

УДК 615.47:616.073

Н.І. ЗАБОЛОТНА, О.Г. ІГНАТЕНКО, К.О. РАДЧЕНКО, А.К. КРАСНОЩОКА

АНАЛІЗ ОПТИЧНИХ І ПОЛЯРИЗАЦІЙНО-КОРЕЛЯЦІЙНИХ ПРИЛАДІВ І СИСТЕМ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ФАЗОВО-НЕОДНОРІДНОЇ СТРУКТУРИ ШАРІВ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН І РІДИН

*Вінницький національний технічний університет,
21021, Хмельницьке шосе, 95, м. Вінниця, Україна,
E-mail: Natalia.zabolotna@gmail.com*

Анотація. Проаналізовано основні типи біологічних двовимірних мікроскопів та вимірювальних оптичних пристроїв, систем оптичної когерентної томографії та лазерної поляриметрії для діагностики структури шарів біологічних тканин за окремими критеріями ефективності. Встановлена актуальність розвитку автоматизованих систем багатофункціональної Мюллер-матричної поляриметрії багат шарових біологічних об'єктів із статистичним, кореляційним та фрактальним аналізом одержаних даних з метою отримання діагностичних критеріїв.

Аннотация. Проанализированы основные типы биологических двумерных микроскопов и измерительных оптических устройств, систем оптической когерентной томографии и лазерной поляриметрии для диагностики структуры слоев биологических тканей по отдельным критериям эффективности. Установлена актуальность развития автоматизированных систем многофункциональной Мюллер-матричной поляриметрии многослойных биологических объектов со статистическим, корреляционным и фрактальным анализом полученных данных с целью выработки диагностических критериев.

Abstract. The main types of two-dimensional biological microscopes and optical measuring devices, systems, and optical coherence tomography for the diagnosis of laser polarimetry of the layer structure of biological tissues is analyzed for individual performance criteria. Importance of the development of automated systems multifunctional Mueller-matrix polarimetry multilayer biological objects with statistical, correlation and fractal analysis of the data is installed in order to obtain diagnostic criteria.

Ключові слова: оптична діагностика, біологічні шари, мікроскопи, оптична когерентна томографія, автоматизований поляриметр, статистичний, кореляційний, фрактальний аналіз.

ВСТУП

За останнє десятиріччя в біомедичній діагностиці набули широкого застосування оптичні методи формування пошарових зображень біологічних об'єктів. Оптична медична діагностика використовує різні спектральні і лазерні методи, включаючи спектрофотометрію ближнього інфрачервоного діапазону, флуоресцентну лазерну спектроскопію, оптичну когерентну та дифузійну томографію, конфокальну спектроскопію, оптоакустичну томографію, фотон-кореляційну спектроскопію, доплерівську візуалізацію та спекл-моніторинг біологічних потоків [1, 2]. Встановлено, що поле оптичного випромінювання, розсіяне біологічними шарами, об'єктивно є багатовимірним та багатопараметричним носієм інформації про їх структуру.

В процесі взаємодії зондувального оптичного випромінювання із фазово-неоднорідним біологічним шаром відбувається одночасна зміна (у відповідності з особливостями структури об'єкту) всіх польових параметрів оптичного випромінювання: фотометричних (інтенсивність, потужність, яскравість); спектральних (часові та просторові частоти); поляризаційних (азимут, еліптичність поляризації, ступінь поляризації, фазовий зсув, параметри вектора Стокса, елементи матриці Мюллера). В цьому сенсі вся багатовимірна сукупність параметрів оптичного випромінювання стає носієм ("інформаційним відбитком") про морфологічну, біохімічну, оптико-анізотропну та ін. структуру біологічного об'єкту [3].

Виходячи з цього актуальним є побудова нових систем оптичної діагностики, що:

- максимально використовують інформаційну повноту експериментальних вимірювань;

- дозволяють відтворювати розподіли параметрів структури біологічних шарів;
- забезпечують багатопараметричний об'єктивний комплексний математичний аналіз одержаних даних.

Метою даної роботи є аналіз сучасних оптичних і оптико-електронних поляризаційно-кореляційних приладів та систем для діагностики фазово-неоднорідної структури біологічних шарів людини на основі оцінювання таких характеристик систем як: багатфункціональність, інформаційна повнота, об'єктивність отримання результатів, універсальність.

БІОЛОГІЧНІ МІКРОСКОПИ

Біологічний мікроскоп призначений для спостереження в світлі, що проходить, в світлому полі зафарбованих і незафарбованих мазків крові, препаратів кісткового мозку, опадів сечі, клітинних концентратів, тканинних біотипів, гістологічних зрізів в спеціальних камерах. При застосуванні фазово-контрастних пристроїв, конденсорів темного поля і кутового освітлення можливе спостереження мало-контрастних препаратів; оглядовий перегляд препаратів крові і кісткового мозку; диференціювання клітин крові за формою, структурою ядра і цитоплазми; виявлення нормальних і патологічних еритроцитів; виявлення антипових та малодиференційованих клітин; підрахунок формених елементів крові; визначення лейкоцитарної формули [4].

Найбільш поширеними в медико-біологічній практиці являються мікроскопи проходження світла плоского поля. За допомогою мікроскопів можна розглядати прозорі і напівпрозорі об'єкти. Традиційно у вітчизняній літературі ці мікроскопи називають біологічними мікроскопами, незважаючи на те, що вони в рівній мірі можуть з успіхом застосовуватися в інших областях науки і техніки.

В основу аналізу покладений метод візуального аналізу аналогових мікроскопічних зображень та математичної обробки двовимірних розподілів інтенсивності дискретизованих за допомогою цифрової камери мікроскопічних зображень оптично-тонких гістологічних зрізів (мазків) біологічних тканин (рідин). У результаті аналізу зображення будується гістограма, тобто розподіл величини інтенсивності у досліджуваному масиві її значень.

Як приклад розглянемо мікроскоп біологічний Альтамі БІО [4], що є одним із найкращих варіантів для створення високоякісного цифрового комплексу. Використовуючи тринокулярну насадку до мікроскопа, підключають фото - або відеокамеру для передачі зображень спостережуваного об'єкта на монітор комп'ютера (рис.1). Мікроскоп оснащений 5-гніздовим револьверним пристроєм, що забезпечує легку зміну об'єктивів щодо оптичної осі, має предметний столик з двокоординатним переміщенням розміром 175 × 145 мм. Пристрій столика дозволяє обертати його за і проти годинникової стрілки (межа обертання за годинниковою стрілкою на 90 градусів, проти годинникової стрілки 20 градусів).



