	$0,22 \pm 0,01$ 8	$0,78 \pm 0,06$ 3	$0,89 \pm 0,0$ 76
$M_4$	$0,41 \pm 0,0$ 35	$0,32 \pm 0,02$ 9	$0,24 \pm 0,0$ 21	$0,19 \pm 0,01$ 6	$0,31 \pm 0,02$ 4	$0,42 \pm 0,0$ 37

Статистично визначені міжгрупові зміни розподілів інтенсивності автофлуоресцентних мікроскопічних зображень гістологічних зрізів супроводжуються збільшенням середнього і дисперсії, які характеризують відповідні розподіли значень  $I_\lambda$  – таблиця 6.7.

Виявлені найбільш чутливі (виділено сірим) статистичні параметри для диференціації автофлуоресцентних мікроскопічних зображень зразків гістологічних зрізів обох груп тканини шийки матки у наступних спектрально-селективних діапазонах:

- $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  -  $\Delta M_1 \uparrow = 1,27$  і  $\Delta M_2 \uparrow = 1,38$ ;
- $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$  -  $\Delta M_1 \uparrow = 1,39$  і  $\Delta M_2 \uparrow = 1,45$ .

Для інших статистичних моментів, які характеризують розподіли інтенсивності автофлуоресценції мікроскопічних зображень гістологічних зрізів шийки у передраковому стані, міжгрупові відмінності не перевищують 10% -15%.

У таблиці 6.8 представлені дані обчисленої збалансованої точності методу статистичного аналізу спектрально-селективних



автофлуоресцентних мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біопсії тканини шийки матки.

**Таблиця 6.8.** Точність методу статистичного аналізу спектрально-селективних автофлуоресцентних мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біопсії тканини шийки матки

Параметри	$Ac(\lambda_{\max}^{(1)}), \%$	$Ac(\lambda_{\max}^{(2)}), \%$	$Ac(\lambda_{\max}^{(3)}), \%$
$M_1$	63	56	65
$M_2$	64	54	67

Таким чином, використання методу статистичного аналізу даних лазерної автофлуоресценції гістологічних зрізів біопсії доброякісної і злоякісної пухлини шийки матки дозволяє із задовільною збалансованою точністю  $Ac(\lambda_{\max}^{(1)}) = 64\%$  і  $Ac(\lambda_{\max}^{(3)}) = 67\%$  диференціювати такі стани.

“Інформаційним резервом” для покращення збалансованої точності є урахування не тільки розподілів значень інтенсивності автофлуоресцентних мікроскопічних зображень гістологічних зрізів, але й розподілів параметрів, які описують механізми формування лазерної поляризаційної флуоресценції молекулярних комплексів, що знаходять у оптично-анізотропному середовищі.

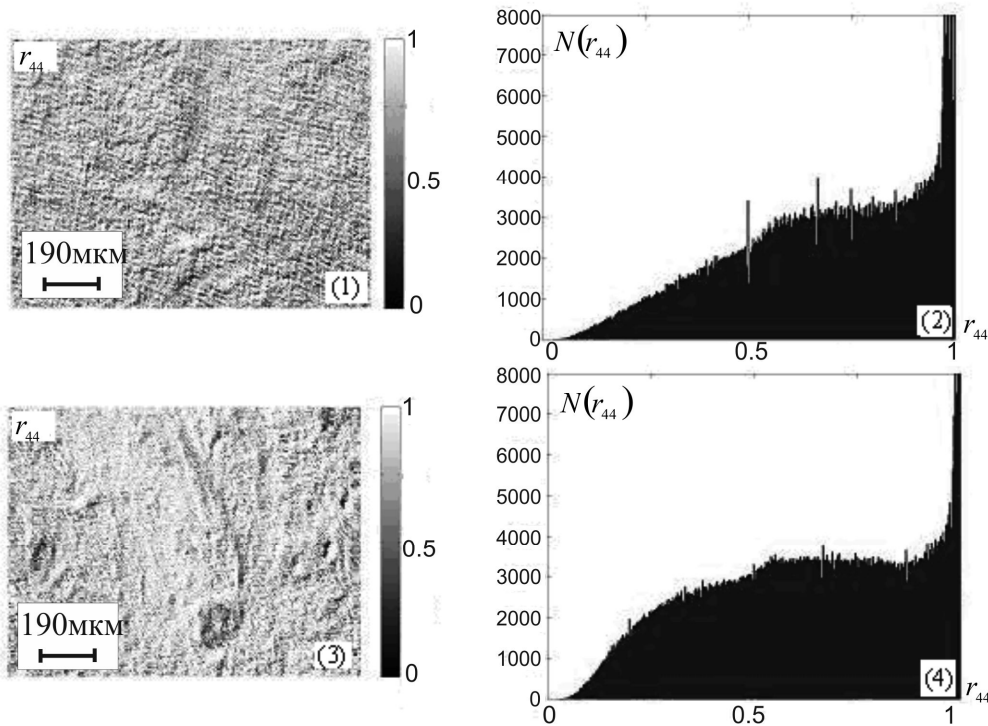
Тому наступним етапом наших досліджень стало виявлення взаємозв'язків між набором статистичних моментів, які характеризують розподіли мюллер-матричних інваріантів (ММІ), що описують механізми автофлуоресценції лінійно та циркулярно двопротенезаломлюючих мереж, і різними типами патології біологічних шарів.

### 6.3.2. Метод спектрально-селективної лазерної автофлуоресцентної поляриметрії

Результати вимірювання координатних розподілів (фрагменти (1) - (3)) та гістограм таких розподілів (фрагменти (2) - (4)) набору ММІ, які характеризують оптичну анізотропію гістологічних зрізів зразків з групи 1 і групи 2 для різних спектральних областей

( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ ;  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$  і  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$ ), представлені на серії рис. 6.10 – рис. 6.15.

"Короткохвильова" область ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ ). Рис. 6.10 ілюструє результати дослідження розподілів значень ММІ  $r_{44}$ , що характеризує двопронезаломлення фібрилярних флуорофорів зразків обох груп.



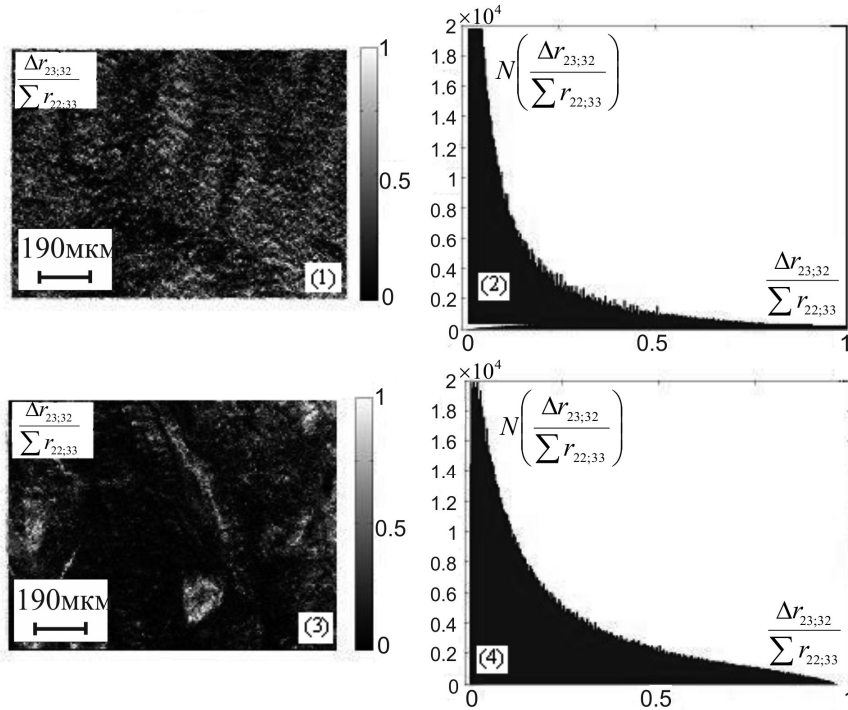
**Рис. 6.10.** Координатні (фрагменти (1), (3)) і ймовірнісні (фрагменти (2), (4)) розподіли значень ММІ  $r_{44}$  гістологічних зрізів біопсії тканини шийки матки у стані ектонії (фрагменти (1), (2)) і дисплазії (фрагменти (3), (4)) для  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$

Онкологічні зміни біохімічно супроводжуються зростанням концентрації протеїнів. Морфологічно такий процес проявляється у формуванні детермінованих напрямків росту новоутворень. У результаті зростає двопронезаломлення фібрилярних мереж і відповідна вторинна модуляція ( $\phi \uparrow \rightarrow r_{44} < 1$ ) фазових зсувів між ортогонально-поляризованими складовими амплітуди автофлуоресцентного випромінювання таких структур (параграф 6.1.1, співвідношення (6.7)). Кількісно даний факт ілюструють гістограми

$N(r_{44})$  розподілів випадкових значень ММІ  $r_{44}$ , наведені на рис. 6.10 (фрагменти (2), (4)). Як видно, ймовірність формування мінімальних значень ММІ  $r_{44}$ , обчисленого для зразка тканини з дисплазією (рис. 6.10, фрагмент (4)) вища, ніж для зразка з ектонією (рис. 6.10, фрагмент (3)). Така трансформація гістограми супроводжується зростанням асиметрії ( $M_3 \downarrow$ ) і, навпаки, зменшенням ексцесу ( $M_4 \downarrow$ ), які характеризують розподіли випадкових значень  $r_{44}$ .

На рис. 6.11 представлені координатні та ймовірнісні розподіли значень ММІ  $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$ , який описує механізми лазерної автофлуоресценції оптично активних складових тканини шийки матки – нікотинамідадениннуклеотиду (НАД – параграф 6.1). Відомо, що при переході НАД в окислений стан він втрачає смугу поглинання і здатність до флуоресценції. Так як пухлинна тканина характеризується нижчим рН, то слід очікувати збільшення вторинної модуляції ( $\theta \uparrow$ ) фазових зсувів між ортогональними циркулярно поляризованими складовими амплітуди автофлуоресцентного випромінювання її оптично активними структурами ( $\left(\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right) \uparrow$ ).

Дані процеси ілюструють гістограми  $N\left(\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right)$  розподілів випадкових значень ММІ  $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$ , представлені на рис. 6.11, фрагменти (2), (4).



**Рис. 6.11.** Координатні (фрагменти (1), (3)) і ймовірнісні (фрагменти (2), (4)) розподіли значень ММІ  $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$  гістологічних зрізів біопсії тканини шийки матки у стані ектонії (фрагменти (1), (2)) і дисплазії (фрагменти (3), (4)) для  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$

Порівняльний аналіз отриманих даних виявляє перерозподіл значень ММІ  $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$  в сторону більших величин (рис. 6.11, фрагмент

(4)). Подібна трансформація має місце і для гістограм  $N\left(\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right)$ , які характеризують оптичну активність гістологічного зрізу біопсії шийки матки у стані дисплазії.

У таблиці 6.9 представлені усереднені у межах кожної з груп зразків величини і стандартні відхилення статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують гістограми розподілів значень обох

ММІ  $N(r_{44})$  і  $N\left(\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right)$ , знайдених для спектрального діапазону  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ .

**Таблиця 6.9.** Статистичні моменти  $M_{i=1;2;3;4} \left[ q\left(r_{44}; \frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right) \right]$ , які характеризують розподіли значень ММІ для  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$

Параметри	$r_{44}$		$\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$	
	ектонія (36 зразків)	дисплазія (36 зразків)	ектонія (36 зразків)	дисплазія (36 зразків)
$M_1$	$0,81 \pm 0,073$	$0,77 \pm 0,069$	$0,09 \pm 0,006$	$0,12 \pm 0,011$
$M_2$	$0,23 \pm 0,017$	$0,26 \pm 0,017$	$0,08 \pm 0,006$	$0,06 \pm 0,005$
$M_3$	$1,29 \pm 0,11$	$1,87 \pm 0,15$	$1,21 \pm 0,11$	$1,85 \pm 0,17$
$M_4$	$2,26 \pm 0,17$	$1,62 \pm 0,14$	$2,32 \pm 0,23$	$1,41 \pm 0,12$

Установлено, що для двопротенезаломлюючих флуорофорів зразків аденокарциноми має місце збільшення (до 1,45 разів) статистичного моменту  $M_3(r_{44})$ , який характеризує асиметрію розподілу випадкових значень ММІ  $r_{44}$ . Статистичний момент  $M_4(r_{44})$ , який характеризує гостроту піку розподілу значень елементу матриці Мюллера  $r_{44}$ , зменшується у 1,4 рази.

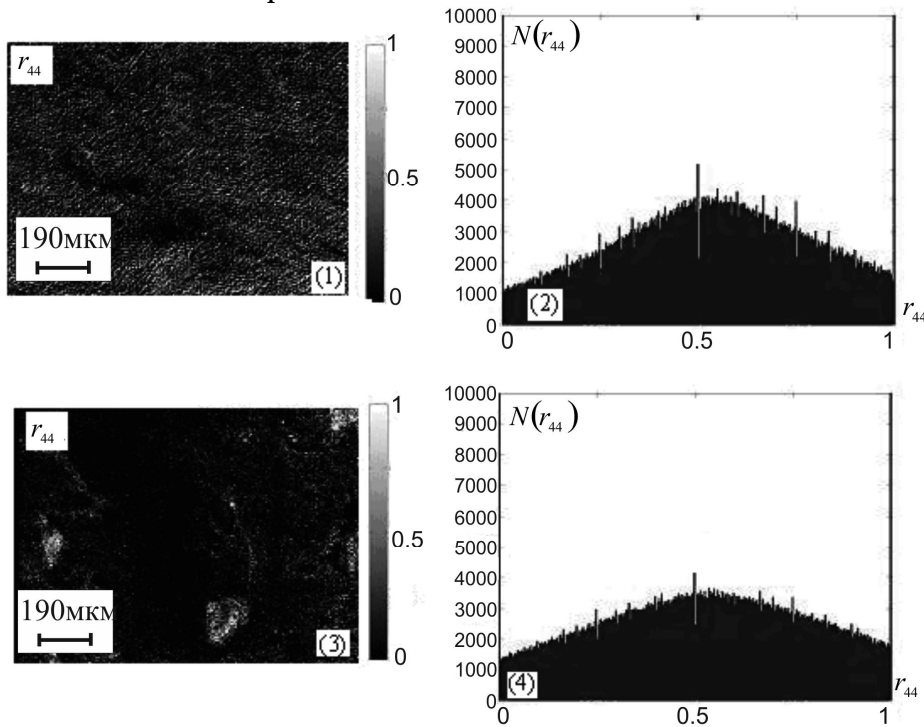
Для оптично активних флуорофорів аденокарциноми шийки матки виявлено зростання (в 1,5 рази) величини статистичного моменту 3-го порядку  $M_3$ , який характеризує розподіл випадкових

значень ММІ  $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$ . Ексцес  $M_4$ , який визначає гостроту піку

розподілу  $N\left(\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right)$  зменшується в 1,6 рази.

"Середньохвильова" область ( $\Delta \lambda_{\max} = 0,5 \text{ мкм} \div 0,55 \text{ мкм}$ ).

Результати дослідження розподілів значень ММІ  $r_{44}$ , що характеризує  $(\phi)$  модуляцію фазових зсувів між лінійно поляризованими ортогональними складовими амплітуди автофлуоресцентного випромінювання у даному спектральному діапазоні, наведено на рис. 6.12.



**Рис. 6.12.** Координатні (фрагменти (1), (3)) і ймовірнісні (фрагменти (2), (4)) розподіли значень ММІ  $r_{44}$  гістологічних зрізів біопсії тканини шийки матки в стані ектонії (фрагменти (1), (2)) і дисплазії (фрагменти (3), (4)) для  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \mu\text{м}$

Аналіз одержаних даних показав, що відмінності між проявами фазової модуляції автофлуоресцентного випромінювання двопротенезаломлюючими мережами зразків обох груп мало виражені (рис. 6.12, фрагменти (1), (3)). Структура відповідних гістограм  $N(r_{44})$  розподілів значень даного ММІ практично ідентична (рис. 6.12, фрагменти (2), (4)). Виявлений результат, мабуть, пов'язаний з мінімальною інтенсивністю автофлуоресценції ниткоподібних

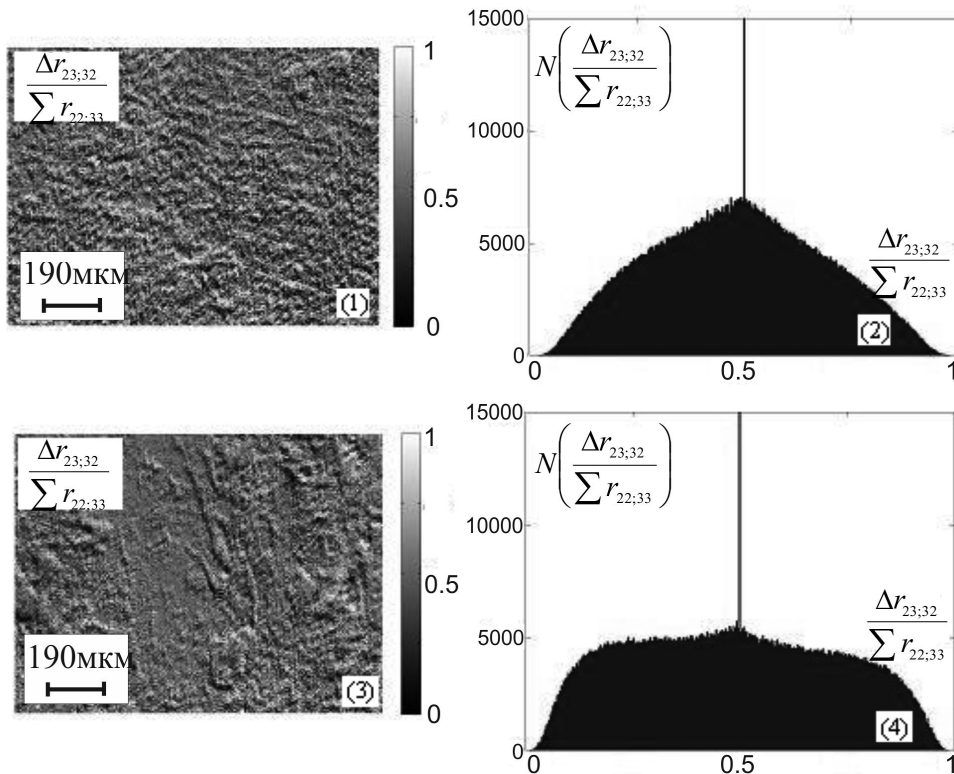
протеїнових флуорофорів у даному ( $\lambda_{\text{max}}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$ ) спектральному діапазоні.

Інша картина спостерігається для оптично активних флавінів. При переході цих молекулярних сполук у відновлений стан (ракова пухлина) вони втрачають, як і НАД - структури для доброякісних станів, смути власної люмінесценції. Зазначений біохімічний процес формування онкологічних змін біологічної тканини супроводжується зменшенням модуляції фазових зсувів між ортогональними циркулярно поляризованими складовими амплітуди автофлуоресцентного випромінювання оптично активними сполуками ( $\theta \downarrow$ ).

Таким чином, поляризаційним критерієм для діагностики доброякісних новоутворень тканини шийки матки у розглянутому спектральному діапазоні автофлуоресценції може служити умова

$$\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}} \rightarrow 0.$$

На рис. 6.13 наведені експериментально отримані координатні і ймовірнісні розподілу значень даного ММІ.



**Рис. 6.13.** Координатні (фрагменти (1), (3)) і ймовірнісні (фрагменти (2), (4)) розподіли значень ММІ  $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$  лазерної поляризаційної автофлуоресценції гістологічних зрізів біопсії тканини шийки матки у стані дисплазії (фрагменти (1), (2)) і аденокарциноми (фрагменти (3), (4)) для  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \mu\text{м}$

Зменшення впливу оптично активних структур шийки матки у стані дисплазії на автофлуоресценцію флавінів ілюструють гістограми

$N\left(\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right)$  розподілів значень  $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$  (рис. 6.13, фрагменти (2), (4)).

Порівняльний аналіз одержаних гістограм розподілів значень  $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$  виявив більш виражену ніж у короткохвильовій області



спектру (рис. 6.11) ймовірність його мінімальних значень ( $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}} \rightarrow 0$ )

(рис. 6.13, фрагмент (4)).

Тому для оптично активних структур флуорофорів гістологічного зрізу тканини шийки матки у стані дисплазії слід очікувати протилежних в порівнянні з даними поляризаційної НАД-флуоресценції (рис. 6.11) змін статистичних моментів вищих порядків,

які характеризують двомірні розподіли випадкових значень  $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}} -$

$$M_3 \uparrow \text{ і } M_4 \downarrow.$$

Таблиця 6.10 ілюструє усереднені у межах обох груп зразків величини і стандартні відхилення значень статистичних моментів 1-го

– 4-го порядків, які характеризують гістограми  $N(r_{44})$  і  $N\left(\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right)$

розподілів ММІ у “середньохвильовому” ( $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$ ) спектральному діапазоні автофлуоресцентного випромінювання.

Встановлено, що відмінності між величинами статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують гістограми  $N(r_{44})$  розподілів значень ММІ лінійного двопротоменезаломлення фібрилярних мереж (рис. 6.12), не перевищують 10% -25%.

**Таблиця 6.10.** Статистичні моменти  $M_{i=1;2;3;4} \left[ q \left( r_{44}; \frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}} \right) \right]$ , які

характеризують розподіли значень ММІ для  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$

параметри	$r_{44}$		$\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$	
	ектонія (36 зразків)	дисплазія (36 зразків)	ектонія (36 зразків)	дисплазія (36 зразків)
$M_1$	$0,44 \pm 0,036$	$0,42 \pm 0,037$	$0,51 \pm 0,047$	$0,43 \pm 0,038$
$M_2$	$0,24 \pm 0,021$	$0,28 \pm 0,024$	$0,18 \pm 0,014$	$0,24 \pm 0,013$
$M_3$	$0,11 \pm 0,0083$	$0,13 \pm 0,011$	$0,31 \pm 0,022$	$0,57 \pm 0,043$
$M_4$	$0,33 \pm 0,029$	$0,39 \pm 0,034$	$0,76 \pm 0,069$	$0,41 \pm 0,035$

Для оптично активних флавінів у порівнянні з НАД-флуорофорами виявлено збільшення (виділено сірим) діапазонів відмінності (таблиця 6.9) між величинами статистичних моментів вищих порядків ( $M_3$  - 1,9 рази,  $M_4$  - 1,82 рази), які характеризують

гістограми розподілів випадкових значень ММІ  $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$ .

"Довгохвильова" область ( $\Delta \lambda_{\max} = 0,63 \text{ мкм} \div 0,65 \text{ мкм}$ ): основними флуорофорами у даній спектральній області є *оптично активні порфірини*. Для злоякісних станів такі сполуки формують рідкокристалічні лінійно двопротенезаломлюючі мережі. Зазначений морфологічний процес супроводжується зростанням фазової ( $\phi \uparrow$ ) модуляції між ортогональними лінійно поляризованими складовими амплітуди флуоресцентного випромінювання і відповідним до цього зменшенням значень ММІ  $r_{44} \rightarrow \min$ .

На рис. 6.14 і рис. 6.15 показана серія координатних (фрагменти (1), (3)) та імовірнісних (фрагменти (2), (4)) розподілів значень ММІ, що характеризують особливості поляризаційної автофлуоресценції

двопроменезаломлюючих ( $r_{44}$ ) мереж оптично активних ( $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$ )

порфіринів зразків шийки матки обох типів.

З порівняльного аналізу гістограм  $N(r_{44})$  розподілів значень даного ММІ (рис. 6.14, фрагменти (2) і (4)) видно, що для зразка із злоякісною пухлиною ймовірність  $M_{44} \rightarrow \min$  зростає. Даний факт підтверджує раніше відзначену тенденцію зростання двопроменезаломлення мережі порфіринів.

Паралельно до цього процесу зменшується модуляція автофлуоресценції оптично активними молекулярними комплексами

( $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}} \rightarrow \min$ ). Для гістологічного зрізу аденокарциноми (рис. 6.15,

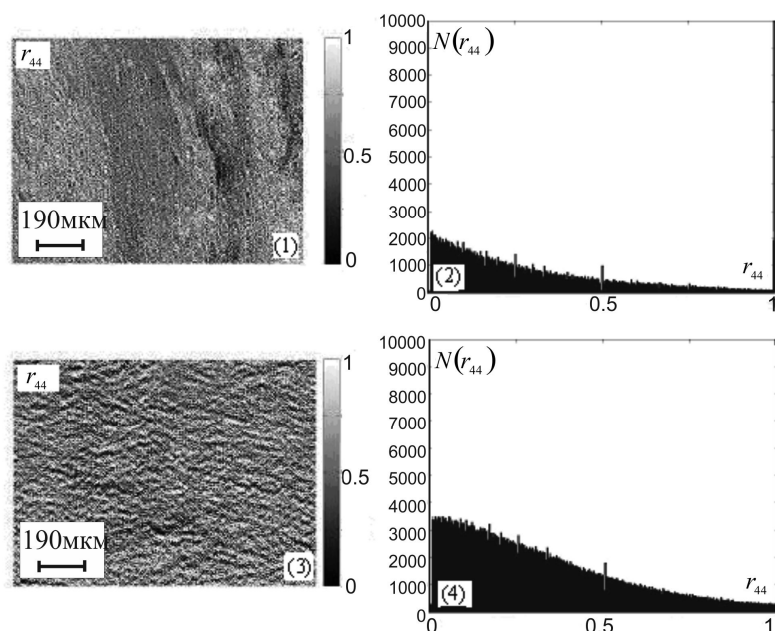
фрагменти (2), (4)) характерні більш асиметричні гістограми

$N\left(\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right)$  розподілів значень цього ММІ.

