B 1930

Rákos sejtek morfológiai vizsgálata optikai Fourier-transzform módszerrel

Egyetemi doktori értekezés

1980. Koch Péter

TARTALOMJEGYZÉK

BEVEZETÉS 3

I. MATEMATIKAI HÁTTÉR 7

I.1. Definició és egzisztenciatétel 7

I.2. A Fourier-transzformált tulajdonságainak vizsgálata 9

I.2.1. Linearitás 9

I.2.2. Eltolási-tétel 9

I.2.3. Elforgatási-tétel 10

I.2.4. Hasonlósági-tétel 11

I.2.5. Szimmetria-tétel 11

II. FIZIKAI HÁTTÉR

II.1. A jelölésmód egységesitése 13

II.2. Az optikai lencse mint fázistranszformáló elem 16

II.3. Fourier-transzformáció optikai lencsékkel 17

III. A KISÉRLETI ELRENDEZÉS ISMERTETÉSE 22

III.1. A rendszer leirása 22

III.1.1. Elvi felépités 22

III.1.2. Gyakorlati megvalósitás 24

III.2. A funkcionális egységek ismertetése 28

III.2.1. A preparátum előkészitése 28

III.2.2. A mikrofotográfia 29

III.2.3. Fotokezelés-transzparencia 31

III.2.4. A lézer 35

III.2.5. A térszürő egység 36

III.2.6. Optikai bemenet 40

III.2.7. A Fourier-transzform egység 41

III.2.8. Optikai kimenet 42

III.2.9. A mikrodenzitométer..... 44

IV. ELMÉLETI MODELL ÉS KISÉRLETI EREDMÉNYEK 47

IV.1. Az átviteli függvény vizsgálata 47

IV.1.1. Modellkisérletek 47

IV.1.2. A sejt átviteli függvényének vizsgálata 52

IV.2. A sejtmodell 55

IV.3. Kisérleti eredmények és értékelésük 65

V. A TOVÁBBLÉPÉS IRÁNYAI 79

ÖSSZEFOGLALÁS 82

FÜGGELÉK I. 84

FÜGGELÉK II. 88

FÜGGELÉK III. 96

REFERENCIÁK 98

BEVEZETÉS

Disszertációmban egy hosszabb távu kutatási program első lépéseként elvégzett munkáról számolok be.

Ennek a programnak az általános célkitüzése a koherens optikai adatfeldolgozás ismert /ill. kifejlesztésre váró/ módszereinek biológiai jellegü problémák megoldására való felhasználása. Annak ellenére, hogy az optikai adatfeldolgozó rendszerek elmélete és gyakorlata már tekintélyes multtal rendelkezik, alkalmazásuk a biológiai vizsgálatok, elsősorban a morfológia területén, viszonylag ujszerünek számit / Ref.[38], [26] /. Ennek egyik oka feltehetőleg az ilyen jellegü preparátumokról készült transzparenciák átviteli tulajdonságainak nehezebb kezelhetősége, ami viszont éppen e készitmények biológiai eredetével van összefüggésben, és igy az adatfeldolgozási folyamat számára adottnak tekintendő.

Ami magát a koherens optikai technikát illeti, ismeretes, hogy nagyjából a hatvanas évekre tehető az a gyümölcsöző periódus, melynek eredményeképpen az optikai adatfeldolgozás - nevezhetjük Fourier-optikának is - eleven gyakorlattá vált. Ennek a szerteágazó fejlődési folyamatnak egyik első mérföldköve Vander Lugt - ma már klasszikusnak tekinthető - publikációja / Ref. [14] / , amelyben az optikai adatátvitel spektrumtartománybeli manipulálhatóságának elvi alapjait és első kisérleti eredményeit ismertette. Természetes, hogy az alapelvek tisztázása után megindult intenziv kutatás elsősorban a módszer alkalmazhatósági körének kiszélesitésére irányult / Ref.[11], [12], [16], [18], [21], [22], [25], [31], [34] /.

Mig a kutatók egy része a beállitás pontosságára és a mechanikai stabilitásra rendkivül érzékeny korrelátor elrendezések és megoldandó feladatok összeegyeztethetőségének lehetőségeit kereste / Ref. [16], [17], [18], [20], [21],[22] /, más részük az alapmüvelet - a Fourier-transzformáció - viszonylagos mechanikai érzéketlenségét és "információrendező" tulajdonságát / itt "információrendező" alatt kvalitative azt értem, hogy a transzformálandó /sik/ objektum azonos nagyságrendü és irányitásu részletei a spektrum azonos helyére képződnek le / kihasználva, a spektrumtechnika tökéletesitését tüzte ki célul /Ref. [32], [34],/.

A fent emlitett alapmüvelet jellege miatt a Fourier-transzformáció vizsgálata általában a korrelációs feladatok megoldási algoritmusának első lépése szokott lenni, különös tekintettel arra, hogy a koherens szürés komplex amplitudók összeadását és szorzását jelenti, és igy az itt fellépő hibák a végeredményként kapott korrelációs jelek pontosságát nagymértékben befolyásolják.

Az optikailag viszonylag egyszerüen alőállitható Fourier- - transzformált / Fourier-spektrum / azonban nemcsak mint egy összetett "számitási" müveletet végző rendszer - az optikai korrelátor - alapmüvelete játszik szerepet, hanem az emlitett "információrendező" tulajdonsága miatt különböző képi kiértékelési feladatok önálló megoldási módszereként is nagy népszerüségnek örvend / Ref. [20], [21], [23] / . Megjegyzendő, hogy a Fourier-transzformált "jóságával" szemben támasztott követelményeket mindig a megoldani kivánt probléma jellegéhez kell illeszteni. A későbbiekben látjuk majd,

hogy az optikai Fourier-transzformált a tárgyfüggvény bármely transzlációjára fázisának / t. i. a transzformált fázisának / megváltozásával válaszol. Ha feladatunk egy holografikus szürő elkészitése, akkor a fenti fáziseltolódásokra mindig tekintettel kell lenni, mig ha csak a Fourierspektrum értékeire vagyunk kiváncsiak, akkor a tárgyfüggvény transzlációjából / pl. behelyezési pontatlanságokból / származó hibákat figyelmen kivül hagyhatjuk. A spektrumtechnika lehetőséget nyujt továbbá bizonyos kép kiértékelési feladatok részleges automatizálására is. Ezért, ha sikerül leküzdeni a biológiai eredetü transzparenciáknál fellépő, nem lebecsülendő nehézségeket, akkor lehetőség nyilhat a mikroszkópos vagy elektromikroszkópos felvételek real-time üzemmódban való optoelektronikus kiértékelésére, ami pl. a morfológia területén dolgozó szakemberek számára tetemes idő és energia megtakaritását jelentené. A koherens optika egy másik lehetséges felhasználása a biológia / elsősorban a morfológia / területén az egészséges és a különböző elváltozásokat mutató szövetek vagy egyes sejtek / sejtalkotók / keresztkorrelációjának vizsgálata holografikus szürésel. Természetesen az ilyen jellegü feladatok kapcsán felmerülő problémák lényegesen sulyosabbak,mint a spektrumtechnika esetében, hiszen itt maga az optikai folyamat jóval érzékenyebb a rendszer mechanikai és optikai paramétereinek változására. Dolgozatomban egészséges és rákos sejtek Fourier-transzformáltjait / pontosabban Fourier-spektrumait/ vizsgáltam. Egyrészt egy egyszerü sejtmodell/transzmittanciamodell/ segitségével a preparátumok biológiai eredetéből

származó hibák jellegét és mértékét próbáltam felderiteni, másrészt azt a kérdést vizsgáltam meg, hogy lehetséges-e a fenti egészséges és rákos sejteket a citológiából ismert Papanicolau-féle osztályokba besorolni. A nyert eredmények arra utalnak, hogy a módszer továbbfejlesztésével - elsősorban technikai finomitásával - nemcsak a fent emlitett biológiai korrelációs feladat megoldása felé tennénk egy lépést, hanem egy olyan, részben automatizálható eljárás birtokába jutnánk, mellyel lehetővé tennénk a morfológia területén dolgozó szakemberek számára az időigényes mikroszkópos kiértékelési munka megtakaritását, vagy legalábbis csökkentését. Dolgozatom első két fejezetében a nélkülözhetetlen elméleti vonatkozásokat tárgyalom. A harmadik fejezetben a mérési elrendezést irom le, megvizsgálva az egyes elemeken fellépő hibák hatását a teljes rendszer megbizhatóságára, mig a negyedik fejezet egy ideális sejtmodellen / transzmittancia-modell / végzett számitásokat, a kisérleti eredményeket, valamint a belőlük levonható következtetéseket tartalmazza. A kisérleti elrendezés és müködése megértését megkönnyitő, de nem szorosan a tárgyhoz tartozó számitások a Függelék I., II., és III.-ban találhatók.

I. MATEMATIKAI HÁTTÉR

Ebben a részben az optikai "processzor" által végrehajtott matematikai müvelet, a Fourier-transzformáció azon tulajdonságait vizsgáljuk, amelyek a rendszer müködésének, a müködés stabilitásának, és ezen keresztül az elrendezés előnyeinek megértéséhez szükségesek. A fejezet tárgyalásmódja tisztán matematikai, de az itt foglalt eredmények szolgálnak majd hivatkozási alapul a tényleges rendszer fizikai tulajdonságainak elemzésére.

I.1. Definició és egzisztenciatétel

Legyen $f(x,y)=f(\vec{r})$ az alább megadandó egzisztenciafeltételeknek eleget tevő /általában komplex/ függvény. Az $f(\vec{r})$ Fourier-transzformáltján az alábbi függvényt értjük definició szerint /Ref.[1],[2],[3],[4]/:

$$\mathcal{F}[f(\vec{r})]=F(\vec{w})\overset{d}{=}\int_{-\infty}^{+\infty} f(\vec{r})\exp\{-i\langle\vec{w},\vec{r}\rangle\}\,d\vec{r}, \qquad /\text{I.1a}/$$

ahol $\vec{w}=(w_x,w_y)$ és $\langle\ldots\rangle$ a skalárszorzat jele. Az $\mathcal{F}[\ldots]$ jelölést végig fenntartjuk a Fourier-transzformációt kijelölő operátor részére. A továbbiakban ahol csak lehet az /I.1a/-nak megfelelő rövidebb, vektoros irásmódot használjuk. Az optikai irodalomban gyakran előfordul /I.1a/ definició egy másik változata is /Ref. [2],[3]/, amely az exponens előjelében tér el az /I.1a/ -tól, azaz

$$\mathcal{F}[f(\vec{r})]=F'(\vec{w})\overset{d'}{=}\int_{-\infty}^{+\infty} f(\vec{r})\exp\{i\langle\vec{w},\vec{r}\rangle\}\,d\vec{r}. \qquad /\text{I.2a}/$$

Természetesen következetesen használva mindkét definició ugyanazokra az eredményekre vezet. Ezt a tényt a Wiener-spektrum speciális esetében hamarosan látni fogjuk.

Az inverz transzformáció formulái

$$f(\vec{r}) = \frac{1}{(2\pi)^2} \int_{-\infty}^{+\infty} F(\vec{\omega}) \exp[i\langle \vec{\omega}, \vec{r} \rangle] \, d\vec{\omega} \qquad /I.1b/$$

ill.

$$f(\vec{r}) = \frac{1}{(2\pi)^2} \int_{-\infty}^{+\infty} F(\vec{\omega}) \exp[-i\langle \vec{\omega}, \vec{r} \rangle] \, d\vec{\omega} \; . \qquad /I.2b/$$

A Fourier-transzformált létezésének feltételeit itt nem vizsgáljuk, mindössze bizonyitás nélkül megadjuk a létezés elegendő feltételét. Megjegyezzük, hogy több különböző elegendő feltétel adható a transzformált létezésére, ezzel kapcsolatban a szakirodalomra utalunk / Ref.[1],[2], [3],[4]/.

A Fourier-transzformált létezéséhez elegendő, ha

/i/ $$\int_{-\infty}^{+\infty} |f(\vec{r})| \, d\vec{r} < \infty$$

/ii/ $f(\vec{r})$ -nek nincs végtelen szakadása

/iii/ $f(\vec{r})$ -nek legfeljebb véges számu véges szakadása és véges számu maximuma ill. minimuma van bármely véges négyszögön.

Azokat a gyakorlat szempontjából szintén fontos eseteket, amelyek a feltételek valamelyikét nem elégitik ki /pl. $\delta(x)$, $\sin x$ / az általánositott Fourier-analizis keretében tárgyalják / Ref.[2]/.

A fenti /I.1a/ és /I.2a/ definiciók valós függvény esetén a Wiener-spektrum /Fourier-spektrum/ szempontjából ekvivalensek / Ref.[5],[9]/, azaz ha $f(\vec{r})$ valós függvény, akkor

$$\left|F(\vec{\omega})\right|^2 = \left|F(\vec{\omega})\right|^2 . \qquad /I.3/$$

Mivel, mint látni fogjuk, ténylegesen a Wiener-spektrum értékeit mérjük, ezért ez az állitás lehetővé teszi a fenti definiciók alternativ használatát, és ezzel a lehetőséggel a későbbiekben helyenként élni is fogok.
A következőkben a Fourier-transzformált ill. a Wiener-spektrum azon tulajdonságait sorolom fel, amelyek a rendszer müködése szempontjából lényegesek.

I.2. A Fourier-transzformált tulajdonságainak vizsgálata

I.2.1. Linearitás

$$\mathcal{F}\left[\sum_i \lambda_i \varphi_i(\bar{x})\right] = \sum_i \lambda_i \mathcal{F}\left[\varphi_i(\bar{x})\right] \qquad /I.4/$$

Ez az állitás az integráloperáció linearitása miatt nyilvánvaló.

I.2.2. Eltolási tétel

$$\left|\mathcal{F}\left[f(\vec{r}-\vec{r}_0)\right]\right|^2 = \left|\mathcal{F}\left[f(\vec{r})\right]\right|^2 \qquad /I.5/$$

ahol $\vec{r}_0$= konstans vektor. A tétel bizonyitásával kapcsolatban a szakirodalomra utalunk /Ref.[3],[4]/.
Ennek az állitásnak nagy jelentőségü következménye a

rendszer invarianciája a tárgyfüggvény /transzparencia/ esetleges oldalirányu elmozdulásaival szemben /rezgés, pontatlan behelyezés, stb. / és ez hordozza magában a nagymennyiségü adat gyors feldolgozásának lehetőségét is; erről a későbbiekben még bővebben lesz szó.

I.2.3. Elforgatási tétel

$$\mathcal{F}[f(\vec{r}, \varphi+\varphi_0)] = F(\varrho, \theta+\varphi_0) \qquad /I.6/$$

ahol

$r, \varphi \longmapsto$ polárkoordináták a bemenősikban

$\varrho, \theta \longmapsto$ polárkoordináták a Fouriersikban

és

$$F(\varrho,\theta) = \mathcal{F}[f(r,\varphi)], \quad f(r,\varphi) = f(r, \varphi+2\pi)$$

/Bizonyitást l. Ref. [4] /. Látható tehát, hogy az elforgatott függvény Fourier-transzformáltja az eredeti függvény Fourier-transzformáltjának elforgatottja. Ez az állitás, és az alább ismertetendő hasonlósági tétel együtt biztositják azt a lehetőséget, hogy a tárgyfüggvénynek a bemenő sikban végrehajtott transzformációit a Fourier-sikban is egyszerüen követhessük.

I.2.4. Hasonlósági-tétel

$$\mathcal{F}[f(\alpha x,\beta y)]=\frac{1}{|\alpha\beta|}F\left(\frac{1}{\alpha}w_x,\frac{1}{\beta}w_y\right), \qquad /I.7/$$

ahol α,β tetszőleges valós konstansok /bizonyitást l. Ref. [2],[3],[4]/. Mint később látni fogjuk, a hasonlósági tétel teszi lehetővé, hogy a deformált magvu sejtek spektrumainak tulajdonságait az alapul választott kerek magvu sejtek spektrumaiból egyszerüen származtathassuk. Végezetül a Fourier-transzformáltnak azt a tulajdonságát vizsgáljuk meg ill. bizonyitjuk, amely a Wiener-spektrum mérésére szolgáló elrendezések felületi geometriájának egyszerü kialakitását teszi lehetővé.

I.2.5. Szimmetria-tétel

Ha $f(\vec{r})$ valós függvény, akkor

$$|F(\vec{w})|^2=|F(-\vec{w})|^2. \qquad /I.8/$$

Bizonyitás:

$$F(\vec{w})=\int_{-\infty}^{+\infty}f(\vec{r})\exp[-i\langle\vec{w},\vec{r}\rangle]\,d\vec{r} \qquad /I.9/$$

$$F(-\vec{w})=\int_{-\infty}^{+\infty}f(\vec{r})\exp[i\langle\vec{w},\vec{r}\rangle]\,d\vec{r} \qquad /I.10/$$

Az /I.9/ és /I.10/-ből láthatóan

$$F^{*}(\vec{\omega}) = F(-\vec{\omega}),$$

ezért

$$F(\vec{\omega}) = F^{*}(-\vec{\omega})$$

azaz

$$|F(\vec{\omega})|^2 = |F(-\vec{\omega})|^2.$$

Ezzel az állitást bebizonyitottuk.

A szimmetriatétel bizonyitásából kitünik, hogy ezen mérés-technikailag igen fontos tulajdonság fennállásának szükséges feltétele, hogy a tárgyfüggvény valós legyen. Ez a követelmény az optikai transzparenciáknál általában nem teljesül, ugyanis a hordozó anyag, ill. a rávitt fotoemulzió a rendszerbe egy /általában helyfüggő / $\varphi = \varphi(\vec{r})$ fázistolást visz be. Ennek a kérdésnek a vizsgálatát és a hibák kiküszöbölésének a lehetőségét illetően a Függ.III.-ban foglaltakra ill. a szakirodalomra /Ref.[7] / utalok.

Ezzel a Fourier-transzformációnak a dolgozat szempontjából alapvető tulajdonságai vizsgálatát befejeztük.

A következő részben ezen matematikai művelet fizikai megvalósulását tekintjük át.

II. FIZIKAI HÁTTÉR

Dolgozatomnak ebben a fejezetében a Fourier-transzformált optikai uton való előállitásával kapcsolatos kérdéseket tárgyalom röviden.
Előkészitésül azonban néhány, az egységes jelölésmódot biztositó megállapodást kell tennünk.

II.1. A jelölésmód egységesitése

Mint ismeretes, a

$$[\nabla^2 - \frac{1}{c^2}\partial_t^2]\underline{U} = 0 \qquad /II.1/$$

hullámegyenlet monokromatikus megoldása /mivel fényforrásul HeNe lézert használunk, azért elegendő ezzel a megoldással foglalkozni/ az

$$\underline{U}(\vec{r},t) = U(\vec{r})\exp[-i\omega' t], \qquad /II.2/$$

vagy az

$$\underline{U}(\vec{r},t) = U(\vec{r})\exp[i\omega' t] \qquad /II.3/$$

alakban vehető fel, ahol ω' az "idő körfrekvenciát", mig $U(\vec{r})$ a komplex amplitudót jelöli. Az időfüggő tényező /időfázis/ /II.2/ vagy /II.3/ szerinti megválasztásával azonban egyuttal döntöttünk a kétféle "térfázis" koncepció között, nevezetesen /II.2/-höz a forrástól számitott növekvő távolsággal növekvő, mig /II.3/-hoz csökkenő fázis tartozik. Bármelyik alakot válasszuk is, az komplex amplitudónak ki kell elégitenie a

$$[\nabla^2 + k^2]U = 0 \qquad /II.4/$$

időtől független hullámegyenletet /Helmholtz-egy./,

ahol

$$k = \frac{\omega}{c} = \frac{2\pi}{\lambda}$$

a hullámszám, és λ a kérdéses közegben mért hullámhossz. Mivel koherens optikai problémák kapcsán bennünket általában a hullám $U(\vec{r})$ komplex amplitudója érdekel /lévén az időfüggés a priori ismert a monokromatikusság miatt /, ezért a továbbiakban kiindulásnak a /II.1/ helyett a /II.4/ egyenletet vesszük, és a hullámot komplex amplitudójával teljesen jellemzettnek tekintjük. Ennek alapján a koherens optika felépitésében önkényesen választhatunk az imént emlitett kétféle térfázis koncepció között, és következetesen használva a választott jelölést, nyilván ugyanarra az eredményre jutunk. Az I.1. részben már emlitettük, hogy az optikai irodalomban a Fourier-transzformált két, egymástól az exponens előjelében különböző irásmódban fordul elő, és ennek megfelelően az inverziós formulákban is kétféle előjel szerepelhet, azaz

$$f(x,y) = \frac{1}{4\pi^2} \int_{-\infty}^{+\infty} \iint F(\omega_x, \omega_y) \exp[+i\langle \vec{\omega}, \vec{r} \rangle] \, d\omega_x d\omega_y \qquad /II.5/$$

illetve

$$f(x,y) = \frac{1}{4\pi^2} \int_{-\infty}^{+\infty} \iint F(\omega_x, \omega_y) \exp[-i\langle \vec{\omega}, \vec{r} \rangle] \, d\omega_x d\omega_y \qquad /II.6/$$

Ezekből a formulákból látható, hogy az I.1.-ben foglalt egzisztenciafeltételeket kielégitő $f(x,y)$ függvény, amennyiben azt valamely hullám adott sikra vonatkozó komplex amplitudóeloszlásaként fogjuk fel, $(1/2\pi)^2 F(\omega_x, \omega_y) d\omega_x d\omega_y$

amplitudóju, különböző irányokban haladó monokromatikus sikhullámok szuperpoziciójaként állitható elő. Ahhoz azonban, hogy ezt a rendkivül szemléletes dekompoziciót használhassuk, a fenti /II.5/ és /II.6/ formulákban szereplő "monokromatikus" tényezők előjelét egyeztetnünk kell az általunk használni kivánt térfázis koncepcióval / vagy forditva/. Mivel az előző részben, II.2-től kezdve végig a Fourier-transzformáltnak a /II.5/-höz tartozó alakját használtuk, ezért a továbbiakban a /II.2/ által meghatározott térfázis koncepcióval dolgozunk.

Ebben az esetben egy, a +x tengely irányában haladó monokromatikus sikhullám egyenlete

$$\underline{U}(\vec{r},t) = U_0 \exp[i\langle \vec{k}, \vec{r}\rangle] \exp[-i\omega' t], \qquad /II.7/$$

ahol

$$\vec{k} = \frac{2\pi}{\lambda}\vec{n} = \frac{2\pi}{\lambda}(\cos\alpha, \cos\beta, \cos\gamma),$$

és $\cos\alpha, \cos\beta, \cos\gamma$ a sikhullám normális egységvektorának a komponensei. A komplex amplitudó alakja ennek megfelelően

$$U(\vec{r}) = U_0 \exp[\ \langle \vec{k}, \vec{r}\rangle], \qquad /II.8/$$

illetve a $\vec{k} = (2\pi/\lambda\cos\alpha, 2\pi/\lambda\cos\beta, 2\pi/\lambda\cos\gamma) = (\omega_x, \omega_y, \omega_z)$ jelöléssel /$\omega_x, \omega_y, \omega_z$ a megfelelő tér körfrekvencia komponensek/, az

$$U(\vec{r}) = U_0 \exp[i\langle \vec{\omega}, \vec{r}\rangle] \qquad /II.9/$$

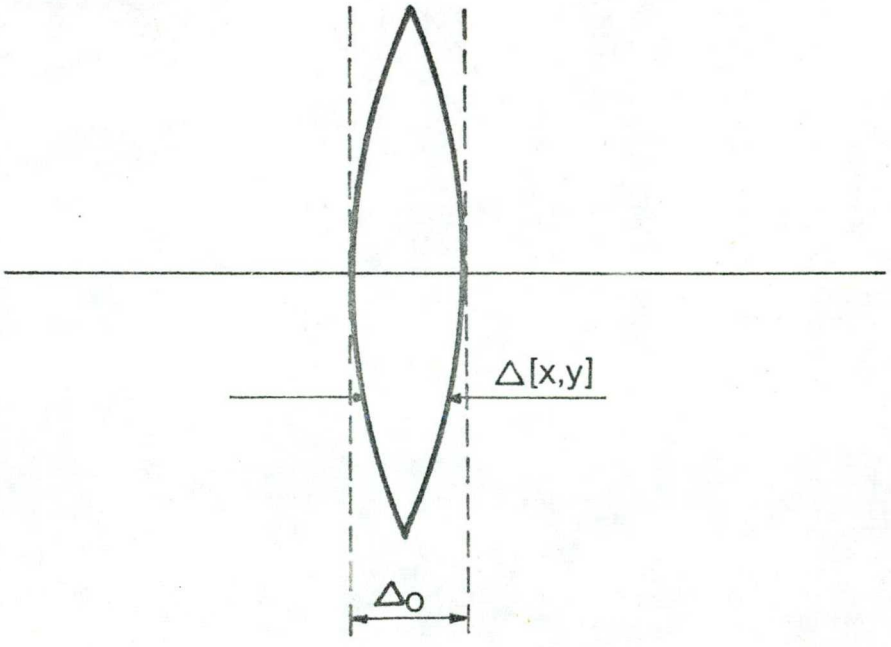
alakba irható. Látható, hogy ez valóban a /II.5/-ben szereplő exponenciálisoknak megfelelő alak; a továbbiakban

mindvégig az /I.1/ és /I.3/ illetve a /II.2/ által megszabott jelölésmódot fogjuk használni.

II.2. Az optikai lencse mint fázistranszformáló elem

Az alábbiakban az optikai lencséknek a beeső fényhullámra gyakorolt hatását vizsgáljuk meg arra a feltevésre támaszkodva, hogy a lencse belépő síkjának $P(x_o, y_o)$ pontjába eső sugár a kilépő síkot gyakorlatilag ugyanazon koordinátáju $P'(x_o, y_o)$ pontban hagyja el. Ebben az esetben viszont a lencsét ugy kezelhetjük, mint egy, a saját fősikjában elhelyezett fázislemezt, amelynek hatására a beeső hullámfront a lencse geometriai tulajdonságai által meghatározott mértékü fázistolást szenved.

Legyen ezek után a lencse maximális vastagsága Δ_o, mig az (x,y) koordinátáju helyen $\Delta(x,y)$ /II.1. ábra/.



II.I. ábra. A vastagsági függvény meghatározása.