Рис.1. Біологічний мікроскоп Альтамі БІО

На прикладі розгляду окремих моделей сучасних біологічних мікроскопів (таблиця 1) можна визначити їх інформаційні обмеження, а відповідно й недоліки:

- багатофункціональність - відсутня;
- інформаційна повнота вимірювань – неможливість одержання інформації про інтегральні та координатні параметри фазової та оптико-анізотропної структури біологічних шарів;
- комплексна об'єктивна оцінка одержаних даних - відсутня;
- можливість відтворення структури біологічного шару – відсутня;
- точність отриманого результату – достатня для оцінювання розподілів інтенсивності;
- вартість - низька; шкідливість - відсутня; енерговитрати – незначні.

Таблиця 1.

Приклади моделей біологічних мікроскопів

Модель (країна)	Основні технічні дані	Функції	Результат	Ціна, грн.
Альтамі БІО (Росія) [4]	Збільшення 40х-1500х; Насадка триокулярна; Цифрова апертура: 1,22	1.Одержання аналогових зображень 2.Одержання цифрових зображень у пропущеному,відбито-му пучках і т.д.	2D-розподіли інтенсивності гістограми, контурні зображення	27000
Konus Infinity 2 (Італія)[5]	Збільшення: 40х - 1000х; Насадка: біокулярна; Цифрова апертура: 1,22			9000
Delta Optical Evolution 100 (Сингапур)[6]	Збільшення: 40х - 1000х; Насадка: триокулярна; Цифрова апертура: 1,22			4400

ФАЗОВІ МІКРОСКОПИ

Принцип роботи таких систем побудований на реалізації умови фазового контрасту, що реалізується у результаті узгодженої просторово-частотної фільтрації.

Для отримання зображення з фазовим контрастом світло від джерела випромінювання розбивається на два когерентних світлових променя, один з яких називають опорним, а другий – предметним, які проходять різні оптичні шляхи. Мікроскоп юстують таким чином, щоб в фокальній площині, де формується зображення, інтерференція між цими двома променями гасила би їх. Довжину оптичного шляху змінюють за допомогою фазової пластинки, розташованої на фазовому кільцю. Коли на шляху одного із променів знаходиться дослідний зразок, заломлення світла в ньому змінює оптичний шлях, а відповідно, й фазу, що змінює умови інтерференції. В 1932 Фріц Церніке на основі оптичного мікроскопа розробив фазово-контрастний мікроскоп для дослідження прозорих структур, перш за все клітин живих організмів. В 1953 році за свою розробку він отримав Нобелівську премію.

Приклади основних технічних характеристик сучасних двовимірних фазових мікроскопів наведені в таблиці 2.

В основу аналізу покладений метод математичної обробки двовимірних розподілів інтенсивності фазово-контрастованих дискретизованих за допомогою цифрової камери зображень оптично-тонких гістологічних зрізів (мазків) біологічних тканин (рідин).

У результаті аналізу фазово-відфільтрованого двовимірного зображення будуються такі графіки: гістограма – розподіл величини інтенсивності фазово-контрастованого зображення у досліджуваному масиві її значень [7].

Для проаналізованих систем притаманні наступні інформаційні обмеження, а відповідно й недоліки:

- багатофункціональність - відсутня;
- інформаційна повнота вимірювань – неможливість одержання інформації про інтегральні (величина) та координатні параметри оптико-анізотропної структури;
- комплексна об'єктивна оцінка одержаних даних - відсутня;

- можливість відтворення структури біологічного шару – координатний розподіл показника заломлення;
- точність отриманого результату – достатня для оцінювання розподілів інтенсивності за умов фазового контрасту та відсутності просторово-частотної фільтрації;
- вартість - висока; шкідливість - відсутня; енерговитрати - незначні.

Таблиця 2.

Моделі двовимірних фазових мікроскопів

Модель (країна)	Основні технічні дані	Функції	Результат	Ціна, грн.
Лазерний фазовий інтерференційний мікроскоп МІМ-2 (Росія) [7]	Збільшення 1130х; Довжина хвилі 532 нм.	1. Одержання аналогових фазових зображень 2. Одержання цифрових фазових зображень у пропущеному, відбитому пучках	2D-розподіли інтенсивності гістограми, контурні зображення і т.д.	8600
Фазовий бінокулярний мікроскоп Steindorff S1100 (США) [8]	Збільшення до 10х; Цифрова апертура 1,25			9600
Фазовий мікроскоп Accu-scope 3000 Microscope Series (США)[9]	Збільшення до 10х; Цифрова апертура 1,25			7700

ПОЛЯРИЗАЦІЙНІ МІКРОСКОПИ

Принцип роботи таких систем побудований на реалізації умови поляризаційної фільтрації, що відбувається у результаті сепарації параметрів оптичного випромінювання, що пройшло (відбилося) від шару досліджуваного об'єкту.

В основу аналізу покладений метод одержання поляризаційних аналогових зображень і математичного оброблення двовимірних розподілів інтенсивності поляризаційно відфільтрованих і дискретизованих за допомогою цифрової камери зображень оптично-тонких гістологічних зрізів (мазків) біологічних тканин (рідин) [10].

У результаті аналізу поляризаційно-відфільтрованого двовимірного зображення будуються такі дані: двовимірні (мапи) розподіли інтенсивності; гістограма – розподіл величини інтенсивності поляризаційно - відфільтрованого зображення у досліджуваному масиві її значень.

Приклади сучасних поляризаційних мікроскопів та їх характеристики наведені в таблиці 3

Для проаналізованих систем притаманні наступні інформаційні обмеження, а відповідно й недоліки:

- багатофункціональність – можливість одержання координатних розподілів інтенсивності аналогового та поляризаційно візуалізованого зображення біологічного шару;
- інформаційна повнота вимірювань – неможливість одержання інформації про координатні розподіли параметрів вектора Стокса та елементів матриці Мюллера;
- комплексна об'єктивна оцінка одержаних даних - відсутня;
- можливість відтворення структури біологічного шару – координатні розподіли показника двопронезаломлення;
- точність отриманого результату – достатня для оцінювання розподілів інтенсивності за умов поляризаційного аналізу та відсутності просторово-частотної фільтрації;
- вартість - висока; шкідливість - відсутня; енерговитрати - незначні.

Таблиця 3.