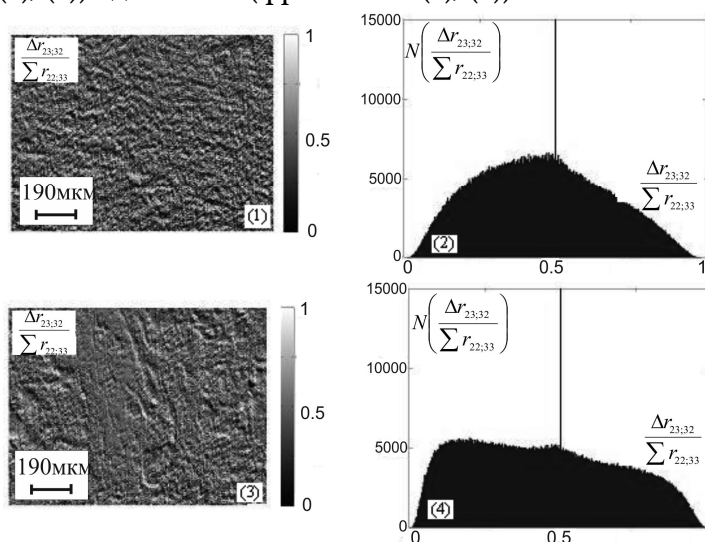
Усереднені величини і стандартні відхилення величини статистичних моментів 1-го - 4-го порядків, які характеризують

гістограми  $N(r_{44})$  і  $N\left(\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right)$  розподіли значень ММІ обох типів,

обчислених для зразків групи 1 і групи 2 у довгохвильовій області спектру ( $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$ ) наведені в таблиці 6.11.



**Рис. 6.14.** Координатні (фрагменти (1), (3)) і ймовірнісні (фрагменти (2), (4)) розподіли значень ММІ  $r_{44}$  тканини шийки матки у стані ектонії (фрагменти (1), (2)) і дисплазії (фрагменти (3), (4))



**Рис. 6.15.** Координатні (фрагменти (1), (3)) і ймовірнісні (фрагменти (2), (4)) розподіли значень ММІ  $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$  біопсії тканини шийки матки у стані ектонії (фрагменти (1), (2)) і дисплазії (фрагменти (3), (4)) для  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$ .

**Таблиця 6.11.** Статистичні моменти  $M_{i=1;2;3;4} \left[ q \left( r_{44}; \frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}} \right) \right]$ , які характеризують розподіли значень ММІ  $r_{44}; \frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$  для  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$

Параметри	$r_{44}$		$\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}$	
	ектонія (36 зразків)	дисплазія (36 зразків)	ектонія (36 зразків)	дисплазія (36 зразків)
$M_1$	$0,08 \pm 0,006$	$0,11 \pm 0,0085$	$0,41 \pm 0,034$	$0,32 \pm 0,028$
$M_2$	$0,09 \pm 0,007$	$0,14 \pm 0,012$	$0,21 \pm 0,019$	$0,29 \pm 0,021$
$M_3$	$0,27 \pm 0,023$	$0,63 \pm 0,056$	$0,42 \pm 0,36$	$1,63 \pm 0,15$
$M_4$	$1,86 \pm 0,15$	$0,83 \pm 0,077$	$1,86 \pm 0,16$	$0,64 \pm 0,059$

У даному спектральному діапазоні виявлені найбільші відмінності між статистичними моментами вищих порядків, які характеризують розподіли значень  $N(r_{44})$ ,  $N\left(\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right)$ :

- $M_3$  - 2,2 ( $N(r_{44})$ ) та 4,1 ( $N\left(\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right)$ ) рази;
- $M_4$  - 2,7 ( $N(r_{44})$ ) та 3,2 ( $N\left(\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}}\right)$ ) рази.

У таблиці 6.12 наведено результати визначення клінічної ефективності методу лазерної автофлуоресцентної поляриметрії.

**Таблиця 6.12** Збалансована точність спектрально-селективного методу лазерної автофлуоресцентної поляриметрії

$\lambda$	$\lambda_{\max}^{(1)}$		$\lambda_{\max}^{(2)}$		$\lambda_{\max}^{(3)}$	
$M_i$	$Ac(r_{44}),\%$	$Ac(\Delta r_{ik}),\%$	$Ac(r_{44}),\%$	$Ac(\Delta r_{ik}),\%$	$Ac(r_{44}),\%$	$Ac(\Delta r_{ik}),\%$
$M_3$	56	69	58	74	83	86
$M_4$	58	75	60	79	88	92

Виявлена відмінна (порівняно з методом лазерної автофлуоресценції – таблиця 6.5) збалансована точність лазерної автофлуоресцентної поляриметрії в диференціації патології тканини шийки матки:

- $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}} (\Delta \lambda_{\max} = 0,45 \text{ мкм} \div 0,46 \text{ мкм}) - Ac = 69\% - 75\%;$
- $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}} (\Delta \lambda_{\max} = 0,5 \text{ мкм} \div 0,55 \text{ мкм}) - Ac = 74\% - 79\%;$
- $r_{44} (\Delta \lambda_{\max} = 0,63 \text{ мкм} \div 0,65 \text{ мкм}) - Ac = 83\% - 88\%;$
- $\frac{\Delta r_{23;32}}{\sum r_{22;33}} (\Delta \lambda_{\max} = 0,63 \text{ мкм} \div 0,65 \text{ мкм}) - Ac = 86 - 92\%.$

#### 6.4. Висновки до розділу 6

1. Запропоновано мюллер-матричне описання процесів флуоресценції молекулярних комплексів у біологічних шарах з лінійним і циркулярним двоприменезаломленням. На основі такої мюллер-матричної моделі флуоресценції двоприменезаломлених мереж оптично активних комплексів біологічних тканин розроблений метод спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії.

2. Визначено мюллер-матричні інваріанти, що характеризують поляризаційні прояви флуоресценції порфіринів на тлі лінійного двопроменезаломлення та оптичної активності протеїнів фібрилярних мереж біологічних тканин.

3. Проведено порівняльне дослідження, у рамках статистичного підходу, діагностичних можливостей методів прямого мюллер-матричного картографування та лазерної автофлуоресцентної поляриметрії полікристалічних мереж тканин прямої кишки з доброякісними (поліп) і злоякісними (аденокарцинома) змінами.

4. Продемонстрована діагностична ефективність статистичного аналізу координатних розподілів значень мюллер-матричних інваріантів лазерної поляризаційної автофлуоресценції у задачі диференціації доброякісних і злоякісних станів тканини прямої кишки.

5. Знайдено взаємозв'язок між статистичними моментами, які характеризують розподіли значень інтенсивності лазерних автофлуоресцентних мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біопсії міокарда, ендометрію та мазків слизової шийки матки, та:

- некротичними змінами міокарда померлих внаслідок ішемічної хвороби серця;
- передраковими стани ендометрію;
- цитологічними мазками слизової шийки матки з доброякісними і злоякісними змінами.

6. Проведені порівняльні дослідження діагностичної ефективності методів лазерної автофлуоресценції та лазерної автофлуоресцентної поляриметрії тканин шийки матки у запальному (ектонія) та передраковому (дисплазія) стані.

7. Продемонстровано високу ефективність методу лазерної автофлуоресцентної поляриметрії в задачі диференціації доброякісних і злоякісних станів тканини шийки матки.

Матеріали розділу викладено у [270], [275], [276], [278], [284], [287].

## ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТА ВИСНОВКИ

1. Уперше для аналізу та описання оптичної анізотропії біологічних шарів запропоновано азимутально-незалежні мюллер-матричні інваріанти, що дозволило знайти взаємозв'язок між набором статистичних, кореляційних і фрактальних параметрів, які характеризують розподіли значень поляризаційних (азимут  $\alpha$ , еліптичність  $\beta$ ), фазових (фазовий зсув  $\varphi$ ) і вектор-параметричних (параметри вектора Стокса  $S_i$ ) зображень полікристалічних мереж, та аналогічними параметрами, що характеризують розподіли величини їхнього лінійного ( $\phi$ ) та циркулярного ( $\theta$ ) двопроменезаломлення.

2. На основі виявлених та фізично обґрунтованих взаємозв'язків між лінійним і циркулярним двопроменезаломленнями полікристалічних мереж та координатними розподілами значень мюллер-матричних інваріантів  $f_{44}(\phi); \Delta f(\theta)$  уперше визначені статистичні (асиметрія та ексцес), кореляційні (автокореляційні функції) і фрактальні (логарифмічні залежності спектрів потужності) критерії діагностики і диференціації змін оптичної анізотропії полікристалічних мереж доброякісних і злоякісних пухлин репродуктивної сфери жінки із хорошою збалансованою точністю  $Ac = 80\% - 85\%$ .

3. Вперше до описання явища фазової анізотропії біологічних шарів застосовано кореляційний підхід шляхом використання поляризаційно-кореляційного параметру – комплексного ступеня взаємної анізотропії (КСВА), що характеризує міру узгодженості напрямів оптичних осей та фазових зсувів, сформованих лінійним та циркулярним двопроменезаломленнями у різних точках біологічного шару. На цій основі розроблено метод поляризаційно-кореляційної мікроскопії – вимірювання координатних розподілів модуля КСВА (КСВА-картографування) полікристалічних мереж біологічних кристалів.

4. Вперше на основі застосування методу КСВА-картографування біологічних шарів установлені критерії міні розподілів значень параметрів фазової анізотропії біологічних шарів:



- зі зростанням фазової анізотропії ( $\phi \uparrow, \theta \uparrow$ ) та упорядкуванням за напрямками оптичних осей ( $\Delta\gamma \rightarrow \min$ ) фібрилярної мережі біологічного шару величина асиметрії, що характеризує розподіли значень модуля КСВА, збільшується, а ексцесу зменшується - на цій основі реалізована диференціація доброякісних і злоякісних пухлин міометрія із відмінною збалансованою точністю  $Ac = 90\%$ ;

- зростання концентрації оптично активних біохімічних сполук планарних полікристалічних мереж виявляється у збільшенні значень статистичних моментів 3-го і 4-го порядків, а також кореляційного моменту 4-го порядку, що характеризують координатний та автокореляційний розподіли значень модуля КСВА плівок біологічних рідин - на цій основі реалізована діагностика жовчнокам'яної хвороби, диференціація гострого та серозного апендициту, артрити та артрозу колінного суглобу із відмінною збалансованою точністю  $Ac = 85\% - 90\%$ .

5. Вперше знайдено взаємозв'язок між азимутально-незалежними поляризаційними та поляризаційно-кореляційними методами картографування біологічних шарів шляхом визначення кореляційного К-контуру та реалізовано диференціацію фазової анізотропії гістологічних зрізів біопсії онкологічних пухлин міометрію стінки матки з хорошою збалансованою точністю  $Ac = 80\%$ .

6. Виявлено ефективність вейвлет-аналізу розподілів значень азимутально-незалежних поляризаційних, фазових та КСВА-мап полікристалічних мереж на різних масштабах їх геометричних розмірів для підвищення збалансованої точності (на 10%) азимутально-інваріантних методів поляризаційного і поляризаційно-кореляційного картографування біологічних шарів, що вперше забезпечило можливість диференціації ступеня важкості передракових станів тканини ендометрія шийки матки, а також типу і важкості запального процесу колінного суглоба людини.

7. Обґрунтована можливість диференціації проявів лінійного та циркулярного двопроменезаломлення методом просторово-частотної фільтрації азимутально-незалежних поляризаційних, фазових та КСВА-мап біологічних шарів. На цій основі у рамках багатofункціональної азимутально-інваріантної поляризаційної

мікроскопії плівок біологічних рідин діагностовано: передракові стани (плазма крові); запалення колінного суглоба (синовіальна рідина); наявність ЖКХ (жовч); гострий і серозний апендицит (випіт) із високою збалансованою точністю  $Ac \sim 85\%$ ; у рамках поляризаційно-кореляційної мікроскопії - передракові стани ендометрія шийки матки з максимальним рівнем збалансованої точності  $Ac \sim 95\%$ .

8. Вперше запропоновано мюллер-матричне описання лазерної автофлуоресценції двопротенезаломлюючих мереж оптично активних молекулярних комплексів біологічних тканин і плівок біологічних рідин. Визначено мюллер-матричні інваріанти лазерної автофлуоресценції, що характеризують поляризаційні прояви флуоресценції “лінійних” та “еліптичних” осциляторів на тлі лінійного двопротенезаломлення та оптичної активності протеїнів біологічних тканин.

9. Шляхом вимірювання матриці Мюллера автофлуоресценції оптично анізотропного біологічного шару запропоновано алгоритм визначення оптимального стану поляризації опромінюючого пучка, при якому досягається максимальний рівень інтенсивності автофлуоресценції мереж порфіринів. На цій основі розроблено метод поляризаційно-варіабельної автолуоресценції та знайдено взаємозв'язки між статистичними моментами 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли значень інтенсивності автофлуоресцентних зображень, та особливостями патологічних станів міокарда (гостра коронарна недостатність) та ендометрію шийки матки (передракові стани).

10. Виявлено взаємозв'язки між статистичними моментами 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли значень мюллер-матричних інваріантів лазерної автолуоресценції у різних спектральних діапазонах та розподіли параметрів, що описують лінійне і циркулярне двопротенезаломленням полікристалічних мереж. На цій основі розроблено метод спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії цитологічних мазків слизової ендометрію та вперше здійснено виявлення та диференціація ранніх форм раку шийки матки із відмінною збалансованою точністю  $Ac = 90\% - 95\%$ .

11. Вперше визначено збалансовану точність методів багатофункціональної поляризаційної, поляризаційно-кореляційної мікроскопії та лазерної автофлуоресцентної поляриметрії у диференціації змін оптичної анізотропії та проведено класифікацію діагностичної ефективності для наступних груп патології тканин і органів людини – “пухлини”, “передракові стани”, “запальні стани”, “некротичні зміни”, “системні захворювання” – додаток Д.

## СПИСОК ЦИТОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Тучин В. В. Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике / В. В. Тучин. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2012. – 811 с.
2. Wang X. Propagation of polarized light in birefringent turbid media: a Monte Carlo study / X. Wang, L.-H. Wang // J. Biomed. Opt. – 2002. – Vol. 7. – P. 279-290.
3. Tuchin V. V. Handbook of optical biomedical diagnostics / V. V. Tuchin. – Bellingham : SPIE Press, 2002. – 1110 p.
4. Yao G. Two-dimensional depth-resolved Mueller matrix characterization of biological tissue by optical coherence tomography / G. Yao, L. V. Wang // Opt. Lett. – 1999. – V. 24. – P. 537-539.
5. Tower T. T. Alignment Maps of Tissues: I. Microscopic Elliptical Polarimetry / T. T. Tower, R. T. Tranquillo // Biophys. J. – 2001. – Vol. 81. – P. 2954-2963.
6. Lu S. Interpretation of Mueller matrices based on polar decomposition / S. Lu, R. A. Chipman // J. Opt. Soc. Am. A. – 1996. – Vol. 13. – P. 1106-1113.
7. Придій О. Г. Двовимірна стоксполариметрія лазерних полів, перетворених сітками двопротенезаломлюючих біологічних кристалів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фіз.-мат. наук : спец. 01.04.05 "Оптика, лазерна фізика" / О. Г. Придій – Чернівці, 2010. – 20 с.
8. Томка Ю. Я. Мюллер-матричні зображення двопротенезаломлюючих архітектонічних сіток органічних кристалів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фіз.-мат. наук : спец. 01.04.05 "Оптика, лазерна фізика" / Ю. Я. Томка – Чернівці, 2009. – 20 с.
9. Beam coherence-polarization matrix / F. Gori, M. Santarsiero, S. Vicalvi, R. Borghi, G. Guattari // Pure Appl. Opt. – 1998. – Vol. 7. – P. 941-951.
10. Ангельська А. О. Комплексний ступінь взаємної поляризації лазерних полів двопротенезаломлюючих матриць біологічних тканин : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фіз.-мат. наук : спец. 01.04.05 "Оптика, лазерна фізика" / А. О. Ангельська ; Чернів. нац. ун-т ім. Ю. Федьковича. – Чернівці, 2009. – 20 с.
11. Alfano R. R. Laser Induced Fluorescence Spectroscopy from Native Cancerous and Normal Tissue / R. R. Alfano, D. B. Tata, P. Tomashefsky et al. // IEEE Quantum Electron. – 1984. – Vol. 20. – P. 1502.
12. Jianan Y. Qu. Real time calibrated fluorescence imaging of tissue in vivo by using the combination of fluorescence and cross-polarized reflection // Biomedical Topical Meetings. – 2002. – Vol. 71. – P. 485-487.

13. Cheong W.-F. A review of the optical properties of biological tissues / W.-F. Cheong, S. A. Prah, A. J. Welch // *IEEE Journal of Quantum Electronics*. – 1990. – Vol. 26. – P. 2166-2185.
14. Light propagation in dentin: influence of microstructure on anisotropy / A. Kienle, F. K. Forster, R. Diebold, R. Hibst // *Phys. Med. Biol.* – 2003. – V. 48. – P. 7-14.
15. Ключин Д.А. Доказательная медицина. Применение статистических методов / Д.А. Ключин, Ю.И. Петунин. – М.: Диалектика, 2007 - С.320.
16. McNichols R. J. Optical glucose sensing in biological fluids: an overview / R. J. McNichols, G. L. Cote // *J. Biomed. Opt.* – 2000. – V. 5. – P. 5-16.
17. Polarized light scattering spectroscopy for quantitative measurement of epithelial cellular structures in situ / V. Backman, R. Gurjar, K. Badizadegan, I. Itzkan, R. R. Dasari, L. T. Perelman, M. S. Feld // *IEEE J. Selected Topics Quant. Electron.* – 1999. – V. 5. – P.1019-1026.
18. Ghosh Nirmalya. Techniques for fast and sensitive measurements of two-dimensional birefringence distributions / Nirmalya Ghosh, I. Alex Vitkin // *Journal of Biomedical Optics*. – 2011. – № 16(11). – P. 110801.
19. Narrow band  $3 \times 3$  Mueller polarimetric endoscopy / Qi Ji, Ye Menglong, Singh Mohan, Neil T. Clancy, Daniel S. Elson // *Biomed. Opt. Express*. – 2013. – Vol. 4. – P.2433-2449.
20. Новаковська О. Ю. Поляризаційна корелометрія сіток характеристичних станів мюллер-матричних зображень фазово-неоднорідних біологічних шарів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фіз.-мат. наук : спец. 01.04.05 "Оптика, лазерна фізика" / О. Ю. Новаковська. – Чернівці, 2012. – 20 с.
21. Карачевцев А. О. Фур'є-стокстоляриметрія полів лінійно та циркулярно двопрпоменезаломлюючих протейнових мереж : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фіз.-мат. наук : спец. 01.04.05 "Оптика, лазерна фізика" / А. О. Карачевцев. – Чернівці, 2012. – 20 с.
22. Дуболазов О. В. Трансформація амплітудно-фазових параметрів лазерного випромінювання полікристалічними мережами плазми крові. Статистичний та локальний підходи : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фіз.-мат. наук : спец. 01.04.05 "Оптика, лазерна фізика" / О. В. Дуболазов ; Чернів. нац. ун-т ім. Ю.Федьковича. — Чернівці, 2010. – 20 с.
23. Абламейко С. В. Обработка оптических изображений клеточных структур в медицине / С. В. Абламейко, А.М. Недзведь. – Мн.: ОИПИ НАН Беларуси, 2005. – 155 с.

24. Demos S. G. Polarization filter for biomedical tissue optical imaging / S. G. Demos, H. Savage, A. S. Heerdt // *Photochem. Photobiol.* – 1997. – V. 66. – P. 821.
25. Light-scattering patterns from collagen films in relation to the texture of a random assembly of anisotropic rods in three dimensions / M. Moritani, N. Hayashi, A. Utsuo, H. Kawai // *Polym. J.* – 1971. – V. 2. – P. 74-87.
26. Shribak M. Techniques for fast and sensitive measurements of two-dimensional birefringence distributions / M. Shribak, R. Oldenbourg // *Appl. Opt.* 2003. – Vol. 42. – P. 3009-3017.
27. Generalized Matrix Equivalence Theorem for Polarization Theory / S. N. Savenkov, V. V. Marienko, E. A. Oberemok, O. I. Sydoruk // *Phys. Rev. E.* – 2006. – № 74. – P. 605-607.
28. Ntziachristos Vasilis. Fluorescence Molecular Imaging // *Annu. Rev. Biomed. Eng.* – 2006. – № 8. – P. 1-33.
29. Ghosh N. Polarized fluorescence spectroscopy of human tissues / N. Ghosh, S. K. Majumder, and P. K. Gupta // *Opt. Lett.* – 2002. – Vol. 27, Issue 22. – P. 2007-2009.
30. Абламейко С. В. Обработка изображений: технология, методы, применение / С. В. Абламейко, Д. М. Лагуновский – Мн.: Ин-т техн. кибернетики НАН Беларуси, 1999. – 300 с.
31. Недзьведь А. М. Обработка медицинских изображений гистологических объектов / А. М. Недзьведь, С. В. Абламейко // *Цифровая обработка изображений.* – 2000. – Вып. 4. – Мн.: Ин-т техн. кибернетики НАН Беларуси – С. 152-164.
32. Недзьведь А. М. Сегментация изображений волокон и сосудов при большом увеличении / А. М. Недзьведь, С. В. Абламейко // *Цифровая обработка изображений.* – 1999. – Вып. 4. – Мн.: Ин-т техн. кибернетики НАН Беларуси – С. 167-176.
33. Претт У. Цифровая обработка изображений: В 2 кн. / У. Претт. – М.: Мир, 1982. – 790 с.
34. Abe M. Thinning of Gray-Scale Images with Combined Sequential and parallel Condition for Pixel Removal / M. Abe, A. Mizutani, C. Wang // *IEEE Trans. On System, Man, and Cybernetics.* – 1994. – V. 24. – № 2.
35. Ablameyko S. An introduction to interpretation of graphic images / S. Ablameyko. – USA: SPIE Press, 1997. – 182 p.
36. Arcelli C. Sketching a Gray-Tone Pattern out of its Distance Transform / C. Arcelli, G. Ramella // *Pattern Recognition.* – 1996. – V. 29. –

№ 12. – P. 2033-2045.

