

УДК 535.361; 535.555

Л. Трифонюк, О.Г Ушенко, І.С.Давиденко, І.Ю.Полянський, О.І.Герасименко, К.М. Сулоєв

ДИФЕРЕНЦІАЛЬНА ДІАГНОСТИКА ДОБРОЯКІСНИХ І ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН ПРОСТАТИ МЕТОДОМ ПОЛЯРИЗАЦІЙНО-СИНГУЛЯРНОЇ МЮЛЛЕР-МАТРИЧНОЇ МІКРОСКОПІЇ ПОЛІКРИСТАЛІЧНИХ ПЛІВОК КРОВІ

*Чернівецький національний університет імені Ю. Федьковича
Вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, Україна*

Анотація У статті представлені результати визначення можливостей поляризаційно-сингулярного підходу для покращення ефективності Мюллер-матричної поляриметрії у диференціальній діагностиці доброякісних і злоякісних з різним ступенем диференціації пухлин простати. Визначено взаємозв'язків між характеристичними значеннями елементів матриці Мюллера та поляризаційно-сингулярними L – станами мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біопсії пухлин простати і полікристалічних плівок крові. Розроблена і апробована методика експериментального визначення розподілів характеристичних значень Мюллер-матричних зображень. Визначено статистичні критерії експресної диференціальної діагностики гістологічних зрізів біопсії аденоми та аденокарциноми простати з різним ступенем диференціації. Визначено операційні характеристики (чутливість, специфічність, точність) діагностичної сили методу сингулярної поляриметрії.

Ключові слова: Мюллер-матрична поляриметрія, диференціальна діагностика

Abstract The article presents the results of determining the possibilities of polarization-singular approach to improve the efficiency of Mueller-matrix polarimetry in the differential diagnosis of benign and malignant with varying degrees of differentiation of prostate tumors. The relationships between the characteristic values of the elements of the Mueller matrix and the polarization-singular L - states of microscopic images of histological sections of the biopsy of prostate tumors and polycrystalline blood films were determined. The technique of experimental determination of distributions of characteristic values of Mueller-matrix images is developed and tested. Statistical criteria for rapid differential diagnosis of histological sections of prostate adenoma and adenocarcinoma with different degrees of differentiation were determined. The operational characteristics (sensitivity, specificity, accuracy) of the diagnostic power of the singular polarimetry method are determined.

Keywords: Mueller-matrix polarimetry, differential diagnosis

DOI: 10.31649/1681-7893-2020-40-2-21-28

Структурно-логічна та оптична схема сингулярної поляриметрії мікроскопічних зображень біологічних шарів

На рис. 1 представлено структурно – логічну схему та дизайн поляризаційно [1-8] –сингулярного [9-13] дослідження мікроскопічних зображень біологічних препаратів біопсії доброякісних і злоякісних пухлин простати

1	Джерело оптичного зондування	Газовий гелій-неоновий лазер; Довжина хвилі 0,6328 мкм; Потужність 10 мВт
2	Блок формування просторової структури оптичного зонда	Оптичний коліматор формування паралельного лазерного пучка з поперечним перерізом 5 мм
3	Багатоканальний блок формування поляризаційної структури оптичного зонда	Система формування лінійної ($0^0; 90^0; 45^0$) та право-циркулярної поляризації (лінійний поляризатор (Achromatic True Zero-Order Waveplate) –

		чвертьхвильова пластинка (B + W Kaesemann XS-Pro Polarizer MRC Nano)).
4	Об'єктний блок	Мікроскопічний координатний вузол
5	Блок формування мікроскопічного зображення	Поляризаційний мікроб'єктив (Nikon CFI Achromat P, working distance – 30mm, focal distance - 50mm, NA – 0.1, magnification – 4x)
6	Блок багатоканальної поляризаційної фільтрації	Система пропускання лінійно ($0^{\circ}; 90^{\circ}; 45^{\circ}; 135^{\circ}$) і право- та ліво- циркулярно поляризованих складових
7	Блок дискретизації і флотування цифрового мікроскопічного зображення	Цифрова CCD камера (The Imaging Source DMC 41AU02.AS, monochrome 1/2 "CCD, Sony ICX205AL (progressive scan); resolution - 1280x960, size light-sensitive area - 7600x6200mkm; sensitivity - 0.05 lx, dynamic range - 8 bit, SNR - 9 bit) by polarization microobjective 7 (Nikon CFI Achromat P, focal length - 30 mm, numerical aperture - 0.1 increase - 4x)
8	Блок комп'ютерної обробки даних сингулярної поляриметрії	Алгоритми розрахунку: - наявності L – станів поляризації; - наявності C – станів поляризації; - статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли кількості L – C – станів поляризації в точках мікроскопічного зображення

Рис. 1. Структурно-логічна схема методу сингулярної поляриметрії мікроскопічних зображень біологічних шарів.