Моделі поляризаційних мікроскопів

Модель (країна)	Основні технічні дані	Функції	Результат	Ціна, грн.
Поляризаційний мікроскоп Альтамі ПОЛАР 1 (Росія) [10]	Збільшення 40х-900х; Цифрова апертура 1,2 Міжзінична відстань 30-40 мм	1.Одержання аналогових поляризаційних зображень 2.Одержання цифрових поляризаційних зображень у пропущеному відбитому пучках	2D-розподіли інтенсивності гістограми, контурні зображення	46300
МС 300 POL (Австрія) [11]	Збільшення до 1600х; Цифрова апертура 1,25; Міжзінична відстань 55-75 мм			45000
Поляризаційний мікроскоп БІОМЕД 5П (Росія) [12]	Збільшення 40х-630х; Цифрова апертура 1,30; Міжзінична відстань 55-75 мм			19000

ПОЛЯРИМЕТРИ ТА ЕЛІПСОМЕТРИ

Широке розповсюдження у діагностиці оптичної анізотропії біологічних тканин і рідин знаходять пристрої визначення параметрів оптичної активності (поляриметри) та величини показників заломлення, поглинання та двопронезаломлення поверхонь і тонких плівок (еліпсометри).

В основі принципу роботи поляриметра покладений метод вимірювання кута повороту площини лінійно поляризованого оптичного випромінювання, що пройшло крізь шар рідини, що містить оптичні активні сполуки. У результаті вимірювань визначаються концентрації оптично активних сполук досліджуваної біологічної рідини [13].

Обертання площини поляризації випромінювання на одній або декількох довжинах хвиль спектру вимірюють за допомогою поляриметрів і цукрометрів. Ці прилади мають однакову оптичну схему і відрізняються градуванням шкали пристрою відліку.

Як приклад розглянемо схему фотоелектричного поляриметра (цукрометра) (рис. 2) [13], яка містить джерело світла 1, фільтр 2, поляризатор 3, кювету з досліджуваною речовиною 4, модулятор 5, аналізатор 6, фотоприймач 7 і реєстратор 8. Принцип роботи поляриметра заснований на компенсації кута обертання площини поляризації випромінювання, внесеного досліджуваною речовиною. Світло від джерела, пройшовши через фільтр 2 і поляризатор 3, стає монохроматичним лінійно поляризованим і надходить через аналізатор 6 на фотоприймач 7 [13].

Світловий потік на виході аналізатора описується відповідно до закону Малюса:

$$\Phi = \Phi_0 (\cos^2(\alpha) + T_{\perp}), \quad (1)$$

де Φ_0 – світловий потік на виході поляризатора; α – кут між напрямками пропускання поляризатора та аналізатора; T_{\perp} – коефіцієнт пропускання поляризатора і аналізатора при $\alpha = \pi/2$.

Щоб виміряти обертання площини поляризації випромінювання, поляризатор 3 та аналізатор 6 орієнтують під кутом $\alpha = \pi/2$. У цьому положенні (гасіння) світловий потік Φ мінімальний. Потім між поляризатором і аналізатором встановлюють кювету з досліджуваною речовиною 4, яка повертає площину поляризації світла на кут φ . Світловий потік на виході аналізатора стає [13]:

$$\Phi_1 = \Phi_0 (\cos^2(\alpha + \varphi) + T_{\perp}), \quad (2)$$

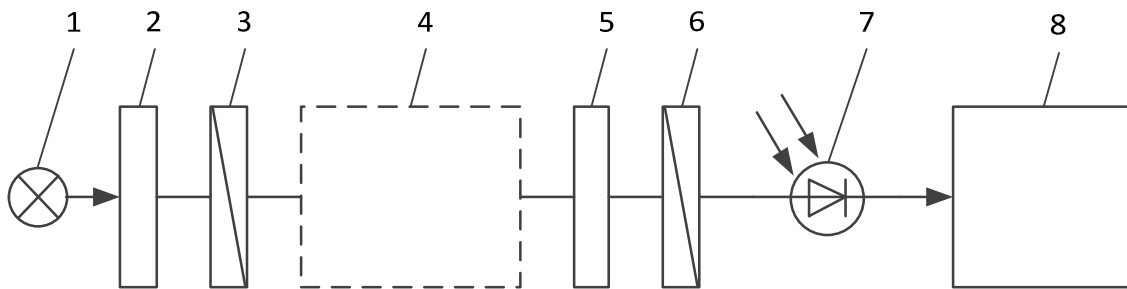


Рис. 2. Фотоелектричний поляриметр

Поворотом аналізатора компенсують обертання площини поляризації, і на вхід фотоприймача надходить мінімальний потік Φ_1 . Кут повороту аналізатора дорівнює куту обертання площини поляризації світла φ . Методом повного гасіння вимірюють обертання площини поляризації випромінювання з похибкою $(0,02...0,03)^\circ$. Ця похибка викликана малою чутливістю приладу в області гасіння, нестабільністю джерела світла і фотоприймача, чутливістю фотоприймача до стану поляризації світла і зовнішнім засвіченням та ін.

Похибка кращих поляриметрів становить $0,002-0,001^\circ$. На її значення впливають нестабільності джерела і приймача світла, напруги живлення модулятора, температура електро- і магнітооптичних модуляторів, чутливість приймача світла до стану поляризації, похибка відлікового пристрою, наведене двопронезаломлення оптичних елементів і т. д.

Автоматизація контролю обертання площини поляризації дозволила збільшити чутливість і швидкості поляриметрів, розширити їх спектральний діапазон від УФ до ІЧ області спектру. Це дало поштовх появі такого класу приладів як спектрополяриметри, за допомогою яких досліджують дисперсію обертання площини поляризації світла. Спектрополяриметр складається з джерела світла 1, монохроматора 2, поляризатора 3, кювети з досліджуваною речовиною 4, модулятора 5, аналізатора 6, фотоприймача 7 і ресстратора 8 (рис. 3). Вимірюють обертальну дисперсію методом симетричних кутів в спектральному діапазоні від $0,18$ до $0,7$ мкм, рідше в ІЧ області. Цей діапазон визначає конструкцію і характеристики елементів приладу [13].

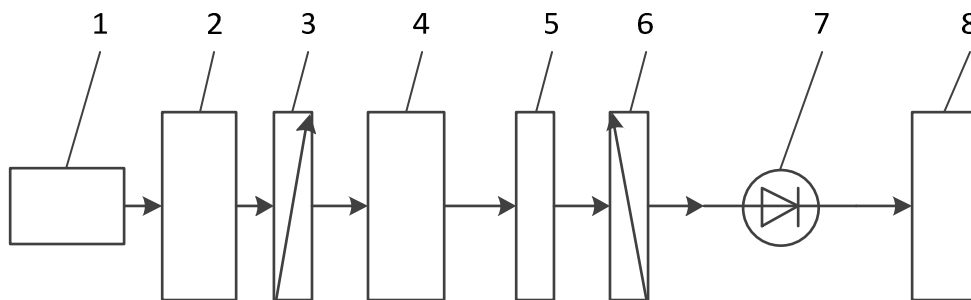


Рис. 3. Спектрополяриметр

Поляриметрам притаманні такі інформаційні обмеження, а відповідно й недоліки:

- багатфункціональність - відсутня;
- інформаційна повнота вимірювань – вузькоспеціалізована спрямованість – інтегральні вимірювання кута повороту площини поляризації;
- комплексна об'єктивна оцінка одержаних даних - відсутня;
- можливість відтворення структури біологічного шару – визначається концентрація оптично активних сполук;
- точність отриманого результату – висока для оцінювання біохімічної концентрації;
- вартість - висока; шкідливість - відсутня; енерговитрати - незначні.