A teljes fázistolás a

$$\varphi(x,y) = nk\Delta(x,y) + k[\Delta_0 - \Delta(x,y)] \qquad /II.10/$$

alakba irható, ahol n a lencse anyagának törésmutatója, és $k = 2\pi/\lambda_0$ /λ_0 a levegőben mért hullámhosszat jelöli /. Ennek felhasználásával a lencsét reprezentáló transzformációs függvény / az abszorpció elhanyagolhatósága miatt / a következőképpen vehető fel /Ref.[7],[8]/

$$q(x,y) = \exp[ik\Delta_0]\exp[ik(n-1)\Delta(x,y)]. \qquad /II.11/$$

Paraxiális esetre szoritkozva és a $\Delta(..)$ vastagsági függvény explicit alakját /Ref.[7],[8]/ beirva /II.11/-be kapjuk a

$$q(x,y) = \exp[ikn\Delta_0]\exp[-\frac{i\pi}{\lambda f}(x^2+y^2)] \qquad /II.12/$$

formulát, ahol f a szokásos módon definiált fókusztávolságot jelenti. Ezzel a lencsét közvetlenül megelőző ill. követő sikokban fellépő komplex amplitudók kapcsolata igy alakul

$$U' = \exp[ikn\Delta_0]\exp[-\frac{i\pi}{\lambda f}(x^2+y^2)]U \qquad /II.13/$$

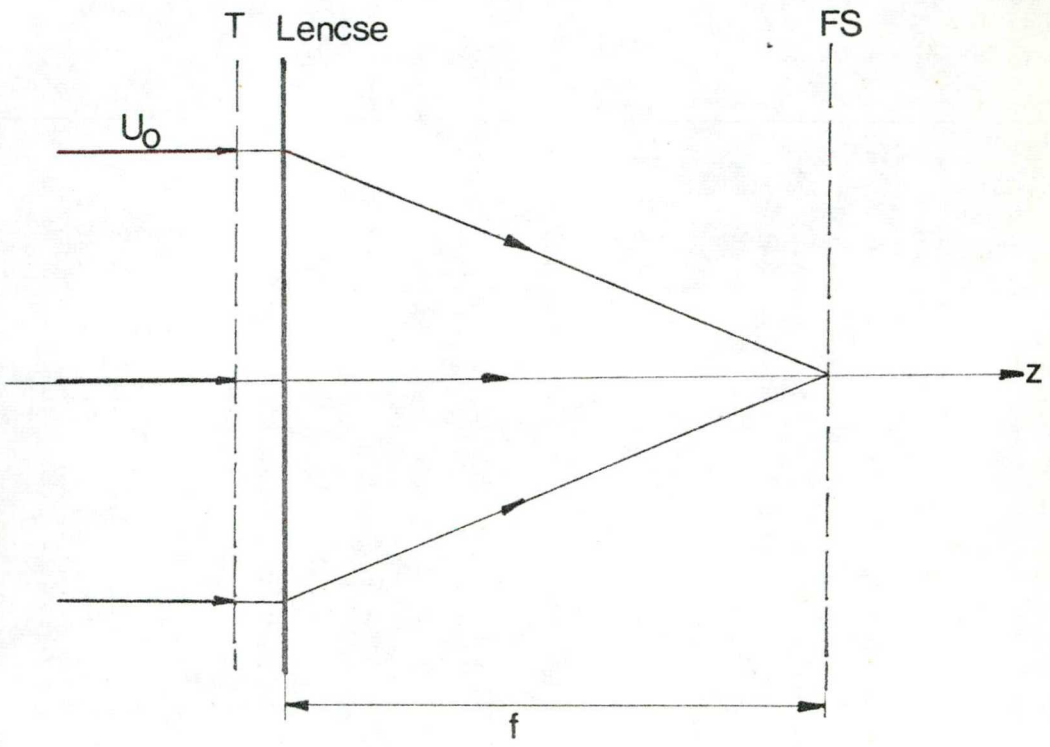
vagy, mivel egy, a koordinátáktól független fázistolás vizsgálataink szempontjából közömbös, /II.13/ az alábbi egyszerübb alakba irható

$$U' = \exp[-\frac{i\pi}{\lambda f}(x^2+y^2)]U. \qquad /II.14/$$

II.3. Fourier-transzformáció optikai lencsékkel

A továbbiakban a lencsék u.n. "Fourier-transzform" tulajdonságát származtatjuk arra az esetre /gyakorlatilag a ténylegesen használt elrendezésre /, amikor a kérdéses transz-

parenciát közvetlenül a lencse elé /mögé/ helyezzük.



II.2.ábra. Fourier-transzformáció optikai lencsével.

Tegyük fel,hogy a $t(x,y)$ amplitudó transzmittanciáju T /sik/ objektumot a pozitiv z tengely irányában haladó $U=U_0$-konst. amplitudóju monokromatikus sikhullámmal világitjuk meg. Ekkor a komplex amplitudó közvetlenül a lencse előtt

$$U=U_0\,t(x,y). \qquad /II.15/$$

Az apertura véges voltának figyelembevételére vezessük be a $P(x,y)$ függvényt /"pupilla-függvény"/ a következő-

képpen

$$P(x,y)=\begin{cases} 1 & \text{ha } (x,y)\in\Sigma \\ 0 & \text{ha } (x,y)\notin\Sigma \end{cases}$$

ahol Σ az aperturához tartozó pontok halmazát jelöli. A komplex amplitudóeloszlás közvetlenül a lencse mögött /II.18/ felhasználásával

$$U'(x,y)=U(x,y)P(x,y)\exp\left[-\frac{i\pi}{\lambda f}(x^2+y^2)\right], \qquad /II.16/$$

illetve

$$U'(x,y)=U_0\,t(x,y)P(x,y)\exp\left[-\frac{i\pi}{\lambda f}(x^2+y^2)\right]. \qquad /II.17/$$

A hátsó fókuszsikban fellépő komplex amplitudóeloszlás megadásához tekintsük a /Függelék I.-ben részletezett/ Fresnel-zónára vonatkozó approximációs integrált

$$W(x_f,y_f)=\left[\exp ikf\right]/i\lambda f\exp\left[\frac{i\pi}{\lambda f}(x_f^2+y_f^2)\right]\times \qquad /II.18/$$

$$\times\int_{-\infty}^{+\infty}\!\!\iint U'(x,y)\exp\left[\frac{i\pi}{\lambda f}(x^2+y^2)\right]\exp\left[-2\pi i\left(\frac{x_f}{\lambda f}x+\frac{y_f}{\lambda f}y\right)\right]dxdy,$$

ahol (x,y) ill. (x_f,y_f) a lencse fősikjában illetve a hátsó fókuszsikban felvett koordinátákat jelölik. Beirva az $U'(x,y)$ kifejezését /II.18/-be és a konstans fázistolást ismét figyelmen kivül hagyva kapjuk a

József Attila Tudományegyetem Könyvtár SZEGED

$$W(x_f,y_f)=\exp\left[\frac{i\pi}{\lambda f}(x_f^2+y_f^2)\right]\int_{-\infty}^{+\infty}\iint U(x,y)P(x,y)\exp\left[-2\pi i\left(\frac{x_f}{\lambda f}x+\frac{y_f}{\lambda f}y\right)\right]dxdy$$

formulát. Feltéve, hogy a transzparencia szóbajövő része kisebb, mint a lencse aperturája, valamint bevezetve az

$$\frac{x_f}{\lambda f}=f_x \quad , \quad \frac{y_f}{\lambda f}=f_y$$

jelölést /f_x, f_y a megfelelő térfrekvencia komponensek / nyerjük, hogy

$$W(x_f,y_f)=\exp\left[\frac{i\pi}{\lambda f}(x_f^2+y_f^2)\right]\int_{-\infty}^{+\infty}\iint U(x,y)\exp\left[-2\pi i(f_x x+f_y y)\right]dxdy\,.$$

Ebből $U(x,y)$ beirásával

$$W(x_f,y_f)=\exp\left[\frac{i\pi}{\lambda f}(x_f^2+y_f^2)\right]U_o\int_{-\infty}^{+\infty}\iint t(x,y)\exp\left[-2\pi i(f_x x+f_y y)\right]dxdy\,,$$

vagy

$$W(x_f,y_f)=U_o\exp\left[\frac{i\pi}{\lambda f}(x_f^2+y_f^2)\right]\mathcal{F}[t(x,y)]\,. \qquad /II.19/$$

Eszerint a Wiener-spektrum /S_W /

$$S_W=WW^*=U_o^2\,\mathcal{F}[t]\,\mathcal{F}^*[t]=U_o^2\left|\mathcal{F}[t]\right|^2, \qquad /II.20/$$

vagyis az intenzitáseloszlás a hátsó fókuszsikban a transzparencia Fourier-transzformáltja abszolut értékének négyzetével arányos.

Természetesen egyéb geometriai elrendezések is lehetségesek, ezek legfontosabbjairól a Függelék I.-ben ejtünk néhány szót.

Ezzel a dolgozathoz nélkülözhetetlen elméleti vonatkozások ismertetését befejeztük, és a következő részben rátérünk a tényleges kisérleti elrendezés vizsgálatára.

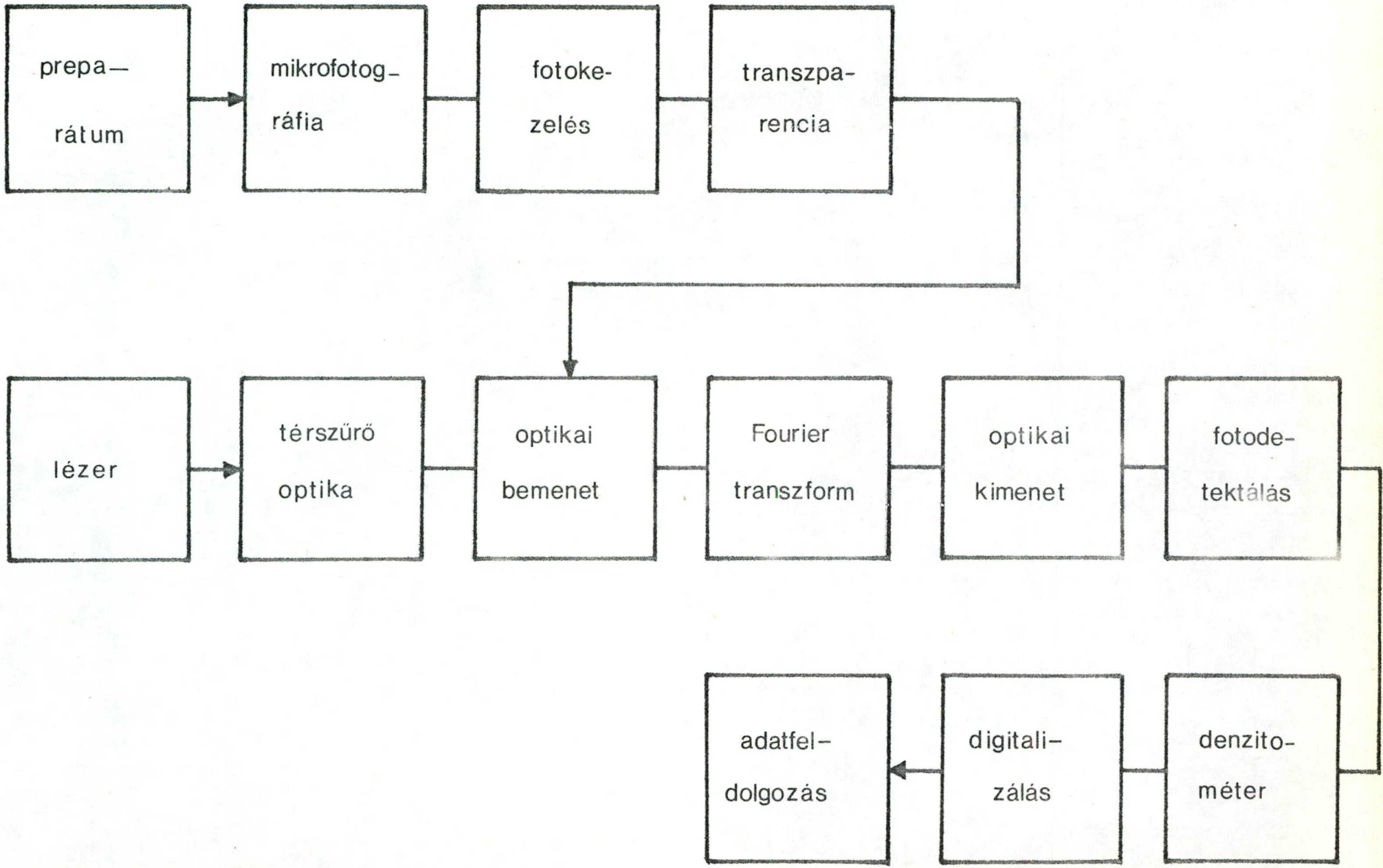
III. A KISÉRLETI ELRENDEZÉS ISMERTETÉSE

Dolgozatomnak ebben a fejezetében először a kitüzött feladat megoldásához használt rendszer elvi felépitését és gyakorlati megvalósitását ismertetem, majd az egyes elemeket funkcionális sorrendben tárgyalom, megvizsgálva azt a kérdést, hogy a fellép hibák milyen módon és mértékben befolyásolják az egész rendszer müködésének megbizhatóságát.

III.1. A rendszer leirása

III.1.1. Elvi felépités

A mérőrendszer funkcionális felépitését a III.1. ábrán látható blokkséma segitségével irhatjuk le a legegyszerübben. A vizsgálandó /egészséges és rákos/ sejteket tartalmazó, megfelelően előkészitett preparátumokat mikrofotográfiai uton rögzitettem. Ezután egy nagy kontrasztra standardizált hivási eljárással állitottam elő a kivánt tulajdonságokkal rendelkező transzparenciákat, amelyeket a rendszer optikai bemenetére vittem, és a fényforrásul használt He-Ne lézernek a térszürő egység által zajmentesitett és egyenletes intenzitáseloszlásuvá tágitott nyalábjával átvilágitottam. /Megjegyzendő, hogy itt az egyenletes intenzitáseloszlás alatt a transzformálandó objektum méreteiben való egyenletesség értendő l. Függ.II. és Ref.[7]/. A következő funkcionális egység a "Fourier-transzform" blokk, mely az optikai bemenetre vitt transzparencia által hordozott /sikbeli/ transzmittancia-minta Fourier-spektrumát állitja elő a rendszer optikai kimenetén. Az igy nyert spektrumokat



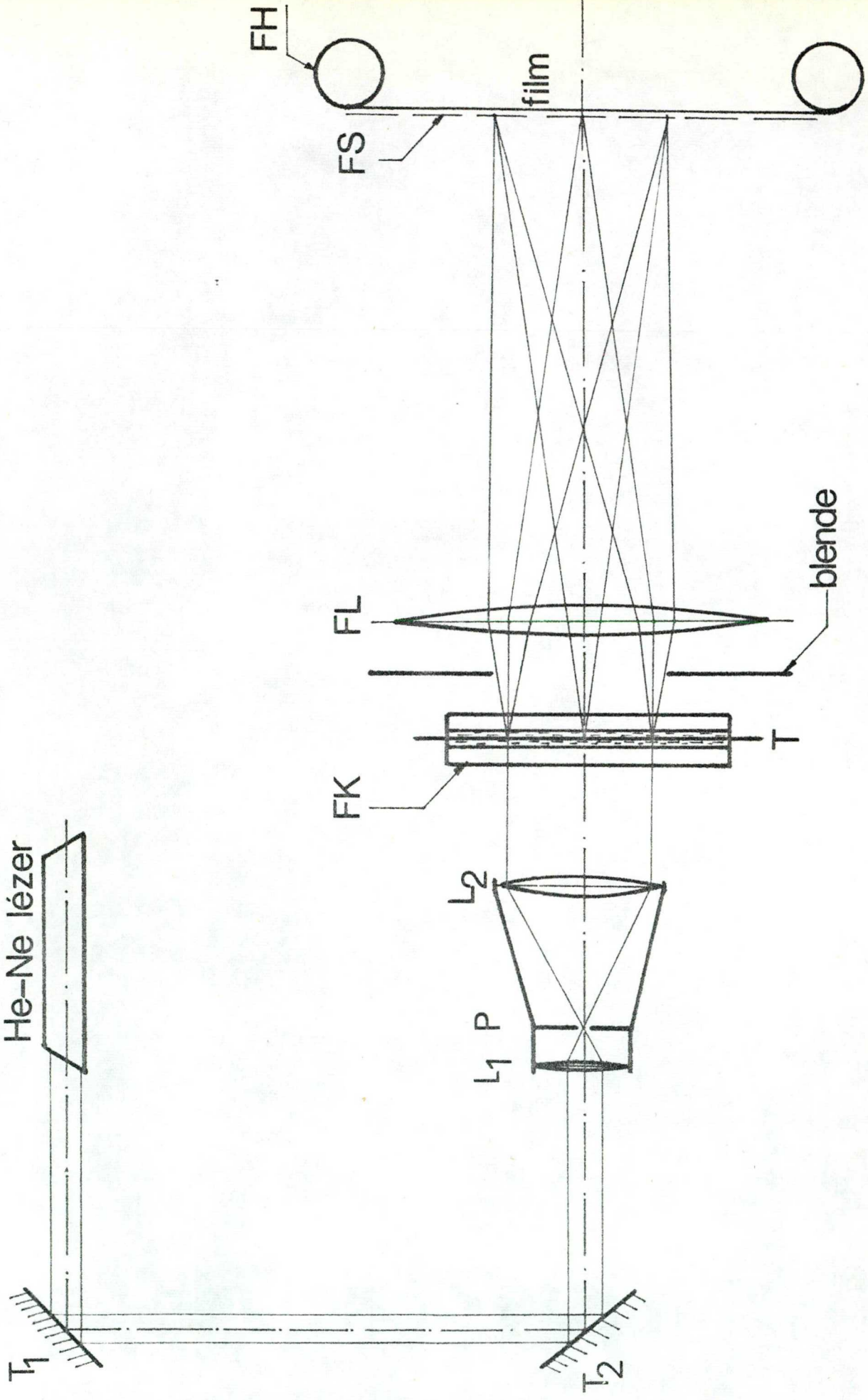
III.1.ábra. Elvi felépítés.

egy standardizált, kétlépcsős hivási eljárással tettem alkalmassá a mikrodenzitométerrel való kiértékelésre. A mérés eredményeit egyfelől a mikrodenzitométer saját galvanométere segitségével számszerü formában kaptam, másfelől egy, az alapmüszerhez csatlakoztatott kiirószerkezettel jelleggörbe formájában is felvettem. Az eredményeket egy programozható kalkulátor statisztikai programjainak segitségével dolgoztam fel.

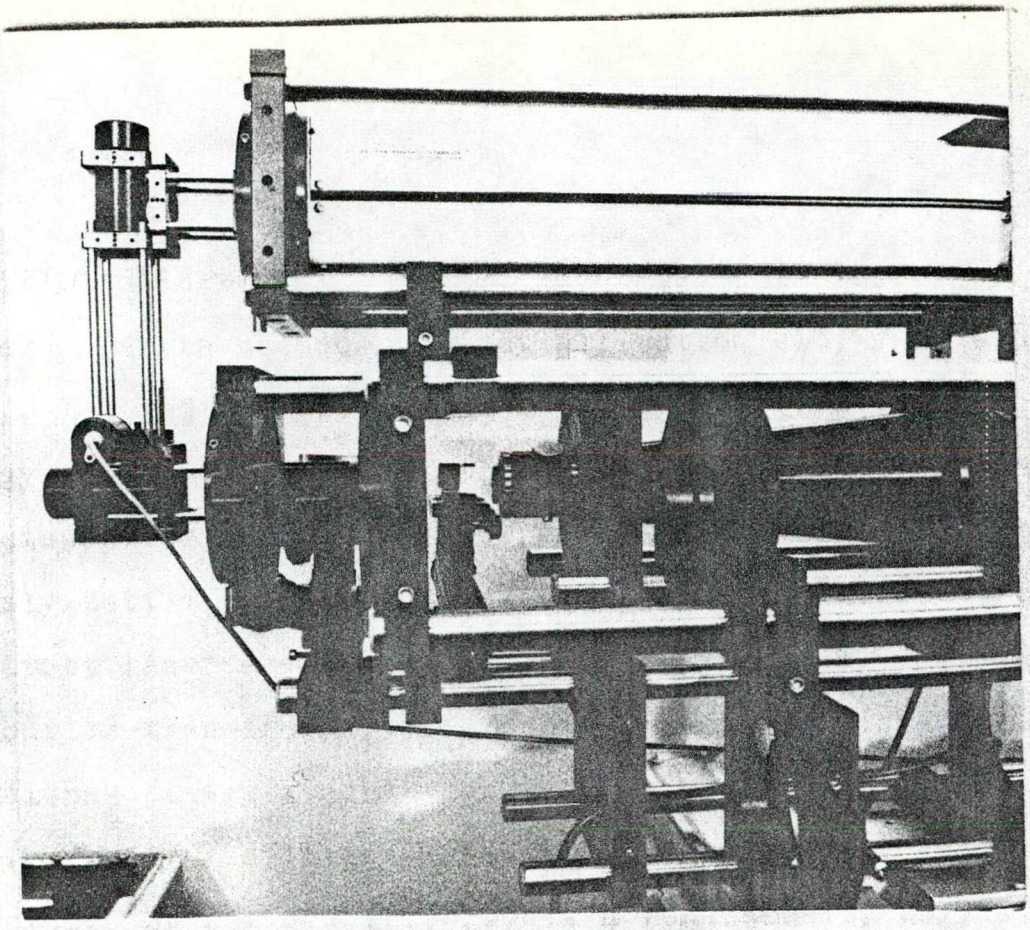
III. 1.2. Gyakorlati megvalósitás

Az alábbiakban a III.1.1.-ben megadott elvi sémának megfelelően felépitett mérési elrendezést ismertetem vázlatosan / részletes leirás és elemzés a III.2. fejezetben/. Az általam a spektrumok felvételére használt rendszer egy Spindler-Hoyer LFO II. 271001 tipusu optikai processzor első funkcionális egységének erre a célra kiegészitett változata, melynek felépitését a III.2. ábrán láthatjuk / lásd még a III.2.a. és III.2.b. ábrákat/.

Az egész optikai elrendezés egy, légtömlőkkel /p = 2.5 atm/ rezgésmentesitett tartószerkezetre van felépitve ugy, hogy az egyes optikai elemek krómacél egyenes bevezetésekkel illeszthetők egymáshoz. Az egyenes bevezetések által meghatározott sikok / III.2a. és III.2b. ábra / párhuzamossága, ill. elcsavarodási szöge a rendszer teljes hosszában /~ 2 m / kisebb mint 0.001°. Fényforrásul a rendszerbe épitett Spectra-Physics Mod. 120 tipusu He-Ne lézert használtam. A He-Ne lézer végablakán kilépő nyalábból a T_1, T_2



III.2.ábra. A mérőrendszer vázlata.



III.2a. ábra

III.2b.ábra

eltéritő tükrökkel egy, az eredetivel párhuzamos, de ellenkező irányba haladó nyalábot állitottam elő, mely ezután az L_1, L_2 gyüjtőlencsékből és a P pinhole-ból álló térszürő egységbe jut. Az innen kilépő tágitott, intenzitásban egyenletesebb és zajmentes lézernyaláb az FK folyadékkapuban elhelyezett T transzparenciát világitja meg. Az erről elhajlitott lézerfény az FL Fourier-lencsére esik, amely annak Fourier-transzformáltját /pontosabban a Fourier-transzformáltnak és egy kvadratikus fázistényezőnek a szorzatát, l. /II.23/ / állitja elő az FS Fourier-sikban. Az FH filmhordozó egység ugy illeszkedik a rendszerhez, hogy a spektrum felvételére szolgáló film sikja az FS Fourier-sikkal egybeessen.

A kapott spektrumokat egy közepes gamma-értékre beállitott kétlépcsős eljárással hivtam elő, és egy Zeiss MD 100 tipusu mikrodenzitométerrel értékeltem ki. Az eredményeket számszerü és grafikus formában egyaránt felvettem. Kiértékelésükhöz egy Hewlett-Packard 33 E tipusu programozható kalkulátor programjait használtam.

III.2. A funkcionális egységek vizsgálata

III.2.1. A preparátum előkészitése

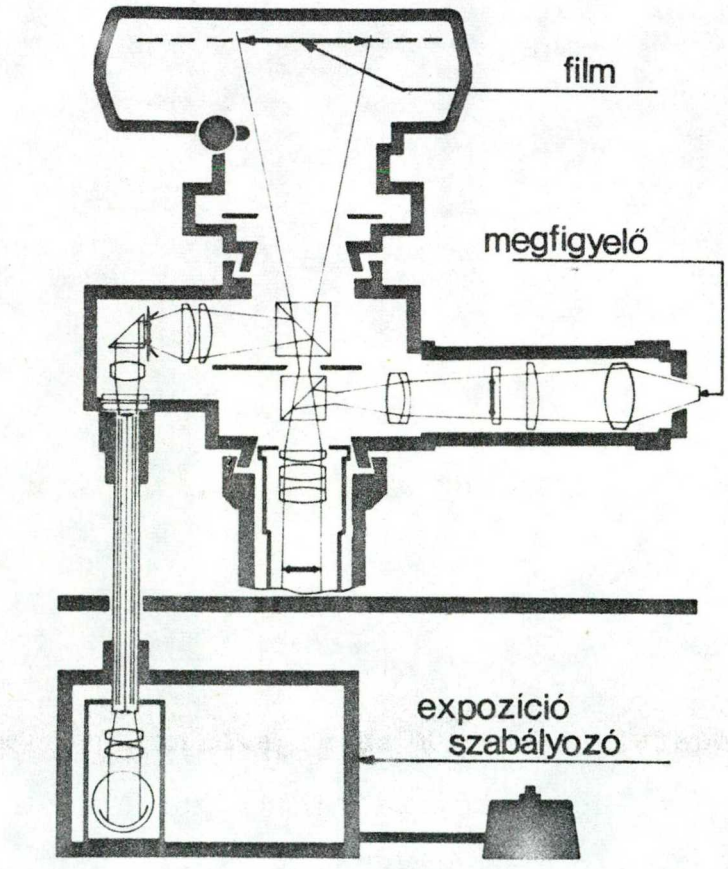
Az epitheális eredetü - egészséges és beteg személyektől származó - keneteket fixálás után / éter és 96%-os alkohol 1:1 arányu keveréke / Papanicolau szerint festettük.
A Papanicolau eljárásnak három festék-összetevője van:

/1/ Harris - haematoxylin
/2/ Orange-G /OG-6/ } kontrasztfestékek
/3/ Eosin - azur /EA-36/ }

A Harris-haematoxylin a sejtmagot festi meg. A mag-anyag, a kromatin, valamint a maghártya mélykékre ill. kékeslilára festődik. Az Orange-G a cytoplazmát festi meg - keratin tartalmától függően - sárgára vagy narancsvörösre. A másik kontraszt-festék az eosin, light-green és a Bismark-barna alkoholos oldatának keveréke. A fenti kontrasztfesték szintén a cytoplazmát festi, mégpedig annak acidophil ill. basophil tulajdonságától függően a piros és sárga közötti ill. zöldes-kék árnyalattal. Diagnosztikai szempontból alapvetően a P I.-II. ill. P IV.-V. osztályok elkülönitése szükséges. Az első két esetben hosszabb - rövidebb időn belül cytológiai ellenőrzést javasolnak, mig az utóbbi kettő esetében a cytológiailag pozitiv /rákos ill. rákgyanus/ lelet haladéktalan szövettani megerősitésére van szükség.