37. Arrcelli C. Finding gray-skeleton by iterated pixel removal / C. Arrcelli, G. Ramella // *Image and Vision Computing*. – 1995. – V. 13. – № 3. – P. 159-167.
38. Bieniek A. A connected component approach to the watershed segmentation / A. Bieniek, A. Moga // *Kluwer Academic publishers*. – 1998. – P. 215-222
39. Chun C. S. L. Polarization-sensitive, thermal imaging / C. S. L. Chun, D. L. Fleming, and E. J. Torok // *Proc. SPIE*. – 1994. – № 2234. – P. 275-286.
40. Lu S.-Y. Interpretation of Mueller matrices based on the polar decomposition / S.-Y. Lu and R. A. Chipman // *J. Opt. Soc. Am. A*. – 1996. – № 13. – P. 1106-1113.
41. Shurcliff W. R. Polarized Light: Production and Use / W. R. Shurcliff. – Harvard, USA : Harvard U. Press, 1966. – 230 p.
42. Chipman R. A. Polarimetry / R. A. Chipman // *Handbook of Optics* 2nd edn.; Ed. by M Bass. – Washington. – 1995. – Vol. 2, Chap. 22. – P. 22.1-22.37.
43. Prosch T. Video polarimetry: a new imaging technique in atmospheric science / T. Prosch, D. Hennings, and E. Raschke // *Appl. Opt.* – 1983. – № 22. – P. 1360-1363.
44. Stenflo J. O. Astronomical polarimeter with 2D detector arrays / J. O. Stenflo and H. Povel // *Appl. Opt.* – 1985. – № 24. – P. 3893-3898.
45. Pezzaniti J. L. Imaging polarimeters for optical metrology / J. L. Pezzaniti and R. A. Chipman // *Proc. SPIE*. – 1990. – № 1317. – P. 280-294.
46. Pezzaniti J. L. Mueller matrix imaging polarimetry / J. L. Pezzaniti and R. A. Chipman // *Opt. Eng.* – 1995. – № 34. – P. 1558-1568.
47. Shaw J. A. Degree of linear polarization in spectral radiances from water-viewing infrared polarimeters // *Appl. Opt.* – 1999. – № 38. – P. 315-3165.
48. Target detection in optically scattering media by polarization- difference imaging / J. S. Tyo, M. P. Rowe, E. N. Pugh, N. Engheta // *Appl. Opt.* – 1996. – № 35. – P. 1855-1870.
49. Silverman M. P. Object delineation within turbid media by backscattering of phase modulated light / M. P. Silverman and W. Strange // *Opt. Commun.* – 1997. – № 144. – P. 7-11.
50. Demos S. G. Optical polarization imaging / S. G. Demos and R. R. Alfano // *Appl. Opt.* – 1997. – № 36. – P. 150-155.
51. Chenault D. B. Polarization imaging through scattering media / D. B. Chenault and J. L. Pezzaniti // *Proc. SPIE*. – 2000. – № 4133. – P. 124-133.
52. Demos S. G. Deep sub-surface imaging in tissues using spectral and

- polarization filtering / S. G. Demos, H. B. Radousky, and R. R. Alfano // *Opt. Express*. – 2000. – № 7. – P. 23-28.
53. Development and calibration of an automated Mueller matrix polarization imaging system / S. Baba, J.-R. Chung, A. H. DeLaughter, B. D. Cameron, G. L. Cote // *J. Biomed. Opt.* – 2002. – № 7 – P. 341-349.
  54. Wolfe J. High-speed imaging polarimeter / J. Wolfe and R. A. Chipman // *Proc. SPIE*. – 2003. – № 5158 – P. 24-32.
  55. North J. Stokes vector imaging of the polarized sky-dome / J. North and M. Duggin // *Appl. Opt.* – 1997. – № 36 – P. 723-730.
  56. AOTF polarization difference imaging / L. J. Denes, M. Gottlieb, B. Kaminsky, P. Metes // *Proc. SPIE*. – 1999. – № 3584 – P. 106-115.
  57. Tyo J. S. Design of optimal polarimeters: maximization of signal-to-noise ratio and minimization of systematic errors // *Appl. Opt.* – 2002. – P. 619-630.
  58. Hauge P. S. Mueller matrix ellipsometry with imperfect compensators // *J. Opt. Soc. Am. A*. – 1978. – № 68 – P. 1519-1528.
  59. Azzam R. M. A. A simple Fourier photopolarimeter with rotating polarizer and analyzer for measuring Jones and Mueller matrices // *Opt. Commun.* – 1978. – № 25 – P. 137-140.
  60. Goldstein D. H. An error analysis of a Mueller matrix polarimeter / D. H. Goldstein and R. A. Chipman // *J. Opt. Soc. Am. A*. – 1990. – № 7 – P. 693-700.
  61. Chenault D. B. Mueller matrix polarimeter algorithms / D. B. Chenault, J. L. Pezzaniti, R. A. Chipman // *Proc. SPIE*. – 1992. – № 1746 – P. 231-246.
  62. Oka K. Compact complete imaging polarimeter using birefringent wedge prisms / K. Oka and T. Kaneko // *Opt. Express*. – 2003. – № 11 – P. 1510-1519.
  63. Halaijan J. Principles and techniques of polarimetric mapping / J. Halaijan and H. Hallock // *ERIM*. – 1972. – Vol. 1. – P. 523-540.
  64. Barter J. D. Stokes parameter imaging of scattering surfaces / J. D. Barter, P. H. Y. Lee and H. R. Thompson // *Polarization: Measurement, Analysis, and Remote Sensing*; Ed. by D. H. Goldstein and R. A. Chipman : *Proc. SPIE*. – 1997. – P. 324-320.
  65. Farlow C. A. Imaging polarimeter development and application / C. A. Farlow, D. B. Chenault, K. D. Spradley, M. G. Gulley, M. W. Jones, and C. M. Persons // *Polarization Analysis and Measurement IV*; Ed. by D. H. Goldstein, D. B. Chenault, W. Egan, and M. J. Duggin : *Proc. SPIE* 4819. – 2001. – P. 118-125
  66. Andreau A. G. Polarization imaging: principles and integrated polarimeters / A. G. Andreau and Z. K. Kalayjian // *IEEE Sens. J.* – 2002. – № 2 – P. 566-576.
  67. Wolff L. B. Polarization camera sensors / L. B. Wolff and A. G. Andreau //



Image Vis. Comput. – 1995. – № 13 – P. 497-510.

68. Boger J. K. Modeling precision and accuracy of a LWIR microgrid array imaging polarimeter / J. K. Boger, J. S. Tyo, B. M. Ratliff, M. P. Fetrow, W. Black, and R. Kumar // *Polarization Science and Remote Sensing II*; Ed. by , J. A. Shaw and J. S. Tyo : Proc. SPIE 5888. – 2005.

69. Goldstein D. H. Error analysis of a Mueller matrix polarimeter / D. H. Goldstein and R. A. Chipman // *J. Opt. Soc. Am. A*. – 1990. – № 7 – P. 693-700.

70. Chipman R.A. Polarization analysis of optical systems // *Opt. Eng.* – 1989. – № 28. – P. 90-99.

71. Polarization-sensitive low-coherence reflectometer for birefringence characterization and ranging / M. R. Hee, D. Huang, E. A. Swanson, J. G. Fujimoto // *J Opt Soc Am B*. – 1992. – № 9(6) – P. 903-908.

72. Two-dimensional birefringence imaging in biological tissue by polarization-sensitive optical coherence tomography / J. F. de Boer, T. E. Milner, M. J. C van Gemert, J. S. Nelson // *Opt. Lett.* – 1997. – № 22(12). – P. 934-936.

73. Determination of burn depth by polarization-sensitive optical coherence tomography / S. M. Srinivas, J. F. de Boer, H. Park, K. Keikhanzadeh, H. E. L Huang, J. Zhang, W. Q. Jung, Z. P. Chen, J. S. Nelson // *J. Biomed Opt.* – 2004. – № 9(1) – P. 207-212.

74. Polarization-sensitive optical coherence tomography of invasive basal cell carcinoma / J. Strasswimmer, M. C. Pierce, B. H. Park, V. Neel, J. F. de Boer // *J. Biomed Opt.* – 2004. – № 9(2) – P. 292-298.

75. In-depth imaging and quantification of degenerative changes associated with Achilles ruptured tendons by polarization-sensitive optical coherence tomography / P. O. Bagnarinchi, Y. Yang, M. Bonesi, G. Maffulli, C. Phelan, I. Meglinski, A. El Haj, N. Maffulli // *Phys Med Biol*. – 2010. – № 55(13) – P. 3777-3787.

76. Pircher M. Polarization sensitive optical coherence tomography in the human eye / M. Pircher, C. K. Hitzenberger, U. Schmidt-Erfurth // *Prog Retin Eye Res.* – 2011. – № 30(6) – P. 431-451.

77. Imaging of polarization properties of human retina in vivo with phase resolved transversal PS-OCT / M. Pircher, E. Götzinger, R. Leitgeb, H. Sattmann, O. Findl, C. K. Hitzenberger // *Opt. Express*. – 2004. – № 12(24) – P. 5940-5951.

78. Retinal pigment epithelium segmentation by polarization sensitive optical coherence tomography / E. Götzinger, M. Pircher, W. Geitzenauer, C. Ahlers, B. Baumann, S. Michels, U. Schmidt-Erfurth, C. K. Hitzenberger // *Opt. Express*. – 2008. – № 16(21) – P. 16410-16422.

79. Imaging of the retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration using polarization-sensitive optical coherence tomography / C. Ahlers, E. Götzinger, M. Pircher, I. Golbaz, F. Prager, C. Schütze, B. Baumann, C. K. Hitzenberger, U. Schmidt-Erfurth // *Invest Ophthalmol Vis. Sci.* – 2010. – № 51(4) – P. 2149-2157.
80. Segmentation and quantification of retinal lesions in age-related macular degeneration using polarization-sensitive optical coherence tomography / B. Baumann, E. Götzinger, M. Pircher, H. Sattmann, C. Schütze, F. Schlanitz, C. Ahlers, U. Schmidt-Erfurth, C. K. Hitzenberger // *J. Biomed Opt.* – 2010. – № 15(6) – P. 061704.
81. Thickness and birefringence of healthy retinal nerve fiber layer tissue measured with polarization-sensitive optical coherence tomography / B. Cense, T. C. Chen, B. H. Park, M. C. Pierce, J. F. de Boer // *Invest Ophthalmol Vis. Sci.* – 2004. – № 45(8) – P. 2606-2612.
82. Retinal nerve fiber layer birefringence evaluated with polarization sensitive spectral domain OCT and scanning laser polarimetry: a comparison / E. Götzinger, M. Pircher, B. Baumann, C. Hirn, C. Vass, C. K. Hitzenberger // *J. Biophoton.* – 2008. – № 1(2) – P. 129-139.
83. Phase retardation measurement of retinal nerve fiber layer by polarization-sensitive spectral-domain optical coherence tomography and scanning laser polarimetry / M. Yamanari, M. Miura, S. Makita, T. Yatagai, Y. Yasuno // *J. Biomed Opt.* – 2008. – № 13(1) – P. 014013.
84. Measurement and imaging of birefringent properties of the human cornea with phase-resolved, polarization-sensitive optical coherence tomography / E. Götzinger, M. Pircher, M. Sticker, A. F. Fercher, C. K. Hitzenberger // *J. Biomed Opt.* – 2004. – № 9(1) – P. 94-102.
85. Tissue discrimination in anterior eye using three optical parameters obtained by polarization sensitive optical coherence tomography / A. Miyazawa, M. Yamanari, S. Makita, M. Miura, K. Kawana, K. Iwaya, H. Goto, Y. Yasuno // *Opt. Express.* – 2009. – № 17(20) – P. 17426-17440.
86. Leitgeb R. Performance of fourier domain vs. time domain optical coherence tomography / R. Leitgeb, C. K. Hitzenberger, A. F. Fercher // *Opt. Express.* – 2003. – № 11(8). – P. 889-894.
87. Improved signal-to-noise ratio in spectral-domain compared with time-domain optical coherence tomography / J. F. de Boer, B. Cense, B. H. Park, M. C. Pierce, G. J. Tearney, B. E. Bouma // *Opt Lett.* – 2003. – № 28(21) – P. 2067-2069.
88. Sensitivity advantage of swept source and Fourier domain optical coherence tomography / M. A. Choma, M. V. Sarunic, C. H. Yang, J. A. Izatt // *Opt. Express.* –

2003. – № 11(18) – P. 2183-2189.

89. Ultrahigh speed spectral / Fourier domain OCT ophthalmic imaging at 70,000 to 312,500 axial scans per second / B. Potsaid, I. Gorczynska, V. J. Srinivasan, Y. L. Chen, J. Jiang, A. Cable, J. G. Fujimoto // *Opt. Express.* – 2008. – № 16(19) – P. 15149-15169.

90. Huber R. Fourier Domain Mode Locking (FDML): A new laser operating regime and applications for optical coherence tomography / R. Huber, M. Wojtkowski, J. G. Fujimoto // *Opt. Express.* – 2006. – № 14(8) – P. 3225-3237.

91. >400 kHz repetition rate wavelength- swept laser and application to high-speed optical frequency domain imaging / W. Y. Oh, B. J. Vakoc, M. Shishkov, G. J. Tearney, B. E. Bouma // *Opt. Lett.* – 2010. – № 35(17) – P. 2919-2921.

92. Ultrahigh speed 1050nm swept source/Fourier domain OCT retinal and anterior segment imaging at 100,000 to 400,000 axial scans per second / B. Potsaid, B. Baumann, D. Huang, S. Barry, A. E. Cable, J. S. Schuman, J. S. Duker, J. G. Fujimoto // *Opt. Express.* – 2010. – № 18(19) – P. 20029-20048.

93. Multi-megahertz OCT: High quality 3D imaging at 20 million A-scans and 4.5 GVoxels per second / W. Wieser, B. R. Biedermann, T. Klein, C. M. Eigenwillig, R. Huber // *Opt. Express.* – 2010. – № 18(14) – P. 14685-14704.

94. OCT imaging up to 760 kHz axial scan rate using single-mode 1310nm MEMS-tunable VCSELs with >100nm tuning range / V. Jayaraman, J. Jiang, H. Li, P. J. S Heim, G. D. Cole, B. Potsaid, J. G. Fujimoto, A. Cable // *IEEE Xplore.* – 2011. – № 12135062 – P. 1-2.

95. Full range polarization-sensitive Fourier domain optical coherence tomography / J. Zhang, W. Jung, J. S. Nelson, Z. Chen // *Opt. Express.* – 2004. – № 12(24) – P. 6033-6039.

96. Al-Qaisi M. K. Swept-source polarization-sensitive optical coherence tomography based on polarization-maintaining fiber / M. K. Al-Qaisi, T. Akkin // *Opt. Express.* – 2010. – № 18(4) – P. 3392-3403.

97. Yamanari M. Polarization-sensitive swept-source optical coherence tomography with continuous source polarization modulation / M. Yamanari, S. Makita, Y. Yasuno // *Opt. Express.* – 2008. – № 16(8) – P. 5892-5906.

98. High-speed polarization sensitive optical frequency domain imaging with frequency multiplexing / W. Y. Oh, S. H. Yun, B. J. Vakoc, M. Shishkov, A. E. Desjardins, B. H. Park, J. F. de Boer, G. J. Tearney, B. E. Bouma // *Opt. Express.* – 2008. – № 16(2) – P. 1096-1103.

99. Single mode fiber based polarization sensitive optical coherence tomography

using a swept laser source / P. Sharma, Y. Verma, K. D. Rao, P. K. Gupta // J Opt. – 2011. – № 13(11) – P. 115301.

100. Polarization-sensitive optical frequency domain imaging based on unpolarized light / K. H. Kim, B. H. Park, Y. P. Tu, T. Hasan, B. Lee, J. A. Li, J. F. de Boer // Opt. Express. 2011. – № 19(2) – P. 552-561.

101. Measurement and imaging of birefringence and optic axis orientation by phase resolved polarization sensitive optical coherence tomography / C. K. Hitzenberger, E. Goetzinger, M. Sticker, M. Pircher, A. F. Fercher // Opt. Express. – 2001. – № 9(13) – P. 780-790.

102. Jiao S. Jones-matrix imaging of biological tissues with quadruple-channel optical coherence tomography / S. Jiao, L. V. Wang // J. Biomed Opt. – 2002. – № 7(3) – P. 350-358.

103. Fan C.M. Spectral domain polarization sensitive optical coherence tomography achieved by single camera detection / C. M. Fan, Y. Wang, R. K. K. Wang // Opt. Express. – 2007. – № 15(13) – P. 7950-7961.

104. Single-camera polarization- sensitive spectral-domain OCT by spatial frequency encoding / T. Schmoll, E. Götzinger, M. Pircher, C. K. Hitzenberger, R. A. Leitgeb // Opt. Lett. – 2010. – № 35(2) – P. 241-243.

105. Depth-resolved birefringence and differential optical axis orientation measurements with fiber-based polarization-sensitive optical coherence tomography / S. G. Guo, J. Zhang, L. Wang, J. S. Nelson, Z. P. Chen // Opt. Lett. – 2004. – № 29(17) – P. 2025-2027.

106. Jones matrix analysis for a polarization-sensitive optical coherence tomography system using fiber-optic components / B. Hyle Park, M. C. Pierce, B. Cense, J. F. de Boer // Opt. Lett. – 2004. – № 29(21) – P. 2512-2514.

107. Makita S. Generalized Jones matrix optical coherence tomography: performance and local birefringence imaging / S. Makita, M. Yamanari, Y. Yasuno // Opt Express. – 2010. – № 18(2) – P. 854-876.

108. Ultrahigh-resolution, high-speed, Fourier domain optical coherence tomography and methods for dispersion compensation / M. Wojtkowski, V. J. Srinivasan, T. H. Ko, J. G. Fujimoto, A. Kowalczyk, J. S. Duker // Opt. Express. – 2004. – № 12(11) – P. 2404-2422.

109. Polarization maintaining fiber based ultra-high resolution spectral domain polarization sensitive optical coherence tomography / E. Götzinger, B. Baumann, M. Pircher, C. K. Hitzenberger // Opt. Express. – 2009. – № 17(25) – P. 22704-22717.

110. Total retinal blood flow measurement with ultrahigh speed swept

- source/Fourier domain OCT / B. Baumann, B. Potsaid, M. F. Kraus, J. J. Liu, D. Huang, J. Hornegger, A. E. Cable, J. S. Duker, J. G. Fujimoto // *Biomed Opt. Express*. – 2011. – № 2(6) – P.1539-1552.
111. Lu Z. H. Method to calibrate phase fluctuation in polarization-sensitive swept-source optical coherence tomography / Z. H. Lu, D. K. Kasaragod, S. J. Matcher // *J. Biomed Opt.* – 2011. – № 16(7) – P. 070502.
112. Real-time polarization-sensitive optical coherence tomography data processing with parallel computing / G. J. Liu, J. Zhang, L. F. Yu, T. Q. Xie, Z. P. Chen // *Appl. Opt.* – 2009. – № 48(32) – P. 6365-6370.
113. Histopathologic validation of Fourier-ellipsometry measurements of retinal nerve fiber layer thickness / R. N. Weinreb, A. W. Dreher, A. Coleman, H. Quigley, B. Shaw, K. Reiter // *Arch. Ophthalmol.* – 1990. – № 108(4) – P. 557-560.
114. Noninvasive imaging by optical coherence tomography to monitor retinal degeneration in the mouse / Q. Li, A. M. Timmers, K. Hunter, C. Gonzalez-Pola, A. S. Lewin, D. H. Reitze, W. W. Hauswirth // *Invest Ophthalmol Vis. Sci.* – 2001. – № 42(12) – P. 2981-2989.
115. Progressive change of optical coherence tomography scans in retinal degeneration slow mice / N. Horio, S. Kachi, K. Hori, Y. Okamoto, E. Yamamoto, H. Terasaki, Y. Miyake // *Arch Ophthalmol.* – 2001. – № 119(9) – P. 1329-1332.
116. Optical coherence tomography (OCT) findings in normal retina and laser-induced choroidal neovascularization in rats / T. Fukuchi, K. Takahashi, K. Shou, M. Matsumura // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 2001. – № 239(1) – P. 41-46.
117. Noninvasive volumetric imaging and morphometry of the rodent retina with high-speed, ultrahigh-resolution optical coherence tomography / V. J. Srinivasan, T. H. Ko, M. Wojtkowski, M. Carvalho, A. Clermont, S. E. Bursell, Q. H. Song, J. Lem, J. S. Duker, J. S. Schuman, J. G. Fujimoto // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2006. – № 47(12) – P. 5522-5528.
118. In vivo three-dimensional high-resolution imaging of rodent retina with spectral-domain optical coherence tomography / M. Ruggieri, H. Wehbe, S. L. Jiao, G. Gregori, M. E. Jockovich, A. Hackam, Y. L. Duan, C. A. Puliafito // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2007. – № 48(4) – P. 1808-1814.
119. Monte-Carlo-based phase retardation estimator for polarization sensitive optical coherence tomography / L. Duan, S. Makita, M. Yamanari, Y. Lim, Y. Yasuno // *Opt Express*. – 2011. – № 19(17) – P. 16330-16345.
120. Ultra high-speed swept source OCT imaging of the anterior segment of human eye at 200 kHz with adjustable imaging range / M. Gora, K. Kamowski, M.

- Szkulmowski, B. J. Kaluzny, R. Huber, A. Kowalczyk, M. Wojtkowski // Opt. Express. – 2009. – № 17(17) – P. 14880-14894.
121. Чандрасекар С. Перенос лучистой энергии / С. Чандрасекар. – М. : Иностранная Литература, 1953. – 432 с.
122. Исимару А. Распространение и рассеяние волн в случайно-неоднородных средах. Ч.2. Многократное рассеяние, турбулентность, шероховатые поверхности и дистанционное зондирование: Пер. с англ. / А. Исимару. – М. : Мир, 1981. – 318 с.
123. Van de Hulst H. C. Light scattering by small particles / H. C. Van de Hulst. – New York : Dover, 1957. – 446 p.
124. Tuchin V. Handbook of Coherent-Domain Optical Methods. Biomedical Diagnostics, Environmental and Material Science / ed. V. Tuchin. – Massachusetts : Kluwer Academic Publishers, 2004. – 1004 p.
125. Savenkov S. N. Scattering (Mueller) matrices and experimental determination of matrix elements // From laboratory spectroscopy to remotely sensed spectra of terrestrial ecosystems, edited by R.S. Muttiah, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. – 2002. – P. 85-107.
126. Savenkov S. N. Inverse polarimetry, and light scattering from leaves / S. N. Savenkov, R. S. Muttiah // Photopolarimetry in Remote Sensing, edited by G. Videen et al, Dordrecht: Springer Netherlands. – 2004. – P. 243-264.
127. Savenkov S. N. Jones and Mueller matrices: structure, symmetry relations and information content // Light Scattering Reviews 4: Single Light Scattering and Radiative Transfer, edited by A.A. Kokhanovsky, Chichester: Springer Praxis Books. – 2009. – P. 71-116.
128. Savenkov S. N. Mueller-matrix characterization of biological tissues // Polarimetric Detection, Characterization and Remote Sensing, edited by M. Mishchenko et al., Germany: Springer. – 2011. – P. 437-472.
129. Фізичні основи поляриметрії високої інформаційної здатності / Г. В. Бекетов, О. С. Климов, Є. А. Оберемок, І. Є. Матяш, С. П. Руденко, С. М. Савенков, А. В. Самойлов, Б. К. Сердега, Ю. В. Ушенін, Ю. М. Ширшов ; під ред. Б. К. Сердеги. – К.: НТУУ«КПІ», 2013. – 252 с.
130. Savenkov S. N. Mueller Matrix Polarimetry in Material Science // Springer. – 2013. – P. 1175-1253.
131. Gerrard A. Introduction to matrix methods in optics / A. Gerrard, J. M. Burch. – New York : John Wiley & Sons, 1975.



132. Королевич А. Н. Матрица рассеяния монослоя оптически “мягких” частиц при их плотной упаковке / А. Н. Королевич, А. Я. Хайруллина, Л. П. Шубочкин // *Опт. спектр.* – 1990. – Т. 68. – С. 403-409.
133. Королевич А. Н. Влияние агрегированности крупных биологических частиц на элементы матрицы рассеяния света / А. Н. Королевич, А. Я. Хайруллина, Л. П. Шубочкин // *Опт. спектр.* – 1994. – Т. 77. – С. 278-282.
134. Bartel S. Monte Carlo simulation of the diffuse backscattering Mueller matrix for highly scattering media / S. Bartel and A. H. Hielscher // *Appl. Opt.* – 2000. – V. 39. – P. 1580-1588.
135. Ушенко О. Г. Лазерна поляриметрія світлорозсіюючих об’єктів і середовищ : : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. фіз.-мат. наук : спец. 01.04.05 “Оптика, лазерна фізика” / Олександр Григорович Ушенко. – Чернівці, 2001. – 36 с.
136. Ushenko A. G. Laser Polarimetry of Biological Tissue. Principles and Applications. Chapter in the book Biomedical Diagnostics, Environmental and Material Science (V. V. Tuchin, ed.) / A. G. Ushenko, V. P. Pishak // Kluwer Academic Publishers. – 2004. – P. 93-136.
137. О структуре матриц преобразования лазерного излучения биофракталами / О. В. Ангельский, А. Д. Архелюк, С. Б. Ермоленко, Д. Н. Бурковец // *Квантовая электроника.* – 1999. – Т. 29, № 2. – С. 8-11.
138. Лазери в біології і медицині / О. Г. Ушенко, В. П. Пішак, О. В. Ангельський, С. Б. Єрмоленко, О. В. Пішак, С. А. Ушенко – Чернівці : Медакадемія, 2000. – 251 с.
139. Ушенко О. Г. Лазерна поляриметрія фазово-неоднорідних об’єктів і середовищ / О. Г. Ушенко. – Чернівці : Медакадемія, 2000. – 256 с.
140. Ушенко О. Г. Лазерна поляриметрична діагностика в біології та медицині / О. Г. Ушенко, В. П. Пішак, О. В. Ангельський. – Чернівці : Медакадемія, 2000. – 305 с.
141. Jiao Shuliang. Two-dimensional depth-resolved Mueller matrix of biological tissue measured with double-beam polarization-sensitive optical coherence tomography / Shuliang Jiao and Lihong V. Wang // *Opt. Lett.* – 2002. – V. 27. – P. 101-103.
142. Optical-fiber-based Mueller optical coherence tomography / Shuliang Jiao, Wurong Yu, George Stoica, Lihong V. Wang // *Opt. Lett.* – 2003. – V. 28. – P. 1206-1208.
143. Jiao Shuliang. Depth-resolved two-dimensional Stokes vectors of backscattered light and Mueller matrices of biological tissue measured with optical coherence

tomography / Shuliang Jiao, Gang Yao, and Lihong V. Wang // *Appl. Opt.* – 2000. – V. 39. – P. 6318-6324.

144. Зере Э. П. Особенности распространения поляризованного света в средах с сильно анизотропным рассеянием / Э. П. Зере, Л. И. Чайковская // *ЖПИС.* – 1986. – Т. 44, № 6. – С. 996-1005.

145. Tuchin V.V. Cell and biotissue optics: application in laser diagnostics and therapy // *SPIE.* – 1994. – V. 2100.

146. Приезжев А. В. Лазерная микродиагностика оптических тканей глаза и форменных элементов крови / А. В. Приезжев, В. В. Тучин, Л. П. Шубочкин // *Изв. АН СССР. Сер. Физическая.* – 1989. – Т. 53. – С. 1490-1495.

147. Polarized light propagation through scattering media: time-resolved Monte Carlo simulation and experiments / Xueding Wang, Lihong V. Wang, Chia-Wei Sun, Chin-Chung Yang // *J. Biomed. Opt.* – 2003. – V. 8. – P. 608-617.

148. Wang X. Monte Carlo model and single-scattering approximation of polarized light propagation in turbid media containing glucose / X. Wang, G. Yao, and L.-H. Wang // *Appl. Opt.* – 2002. – Vol. 41. – P. 792-801.

149. Максимова И. Л. Поляризационные характеристики роговой оболочки глаза / И. Л. Максимова, В. В. Тучин, Л. П. Шубочкин // *Опт. спектр.* – 1986. – Т. 60. – С. 801-806.

150. Максимова И. Л. Методы и аппаратура для лазерной диагностики в офтальмологии / И. Л. Максимова, А. П. Мироньчев, С. В. Романов и др. // *Изв. АН СССР. Сер. Физическая.* – 1990. – Т. 54. – С. 1918-1923.