Еліпсометрія – це оптичний метод дослідження вимірювання стану поляризації при взаємодії світла з речовиною. За результатами вимірювань визначають оптичні, електричні параметри речовини (показник заломлення n , коефіцієнт поглинання χ , діелектричну проникність ϵ) і його товщину d . В залежності від умов взаємодії розрізняють еліпсометрію відбивання, еліпсометрію пропускання і еліпсометрію розсіювання [13].

Еліпсометричний метод дослідження заснований на порівнянні стану поляризації світла, що падає на досліджувану речовину і відбитого (заломленого) від нього.

В залежності від властивостей досліджуваної системи застосовують відбиваючі, пропускаючі або розсіюючі еліпсометри. За принципом дії еліпсометри ділять на нульові, фотометричні і інтерферометричні [13].

Основними характеристиками еліпсометрів є спектральний діапазон, швидкодія, похибка та чутливість при вимірі азимутів гасіння. В еліпсометрії вимірювання зазвичай ведуться в видимій області спектра, в окремих випадках еліпсометри використовують в УФ, ІК, мілі- і мікрохвильовому діапазонах. Як джерела випромінювання у видимій області використовують *He-Ne* лазери, газорозрядні лампи з лінійчатим спектром (ртутні, натрієві та ін) в поєднанні з фільтрами. У спектральній еліпсометрії застосовують газорозрядні джерела з безперервним спектром в комбінації з монохроматором, а також плавно перебудовувані по частоті випромінювання лазери. За ступенем швидкодії та автоматизації еліпсометри поділяють на статичні, напівавтоматичні та динамічні (автоматичні). У статичних еліпсометрах обертання поляризаційних елементів схеми (поляризатора, аналізатора, компенсатора) здійснюють вручну, а в напівавтоматичних – за допомогою серводвигуна. У динамічних еліпсометрах процес зчитування автоматизується, наприклад серводвигун замінюють кроковими двигунами, використовують поворотні пристрої та ін. [13].

Дані про становище поляризаційних елементів отримують за допомогою ЕОМ шляхом підрахунку імпульсів, що управляють двигуном. Час установки таких еліпсометрів в положення гасіння становить 1-5 с. Якщо необхідна більш висока швидкість, то застосовують самокомпенсаційну схему, в якій поляризаційні елементи залишаються нерухомими, а азимути площини поляризації випромінювання змінюють за допомогою магніто- або електрооптичних комірок.

Еліпсометрам притаманні такі інформаційні обмеження, а відповідно й недоліки:

- Багатофункціональність - відсутня;
- інформаційна повнота вимірювань – вузькоспеціалізована спрямованість – інтегральні вимірювання кута повороту площини та еліптичності поляризації;
- комплексна об'єктивна оцінка одержаних даних - відсутня;
- можливість відтворення структури біологічного шару – визначаються показники заломлення, поглинання, двопронезаломлення, товщина шару;
- точність отриманого результату – висока для оцінювання оптичних констант та геометричної товщини біологічного шару;
- вартість - висока; шкідливість - відсутня; енерговитрати - незначні.

ОПТИЧНІ КОГЕРЕНТНІ ТОМОГРАФИ (ОКТ)

Дана методика використовує низько-когерентну інтерферометрію для отримання внутрішніх зображень тканин на глибині до двох міліметрів з мікронною роздільною здатністю [14].

Найперші застосування ОКТ в медицині були здійснені в останні десять – п'ятнадцять років. У роботах [15-17] представлені фундаментальні аспекти оптичної когерентної томографії і короткий опис застосування їх у медицині і біології. Обговорені: вплив багатократного розсіювання на оптичні когерентні томограми; розробки для зменшення шкідливого багатократного розсіювання, покращення зображальної здатності з використанням осаджуючого методу (імерсійного методу). Описана новітня методика заснована на використанні біосумісного і осмотично активного хімічного агенту, щоб наситити тканину і покращити ОКТ - зображення.

У циклі праць [18-19] представлені аналітичні та числові моделі для опису і розуміння поширення світла у зразках біологічних тканин, зображення яких отримані за допомогою систем ОКТ. Запропонована аналітична модель для розрахунку ОКТ - сигналу, що заснована на принципі Гюйгенса-Френеля, дійсного для одно- і багатократного розсіювання. Також підтверджена сучасна модель Монте-Карло для обрахунку ОКТ – сигналу. З аналітичної моделі розвинутий алгоритм для покращення ОКТ - зображень, так званий алгоритм прямого відбивання, у якому ОКТ - сигнал може бути відкоректований для ослаблення, спричиненого розсіюванням.

У [21-22] розглядаються теоретичні питання формування ОКТ- зображення з хвильової точки зору і енергетичного підходу. Обговорюється розробка і створення оптичних елементів, основаних на збереженні поляризації волокон для “серцевини” ОКТ – схеми – інтерферометра Майкельсона. Обговорено критерії ОКТ норми і патології, діагностичне значення ОКТ і медичні показання для ОКТ. Показано вплив на ОКТ - зображення ущільнень тканини і різних хімічних агентів.

На відміну від звичайної ОКТ, поляризаційно-чутлива ОКТ (ПЧОКТ) [23] використовує інформацію, що закладена в станах поляризації інтерференційних смуг для отримання додаткового

контрастування зображень досліджуваного зразка. Поляризаційно-чутлива ОКТ забезпечує високу просторову роздільну здатність інформації про стан поляризації відбитого випромінювання, що не є доступною для відомих оптичних методів.

Перевага у використанні поляризаційно-чутливої ОКТ полягає у підвищеному контрасті та специфіці ідентифікації структур в ОКТ зображеннях шляхом детектування змін у стані поляризації світла, відбитого від БТ. Крім цього, зміни у двоприменезаломленні можуть бути, наприклад, викликані змінами у структурі, функціональності чи життєздатності БТ.

В 1997 році був отриманий перший двовимірний розподіл (зображення) двоприменезаломлення сухожилля та міокарда [24]. Іншим розділом поляризаційно-чутливої ОКТ є вимірювання вектора Стокса як функції від глибини занурення лазерного діагностуючого випромінювання шляхом вимірювання амплітуди й відносної фази інтерференційних смуг.