Рис. 2 ілюструє оптичну схему поляризаційно-сингулярної поляриметрії мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біопсії пухлин простати

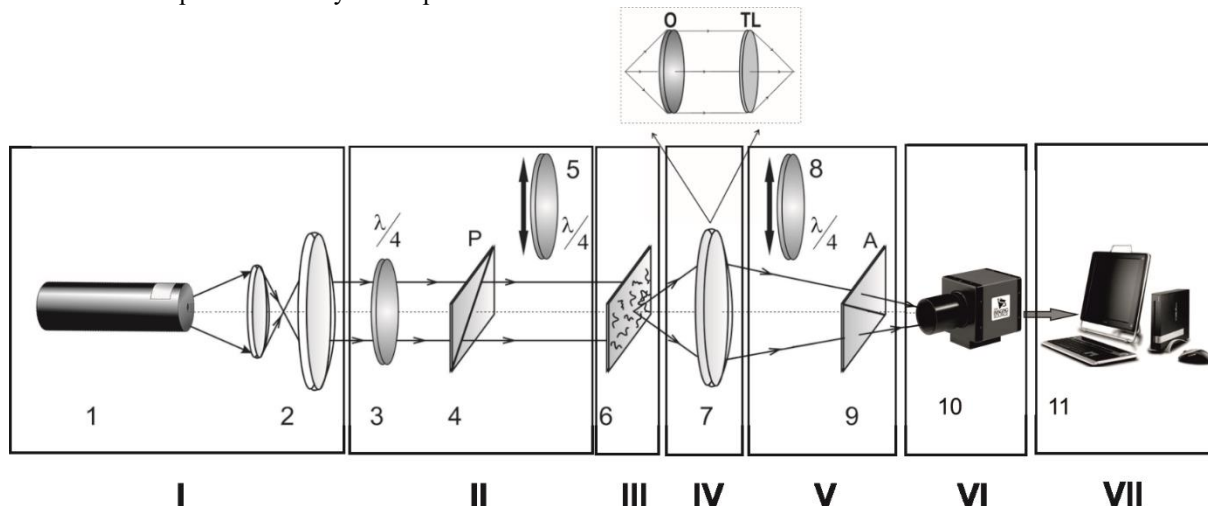


Рис. 2. Оптична та функціональна блок-схема поляриметра, де 1 – He-Ne лазер; 2 – коліматор; 3 – стаціонарна чвертьхвильова пластинка; 5, 8 – механічно рухомі чвертьхвильові пластинки; 4, 9 – поляризатор і аналізатор; 6 – біологічний шар; 7 – поляризаційний мікроб'єктив; 10 – CCD камера; 11 – персональний комп'ютер.

Тут:

- I – блок лазерного зондування;
- II – блок поляризаційного опромінювання;
- III – об'єктний блок;
- IV – блок формування зображення;

- V – блок поляризаційного аналізу;
- VI – блок реєстрації зображень;
- VII – блок обробки даних.

Опромінювання зразків 6 проводилося паралельним ($\varnothing = 2 \times 10^3 \mu m$) слабоінтенсивним ($W=5,0$ мВт) пучком He-Ne лазера ($\lambda=0,6328 \mu m$). 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° , 90° , $+45^\circ$ 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 DMC 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.

Оптико-геометричні параметри біологічних препаратів пухлин простати і полікристалічних плівок крові хворих пацієнтів

В якості об'єктів дослідження використовувалися зразки полікристалічних плівок крові груп пацієнтів з наявністю доброякісних (аденома) і злоякісних (аденокарцинома з різним ступенем диференціації за шкалою Глісона) пухлин простати.

Полікристалічні плівки крові виготовлялись шляхом нанесення краплі рідини на оптично однорідне скло з наступним просушуванням при кімнатній температурі.