151. Шубочкин Л.П. Особенности рассеяния света биологическими структурами в приложении к лазерной диагностике в офтальмологии : автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук. – Саратов, 1991.

152. Alfano R. R. Advances in Optical Imaging and Photon Migration. Vol. 2 of Topics in Optics and Photonics Series / R. R. Alfano and J. G. Fujimoto // *Optical Society of America.* – 1996.

153. Morgan S. P. Effects of polarization state and scatterer concentration on optical imaging through scattering media / S. P. Morgan, M. P. Khong, and M. G. Somekh // *Appl. Opt.* – 1997. – V. 36. – P. 1560-1565.

154. Demos S. G. Optical polarization imaging / S. G. Demos and R.R. Alfano // *Appl. Opt.* – 1997. – V. 36. – P. 150-155.

155. Jacques S. L. Imaging superficial tissues with polarized light / S. L. Jacques, J. R. Roman, and K. Lee // *Lasers in Surg. & Med.* – 2000. – V. 26. – P. 119-129.

156. Ушенко А. Г. Поляризационная структура биостеклов и деполяризация



- лазерного излучения // Опт.и спектр. – 2000. – Т. 89, № 4. – С. 651-654.
157. Ushenko A. G. Laser polarization microscopy of biofractals // Proc. SPIE – 1998. – Vol. 3573. – P. 609-612.
  158. Dreher A. W. Polarization technique measures retinal nerve fibers / A. W. Dreher, K. Reiter // Biomed. Opt. Newslett. – 1992. – Vol. 1. – P. 1.
  159. Ushenko A. G. Polarization introscopy of phase-inhomogeneous layers // Proc SPIE. – 2002. – Vol. 4900. – P. 1323-1326.
  160. Morgan S. P. Effects of polarization state and scatterer concentration optical imaging through scattering media / S. P. Morgan, M. P. Khong, M. G. Somekh // Appl. Opt. – 1997. – Vol. 36. – P. 1560-1565.
  161. Nearfield polarization effects on light propagation in random media / M. R. Ostermeyer, D. V. Stephens, L. Wang, S. L. Jacques // OSA. – 1996. – Vol. 3. – P. 20-25.
  162. Pravdin A. B. Polarized collimated tomography for biomedical diagnostics / A. B. Pravdin, S. P. Chernova, V. V. Tuchin // SPIE. – 1997. – Vol. 2981. – P. 230-234.
  163. Придій О.Г. Двовимірна стоксполариметрія лазерних полів, перетворених сітками двопротенезаломлюючих біологічних кристалів : дис. ... канд. фіз.-мат. наук: 01.04.05 / Олександр Георгійович Придій. – Чернівці, 2010. – 180 с.
  164. Optical and biochemical methods for the identification of cellular modifications during malignant transformations / S. B. Yermolenko, O. G. Prydiy, S. G. Guminetsky, A. V. Motrich, Maria-Iuliana I. Gruia, Teodora Stefanescu // Proc. SPIE. – 2009. – Vol. 7388. – P. 73881C-73881C-9.
  165. Mueller matrices mapping of biological tissue architectonics / Alexander G. Ushenko, V. P. Pishak, O. V. Pishak, O. I. Olar, S. B. Yermolenko, A. G. Prydiy, A. S. Arbuzov // Proc. SPIE. – 2004. – Vol 5477. – P. 422.
  166. Баланецька В. О. Багатопараметрична Джонс-матрична мікроскопія плівок біологічних рідин людини у діагностиці та класифікації їхніх оптичних властивостей : дис. ... канд. фіз.-мат. наук: 01.04.05 / В. О. Баланецька. – Чернівці, – 2012. – 192 с.
  167. Дуболазов О. В. Вимірювання поляризації Мюллер – матричних зображень фазово – неоднорідних шарів / О. В. Дуболазов, В. І. Істратій // VIII Харківська конференція молодих науковців. – 2008. – С. 105.
  168. Wavelet analysis for Mueller matrix images of biological crystal networks / Yu. O. Ushenko, Yu. Ya. Tomka, O. G. Pridiy, A. V. Motrich, O. V. Dubolazov, I. Z. Misevitch, V. V. Istratiy // Semiconductor Physics, Quantum Electronics and Optoelectronics. – 2009. – Vol. 12. – № 4. – P. 391-398.

169. Polarization Metrology Of Mueller Matrices Images Of Phase-Inhomogeneous Layers/ A. G. Ushenko, Yu. A. Ushenko, I. Z. Misevitch, A. V. Dubolazov, V. I. Istratiy // Proc. The 9<sup>th</sup> International Symposium on Measurement Technology and Intelligent Instruments. – 2009. – Vol. 3 – P. 267-270.
170. Dubolazov A. V. Polarization metrology of Mueller matrices images of biological tissues phase – inhomogeneous layers / A. V. Dubolazov, O. Yu. Telenga, A. O. Karachevtsev // Proc. SPIE. – 2009. – Vol. 7388. – P. 73881F.
171. Dubolazov A. V. Mueller – matrices tomography of two – layer biological crystals networks / A. V. Dubolazov, I. Z. Misevitch, V. P. Ungurian // Proc. SPIE. – 2009. – Vol. 7388. – P. 73881G.
172. On the Feasibilities of Using the Wavelet Analysis of Mueller Matrix Images of Biological Crystals / A. G. Ushenko, V. T. Bachynsky, A. P. Peresunko, O. Ya. Vanchulyak // Advances in Optical Technologies. – 2010. – P. 162832.
173. The Interconnection between the Coordinate Distribution of Mueller-Matrixes Images Characteristic Values of Biological Liquid Crystals Net and the Pathological Changes of Human Tissues / Alexander V. Dubolazov, Oleg V. Angelsky, Yuriy A. Ushenko, Olha Yu. Telenha // Advances in Optical Technologies. – 2010. – P. 130659.
174. Дуболазов О. В. Трансформація амплітудно-фазових параметрів лазерного випромінювання поліуристалічними мережами плазми крові. Статистичний та локальний підходи: дис. ... канд. фіз.-мат. наук: 01.04.05 / О. В. Дуболазов. – Чернівці, 2010. – 181 с.
175. Karachevtsev A. O. Fourier Stokes-polarimetry of biological layers polycrystalline networks // Quantum Electronics & Optoelectronics. – 2012. – Vol. 15, № 3. – P. 252-268.
176. Karachevtsev A. O. Polarization cartography of optical anisotropy blood plasma / A. O. Karachevtsev, A. V. Dubolazov, Yu. A. Ushenko // Singular Optics 2012. – 2012. – P. 43-44.
177. Карачевцев А. О. Фур'є-стокс-поляриметрія полів лінійно та циркулярно двоприменезаломлюючих протеїнових мереж: дис. ... канд. фіз.-мат. наук: 01.04.05 / А. О. Карачевцев. – Чернівці, 2012. – 205 с.
178. Wolf E. Unified theory of coherence and polarization of random electromagnetic beams // Phys. Lett. A. – 2003. – Vol. 312. – P. 263-267.
179. Tervo J. Degree of coherence for electromagnetic fields / J. Tervo, T. Setälä, A. Friberg. // Opt. Express. – 2003. – Vol. 11. – P. 1137-1143.
180. Parametric characterization of non-uniformly polarized beams / J. M. Movilla, G. Piquero, R. Martínez-Herrero, P. M. Mejías // Opt. Commun. – 1998. – Vol. 149. – P.

230-234.

181. Ellis J. Complex degree of mutual polarization / J. Ellis and A. Dogariu // *Opt. Lett.* – 2004. – Vol. 29. – P. 536-538.

182. Mujat Claudia. Statistics of partially coherent beams: a numerical analysis / Claudia Mujat, Aristide Dogariu // *J. Opt. Soc. Am. A.* – 2004. – Vol. 21, № 6. – P. 1000-1003.

183. Gori F. Matrix treatment for partially polarized, partially coherent beams // *Opt. Lett.* – 1998. – Vol. 23. – P. 241-243.

184. Wolf E. Significance and measurability of the phase of a spatially coherent optical field // *Opt. Lett.* – 2003. – Vol. 28. – P. 5-6.

185. Mujat M. Polarimetric and spectral changes in random electromagnetic fields / M. Mujat, A. Dogariu // *Opt. Lett.* – 2003. – Vol. 28. – P. 2153-2155.

186. Interferometric measurement of the degree of polarization and control of the contrast of intensity fluctuations / J. Ellis, A. Dogariu, S. Ponomarenko, E. Wolf // *Opt. Lett.* – 2004. – Vol. 29. – P. 1536-1538.

187. Mujat M. Correlation matrix of a completely polarized, statistically stationary electromagnetic field / M. Mujat, A. Dogariu, G. S. Agarwal // *Opt. Lett.* – 2004. – Vol. 29. – P. 1539-1541.

188. Apostol A. First- and second-order statistics of optical near fields / Adela Apostol, Aristide Dogariu // *Opt. Lett.* – 2004. – Vol. 29. – P. 235-237.

189. Wolf E. Correlation-induced changes in the degree of polarization, the degree of coherence, and the spectrum of random electromagnetic beams on propagation // *Opt. Lett.* – 2003. – Vol. 28. – P. 1078-1080.

190. Korotkova O. Spectral degree of coherence of a random three-dimensional electromagnetic field / O. Korotkova, E. Wolf // *J. Opt. Soc. Am. A.* – 2004. – Vol. 21, № 10. – P. 2382-2385.

191. Ангельська А. О. Комплексний ступінь взаємної поляризації полів двоприменезаломлюючих матриць біологічних тканин: дис. ... канд. фіз.-мат. наук: 01.04.05 / А. О. Ангельська. – Чернівці, 2009. – 141 с.

192. On polarization manifestation of correlation (intrinsic coherence) of optical fields / Oleg V. Angelsky, Sergij B. Yermolenko, Claudia Yu. Zenkova, Alla O. Agelskaya // *Proc. SPIE.* – 2009. – Vol. 7297 [729714-1]. – P. 1-5.

193. Tervo J. Degree of coherence for electromagnetic fields / J. Tervo, T. Setälä, A. Friberg. // *Opt. Express.* – 2003. – Vol. 11. – P. 1137-1143.

194. Parametric characterization of non-uniformly polarized beams / J. M. Movilla, G. Piquero, R. Martínez-Herrero, P. M. Mejías // *Opt. Commun.* – 1998. – Vol. 149. – P.

230-234.

195. Ангельський А-П. І. Локальна деполяризація когерентних полів та діагностика структурних і часових змін оптичної анізотропії фазово-неоднорідних шарів: дис. ... канд. фіз.-мат. наук: 01.04.05 / А-П. І. Ангельська. – Чернівці, 2012. – 152 с.

196. Самойлов В.О. Медицинская биофизика : учебное пособие / В.О. Самойлов. – СПб.: Спецлит, 2004. – 496 с.

197. Policard A. Etudes sur les aspects offerts par destumeurs experimentales examinees a la lumiere de Wood // C R. Soc. Biol. – 1924. – Vol. 91. – P. 1423-1428.

198. Lipson R.A. The use of a derivative of hematoporphyrin in tumor detection / R. A. Lipson, E. J. Baldes, A. M. Olsen // J. Nat. Cancer Inst. – 1961. – Vol. 26. – P. 1-11.

199. The history of photodetection and photodynamic therapy / R. Ackroyd, C. Kelty, N. Brown, M. Reed // Photochem. Photobiol. – 2001. – Vol. 74. – P. 656-669.

200. Cubeddu R. Fluorescence imaging during photodynamic therapy of experimental tumors in mice sensitized with disulfonated aluminium phthalocyanine / R. Cubeddu, A. Pifferi, P. Taroni [et. al.] // Photochem. Photobiol. – 2000. – Vol. 72. – P. 690-695.

201. Hewett J. The application of a compact multispectral imaging system with integrated excitation source to in vivo monitoring of fluorescence during topical photodynamic therapy of superficial skin cancers / J. Hewett, V. Nadeau, J. Ferguson et al. // Photochem. Photobiol. – 2001. – Vol. 74. – P. 278-282.

202. Poque B. W. In vivo NADH fluorescence monitoring as an assay for cellular damage in photodynamic therapy / B. W. Poque, J. D. Pitts, M. A. Mycek [et al.] // Photochem. Photobiol. – 2001. – Vol. 74. – P. 817-824.

203. Демченко А. П. Люминесценция и динамика структуры белков / А. П. Демченко. – Киев: Наукова думка, 1988. – 280 с.

204. Perk M. Laser-induced fluorescence emission. I. The spectroscopic identification of fibrotic endocardium and myocardium / M. Perk, G. J. Flynn, C. Smith et al. // Laser Surg. and Med. – 1991. – Vol. 11, № 6. – P. 523-534.

205. Chang S. K. Fluorescence spectroscopy for cervical precancer detection. Is there variance across the menstrual cycle? / S. K. Chang, M. V. Dawood, G. Staerckel et al. // J. Biomed. Opt. – 2002. – Vol. 7. – P. 595-602.

206. Ramanujam N. In vivo diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia using 337-nm-excited laser-induced fluorescence / N. Ramanujam, M. F. Mitchell, A. Mahadevan et al. // Proc. Natl Acad. Sci. USA. – 1994. – Vol. 91. – P. 10193-10197.

207. Петрова С. А. Оптимизация диагностики неопластических заболеваний

шейки матки и вульвы с использованием оптической когерентной томографии и флуоресцентной спектроскопии : автореф. дис. ... канд. мед. наук / С.А. Петрова. – Нижний Новгород, 2003.

208. Патент на полезную модель № 44182 Российская Федерация, Лазерный флуоресцентный детектор-спектрометр / Багаев С. Н., Макуха В. К., Мешалкин Ю. П., Черкасова О. П., Федоров В. И.; заявитель и патентообладатель Институт лазерной физики Сибирского Отделения РАН. – № 2004122202 ; приоритет 20 июля 2004 ; опубл. 27.02. 2005.

209. Майоров Ф. А. Лазерно-индуцированная флуоресценция органических примесей в питьевой воде / Ф. А. Майоров, Ю. П. Мешалкин, Ю. А. Политова // Оптика атмосферы и океана. – 2000. – № 10. – С. 914-917.

210. Zellweger M. Fluorescence spectroscopy of exogenous, exogenously-induced and endogenous fluorophores for the photodetection and photodynamic therapy of cancer. Ecole Polytechnique Federale de Lausanne / M. Zellweger. – Lausanne, 2000. – 233 p.

211. Sexton M. Histologic pattern analysis of basal cell carcinoma. Study of a series of 1039 consecutive neo plasms / M. Sexton, D. B. Johnes, M. E. Maloney // J. Am. Acad. Dermatol. – 1990. – № 23. – P. 1118-1126.

212. Figge F. Fluorescence studies on cancer / F. Figge // Can. Res. – 1944. – № 4(8). – P. 465-471.

213. Осипова Е. А. Флуоресцентные методы исследования опухолей век и конъюнктивы на основе эндогенных и экзогенных флуорофоров : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е. А. Осипова. – М., 2009.

214. Кудашев Б. В. Применение метода флуоресцентной диагностики для повышения радикализма трансуретральной резекции мочевого пузыря: дис. ... канд. мед. наук / Б. В. Кудашев. – М., 2001.

215. Флуоресцентная эндоскопия, дермаскопия и спектрофотометрия в диагностике злокачественных опухолей основных локализаций / В. И. Чиссов, В. В. Соколов, Н. Н. Булгакова, Е. В. Филоненко // Российский биотерапевтический журнал. – 2003. – Т. 2, № 4. – С. 45-56.

216. Crow P. Optical diagnostics in urology: current applications and future prospects / P. Crow, N. Stone, C. A. Kendah // BJU International. – 2003. – Vol. 92. – P. 400-407.

217. Lakowicz J.R. Principles of Fluorescence Spectroscopy / J.R. Lakowicz. – New York: Springer, 1999. – 565c.

218. Time Resolved Fluorescence Anisotropy, Chapter 10. FLIM Microscopy in Biology and Medicine / S.S. Vogel, C. Thaler, P.S. Blank, S. Koushik. – CRC Press Taylor & Francis Group, 2009.
219. Rotational Motions of Macromolecules by Single-Molecule Fluorescence Microscopy / S.A. Rosenberg, M.E. Quinlan, J.N. Forkey, Y.E. Goldman // *Accounts of Biochemical Research*. – 2005. – Vol. 38. – P. 583-593.
220. Thorne S.H. Using in vivo bioluminescence imaging to shed light on cancer biology / C.H. Contag // *Proc. IEEE*. – 2005. – Vol. 93. – P. 750-762.
221. In vivo near-infrared fluorescence imaging of osteoblastic activity / A. Zaheer, R.E. Lenkinski, A. Mahmood, A.G. Jones, L.C. Cantley, J.V. Frangioni // *Nat. Biotechnol.* – 2001. – Vol. 19. – P. 1148-1154.
222. In vivo imaging of tumors with protease-activated near-infrared fluorescent probes / R. Weissleder, C.H. Tung, U. Mahmood, A. Bogdanov // *Nat. Biotechnol.* – 1999. – Vol. 17. – P. 375-378.
223. Looking and listening to light: the evolution of whole-body photonic imaging / V. Ntziachristos, J. Ripoll, L.H.V. Wang, R. Weissleder // *Nat. Biotechnol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 313-320.
224. Cutler M. Transillumination as an aid in the diagnosis of breast lesions / M. Cutler // *Surg. Gynecol. Obstet.* – 1929. – Vol. 48. – P. 721-729.
225. Frequency-domain techniques enhance optical mammography: initial clinical results / M.A. Franceschini, K.T. Moesta, S. Fantini, G. Gaida, E. Gratton, et al. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1997. – Vol. 94. – P. 6468-6473.
226. Planar fluorescence imaging using normalized data / V. Ntziachristos, G. Turner, J. Dunham, S. Windsor, A. Soubret, et al. // *J. Biomed. Opt.* – 2005. – 10. – P. 064007.
227. O. Arteaga, “Mueller matrix polarimetry of anisotropic chiral media,” Ph.D. dissertation (University of Barcelona, 2010).
228. Shindo Y. Mueller Matrix Approach to Fluorescence Spectroscopy. Part I: Mueller Matrix Expressions for Fluorescent Samples and Their Application to Problems of Circularly Polarized Emission Spectroscopy / Yohji Shindo and Yasunori Oda // *Applied Spectroscopy*. – 1992. – Vol. 46, Issue 8. – P. 1251-1259.
229. Arteaga O. Mueller matrices in fluorescence scattering / O. Arteaga, S. Nicols, B. Kahr // *Optics Letters*. – 2012. – Vol. 37, № 14 – P. 2835-2837.
230. Statistical and fractal structure of biological tissue Mueller matrix images / O. V. Angelsky, V. P. Pishak, A. G. Ushenko and Yu. A. Ushenko // *Optical correlation*



techniques and applications; Ed. by O. Angelsky. – Bellingham : SPIE Press. – 2007. – P. 213-266.

231. Унгурян В. П. Методи поляризаційної та фазової діагностики патологічних змін біологічних тканин / В. П. Унгурян, Ю. О. Ушенко, Л. І. Бізер // Монографія. – Чернівці : ЧНУ. – 2009. – 247 с.

232. Statistical, Correlation and Topological Approaches in Diagnostics of the Structure and Physiological State of Birefringent Biological Tissues / O. V. Angelsky, A. G. Ushenko, Yu. A. Ushenko, V. P. Pishak, A. P. Peresunko // Handbook of Photonics for Biomedical Science; Ed. by Valery V. Tuchin – London. : CRC Press. – 2010. – P. 283-322.

233. Diagnostics of Structure and Physiological State of Birefringent Biological Tissues: Statistical, Correlation and Topological Approaches / Y. A. Ushenko, T. M. Boychuk, V. T. Bachynsky, O. P. Mincer // Handbook of Coherent-Domain Optical Methods. – New York : Springer Science+Business Media – 2013. – P. 107-148.

234. Angelsky O.V., Ushenko A.G. and Ushenko Yu. A., "Optical geometric properties of skin epidermis surface: statistical and fractal approach," Ukr. J. Phys. Opt. 7, No. 1, 27-34, 2006.

235. Ushenko Yuriy A. On the interconnection between correlation and singular-optics approaches in polarization diagnostics of fields from biological tissues / Yuriy A. Ushenko; Alla O. Angelskaya; Dmitry N. Burkovets // Proc. SPIE. – 2008. – Vol. 7008. – P. 700821.

236. Ushenko Yu. A. Polarization properties of biological rough surfaces / Yu. A. Ushenko, V. T. Bachinskii // Proc. Eight International Conference on Correlation Optics. – 2008. – Vol. 7008. – P. 700820.

237. Polarization selection of two-dimensional phase-inhomogeneous pathologically changed biological tissue images / Sergey B. Yermolenko, Yuriy A. Ushenko, Vadim I. Istratyy, Pavlo V. Ivashko // Proc. SPIE. – 2009. – Vol. 7371. – P. 73711L.

238. Spectropolarimetry in singular structure biotissue images for diagnostics of their pathological changes / Sergey Yermolenko, Yuriy Ushenko, Alexander Prydiy, Stepan Guminetski, Ion Gruia // Proc. Novel Optical Instrumentation for Biomedical Optics Application IV. – 2009. – Vol. 7371. – P. 73711M.

239. Ushenko Yuriy A. The degree of mutual correlation of coordinate distributions of Mueller matrix elements biological tissues and diagnostics of their physiological state / Yuriy A. Ushenko, Yuriy Ya. Tomka, Alexander Dubolazov // Proceeding Sensor+Test. – 2009. – P. 347-351.

240. Wavelet analysis for Mueller matrix images of biological crystal networks / Yu. O.

Ushenko, Yu. Ya. Tomka, O. G. Pridiy, A. V. Motrich, O. V. Dubolazov, I. Z. Misevitch, V. V. Istratiy // *Semiconductor Physics, Quantum Electronics and Optoelectronics*. – 2009. – Vol. 12. – № 4. – P. 391-398.

241. Polarization interferometry of singular structure of organic crystal polarization properties / S. B. Yermolenko, M. P. Gorsky, Y. A. Ushenko, A. G. Pridiy // *Proceeding FRINGE 2009*. – 2009. – P. 221-224.

242. Ushenko Y. Singular structure of organic crystal polarization properties / Y. Ushenko, M. Gorsky, A. Ushenko // *Proc. Emerging Trends & Novel Materials in Photonics*. – 2009. – P. 191.

243. Polarization Metrology Of Mueller Matrices Images Of Phase-Inhomogeneous Layers/ A. G. Ushenko, Yu. A. Ushenko, I. Z. Misevitch, A. V. Dubolazov, V. I. Istratiy // *Proc .The 9<sup>th</sup> International Symposium on Measurement Technology and Intelligent Instruments*. – 2009. – Vol. 3 – P. 267 – 271.

244. Ushenko Yu. A. Evolution of statistic moments of 2D distributions of biological tissues Mueller matrix elements in the process of their birefringent structure changes / Yu. A. Ushenko, P. T. Popovitch, S. V. Godnyuk // *Proc. SPIE*. – 2009. – Vol. 7388. – P. 73881N.

245. Ushenko Yu. A. A New Method of Mueller-Matrix Diagnostics and Differentiation of Early Oncological Changes of the Skin Derma / Yu. A. Ushenko, A. P. Peresunko, and Bozan Adel Baku // *Advances in Optical Technologies*. – 2010. – Vol. 2010. – P. 952423.

246. Angelsky Oleg V. The Degree of Mutual Anisotropy of Biological Liquid Crystals Net during the Diagnostics of Human Tissues Birefringence / Oleg V. Angelsky and Yuriy A. Ushenko // *Advances in Optical Technologies*. – 2010. – Vol. 2010. – P. 321275.

247. The Interconnection between the Coordinate Distribution of Mueller-Matrixes Images Characteristic Values of Biological Liquid Crystals Net and the Pathological Changes of Human Tissues / Oleg V. Angelsky, Yuriy A. Ushenko, Alexander V. Dubolazov, and Olha Yu. Telenha // *Advances in Optical Technologies*. – Vol. 2010. – P. 130659.

248. Phase maps for networks of polycrystalline human biological liquids: Statistical and fractal analyses / Yu. O. Ushenko, V. V. Istratiy, V. O. Balanets'ka, D. O. Kvasniyk, V. T. Bachinsky, O. I. Olar // *Semicond. Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics*. – 2010. – № 13(3). – P. 240-247.