III.2.2. A mikrofotográfia

A III.2.1.-ben leirt módon előkészitett preparátumokról mikroszkópos felvételeket készitettem. Ehhez alapberendezésként egy Zeiss 30-G048a tipusu mikroszkóp mikrofotográfiai célra módositott változatát használtam. A mikroszkóp tubusához illesztett leképező rendszer elvi sémáját a III.3. ábrán láthatjuk.



III.3.ábra. A mikrofotográfiai leképező rendszer.

Mint az ábrából is kitünik, az objektiv által létrehozott képet a projektor-rendszer három különálló képpé bontja, melyek közül az egyik a megfigyelő látóterébe, a másik az expozíciószabályozó automatikába jut, mig a harmadik a film sikjára képződik le élesen. A mikroszkóp látó-

terének egyenletes megvilágitása érdekében a rendszert egy feszültségstabilizátorral egészitettem ki, amely a lámpafeszültséget állandó értéken tartotta. Ezen kivül a mikroszkóphoz / pontosabban a projektor egységhez / csatoltam egy Zeiss BA 2 tipusu félautomata expoziciószabályozó blokkot, melyet a megfelelő expozicios intervallum kiválasztásához és magához az expozicióhoz használtam.
A teljes / mikroszkóp + projektor / mikrofotográfiai rendszer leképezési arányszáma / M / 24 mm x 36 mm-es filmre nézve

$$M = N_{obj.} \cdot M_{prj.} \cdot \alpha \,, \qquad /III.2.1./$$

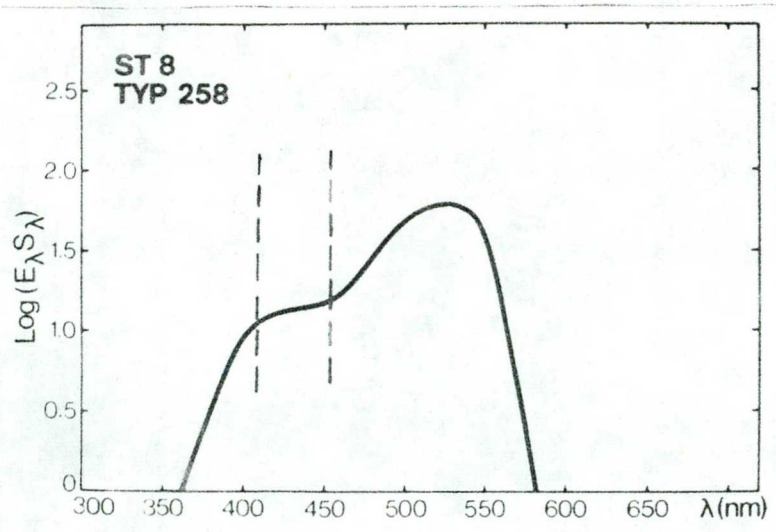
ahol $V_{obj.}$ az objektiv nagyitása, $M_{prj.}$ a projektor-rendszer leképezési arányszáma, α pedig a tubusfaktor. Mivel esetünkben $\alpha = 1$ volt, igy

$$M = N_{obj.} \cdot M_{prj.} \,.$$

A kisérletek során mindvégig az M = 50-es leképezési arányszámhoz tartozó összeállitást használtam. A mikroszkópos felvételek céljára az AGFA - GEVAERT ST8 TYP 258-as nagy kontraszt indexü / CI 1. alább/ negativ filmet választottam. / 1. részletesebben a III.2.3.-ban /. Minden egyes sejtről különböző expozicióKkal készitettem felvételeket a helyes expozicios munkapont beállitása érdekében.

III.2.3. Fotokezelés - transzparencia

Mivel a fotografikus nyersanyagok helyes megválasztása, és a megfelelő standard hivási eljárás beállitása a kisérletek szempontjából igen fontos, ezt részletesebben tárgyalom. Az előzetes mikroszkópos vizsgálatok tapasztalatai arra mutattak, hogy a citoplazma teljesitmény-átengedése néha nagyságrendekkel nagyobb lehet a sejtmagénál, ezért a kontrasztkülönbség megnövelése érdekében olyan filmet kellett keresnem, amelynek spektrális érzékenysége a kékeslilán festődő sejtmag tartományában még megfelelő, ugyanakkor kontraszt indexe elég magas ahhoz, hogy a gyengén festődő citoplazmát és a tiszta hátteret a negativon elnyomja. Céljaimnak a hazai viszonyok között megszerezhető negativ filmek közül az AGFA-GEVAERT ST8 TYP 258-as /röviden AG ST8/ nyersanyag felelt meg a legjobban. Az AG ST8 spektrális érzékenységi görbéjéből, amely a III.4. ábrán látható, könnyen leolvasható,



III.4.ábra. Az AG ST8 spektrális érzékenységi görbéje.

hogy az általam használt tartományban / szaggatott vonalak közötti sáv / a film érzékenysége még csaknem 60 %-a a csucsértéknek. Az a tény, hogy az érzékenység 580 nm körül erősen lecsökken, szintén elősegiti a kontraszt növelését, mivel a megfestett citoplazma szintartománya ezen kivül esik, mig a sejtmagé az ábrán megjelölt sávon belül helyezkedik el.

A film további fontos tulajdonságai a karakterisztikus görbéből származtathatók. Mint ismeretes, a karakterisztikus görbe /mely minden esetben egy tényleges mérést reprezentál/ az optikai denzitás / D / és az expozició logaritmusának /log E/ összefüggését adja meg. A denzitás és az expozició definiciói:

$$D = \log \frac{1}{\tau} , \qquad /III.2.2/$$

ahol τ az intenzitás transzmittancia.

$$E = J \cdot t , \qquad /III.2.3/$$

ahol J a megvilágitó fény intenzitása, t pedig a megvilágitás időtartama. Az expozició radiometriai egysége az erg/cm^2, mig a fototechnikában használatos egysége a lxs / a megfelelő átszámitási formulák a szakirodalomban megtalálhatók, Ref. [8],[9],[10]/. A karakterisztikus görbéből leolvasható két legfontosabb adat az emulzió gradiációja / γ / /nevezik kontraszt indexnek is /CI/, ill. a helyes expoziciós intervallum. Mivel jelen esetben az utóbbit a III.2.2.-ben emlitett expozició szabályozóval beállitottam, csak a γ meghatározását kellett elvégeznem. Ennek

ismeretére azért van szükség, mert az előhivott film komplex amplitudó transzmittanciája / $\underline{t}$ / az alábbiak szerint függ össze a filmet exponáló fény / jelen esetben inkoherens fény / intenzitáseloszlásával /$\mathcal{J}$/

$$\underline{t}_n = \text{konst.} \mathcal{J}^{-\gamma_n/2}, \qquad \text{/III.2.4/}$$

ill. pozitiv film esetén

$$\underline{t}_p = \text{konst.} \mathcal{J}^{\gamma_{n_1}\gamma_{n_2}/2} = \text{konst.} \mathcal{J}^{\gamma_p/2}, \qquad \text{/III.2.5/}$$

ahol $\gamma_{n_1}, \gamma_{n_2}$ a kétlépcsős eljárás gradiációi. Az AG ST8 karakterisztikus görbéjét egy AGFA-GEVAERT gyártmányu 1/20-os felbontásu reflexiós szürkeékkel vettem fel. Az ék reflexiós denzitása lépésenként 0.1-del változott és ennek megfelelően a próbacsikot érő expozició logaritmusa is 0.1-del változott, de ellenkező előjellel.

A próbacsikot az alábbi standardizált hivási eljárással dolgoztam fel:

előhivó: ORWO N113

hivási idő: 2 min / időmérés: Minolta Digit. Timer /

hivási hőfok: 25 $C^o \pm$ 0.5 C^o

hivási mód: tankhivás /Paterson /

keverés: 15 sec. -onként változó irányban

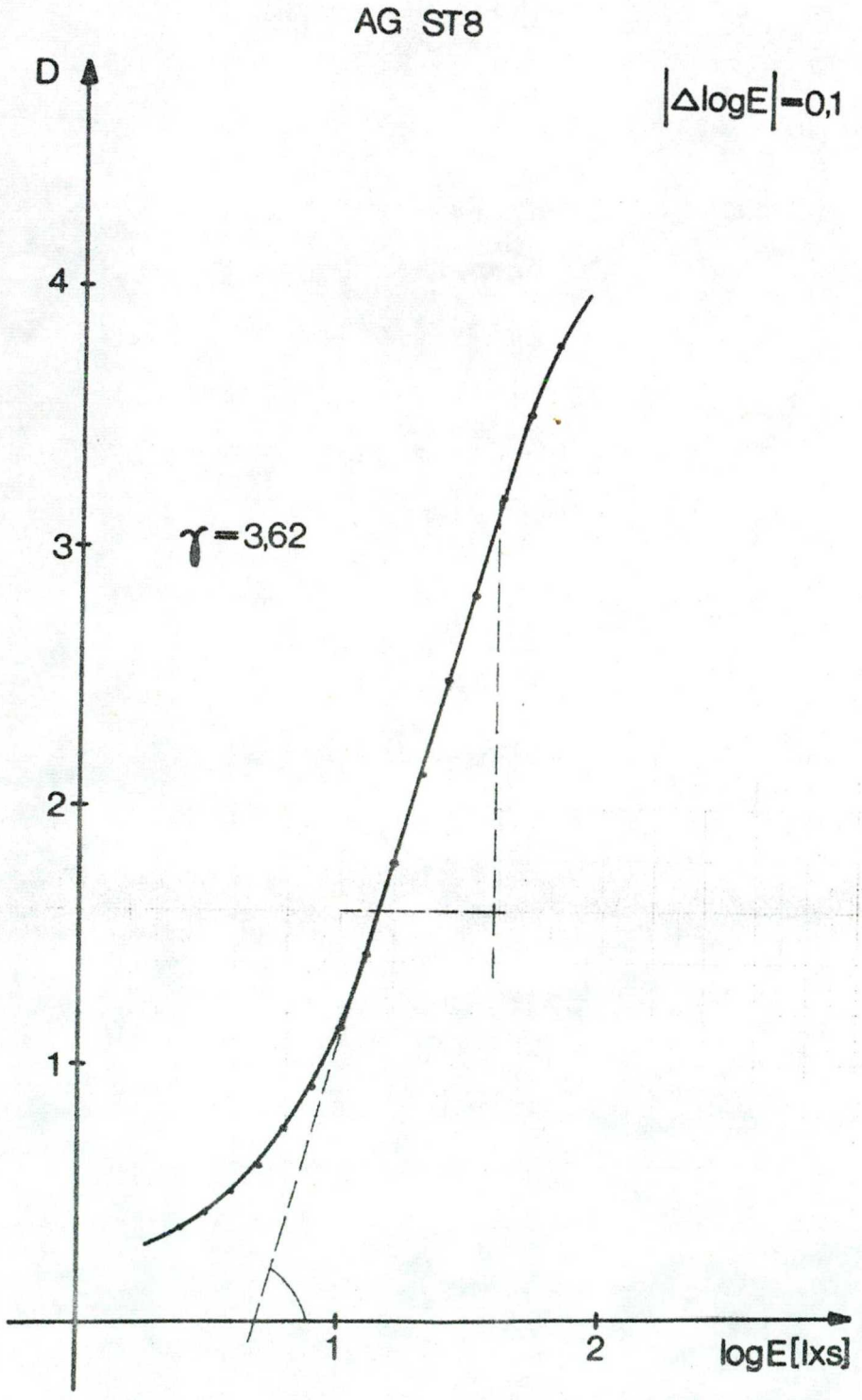
fixálási idő: 5 min

mosás: 5 min

Az igy előhivott próbacsikokat mikrodenzitométerrel /Zeiss MD 100. 1. később/ értékeltem ki. A müszert minden egyes

SZEGED

mérés előtt korrigáltam a mechanikus és elektromos nullapontra ill. a végállapotra nézve. A mérőrés nagysága mindvégig 1mmx20mm volt. A kapott mérési eredményeket grafikusan ábrázolva kaptam a keresett D=D(logE) karakterisztikus görbéket, melyek közül egyet a III.4. ábra mutat.



III.4.ábra. Az AG ST8 karakterisztikus görbéje.

Mint látható, a görbe lineáris szakasza rendkivül meredek, ami azt jelenti, hogy a film kontraszt indexe, ill. gradiációja igen magas

$$CI = \gamma = tg\,\varphi = 3{,}56.$$

/ Ez az érték természetesen erre a konkrét görbére vonatkozik/. Mivel a mikroszkópos felvételek elkészitéséhez ugyanazon felöntésből származó filmanyagot használtam, ezért az emulziót egy átlagos gradiációval jellemeztem, melyet a több ponton felvett karakterisztikus görbéből számitottam. Tiz ilyen méréssorozat várható értéke

$$M^{(\gamma)} = 3{,}57,$$

mig szórása

$$D^{(\gamma)} = 0{,}08$$

volt. Az ábrából leolvasható további előnyös tulajdonsága az alacsony alapfátyol szint, mely csökkenti a hasznos jelre szuperponálódó szórt lézerfényt.

III.2.4. A lézer

A kisérletek során fényforrás gyanánt az optikai rendszerrel / LFO II 271001 / egybeépitett, ~7 mW kimenő teljesitményü Spectra-Physics Mod 120 TEM_{oo} He-Ne lézert használtam. A kilépő nyaláb divergenciája 0,9 mrad, félszélessége 0,7 mm, közepes hullámhossza pedig $\bar{\lambda}$ = 632,8 nm. A végablakon kilépő sugárzás vizszintes sikban lineárisan poláros volt.

III.2.5. A térszűrő egység

Annak érdekében, hogy a transzformálandó objektumra közelitőleg egyenletes, zajmentes lézernyaláb essen, térszűrő alkalmazása szükséges. A térszűrő felépitésével és a szüréssel kapcsolatos fontosabb számitásokat illetően a Függ. II.-ben foglaltakra ill. a vonatkozó szakirodalomra utalok / Ref.[8],[9]/.
Itt csak az általam ténylegesen felhasznált, az LFO II 271001-es optikai Fourier-padba beépitett térszűrő teleszkóp tulajdonságait vizsgálom. Ennek paraméterei a következők:

belépési objektiv: $\phi_1 = 3$ mm
$f_1 = 6{,}2$ mm

kilépési objektiv: $\phi_2 = 78$ mm
$f_2 = 310$ mm

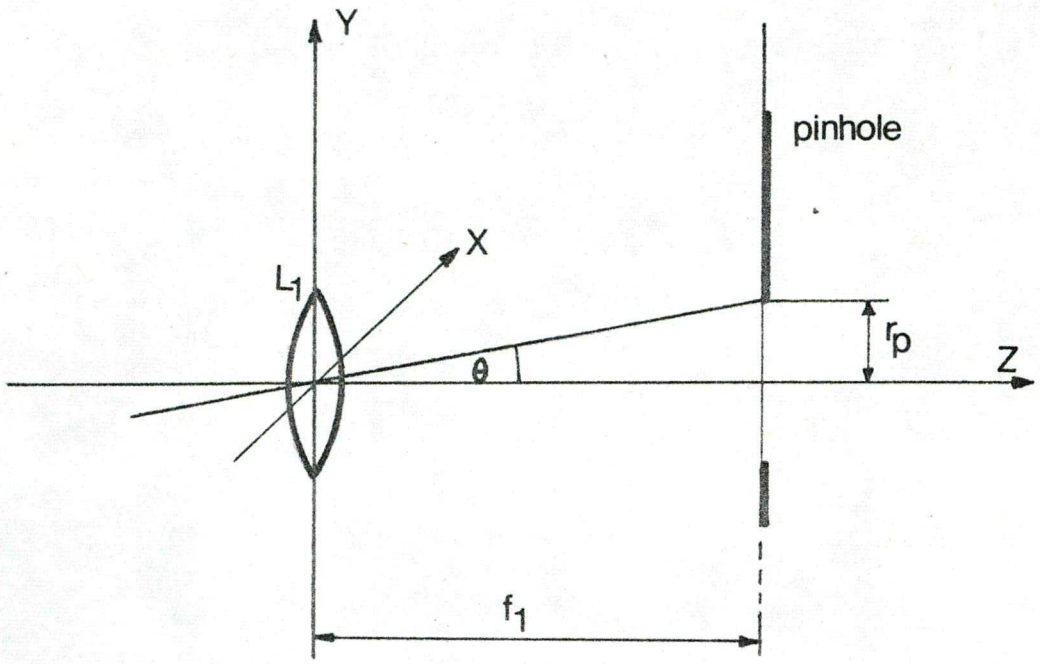
nyalábviszony: 50×

pinhole átmérő: $\phi_P = 10\mu$

hullámfrontdeformáció $< \lambda$

Ismeretes, hogy a különféle optikai elemeken lévő szennyeződéseken szóródó lézerfény koherens zajként szuperponálódik a hasznos jelre / részletesebben Függ. II.-ben /. Mivel a zajhoz a magasabb térfrekvenciák tartoznak, ezért célszerü a szürés minőségét a kiszürhető legalacsonyabb térfrekvencia komponenssel jellemezni. A III.6. ábra alapján, és a fenti adatokból számolva a $\Theta = \Theta_{min}$ jelöléssel

$$tg\Theta_{min} = \frac{r_P}{f_1} \quad \Rightarrow \quad \Theta_{min} = 0{,}05°$$



III.6.ábra. A térszürés geometriája.

igy

$$\nu_{min} = 1{,}4 \text{ vonal/mm} ,$$

ahol ν_{min} a minimális kiszürhető radiális térfrekvencia. Ha a szennyeződést okozó tárgy ϱ átmérőjü, akkor a fentiekkel

$$\varrho = 1{,}22 \frac{\lambda}{\sin\theta} \cong 0{,}8 \text{ mm} .$$

Ez azt jelenti, hogy legfeljebb a 0,8 mm-nél nagyobb átmérőjü szennyeződésekről szóródó fény juthat át a pinhole-on, ez viszont az optikai elemek tisztitása során könnyen eltávolitható. A kilépő nyaláb egyenletességével kapcsolatos probléma két részre bontható. Egyik magának a hullámfrontnak a deformációja: ez, mint fentebb láttuk, hullámhossz nagyságrendü. A másik az intenzitáseloszlás egyenletessége a hullámfront

mentén. Ennek alaposabb tárgyalása a Függ. II.-ben található: itt csak a végeredményt adom. Ezek szerint az általam használt rendszer paramétereit figyelembe véve a megvilágító nyaláb a transzparencia méreteiben /5mm x 5mm / 5%-on belül egyenletes. Ezután a térszürő beállitási pontatlanságaiból származó hibákat vizsgálom.

Ezek, mint a III.7a. és III.7b. ábrákból látható alapvetően két forrásból származnak:

1/ Az L_1 objektivre eső lézernyaláb a rendszer optikai tengelyével szöget zár be /III.7a. ábra /.

2/ Az L_1 objektivre eső lézernyaláb az optikai tengellyel párhuzamosan, de attól d távolságra halad /III.7b.ábra/.

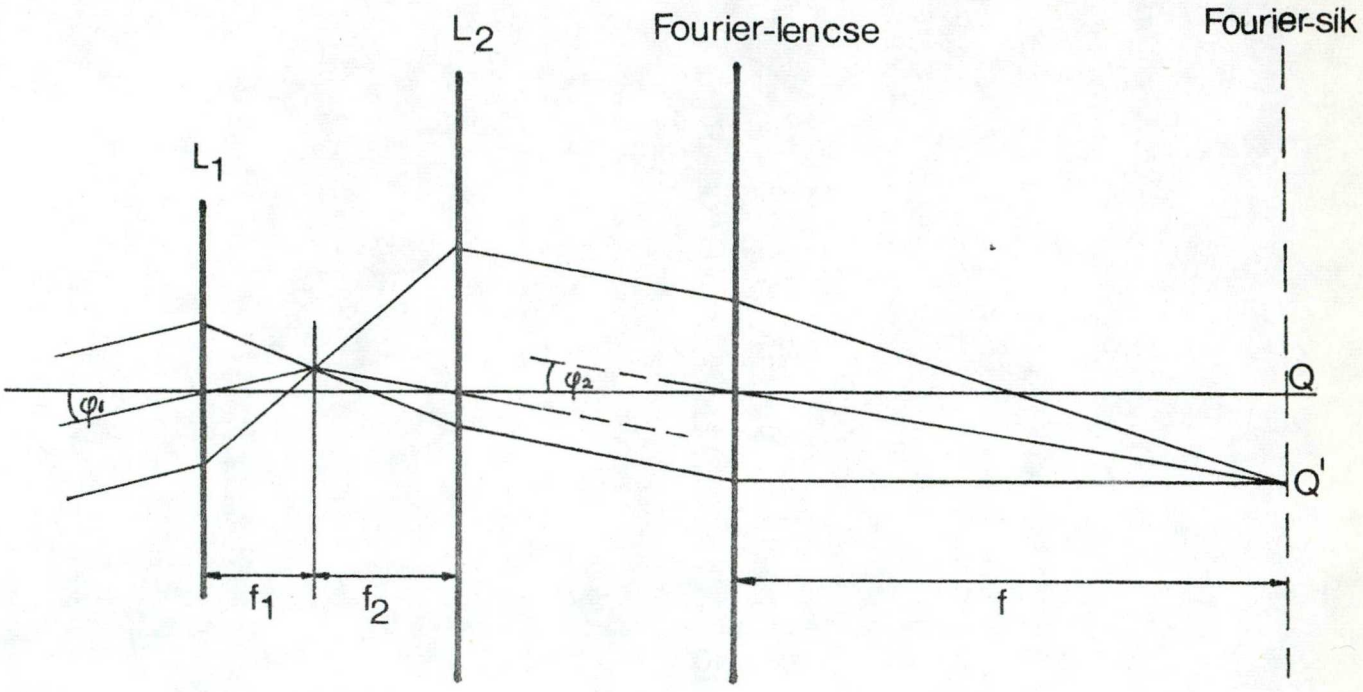
A fenti hibák eredménye, mint az ábrákból látható, mindkét esetben a spektrum eltolódása a Fourier-sikban. Az első esetben a III.7a. ábra alapján, figyelembe véve, hogy a lézernyaláb optikai tengelybe állitásának szöghibája méréseim szerint $0,01^{\circ}$, igy

$$\overline{QQ'} = f \cdot \frac{f_1}{f_2} \cdot \varphi_1 \simeq 7\mu . \qquad /III.2.6/$$

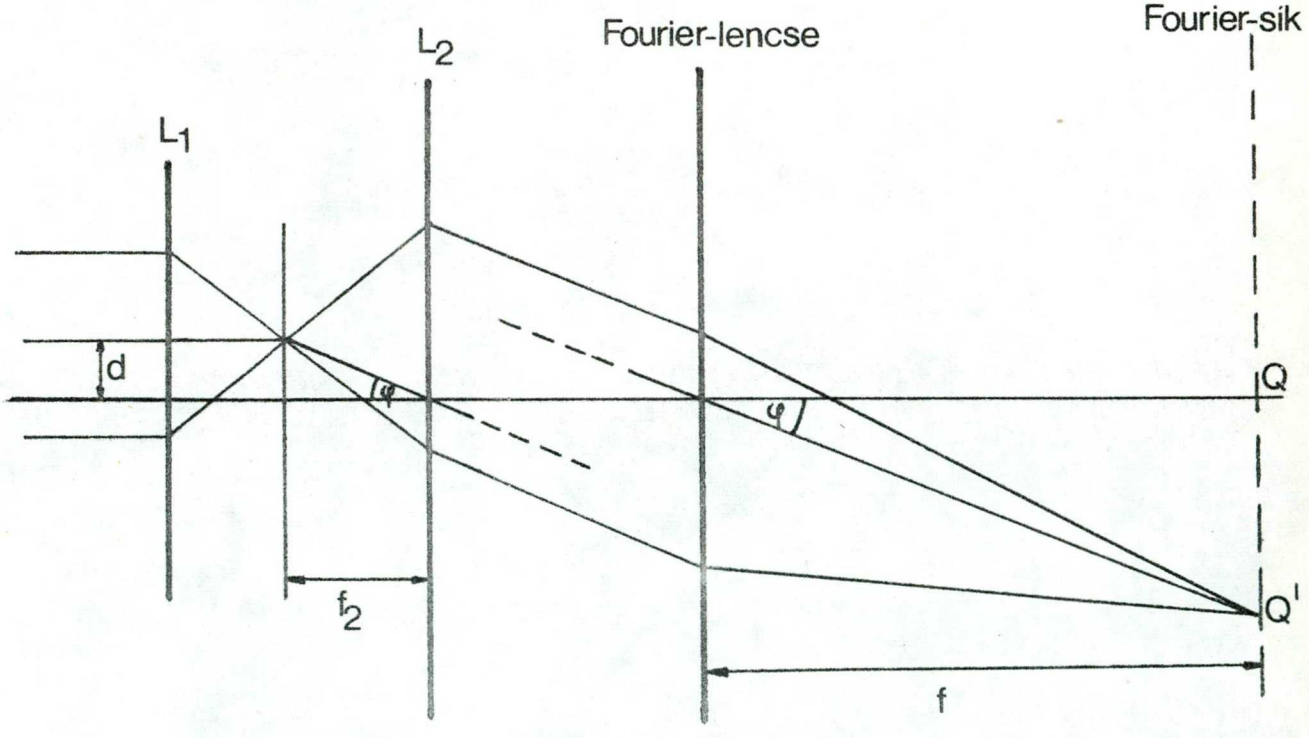
A második esetben a III.7b. ábrából

$$\overline{QQ'} = d \cdot f/f_2 .$$

Mivel a nyaláb félszélessége a pinhole sikjában 2μ, ezért egy 10μ átmérőjü pinhole esetében d legfeljebb 3μ lehet,



III.7a. ábra



III.7b. ábra

igy

$$\varrho = \varrho(\overline{QQ'}) \cong 10\mu. \qquad /III.2.7/$$

Mint a fenti eredményekből látható, a spektrum eltolódása a Fourier-sikban 0.01 mm nagyságrendü. Ez az általam használt fotografikus rögzités esetén teljesen figyelmen kivül hagyható.

III.2.6. Optikai bemenet

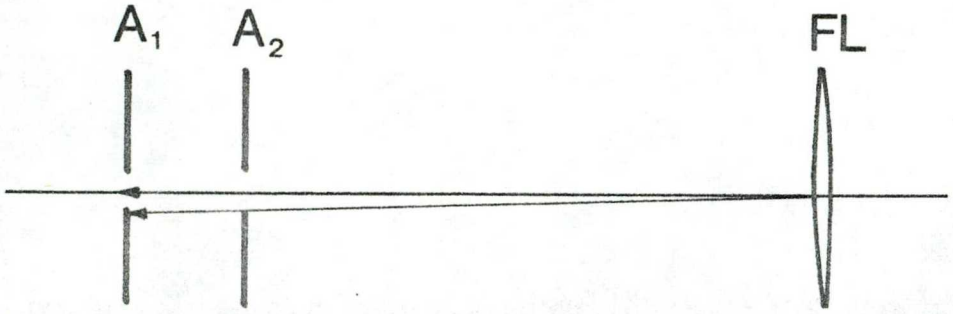
A transzformálandó transzparencián áthaladó sugarak között az emulzió és a hordozóanyag egyenetlenségei miatt nemkivánatos fáziskülönbségek léphetnek fel. Ennek hatását folyadékkapu alkalmazásával csökkentettem / Függ. III., ill. III.2., III.2a, III.2b. ábrák/. Kiegyenlitő folyadékként immerziós olajat használtam. Közvetlenül a folyadékkapu elé egy 5 mm x 5 mm méretü aperturát helyeztem el. A méret megválasztáskor az volt az alapvető szempont, hogy a tárgysikban egyidejüleg csak egy sejt legyen jelen. A folyadékkaput egy forgatható, léptető motorral összekapcsolt, mikrométercsavarokkal állitható tárgyasztalra szereltem fel, melynek segitségével a transzparencia elfordulásait a minimumra csökkentettem. Amint az az I.2.2.-ben bizonyitottak alapján várható, a spektrum a saját sikjabeli elmozdulásokra nem érzékeny.