Досліджувалися наступні групи зразків полікристалічних плівок крові забраної у пацієнтів з наступними патологіями:

3. Аденома простати – контрольна група 1 (25 зразків).
4. Високодиференційована аденокарцинома (3+3) простати – дослідна група 2 (25 зразків).
5. Середньодиференційована аденокарцинома (3+4) простати – дослідна група 3 (25 зразків).
6. Низькодиференційована аденокарцинома (4+4) простати – дослідна група 4 (25 зразків).

Оптичні та геометричні параметри зазначеної сукупності зразків в межах представлені в таблиці 1.

Table 1. Optical and geometric parameters of blood polycrystalline films.

Parameter	Group 2.1	Group 2.2	Group 2.3	Group 2.4
Geometric thickness $h, \mu m$	25 ± 0.47	26 ± 0.44	25 ± 0.46	24 ± 0.45
Attenuation (extinction) coefficient τ, cm^{-1}	0.22 ± 0.009	0.23 ± 0.0103	0.24 ± 0.0101	0.23 ± 0.0103

Товщина полікристалічних плівок крові вимірювалось шляхом перефокусування мікрооб'єктиву на обидві поверхні зразку.

Измерение величины коэффициента экстинкции (τ, cm^{-1}) образцов полікристалічних плівок крові осуществлялось по стандартной методике фотометрирования величины ослабления образцом интенсивности освещающего пучка [49] с использованием интегральной светорассеивающей сферы [50]

Експериментальна методика вимірювання розподілів кількості сингулярних станів Мюллер-матричних зображень полікристалічних плівок крові.

Для практического использования поляризационно-сингулярного анализа сложных топологических структур мікроскопічних зображень полікристалічних плівок крові мы использовали наступну Мюллер-матричную методику:

- Во всех экспериментально полученных двумерных массивах (группа 1 – группа 4) значений матричных элементов \mathbf{f}_{44} образца поликристаллической пленки крови формировались выборки характеристических значений - " $\pm C$ " $\rightarrow \mathbf{f}_{44} = 0$.
- Путем построчного сканирования ($\mathbf{n}_{i+1} = \mathbf{n}_i + 1\text{pix}$) определялось (в пределах каждого столбца $\mathbf{m}_i \div \mathbf{m}_i + 1\text{pix}$) количество характеристических значений " $\pm C$ " $\rightarrow \mathbf{f}_{44} = 0$ для каждого образца.
- На этой основе находились база данных про распределения количества поляризационно-сингулярных точек $\mathbf{N}(\pm C)$ для каждого образца поликристаллических пленок крови пациентов из всех групп.
- Вычислялись центральные статистические моменты 1-го – 2-го порядков $\mathbf{SM}_{i=1;2}$, которые характеризуют среднее и дисперсию распределения количества поляризационно-сингулярных точек $\mathbf{N}(\pm C)$ для каждого образца поликристаллических пленок крови пациентов из всех групп.
- В пределах каждой репрезентативной выборки образцов определялось среднее значение величины каждого из статистических моментов $\overline{\mathbf{SM}}_{i=1;2}$ и величина его среднеквадратического отклонения $\pm 2\Omega_{i=1;2}$ в пределах контрольной (группа 1) и исследуемых (группа 2 – группа 4) групп биологических препаратов - $\overline{\mathbf{SM}}_{i=1;2} \pm 2\Omega_{i=1;2}$.

Топографічна і статистична структура поляризаційно-сингулярних мап гістологічних зрізів біопсії пухлин простати з різним ступенем диференціації

На серии рис. 3 - рис. 6 представлены примеры Мюллер-матричного анализа сценариев формирования поляризационно-сингулярной структуры микроскопических изображений поликристаллическими пленками крови пациентов с наличием аденомы (рис. 2) и аденокарциномы простаты с разным ступенем диференціації (рис. 3 – рис. 5).