249. Wavelet analysis for polarization maps of networks formed by liquid biological crystals in blood plasma: statistical and fractal approaches / V. T. Bachinsky, Yu. O. Ushenko, Yu. Ya. Tomka, O. V. Dubolazov, V. O. Balanets'ka, A. V. Karachevtsev //



- Semicond. Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics. – 2010. – № 13(2). – P. 189-201.
250. Ushenko Yu. Laser metrology of biological liquid crystals singular structure / Yu. Ushenko, O. Telenha, V. Balanetskyaya // Proc. SPIE. – 2010. – Vol. 7821. – P. 78210Z.
251. Statistical and Fractal Processing of Phase Images of Human Biological Fluids / Y. O. Ushenko, Y. Y. Tomka, Y. I. Marchuk, V. O. Balanetska // Advances in Electrical and Computer Engineering. – 2010. – Vol. 10, № 4. – P. 161-166.
252. Complex degree of coherency inherent to laser images of blood plasma polycrystalline networks / Yu. A. Ushenko, V. V. Istratiy, A. V. Dubolazov, A. P. Angelsky // Semicond. Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics. – 2010. – № 13(4). – P. 404-412.
253. Ushenko Yu. A. Laser diagnostics of anisotropy in birefringent networks of biological tissues in different physiological conditions / Yu. A. Ushenko, Yu. Ya. Tomka, A. V. Dubolazov // Quantum Electron. – 2011. – № 41(2). – P. 170-175.
254. Ushenko Yu. A. Statistical Structure of Skin Derma Mueller Matrix Images in the Process of Cancer Changes / Yu. A. Ushenko, O. V. Dubolazov, and A. O. Karachevtsev // Optical Memory and Neural Networks (Information Optics). – 2011. – № 20(2) – P. 145-154.
255. Ushenko Yu. A. Complex degree of mutual anisotropy of extracellular matrix of biological tissues / Yu. A. Ushenko, Yu. Ya. Tomka and A. V. Dubolazov // Optics and Spectroscopy. – 2011. – № 110(5) – P. 814-819.
256. Diagnostics of optical anisotropy changes in biological tissues using Müller matrix / Yu. A. Ushenko, Yu. Ya. Tomka, A. V. Dubolazov, O. Yu. Telenga // Quantum Electron. – 2011. – № 41(3) – P. 273-277.
257. New parameter for describing and analyzing the optical-anisotropic properties of biological tissues / Yu. A. Ushenko, O. I. Telenga, A. P. Peresunko and O. K. Numan // J. Innov. Opt. Health Sci. – 2011. – № 4(4) – P. 463-475.
258. Ushenko Yuriy A. Investigation of formation and interrelations of polarization singular structure and Mueller-matrix images of biological tissues and diagnostics of their cancer changes // J. Biomed. Opt. – 2011. – № 16(6). – P. 066006.
259. Wavelet-analysis for Laser Images of Blood Plasma / Y. O. Ushenko, Y. Y. Tomka, O. V. Dubolazov, V. O. Balanetska, A. V. Karachevtsev, A.-P. Angelsky // Advances in Electrical and Computer Engineering. – 2011. – № 11(2). – P. 55-62.
260. Ushenko Y. A. Phase maps of polycrystalline human biological fluids networks: statistical, correlation, and fractal analysis // Opto-electron. Rev. – 2011. – № 19(3). – P. 333-339.

261. Complex degree of mutual anisotropy of biological liquid crystals net / Y. A. Ushenko, O. V. Dubolazov, O. Yu. Telenga, A. P. Angelsky, A. O. Karachevtcev, V. Balanetska // *Proc. SPIE.* – 2011. – Vol. 8087. – P. 80872Q.
262. Ushenko Y. A. Wavelet analysis of polarization maps of polycrystalline biological fluids networks // *Opto-electron. Rev.* – 2011. – № 19(4). – P. 425-434.
263. Angelsky O. V. The degree of mutual anisotropy of biological liquids polycrystalline nets as a parameter in diagnostics and differentiations of hominal inflammatory processes / O. V. Angelsky, Yu. A. Ushenko, V. O. Balanetska // *Proc. SPIE.* – 2011. – Vol. 8338. – P. 83380S.
264. Ushenko Yu. O. Polarization-singular processing of biological layers laser images to diagnose and classify their optical properties / Yu. O. Ushenko; O. Y. Telenga // *Proc. Tenth International Conference on Correlation Optics.* – 2011. – Vol. 8338. – P. 83380U.
265. Statistic and fractal processing of human biological fluids phase-inhomogeneous images / Y. Ushenko, O. Telenha, V. Balanetska, M. Sidor // *Proc. of International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering (ICNBME-2011).* – 2011. – P. 395-399.
266. Ushenko Yu. A. Complex degree of mutual anisotropy in diagnostics of biological tissues physiological changes / Yu. A. Ushenko, A. V. Dubolazov, A. O. Karachevtcev, N. I. Zabolotna // *Proc. SPIE.* – 2011. – Vol. 8134. – P. 81340O.
267. Statistical, fractal, and singular processing of phase images of hominal blood plasma during the diagnostics of breast cancer / Yu. A. Ushenko, V. O. Balanetska, N. I. Piddubna, and B. P. Olyinichenko // *Journal of flow visualization & image processing.* – 2011. – № 18(3). – P. 185-197.
268. Ushenko Yu. A. The feasibilities of using the statistical, fractal and singular processing of hominal blood plasma phase images during the diagnostics and differentiation of mammary gland pathological states // *J. Innov. Opt. Health Sci.* – 2012. – № 5(1). – P. 1150001.
269. Wavelet analysis of Fourier polarized images of the human bile / Yuriy O. Ushenko, Olexander V. Dubolazov, Artem O. Karachevtsev, Mykhaylo P. Gorsky, and Yulya F. Marchuk // *Appl. Opt.* – 2012. – № 51. – P. 133-139.
270. Ushenko Yu. O. Multidimensional laser microscopy polarization-singular structure of phase-inhomogeneous layers to diagnose and classify their optical properties / Yu. O. Ushenko, O. V. Dubolazov // *Proc. SPIE.* – 2012. – Vol. 8498. – P. 84980U.
271. Ushenko Yuriy A. Concerted spatial-frequency and polarization-phase filtering of laser images of polycrystalline networks of blood plasma smears // *J. Biomed. Opt.* –

2012. – № 17(11). – P. 117005.

272. Ushenko Yu. A. Classifying optical properties of surface-and bulk-scattering biological layers with polarization singular states / Yu. A. Ushenko, G. B. Bodnar, G. D. Koval // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. – 2013. – № 6(3). – P. 1350018.

273. Laser polarization fluorescence of the networks of optically anisotropic biological crystals / Y. A. Ushenko, A. V. Dubolazov, A. P. Angelsky, M. I. Sidor, G. B. Bodnar, G. Koval, N. I. Zabolotna, A. Smolarz, M. Sh. Junisbekov // *Proc. SPIE*. – 2013. – Vol. 8698. – P. 869809.

274. Complex Polarization-Phase and Spatial-Frequency Selections of Laser Images of Blood-Plasma Films in Diagnostics of Changes in Their Polycrystalline Structure / Yu. A. Ushenko, P. O. Angelsky, A. V. Dubolazov, A. O. Karachevtsev, M. I. Sidor, O. P. Mintser, B. P. Oleinichenko, and L. I. Bizer // *Optics and Spectroscopy*. – 2013. – № 115(4). – P. 601-609.

275. Multidimensional Mueller Matrices Microscopy of Biological Crystal Networks Structure / Yuriy A. Ushenko, Alexander V. Dubolazov, Artem O. Karachevtsev, Mikhail Yu. Sakhnovskiy, Liliya I. Bizer, Olena B. Bodnar // *Proc. Fringe* 2013. – 2014. – P. 859-862.

276. Laser polarization-variable autofluorescence of the network of optically anisotropic biological tissues: diagnostics and differentiation of early stages of cancer of cervix uteri / Yu. A. Ushenko, M. I. Sidor, N. Pashkovskaia, G. D. Koval, Yu. F. Marchuk, D. Andreichuk // *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. – 2014. – Vol. 07, № 03. – P. 1450024.

277. Laser polarization autofluorescence of endogenous porphyrins of optically anisotropic biological tissues and fluids in diagnostics of necrotic and pathological changes of human organs / Yu. A. Ushenko, A. D. Arkhelyuk, M. I. Sidor, V. T. Bachynskiy, and O. Yu. Wanchuliak // *Appl. Opt.* – 2014. – Vol. 53. – P. B181-B191.

278. Fourier-domain Jones-matrix mapping of a complex degree of mutual anisotropy in differentiation of biological tissues' pathological states / Yu. A. Ushenko, L. Yu. Trifonyuk, A. V. Dubolazov, and A. O. Karachevtsev // *Appl. Opt.* – 2014. – № 53. – P. B205-B214.

279. Ushenko Yu.A. Mueller-matrix mapping of optically anisotropic fluorophores of biological tissues in the diagnosis of cancer / Yu. A. Ushenko, M.I. Sidor, G.B. Bodnar // *Quantum Electron.* – 2014. – Vol. 44. – P. 785-790.

280. Ushenko Yu. O. Spectral-selective Mueller-matrix images of laser autofluorescence of biological tissues / Yu. O. Ushenko, A. D. Arkhelyuk // *Proceedings of Seminar of Optoelectronics (Laser Optics 2014)*. – 2014. – P. 64-67.

281. Fourier-Stokes polarimetry of fields scattered by birefringence biological tissues / Yu.O. Ushenko, A.V. Dubolazov, A.O. Karachevtsev, O.Yu. Novakovska, V.O. Savich // *Proceeding of ICYS (Low temperature physics-2014)*. – 2014. – P. 147.
282. Пат. 43761 Україна, МПК A61B 5 / 00. Спосіб ранньої діагностики і диференціації стадії раку / Унгурян В. П., Ушенко Ю. О.; заявник і патентовласник Буковинський державний медичний університет. – № u200904058 ; заяв. 27.04.2009 ; опубл. 25.08.09, Бюл. № 16 / 2009.
283. Пат. 43769 Україна, МПК A61B 5 / 00. Спосіб ранньої діагностики раку / Унгурян В. П., Ушенко Ю. О.; заявник і патентовласник Буковинський державний медичний університет. – № u200904075 ; заяв. 27.04.2009 ; опубл. 25.08.09, Бюл. № 16 / 2009.
284. Пат. 54166 Україна, МПК G01N 33 / 00, A61N 5 / 00. Спосіб поляризаційного визначення причини настання смерті внаслідок гострої коронарної недостатності / Ушенко Ю. О., Ванчуляк О. Я.; заявник і патентовласник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № u201005886 ; заяв. 17.05.2010 ; опубл. 25.10.10, Бюл. № 20 / 2010.
285. Пат. 55247 Україна, МПК G01N 33 / 92, A61B 5 / 00. Спосіб лазерної поляриметричної діагностики і диференціації захворювань суглоба / Васюк В. Л., Кваснюк Д. В., Ушенко Ю. О., Баланецька В. О.; заявник і патентовласник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № u201006356 ; заяв. 25.05.2010 ; опубл. 10.12.10, Бюл. № 23 / 2010.
286. Пат. 55307 Україна, МПК G01N 33 / 00. Спосіб взаємнокореляційного визначення давності настання смерті / Ванчуляк О. Я., Ушенко Ю. О., Попович Д. Т.; заявник і патентовласник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № u201006721 ; заяв. 01.06.2010 ; опубл. 10.12.10, Бюл. № 23 / 2010.
287. Пат. 55309 Україна, МПК G01N 33 / 00. Спосіб флуоресцентного визначення давності настання смерті за динамікою статистичних моментів лазерних флуоресцентних зображень ліквару трупа людини / Годнюк С. В., Бачинський В. Т., Ушенко Ю. О., Ванчуляк О. Я.; заявник і патентовласник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № u201006723 ; заяв. 01.06.2010 ; опубл. 10.12.10, Бюл. № 23 / 2010.
288. Пат. 55310 Україна, МПК G01N 33 / 00, A61B 5 / 00. Спосіб фазової

диференціальної діагностики патології шлунка / Пересунько О. П., Мойсюк Т. Г., Ушенко Ю. О.; заявник і патентовласник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № u201006724 ; заяв. 01.06.2010 ; опубл. 10.12.10, Бюл. № 23 / 2010.

289.Пат. 88763 Україна, МПК G01N 33 / 00, A61B 5 / 00. Спосіб поляризаційно-кореляційної діагностики доліхосигми / Ушенко О. Г., Боднар Г. Б., Ушенко Ю. О., Дуболазов О. В., Карачевцев А. О., Савіч В. О.; заявник і патентовласник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № u201313632 ; заяв. 25.11.2013 ; опубл. 25.03.14, Бюл. № 6 / 2014.

290.Пат. 89674 Україна, МПК G01N 33 / 00, A61B 5 / 00. Спосіб ранньої діагностики ендометріозу за Джонс-матричним картографуванням гістологічних зрізів людини / Ушенко О. Г., Коваль Г. Д., Савіч В. О., Ушенко Ю. О., Дуболазов О. В., Карачевцев А. О., Чопяк В. В., Юзько О. М.; заявник і патентовласник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № u201314316 ; заяв. 09.12.2013 ; опубл. 25.04.14, Бюл. № 8 / 2014.

291.Пат. 89676 Україна, МПК G01N 33 / 00, A61B 5 / 00. Спосіб деполяризаційної діагностики доліхосигми / Ушенко О. Г., Боднар Г. Б., Ушенко Ю. О., Дуболазов О. В., Карачевцев А. О., Савіч В. О.; заявник і патентовласник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № u201314318 ; заяв. 09.12.2013 ; опубл. 25.04.14, Бюл. № 8 / 2014.

## ДОДАТОК А



МІНЕКОНОМРОЗВИТКУ УКРАЇНИ

Державне підприємство

Всеукраїнський державний науково-виробничий центр стандартизації,  
метрології, сертифікації та захисту прав споживачів  
(ДП «Укрметртестстандарт»)

03680, м. Київ, вул. Метрологічна, 4 Свідоцтво про уповноваження №ПК 001-2009 від 23 лютого 2009р.

Науково-виробничий інститут метрологічного забезпечення вимірювань складу,  
властивостей і кількості речовин і матеріалів  
(Метхіменерготест)

СВІДОЦТВО  
ПРО ДЕРЖАВНУ МЕТРОЛОГІЧНУ АТЕСТАЦІЮ

Лазерний мікрополяриметр ЛМП-1 № 01

№ 37-567/12

від 06 серпня 2012 р.

**Виробник:** «Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича», м. Чернівці  
**Належить:** «Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича», м. Чернівці  
**Призначення:** вимірювання кута обертання площини поляризації та визначення координатних розподілів сукупності фотометричних і поляризаційних параметрів лазерних мікроскопічних зображень зразків органічного та біологічного походження.

**Умови проведення:** температура –  $(30,0 \pm 1,0)^\circ\text{C}$ , відносна вологість –  $(45,0 \pm 5,0) \%$ .

## Результати державної метрологічної атестації

Назва метрологічної характеристики	Одержане значення метрологічної характеристики	Назва, тип робочих еталонів, застосованих під час атестації
Робоча довжина хвилі, мкм	0,445; 0,532; 0,650.	Вихідний еталон України ВЕТУ 11-50-01-98У
Діапазон вимірювань кута обертання площини поляризації, °	від мінус 90 до 90	
Границі допустимої абсолютної похибки при вимірюванні кута обертання площини поляризації, °	$\pm 2,5$	

За результатами державної метрологічної атестації (протокол № 567-12 від 06.08.2012), яка проведена згідно з ПМА «Лазерний мікрополяриметр ЛМП-1. Програма і методика метрологічної атестації», Лазерний мікрополяриметр ЛМП-1 № 01 визнано придатним до застосування з метрологічними характеристиками, встановленими за результатами державної метрологічної атестації.

Повірку проводити відповідно до ДСТУ ГОСТ 8.258:2008 «ГСИ. Поляриметри и сахариметры. Методика поверки».

Міжповірочний інтервал – не більше 12 місяців

Заступник директора



А.Б. Глєбов

П  
Т  
087006



МІНЕКОНОМРОЗВИТКУ УКРАЇНИ

**Державне підприємство  
Всеукраїнський державний науково-виробничий центр стандартизації,  
метрології, сертифікації та захисту прав споживачів  
(ДП «Укрметртестстандарт»)**

03680, м. Київ, вул. Метрологічна, 4 Свідцтво про уповноваження №ПК 001-2009 від 23 лютого 2009 р.

**СВІДОЦТВО**

про перевірку робочого засобу вимірювальної техніки

№ 37/3703 Чинне до 01.10 2014 р.Назва та умовне позначення Лазерний мікрополяриметр ЛМП-01Зав.№ 01Виробник «Чернівецький національний університет імені Юрія  
Федьковича», м. ЧернівціВласник «Чернівецький національний університет імені Юрія  
Федьковича», м. Чернівці

На підставі результатів перевірки засіб вимірювальної техніки визнано придатним до застосування.

**Експлуатаційна документація**

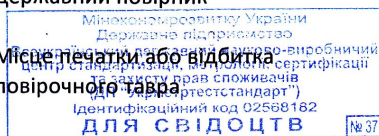
Позначення та назва документу, що містить вимоги до метрологічних характеристик і (або), за

**Границі абсолютної похибки при вимірюванні кута обертання**

потреби, значення метрологічних характеристик (клас точності, похибки, діапазони вимірювань тощо)

**площини поляризації  $\pm 0,5^\circ$ .**Додаток на — стор.

Державний повірник

А.В. КоваленкоМісце печатки або відбитка  
повірного тавра« 01 » листопада 2013 р.

## ДОДАТОК Б

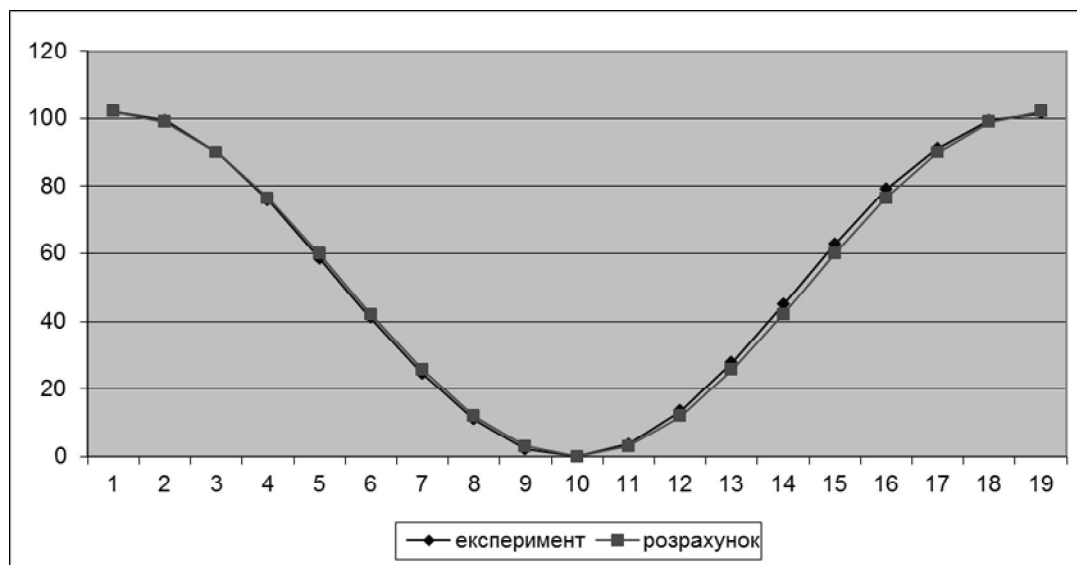
### МЕТРОЛОГІЧНІ ПАРАМЕТРИ ЛАЗЕРНОГО МІКРОПОЛЯРИМЕТРА

Тут наведено результати досліджень по визначенню точності та похибок вимірювання. Такі дослідження включали:

- визначення діапазону лінійності вимірювань цифрової камери (рис. Б1);
- кореляційна компенсація поперечних зсувів поляризаційно-відфільтрованих мікроскопічних зображень (рис. Б2 – рис. Б5);
- вимірювання матриць Мюллера елементів оптичної схеми лазерного мікрополяриметра та оцінювання абсолютних і відносних похибок вимірювань (рис. Б6 – рис. Б18).

#### Б1. Визначення діапазону лінійності вимірювань цифрової камери

Результати дослідження лінійності світлочутливої характеристики цифрової камери 10 наведені на рис. Б1.



**Рис. Б1.** Аналітична та експериментальна залежності інтегральної інтенсивності пропускання лінійного поляризатора



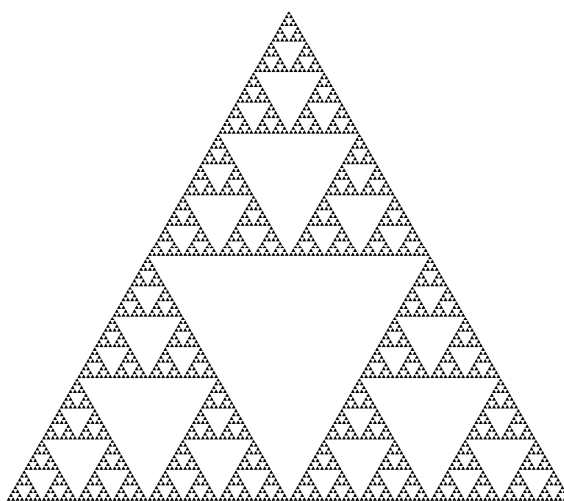
З наведених даних видно, що відхилення експериментально зареєстрованих цифровою камерою та теоретично обчислених даних не перевищують 3% у всьому лінійному діапазоні (0,03-102) зміни інтенсивності.

## **Б2. Кореляційна компенсація поперечних зсувів поляризаційно-відфільтрованих мікроскопічних зображень**

З метою усунення впливу клиноподібності поляризаційних елементів, що при обертанні зсувають мікроскопічні зображення, нами застосовано метод взаємної кореляції. Ідея полягає у взаємно кореляційному суміщенні за максимумом кореляції вхідного зображення, та поляризаційно-відфільтрованого.

Методика вимірювання поляризаційних характеристик передбачає вимірювання інтенсивності поля випромінювання розсіяного зразком для різних положень поляризаторів і за наявності чи відсутності пластинки  $\lambda/4$ . На практиці вказані дії призводять не тільки до перерозподілу інтенсивності, а і до зміщення зображення внаслідок недосконалості оптико-механічної системи.

Розглянемо методику компенсації зміщення зображень на прикладі двох фрактальних зображень (А і Б) трикутника Серпинського, що були попередньо зміщені один відносно іншого по координатах X та Y.



**Рис. Б2.** Зображення трикутника Серпинського

Для оцінки величини зміщення зображень було розроблено програму на Delphi7. Оскільки у випадку поляризаційних вимірювань для різних положень поляризатора чи пластинки  $\lambda/4$  (розділ 2, рис. 2.2 – рис. 2.5) яскравість оптично-активних об'єктів на зображенні може бути як великою так і малою, то було здійснено диференціювання по  $x$  зображень А і В використовуючи наступні формули

$$A' = \sum_y \sum_{x-1} (A_{y,x} - A_{y,x+1}), B' = \sum_y \sum_{x-1} (B_{y,x} - B_{y,x+1}) \quad (\text{Б.1})$$

Це дозволило чітко виділити ділянки різкої зміни інтенсивності (межі об'єктів на зображеннях). В результаті отримано двомірні розподіли похідних для двох зображень (диференційоване зображення).

Приклад диференційованого зображення А представлений на рисунку Б3.

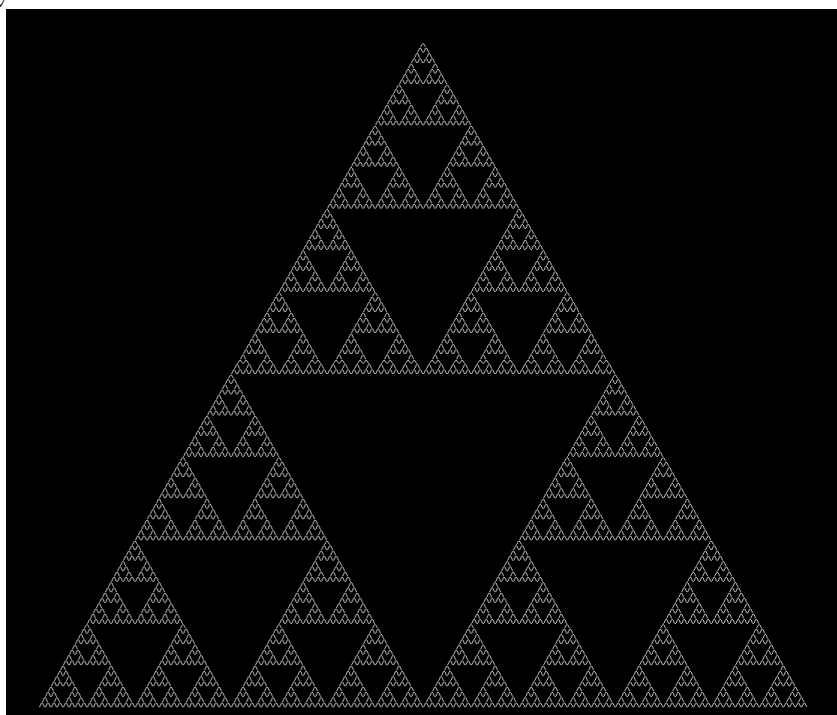


Рис.Б3. Диференційоване зображення А

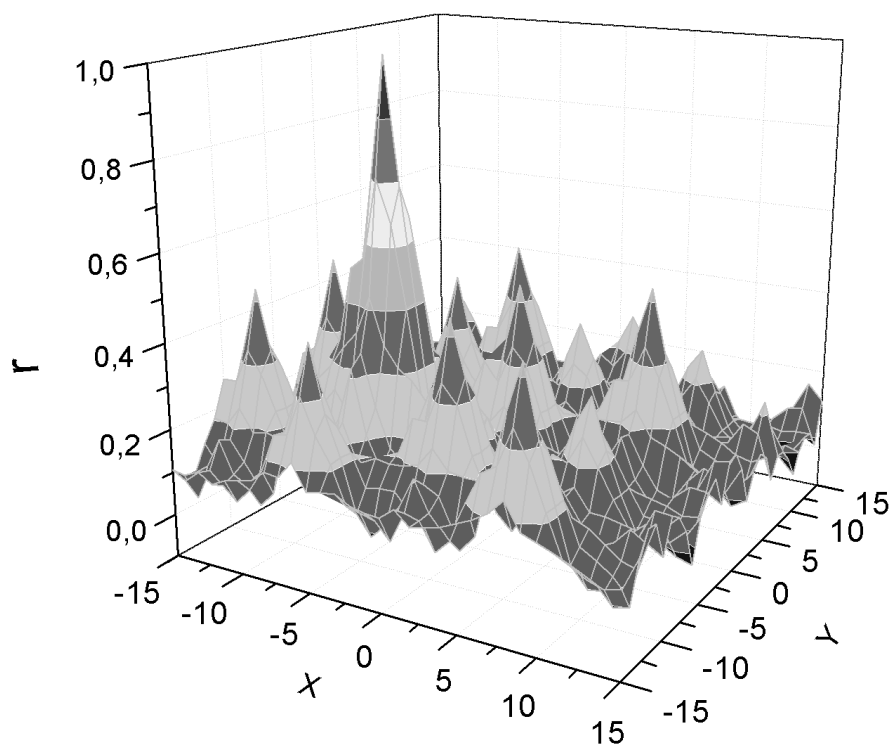
Для даних розподілів розраховувався кореляційний коефіцієнт в залежності від зміщення по  $x$  та  $y$  (рис. Б4).