III.2.7. A Fourier-transzform egység

A Fourier-transzformált optikai előállitásával kapcsolatos fontosabb kérdések tárgyalása a II.3. részben, ill. a Függ. I.-ben található. A kisérletekhez felhasznált / konvex és egy sik-konkáv lencséből összeállitott / Fourier-lencse paraméterei a következők:

fókusztávolság:	1185 mm
szabad átmérő:	78 mm
legnagyobb térfrekvencia:	46 vonal/mm

A Fourier-lencse tengelyének a rendszer optikai főtengelyébe való állitását a lencse első törőfelületéről visszavert /4%/ lézerfény segitségével végeztem el / III.8.ábra/



III.8.ábra. A Fourier-lencse tengelybe állitása.

ahol A_1 és A_2 a mérőblendéket jelöli. A blendék tengelybe állitásának pontossága 0,1 mm, átmérőjük 1,7 mm volt.
Az igy beállitott Fourier-lencse szöghibája/a lencse tengelye és az optikai rendszer főtengelye által bezárt szög/ 0,07° volt, ami azt jelenti, hogy a spektrum a Fourier-sikban

legfeljebb 1mm-el tolódhat el. Ez az eltolódás tekintetbe véve a kiértékelés fotografikus módját,figyelmen kivül hagyható. Ami magának a Fourier-transzformációnak a pontosságát illeti, próbarácsokon és pinhole-okon végzett mérések szerint a transzformáció relativ hibája 6%.

III.2.8. Optikai kimenet - fotokezelés

Mint a II. részben láttuk, a mérni kivánt Fourier-spektrumok a transzformáló lencse hátsó fókuszsikjában keletkeznek.Éppen ezért ennek a siknak a megfelelő beállitására gondot kell forditani.Erre a legegyszerübb, ugyanakkor kielégitő pontosságu eljárás a koherens szóráson alapuló "granulációs" módszer.
A beállitandó sikban / jelen esetben a film leendő sikjában / egy kis mattüveg lapot helyeztem el. Mivel a lézernyaláb átmérője a lencse mögött a fókuszsikban a legkisebb,ezért a mattüveg mögé helyezett megfigyelő ernyőn észlelhető granuláció a fókuszsikra nézve a legdurvább.
Ennek a gyors vizuális módszernek a segitségével elérhető beállitási pontosság $\pm$0,2 mm volt.Mivel az általam használt Fourier-lencse adataival számitható fókuszmélység/ a fókuszsikban mérhető intenzitásérték 20%-os csökkenésére vonatkoztatva / $\pm$0,27 mm volt,igy a fenti beállitási pontosság kielégitő.
A spektrumok felvételéhez az olcsó és könnyen beszerezhető, ugyanakkor minőségileg még megfelelő ORWO NP I5-ös/pánkromatikus/ negativ filmet használtam.Az emulzió gradiációját az általam beállitott hivási eljárásra a III.2.3.-ban leirtakkal teljesen analóg módon határoztam meg.

József Attila Tudományegyetem Könyvtára SZEGED

A hivási eljárás a következő volt:

előhivó: A-49

hivási idő: 10 min. /időmérés:Minolta D git. Timer/

hivási hőfok: 25 C^{o} 0,5 C^{o}

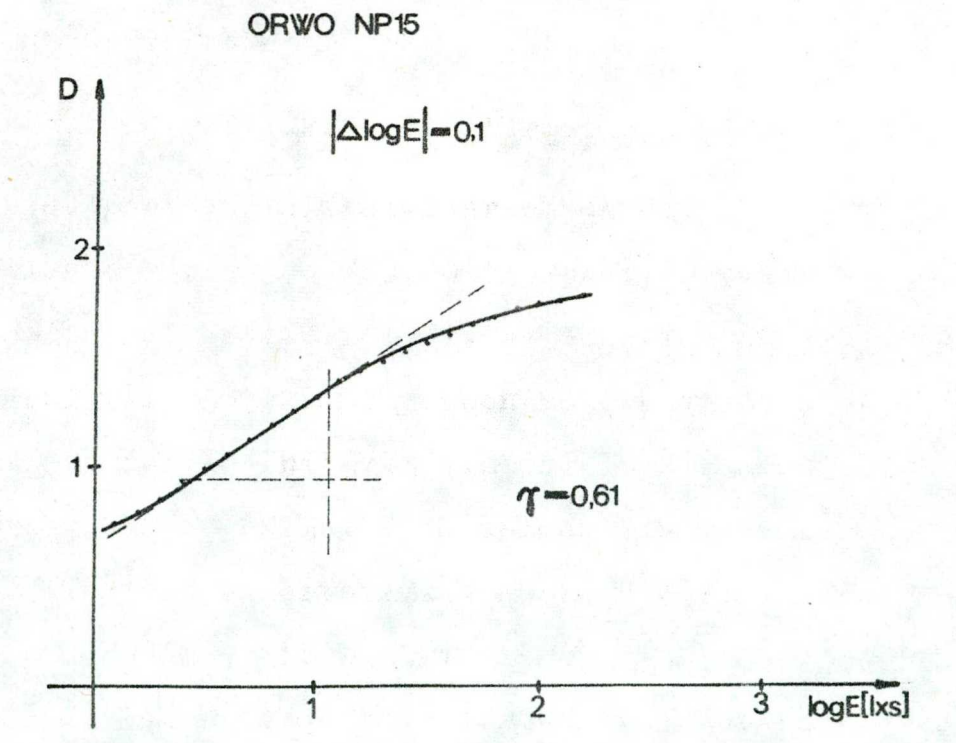
hivási mód: tankhivás /Paterson/

keverés: 15 másodpercenként, váltott irányban

fixálás: 10 min. /Paterson Tank System/

mosás: 10 min.

A kapott próbacsikokat denzitométerrel /Zeiss MD 100/ értékeltem ki, és az eredményeket itt is grafikusan ábrázoltam. Egy ilyen görbét a III.9. ábra mutat.



III.9.ábra. Az ORWO NP I5-ös karakterisztikus görbéje.

Tiz ilyen méréssorozat várható értéke

$$M^{(\gamma_{NP15})} = 0{,}6,$$

mig szórása

$$D^{(\gamma_{NP15})} = 0{,}1$$

volt. A végső spektrum-képeket előállitó kétlépcsős hivási eljárás együttes gradiációja /AGFA POS. Fine Grain 561-re/

$$\gamma_{n_1} \cdot \gamma_{n_2} = 1{,}02.$$

Mivel a filmet exponáló $\mathcal{J}$ intenzitáseloszlás

$$\mathcal{J} = k_1 \left| \mathcal{F}[t(x,y)] \right|^2,$$

ahol k_1 konstans, és $t(x,y)$ a tárgyfüggvényt jelöli.

Igy a denzitométeren mérhető intenzitáseloszlásra az

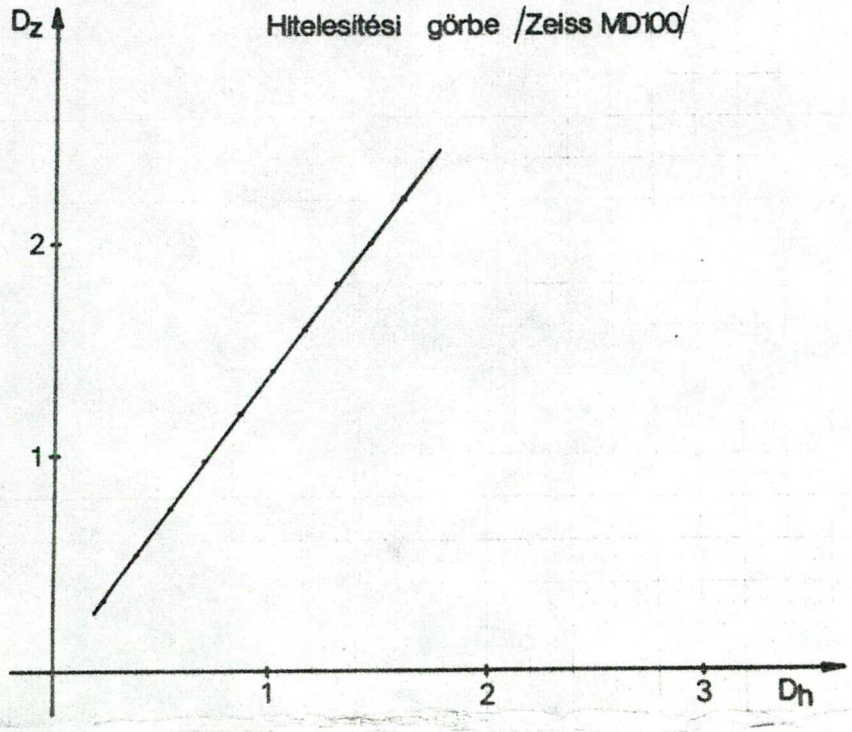
$$\mathcal{J}' = k_2 \mathcal{J}^{\gamma_{n_1} \cdot \gamma_{n_2}} = k_2 \cdot \mathcal{J}^{\Gamma} = k \cdot \left| \mathcal{F}[t(x,y)] \right|^{2\Gamma} \qquad /k = k_1 \cdot k_2/$$

összefüggés áll fenn.

III.2.9. A mikrodenzitométer

A III.2.8. pontban leirtak szerint előállitott spektrumfelvételeket egy Zeiss MD 100 tipusu transzmissziós mikrodenzitométerrel értékeltem ki. Az alábbiakban csak magát a müszert, ill. az eredményekben a berendezés pontatalanságai miatt fellépő hibákat vizsgálom, mig a mérési eljárást a következő /"Elméleti modell és kisérleti eredmények" cimü/ fejezetben ismertetem. A müszer hitelesitését egy / Gretag SM D300 digitális kijelzésü denzitométerhez szállitott / gyárilag hitelesitett, 1/20-os felbontásu transz-

missziós szürkeékkel végeztem el. A hitelesitési görbét a III.10. ábra mutatja



III.IO.ábra. A mikrodenzitométer hitelesitése.

ahol D_h a hitelesitett denzitás értékeket, D_z pedig a hitelesitendő müszer galvanométerén leolvasott denzitás értékeket jelöli. Amint az ábrából látható, az általam használt denzitométer a ténylegesnél 25%-kal nagyobb értéket mutat, de ez az eltérés a gyakorlatilag szóbajövő denzitás tartományon 1 %-on belül egyenletes. Mivel a spektrumok értékelésekor a müszert transzmissziós üzemmódban használtam, ezért a végpontok beállitási pontosságát és a mérési pontosságot erre adom meg.

Ezek szerint

$$\left|\Delta^{(\tau)}\right| < 0{,}5\%/30\,\text{min}\,, \qquad \left|\frac{\Delta\tau}{\tau}\right| \leq 1\%/30\,\text{min}\,,$$

ahol $\Delta^{(\tau)}$ a skála-végpontok eltolódása transzmissziós üzemmódban. Látható, hogy a mérés relativ hibája még több órás folyamatos üzem esetén is elegendően kicsi. A tárgyasztalon lévő minta tengely menti mozgatása mikrométer-csavarral történik/beállitási pontosság: ± 0,005 mm/, mig elforgatásuk ± 30°-os szögben, 1°-os felbontással lehetséges. A mikrométerrel beállitható, téglalap alaku mérőapertura legkisebb hasznos felülete 0,01 mm^2, mig a legnagyobb 40mm^2 volt. A mérőfény intenzitásának egyenletességét egy, a rendszerbe épitett feszültségstabilizátor biztositotta. A denzitométer erősitőjének kimenő jelével egy XY-regisztráló y irányu elmozdulását vezéreltem, mig az x irányu elmozdulást a mikrométer lépésközével szinkronizáltam.

IV. ELMÉLETI MODELL ÉS KISÉRLETI EREDMÉNYEK

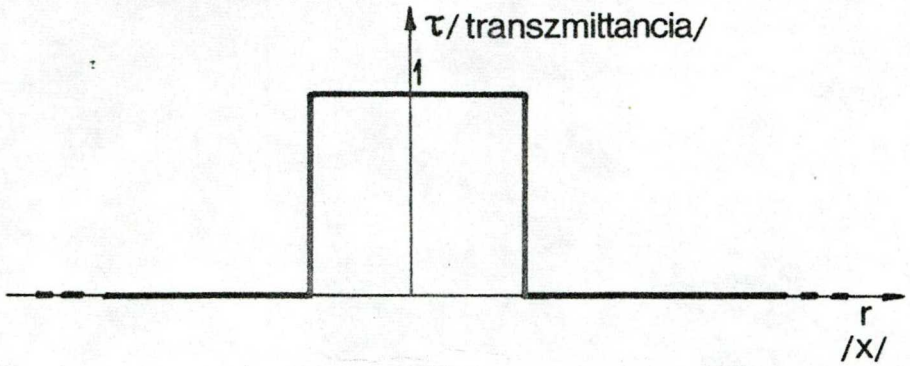
Dolgozatomnak ebben a részében először a transzformálandó mikroszkópos felvételek /sejtek/ átviteli függvényeiben fellépő torzulásoknak a Fourier-spektrumra gyakorolt hatását vizsgálom egyszerü modellkisérletek alapján, majd az igy nyert tapasztalatok felhasználásával egy sejtmodellen /transzmittancia-modellen/ végzett számitások segitségével a mérendő spektrumok néhány várható jellegzetességét tárgyalom. Végezetül az egészséges és rákos /ill.rákgyanus/ sejtek mért Fourier-spektrumainak összevetésével a Papanicolau-féle osztályokba való besorolásuk lehetőségét vizsgálom.

IV.1. Az átviteli függvény vizsgálata

IV.1.1. Modellkisérletek

Egy transzformálandó objektum Fourier-spektrumának minőségét elsősorban átviteli függvényének tulajdonságai határozzák meg /Ref. [5], [7]/. Nyilvánvaló, hogy egy fotografikus uton előállitott transzparencia esetében különféle szenzitometriai tényezők /peremeffektus, tulhivás, az alapfátyol nagysága, az emulzió szemcsézettsége, a gradiáció, stb. / hatása - különféle módon és mértékben - az átviteli tulajdonságoknak az ideálistól való eltérésében mutatkozik meg /Ref. [9], [35] /. Az alábbiakban néhány ezzel kapcsolatos tapasztalatot ismertetek. Modellként a pinhole-t választottam, lévén ez az egyik legegyszerübb, ugyanakkor a transzformálandó /általában kerek magvu/ sejtek képeit legjobban

megközelitő objektum. Mint ismeretes, egy ideális pinhole átviteli függvénye a következő:



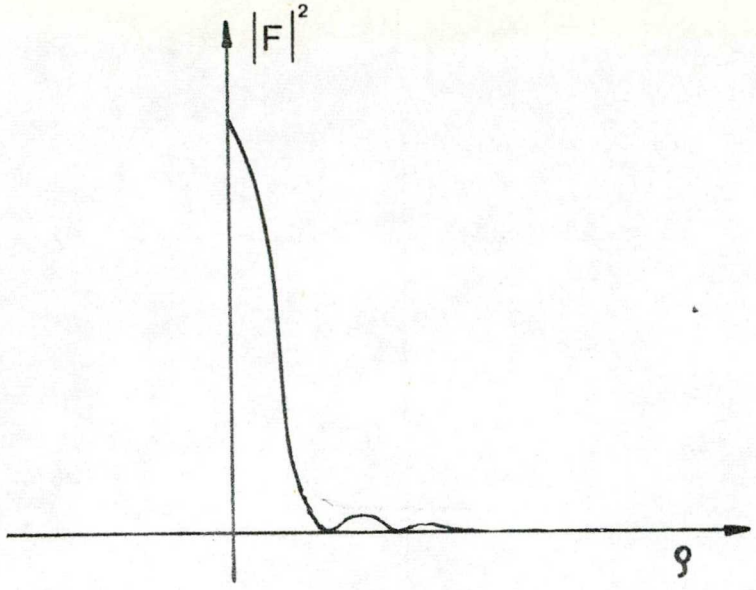
IV.1.ábra. Az ideális pinhole átviteli függvénye.

$$\mathrm{circ}(r/R) = \begin{cases} 1 \text{ ha } & r<R \\ 0 \text{ ha } & r>R \end{cases}$$

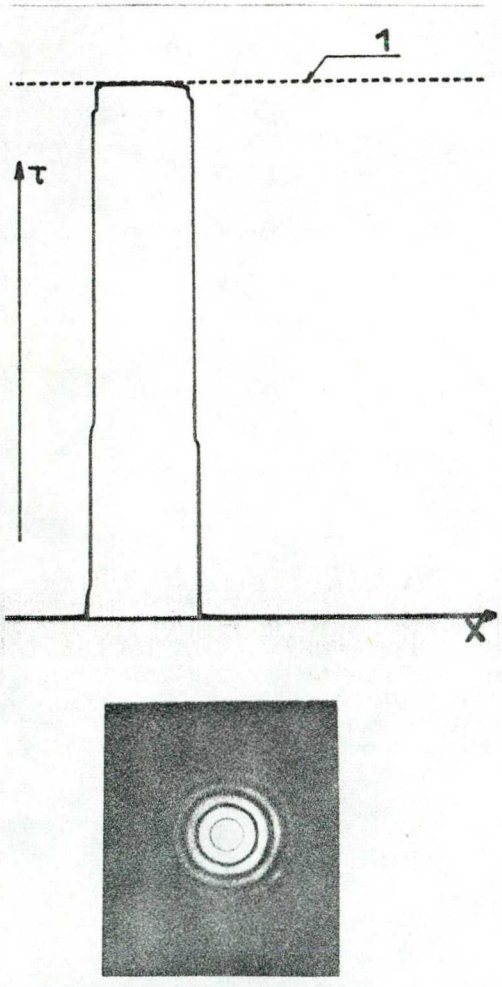
Ennek Fourier-spektruma /Ref. . . . . /

$$|F(\varrho)|^2 = 4P^2\left[\frac{J_1(2\pi\varrho R)}{(2\pi\varrho R)}\right]^2, \qquad /IV.1.1/$$

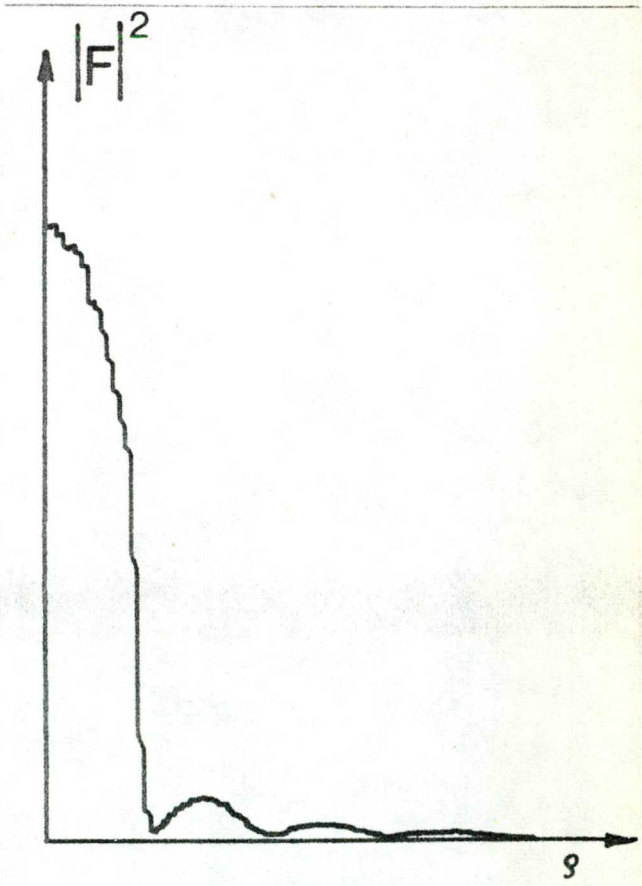
ahol P a pinhole területe, J_1 pedig az elsőfaju, elsőrendü Bessel-függvényt jelöli. A spektrum lefutása a IV.2.ábrán látható. Ezt az ideális esetet méréseimben egy vékony / 0,3 mm / mattfekete fémlemezbe furt pinhole reprezentálta, mely egyuttal vonatkoztatási alapul is szolgált. Mikrodenzitométerrel felvett átviteli függvényét, Fourier-spektrumát ill. ennek denzitogramját a IV.3a. és IV.3b. ábrák mutatják / a nullaszintet minden mérésnél a denzitométer erősitőjének nullapontja jelentette /. A denzitogramból látható, hogy a görbe minimumainak / az alapfátyoltól eltekintve zérusainak / távolságarányai a $[J_1(\xi)/(\xi)]^2$ függvénynek az irodalomból jól ismert távolságarányaival egyeznek meg / Ref. [3], [6], [7], [9]/ és ugyanez



IV.2.ábra. Az ideális pinhole spektruma.



IV.3a.ábra. Egy valódi pinhole átviteli függvénye és spektruma.



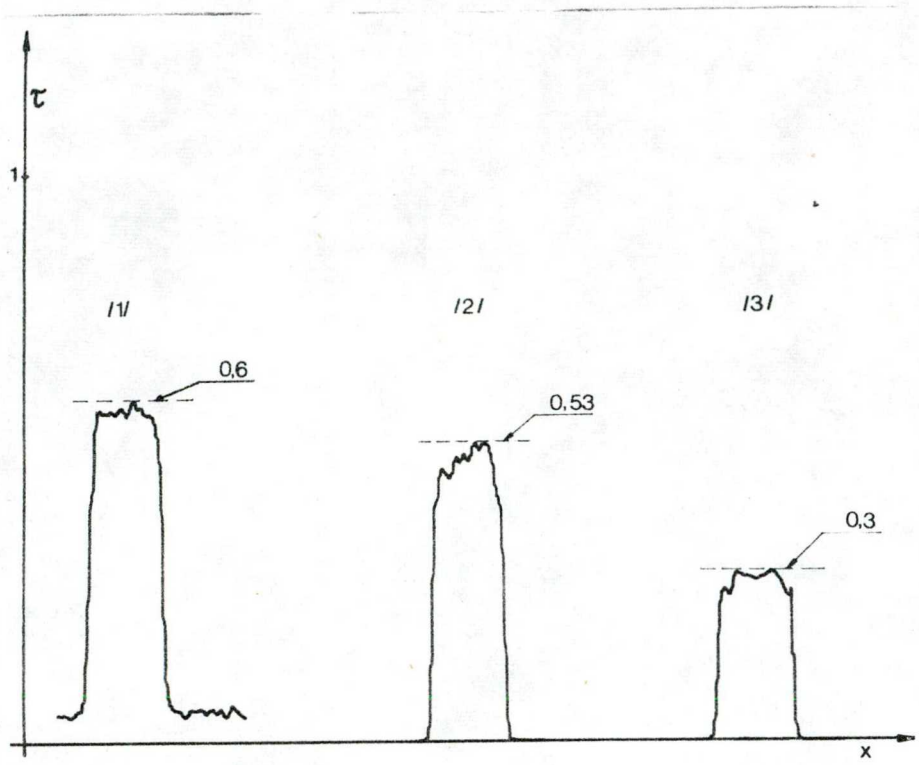
IV.3b.ábra. Egy valódi pinhole spektrumának denzitogramja.

elmondható a maximumok nagyságainak arányáról is /beleértve a hivás gradiációjának hatását/. Következő lépésként a mikroszkópos felvételekhez használt AG ST8-as negativra /Ref. [39], és III.2.3/ különböző expoziciók mellett fotopinhole-okat készitettem / melyek méreteiközelitőleg a sejtmagok átlagos méretével egyeznek meg/ és ezek átviteli függvényeit vettem fel mikrodenzitométerrel. Az előzőekhez képest négy ponton volt várható változás:

/1/ a kontraszt τ_{max}/τ_{min} csökkenése,
/2/ a felfutás meredekségének csökkenése,
/3/ a plató egyenletességének csökkenése,
/4/ az alap/zaj/szint nulláról való felemelkedése.

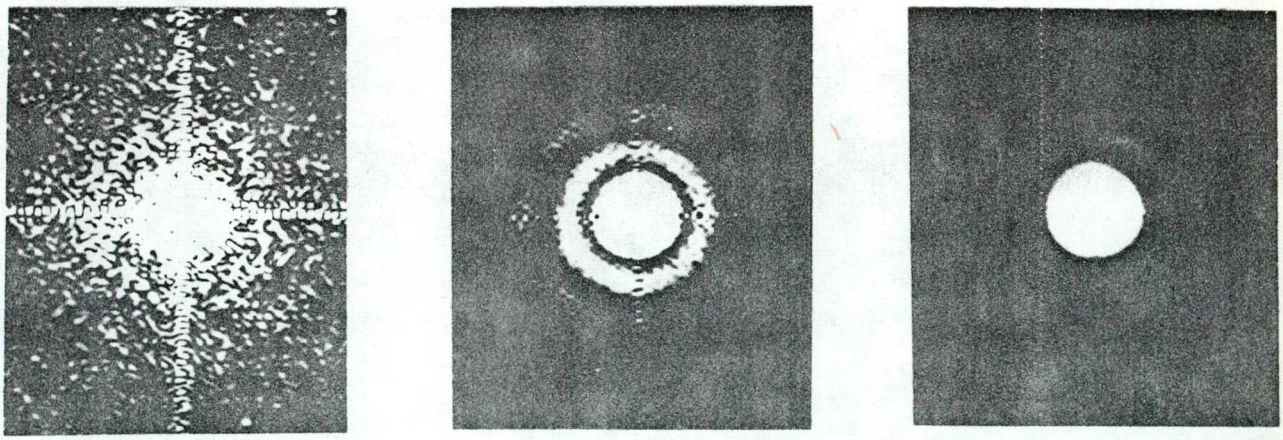
A cél a domináns hiba megkeresése, és ennek alapján a mikroszkópos felvételek esetleges fototechnikai javitási lehetőségeinek meghatározása volt. A IV.4a. és IV.4b. ábrák három különböző expozicióval készült fotopinhole átviteli függvényét és Fourier-spektrumát mutatják. Mint az ábrákból látható, a felfutás meredeksége gyakorlatilag egyik esetben sem változott, igy az ebből eredő hibákat a továbbiakban figyelmen kivül hagyom. Az első esetben a legjelentősebb változás az alapszintnek nulláról közel 6%-ra való felemelkedése; ehhez járul még a kontraszt és a plató egyenletességének csökkenése, mely utóbbi az előhivási csirák / Ref.[9],[35]/ megjelenésének tudható be.