Важливим результатом використання поляризаційно-чутливої ОКТ є можливість отримання розподілу поляризаційних характеристик об'єкту на різних глибинах, розраховуючи відповідні матриці Мюллера для даного зразка [25,26].

Отже, можна констатувати, що сучасна техніка ОКТ, яка дозволяє в безпосередньому режимі *in vivo* неінвазивно одержувати двовимірні поляризаційно-інтерференційні зображення шарів біологічних тканин з різних глибин, знайшла широке та ефективне використання у клінічній практиці при визначенні існуючих, морфологічно сформованих патологічних утворень (пухлини, гематоми і т.ін.).

Разом з тим, дана оптична технологія не дозволяє оцінювати структуру біологічних шарів у вигляді класичних медико-фізичних зображень. Окрім цього різноманітні схемні рішення по реєстрації відбитого випромінювання у різних зонах дифракції утруднюють, а інколи унеможливають проведення порівняльних досліджень даних, отриманих різними системами. На нашу думку, існує три головні проблеми сучасної ОКТ, рішення яких дозволить досягти суттєвого діагностичного прогресу у клінічних застосуваннях:

- відсутність єдиного теоретичного (модельного) підходу до аналізу процесів формування поля випромінювання, розсіяного біологічними тканинами ;
- відсутність комплексного підходу (у межах різних інформаційних математичних напрямків) в аналітичній обробці одержаної поляризаційно-інтерференційної інформації;
- системи ОКТ до сих пір технологічно екзотичні, дорогі та не вийшли за межі лабораторних застосувань.

На основі проведеного аналізу встановлені технічні та інформаційні критерії ОКТ:

1. Багатофункціональність:
 - вимірювання інтегральних та двовимірних розподілів інтенсивності серії пошарових інтерференційних лазерних зображень;
 - вимірювання інтегральних та двовимірних розподілів інтенсивності поляризаційно-контрастованих серії пошарових інтерференційних лазерних зображень;
 - вимірювання інтегральних та двовимірних розподілів параметрів вектора Стокса у площині парціального інтерференційного зображення;
2. Інформаційна повнота вимірювань:
 - вимірювання інтегральних та двовимірних розподілів елементів матриці Мюллера у площині парціального інтерференційного зображення.
3. Комплексна об'єктивна оцінка одержаних даних на основі альтернативних, взаємодоповнюючих аналітичних підходів - відсутня
4. Можливість відтворення структури біологічного шару:
 - координатні розподіли показника лінійного та кругового двоприменезаломлення.
5. Точність отриманого результату
 - низька за рахунок високого рівня спекл-фону у пошарових інтерференційних зображеннях.
6. Вартість – висока; шкідливість – відсутня, енерговитрати - малі.

УНІВЕРСАЛЬНА АВТОМАТИЗОВАНА ЛАЗЕРНА ВІДЕОПОЛЯРИМЕТРИЧНА СИСТЕМА

При дослідженні панорамних поляризаційних зображень неоднорідних об'єктів із прийнятною точністю істотно зростає кількість необхідних розрахунків [27]. Використання сучасних алгоритмів обробки та швидкодійних обчислювальних засобів дозволяє зменшити час дослідження, але необхідність багатократного усереднення результатів у растровому режимі істотно зменшує оперативність [2]. У схемах панорамної поляриметрії неоднорідних та протяжних об'єктів із просторово-часовою нестабільністю широке застосування отримали матричні фотоприймачі на приладах із зарядовим зв'язком (ПЗЗ) [28,29].

Більшість біотканин має складну будову, тому при дослідженні їх внутрішньої структури важливо проводити вимірювання за час, менший часу виникнення незворотних змін (у об'єктах *in vivo*), або до появи сенсорно-моторної реакції (у об'єктах *in vitro*). При цьому важливим фактором є універсальність методики і системи досліджень, навіть при зменшенні точності та швидкодії.

Однією з перспективних систем панорамної поляриметрії є лазерна автоматизована відеополяриметрична система (ЛАВС), розроблена співробітниками лабораторії лазерної поляриметрії кафедри квантової радіофізики радіофізичного факультету КНУ імені Тараса Шевченка, узагальнену структурну схему якої наведено на рисунку 4 [2].

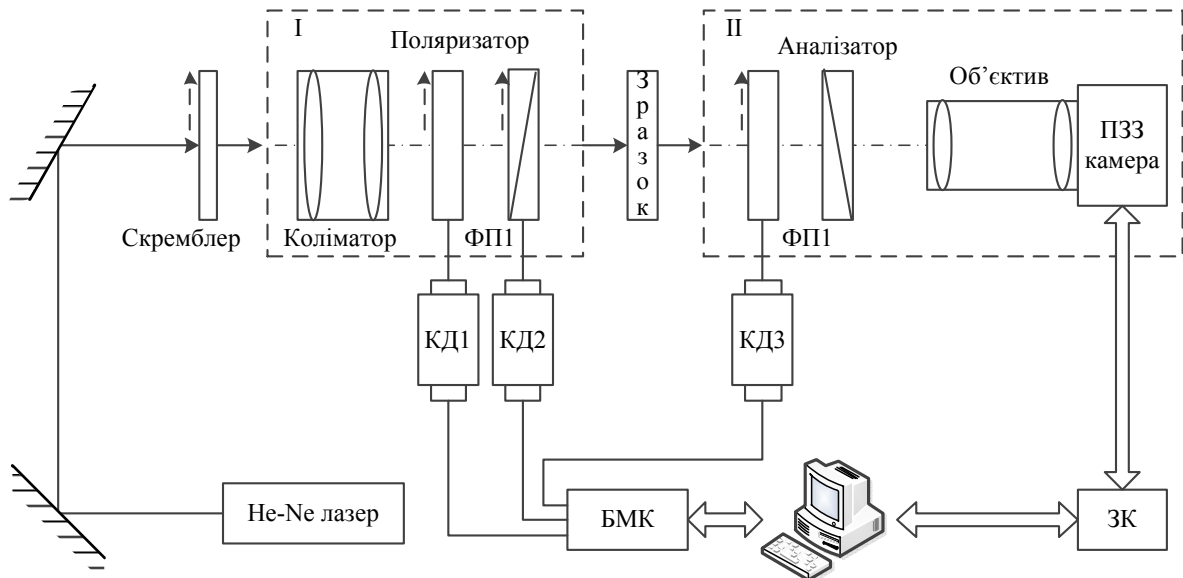


Рис. 4. Узагальнена структурна схема ЛАВС: ФП1, ФП2 – фазові пластинки; КД1, КД2, КД3 – прецизійні крокові двигуни; ПК – персональний комп'ютер; ЗК – захоплювач кадрів; БМК – мікроконтролерний блок керування

Універсальність та апаратна гнучкість ЛАВС дозволили впровадити на її основі розроблені методи досліджень поляризаційних властивостей неоднорідних БТ, які базуються на визначенні та аналізі координатних розподілів параметрів анізотропії та деполіризації зразків БТ, що їх отримують з елементів головного мінору 3×3 експериментальної РММ об'єкта [2].