Кореляційний коефіцієнт для зображень  $A'$  і  $B'$  розраховувався з використанням наступної формули

$$r = \frac{\sum_m \sum_n (A'_{mn} - \bar{A}')(B'_{mn} - \bar{B}')}{\sqrt{\left(\sum_m \sum_n (A'_{mn} - \bar{A}')^2\right) \left(\sum_m \sum_n (B'_{mn} - \bar{B}')^2\right)}}, \quad (\text{Б.2})$$

Де  $m, n$  – розміри зображення в пікселях,

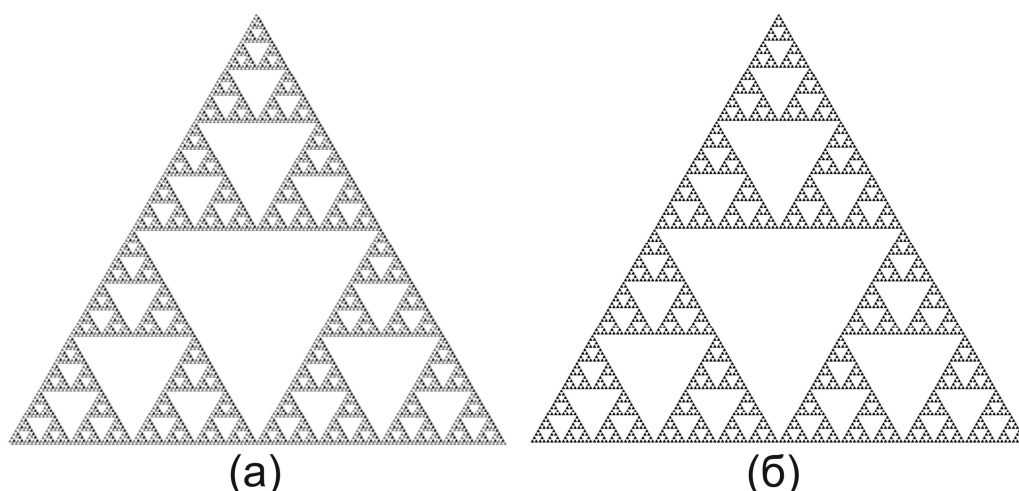
$\bar{A}', \bar{B}'$  – середні значення інтенсивності для двох зображень.



**Рис. Б4.** Залежність кореляційного коефіцієнту від зміщення по  $X$  та  $Y$ .

По місцю локалізації максимуму кореляційного коефіцієнта визначалося необхідне зміщення зображень. Накладені початкові

зображення А і В та накладені зображення після обробки показані на наступному рисунку (рис. Б5).



**Рис. Б5.** Накладені початкові зображення А і Б - (а), та кореляційно суміщені зображення А і Б - (б)

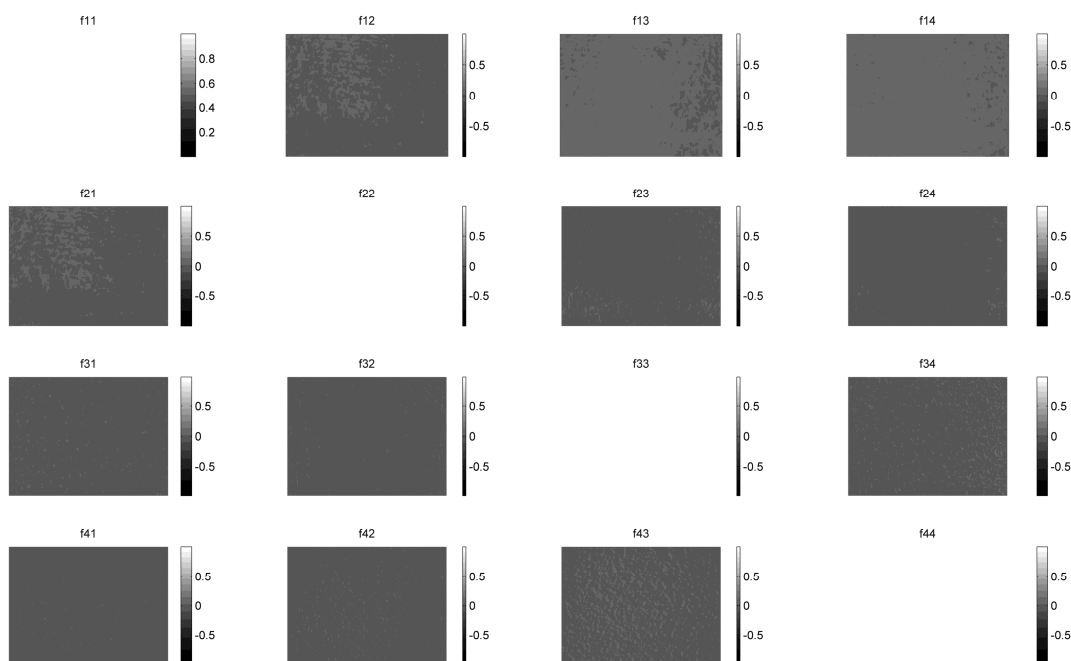
### **Б3. Вимірювання матриць Мюллера елементів оптичної схеми лазерного мікрополяриметра та оцінювання абсолютних і відносних похибок вимірювань**

Наступним кроком метрологічних досліджень було вивчення поляризаційної передавальної функції мікрооб'єктива Nikon CFI Achromat P. З теоретичної точки зору “застосування” такого проєкційного вузла у лазерному мікрополяриметрі (розділ 2, рис.2.4–рис.2.6) не повинно вносити суттєвих спотворень у поляризаційну структуру мікроскопічного зображення.

Іншими словами, для рівняння вектор-параметричного перетворення  $S^* = \{F\}S_0$  для векторів Стокса падаючого ( $S_0$ ) і перетвореного ( $S^*$ ) об'єктивом пучків у кожному пікселі цифрової камери повинні виконуватися наступні співвідношення

$$S^* = S_0 \rightarrow \{F\} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}. \quad (\text{Б3})$$

На рис. Б6 приведено координатні розподіли елементів матриці Мюллера поляризаційного мікрооб'єктива Nikon.

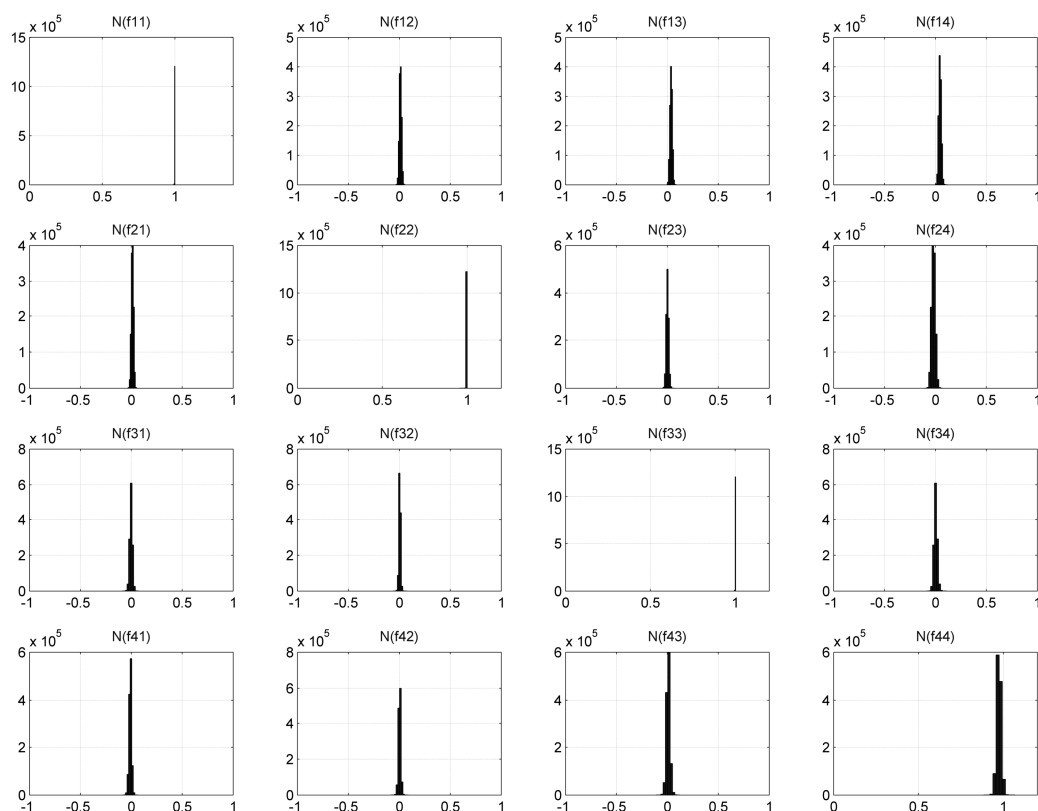


**Рис. Б6.** Координатні розподіли елементів матриці Мюллера поляризаційного мікрооб'єктива Nikon

З наведених даних видно, що експериментально виміряна матриця близька до одиничної діагональної -  $\bar{f}_{11} = \bar{f}_{22} = \bar{f}_{33} = \bar{f}_{44} = 1$ , де  $\bar{f}_{ii}$  - середнє значення матричного елементу, обчислене за усією сукупністю пікселів світлочутливої площадки цифрової камери.

З фізичної точки зору одержаний результат вказує на відсутність поляризаційних спотворень у структурі лазерного пучка, перетвореного об'єктивом.

Разом із тим існують похибки зазначеного поляризаційного перетворення, що ілюструє Рис. Б7.

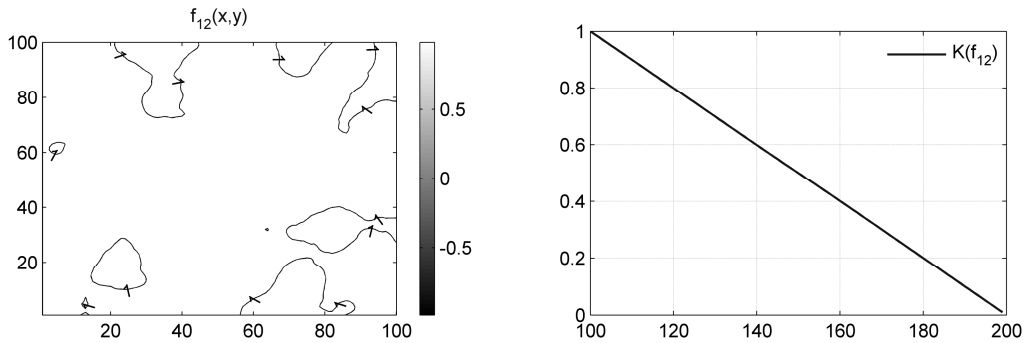


**Рис. Б7.** Гістограми розподілу випадкових значень елементів матриці Мюллера поляризаційного мікроскопу Nikon

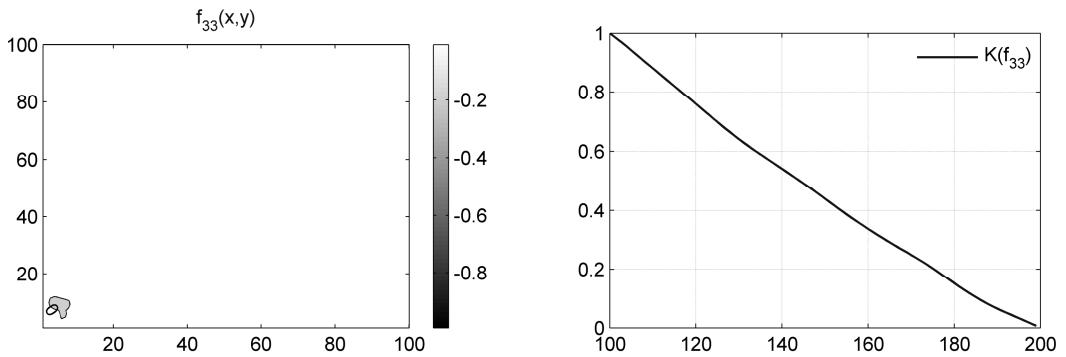
З наведених на рис. Б7 даних видно, що величина інтегральної (по всій сукупності пікселів  $m \times n$ ) абсолютної похибки  $\Delta q$  вимірювань елементів  $f_{i=1 \div 3, k=1 \div 3}$  лежить у межах 0,03-0,04, а елементів  $f_{i=4, k=1 \div 4}$ ,  $f_{i=1 \div 4, k=4}$  - у межах 0,06-0,08.

Розкид випадкових значень абсолютної похибки  $\Delta q$  складає у межах  $m \times n$  складає 0,01-0,06 та 0,04-0,11 відповідно.

На рис. Б8 і рис. Б9 приведені додаткові параметри, що характеризують координатну однорідність розподілу виміряних значень двох типів матричних елементів  $f_{i=1 \div 3, k=1 \div 3}$  і  $f_{i=1 \div 4, k=4}$



**Рис. Б8.** Двовимірні розподіли значень матричного елемента  $f_{12}$  та автокореляційна залежність  $K(f_{12})$ , що характеризує такий розподіл

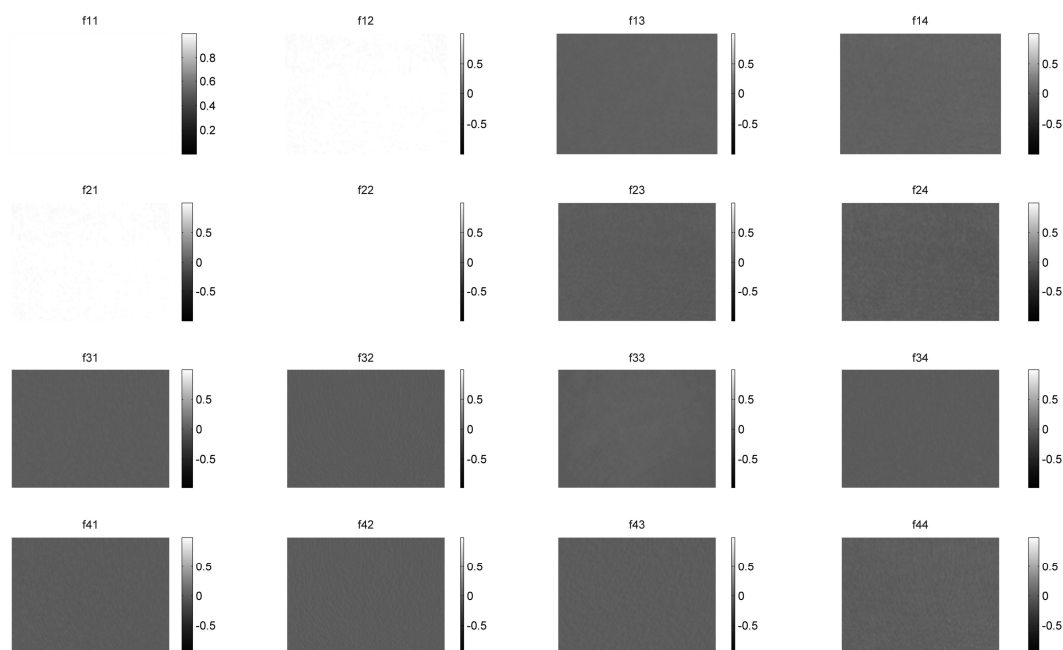


**Рис. Б9.** Двовимірні розподіли значень матричного елемента  $f_{34}$  та автокореляційна залежність  $K(f_{34})$ , що характеризує такий розподіл

З одержаних даних випливає, що результат вимірювання розподілів значень елементів матриці Мюллера характеризується високим ступенем координатної однорідності. Як видно з рис. Б8 і рис. Б9 автокореляційні функції  $K(f_{12})$  і  $K(f_{34})$  являють собою практично лінійні спадаючі залежності.

Результати аналогічних вимірювань значень елементів Мюллера поляризатора та чвертьхвильової пластинки та похибок їх матриць наведені на серії рис. Б10 - рис. Б13.

Для лінійного поляризатора  $P$ , площа пропускання якого орієнтована під кутом  $\Theta = 0^\circ$  одержано наступні координатні розподіли набору матричних елементів  $f_{ik}$



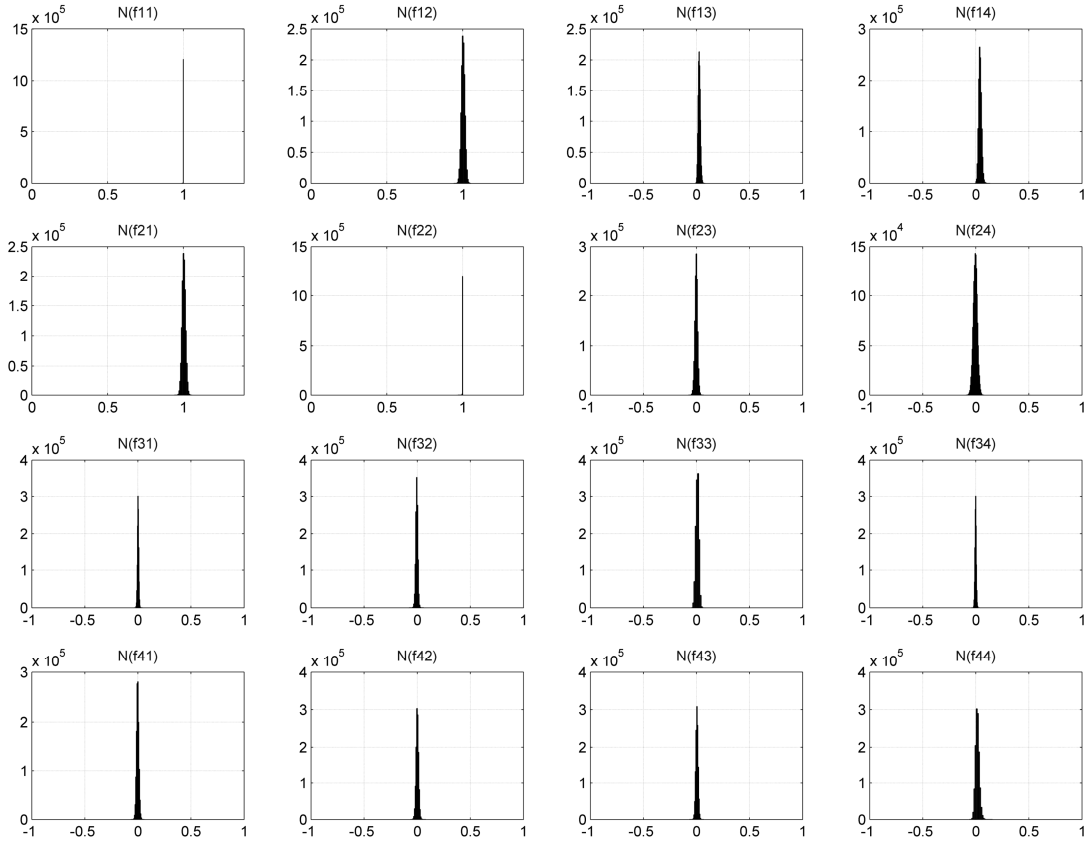
**Рис. Б10.** Координатні розподіли елементів матриці Мюллера лінійного поляризатора  $P$  з орієнтацією площини пропускання  $\Theta = 0^\circ$

Порівняльний аналіз експериментальних (рис. Б10) і теоретичних

даних  $\{F(\Theta = 0^\circ)\} = \begin{pmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}$  виявив їхню задовільну кореляцію,

точність якої ілюструє серія гістограм розподілів випадкових значень мюллер-матричних елементів  $f_{ik}$ , що наведена на рис. Б11.



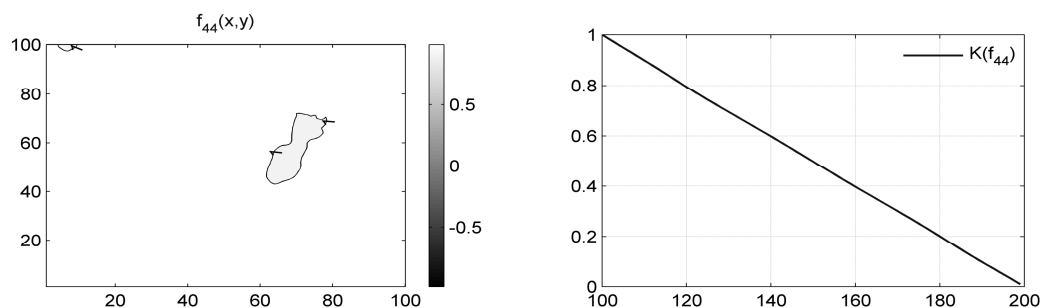


**Рис. Б11.** Гістограми розподілу випадкових значень елементів матриці Мюллера лінійного поляризатора  $P(\Theta = 0^0)$

З наведених на рис. Б11 даних видно, що величини абсолютної похибки  $\Delta q$  вимірювань елементів  $f_{i=1\div 3, k=1\div 3}$  лежать у межах 0,03-0,04, а елементів  $f_{i=4, k=1\div 4}$ ,  $f_{i=1\div 4, k=4}$  - у межах 0,06-0,08.

Розкид випадкових значень абсолютної похибки  $\Delta q$  складає 0,01-0,06 та 0,04-0,11 відповідно.

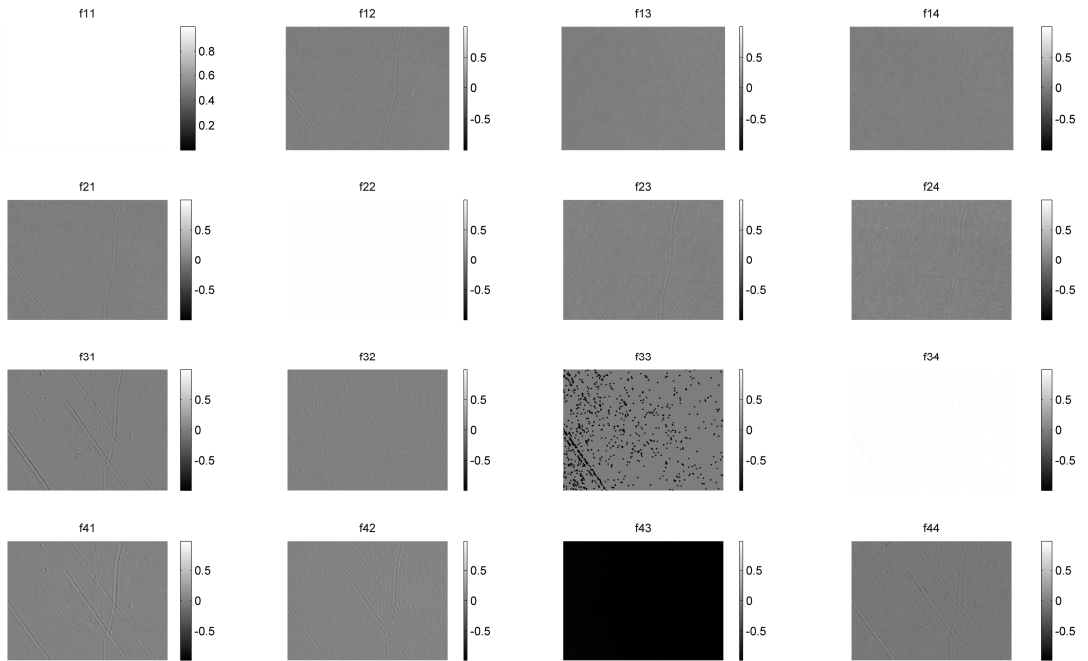
На рис. Б12 приведені додаткові параметри, які характеризують координатну однорідність розподілів виміряних значень фазового матричного елемента  $f_{44}$



**Рис. Б12.** Двовимірні розподіли значень матричного елемента  $f_{44}$  та автокореляційна залежність  $K(f_{44})$ , що характеризує такий розподіл

З одержаних даних видно, що результати вимірювання розподілів значень елементів матриці Мюллера лінійного поляризатора характеризується високим ступенем координатної однорідності - автокореляційна функція  $K(f_{44})$  являє собою лінійну спадаючу залежність.