Mivel a pinhole területe az apertura területének / 5mm x 5mm / mintegy 0,001-ed része, figyelembe véve a közelitőleg tizszeres transzmittancia-viszonyt is, a zavaró háttérjel még mindig



IV.4a. ábra. A fotopinhole-ok átviteli függvényei.

/1'/ /2'/ /3'/



IV.4 .ábra. A fotopinhole-ok Fourier-spektrumai.

két nagyságrenddel nagyobb a hasznos jelnél. Ennek következtében a megfelelő /1'/ spektrum értékelhetetlennek bizonyult. A második és harmadik esetben /a plató egyenletessége és az átengedett összteljesitmény csökkenése mellett / a legszembetünőbb változás a háttérszint gyakorlatilag nullára - pontosabban a mikrodenzitométer küszöbérzékenysége alá /mely ebben az esetben egy ezrelék volt / - való visszaesése. Ennek következménye a megfelelő /2'/ és /3'/ spektrumok jelentős minőségi javulása. Természetesen ezzel párhuzamosan az átengedett összteljesitmény csökkenése miatt a spektrumok megvilágitása is csökken.

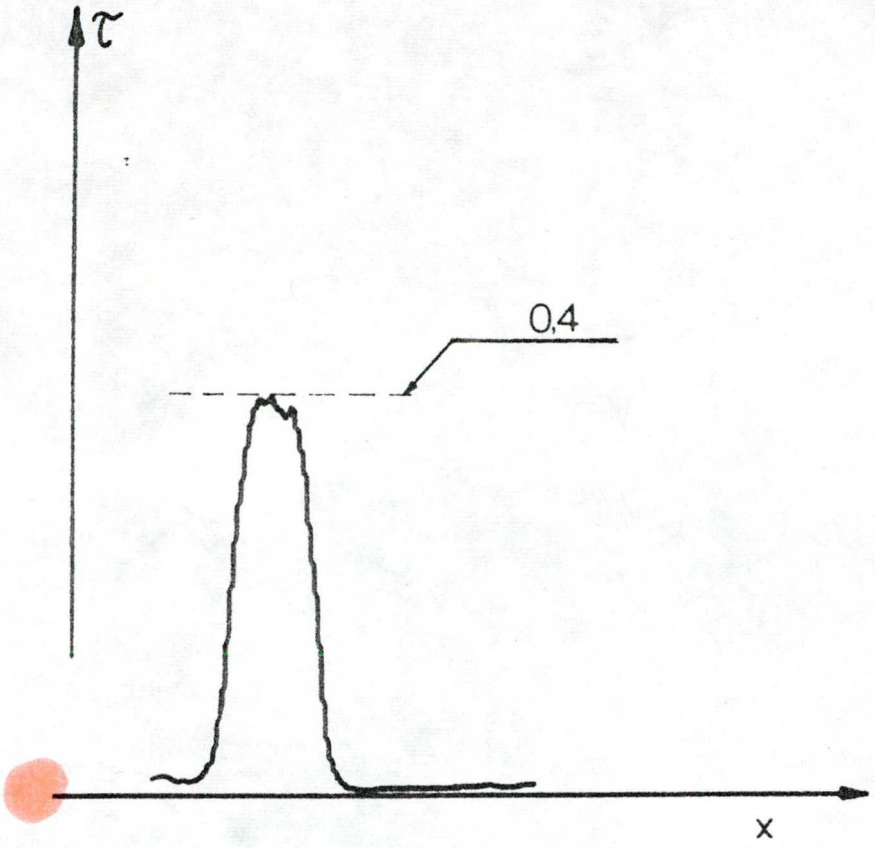
A fenti tapasztalatok azt mutatják, hogy az általam használt, és technikai szempontok / egyszerre egy sejt legyen csak az aperturán belül / alapján meghatározott geometriai viszonyok mellett, a domináns hibát nem az átviteli függvénynek az ideálistól való alaki eltérése, hanem a nem kellően elnyomott háttérzaj okozza, ezért elsősorban ennek kiküszöbölésére kell törekedni.

IV.1.2. A sejt átviteli függvényének vizsgálata

Az előző pontban foglaltak figyelembevételével tekintsünk most már egy tipikus /Papanicolau I.-II./ sejt átviteli függvényt / IV. 5.ábra/. Látható, hogy az átviteli függvény felfutásának meredeksége átlagosan 7%-al csökkent, és emellett a citoplazma transzmittancia-járuléka is jelentősnek igérkezik. Mikrodenzitométerrel végzett távolságmérések alapján

$R_M = 0,16$ mm $\qquad\qquad$ $R_C = 1,7$ mm

/P I-II./



IV.5 ábra. Egy P I.-II. osztálybeli sejt átviteli függvénye.

igy a területek viszonya

$$\frac{T_H}{T_C} \cong 0{,}0083 . \qquad /IV.2/$$

Figyelembe véve, hogy az átlagos transzmittancia-viszony a mag és a citoplazma között

$$\bar{q} = \frac{\tau_H}{\tau_C} \cong 46 \qquad /IV.3/$$

és felhasználva / IV.2 / -t, az átengedett teljesitmények viszonyára

$$\rho = \frac{W_{H\,dt}}{W_{C\,dt}} \cong 0{,}38$$

adódik. Mint a későbbiekben látni fogjuk /IV.2/, a spektrumokat leiró függvények az elhajlitó objektum /sejtmag ill. citoplazma / transzmittanciájának és területe négyzetének szorzatával arányosak. Ezért feltétlenül arra kellett törekednem, hogy a citoplazma két nagyságrenddel nagyobb területének a hatását a τ_M / τ_C viszony növelésével ellensulyozzam, ugyanis az előző pontban foglaltak és /IV.3/ figyelembevételével várható, hogy e nélkül a spektrumok kiértékelése nehézségekbe ütközne. A transzmittancia-viszony növelését a "kontakt-nyomtatás"-nak nevezett /Ref.[35] / eljárással próbáltam megvalósitani. Ezzel a módszerrel közelitőleg 50-szeres javulást lehetett elérni a τ_M / τ_C viszonyban, azaz

$$\frac{\tau_M^{(k)}}{\tau_C^{(k)}} \cong 2400,$$

ahol a (k) index a kontakt-nyomtatásra utal.

Ezzel a teljesitmények viszonyára

$$P^{(k)} = \frac{W_{Mát}^{(k)}}{W_{Cát}} \cong 20$$

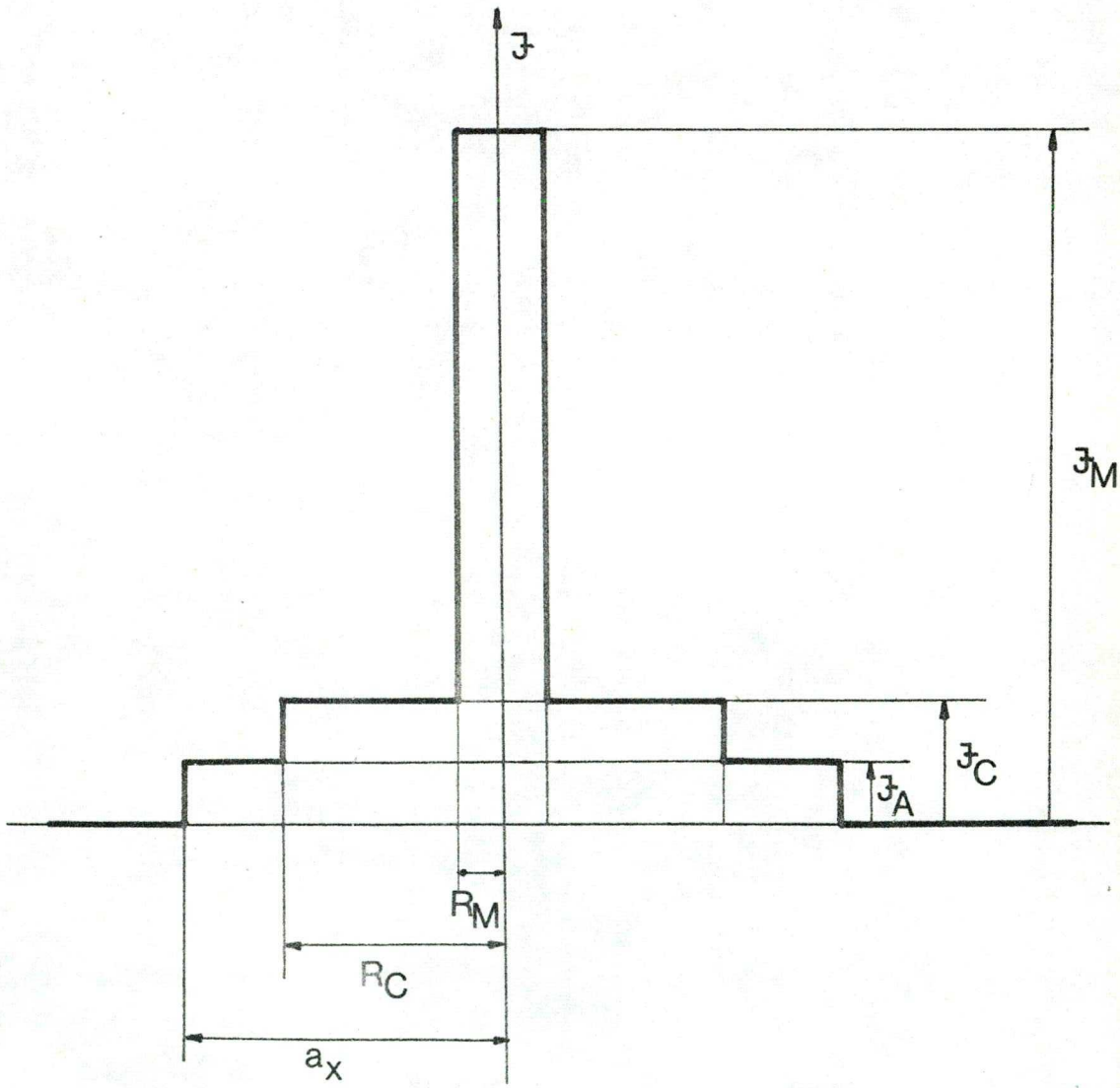
adódik. Látható tehát, hogy a citoplazma által átengedett teljesitmény a mag által átengedettnek 5%-a. Ilyen körülmények között remélhető, hogy mind a magról, mind a citoplazmáról származó összetevő egyaránt kielégitő módon mérhető lesz.

Jósef Attila Tudományegyetem Könyvtár SZEGED

IV.2. A sejtmodell

Az alábbiakban egy egyszerü modellen végzett számitások felhasználásával a sejt-spektrumok néhány várható jellegzetességét vizsgálom; alapul a sejt átviteli függvényeknek az előző pontban megállapitott tulajdonságai szolgálnak.

Tekintsük tehát az alábbi átviteli függvényt /IV.6. ábra/:



IV.6. ábra. A modell-sejt átviteli függvénye.

ahol R_M ill. R_C a sejtmag ill. a citoplazma sugara, mig a_x /a_y/ az apertura élhossza. Az J_M, J_C, J_A mennyiségek a transzparencián áthaladt /lézer/fény intenzitás értékei a magnak, a citoplazmának és az aperturának megfelelő helyen.

Ha a preparátumot megvilágitó fény intenzitása $J_o^{(pr)}$, akkor a megfelelő intenzitás értékek a preparátum után

$$J_M^{(pr)} = \tau_M \cdot J_o^{(pr)}$$

$$J_C^{(pr)} = \tau_C \cdot J_o^{(pr)}$$

$$J_A^{(pr)} = \tau_A \cdot J_o^{(pr)} ,$$

ahol τ_M , τ_C , ill. τ_A a mag, a citoplazma ill. az apertura intenzitás transzmittanciái a preparátumon. A fentiekkel az J_M, J_C, J_A mennyiségekre a következő összefüggéseket kapjuk

$$J_M = J_o \cdot (10^{D_o} \cdot t_{exp}^{-\gamma_n} \cdot [J_o^{(pr)}]^{-\gamma_n}) \cdot \tau_M^{-\gamma_n} = konst. \cdot \tau_M^{-\gamma_n}$$

$$J_C = J_o \cdot (10^{D_o} \cdot t_{exp}^{-\gamma_n} \cdot [J_o^{(pr)}]^{-\gamma_n}) \cdot \tau_C^{-\gamma_n} = konst. \cdot \tau_C^{-\gamma_n} \quad /IV.4/$$

$$J_A = J_o \cdot (10^{D_o} \cdot t_{exp}^{-\gamma_n} \cdot [J_o^{(pr)}]^{-\gamma_n}) \cdot \tau_A^{-\gamma_n} = konst. \cdot \tau_A^{-\gamma_n} ,$$

ahol t_{exp}, D_o és γ_n a használt expozicióra, előhivási eljárásra és a filmnyersanyagra jellemző állandók /l.III.2.3./, J_o pedig a transzparenciát megvilágitó lézerfény intenzitása.

Legyen továbbá

$$rect(x/X)=\begin{cases}1 & \text{ha } |x|\leq X/2\\ 0 & \text{ha } |x|>X/2\end{cases}$$

$$sinc(X)=\frac{\sin(\pi X)}{(\pi X)} \qquad /IV.5/$$

$$circ(r/R)=\begin{cases}1 & \text{ha } r\leq R\\ 0 & \text{ha } r>R\end{cases}.$$

A fenti jelölésekkel a IV.6. ábrának megfelelő transzparencia után az átengedett teljes amplitudó

$$W=W(r,\varphi)=[\tau_H^{1/2}-\tau_C^{1/2}]circ(\tfrac{r}{R_H})+[\tau_C^{1/2}-\tau_A^{1/2}]circ(\tfrac{r}{R_C})+$$

$$+\tau_A^{1/2}\cdot rect(\tfrac{r\cdot\cos\varphi}{a_x})\cdot rect(\tfrac{r\cdot\sin\varphi}{a_y}). \qquad /IV.6/$$

Ennek Fourier-transzformáltja

$$W(\rho,\nu)=\mathcal{F}[w(r,\varphi)]=[\tau_H^{1/2}-\tau_C^{1/2}]\cdot 2\pi R_H^2\cdot\frac{J_1(2\pi\rho R_H)}{(2\pi\rho R_H)}+$$

$$+[\tau_C^{1/2}-\tau_A^{1/2}]\cdot 2\pi R_C^2\cdot\frac{J_1(2\pi\rho R_C)}{(2\pi\rho R_C)}+\tau_A^{1/2}\cdot a_x a_y\cdot \qquad /IV.7/$$

$$\cdot sinc(a_x\cdot\rho\cos\nu)\cdot sinc(a_y\cdot\rho\cdot\sin\nu),$$

ahol ρ, ν a megfelelő polárkoordináták a Fourier-sikban. Ismeretes /Ref.[7],[9]/, hogy a harmadik tag járuléka csak az apertura éleire merőleges tengelyek mentén - ebben az esetben gyakorlatilag csak az első zérusig bezárólag - jön számitásba. Mivel azonban az ehhez tartozó térfrekvencia tartomány több mint egy nagyságrenddel kisebb a mérendő jel térfrekvencia tartományánál, ezzel a taggal a to-

vábbiakban nem számolok.

Igy az intenzitás

$$|W(\varrho,\nu)|^2 \cong |W(\varrho)|^2 = \left[[\mathcal{T}_H^{1/2} - \mathcal{T}_C^{1/2}] \cdot \pi R_H^2 \cdot \frac{J_1(2\pi\varrho R_H)}{(2\pi\varrho R_H)} + \right.$$

$$\left. + [\mathcal{T}_C^{1/2} - \mathcal{T}_A^{1/2}] \cdot \pi R_C^2 \cdot \frac{J_1(2\pi\varrho R_C)}{(2\pi\varrho R_C)} \right]^2 . \qquad /IV.8/$$

Bevezetve az

$$\mathcal{T}_H^{1/2} - \mathcal{T}_C^{1/2} = \delta_{HC}$$

$$\mathcal{T}_C^{1/2} - \mathcal{T}_A^{1/2} = \delta_{CA}$$

és a

$$\pi R_H^2 = T_H \quad , \quad \pi R_C^2 = T_C$$

jelöléseket, a /IV.8/ felhasználásával kapjuk, hogy

$$|W(\varrho)|^2 = 4 \cdot \left[\delta_{HC}^2 \cdot T_H^2 \cdot \left[\frac{J_1(2\pi\varrho R_H)}{(2\pi\varrho R_H)} \right]^2 + \delta_{CA}^2 \cdot T_C^2 \cdot \left[\frac{J_1(2\pi\varrho R_C)}{(2\pi\varrho R_C)} \right]^2 + \right. \qquad /IV.9/$$

$$\left. + 2\,\delta_{HC} \cdot \delta_{CA} \cdot T_H \cdot T_C \cdot \frac{J_1(2\pi\varrho R_H)}{(2\pi\varrho R_H)} \cdot \frac{J_1(2\pi\varrho R_C)}{(2\pi\varrho R_C)} \right] .$$

A kisérletek során ténylegesen a normált intenzitás értékeket mértem, azaz

$$|W(\varrho)|^2 / |W(0)|^2 = |2/W(0)|^2 \cdot \left[\delta_{HC}^2 \cdot T_H^2 \cdot \left[\frac{J_1(2\pi\varrho R_H)}{(2\pi\varrho R_H)} \right]^2 + \right.$$

$$\left. + \delta_{CA}^2 \cdot T_C^2 \cdot \left[\frac{J_1(2\pi\varrho R_C)}{(2\pi\varrho R_C)} \right]^2 + \right. \qquad /IV.10/$$

$$\left. + 2\,\delta_{HC} \cdot \delta_{CA} \cdot T_H \cdot T_C \cdot \frac{J_1(2\pi\varrho R_H)}{(2\pi\varrho R_H)} \cdot \frac{J_1(2\pi\varrho R_C)}{(2\pi\varrho R_C)} \right] ,$$

vagy bevezetve a

$$2\cdot\delta_{HCj}\cdot T_{Hj}/|W(0)| = p_{1j}$$

$$2\cdot\delta_{CAj}\cdot T_{Cj}/|W(0)| = p_{2j} \qquad j=1 \longleftrightarrow \text{P I.-II.}, \quad j=2 \longleftrightarrow \text{P IV.-V.}$$

$$8\cdot\delta_{HCj}\cdot\delta_{CAj}\cdot T_{Hj}\cdot T_{Cj}/|W(0)|^2 = p_{3j}$$

normáló tényezőket, nyerjük a

$$\left|\frac{W(\varrho)}{W(0)}\right|^2 = |W_n(\varrho)|^2 = p_{1j}^2\cdot\left[\frac{J_1(2\pi\varrho R_H)}{(2\pi\varrho R_H)}\right]^2 + p_{2j}^2\cdot\left[\frac{J_1(2\pi\varrho R_C)}{(2\pi\varrho R_C)}\right]^2 +$$

$$+ p_{3j}\left[\frac{J_1(2\pi\varrho R_H)}{(2\pi\varrho R_H)}\cdot\frac{J_1(2\pi\varrho R_C)}{(2\pi\varrho R_C)}\right]$$

formulát. Ha vonatkoztatási alapul a P I. -II. osztálybeli sejtek magjának átlagos sugarát vesszük, akkor bevezetve a

$$2\pi\varrho R_H^{(\text{P I.-II.})} = \xi$$

"transzformált" térfrekvenciát, a fenti formulából a P I.-II. osztálybeli sejtekre a

$$\left|\frac{W(\xi)}{W(0)}\right|^2 = |W_n(\xi)|^2 = p_{11}^2\cdot\left[\frac{J_1(\xi)}{(\xi)}\right]^2 + p_{21}^2\cdot\left[\frac{J_1(\alpha_1\xi)}{(\alpha_1\xi)}\right]^2 +$$

$$+ p_{31}\left[\frac{J_1(\xi)}{(\xi)}\cdot\frac{J_1(\alpha_1\xi)}{(\alpha_1\xi)}\right], \qquad \text{/IV.11a/}$$

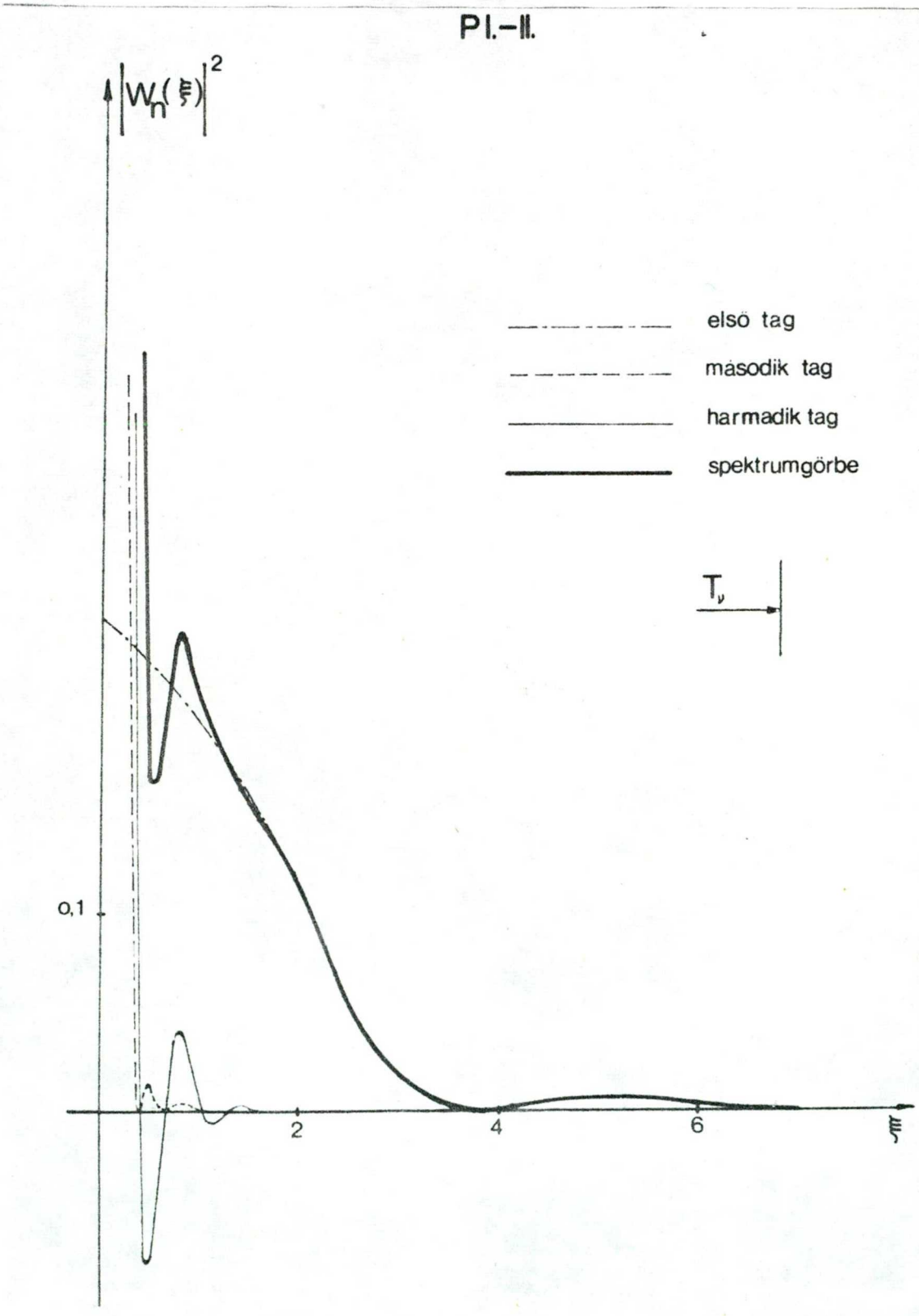
mig a P IV. - V. osztálybeliekre a

$$\left|\frac{W(\xi)}{W(0)}\right|^2 = |W_n(\xi)|^2 = p_{12}^2\cdot\left[\frac{J_1(\alpha_2\xi)}{(\alpha_2\xi)}\right]^2 + p_{22}^2\cdot\left[\frac{J_1(\alpha_3\xi)}{(\alpha_3\xi)}\right]^2 +$$

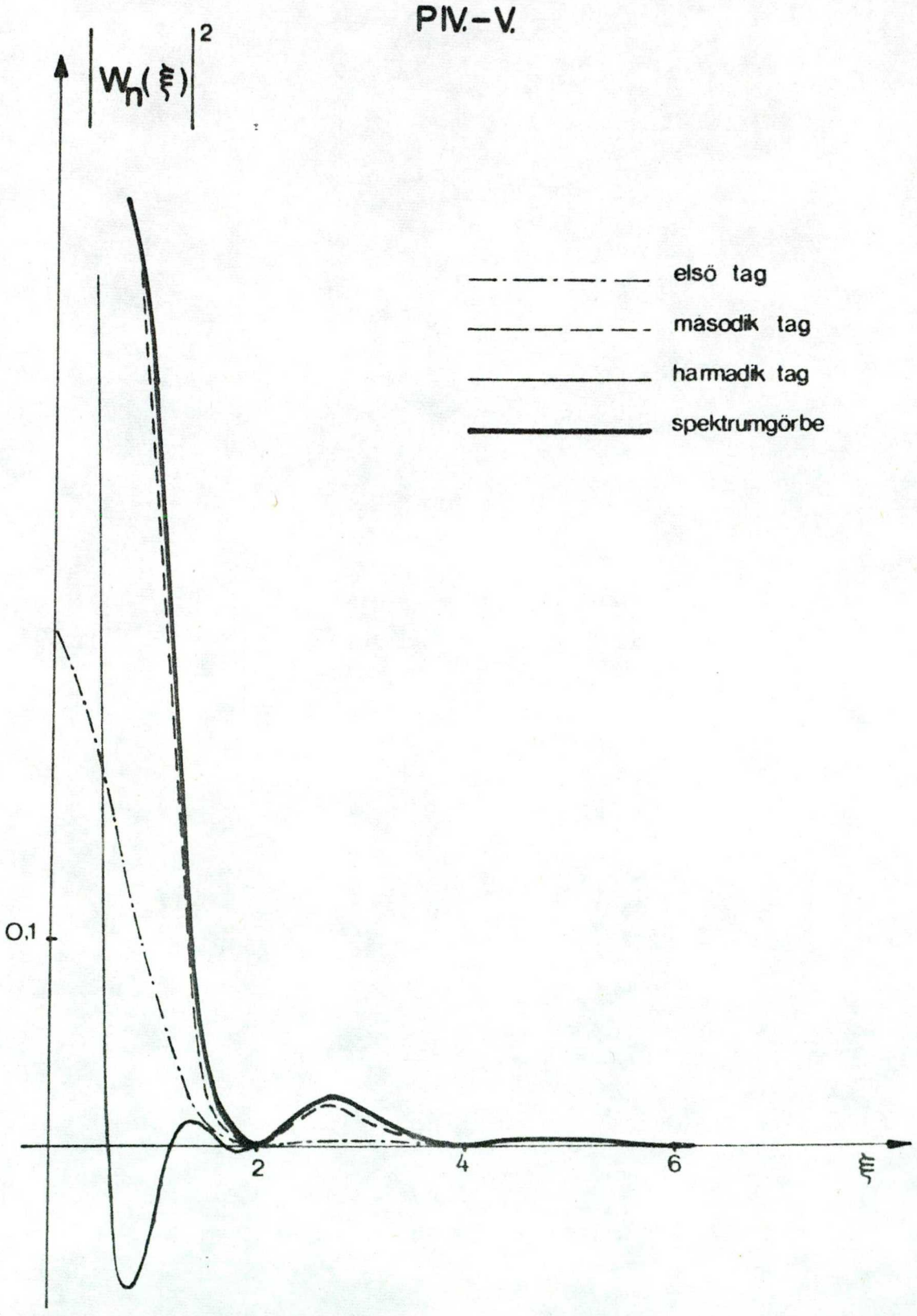
$$+ p_{32}\left[\frac{J_1(\alpha_2\xi)}{(\alpha_2\xi)}\cdot\frac{J_1(\alpha_3\xi)}{(\alpha_3\xi)}\right] \qquad \text{/IV.11b/}$$

összefüggést kapjuk, ahol α_1, α_2 és α_3 paraméterek értékei rendre 10,2 , 1,9 és 5,9. A /IV.11a/ és /IV.11b/ által meg-

határozott függvények lefutásának jellegét a IV.7a. és a IV.7b. ábrák mutatják.