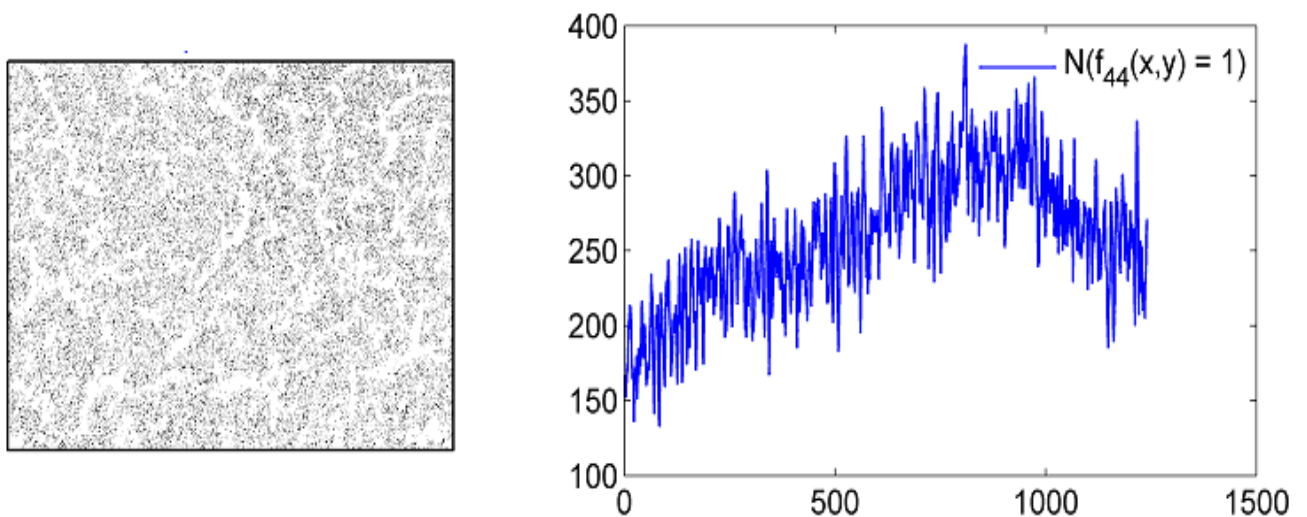


Рис. 3. Поляризационно-сингулярная карта \mathbf{L} точек (фрагмент (1)), а также распределение $\mathbf{N}(\mathbf{L})$ (фрагмент (2)) поликристаллическая пленка крови - аденома простаты (контрольная группа 1).

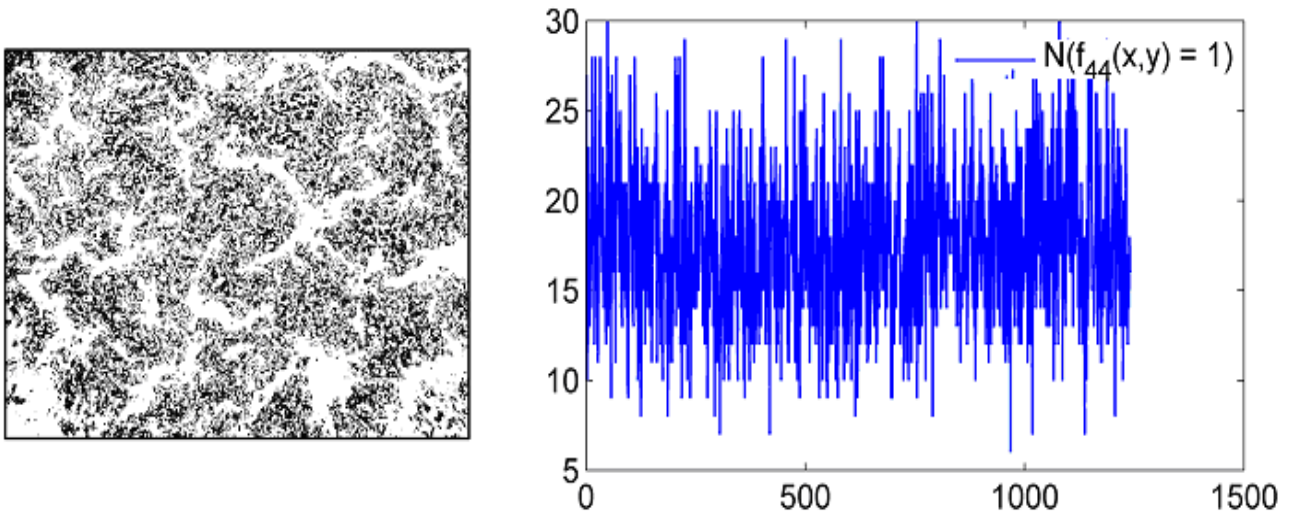


Рис. 4. Поляризаційно-сингулярна карта \mathbf{L} точок (фрагмент (1)), а також розподілення $\mathbf{N}(\mathbf{L})$ (фрагмент (2)) полікристалічної плівки крові - аденокарцинома простати високої диференціації (3+3) – дослідницька група 2.