Джерелом випромінювання ЛАВС є гелій-неоновий лазер *Spectra Physics* (довжина хвилі $\lambda=0,6328$ мкм, максимальна потужність 30 мВт, діаметр пучка 4 мм). Лазерний пучок відбивається від поворотних дзеркал та потрапляє через скремблер (руйнівник когерентності) у коліматор, який формує розширений пучок променів. Формування стану поляризації у каналі поляриметра відбувається за допомогою оптико-механічного модулятора, який складається із фазової пластинки 1 та поляризатора, що здатні обертатись навколо осі за допомогою приводів від прецизійних крокових двигунів КД1 та КД2. На виході модулятора формується лінійно поляризована хвиля з необхідним азимутом поляризації відносно площини падіння світла (можливі реалізації трьох лінійних станів поляризації зондувального лазерного випромінювання). Розсіяне зразком біотканини випромінювання потрапляє у приймальний канал поляриметра II, який складається з фазової пластинки 2, аналізатора та об'єктива, за допомогою якого зображення реєструється ПЗЗ-матрицею цифрової відеокамери КРС-301СZH (КТ&С, роздільна здатність 640×480 пікселів, площа $9,6 \times 7,2$ мм, лінійний розмір світлочувливих елементів 15 мкм). Вихідне зображення передається до захоплювача кадрів, який з'єднано із персональним комп'ютером [2,30].

Проведені експериментальні вимірювання елементів вектора Стокса лінійно поляризованого випромінювання з відомим азимутом орієнтації показали, що у випадку компенсації нелінійності камери усереднені за зображенням параметри вектора Стокса вимірювались з інструментальною похибкою 2,3%, а без компенсації внаслідок нерівномірності чутливості ПЗЗ-матриці – з похибкою 10%, яка мала систематичний характер [2, 30].

Даній системі властиві недоліки, описані й для інших розглянутих систем:

1. Багатофункціональність:
 - вимірювання інтегральних та двовимірних розподілів інтенсивності серії пошарових поляризаційних лазерних зображень;
 - вимірювання інтегральних та двовимірних розподілів параметрів вектора Стокса у площині парціального інтерференційного зображення;
2. Інформаційна повнота вимірювань:
 - вимірювання розподілів елементів растрової матриці Мюллера для кожного елемента кадру зображення;
 - формування растрів координатних розподілів в межах кадру зображення параметрів анізотропії на основі растрових матриць циркулярної фазової анізотропії, лінійної фазової анізотропії, лінійної амплітудної анізотропії, отриманих із растру головних мінорів матриці Мюллера біологічного тканини.
3. Комплексна об'єктивна оцінка одержаних даних на основі альтернативних, взаємодоповнюючих аналітичних підходів - відсутня
4. Можливість відтворення структури біологічного шару – опосередковано для оптично тонких шарів
5. Точність отриманого результату – достатня при умові застосування низько когерентного випромінювання.
6. Вартість – висока; шкідливість – відсутня, енерговитрати - малі.

ЛАЗЕРНА МЮЛЛЕР-МАТРИЧНА ДІАГНОСТИКА МЕРЕЖ БІОЛОГІЧНИХ КРИСТАЛІВ

Для аналізу, одержаної в межах даного напрямку, інформації (координатні розподіли азимутів і еліптичності поляризації, елементів матриць Мюллера і Джонса) використовують модельний підхід [3]:

1. Все різноманіття біологічних тканин (БТ) людини можна представити у вигляді чотирьох основних типів - сполучна, м'язова, епітеліальна та нервова тканини.
2. Морфологічна будова будь якого типу БТ розглядається у вигляді двокомпонентної аморфно-кристалічної структури.
3. Кристалічна компонента або позаклітинна матриця являє собою архітектонічну сітку, що складається з коаксіальних циліндричних протеїнових (колаген, міозин, еластин та ін.) фібрил .
4. З оптичної точки зору протеїнові фібрили володіють властивостями одноосних двоприменезаломлюючих кристалів.
5. Взаємодія лазерного випромінювання з БТ розглядається у наближенні одноразового розсіяння, коли коефіцієнт ослаблення її шару відповідає умові $\tau \leq 0,1$.

Дана модель виявилася ефективною у знаходженні взаємозв'язків між набором статистичних моментів 1 - 4 порядків, що характеризують орієнтаційно-фазову будову (імовірнісні розподіли напрямів оптичних осей та фазових зсувів сіток протеїнових фібрил) двоприменезаломлюючої архітектоніки БТ та сукупністю відповідних статистичних моментів двовимірних розподілів азимутів і еліптичності їх поляризаційно-неоднорідних зображень.

Установлено [3,31], що найбільш чутливими до зміни орієнтаційно-фазової будови сіток протеїнових кристалів є 3-й та 4-й статистичний моменти координатних розподілів азимутів і еліптичності поляризації (поляризаційні мапи) та елементів матриці Мюллера (Мюллер-матричні зображення) всіх основних типів БТ.

Виявлено [3,31], що процеси формування нових (онкологічних) напрямків оптичних осей двоприменезаломлюючих фібрил архітектонічних сіток зумовлюють ріст величин 3-го та 4-го статистичних моментів двовимірних розподілів азимутів і еліптичностей поляризації зображення БТ.

Показано, що зміна рівня оптичної анізотропії архітектоніки БТ супроводжується обернено пропорційними залежностями величин асиметрії й ексцесу координатних розподілів зазначених поляризаційних параметрів.

На цій основі сформульовані критерії і розроблені методи для статистичної диференціації поляризаційних властивостей фізіологічно нормальної та зміненої архітектоніки БТ, які виявилися ефективними у ранній діагностиці м'язової дистрофії, передракових станів сполучної тканини, колагенозів та ін.

У наближенні одноразового розсіяння знайдено взаємозв'язок між ієрархічною геометрією будови архітектоніки БТ та ступенем самоподібності (фрактальний, стохастичний або статистичний) її поляризаційних властивостей, які описуються сукупністю експериментально визначених двовимірних розподілів елементів матриці Мюллера.