IV.7a.ábra. Elméleti spektrum a P I.-II. osztály adataival.



IV.7b.ábra. Elméleti spektrum a P IV.-V. osztály adataival.

Elsőként vizsgáljuk meg a P I. - II. osztálybeli sejtek adataival nyert görbét. A IV.7a. ábrán a tulajdonképpeni spektrumgörbe mellett feltüntettem a / IV.11a / -ban szereplő összetevők görbéit is, annak érdekében, hogy az egyes komponensek hatását az eredő görbe kialakulására figyelemmel kisérhessük. Látható, hogy a görbe jellegét alapvetően a sejtmagról származó információt tartalmazó első tag határozza meg, mig a citoplazmára jellemző második tag járuléka gyakorlatilag csak annak első zérusáig számottevő /az első ill. második mellékmaximum nagysága az első tag megfelelő értékeinek mindössze hét ill. kettő százaléka /. Figyelembe véve továbbá, hogy a második tag első zérusa az első tag tekintetbe vett T_ν térfrekvencia-intervallumának az origótól számitott 6%-án belül helyezkedik el, megállapithatjuk, hogy a citoplazma befolyása egy keskeny központi tartománytól eltekintve figyelmen kivül hagyható. Végül a /IV.11a/-ban szereplő harmadik /vegyes/ tag hatására az eredő spektrumgörbében a T_ν intervallum 8%-ánál egy rendkivül jellegzetes, éles helyi minimum, 12%-ánál pedig egy kisebb helyi maximum megjelenése várható.

Vizsgáljuk meg most a P IV.-V. osztályokbeli sejtekre jellemző spektrumgörbét /IV.7b.ábra/. Az előzővel összevetve három ponton látható lényeges különbség:

/1/ a helyi minimum ill. helyi maximum eltünése

József Attila Tudományegyetem SZEGED

/2/ a T_ν térfrekvencia-intervallum felére zsugorodása

/3/ az első mellékmaximum nagyságának közel ötszörös növekedése.

Látható, hogy ebben az esetben az eredő görbe jellegének meghatározásában a magra jellemző tag mellett a másik két összetevő is lényeges szerepet játszik. A helyi minimum ill. maximum eltünése azonban arra mutat, hogy a vegyes tag hatása a T_ν térfrekvencia-intervallum 16%-a fölött / ahol helyi minimum ill. maximum megjelenését eredményezhetné/ ebből a szempontból már nem jelentős. Látható továbbá, hogy /2/ -vel összhangban a görbe első zérusa az origótól fele olyan távolságra van mint a IV.7a. ábra görbéje esetén.
A harmadik emlitésre méltó változás a mellékmaximum nagyságának közel ötszörösére való megnövekedése, és egy gyenge második mellékmaximum megjelenése. A továbbiakban - a fenti megállapitásokra támaszkodva - a spektrumgörbék négy olyan tulajdonságát emelem ki, melyeknek mérése lehetőséget nyujt az egészséges ill. rákos /rákgyanus/ sejteknek a P I.-II. ill. P IV.-V. osztályokba való besorolására.
Ezek a tulajdonságok a következők:

/1/ éles helyi minimum fellépése az alacsony térfrekvencia tartományban

/2/ az eredő görbék átlagos meredekségeinek aránya

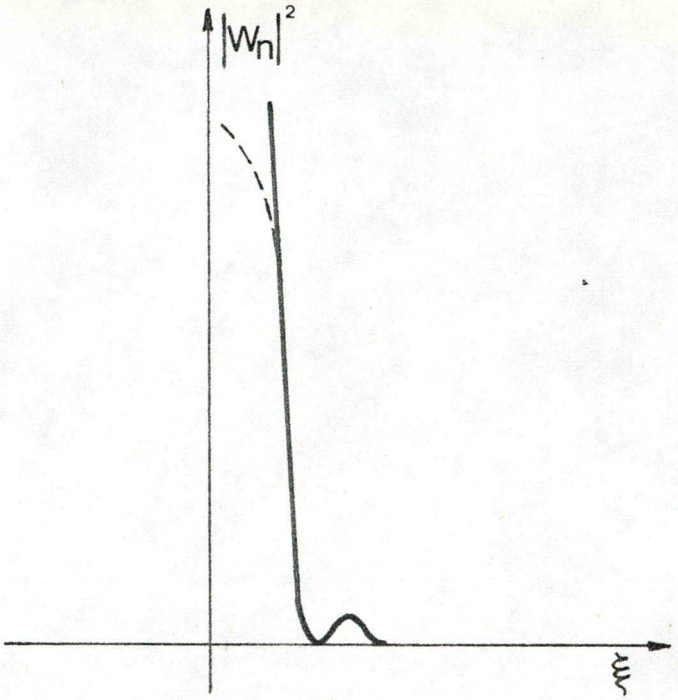
/3/ az első zérus origótól mért távolsága

/4/ az első mellékmaximumok nagyságainak aránya

Elvileg találhatunk még egy diszkrimináló tényezőt, nevezetesen az előbbiekben már emlitett második mellékmaximumot. Az előkészitő mérések azonban azt mutatták, hogy az esetek tulnyomó többségében ennek nagysága a mikrodenzitométer küszöbérzékenysége közelébe esik, igy a mérés pontossága már nem kielégitő.

Amint az a IV.7a. és IV.7b. ábrák és előzetes mérések tapasztalatai alapján várható, a spektrum intenzitás-átfogása meghaladja az alkalmazott film /III. 2.8/ karakterisztikus görbéjének lineáris szakaszát. Mivel az expoziciót ugy állitottam be, hogy a közepes és nagy térfrekvenciák / a IV.7a. és IV.7b. ábrákon kb. 0,5-től felfelé / biztosan a lineáris szakaszra essenek, ezért a spektrumgörbéknek a középponthoz közeli része már a film karakterisztikus görbéjének felső könyökén tulra kerül.

Mint ismeretes, ezen a szakaszon a denzitás a logE növekedésével egyre kisebb mértékben nő, ezért ebben a tartományban a IV.8. ábrán feltüntetett lehajló ág megjelenésével kell számolni.



IV.8. ábra.A lineáris szakasz tullépésének hatása.

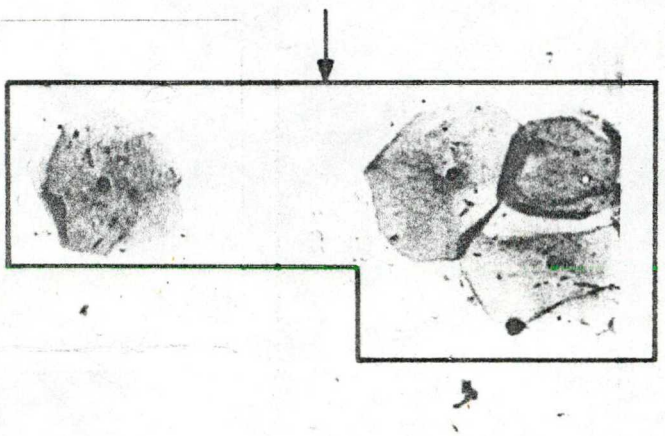
IV.3. Kisérleti eredmények és értékelésük

A sorozatmérések megkezdése előtt próba-preparátumokon állitottam be a kisérlet minden egyes lépésének paramétereit. A felhasználandókkal megegyező módon előkészitett /III.2.1./ próba-preparátumoknak a P I. - II. ill. P IV. - V. osztályokba való besorolása előzetes mikroszkópos vizsgálatok alapján történt. Az ily módon felépitett mérési eljárás részletes elemzése a III.2. részben található /ez alól csak a denzitometrikus mérés kivétel: ennek leirására az alábbiakban kerül majd sor/, ezért itt csak röviden felsorolom a kisérlet egyes lépéseit:

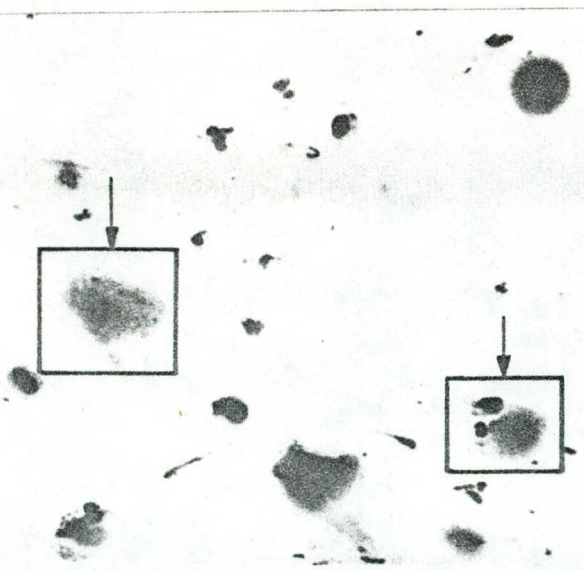
1. A preparátum előkészitése /III.2.1./.

2. Mikroszkópos felvételek készitése a preparátumokról /III.2.2./.

Egy-egy jellegzetes, P I.-II. ill. P IV.-V. osztályba tartozó sejt mikroszkópos képét 50-szeres nagyitásban/M=50 l.III.2.2./ a IV.9. ill. IV.10. ábrák mutatják.



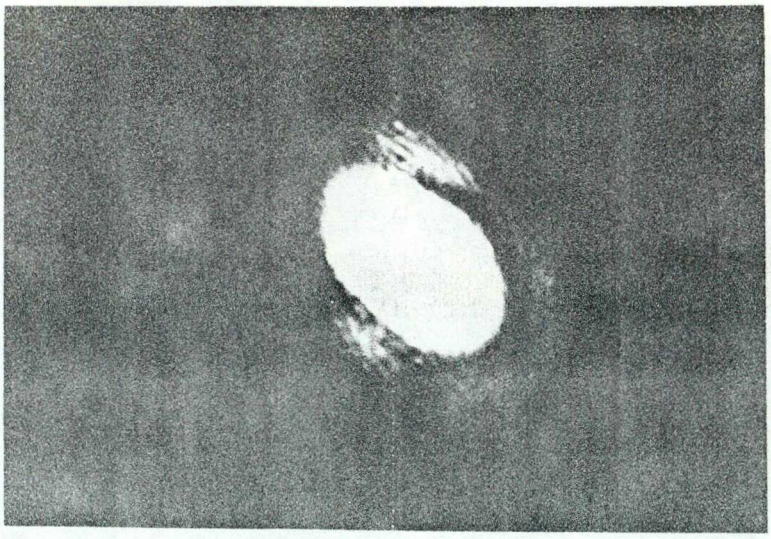
IV.9.ábra. A P I.-II. osztályba tartozó sejtekről készült mikroszkópos felvételek.



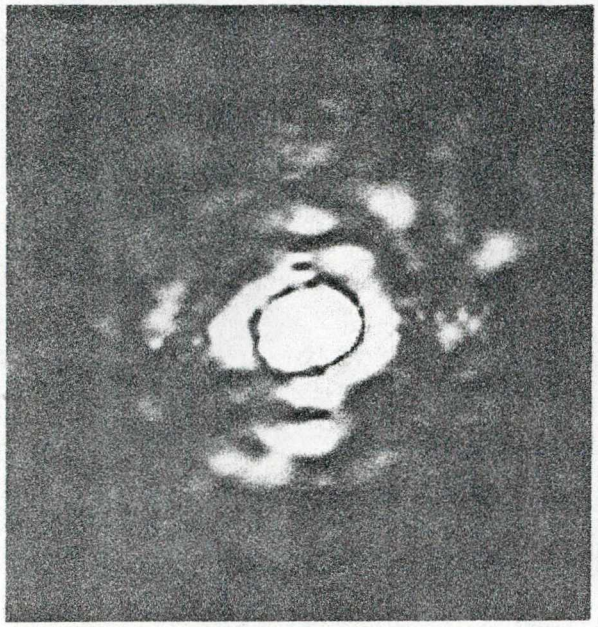
IV.10.ábra. A P IV.-V. osztályba tartozó sejtekről készült mikroszkópos felvételek.

3. A mikroszkópos felvételekből megfelelő fotokezelés-sel a transzparencia előállitása /III.2.3./.
4. Intenzitásban egyenletes, zajmentes lézernyaláb e-lőállitása /III.2.4., III.2.5. és Függ.II./.
5. A transzparencia elhelyezése a folyadékkapuban /optikai bemenet; III.2.6. és Függ.III./.
6. Fourier-transzformáció /III.2.7./.

A IV.11. ill. IV.12. ábrákon egy-egy P I.-II. ill. P IV.-V. osztályba sorolt sejt Fourier-spektruma látható.
A spektrum várható tulajdonságainak részletes elemzése egy egyszerü modellen végzett számitások alapján a IV.2. rész-ben található.



IV.11.ábra. Egy P I.-II. osztályba tartozó sejt Fourier-spektruma.



IV.12.ábra. A P IV.-V. osztályba tartozó sejt Fourier-spektruma.

7. A spektrumok fotografikus rögzitése, és a mikrodenzitometrikus kiértékelésre való előkészitésük /III.2.8./

8. Mikrodenzitometrikus kiértékelés

A mérések megkezdése előtt /bekapcsolás után 10 perc melegedés/ a mikrodenzitométer galvanométerének végkitérését a mérendő filmet közrefogó üveglapokra nézve kalibráltam. Az általam használt üveglapok exponált AGFA-GEVAERT Holotest 10E 75-ös hologramlemezek voltak, amelyekről az emulziót áztatással eltávolitottam. Az üveglemezek ilyen megválasztását azok előnyös felületi tulajdonságai indokolták. A lemezeket minden egyes mérés előtt lencsetisztitó folyadékkal ill. pa-

pirral /KODAK Lens Cleaning Set/ megtisztitottam.
A mérések során mindvégig ugyanazokat az üveglemezeket használtam. Mivel a mikrodenzitométer skála-végpontjainak beállási stabilitása igen jó /III.2.9./, ezért elegendő volt csak minden ötödik mérés után ellenőrizni ill. korrigálni azokat.
A mikrodenzitométer projektor - rendszerének leképezési arányszámát a mérések során 20:1 -nek választottam, mig a mérőrés nagysága mindvégig 1mm x 1mm volt.
Mivel a denzitogramok felvételét mindig valamely átmérő mentén végeztem /kivéve természetesen az apertura jelet hordozó, két egymásra merőleges tengelyt/, ezért célszerünek látszott egy vonal menti felbontás-fogalmat /f_v/ bevezetni az alábbiak szerint

$$f_v = \frac{l}{L} ,$$

ahol l a mérőrés élhossza, és L a spektrum letapogatás-irányu maximális lineáris mérete /a második zérusig bezárólag/. Az igy definiált felbontóképesség /mivel a spektrumok maximális lineáris mérete átlagosan 6mm és 16mm között változott/ - figyelembe véve a 20:1 - es leképezési arányt - a legkedvezőtlenebb esetben is kisebb volt mint 0,008.
A mintavétel sürüsége az igy értelmezett felbontóképesség kétszerese volt. Ezeket a "vonal menti" méréseket több különböző átmérő /pontosabban csak sugár: a szimmetria-tétel /I. 2.5./ szerint ugyanis ez is elegendő / mentén megismételtem. Ezzel kapcsolatban két esetet különböztettem meg:

József Attila Tudományegyetem SZEGED

I.		II.	
n_1	$f_{sz}^{(1)}$ [rad]	n_2	$f_{sz}^{(2)}$ [rad]
6	0,5	12	0,25

IV.1. táblázat

ahol

n_1: a vonal menti mérések száma körszimmetrikus spektrum esetén

$f_{sz}^{(1)}$: szög menti felbontás körszimmetrikus esetben

n_2: a vonal menti mérések száma nem körszimmetrikus spektrum esetén

$f_{sz}^{(2)}$: szög menti felbontás nem körszimmetrikus esetben.

A fent emlitett eltérés a körszimmetriától azt jelenti, hogy néhány esetben a transzformált sejt magja ovális /közel ellipszis / alaku volt. Ennek főleg a P I.-II. osztálybeli sejtek esetén van jelentősége: ugyanis - mint a IV.2. részből ismeretes - ilyenkor a spektrum kialakulására a sejtmagtól származó tag befolyása a döntő. A hasonlósági-tétel /I.2.4./ szerint ebben az esetben a spektrum, az eredetileg kerek magnak a tértartománybeli α_x ill. α_y mértékü nyujtására /zsugoritására/ a megfelelő térfrekvencia tengelyek menti $1/\alpha_x$ ill. $1/\alpha_y$ mértékü zsugorodást /nyulást/ mutat; a spektrum szerkezeté-

ben egyéb változás nem következik be. A mérések eredményeit a mikrodenzitométer saját galvanométerével számszerü - százalékos - formában /felbontás:0,1% / ill. az alapmüszerhez csatlakoztatott BAK5T tipusu XY-regisztrálóval grafikusan kaptam. A regisztráló és a mikrodenzitométer tárgyasztalát mozgató mikrométer-csavar szinkronizálására elvileg két lehetőség van: az egyik a mikrométer-csavar motorikus meghajtása és szinkronizálása a kiiró-fej folyamatos üzemmódjához, mig a másik az XY-regisztrálónak léptető üzemmódra való alkalmassá tétele. Jelen esetben ez utóbbi bizonyult egyszerübbnek, ugyanis egy morze-kapcsolónak a regisztrálóhoz való csatlakoztatásával az üzemmód-átállitás és az együttlépés egyidejüleg biztositható volt.

Az x irányu lépésköz helyességét minden mérés előtt ellenőriztem: ennek megváltozásából eredő relativ hiba /egy mérésen belül/ 1% volt.

A regisztráló y irányu elmozdulását a mikrodenzitométer erősitőjének kimenő jelével vezéreltem. Mivel minden esetben relativ értékeket mértem, ezért az y tengely menti skálát célszerüen ugy kalibráltam, hogy a leolvasás a leggyorsabb és legkényelmesebb legyen. Az XY-regisztrálón leolvasható transzmittancia-értéknek a mikrodenzitométer galvanométer-skálája által jelzettől való eltérésének relativ hibája 1,2%.

A denzitometrikus mérésre vonatkozó adatokat a könnyebb áttekinthetőség kedvéért az alábbi, IV.2.táblázatban külön is összefoglalom:

P	$l=l_x=l_y$ [mm]	f_v [%]	n_1	$f_{sz}^{(1)}$ [rad]	n_2
20:1	1	0,8	6	0,5	12
$f_{sz}^{(2)}$ [rad]	f_d [%]	$\left\|\frac{\Delta\tau}{\tau}\right\|$ [%]	$\left\|\frac{\Delta h}{h}\right\|$ [%]	$\left\|\frac{\tau_{xy}-\tau}{\tau}\right\|$ [%]	
0,25	0,1	1,5	1	1,2	

IV.2.táblázat

ahol

P: a mikrodenzitométer projektor-rendszerének leképezési arányszáma

l: a mérőrés élhossza

f_v: a vonal menti felbontás

n_1: a mérések száma
$f_{sz}^{(1)}$: a szög menti felbontás } körszimmetrikus esetben

n_2: a mérések száma
$f_{sz}^{(2)}$: a szög menti felbontás } nem körszimmetrikus esetben

f_d: a mikrodenzitométer galvanométer-skálájának felbontása

τ: a galvanométer-skálán leolvasható transzmittancia-érték

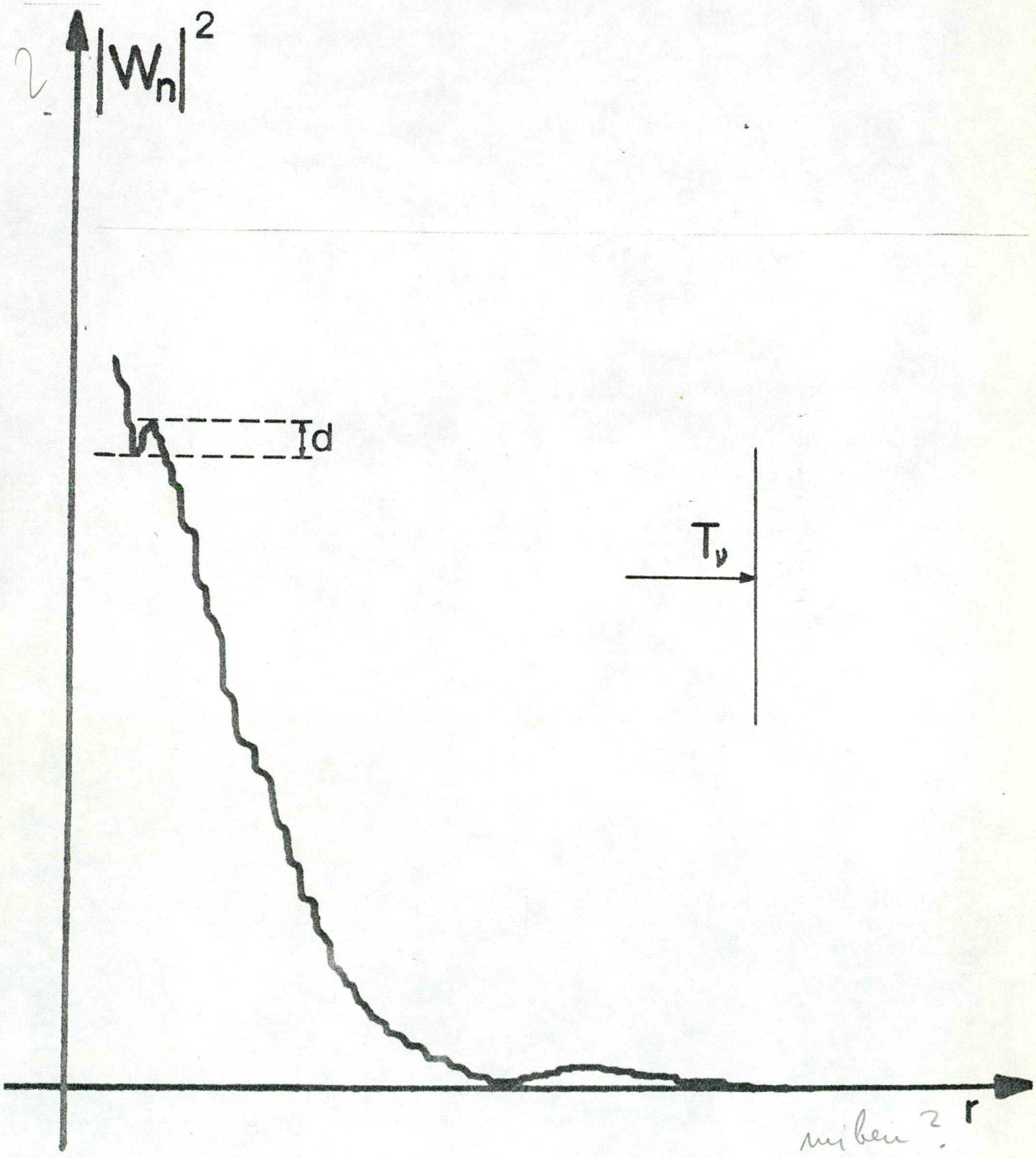
h: az XY-regisztráló x irányu lépéshossza

τ_{xy}: az XY-regisztrálón leolvasható transzmittancia-érték.

A mérésekhez 10-10, a P I.-II. ill. a P IV.-V. osztályokba tartozó mintát használtam, melyeknek besorolása előzetes mikroszkópos vzsgálatok alapján történt. Mind a P I.-II., mind pedig a P IV.-V. osztály esetében minden egyes mintából 6 sejtet választottam ki a további feldolgozás és kiértékelés céljaira.
A III. és a IV. fejezetben részletezett mérési eljárással nyert grafikus eredményeket a IV.13. ill. a IV.14. ábrán látható denzitogramok reprezentálják, mig a számszerü adatok /60-60 P I.-II. ill. P IV.-V. osztálybeli sejtre vonat oztatva/ statisztikai feldolgozásának eredményeit a IV.13. táblázat tartalmazza. Összehasonlitásképpen ugyancsak ebben a táblázatban találhatók az elméleti számitásokkal kapott eredmények is.
Ezek alapján, a IV.2. részben felsorolt szempontokat figyelembe véve, a következőket mondhatjuk.