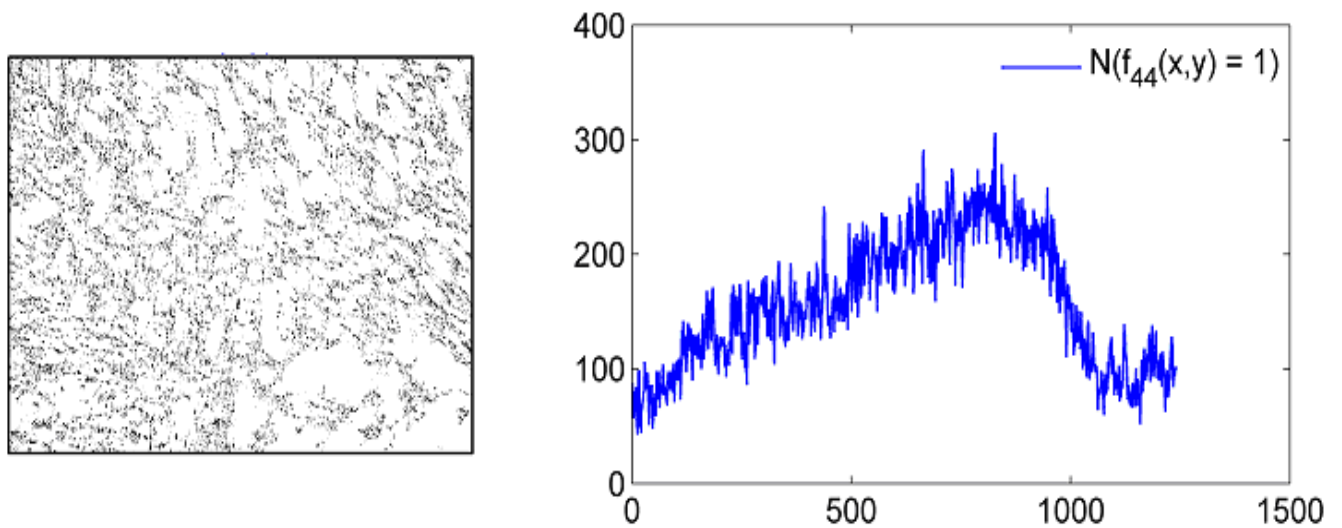


Рис. 5. Поляризаційно-сингулярна карта \mathbf{L} точок (фрагмент (1)), а також розподілення $\mathbf{N}(\mathbf{L})$ (фрагмент (2)) полікристалічна плівка крові - аденокарцинома простати середньої диференціації (3+4) – дослідницька група 3.