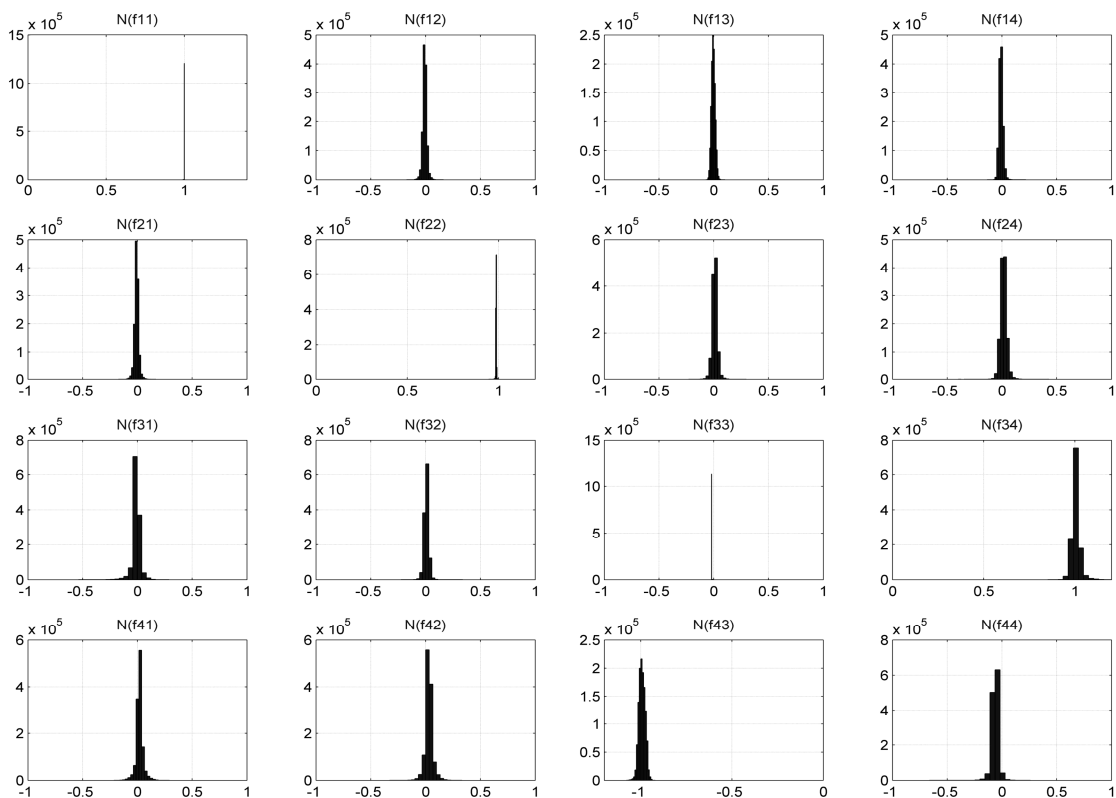
На рис. Б13 приведені координатні розподіли матричних елементів чвертьхвильової пластинки з орієнтацією осі найбільшої швидкості  $\Theta = 0^\circ$ .



**Рис. Б13.** Координатні розподіли елементів матриці Мюллера чвертьхвильової пластинки з орієнтацією осі найбільшої швидкості  $\Theta = 0^0$

Порівняльний аналіз експериментальних (рис. Б13) і теоретичних даних  $\{F(\Theta = 0^0)\} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & -1 & 0 \end{pmatrix}$  виявив їхню задовільну кореляцію

- рис. Б14

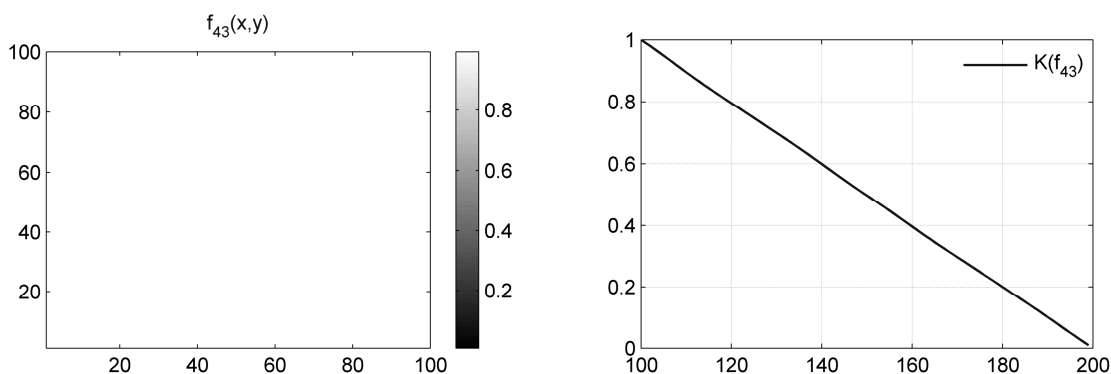


**Рис. Б14.** Гістограми розподілу випадкових значень елементів матриці Мюллера чвертьхвильової пластинки

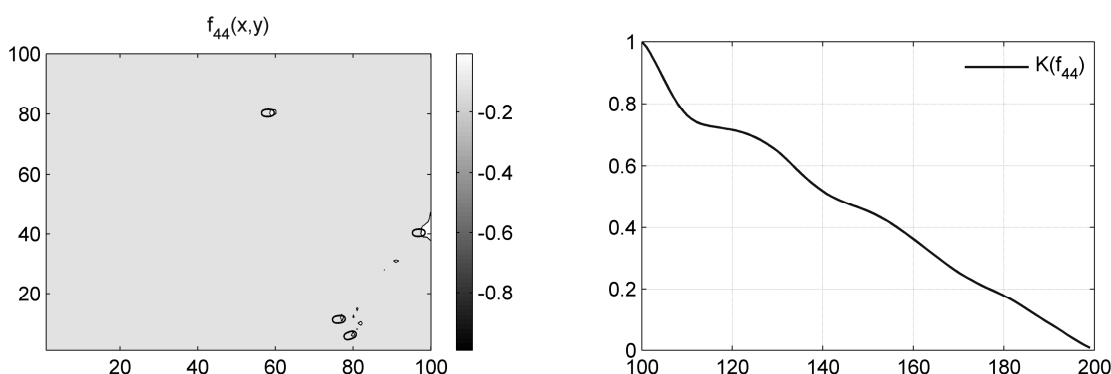
Наведені на рис. Б13, рис. Б14 дані ілюструють гарне співпадіння експериментальних та теоретичних значень елементів матриць Мюллера поляризатора та чвертьхвильової пластинки.

Визначені абсолютні та відносні похибки вимірювань як і у попередніх випадках лежать у межах 0,03-0,04 ( $f_{i=1\div3, k=1\div3}$ ) та 0,06-0,08 ( $f_{i=4, k=1\div4}$ ,  $f_{i=1\div4, k=4}$ ).

Координатну однорідність вимірювань ілюструють залежності, що наведені на рис. Б15 і рис. Б16



**Рис. Б15.** Двовимірні розподіли значень матричного елемента  $f_{43}$  та автокореляційна залежність  $K(f_{43})$ , що характеризує такий розподіл



**Рис. Б16.** Двовимірні розподіли значень матричного елемента  $f_{44}$  та автокореляційна залежність  $K(f_{44})$ , що характеризує такий розподіл

Аналогічні результати одержано і для вимірювання "референтної" матриці Мюллера повітря (рис. Б17, рис. Б18).

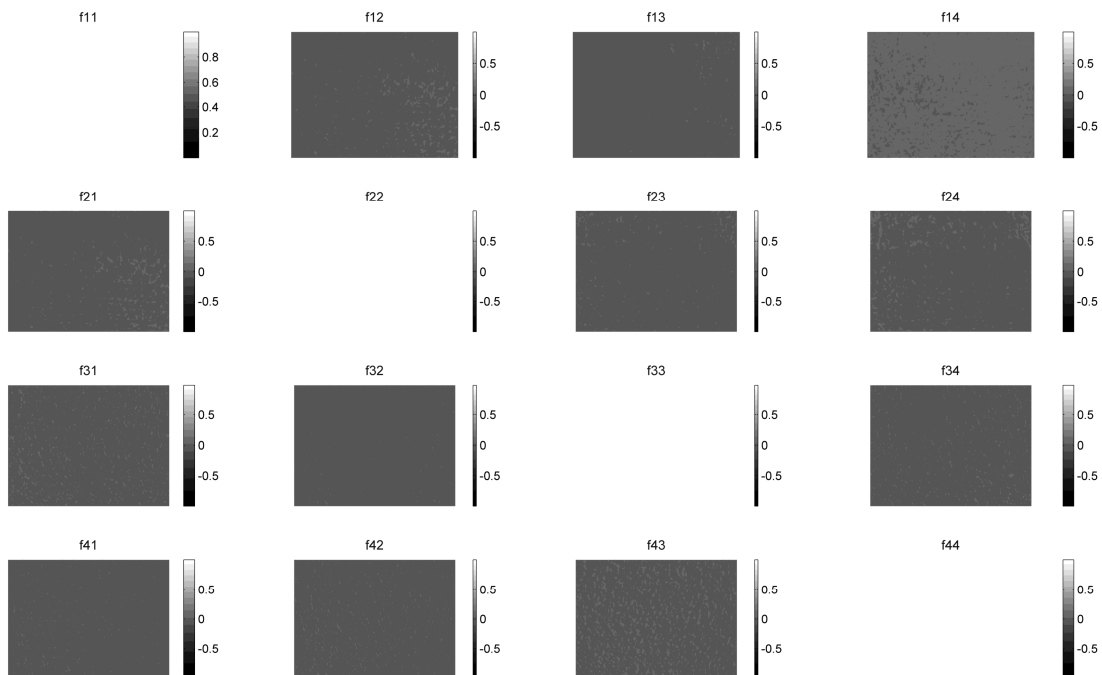
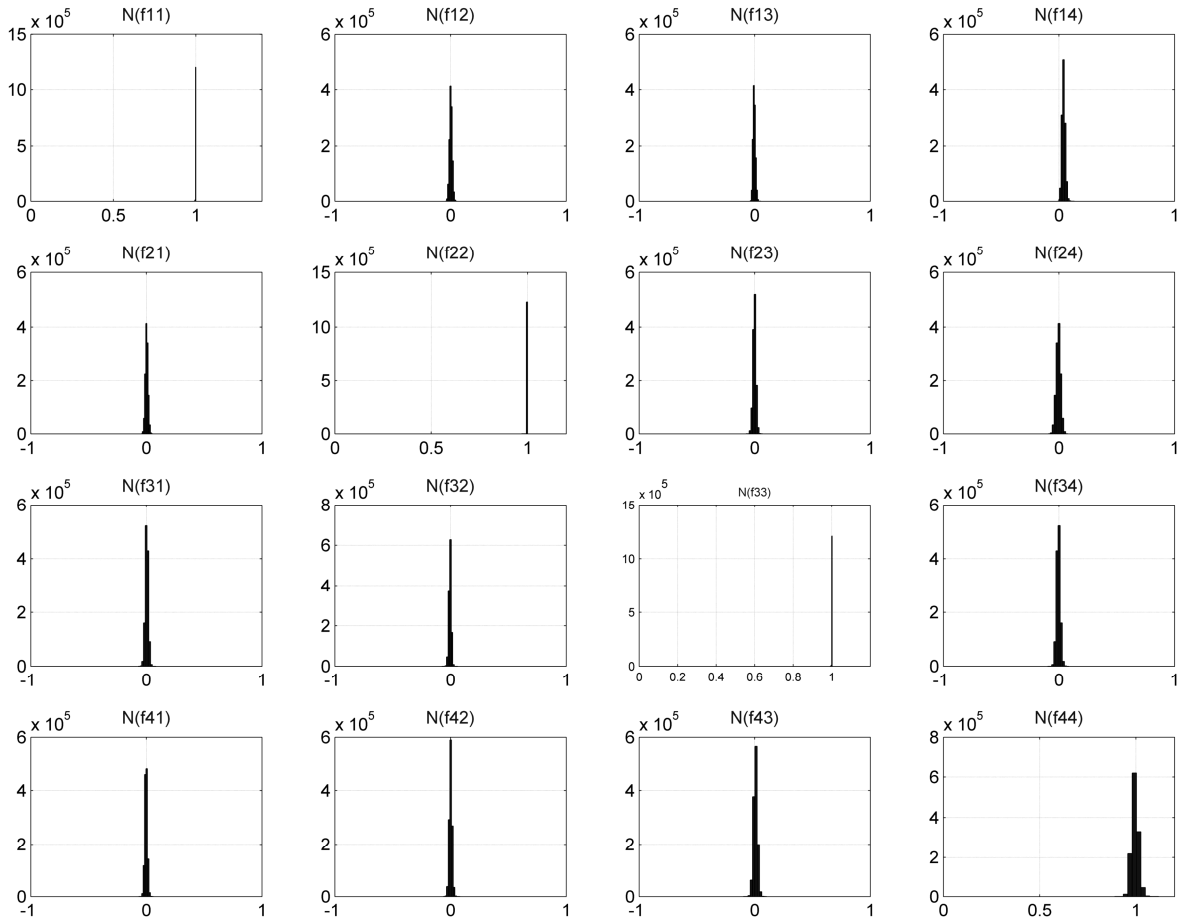


Рис. Б17. Координатні розподіли елементів матриці Мюллера повітря



**Рис. Б18.** Гістограми розподілу випадкових значень елементів матриці Мюллера повітря

## ДОДАТОК В

# ПОЛЯРИЗАЦІЙНЕ ТА МЮЛЛЕР-МАТРИЧНЕ КАРТОГРАФУВАННЯ СТРУКТУРОВАНИХ ПОЛІКРИСТАЛІЧНИХ МЕРЕЖ ГІСТОЛОГІЧНОГО ЗРІЗУ МІОКАРДА

## В1. Поляризаційні карти гістологічного зрізу міокарда

На серії рис. В1, рис. В2 приведено поляризаційні карти гістологічного зрізу міокарда.

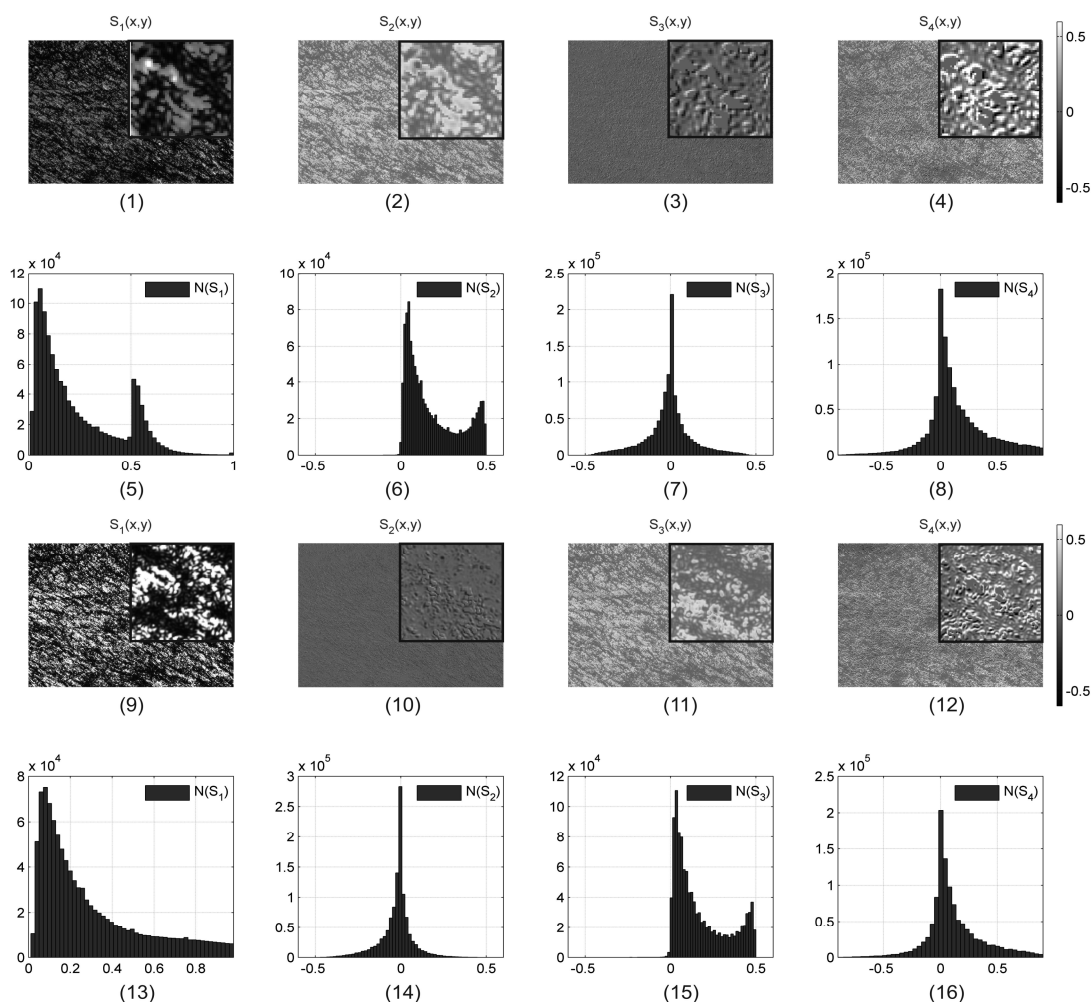


Рис. В1. Вектор-параметричні зображення  $S_{i=1,2,3,4}$  (фрагменти 1-4; 9-12) і гістограми розподілу  $N(S_i)$  (фрагменти 5-8; 13-16)



мікроскопічного зображення гістологічного зрізу міокарду, одержані для азимутів  $\alpha_0 = 0^\circ$  (фрагменти 1-8) і  $\alpha_0 = 45^\circ$  (фрагменти 9-16)

З аналізу одержаних даних (Рис. В1) видно, що мікроскопічне зображення гістологічного зрізу тканини міокарда є поляризаційно-неоднорідним. На даний факт вказує широкий діапазон зміни розподілів випадкових значень  $(-1 \leq S_{2,3,4} \leq 1)$  параметрів вектора Стокса (Рис. В1, фрагменти (1)-(4); (9)-(12)) у серії вектор-параметричних зображень  $S_{i=2,3,4}$ . При цьому гістограми  $N(S_i)$  розподілів значень таких параметрів вектора Стокса (Рис. В1, фрагменти (5)-(8); (13)-(16)) характеризуються різною півшириною та локалізацією головних екстремумів.

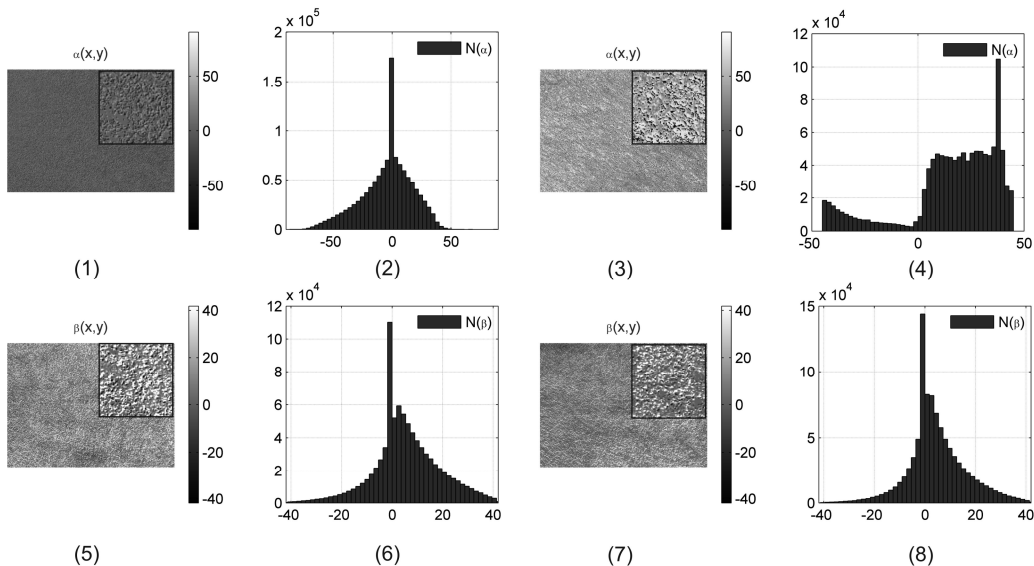
Окрім цього, для різних значень азимуту поляризації опромінюючого лазерного пучка поляризаційна структура мікроскопічних зображень гістологічного зрізу тканини міокарда різна. Як видно, суттєво відрізняється топографічна будова вектор-параметричних зображень  $S_{i=1,2,3,4}(m \times n)$  (Рис. В1, фрагменти (1)-(4) і фрагменти (9)-(12)). Гістограми розподілів  $N(S_i)$  значень параметрів вектора Стокса також різні (Рис. В1, фрагменти (5)-(8) і фрагменти (13)-(16)).

Найбільш виразно зазначені відмінності ілюструє серія поляризаційних мап  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$ , що наведена на рис. В2.

Аналіз топографічної структури  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$  (Рис. 3.19, фрагменти (1), (9) і (5), (13)) та гістограм розподілів значень поляризаційних параметрів (Рис. В2, фрагменти (2), (10) і (6), (14))  $N(\alpha)$ ,  $N(\beta)$  мікроскопічних зображень гістологічного зрізу міокарда підтвердив наявність їх індивідуальної, поляризаційно-неоднорідної будови для різних станів поляризації опромінюючого пучка  $(\alpha_0 = 0^\circ, \alpha_0 = 45^\circ)$ .

Так діапазон зміни азимутів поляризації у межах мікроскопічних зображень є максимально широким і складає  $-90^\circ \leq \alpha \leq 90^\circ$ . Аналогічна ситуація реалізується і для випадкових значень еліптичності поляризації  $-45^\circ \leq \beta \leq 45^\circ$  таких зображень шару міокарду. Разом із тим особливості (положення екстремуму, півширина, асиметрія та гострота піку) залежностей  $N(\alpha)$ ,  $N(\beta)$ , які

характеризують розподіли значень поляризаційних параметрів є індивідуальними (Рис. В2, фрагменти (2), (10) і (6), (14)) для різних поляризаційних умов опромінювання.



**Рис. В2.** Поляризаційні карти азимутів  $\alpha(m \times n)$  (фрагменти 1, 3), еліптичності  $\beta(m \times n)$  (фрагменти 5, 7) і гістограми розподілів значень азимута  $N(\alpha)$  (фрагменти 2, 4) і еліптичності  $N(\beta)$  (фрагменти 6, 8) мікроскопічного зображення гістологічного зрізу міокарду, одержані для азимутів поляризації опромінюючого лазерного пучка  $\alpha_0 = 0^\circ$  (фрагменти 1, 2, 5, 6) і  $\alpha_0 = 45^\circ$  (фрагменти 3, 4, 7, 8)

Проаналізуємо одержані результати з фізичної точки зору. Згідно запропонованих модельних уявлень (розділ 3, параграф 3.1, співвідношення (3.1)-(3.5)) процесів перетворення поляризації лазерного випромінювання оптично-анізотропними мережами оптично-тонкого біологічного шару існує прямий взаємозв'язок між вектор-параметричними зображеннями та поляризаційними мапами таких мереж (Рис. 3.2 - Рис. 3.17).

Окрім цього, аналітично продемонстрована азимутальна залежність топографічної будови розподілів значень параметрів вектора Стокса  $S_{i=1,2,3,4}(m \times n)$ , які визначають трансформацію відповідних двомірних поляризаційних мап  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$

мікроскопічного зображення планарної оптично-анізотропної сітки в залежності від зміни азимуту поляризації опромінюючого пучка (Рис. 3.2, Рис. 3.5, Рис. 3.9, Рис. 3.10, Рис. 3.13, Рис. 3.17).

У випадку дослідження гістологічного зрізу реальної біологічної тканини - міокарду - реалізується подібний, але більш складний сценарій.

Як відомо [1, 136], основними оптично-анізотропними структурами такої тканини є циркулярно двопроменезаломлюючі (співвідношення (3.1), (3.2)) білкові молекули міозину, що формують просторово структуровані поліпептидні ланцюжки. Останні “об’єднуються” у більш масштабні просторово-структуровані мережі або сітки, що складаються з різномасштабних фібрил, волокон, пучків. За рахунок високого ступеня просторової організації фібрил реалізується їхнє лінійне двопроменезаломлення (співвідношення (3.3), (3.4)).

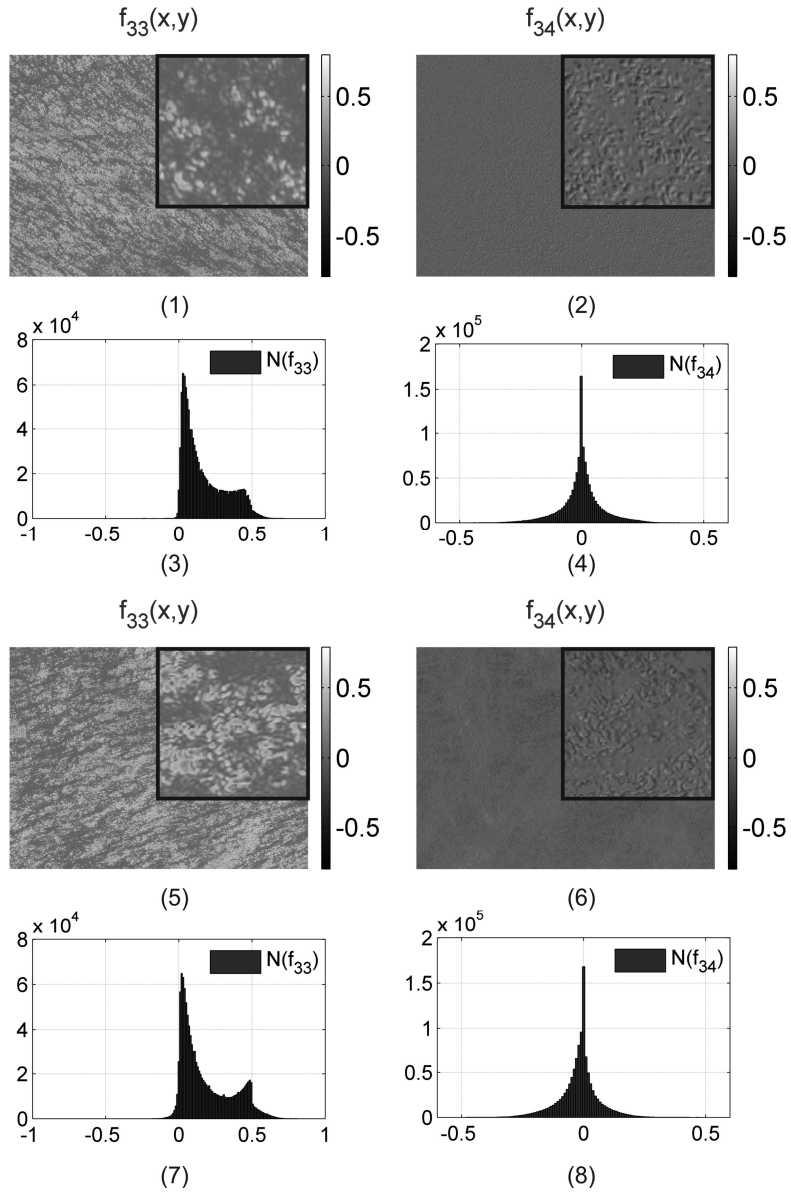
У площині конкретного зразку гістологічного зрізу міокарду реалізується складний розподіл за напрямками укладання (оптичні осі  $\gamma$ ) та геометричними перерізами (фазові зсуви  $\phi$ ) розподіл фібрилярної мережі оптично активних (повороти площини поляризації  $\theta$ ) молекул міозину. Виходячи з цього, для сталого азимуту площини поляризації опромінюючого пучка  $\alpha_0$ , у кожній точці  $(x, y)$  реалізується індивідуальні (випадкові) значення параметрів  $(\alpha_0 \pm \gamma$  і  $\phi)$ , які описують лінійне двопроменезаломлення. За рахунок такої координатної модуляції формуються двомірні масиви випадкових значень азимута та еліптичності поляризації мікроскопічного зображення гістологічного зрізу міокарду – поляризаційні мапи  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$ . Одночасно, під впливом оптичної активності молекул міозину формується додатковий масив випадкових значень азимута поляризації – поляризаційна мапа  $\alpha_\theta(m \times n)$ .