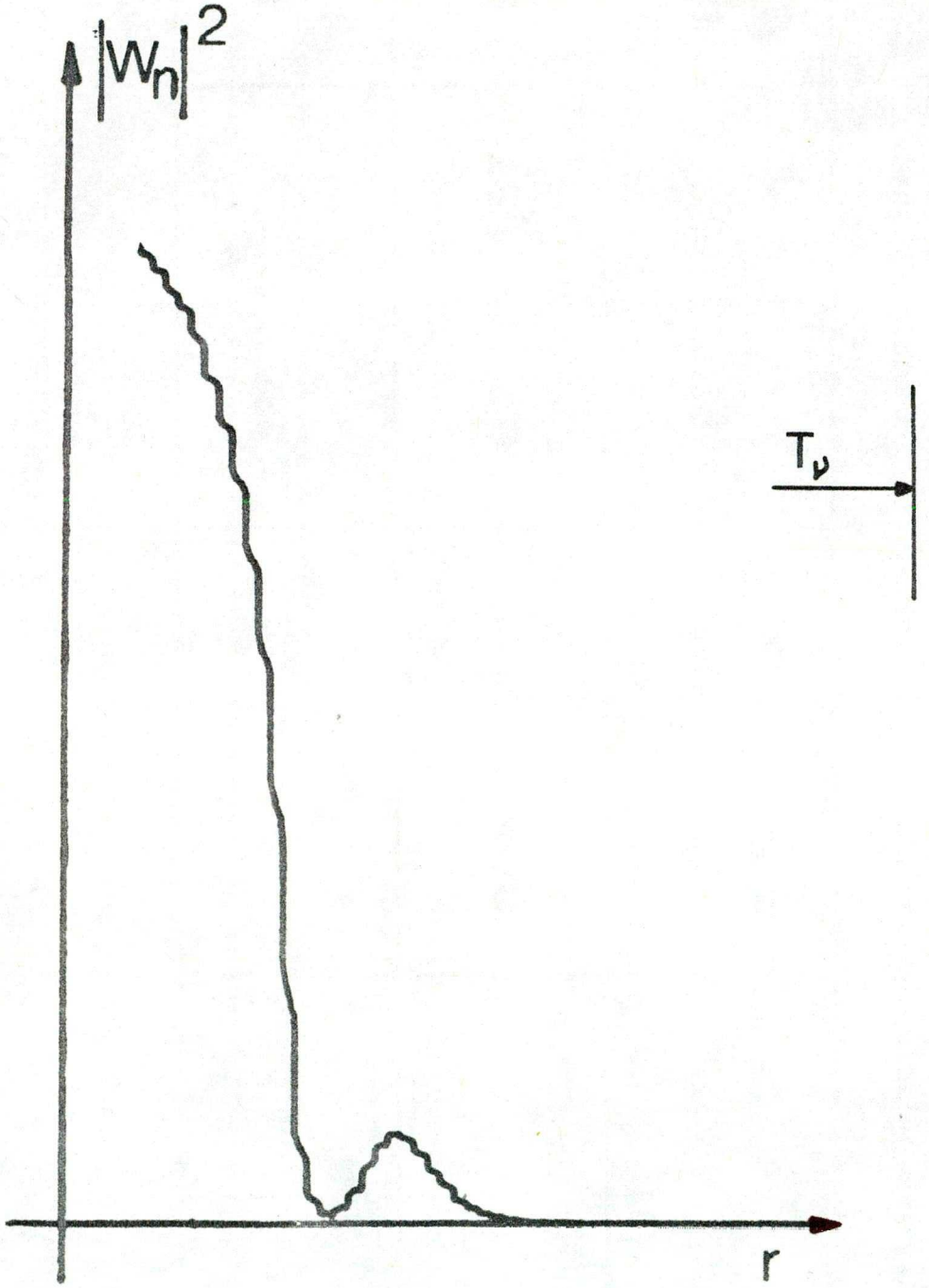
1. A IV.13. ábra denzitogramján látható, hogy - a modellszámitásokkal összhangban - az alacsony térfrekvencia tartományban egy helyi minimum jelenik meg, melynek az origótól számitott és a - mindkét osztály esetében azonos - T alapintervallumra vonatkoztatott relativ távolsága 0,09. A fellépő minimum d mélysége /IV.13.ábra/ azonban az elméletileg vártnál kisebb. Ennek oka az, hogy a minimum környezetében az expozició már tullép az alkalmazott film karakterisztikus görbéjének lineáris szakaszán, s ezért egy adott expozició különbséghez a lineáris szakaszbelinél kisebb denzitás különbség tartozik.

2. A IV.13. ill. a IV.14. ábrákból, valamint a IV.3.



IV.13.ábra. Egy P I.-II. osztályba tartozó sejt spektrumának denzitogramja.

PIV.-V.



IV.14.ábra. Egy P IV.-V. osztályba tartozó sejt spektrumának denzitogramja.

		PI.–II.		PIV.–V.				
		$d_1^{(0)}$	m_1	$d_2^{(0)}$	m_2	$\frac{m_1}{m_2}$	$\frac{d_1^{(0)}}{d_2^{(0)}}$	s
Eé		0,59	2,4	0,31	13,1	0,184	1,9	4,5
Ké	M	0,62	2,58	0,33	12,6	0,2	1,87	4,1
	D	0,037	0,15	0,016	0,6	0,015	0,16	0,23

$d^{(0)}$: az első zérus relativ távolsága az origótól
m : az eredő spektrumgörbék meredeksége
s : az első mellékmaximumok aránya

Eé: elméleti érték
Ké: kisérleti érték
M : a várható érték

D: a szórás

IV.3. táblázat

táblázat kisérleti adataiból látható, hogy a P I.-II. osztályokbeli sejtek esetében a spektrumgörbék első zérusainak a T alapintervallumra vonatkoztatott relativ távolságai az origótól 1,87-szeresei a P IV.-V. osztályokbeliekének /a megfelelő elméleti érték:1,9/ . Mivel a zérusok kisérletileg meghatározott relativ távolságaihoz tartozó szórások 0,037 ill. 0,016, azért a P I.-II. ill. a P IV.-V. osztályok ilyen módon /t.i. a megfelelő spektrumok első zérushelyeinek kisérleti meghatározása utján/ való elkülönitése lehetséges.

3. Az eredő spektrumgörbék átlagos meredekségeit a P I.-II. osztályokbeli sejtekre nézve a 0,18 és 0,38,mig a P IV.--V. osztályokbeliekre nézve a 0,21 és 0,28 relativ távolságok között határoztam meg. A modellszámitás és a IV.7a., ill. a IV.7b. ábrák alapján várható,hogy a spektrumok lefutásainak meredeksége között lényeges különbség lesz. Valóban, amint a IV.3. táblázatból látszik, a P IV.-V. osztálybeli sejtek spektrumainak átlagos meredeksége 4,9-szerese a P I.-II. osztálybeliekének / a megfelelő szórásértékek:0,6 ill. 0,15/.Ez a csaknem ötszörös viszony a meredekségek között azt jelenti,hogy egy ujabb paraméter áll rendelkezésünkre a P I-II. ill. a P IV.-V. osztályok megkülönbüztetésére.

4. A IV.2. részben megadott felsorolásban szereplő utolsó diszkrimináló tényező a spektrumok első mellékmaximumainak aránya.Amint az a IV.3. táblázatból látható, a mellék maximumok arányának várható értéke 4,1, mig szórása 0,23.

A modellszámitások alapján kapott megfelelő elméleti érték 4,5. Mivel a denzitometrikus mérés relativ hibája kisebb mint 1%, ezért a fenti közel 4-szeres viszony az első mellékmaximumok nagyságai között azt jelenti, hogy ezek mérésével a két osztály egymástól jól elkülönithető.

A fentiek alapján megállapithatjuk, hogy a IV.2. részben megadott diszkrimináló tényezők közül legalábbis három /a relativ távolság, az átlagos meredekség és az első mellékmaximumok nagyságainak aránya/ alkalmas arra, hogy mérésükkel a P I.-II. és a P IV.-V. osztályokat biztosan el tudjuk egymástól különiteni. A fenti három mennyiség közül kétségtelenül az első zérusnak az origótól számitott relativ távolsága határozható meg a legkönnyebben. Természetesen az első zérus helyének kimérésekor abszolut távolságokat határozunk meg, de mivel célunk csak a P I.-II. és a P IV.-V. osztályok elkülönitése, ez nem jelent semmi tényleges különbséget.

A kisérleti eredmények alapján leszögezhetjük, hogy a dolgozat elején kitüzött célt elértük, azaz sikerült olyan paramétereket találni, amelyek alkalmasak az orvosi gyorsdiagnosztika számára lényeges P I.-II. és P IV.-V. osztályok elválasztására.

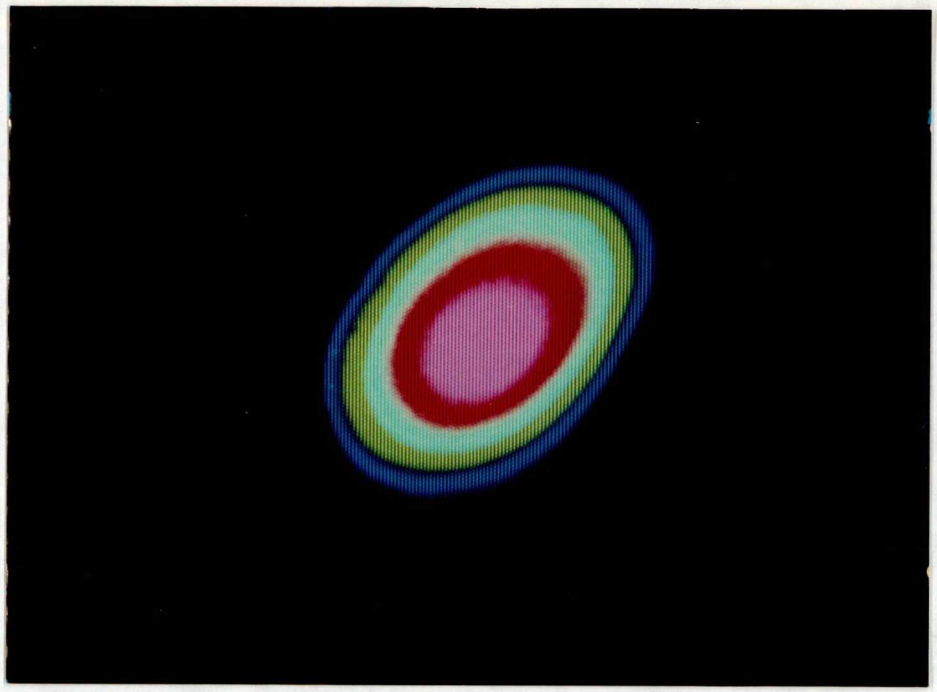
V. A TOVÁBBLÉPÉS IRÁNYAI

A dolgozatban foglaltak alapján a továbblépés lényegében három irányban lehetséges.

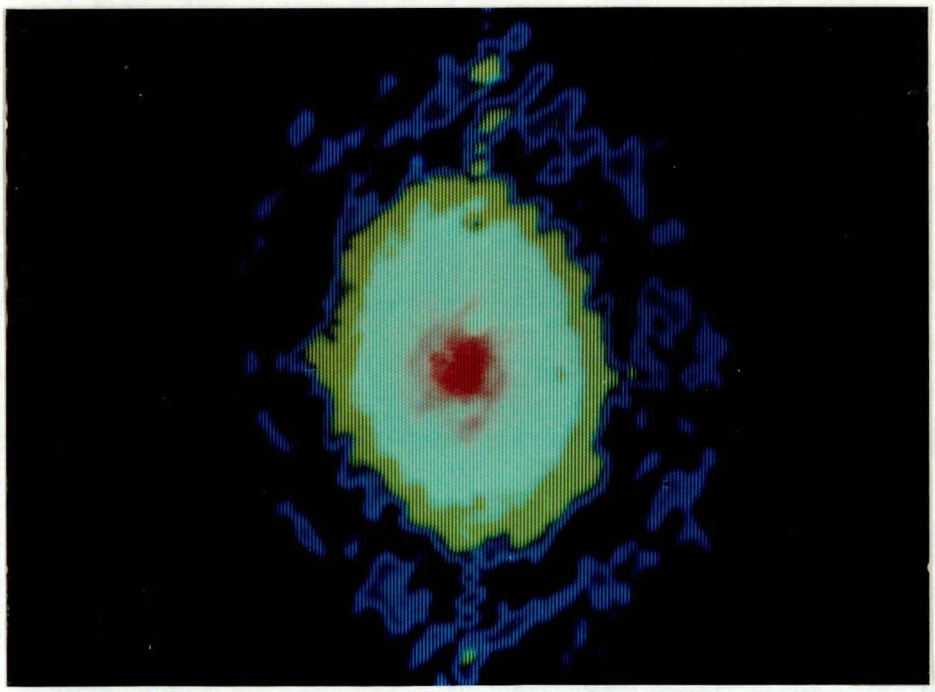
1. Az alapmódszer továbbfejlesztése: itt elsősorban a kiértékelés fotografikus ill. denzitometrikus módjának elektronikus mérésekkel való helyettesitésére gondolok. A spektrumok fotografikus rögzitése esetén a filmnyersanyag ill. a hivási eljárás csak körülményesen tartható paraméterei, és a mikrodenzitométernek a feladathoz nem a legjobban illeszkedő /t.i. két, egymásra merőleges irány menti/ mintavételi geometriája megnehezíti a spektrumok finomabb szerkezetének vizsgálatát.
   A megoldást itt a jelenleg már meglévő, rendkivül megbizható elektronikus kiértékelő egységek /pl.ROSA/ alkalmazása, vagy ezek kisebb igényeket kielégitő, de hazai körülmények között elkészithető változatainak az optikai rendszerhez való illesztése jelentheti.
2. Holografikus szürés: ebben az irányban haladva a cél az egészséges és rákos sejtek keresztkorrelációjának optikai előállitása, mérése és ennek alapján a kórosodás finomabb fázisainak elkülönitése. Ez a probléma, melynek a sejt Fourier-transzformáltjának előállitása ill. a megfelelő Fourier-hologram elkészitése csak az első lépése, a dolgozatban leirtnál lényegesen bonyolultabb és érzékenyebb /mind a mechanikai, mind pedig az optikai paraméterekre nézve/. Ilyen feladatoknál külön nehézséget jelent, hogy az elkészitendő szürő a tárgyfüggvény mindhárom szabadsági fok menti elmozdulására rendkivül érzé-

keny. A kapott korrelációs jelek /csucsok/ kiértékelése mikrodenzitométerrel vagy pedig TV-kamera és monitor alkalmazásával elektronikusan történhet.

3. Szürkeségfokozat- szin konverzió: bizonyos esetekben az egészséges ill. rákos sejtek /legalábbis a P I.-II. ill. P IV.-V. osztályokba tartozók/ egyszerü vizuális kiértékelés alapján való elkülönitése is lehetséges.
Mivel azonban az emberi szem szürkeség felbontása igen korlátozott, ezért ilyen esetekben célszerü a video-display-en megjelenitett Fourier-spektrumok különböző intenzitás-lépcsőit különböző szineknek megfeleltetni. Az V.1. ill. V.2. ábrán egy-egy P I.-II. ill. P IV. V. osztályba sorolt sejt Fourier-spektrumának szines display-en megjelenitett képe látható, egyforma nagyitásban.
A két spektrum szin-szerkezete jelentősen eltér egymástól, igy lehetőség van gyors vizuális módon való megkülönböztetésükre. A video-display-en való megjelenités egy másik lehetőséget is felvet, nevezetesen a spektrum egyes intenzitás-lépcsőihez rendelhető területek arányainak elektronikus uton való mérését a következő módon.
A display egy kiemelt, téglalap alaku tartományát 100%-nak véve, az egyes intenzitás-lépcsőkhöz rendelt területek részarányai százalékban kifejezve digitális formában kerülnek kijelzésre.
Ennek a feladatnak a megoldása jelenleg már folyamatban van, és várhatóan hamarosan a sorozatmérések megkezdése is lehetővé válik.



V.1.ábra. Egy P I.-II. osztályba tartozó sejt Fourier--spektrumának szines monitoron megjelenitett képe.



V.2.ábra. Egy P IV.-V. osztályba tartozó sejt Fourier--spektrumának szines monitoron megjelenitett képe.

ÖSSZEFOGLALÁS

Dolgozatomban egészséges ill. rákos /rákgyanus/ sejtek optikailag előállitott Fourier-spektrumait vizsgáltam egyrészt egy egyszerü modellen végzett számitások, másrészt mikrodenzitometrikus mérések segitségével.

A kapott eredmények az elméleti modell használhatóságát, valamint a gyorsdiagnosztika számára fontos P I.-II. ill. P IV.-V. osztályok ilyen módon való elkülönitésének lehetőségét igazolták.

Végezetül a dolgozatban foglaltak alapján megjelöltem a továbblépés irányait, utalva a jelenleg kinálkozó megoldási lehetőségekre, és az általuk nyujtott előnyökre.

A három függelékben a dolgozathoz nélkülözhetetlen, de nem a fő kérdéshez tartozó számitások találhatók.

KÖSZÖNETNYILVÁNITÁS

Köszönetemet fejezem ki Dr. Greguss Pál és Dr. Szalay László professzoroknak a dolgozat elkészitéséhez nyujtott értékes támogatásukért.

FÜGGELÉK I.

F.I.1. A Kirchoff- és a Sommerfeld- féle elhajlási formulák

Mint ismeretes /Ref.[6],[7],[9]/ az F.I.1. ábrán látható elrendezés esetén, az ernyő mögött egy tetszőleges P_o pontban a tér értékét - a Sommerfeld- féle kisugárzási feltételt és a Kirchoff- féle határfeltételeket figyelembe véve / Ref.[6],[7],[8]/ - az u.n. Kirchoff-Fresnel-féle diffrakciós integrál adja,

$$U(P_o)=\frac{1}{4\pi}\iint_{\Sigma}\frac{\exp[ikr_{o1}]}{r_{o1}}\left[\partial_n U-ik\cos(\bar{n},\bar{r}_{o1})U\right]df, \qquad /F.I.1/$$

ahol Σ az apertura pontjainak halmazát jelöli. A probléma megoldásának egy másik matematikai megfogalmazása /Ref.[5],[6],[9]/ a Sommerfeld- féle diffrakciós integrál,

$$U(P_o)=\frac{1}{i\lambda}\iint_{\Sigma}U(P)\frac{\exp[ikr_{o1}]}{r_{o1}}\cos(\bar{n},\bar{r}_{o1})\,df, \qquad /F.I.2/$$

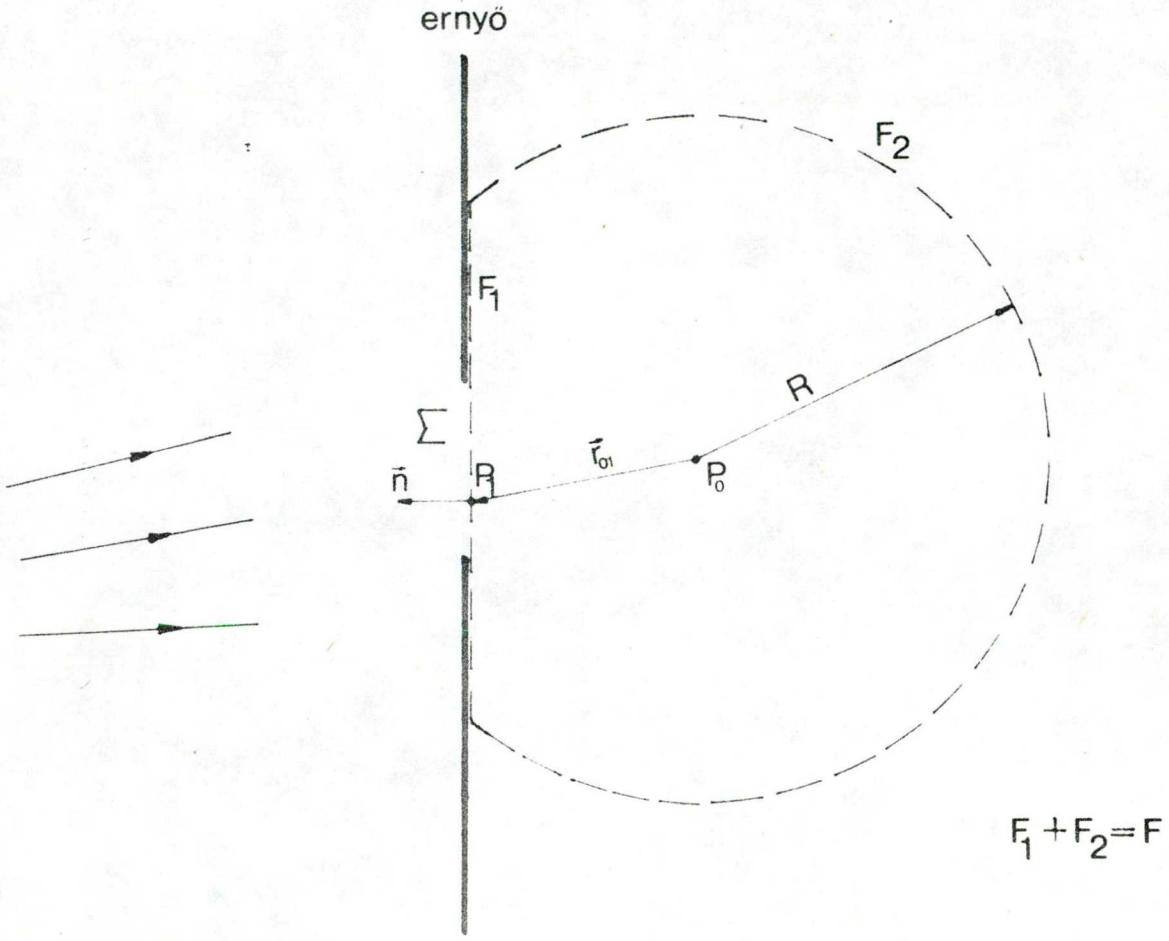
vagy ennek gyakorlati közelitése arra az esetre, ha az apertura és a megfigyelési tartomány maximális lineáris mérete egyaránt kicsiny az őket elválasztó távolsághoz képest

$$U(P_o)=\frac{1}{i\lambda z}\iint_{\Sigma}U(P)\exp[ikr_{o1}]\,df. \qquad /F.I.3/$$

A Kirchoff-féle határfeltételeket figyelembe véve, és a megfelelő koordinátákat az /F.I.3/-ba beirva kapjuk, hogy

$$U(x_o,y_o)=\frac{1}{i\lambda z}\int_{-\infty}^{+\infty}\iint U(x,y)\exp\left[ik\sqrt{(x-x_o)^2+(y-y_o)^2}\right]dxdy. \qquad /F.I.4/$$

József Attila Tudományegyetem Könyvtára SZEGED



F.I.I.ábra. A felület megválasztása a tér értékének megadásához

F.I.2. A Fresnel- féle approximáció

Tegyük fel, hogy z -re fennáll a

$$z^3 \gg \pi/4\lambda\left[(x_0-x_1)^2+(y_0-y_1)^2\right]^2_{max}$$

feltétel. Ekkor az /F.I.4/ formula exponensében szereplő gyök helyett annak binomiális kifejtése első tagját véve, az exponenst kifejtve és a térfrekvencia komponensek

$$f_x = \frac{x_0}{\lambda z} \qquad f_y = \frac{y_0}{\lambda z}$$

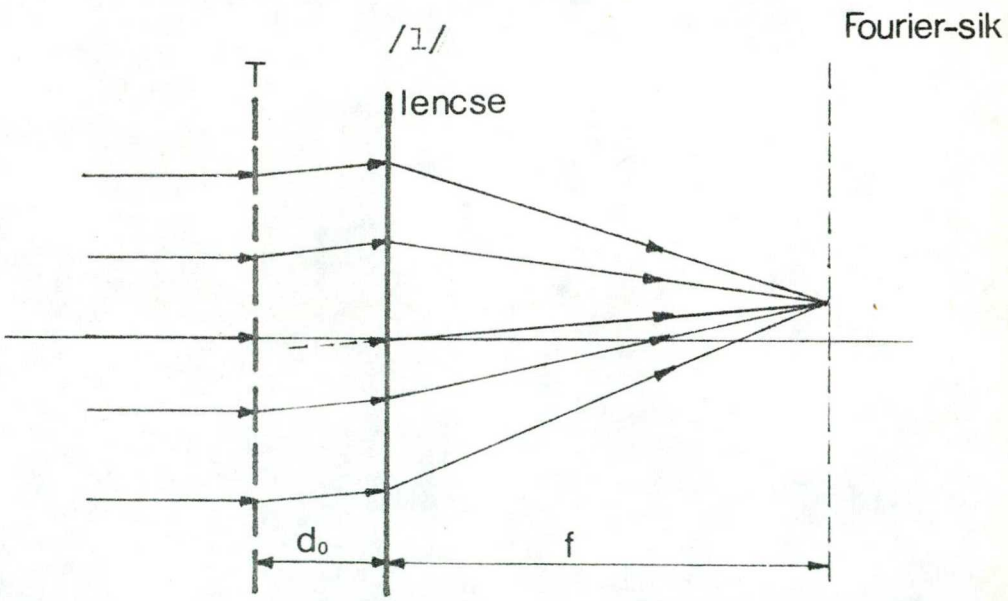
kifejezéseit beirva kapjuk a Fresnel-féle approximációs integrált

$$U(x_0,y_0)=[\exp ikz/i\lambda z]\exp\frac{i\pi}{\lambda z}(x_0^2+y_0^2)\int_{-\infty}^{+\infty}\int U(x_1,y_1)\,x$$

$$x\exp[\frac{i\pi}{\lambda z}(x_1^2+y_1^2)]\exp[-2\pi i(f_x x_1+f_y y_1)]\,dx_1dy_1$$

F.I.3. Fourier-transzform elrendezések

Az alábbiakban rövid áttekintést adunk az általunk felhasználttól eltérő, de általánosan elterjedt geometriai felépitésü rendszerekről.



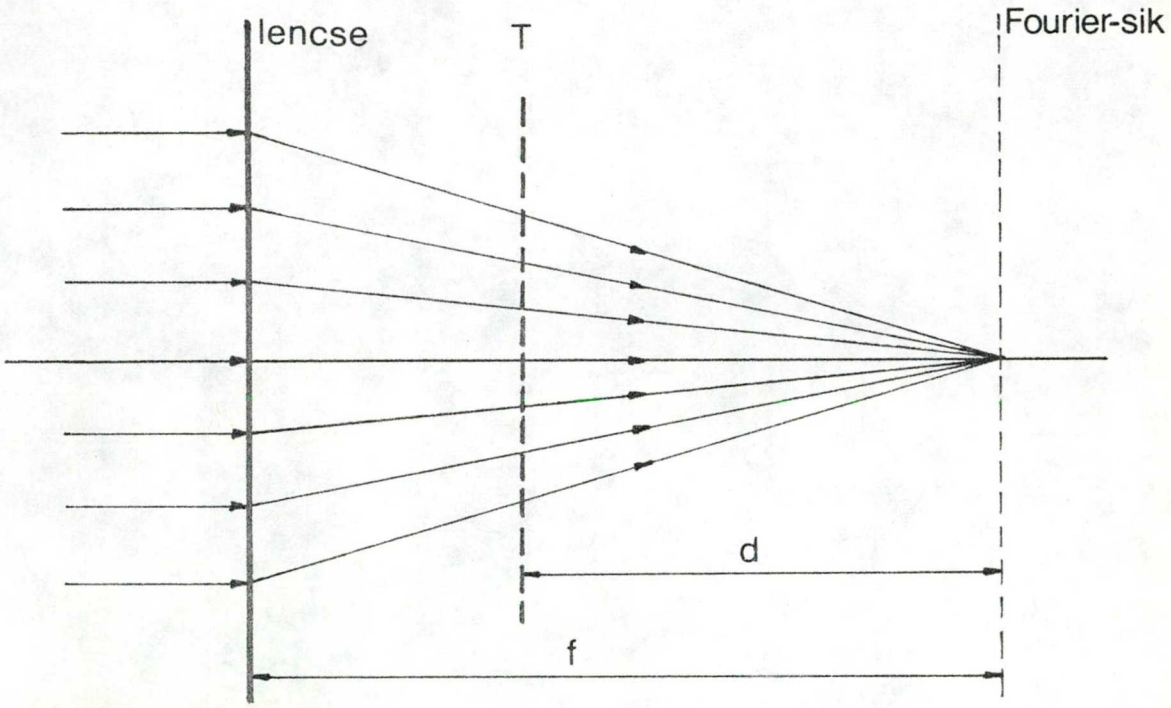
F.I.2.ábra. Fourier-transzformáció a lencse mögötti sikból.