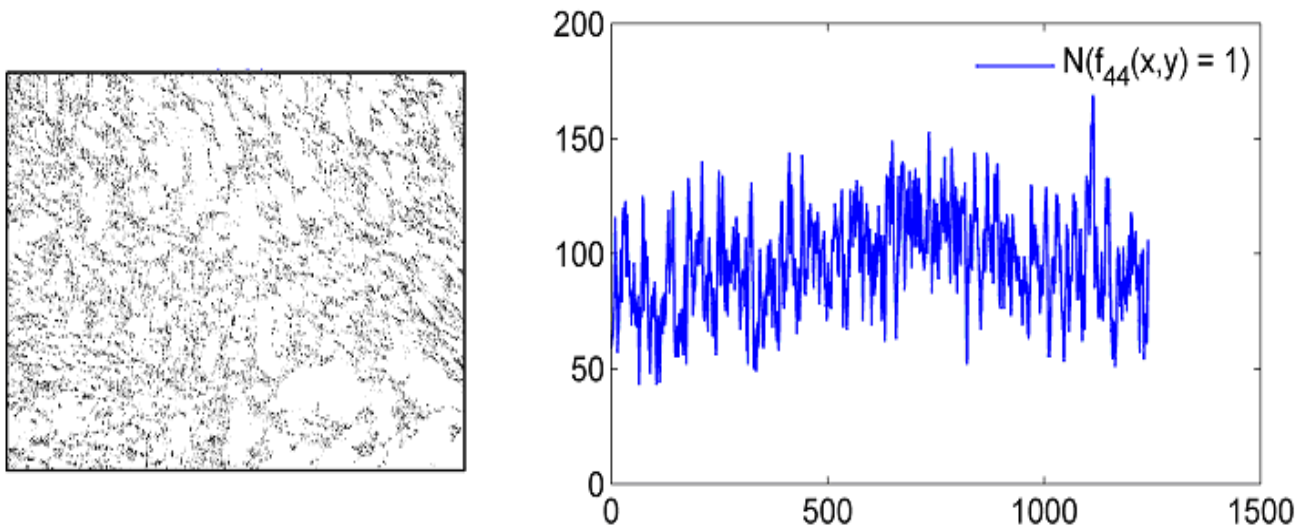


Рис. 6. Поляризаційно-сингулярна карта \mathbf{L} точок (фрагмент (1)), а також розподілення $\mathbf{N}(\mathbf{L})$ (фрагмент (2)) полікристалічної плівки крові - аденокарцинома простати низької диференціації (4+4) – дослідницька група 4.

Из анализа данных экспериментальной техники поляриметрии установлены следующие закономерности изменения поляризаційно-сингулярной структуры Мюллер-матричных изображений в пределах репрезентативных выборок образцов поликристаллических пленок крови пациентов с доброкачественными и злокачественными с различной степенью дифференциации по шкале Глисона (3+3, 3+4, 4+4) опухолями простаты:

- Наличие индивидуальных топографических поляризаційно-сингулярных сеток в плоскости азимутально-инвариантного Мюллер-матричного изображения поликристаллических пленок крови пациентов с доброкачественными и злокачественными с различной степенью дифференциации по шкале Глисона (3+3, 3+4, 4+4) опухолями простаты: - рис. 2 – рис. 5 (фрагменты (1)).

- Последовательное возрастание количества линейно поляризованных \mathbf{L} - состояний в совокупности пикселей Мюллер-матричных изображений поликристаллических пленок крови пациентов с доброкачественными и злокачественными с различной степенью дифференциации по шкале Глисона (3+3, 3+4, 4+4) опухолями простаты: (рис. 3 – рис. 5, фрагменты (2)) в сравнении с поляризаційно-сингулярной картой образца пленки крови пациента с доброкачественной аденомой простаты (рис. 2, фрагмент (5)).

С физической точки зрения обнаруженный результат можно связать с биохимическими изменениями оптически анизотропной составляющей репрезентативных выборок образцов поликристаллических пленок крови пациентов с аденокарциномой простаты различной степени дифференциации.

Формирование новообразований сопровождается увеличением концентрации глобулинов, которые обладают циркулярным двулучепреломлением или оптической активностью. Такие механизмы анизотропии приводят к формированию линейно поляризованных состояний лазерных пучков, которые прошли через образец пленки крови. Иными словами, вероятность формирования $\pm \mathbf{C}$ - точек последовательно уменьшается по мере снижения дифференциации ткани аденокарциномы по шкале грейдов Глисона - 3+3, 3+4, 4+4.

С другой стороны, число линейно-поляризованных \mathbf{L} - состояний точек микроскопического изображения гистологического среза биопсии опухолей аденомы и аденокарциномы с различной степенью дифференциации (3+3, 3+4, 4+4) последовательно увеличивается.

Статистичний аналіз поляризаційно-сингулярних мап полікристалічних плівок крові пацієнтів пухлин простати з різним ступенем диференціації

Результати статистического анализа данных метода азимутально-инвариантного Мюллер-матричного сингулярного картографирования поляризационно-сингулярной структуры микроскопических изображений репрезентативных выборок совокупности образцов поликристаллических пленок крови иллюстрирует таблица 2.

Здесь представлены средние внутригрупповые значения и стандартные отклонения величины статистических моментов 1-го – 2-го порядков, которые характеризуют распределения количества поляризационно-сингулярных состояний $N(L)$ поликристаллической пленки крови пациентов с аденомой и аденокарциномой простаты.