На цій основі виявлено, що координатні розподіли матричних елементів фізіологічно

нормальних БТ мають фрактальну (один нахил апроксимуючої Log-log залежності спектрів потужності кривої) структуру. Для патологічно змінених БТ характерний стохастичний (декілька нахилів апроксимуючої Log-log залежності спектрів потужності кривої) або статистичний (відсутність стабільних нахилів апроксимуючої Log-log залежності спектрів потужності кривої) розподіл значень елементів у відповідних Мюллер-матричних зображеннях [32].

Таке успішне діагностичне застосування методів лазерної поляриметрії у діагностиці структури оптично тонких шарів БТ об'єктивно стимулює подальший розвиток і розповсюдження таких методів на більш широке коло об'єктів біологічного походження.

Найбільш актуальними завданнями в даному напрямку є такі [33, 34]:

1. Врахування не тільки одноразового, але й багаторазового розсіяння в об'ємі шару оптично товстої (коефіцієнт ослаблення $\tau \leq 0,1$) БТ або багат шарової структури, сформованої парціальними шарами основних типів біологічних тканин людини.
2. Дослідження еволюції статистичних (статистичні моменти 1-го – 4-го порядків, автокореляційні функції розподілів азимутів і еліптичності поляризації) параметрів, які характеризують, розсіяні зазначеними типами БТ, поляризаційно-неоднорідні об'єктні поля у залежності від оптичної екстинції τ в різних зонах дифракції.
3. Виявлення сценаріїв формування та аналіз структури Мюллер-матричних зображень багат шарових сіток біологічних кристалів для діагностики фізіологічного стану основних типів тканин людини.
4. Пошук та обґрунтування взаємозв'язків між статистичними і кореляційними підходами до аналізу процесів світлорозсіяння багат шаровими БТ та створення на цій основі нових методів і систем діагностики структури складних сіток двоприменезаломлюючих біологічних структур.
5. Розробка методів селекції інформації (контрастування зображень, "виділення інформативної" фазової або орієнтаційної складової полікристалічних мереж багат шарових БТ

ВИСНОВОК

Існуючі експериментальні методики та технічні реалізації систем лазерної поляриметрії (двовимірний фазовий мікроскоп, двовимірний поляризаційний мікроскоп, поляриметри, еліпсометри, оптично когерентні томографи, автоматизовані відео-поляриметри) є вузькоспеціалізованими, розроблені для окремих груп об'єктів і не можуть бути уніфікованими, оскільки відсутня загальна інформаційна база обробки одержаних експериментальних даних. Існує необхідність ґрунтовного опису методів, апаратури, алгоритмічного і програмного забезпечення систем для багат функціонального дослідження багат шарових біологічних тканин (рідин) із комплексним аналізом отриманих їх лазерних зображень, що дозволяв би диференціювати структуру поляризаційних мап БТ («норма», «патологія») для діагностики фізіологічного стану людини.

Тому актуальною є розробка нових і вдосконалення існуючих методів, алгоритмів та автоматизованих систем багат функціонального вимірювання (інтегральних та двовимірних розподілів інтенсивностей поляризаційно відфільтрованих зображень, вимірювання двовимірних розподілів азимутів, еліптичностей поляризації, елементів матриці Мюллера багат шарових біологічних об'єктів, із реалізацією прямого експериментального або аналітичного відтворення координатних розподілів показника заломлення, показника двоприменезаломлення, розподілів орієнтацій оптичних осей та фазових зсувів полікристалічних мереж біологічного шару), із запровадженням об'єктивної оцінки одержаних даних на основі статистичного, кореляційного та фрактального аналізу [33,34].

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Оптическая биомедицинская диагностика: [в 2 т.]. Т.1/ Пер. с англ. под. ред. В.В. Тучина. – М.: Физматлит, 2007. – 560 с.
2. Тужанський С.Є. Системи лазерної відео - поляриметрії для автоматизованого контролю параметрів неоднорідних біотканин: [монографія] / С.Є. Тужанський, Г.Л. Лисенко. – Вінниця: ВНТУ, 2011. – 156 с.
3. Основи лазерної поляриметрії. Ч.1: Біологічні тканини людини / [Ушенко О.Г., Ушенко Ю.О., Томка Ю.Я. та ін.]; під ред. О.Г.Ушенко . – Чернівці: Чернів. нац. ун-т, 2010. – 588 с.
4. Мікроскоп Альтами БІО 1: Биологические, лабораторные или медицинские микроскопы Альтами [Електронний ресурс] – Режим доступу вільний : http://altami.ru/microscopes/biologoical/digi/altami_BIO1.html#tabset-1.
5. Мікроскоп Konus Infinity-2: Astro Scope - Микроскопы KONUS [Електронний ресурс] – Режим доступу вільний : http://www.astroscope.com.ua/mikroskop_konus_infinity-2/4101.htm.