A komplex amplitudó a hátsó fókuszsikban

$$U(x_f,y_f)=\exp[i\pi/\lambda f(1-\frac{d_0}{f})(x_f^2+y_f^2)]/i\lambda f\cdot\mathcal{F}[t(x_1,y)],$$

ahol (x_f, y_f) a Fourier-sikban felvett koordinátákat jelöli. Speciálisan $d_o = 0$-ra az általunk felépitett elrendezést, mig $d_o = f$-re az egzakt Fourier-transzformáltat kapjuk.

/2/



F.I.3.ábra.Fourier-transzformáció:tárgy a lencse-és fókuszsik közt.

Ebben az esetben a komplex amplitudóeloszlás a hátsó fókuszsikban

$$U(x_f, y_f) = \frac{f}{d} \exp[i\pi/\lambda d(x_f^2+y_f^2)]/i\lambda d \iint_{-\infty}^{+\infty} t(x,y) P(\frac{f}{d}x, \frac{f}{d}y) \cdot$$

$$\cdot \exp[-2\pi i(\frac{x_f}{\lambda d}\cdot x + \frac{y_f}{\lambda d}\cdot y)]dxdy,$$

ahol $P(\frac{f}{d}x, \frac{f}{d}y)$ a megfelelő pupillafüggvény. Látható, hogy ez az elrendezés a spektrum méretének kényelmes ellenőrzésére is módot ad a d távolság változtatásával.

FÜGGELÉK II.

F.II.1. A térszürő blokk elemzése

A jó minőségü Fourier-transzformáció érdekében a tárgysikot viszonylag nagy átmérőjü, közel egyenletes intenzitáseloszlásu, zajmentes lézernyalábbal kell megvilágitanunk. A nagy átmérőt és a közel egyenletes intenzitáseloszlást a nyalábtágitó, a zajmentességet a térszürő alkalmazásával érhetjük el. Az alábbiakban ezeket a kérdéseket vizsgáljuk meg részletesebben.

A lézer kilépőnyalábja a TEM_{oo} módusban / magasabb módusok számunkra nem felelnek meg, mivel az intenzitás a nyalábkeresztmetszet mentén bizonyos helyeken zérus/ Gauss-intenzitáseloszlást mutat a centrumtól mért távolság függvényében, azaz

$$J(r) = \frac{2P_t}{\pi w^2} \exp[-2r^2/w^2], \qquad /F.II.1/$$

illetve

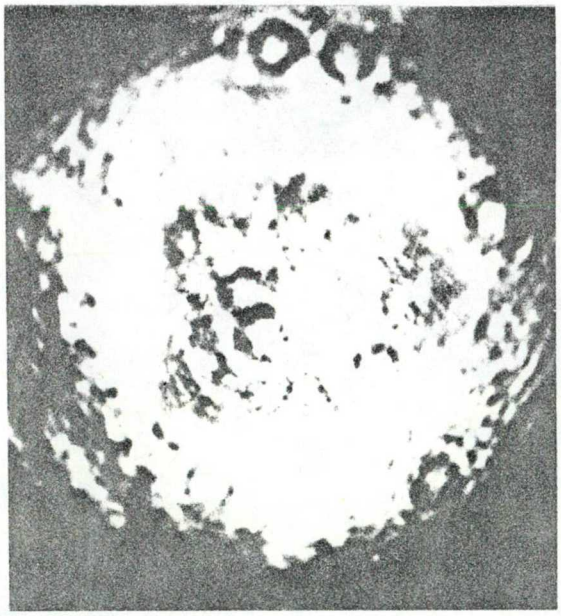
$$J(r) = J(o)\exp[-2r^2/w^2]. \qquad /F.II.2/$$

Itt w az u.n. "félszélesség", vagyis az a távolság a sugár mentén, ahol az intenzitás a centrumban mért érték e^{-2} -szerese lesz, mig P_t

$$P_t = \int_0^\infty J(r)2\pi r dr \qquad /F.II.3/$$

a teljes kimenő teljesitmény.

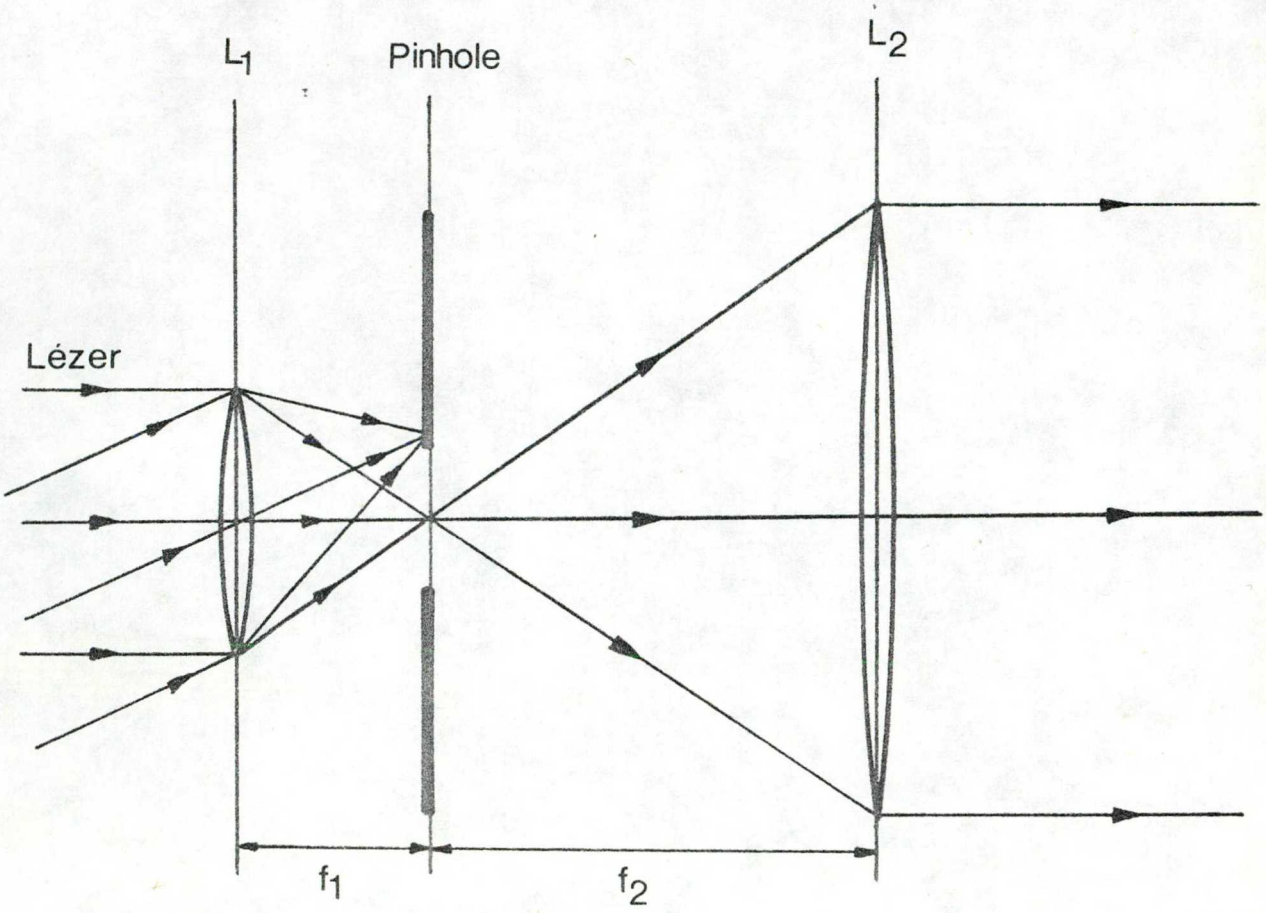
A lézerrezonátor végablakán kilépő nyaláb /F.II.1/-hen megadott radiális intenzisáteloszlására az optikai elemeken lévő szennyeződéseken, ill. a lézercső peremén elhajló fény mint koherens optikai zaj szuperponálódik és interferálva az el nem hajlitott nyalábbal a tárgysikban gyürüszerü interferenciamintát eredményez /F.II.1. ábra/.



F.II.1. ábra

A lézernyaláb a nyalábtágitó után, térszürés nélkül.

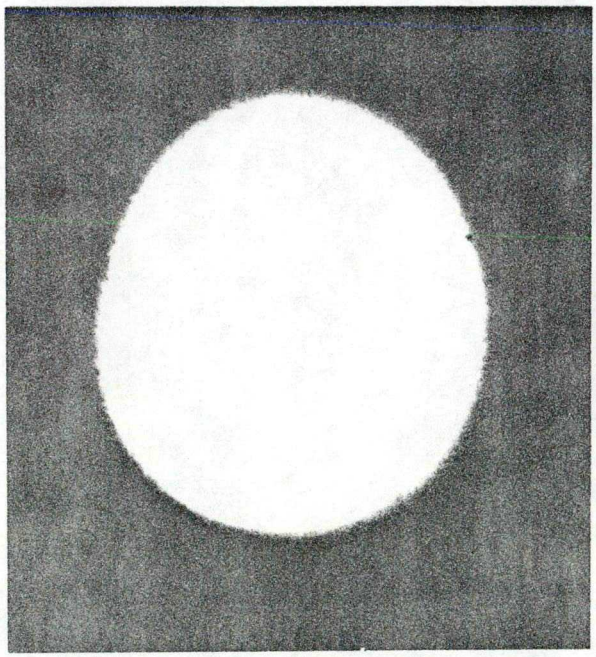
A továbbiakban a fent emlitett zaj eliminálására szolgáló optikai elrendezést vizsgáljuk meg. Ennek elvi vázlatát mutatja az F.II.2. ábra. A rezonátor végablakán kilépő, és különféle optikai elemeken átvezetett lézernyaláb az L_1 kis fókusztávolságu gyüjtőlencsére esik, amely az optikai tengellyel párhuzamosan beeső sugarakat a fókusz-



F.II.2. ábra. A térfrekvencia szürő elvi vázlata.

pontjában elhelyezett, megfelelően méretezett pinhole-ra gyüjti össze, mig az optikai tengellyel szöget bezáró sugarakat fókuszsikjának / mely egyuttal a pinhole sikja is / különböző pontjaira képezi le. Ez azt jelenti, hogy az L_1 lencséből és a P pinhole-ból álló rendszer, meg-

felelő méretezés esetén mint keskenysávu optikai aluláteresztő müködik, vagyis a zajhoz tartozó magasabb térfrekvenciáju komponenseket kiszüri. A pinhole sikját ezek után egy sima Gauss-intenzitáseloszlásu divergens gömbhullám hagyja el. Ebből az L_2 gyüjtőlencse olyan sikhullámot állit elő, amelynek radiális intenzitáseloszlására az /F.II.1./ formula érvényes /F.II.3. ábra/.



F.II.3. ábra. Lézernyaláb a térszürő és nyalábtágitó után.

A következőkben megvizsgáljuk, hogy miként lehet számszerü becslést adni az alkalmazandó pinhole nagyságára nézve, feltéve, hogy az L_1 lencse első fókuszsikjában a lézer-

nyaláb intenzitáseloszlása Gauss-függvénnyel irható le, azaz

$$\mathcal{J}(r_1) = \frac{2P_t}{\pi w_1^2} \exp[-2r_1^2/w_1^2]. \qquad /F.II.4/$$

Az ennek megfelelő komplex amplitudóeloszlás

$$A(r_1) = \left[\frac{2P_t}{\pi w_1^2}\right]^{1/2} \cdot \frac{1}{w_1} \exp[-r_1^2/w_1^2] \exp i\varphi_0. \qquad /F.II.5/$$

A $\varphi = \varphi_0$ feltételezés fizikailag azt jelenti, hogy a lézer kilépő nyalábját jó közelitéssel sikhullámnak tekintjük. Legyen $\varphi = \varphi_0 = 0$, ekkor

$$A(r_1) = \left[\frac{2P_t}{\pi w_1^2}\right]^{1/2} \cdot \frac{1}{w_1} \exp[-r_1^2/w_1^2]. \qquad /F.II.6/$$

Az $\underline{L}_1$ lencse ennek az amplitudóeloszlásnak a Fourier-transzformáltját képezi a hátsó fókuszsikjában, azaz

$$\mathcal{F}[A(r_1)] = \text{konst.} \exp[-\pi^2 w_1^2 \nu^2] = k \exp[-\pi^2 w_1^2 \frac{r_2^2}{\lambda^2 f_1^2}], \qquad /F.II.7/$$

ahol

$$\nu = \frac{r_2}{\lambda f_1}$$

a radiális térfrekvencia a pinhole sikjában.
Az /F.II.7/-nek megfelelő intenzitáseloszlás

$$\mathcal{J}(r_2) = k^2 \exp[-\pi^2 w_1^2 \frac{2r_2^2}{\lambda^2 f_1^2}] \qquad /F.II.8/$$

ebből a félszélesség

$$2\pi^2 w_1^2 \frac{r_2^2}{\lambda^2 f_1^2} = 2$$

$$r_2^2 = w_2^2 \equiv \frac{\lambda^2 f_1^2}{\pi^2 w_1^2}$$

$$w_2 = \frac{\lambda f_1}{\pi w_1} . \qquad /F.II.9./$$

Mivel a L_1 lencse aperturájának és fókusztávolságának megfelelő megválasztásával elérhető, hogy az elhajlási korong sugara / ϱ / kisebb legyen, mint a megfelelő félszélesség, azért az alkalmazható pinhole nagyságát alulról a w_2 félszélesség korlátozza, mig a megfelelő felső határt a kiszürendő térfrekvenciák nagysága határozza meg.

F.II.2 A nyaláb egyenletességének vizsgálata

A II. részben megadott elméleti számitásainkat az $U = U_0$ és a $\varphi = \varphi_0 = 0$ feltevésre alapoztuk, ahol U a megvilágitó síkhullám amplitudóeloszlása és φ a fázisa a transzparencia síkjában. A fázis ilyetén megválasztása /$\varphi_0 = 0$ / önkényes ugyan, de a Wiener spektrum szempontjából csupán az irásmód egyszerüsitését jelenti. Tényleges problémát az $U=U_0$ feltétel jelent, ugyanis a lézernyaláb intenzitáseloszlása a TEM_{00} módusban mint emlitettük Gauss profilt mutat. Az alábbiakban becslést adunk arra nézve, hogy a térszürő és nyalábtágitó blokkon áthaladt lézernyaláb transzparencia méreteivel összehasonlitva mennyire tekinthető egyenletes intenzitáseloszlásunak. Az F.II.2. ábrából látható, hogy az L_2 hátsó fókuszsikjában a pinhole sikjában levő amplitudóeloszlás Fourier-transzformáció

jelenik meg. A

$$w_3 = \frac{\lambda f_2}{\pi w_2} \qquad /F.II.10/$$

formulából $f_2 = 310$ mm és $w_2 = 2 \cdot 10^{-3}$ mm adatokkal $\lambda = 0{,}63 \cdot 10^{-3}$ mm hullámhosszra

$$w_3 = 31 \text{ mm}$$

adódik / megjegyzendő, hogy ez a félszélesség a fókuszsikból ± z irányban kissé kilépve nem változik lényegesen/. Az egyszerüség kedvéért tételezzük fel a továbbiakban, hogy a transzparenciát az L_2 fókuszsikjában helyezzük el, hiszen ez nem jelent semmiféle megszoritást a rendszerre nézve. Az /F.II.1/ szerint

$$\mathcal{J}(r_3) = \frac{2P_t}{\pi w_3^2} \exp[-2r_3^2/w_3^2],$$

ahol

$$\frac{2P_t}{\pi w_3^2} = \mathcal{J}(0)$$

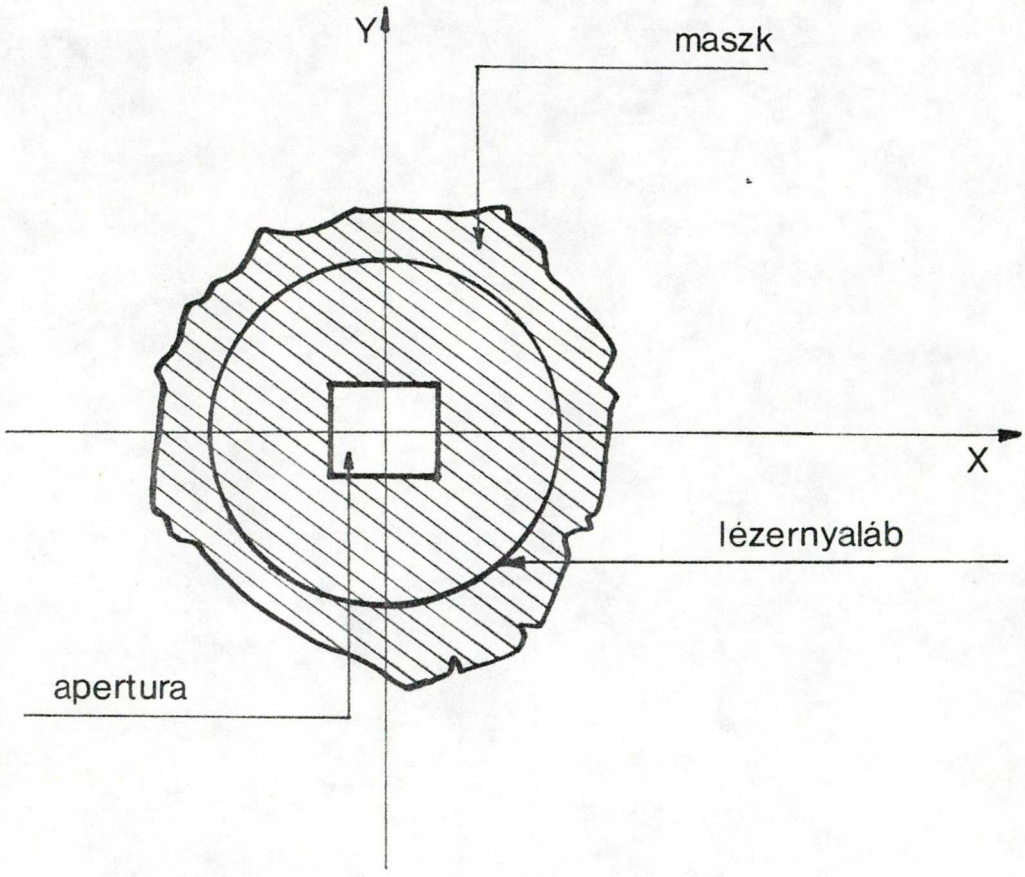
igy

$$\frac{\mathcal{J}(r_3)}{\mathcal{J}(0)} = \exp[-2r_3^2/w_3^2]. \qquad /F.II.11/$$

Ha az apertura /F.II.4. ábra/ élhossza kb. 10 mm, akkor

$$\frac{\mathcal{J}(r=5mm)}{\mathcal{J}(0)} = \exp[-2\left(\frac{5}{31}\right)^2] = 0{,}949 \cong 0{,}95$$

$$\mathcal{J}(r=5mm) = 0{,}95\,\mathcal{J}(0)$$



F.II.4.ábra. A transzparenciát megvilágitó rész kiválasztása a lézernyalábból.

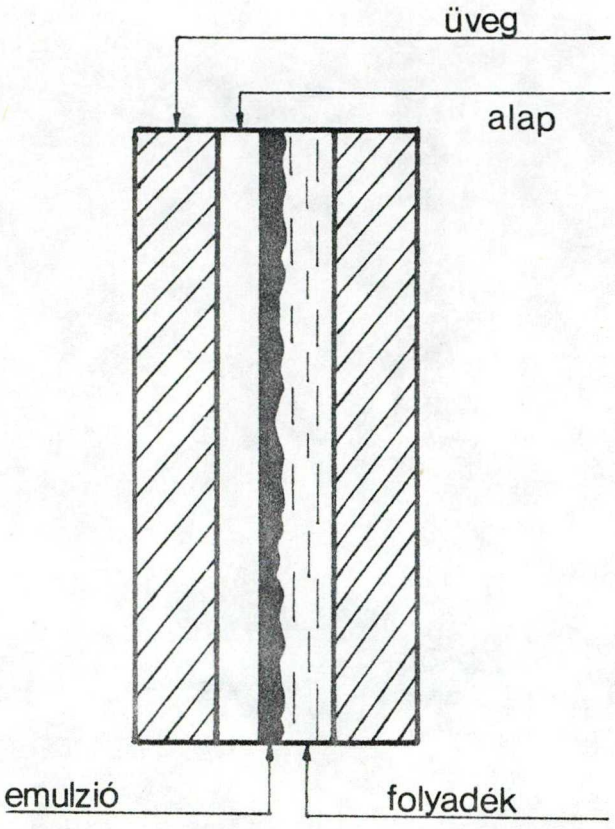
azaz az intenzitás egy 5 mm sugaru kör belsejében 5%-on belül egyenletes.

Ezek szerint a II. részben megadott elméleti eredményeket gyakorlati követelményeinket kielégitő módon alkalmazhatjuk a fenti adatok mellett.

FÜGGELÉK III.

Amint azt az I.részben már röviden emlitettük, az optikai adatfeldolgozó rendszerekben a be- és kimenőjelet fizikailag valamilyen transzparens anyagon / film, fotolemez / létrehozott intenzitáseloszlás testesiti meg. Az ilyen tipusu jelhordozók alapvető és mindegyikben közös összetevői az alap / filmanyag, üveglemez / és a fényérzékeny emulzió. Nyilvánvaló, hogy egy exponált és előhivott film, ill. fotolemez a beeső hullám fázisába egy, csakis a fotóanyag / alap + emulzió / gyártási sajátságaira jellemző, véletlenszerü eltolást visz be.

Az alaptól származó fázistorzitás az emulzió felvitele után már nem hozzáférhető, igy ezt az alapul szolgáló anyag lehető legtökéletesebb felületi megmunkálásával igyekeznek a minimumra csökkenteni. A megmaradó, az emulzió által okozott fázishiba kiküszöbölésére szolgáló legelterjedtebb módszer az u.n. "liquid-gate" / folyadékkapu / alkalmazása. Ez legegyszerübb változatában két, optikailag finomra csiszolt üvegfelületből áll, melyek közé az emulzióhoz törésmutatóban illesztett folyadékot töltenek, majd a filmnek az üveglapok közé helyezése után a rendszert lezárják / F.III.1. ábra/.



F.III.I.ábra. A folyadékkapu.

Mivel az emulzió egyenetlenségeit kitöltő folyadékra a fentiek szerint $n_{em.} \cong n_{folyadék}$ fennáll, azért végeredményben az igy összeépitett rendszer más csak egy helytől gyakorlatilag független tolást visz a beeső hullám fázisába, amely a téroperációk alól kiemelhető, és ezért a Wiener-spektrum képződésekor eltünik.

R E F E R E N C I Á K

K ö n y v e k

[1] A. Papoulis
The Fourier Integral and its Applications
McGraw-Hill Book Company, New-York, 1962.

[2] M.J. Lighthill
Introduction to Fourier Analysis and Generalized Functions
Cambridge University Press, New-York, 1960.

[3] R.N. Bracewell
The Fourier Transform and Its Applications
McGraw-Hill Book Company, New-York, 1965.

[4] D.C. Champeney
Fourier Transforms and their Physical Applications
Academic Press, New-York, 1973

[5] A. Papoulis
Systems and Transforms with Applications in Optics
McGraw-Hill Book Company, New-York, 1968

[6] M.Born, E. Wolf
Principles of Optics
Pergamon Press, London, 1975.

[7] J.W. Goodman
Introduction to Fourier Optics
McGraw-Hill Book Company, New-York, 1968.

[8] R.J. Collier, C.B. Burckhardt, L.H. Lin
Optical Holography
Academic Press, New-York, 1971.

[9] A.R. Shulman
Optical Data Processing
Wiley and Sons, Inc., New-York, 1971

[10] H.M. Smith ed.
Holographic Recording Materials
Springer-Verlag, New-York, 1977.

[11] E. Wolf ed.
Progress in Optics vol. VII.
North-Holland Publishing Company, London, 1969.

[12] E. Wolf ed.
Progress in Optics vol. XVI.
North-Holland Publishing Company, London, 1978.

Közlemények

[14] A. Vander Lugt
IEEE Trans. on Inf. Theory 10, 139-145, 1964.

[15] A. Vander Lugt
Proc. IEEE 62, 10, 1300-1319, 1974.

[16] A. Vander Lugt
Appl. Opt. 9, 1, 215-222, 1970.

[17] F.L. Lanzl, H. Heitman
IEEE Trans. on Computers 24, 4, 434-442, 1975.

[18] H. Stark
IEEE Trans. on Computers 24, 4, 340-347, 1975.

[19] D. Casasent, W.M. Sterling
IEEE Trans. on Computers 24, 4, 348-358, 1975.

[20] D. Casasent
EOSD 10, 2, 35-44, 1978.

[21] D. Casasent
EOSD 10, 4, 26-36, 1978.

[22] D. Casasent
EOSD 10, 6, 33-46, 1978.

[23] D. Psaltis, D. Casasent
Appl. Opt. 19, 9, 1546-1550, 1980.

[24] D.Casasent, D. Psaltis
Appl. Opt. 19, 12, 2034-2038, 1980.

[25] A. Iwamoto
Appl. Opt. 19, 2, 215-221, 1980.

[26] B.J.Pernick
Appl. Opt. 19,5, 754-760, 1980.

[27] P.C.Gupta, K.Singh
Appl. Opt. 15,9, 2233-2241, 1976.

[28] N. Abramson
Appl.Opt. 15,4, 1018-1023, 1976.

[29] T.Hirschfeld, G.Wijntjes
Appl. Opt. 13,8, 174o-1741, 1974.

[30] T.P.Sheahen
Appl. Opt. 14,4, 1004-1013, 1975.

[31] A.Armand et al.
Opt. Letters 5,3, 129-132, 1980.

[32] J.Mantock, A.A.Sawchuk, T.C.Strand
Opt. Eng. 19,2, 180-186, 1980.

[33] B.Braunecker, O.Bryngdahl
JOSA 70,2, 137-141, 1980.

[34] Preprints, International Congress on Optical Computing in Research and Developments, Visegrád, 1977.

[35] Kodak Plates and Films for Scientific Photography, Eastman Kodak Company, 1973.

[36] Koch P., előadás, "Növényvédőszer minősités kisérleti módszerei" konferencia, Budapest, 1979.

[37] Koch P., Cseh I., Birtalan I., Gáti I., Greguss P., előadás, Optika'80 konferencia, Budapest, 1980.

[38] B.J.Pernick, J.Lisa
Appl. Opt. 17,1, 21-42, 1978.

[39] AG ST8 TYP 258, Technische Daten, AGFA-GEVAERT, Mortsel, Belgien, 1978.