Зазначимо, що розподіл напрямів укладання, який визначає орієнтацію оптичної осі, двопроменезаломлюючих міозинових фібрил у гістологічному зрізі міокарду не рівноймовірний. Іншими словами, серед усього масиву напрямків укладання фібрил існує один або декілька статистично переважаючих  $(\gamma^*)$ . Тому у гістограмах

розподілів випадкових значень поляризаційних параметрів  $N(\alpha)$ ,  $N(\beta)$  формуються "головні" екстремуми  $\alpha_{\max}(\alpha_0 \pm \gamma^*)$  (Рис. В2, фрагменти (2), (4)),  $\beta_{\max}(\alpha_0 \pm \gamma^*)$  (Рис. В2, фрагменти (6), (8)). Виходячи з цього стає зрозумілою азимутальна залежність поляризаційних мап  $\alpha[(m \times n); (\alpha_0 \pm \gamma)]$ ,  $\beta[(m \times n); (\alpha_0 \pm \gamma)]$  від зміни площини поляризації ( $\alpha_0$ ) лазерного опромінюючого дослідний зразок пучка. Наявність додаткової координатної модуляції азимутів поляризації оптично активними молекулами міозину призводить до формування нових екстремумів гістограм  $N(\alpha)$  розподілів значень відповідного поляризаційного параметру (рис. В2, фрагменти (2), (4)).

Проведений (параграф 3.1, рис. 3.2 - рис. 3.17) аналіз азимутальної залежності гістограм розподілів значень поляризаційних параметрів і топографічної структури двовірних вектор-параметричних зображень гістологічного зрізу міокарду передбачає аналогічну залежність серії мюллер-матричних зображень такого зразку від кута повороту  $\Theta$  відносно напрямку опромінення. Таку залежність ілюструють дані, що наведені на рис. В3.

Як видно, для різних кутів повороту  $\Theta$  гістологічного зрізу відносно напрямку опромінення суттєво змінюються координатні розподіли значень мюллер-матричних зображень міокарду  $f_{33,34}(m \times n)$  (фрагменти (1), (2) та (5), (6)), а також їх гістограми  $N(f_{33,34})$  (фрагменти (3), (4) та (7), (8)). Кількісно азимутальну залежність двовірних розподілів значень поляризаційних мап мікроскопічних зображень гістологічного зрізу міокарда та набору мюллер-матричних зображень, які характеризують фазову анізотропію міозинових мереж, ілюструють величини статистичних моментів  $M_{i=1,2,3,4}(\alpha)$  та  $M_{i=1,2,3,4}(\beta)$  (таблиця В1);  $M_{i=1,2,3,4}(f_{33,34})$  (таблиця В2).



**Рис. В3.** Мюллер-матричні зображення  $f_{33,34}(m \times n)$  (фрагменти 1, 2 та 5, 6) і гістограми розподілів значень матричних елементів  $N(f_{33,34})$  (фрагменти 3, 4 та 7, 8) гістологічного зрізу міокарду, одержані для кута повороту зразка  $\Theta = 0^\circ$  (фрагменти 1 - 4) і  $\Theta = 45^\circ$  (фрагменти 5 - 8)

**Таблиця В1.** Статистичні моменти  $M_{i=1,2,3,4}$ , які характеризують розподіли  $\alpha(m \times n)$  та  $\beta(m \times n)$ .

$M_{i=1,2,3,4}$	$\alpha(m \times n)$		$\beta(m \times n)$	
$M_1$	0,36	0,72	0,12	0,09
$M_2$	0,18	0,31	0,18	0,14
$M_3$	0,43	1,16	1,92	1,23
$M_4$	1,59	1,03	0,78	0,58

**Таблиця В2.** Статистичні моменти  $M_{i=1,2,3,4}$ , які характеризують розподіли значень  $f_{33}(m \times n)$  та  $f_{34}(m \times n)$ .

$M_{i=1,2,3,4}$	$f_{33}(m \times n)$		$f_{34}(m \times n)$	
$M_1$	0.21	0,27	0,08	0,11
$M_2$	0,12	0,15	0,07	0,09
$M_3$	1,12	1,41	0,56	0,73
$M_4$	0,91,	0,78	1,69	1,41

Аналіз, наведених у таблицях В1, В2 даних, виявив суттєві відмінності між значеннями статистичних моментів 1-4-го порядків  $M_{i=1,2,3,4}(\alpha_0, \Theta)$ , які характеризують поляризаційні  $\alpha(m \times n)$ ,  $\beta(m \times n)$  та мюллер-матричні  $f_{33}(m \times n)$ ,  $f_{34}(m \times n)$  розподіли.

## ДОДАТОК Г

## БАГАТОМІРНА ПОЛЯРИЗАЦІЙНО-КОРЕЛЯЦІЙНА МІКРОСКОПІЯ ОПТИЧНОЇ АНІЗОТРОПІЇ БІОЛОГІЧНИХ ШАРІВ

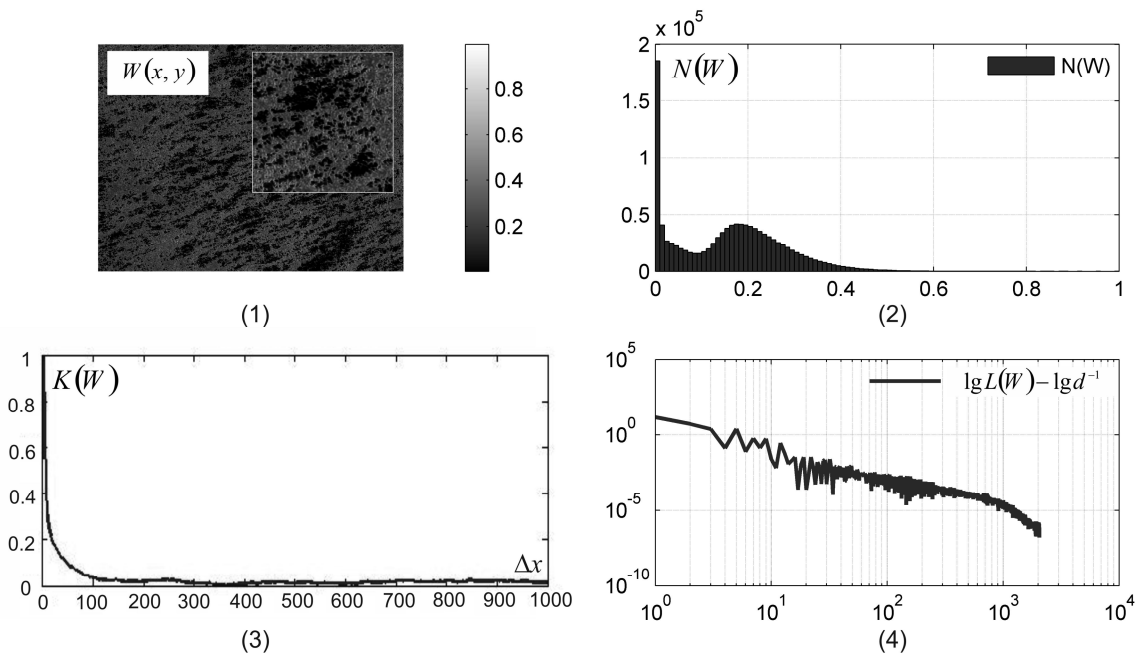
Основні закономірності та фізичне обґрунтування проявів поляризаційних властивостей зазначених біологічних шарів було досліджено у рамках “одноточкового” азимутально-незалежного картографування (розділ 3, параграфи 3.4.1, 3.4.2). Дана обставина дає можливість порівняльного співставлення методів багатофункціональної поляризаційної (“одноточкової”) та поляризаційно-кореляційної (“двоточкової”) мікроскопії оптично анізотропних біологічних шарів.

### Г.1. Поляризаційно-кореляційні мапи просторово- структурованої фібрилярної мережі гістологічного зрізу міокарду

На рис. Г1 приведено результати експериментального дослідження координатних розподілів значень модуля КСВА (фрагменти (1),(2)); автокореляційних  $K(W)$  функцій (фрагмент (3)) та логарифмічних залежностей спектрів потужності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  таких розподілів (фрагмент (4)).

З одержаних даних видно, що значення модуля КСВА у площині гістологічного зрізу міокарду координатно-неоднорідно розподілені (Рис. Г1, фрагмент (1)).

Модуляція випадкових значень  $W$  поляризаційно-кореляційних мап більш складна у порівнянні з даними комп'ютерного моделювання розподілів значень модуля КСВА мереж прямолінійних і криволінійних циліндрів (рис. 4.1 – рис. 4.4). Даний факт можна пояснити складною орієнтаційною (розподіл напрямів оптичних осей  $\gamma$ ) та фазовою (координатно модульовані фазові зсуви  $\varphi(x, y)$ ) будовою реальних фібрилярних мереж планарних зразків міокарда.



**Рис. Г1.** Координатний розподіл та гістограма значень КСВА  $W(x, y)$  (1),(2), автокореляційні функції  $K(W)$  (3) і логарифмічні залежності спектрів потужності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  (4) гістологічного зрізу міокарду

Зокрема, для просторово-структурованої міозинової мережі міокарду спектр напрямів укладання фібрил незрівнянно ширший ніж той, що розглянутий у модельному аналізі.

Окрім цього, поперечні розміри фібрил, а відповідно і фазові зсуви  $\varphi$ , також змінюються від точки  $(r_1)$  до точки  $(r_2)$ . За рахунок цього формується складний, відмінний від модельного, розподіл параметрів анізотропії і відповідних до них станів поляризації (азимутів  $\alpha$  і еліптичності  $\beta$  - розділ 3, параграф 3.2, співвідношення (3.13)).

Тому експериментально виміряні мапи КСВА  $W(x, y)$  шару міокарду для об'єктивної оцінки потребують системного статистичного, кореляційного і фрактального аналізу.

*Статистичний аналіз.* Гістограми розподілу  $N(W)$  випадкових значень  $W$  модуля КСВА гістологічного зрізу міокарда являють собою асиметричні з достатньо малою дисперсією та яскраво окресленим екстремумом залежності. Локалізація основного екстремуму припадає



на ділянку  $W \rightarrow 0$ , яка відповідає мінімальному рівню подібності параметрів, які описують фазову анізотропію різних точок реальної полікристалічної мережі.

Даний факт можна пов'язати із вищезазначеною координатно-неоднорідною впорядкованістю геометричних і орієнтаційних параметрів двопротенезаломлюючих міозинових фібрил.

Окрім цього у площині гістологічного зрізу міокарду наявні оптично ізотропні актинові структури, які складають до 50% оптично-анізотропних міозинових фібрил. Випромінювання, що пройшло крізь них, не змінює стану поляризації. Внаслідок цього геометричне місце точок зображення таких ділянок є однаково поляризованим. Тому, формується ансамбль значень модуля КСВА  $W \rightarrow 1$ . Окрім цього, у різних ділянках гістологічного зрізу існує "близький порядок" однорідних за значеннями параметрів фазової анізотропії міози нових фібрил (співвідношення (3.1)-(3.5) і (4.4)-(4.6)). Тому, за рахунок цього також реалізується високий рівень кореляційної узгодженості параметрів фазової анізотропії -  $W \rightarrow 1$  (співвідношення (4.4)). Внаслідок цього, поряд із головним екстремумом, формується ансамбль інших, не екстремальних значень  $W_i > 0$  модуля КСВА, що характеризує узгодженість напрямів оптичних осей та фазових зсувів двопротенезаломлюючих мереж шару міокарду.

*Кореляційний аналіз.* Особливості (швидке падіння відносних значень і незначна модуляція за рахунок дискретної (актин-міозин) будови оптичної анізотропної фібрилярної мережі) автокореляційних залежностей  $K(W)$  (рис. Г1, фрагмент (3)) підтверджують координатну неоднорідність розподілів значень модуля КСВА у межах поляризаційно-кореляційної мапи  $W(x, y)$ . Такий результат добре узгоджується із даними комп'ютерного моделювання (рис. 4.1 - рис. 4.4) аналогічних розподілів для планарних сіток із модульованими параметрами оптичної анізотропії – **об'єкт II** і **об'єкт IV**.

Проте, не можна говорити про абсолютну випадковість розподілів  $W(x, y)$ . Для такої ситуації відсутні флуктуації автокореляційних залежностей  $K(W)$  і вони трансформуються у  $\delta$ -функції.

*Фрактальний аналіз.* Апроксимація методом найменших квадратів логарифмічних залежностей  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  виявила наявність декількох нахилів ( $\eta_i$ ) ламаних  $\Phi(\eta)$  (рис. Г1, фрагмент (4)).

Фізично такий результат можна пов'язати із масштабно-самоподібною геометрією будови фібрилярної сітки міокарду [1, 3, 135]. Така геометрія обумовлює відповідну самоподібність координатних розподілів фазових зсувів  $\varphi(x, y)$  і напрямків оптичних осей  $\gamma(x, y)$ . Причому, специфіка конкретної морфологічної структури тканини міокарду, що обумовлює узгодженість проявів фазової анізотропії, може відповідати декільком фрактальним ансамблям розподілів її параметрів  $\varphi$  і  $\gamma$ . У результаті цього формуються мультифрактальні розподіли значень  $W(x, y)$ , які характеризують ступень кореляційної узгодженості параметрів оптичної анізотропії ( $\phi, \theta, \gamma$ ) міозинової сітки гістологічного зрізу міокарда.

## **Г.2. Поляризаційно-кореляційні мапи полікристалічної плівки ліквору**

Полікристалічна плівка ліквору за своєю біохімічною, геометричною, а відповідно і оптично-анізотропною структурою, докорінно відрізняється від попередньо розглянутого зразку міокарду.

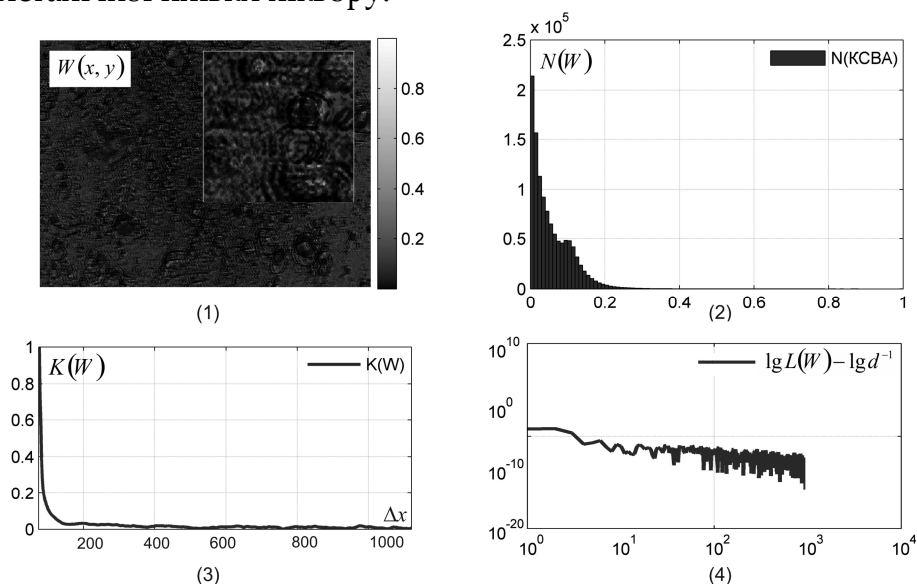
Головними оптично-анізотропними структурами такого планарного об'єкту є мережі голчастих кристалів альбуміну та глибоко подібного глобуліну, а також ниткоподібних мереж фібрину і формених елементів крові. У цьому сенсі порівняльний аналіз поляризаційно-кореляційних мап такого зразку із даними, наведеними на рис. 3.5, має як фундаментальний, так і прикладний аспект.

*Фундаментальний*, - пов'язаний із визначенням основних закономірностей формування двовірних розподілів значень модуля КСВА, які характеризують анізотропію планарних мереж біохімічних кристалів.

*Прикладний*, - базується на можливості одержання сукупності нових оптико-фізичних критеріїв діагностики та диференціації змін

оптичної анізотропії зразків полікристалічних плівок легко доступних біологічних рідин організму людини з тією чи іншою патологією.

На рис. Г2 приведено результати експериментального дослідження координатних розподілів значень модуля КСВА (фрагмент (1); їхніх гістограм (фрагмент (2)), автокореляційних функцій  $K(W)$  (фрагмент (3)) та логарифмічних залежностей спектрів потужності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  таких розподілів (фрагмент (4)) полікристалічної плівки ліквору.



**Рис. Г2.** Координатні розподіли та гістограми значень модуля КСВА  $W(x, y)$  (1),(2), автокореляційні функції  $K(W)$  (3) і логарифмічні залежності спектрів потужності  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  (4) полікристалічної плівки ліквору

З одержаних даних видно, що прояви оптичної анізотропії полікристалічної плівки ліквору суттєво відрізняються у величинах статистичних, кореляційних та фрактальних параметрів, які характеризують розподіли значень модуля КСВА, від аналогічних результатів поляризаційно-кореляційної мікроскопії гістологічного зрізу міокарда (рис. Г1 і рис. Г2).

З фізичного погляду головним чинником таких змін є наявність значної оптично-ізотропної ( $W = 0$ ) складової плівки біологічної рідини. Виходячи з цього гістограми розподілів  $N(W)$  випадкових

значень модуля КСВА являють собою ще більш асиметричні з достатньо малою дисперсією та яскраво окресленим екстремумом залежності (рис. Г1, фрагмент (2) і рис. Г2, фрагмент (2)). При цьому, автокореляційні функції  $K(W)$  (рис. Г2, фрагмент (3)) стрімко спадають за рахунок малого радіусу кореляції геометричних розмірів дрібномасштабної планарної полікристалічної мережі плівки ліквору.

Окрім цього, структури координатних розподілів значень модуля КСВА, який характеризує фазову анізотропію такого полікристалічного об'єкту практично фрактальна. Апроксимація методом найменших квадратів логарифмічних залежностей  $\lg L(W) - \lg d^{-1}$  виявила наявність одного нахилу лінії  $\Phi(\eta)$  (рис. Г2, фрагмент (4)).

Фізично такий результат можна пов'язати із масштабно-самоподібною геометрією будови кристалізованих біохімічних сполук плівки ліквору [166].

Кількісні результати статистичного, кореляційного та фрактального аналізу координатних розподілів значень модуля КСВА оптично-тонких шарів міокарду та плівки ліквору приведені у таблиці Г1.

Порівняльний аналіз сукупності об'єктивних параметрів, які характеризують координатні розподіли значень КСВА полікристалічних мереж біологічних шарів обох типів виявив:

- різні типи полікристалічних структур реальних біологічних шарів характеризуються індивідуальною сукупністю об'єктивних параметрів  $q(W)$ , які характеризують розподіли значень модуля КСВА;

**Таблиця Г1.** Статистичні моменти 1-го – 4-го порядків  $M_{i=1;2;3;4}$ , кореляційні моменти 2-го і 4-го порядків  $M_{i=2;4}^K$ , дисперсія  $D$ , які характеризують координатні розподіли значень  $W(x, y)$  оптично тонких шарів міокарду та ліквору

$q$	$W(x, y)$	
	міокард	ліквор
$M_{i=1}$	0,14	0,08
$M_{i=2}$	0,16	0,11
$M_{i=3}$	1,79	0,57
$M_{i=4}$	0,73	1,44
$M_{i=2}^K$	0,12	0,07
$M_{i=4}^K$	1,78	2.07
$D$	0,25	0,19

- як і випадку комп'ютерного моделювання (розділ 4, таблиця 4.3), найбільш чутливими до проявів оптичної анізотропії полікристалічних мереж біологічних шарів виявилися статистичні моменти вищих порядків  $M_{i=3;4}(W)$ , які характеризують асиметрію та гостроту піку гістограм розподілів значень модуля КСВА поляризаційно-кореляційних мап таких об'єктів;
- серед кореляційних моментів, які характеризують розподіли значень автокореляційних функцій  $K(W)$ , максимальної величини набуває ексцес  $M_{i=4}^K(W)$ , що визначає гостроту піку таких залежностей, обчислених для двовірних розподілі модуля КСВА обох типів зразків.
- логарифмічні залежності  $Lg(W) - \lg d^{-1}$ , визначенні для розподілів значень модуля КСВА полікристалічної фібрилярної мережі міокарду, вказують на мультифрактальну структуру такої поляризаційно-кореляційної мапи;
- двовірні розподіли значень модуля  $W(x, y)$  полікристалічної плівки ліквору фрактальні.

Одержані результати та визначені закономірності формування КСВА-мап сіток просторово структурованих та планарних мереж біологічних кристалів було покладено в основу розробки методик поляризаційно-кореляційної мікроскопії біологічних шарів у диференціації змін оптичної анізотропії, обумовлених наявністю патології.

## ДОДАТОК Д

Таблиця Д1

Збалансована точність методів багатовимірної “одноточкової” поляризаційної мікроскопії біологічних шарів

№	Методи/патології	Пухлини (злоякісні- доброякісні)		Передракові (до пухлинні) стани		Запальні (доракові стани)
		БТ	БР	БТ	БР	Цитологія
1	Поляризаційне картографування $\alpha(x, y); \beta(x, y)$	75%	65%	70%	60%	$\leq 60\%$
2	Мюллер-матричне картографування $f_{ik}(x, y)$	80%	70%	60%	60%	$\leq 60\%$
3	Фазометрія $\delta(x, y)$	85%	75%	70% - 75%	55% - 60%	$\leq 60\%$
4	Вейвлет-аналіз $\alpha(x, y); \beta(x, y)$	80%	70%	70% - 75%	55% - 60%	$\leq 60\%$
5	Вейвлет-аналіз $f_{ik}(x, y)$	85%	75%	70% - 75%	55% - 60%	$\leq 60\%$
6	Вейвлет-аналіз $\delta(x, y)$	90%	80%	70% - 75%	55% - 60%	$\leq 60\%$
7	Фур'є-аналіз $\alpha(x, y); \beta(x, y)$	85%	75%	70% - 75%	55% - 60%	$\leq 60\%$
8	Фур'є-аналіз $f_{ik}(x, y)$	90%	80%	70% - 75%	55% - 60%	$\leq 60\%$
9	Фур'є-аналіз $\delta(x, y)$	95%	80%	75%	65%	$\leq 60\%$
90%-95%		75%-85%		$\leq 70\%$		$\leq 60\%$

Таблиця Д2

Збалансована точність методів багатовимірної “двоточкової” поляризаційно-кореляційної мікроскопії біологічних шарів

№	Методи/патології	Пухлини (злоякісні- доброякісні)		Передракові (до пухлинні) стани		Запальні (доракові стани)
		БТ	БР	БТ	БР	Цитологія
1	КСВА – картографування $W(x, y)$	85%	75%	80%	70%	≤60%
2	Фур'є аналіз $W(x, y)$	90%	80%	85%	75%	≤60%
3	Кореляційний К-контур $\xi$	80%	70%	70%	60%	≤60%

90%-95%	75%-85%	≤70%	≤60%
---------	---------	------	------



Таблиця Д3

Збалансована точність методів лазерної автофлуоресцентної поляризаційної нанороскопії біологічних шарів

№	Методи/патології	Пухлини (злоякісні- доброякісні і)		Передрако- ві (до пухлинні) стани		Запальні (доракові стани)
		БТ	БР	БТ	БР	Цитологі- я
1	Картографування автофлуоресцентних зображень $I(x, y)$	85%	80%	80%	70%	75%
2	Поляризаційне картографування $S_{i=1;2;324}(x, y)$	90%	85%	85%	75%	80%-85%
3	Мюллер-матричне картографування $f_{ik}(x, y)$	95%	90%	85%	80%	90%

90%-95%	75%-85%	≤70%
---------	---------	------