6. Микроскоп Delta Optical Evolution 100: Astro Scope - Микроскопы DELTA OPTICAL [Електронний ресурс] – Режим доступу вільний : http://astroscope.com.ua/mikroskop_delta_optical_evolution_100/1115.htm
7. Лазерный фазовый интерференционный микроскоп МИМ-2.1: ГНЦ ФГУП “Исследовательский центр имени М. В. Келдыша” – Отдел нанотехнологий [Електронний ресурс] – Режим доступу вільний : <http://www.nanokerc.ru/node/20>.
8. Steindorff S1100 Binocular Phase Microscope: New York Microscope Company -Phase Contrast Microscopes [Електронний ресурс] – Режим доступу вільний : <http://microscopeinternational.com/Steindorff-S1100-Binocular-Phase-microscope?keyword=phase%20microscope&description=1>.
9. Accu-scope 3000 LED Phase Series: New York Microscope Company -Phase Contrast Microscopes [Електронний ресурс] – Режим доступу вільний :
10. <http://microscopeinternational.com/Accu-scope-3000-LED-Phase-Series-with-Slider-Phase>.
11. Микроскоп Альтами ПОЛАР 1: Поляризационные цифровые микроскопы Альтами [Електронний ресурс] – Режим доступу вільний : http://altami.ru/microscopes/polarizing/digi/altami_polar1.html#tabset-2.
12. Микроскоп MC 300 POL: ИнтерМед - Микроскопы MICROS (Австрия) [Електронний ресурс] – Режим доступу вільний : <http://intermed.ua/catalog/a-108.html>.
13. Поляризационный микроскоп БИОМЕД 5П: Октанта - Поляризационные микроскопы. Модельный ряд [Електронний ресурс] – Режим доступу вільний : <http://www.oktanta.ru/goods.html/catalog.html%3Frazd%3D109>.
14. Ванюрихин А.И. Оптико-электронные поляризационные устройства / А.И. Ванюрихин, В.П. Герчановская. – К. : Техніка, 1984. – 160 с.
15. Pravdin A.B. Polarized collimated tomography for biomedical diagnostics /A.B. Pravdin, S. P. Chernova , V.V. Tuchin // Coherence-domain methods in biomedical science and clinical applications : Proceeding of SPIE. - Bellingham, 1997. – Vol.2981. – P.230-234.
16. Fercher A.F. In-vivo optical coherence tomography/ A.F. Fercher, C.K. Hitzenberg, W. Drexler, G. Kamp, and H. Sattman. // Amer. J. Ophthalmol. – 1993. – Vol. 116. – P.113-114.
17. Schmitt J.M. Optical coherence tomography of a dense tissue: statistics of attenuation and backscattering/ J.M. Schmitt, A. Knüttel, M. Yadlowsky, and R.F. Bonner. // Phys. Med. Biol. – 1994. – Vol.42. – P.1427-1439.
18. Fujimoto J.G. Optical biopsy and imaging using optical coherence tomography / J.G. Fujimoto, M.E. Brezinski, G.J. Tearney [et.al.] // Nature Med. – 1995. – Vol.1. – P. 970-972.
19. Schmitt J.M. Subsurface imaging of living skin with optical coherence tomography / J.M. Schmitt, M. Yadlowsky, and R.Bonner, // Dermatology. - 1995. –Vol.191. – P. 93-98.
20. Wang R.K. High resolution optical tomographic imaging of soft biological tissues / R.K. Wang and J.B. Elder // Laser Physics. – 2002. – Vol.12. – P. 611-616.
21. Brezinski M. E. Optical coherence tomography: high resolution imaging in nontransparent tissue / M.E. Brezinski and J.G. Fujimoto // IEEE J. Select. Tops Quant. Electr. – 1999. – Vol.5. – P. 1185 –1192.
22. Zagainova E.V. In vivo optical coherence tomography feasibility for bladder disease / E.V. Zagainova, O.S. Strelzova, N.D. Gladkova, // J. Urology . – 2002. – Vol.167. – P. 1492 – 1497.
23. Kovalevicz A.M. Ultrahigh resolution optical coherence tomography using a superluminescent light source /A.M. Kovalevicz, T. Ko, I. Hartl [et.al.] // Opt. Express. – 2002. – Vol. 10. – P. 349-353.
24. Boer J.F. Review of polarization sensitive optical coherence tomography and Stokes vector determination / J.F. de Boer and T.E. Milner. // J. Biomed. Opt. – 2002. – V.7. – P.359-371.
25. Boer J.F. Two dimensional birefringence imaging in biological tissue using phase and polarization sensitive optical coherence tomography /J.F. de Boer, T.E. Milner and J.S. Nelson. // in Trends in Optics and Photonics (TOPS): Advances in Optical Imaging and Photon Migration. – OSA, Washington, DC, 1998.
26. Jiao S. Fiber-based polarization-sensitive Mueller matrix optical coherence tomography with continuous source polarization modulation /Shuliang Jiao, Milos Todorovic, George Stoica, and Lihong V. Wang // Appl. Optics. – 2005. – Vol.44. - P. 5463-5467.
27. Yamanari M. Birefringence measurement of retinal nerve fiber layer using polarization-sensitive spectral domain optical coherence tomography with Jones matrix based analysis/ Masahiro Yamanari, Masahiro Miura, Shuichi Makita, Toyohito Yatagai, Yoshiaki Yasuno // Proc. SPIE. - 2007. - Vol. 6429. - P. 496-505.
28. Шутов А. М. Методы оптической астрополариметрии / Альберт Михайлович Шутов. — М.:

- КомКнига, 2006. — 232 с.
29. Пат. 22604 Україна, МПК G 01 G 4/00. Лазерний автоматичний поляриметр зображень / Савенков С. М., Оберемок Є. А., Тужанський С. Є., Клімов О. С. — № u 2006 12680; заявл. 01.12.2006; опубл. 25.04.2007, Бюл. № 5.
 30. Крупич О. М. Поляриметрія зображення неоднорідних анізотропних об'єктів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фіз.-мат. наук: спец. 01.04.05 “Оптика, лазерна фізика” / О. М. Крупич. — Львів, 2002. — 20 с.
 31. Tuzhanskyu S. Y. Methods and means of polarization parameter control in biotissue imaging polarimetry / S. Y. Tuzhanskyu // Polarization Science and Remote Sensing III, ed. By Joseph A. Shaw, J. Scot Tyo, Proc. of SPIE. — 2007. — Vol. 6682, 668212. — P. 1—10.
 32. Основи лазерної поляриметрії. Біологічні рідини / [Ушенко О.Г., Бойчук Т.М., та ін.]; під ред. О.Г.Ушенко . — Чернівці: Чернів. нац. ун-т, 2011. — 656 с.
 33. Ushenko Yu. A. A fractal and statistic analysis of Mueller-matrix images of phase inhomogeneous layers / Ushenko Yu. A.; A. V. Dubolazov; A. O. Karachevtcev; N. I. Zabolotna // Proceedings SPIE. — 2011. — Vol. 8134. — P81340P4.
 34. Ушенко О.Г. Мюллер-матрична двовимірна томографія багатошарових полікристалічних мереж біологічних тканин і рідин / О.Г.Ушенко, Н.І.Заболотна // Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології.-2010. - №2(20). —С.156-162.
 35. Заболотна Н.І. Аналітичні основи двовимірної Мюллер-матричної томографії оптично товстих багатошарових біологічних тканин. Кореляційний і фрактальний підходи //Вимірювальна та обчислювальна техніка в технологічних процесах (м. Хмельницький). -2010. - №2. — С.157-163.

Надійшла до редакції 06.12.2012 р.

ЗАБОЛОТНА НАТАЛІЯ ІВАНІВНА – к.т.н., доцент кафедри лазерної та оптоелектронної техніки, Вінницький національний технічний університет, м. Вінниця, Україна.

ІГНАТЕНКО ОЛЕКСАНДР ГРИГОРОВИЧ – старший викладач кафедри метрології та промислової автоматики, Вінницький національний технічний університет, м. Вінниця, Україна.

РАДЧЕНКО КОСТЯНТИН ОЛЕГОВИЧ – студент 4-го курсу кафедри лазерної та оптоелектронної техніки, Вінницький національний технічний університет, м. Вінниця, Україна.

КРАСНОЩОКА АНАСТАСІЯ КОСТЯНТИНІВНА – студентка 3-го курсу кафедри лазерної та оптоелектронної техніки, Вінницький національний технічний університет, м. Вінниця, Україна.