Таблица 2

Центральные статистические моменты 1-го – 2-го порядков, которые характеризуют распределения $M(L)$ для поликристаллических пленок крови пациентов с опухолями простаты различной дифференциации

Сингулярность	L - состояния			
	Аденома	Аденокарцинома (3+3)	Аденокарцинома (3+4)	Аденокарцинома (4+4)
SM_1	0.72 ± 0.034	0.81 ± 0.038	0.88 ± 0.041	0.92 ± 0.048
p	$p \leq 0.001$			
	$p \leq 0.05$			
	$p > 0.05$			
SM_2	0.43 ± 0.021	0.54 ± 0.025	0.63 ± 0.027	0.69 ± 0.032
p	$p \leq 0.001$			
	$p \leq 0.05$			
	$p > 0.05$			

Дифференциация образцов полікристалічних плівок крові аденомы и карциномы осуществлялась путем сравнения гистограмм распределения внутригрупповых значений величины статистических моментов 1-го и 2-го порядков - $Z(SM_1)$ и $Z(SM_2)$.

Если средние, найденные в пределах одной репрезентативной выборки образцов поликристаллических пленок крови, величины \overline{SM}_1 и дисперсии \overline{SM}_2 , которые характеризуют поляризационно-сингулярные распределения $M(L)$ находятся вне стандартного отклонения $\pm 2\Omega_{i=1,2}$ аналогичных значений, найденных в другой группе образцов поликристаллических пленок крови, то различие считается статистически достоверным - **$p \leq 0.05$** либо **$p \leq 0.001$** .

Из полученных данных статистического анализа распределений $M(L)$, которые определены методом азимутально-инвариантного Мюллер-матричного картографирования установлена:

- ❖ статистическая достоверность дифференциации поликристаллических пленок крови пациентов с аденомой (группа 1) и аденокарциномой высокой (3+3, - группа 2) и средней дифференциации (3+4, -группа 3);
- ❖ различия между поликристаллическими пленками крови пациентов с аденокарциномой средней (3+4, -группа 3) и низкой (4+4, - группа 4) дифференциации оказались статистически недостоверными.

Інформаційний аналіз діагностичної сили методу Мюллер-матричного поляризаційно-сингулярного картографування полікристалічних плівок крові пухлин простати з різним ступенем диференціації

Получены следующие результаты:

- ❖ Очень хороший уровень точности дифференциальной диагностики “аденома (контрольная группа 1) – аденокарцинома (исследовательские группа 2 – группа 4)” – $Ac = 91\%$;
- ❖ Хороший уровень точности дифференциальной диагностики “аденокарцинома (3+3, - группа 2) – аденокарцинома (4+4, - группа 4)” – $Ac = 89\%$;
- ❖ Удовлетворительный уровень точности дифференциальной диагностики “аденокарцинома (3+3, - группа 2) – аденокарцинома (3+4, - группа 3)” – $Ac = 86\%$;
- ❖ Неудовлетворительный уровень точности дифференциальной диагностики “аденокарцинома (3+4, - группа 3) – аденокарцинома (4+4, - группа 4)” – $Ac < 80\%$;

Висновки

1. У рамках Мюллер-матричної моделі фазової анізотропії встановлені аналітичні взаємозв'язки між характеристичними значеннями матричних елементів та поляризаційними сингулярностями мікроскопічних зображень полікристаллических плінок крові пацієнтів с доброкачественными и злокачественными с различной степенью дифференциации по шкале Глисона (3+3, 3+4, 4+4) опухолями простаты.

2. Статистичний аналіз поляризаційно-сингулярних мап полікристалічних плівок крові виявив:

- ❖ статистическая достоверность дифференциации поликристаллических плёнок крови пациентов с аденомой (группа 1) и аденокарциномой высокой (3+3, - группа 2) и средней дифференциации (3+4, -группа 3);
- ❖ различия между поликристаллическими плёнками крови пациентов с аденокарциномой средней (3+4, - группа 3) и низкой (4+4, - группа 4) дифференциации оказались статистически недостоверными.

3. Дослідження операційних характеристик діагностичної сили метода Мюллер-матричної сингулярної поляриметрії полікристалічних плівок крові виявило:

- ❖ Очень хороший уровень точности дифференциальной диагностики “аденома (контрольная группа 1) – аденокарцинома (исследовательские группа 2 – группа 4)” – $Ac = 91\%$;
- ❖ Хороший уровень точности дифференциальной диагностики “аденокарцинома (3+3, - группа 2) – аденокарцинома (4+4, - группа 4)” – $Ac = 89\%$;
- ❖ Удовлетворительный уровень точности дифференциальной диагностики “аденокарцинома (3+3, - группа 2) – аденокарцинома (3+4, - группа 3)” – $Ac = 86\%$;
- ❖ Неудовлетворительный уровень точности дифференциальной диагностики “аденокарцинома (3+4, - группа 3) – аденокарцинома (4+4, - группа 4)” – $Ac < 80\%$.

Список літератури

1. N. Ghosh, M. Wood, and A. Vitkin, “Polarized light assessment of complex turbid media such as biological tissues using Mueller matrix decomposition,” *Handbook of Photonics for Biomedical Science* **9**, 253–282 (2010).
2. J. J. Gil, “Characteristic properties of Mueller matrices,” *J. Opt. Soc. Am. A* **17**, 328–334 (2000).
3. O.V. Angelsky, A.G. Ushenko, Yu.A. Ushenko, V.P. Pishak, A.P. Peresunko, “Statistical, Correlation and Topological Approaches in Diagnostics of the Structure and Physiological State of Birefringent Biological Tissues,” *Handbook of Photonics for Biomedical Science*, 283-322 (2010).
4. Y.A. Ushenko, T.M. Boychuk, V.T. Bachynsky, O.P. Mincer, “Diagnostics of Structure and Physiological State of Birefringent Biological Tissues: Statistical, Correlation and Topological Approaches,” *Handbook of Coherent-Domain Optical Methods*, 107-148 (2013).
5. R. A. Chipman, “Polarimetry” in *Handbook of Optics: Vol. I— Geometrical and Physical Optics, Polarized Light, Components and Instruments*, M. Bass, Ed., pp. 22.1–22.37, McGraw-Hill Professional, New York (2010).
6. N. Ghosh and I. A. Vitkin, “Tissue polarimetry: concepts, challenges, applications and outlook,” *J. Biomed. Opt.* **16**, 110801 (2011).
7. S. L. Jacques, “Polarized light imaging of biological tissues” in *Handbook of Biomedical Optics*, D. Boas, C. Pitris, and N. Ramanujam, Eds., pp. 649–669, CRC Press, Boca Raton, London, New York (2011).

8. N. Ghosh, M. F. G. Wood, and I. A. Vitkin, "Polarized light assessment of complex turbid media such as biological tissues via Mueller matrix decomposition," in *Handbook of Photonics for Biomedical Science*, V.V. Tuchin, Ed., pp. 253–282, CRC Press, Taylor & Francis Group, London (2010).
9. Freund Isaac. Elliptic critical points in paraxialoptical fields / Isaac Freund, Marat S. Soskin, Alex I. Mokhun // *Optics Communications*. – 2002. – Vol. 207. – P. 223-253.
10. Soskin M. S. Optical polarization singularities and elliptic stationary points / M. S. Soskin, V. Denisenko, I. Freund // *Opt. Lett.* – 2003. – Vol. 28. – P. 1475-1477.
11. Dennis M. R. Polarization singularities in paraxial vector fields: morphology and statistics / M. R. Dennis // *Opt. Commun.* – 2002. – Vol. 213. – P. 201-221.
12. Hajnal J. V. Singularities in the transverse fields of electromagnetic waves. I. Theory. / J. V. Hajnal // *Proc. R. Soc. Lond.* – 1987. – A. 414. – P. 433-446.
13. Hajnal J. V. Singularities in the transverse fields of electromagnetic waves II. Observations on the electric field / J. V. Hajnal // *Proc. R. Soc. Lond.* – 1987. – A. 414. – P. 447-468.
14. Nye J. F. Lines of circular polarization in electromagnetic wave fields / J. F. Nye // *Proc. R. Soc. Lond.* – 1983. – A. 389. – P. 279-290.
15. Berry M. V. Polarization singularities in isotropic random vector waves / M. V. Berry, M. R. Dennis // *Proc. R. Soc. Lond.* – 2001. – A. 457. – P. 141-155.

Л. Трифонюк – к.т.н., доц. Національний університет водного господарства та природокористування, м. Рівне, Україна

О.Г. Ушенко – д.ф.-м.н., проф, Чернівецький національний університет імені Ю. Федьковича, м. Чернівці, Україна

І.С. Давиденко – д.м.н., проф, ВДНЗ "Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

І.Ю. Полянський – д.м.н., проф, Чернівецький державний медичний інститут, м. Чернівці, Україна

О.І. Герасименко – д.м.н., проф, Донецький національний медичний університет, м. Краматорськ, Україна

К.М. Сулоєв – к.м.н., доц, Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна