



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ  
ΗΛΕΚΤΡΟΟΠΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΩΝ ΥΛΙΚΩΝ

## Υπολογισμός Οπτικών Ιδιοτήτων Αρτηριών Από Φασματοσκοπικές Μετρήσεις

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

του

**Δημητρίου Σ. Γκόρπα**

**Επιβλέπων :** Διδώ Γιόβα,  
Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Οκτώβριος 2003





ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ  
ΗΛΕΚΤΡΟΟΠΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΩΝ ΥΛΙΚΩΝ

## Υπολογισμός Οπτικών Ιδιοτήτων Αρτηριών Από Φασματοσκοπικές Μετρήσεις

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

του

**Δημητρίου Σ. Γκόρπα**

**Επιβλέπων :** Διδώ Γιόβα  
Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή την ..... Οκτωβρίου 2003.

.....  
Διδώ Γιόβα  
Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

.....  
Δημήτριος Κουτσούρης  
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

.....  
Κυριάκος Χιντζανίδης  
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Οκτώβριος 2003

.....  
Δημήτριος Σ. Γκόρπας

Διπλωματούχος Ηλεκτρολόγος Μηχανικός και Μηχανικός Υπολογιστών Ε.Μ.Π.

Copyright © Δημήτριος Σ. Γκόρπας, 2003

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Αντικείμενο της παρούσης εργασίας αποτελεί η μελέτη των Οπτικών Ιδιοτήτων αρτηριών, Υγιών και Αθηροσκληρωτικών, βασιζόμενη σε φασματοσκοπικές μετρήσεις. Περαιτέρω στόχος της εργασίας είναι η ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού διαγνωστικού αλγορίθμου για την ασθένεια της αθηροσκλήρωσης, η λειτουργία του οποίου έγκειται στις οπτικές ιδιότητες των αρτηριών.

Οι καρδιοαγγειακές ασθένειες, άμεσα σχετιζόμενες με την βλάβη της αθηροσκλήρωσης, αποτελούν την πρωταρχική αιτία θανάτου σε παγκόσμιο επίπεδο. Η καλύτερη κατανόηση της παθοφυσιολογίας της αθηροσκλήρωσης αναμένεται να συμβάλλει άμεσα στην βελτίωση των υπαρχόντων θεραπευτικών αγωγών και ως εκ τούτου στη μείωση της αυξημένης θνησιμότητας που καταγράφεται σήμερα. Ποικίλες έρευνες έχουν αναγνωρίσει αρκετούς νέους παράγοντες κινδύνου που επιβαρύνουν την βλάβη αυτή, ενώ ιδιαίτερη έμφαση δίδεται τα τελευταία πέντε χρόνια στην λειτουργία της φλεγμονής ως πρωτεύον παράγοντα παθογένεσης της αθηροσκλήρωσης. Όλη αυτή η γνώση συγκλίνει στην επιτακτική ανάγκη σαφέστερης διάγνωσης της ασθένειας, καθώς η διάγνωσή της κρίνεται από πολλούς επιστήμονες ως ο καλύτερος τρόπος αντιμετώπισής της.

Στην παρούσα εργασία αρχικά συλλέχθηκαν τα φάσματα διέλευσης και ανάκλασης στην υπεριώδη και ορατή περιοχή του οπτικού φάσματος, υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών. Χρησιμοποιώντας τις μετρήσεις αυτές κι επιλύοντας το αντίστροφο μοντέλο των Kubelka-Munk για τη διάδοση του φωτός σε ιστούς υπολογίστηκαν οι διάχυτοι συντελεστές απορρόφησης και σκέδασης για τις δύο κατηγορίες αρτηριών. Υπολογίστηκε ακόμα η ανάκλαση των αρτηριών στο άπειρο, δηλαδή η ανάκλαση που θα εμφάνιζαν οι αρτηρίες εάν το πάχος τους ήταν άπειρο. Εν συνεχεία, επιλέγονται κατάλληλες διαγνωστικές παράμετροι με σκοπό το διαχωρισμό των υγιών αρτηριών από τις αθηροσκληρωτικές. Συγκεκριμένα αρχικά χρησιμοποιήθηκε ως διαγνωστική παράμετρος ο λόγος της ανάκλασης προς την ανάκλαση στο άπειρο. Η κλίση που εμφανίζει ο λόγος αυτός στα 390 και 440 nm διαχωρίζει αποτελεσματικά τις υγιείς από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες. Στατιστική ανάλυση των κλίσεων στα δύο μήκη κύματος που παρατηρούνται οι σημαντικότερες διαφοροποιήσεις οριοθετεί τις περιοχές εκείνες που χαρακτηρίζουν κάποια αρτηρία ως υγιή ή αθηροσκληρωτική.

Το παραπάνω διαγνωστικό μοντέλο παρουσιάζει όμως ένα σημαντικό μειονέκτημα, καθώς απαιτεί την αφαίρεση της αρτηρίας, κάνοντας έτσι ανέφικτες τις *in vivo* μετρήσεις. Μία δεύτερη διαγνωστική παράμετρος η οποία προτείνεται είναι ο λόγος των ανακλάσεων του κάθε δείγματος προς την ανάκλαση αναφοράς. Αποτελεσματικός διαχωρισμός των υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών αποδεικνύεται μετά από στατιστική ανάλυση ότι πραγματοποιείται στα 370 και 500 nm. Ο δεύτερος αυτός διαγνωστικός αλγόριθμος βασίζεται μόνο σε μετρήσεις ανάκλασης κι επομένως μπορεί να πραγματοποιηθεί και *in vivo*.

## **Λέξεις Κλειδιά**

Αθηροσκλήρωση, Οπτικές Ιδιότητες Ιστών, Μοντέλο Kubelka-Munk, Διάχυτος Συντελεστής Σκέδασης, Διάχυτος Συντελεστής Απορρόφησης, Διέλευση, Ανάκλαση, Φασματοφωτόμετρο, Στατιστικός Έλεγχος και Διαχωρισμός Πληθυσμών.

## **ABSTRACT**

The object of the present thesis is the study of Optical Properties of the Arteries, Healthy and Atherosclerotic, based on spectroscopic measurements. Further object of this thesis is the development of a sufficient diagnostic algorithm for the disease of atherosclerosis, the function of which lies in the optical properties of arteries.

The cardiovascular diseases, directly related with the lesion of atherosclerosis, constitute the fundamental cause of death worldwide. A better understanding of the pathophysiology of atherosclerosis is expected to contribute immediately in the improvement of existing treatments and consequently in the reduction of increased mortality that is recorded today. Various researches have identified several new risk factors that overload this lesion, while particular emphasis during the last five years has been placed on the presence of inflammation as being leading factor of pathogenesis of atherosclerosis. All this knowledge converges in the imperative need of more explicit diagnosis of illness, as its diagnosis is judged by a lot of scientists as the best way of treatment.

Transmission and Reflectance spectra, in the ultraviolet and visible region, were recorded for both healthy and atherosclerotic arteries. Using these measurements and solving the inverse model of Kubelka-Munk for light transportation in tissues, the diffuse absorption and scattering coefficients were calculated for the two groups of arteries. The arteries reflectance in infinity, that is the reflectance that arteries would present if their thickness was infinity, was also calculated.

Furthermore, in the current thesis, appropriate diagnostic parameters were chosen in order to discriminate healthy arteries from atherosclerotic ones. More specific, the first diagnostic parameter used was the ratio of reflectance to the reflectance in infinity. The gradient of this ratio to 390 and 440 nm effectively separates healthy from atherosclerotic arteries. Statistical analysis of the gradients in the two wavelengths that the more important differentiations are observed delimits those areas that characterize an artery as healthy or atherosclerotic.

The previous diagnostic model presents, however, an important disadvantage, as it requires removal of the artery making in vivo measurements impossible. A second diagnostic parameter, proposed in the present thesis is the ratio of reflectance to the reflectance baseline for each sample. Effective discrimination of healthy and atherosclerotic arteries, after statistical analysis, is achieved at 370 and 500 nm. This diagnostic algorithm is based only in reflectance measurements so it can be used also in vivo.

## **Keywords**

Atherosclerosis, Tissue Optical Properties, Kubelka-Munk Model, Diffuse Scattering Coefficient, Diffuse Absorption Coefficient, Transmission, Reflection, Spectrophotometer, Statistical Testing and Discrimination of Populations.

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Ο συντάκτης της παρούσης εργασίας θα επιθυμούσε να ευχαριστήσει θερμά την καθηγήτρια του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου κ. Διδώ Γιόβα για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος και την θεωρητική καθοδήγηση. Επίσης για την εμπιστοσύνη που επέδειξε στο πρόσωπό του που αποτέλεσε σημαντικότερο κίνητρο για την απόλυτη αφοσίωσή του στην εν λόγω έρευνα.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ ανήκει αδιαμφισβήτητα στην κ. Ελένη Αλεξανδράτου για την συνεπικουρία στην επιστημονική καθοδήγηση και την άψογη συνεργασία καθόλη τη διάρκεια σύνταξης της εργασίας. Χωρίς την δική της συμβολή, η επιτυχής έκβαση της έρευνας θα ήταν το λιγότερο υπερβολικά χρονοβόρα. Ευχαριστώ επίσης τον κ. Κώστα Πολιτόπουλο που με τις προτάσεις του διευκόλυνε άμεσα το έργο του συντάκτη.

Τέλος ο συντάκτης ευχαριστεί και όλους τους υπόλοιπους ανθρώπους του εργαστηρίου Βιοϊατρικής Οπτικής και Εφαρμοσμένης Βιοφυσικής του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου για την φιλική ατμόσφαιρα που καλλιεργήθηκε, την ανοχή τους και την παροχή πρόσβασης σε υπολογιστικές και ερευνητικές διατάξεις του εργαστηρίου.





## Περιεχόμενα

1. Αθηροσκλήρωση.....	17
1.1 Εισαγωγή .....	17
1.2 Αθηροσκλήρωση και Πληθυσμός.....	18
1.3 Δομή και Σύσταση Αρτηριακού Τοιχώματος.....	20
1.4 Παθοφυσιολογία της Αθηροσκλήρωσης .....	21
1.5 Παράγοντες Κινδύνου.....	24
1.6 Περιορισμός του Κινδύνου Εμφάνισης Αθηροσκλήρωσης.....	28
1.7 Διάγνωση .....	29
2. Οπτικές Ιδιότητες Ιστών .....	33
2.1 Εισαγωγή .....	33
2.2 Οπτικές Ιδιότητες Ιστών .....	34
2.2.1 Ποσότητες Με Διαστάσεις.....	36
2.2.1.1 Συντελεστής Απορρόφησης.....	36
2.2.1.2 Συντελεστής Σκέδασης .....	37
2.2.1.3 Βάθος Διείσδυσης.....	37
2.2.1.4 Ολικός Συντελεστής Εξασθένησης.....	37
2.2.1.5 Εκπεμπόμενη Ακτινοβολία (Radiance) .....	38
2.2.1.6 Πυκνότητα Ροής Ακτινοβολίας (Radiant Flux Density) .....	38
2.2.2 Αδιάστατες Ποσότητες .....	38
2.2.2.1 Albedo.....	38
2.2.2.2 Οπτικό Βάθος.....	39
2.3 Συνάρτηση Φάσης.....	39
2.4 Μοντελοποίηση της Διάδοσης Φωτονίου σε Ιστό.....	41
2.4.1 Εισαγωγή .....	41
2.4.2 Η Εξίσωση Μεταφοράς .....	42
2.4.3 Ντετερμινιστικά Μοντέλα .....	43
2.4.3.1 Η Προσέγγιση Διάχυσης στην RTE .....	43
2.4.3.1.1 Αναλυτικές Λύσεις .....	44
2.4.3.1.2 Αριθμητικές Λύσεις.....	45
2.4.3.2 Η Μέθοδος Kubelka & Munk.....	46
2.4.3.3 Σκέδαση Πρώτης Τάξης .....	47
2.4.4 Στοχαστικά Μοντέλα .....	48
2.4.4.1 Monte Carlo .....	48
2.4.4.2 Random Walk .....	49
2.4.4.3 Adding-Doubling.....	50
3. Πειραματική Διαδικασία.....	53
3.1 Εισαγωγή .....	53
3.2 Πειραματική Διάταξη .....	54
3.2.1 Πηγές Φωτός.....	55
3.2.2 Μονοχρωμάτορας .....	55
3.2.3 Σφαίρα Ολοκλήρωσης .....	56
3.2.4 Ανιχνευτές.....	56
3.2.5 Οπτικά Μεταφοράς.....	56
3.3 Θεωρία Λειτουργίας Φασματοφωτομέτρου .....	56
3.4 Λογισμικό .....	58

3.5	Πρωτόκολλο Διαχείρισης Δειγμάτων .....	59
3.6	Πειραματική Διαδικασία.....	60
4.	Υπολογιστικό Μοντέλο .....	63
4.1	Εισαγωγή .....	63
4.2	Επιλογή Μεθόδου .....	63
4.3	Απόδειξη Μοντέλου Kubelka-Munk .....	65
4.4	Υπολογισμός Οπτικών Ιδιοτήτων των Δειγμάτων .....	72
5.	Αποτελέσματα.....	75
5.1	Εισαγωγή .....	75
5.2	Φάσματα Διέλευσης και Ανάκλασης.....	75
5.3	Διάχυτοι Συντελεστές Σκέδασης και Απορρόφησης .....	81
5.4	Στατιστική Ανάλυση.....	86
5.4.1	KS-TEST.m .....	88
5.4.2	F-TEST.m .....	90
5.4.3	T-TEST.m .....	91
5.5	Πρώτη Διαγνωστική Μέθοδος.....	91
5.5.1	Έλεγχος Κατανομής Πληθυσμών .....	95
5.5.1.1	Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Αθηροσκληρωτικών Δειγμάτων (390 nm).....	95
5.5.1.2	Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Αθηροσκληρωτικών Δειγμάτων (440 nm).....	96
5.5.1.3	Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Υγιών Δειγμάτων (390 nm).....	96
5.5.1.4	Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Υγιών Δειγμάτων (440 nm).....	97
5.5.2	Αμφίπλευρος Έλεγχος Ισότητας Διασπορών Κανονικών Πληθυσμών .....	98
5.5.2.1	Έλεγχος Ισότητας Διασπορών Κανονικών Πληθυσμών (390 nm).....	98
5.5.2.2	Έλεγχος Ισότητας Διασπορών Κανονικών Πληθυσμών (440 nm).....	98
5.5.3	Αμφίπλευρος Έλεγχος Ισότητας Μέσων Κανονικών Πληθυσμών με Άγνωστη αλλά Κοινή Διασπορά.....	98
5.5.3.1	Έλεγχος Ισότητας Μέσων Κανονικών Πληθυσμών με Άγνωστη αλλά Κοινή Διασπορά (390 nm).....	99
5.5.3.2	Έλεγχος Ισότητας Μέσων Κανονικών Πληθυσμών με Άγνωστη αλλά Κοινή Διασπορά (440 nm).....	99
5.5.4	Διαχωρισμός Πληθυσμών .....	99
5.5.4.1	Διαχωρισμός στα 390 nm .....	100
5.5.4.2	Διαχωρισμός στα 440 nm .....	100
5.5.4.3	Διαχωρισμός Πληθυσμών και για τα Δύο Μήκη Κύματος .....	101
5.6	Δεύτερη Διαγνωστική Μέθοδος .....	103
5.6.1	Στατιστικός Έλεγχος.....	105
5.6.1.1	Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Αθηροσκληρωτικών Δειγμάτων (370 nm).....	105
5.6.1.2	Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Αθηροσκληρωτικών Δειγμάτων (500 nm).....	106
5.6.1.3	Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Υγιών Δειγμάτων (370 nm).....	106
5.6.1.4	Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Υγιών Δειγμάτων (500 nm).....	107
5.6.1.5	Έλεγχος Ισότητας Διασπορών Κανονικών Πληθυσμών (370 nm)....	107
5.6.1.6	Έλεγχος Ισότητας Διασπορών Κανονικών Πληθυσμών (500 nm)....	107

5.6.1.7 Έλεγχος Ισότητας Μέσων Κανονικών Πληθυσμών με Άγνωστη αλλά Κοινή Διασπορά (370 nm).....	108
5.6.1.8 Έλεγχος Ισότητας Μέσων Κανονικών Πληθυσμών με Άγνωστη αλλά Κοινή Διασπορά (500 nm).....	108
5.6.2 Διαχωρισμός Πληθυσμών.....	108
5.6.2.1 Διαχωρισμός στα 370 nm.....	108
5.6.2.2 Διαχωρισμός στα 500 nm.....	109
5.6.2.3 Διαχωρισμός Πληθυσμών και για τα Δύο Μήκη Κύματος.....	109
6. Συζήτηση.....	111
Βιβλιογραφία.....	115
Παράρτημα.....	117



## Λίστα Σχημάτων

1.1 Θάνατοι από ασθένειες της καρδιάς Η.Π.Α. : 1900-2000 .....	18
1.2 Τάσεις θνησιμότητας από καρδιοαγγειακές παθήσεις Η.Π.Α. : 1979-2000.....	20
1.3 Σχηματικό διάγραμμα τοιχώματος αρτηρίας σε διατομή .....	21
1.4 Πρόοδος αθηρωματικού γεγονότος (ΟΣΣ: Οξύ Στεφανιαίο Σύνδρομο, ΠΠΕ: Παροδικό Ισχαιμικό Εγκεφαλικό, ΑΕΕ: Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο) .....	24
1.5 α. Φυσιολογική αρτηρία. β. Αρτηρία με τον αυλό αποφραγμένο κατά το ήμισυ. Είναι εμφανής μία μικρή περιοχή αποτιτάνωσης στην πλάκα, δεξιά. γ. Η αρτηρία είναι αποφραγμένη κατά 60 με 70%. δ. Η αρτηρία αυτή βρίσκεται στο στάδιο V της αθηροσκλήρωσης. Παρατηρείται οργάνωση του θρόμβου κι επαναπροσδιορισμός του καναλιού, έτσι ώστε να παραμένουν μόνο τρεις μικροί αυλοί .....	25
2.1 Το Ηλεκτρομαγνητικό Φάσμα .....	33
2.2 Ιεραρχία Υπερδομής .....	35
2.3 Διάγραμμα που απεικονίζει την διάχυτη διάδοση του φωτός μέσω ενός πυκνού τμήματος ιστού. Μία στενή δέσμη εισόδου από παλμικό φως εγχέεται και διασκορπίζεται μόνιμα και χωρικά λόγω πολλαπλών γεγονότων σκέδασης. Οι ισχυρά εξασθενημένοι παλμοί εξόδου διευρύνονται χάρη στην ποικιλία των χρόνων πτήσης των φωτονίων .....	42
2.4 Ένα TPSF (δεξιά) υπολογιζόμενο από την συνάρτηση του Green για μία άπειρη πλάκα (αριστερά) .....	45
3.1 Φασματοφωτόμετρο.....	54
4.1 Υποθετικό δείγμα του μοντέλου των Kubelka και Munk.....	65
4.2 Διάγραμμα Ροής Λειτουργίας Αλγορίθμου Kubelka_Munk .....	74
5.1 Φάσματα Διέλευσης υγιών αρτηριών αποθηκευμένων σε υγρό άζωτο (H1-H7) και σε φορμόλη (H1F, H2F) .....	75
5.2 Φάσματα Ανάκλασης υγιών αρτηριών αποθηκευμένων σε υγρό άζωτο (H1-H7) και σε φορμόλη (H1F, H2F) .....	76
5.3 Φάσματα Διέλευσης αθηροσκληρωτικών αρτηριών αποθηκευμένων σε υγρό άζωτο (A1-A4).....	77
5.4 Φάσματα Ανάκλασης αθηροσκληρωτικών αρτηριών αποθηκευμένων σε υγρό άζωτο (A1-A4).....	78
5.5 Φάσματα Διέλευσης υγιών (H1-H7) και αθηροσκληρωτικών (A1-A4) αρτηριών.....	78
5.6 Φάσματα Ανάκλασης υγιών (H1-H7) και αθηροσκληρωτικών (A1-A4) αρτηριών .....	79
5.7 Ομαδοποιημένα Φάσματα Διέλευσης υγιών (H) και αθηροσκληρωτικών (A) αρτηριών .....	80
5.8 Ομαδοποιημένα Φάσματα Ανάκλασης υγιών (H) και αθηροσκληρωτικών (A) αρτηριών .....	80
5.9 Συντελεστές Απορρόφησης υγιών αρτηριών (H1-H7) .....	81
5.10 Συντελεστές Σκέδασης υγιών αρτηριών (H1-H7) .....	82
5.11 Συντελεστές Απορρόφησης αθηροσκληρωτικών αρτηριών (A1-A4) .....	82
5.12 Συντελεστές Σκέδασης αθηροσκληρωτικών αρτηριών (A1-A4) .....	83
5.13 Συντελεστές Απορρόφησης υγιών (H1-H7) και αθηροσκληρωτικών (A1-A4) αρτηριών .....	84
5.14 Συντελεστές Σκέδασης υγιών (H) και αθηροσκληρωτικών (A) αρτηριών.....	84
5.15 Ομαδοποιημένοι Συντελεστές Απορρόφησης υγιών (H) και αθηροσκληρωτικών (A) αρτηριών.....	85

5.16 Ομαδοποιημένοι Συντελεστές Σκέδασης υγιών (H) και αθηροσκληρωτικών (A) αρτηριών .....	85
5.17 Ομαδοποιημένα Φάσματα Ανάκλασης $R_{\infty}$ .....	92
5.18 Ομαδοποιημένα Φάσματα Λόγου Ανακλάσεων .....	93
5.19 Κλίσεις Φασμάτων Λόγου Ανακλάσεων .....	93
5.20 Κατανομή των κλίσεων στα 390 και 440 nm .....	95
5.21 Διαγνωστικός Αλγόριθμος διαχωρισμού υγιών από αθηροσκληρωτικές αρτηρίες βασιζόμενος στην κλίση του $R/R_{\infty}$ για 2 μήκη κύματος.....	102
5.22 Κανονικοποιημένα Φάσματα Ανάκλασης ως προς τα 800 nm .....	103
5.23 Λόγοι Ανακλάσεων στα 370 και 500 nm .....	104
5.24 Διαγνωστικός Αλγόριθμος διαχωρισμού υγιών από αθηροσκληρωτικές αρτηρίες βασιζόμενος στον λόγο $R/R_{800}$ για 2 μήκη κύματος.....	110

## Λίστα Πινάκων

1.1 Πρόοδος στεφανιαίας αθηροσκλήρωσης.....	24
1.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την εμφάνιση της αθηροσκλήρωσης.....	28
1.3 Μηχανισμοί Πρόληψης.....	29
1.4 Επιπλοκές Αγγειογραφίας.....	30
3.1 Μέθοδοι Φασματοφωτομετρίας.....	58
3.2 Κατανομή των δειγμάτων μετά από την ιστολογική εξέταση.....	59
5.1 Κλίσεις & χαρακτηριστικά μεγέθη φασμάτων λόγου ανακλάσεων στα 390 και 440 nm.....	94
5.2 Kolmogorov-Smirnov τεστ για τα αθηρ/τικά δείγματα στα 390 nm.....	95
5.3 Kolmogorov-Smirnov τεστ για τα αθηρ/τικά δείγματα στα 440 nm.....	96
5.4 Kolmogorov-Smirnov τεστ για τα υγιή δείγματα στα 390 nm.....	97
5.5 Kolmogorov-Smirnov τεστ για τα υγιή δείγματα στα 440 nm.....	97
5.6 Λόγοι & χαρακτηριστικά μεγέθη φασμάτων λόγων ανάκλασης στα 390 και 440 nm.....	105
5.7 Kolmogorov-Smirnov τεστ για τα αθηρ/τικά δείγματα στα 370 nm.....	105
5.8 Kolmogorov-Smirnov τεστ για τα αθηρ/τικά δείγματα στα 500 nm.....	106
5.9 Kolmogorov-Smirnov τεστ για τα υγιή δείγματα στα 370 nm.....	106
5.10 Kolmogorov-Smirnov τεστ για τα υγιή δείγματα στα 500 nm.....	107





## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ** **ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗ**

### **1.1 Εισαγωγή**

Οι όροι αθηροσκλήρωση και αθήρωμα προέρχονται από τις Ελληνικές λέξεις αθήρη ή αθήρη (που σημαίνει εξαντλητικός), σκληρός και ώμα (που σημαίνει μάζα). Οι όροι αυτοί περιγράφουν επακριβώς τη φύση των προχωρημένων βλαβών που χαρακτηρίζουν αυτή την εκφυλιστική και φλεγμονώδη ασθένεια των αρτηριών.

Μέχρι πριν από πέντε χρόνια οι περισσότεροι γιατροί θα μπορούσαν να περιγράψουν με βεβαιότητα την αθηροσκλήρωση ως ένα καθαρά υδραυλικό πρόβλημα: λιπώδεις εναποθέσεις βαθμηδόν αναπτύσσονται στα τοιχώματα των αρτηριών. Αν μία λιπώδης εναπόθεση (αθηρωματική πλάκα) αναπτυχθεί αρκετά, φράζει τελικά τον αυλό της αρτηρίας, εμποδίζοντας το αίμα να φτάσει στον ιστό για τον οποίο προορίζεται. Ύστερα από λίγο, ο ιστός, που “διψά” για αίμα, νεκρώνεται. Όταν ένα τμήμα του μυοκαρδίου ή του εγκεφάλου νεκρωθεί, σημειώνεται καρδιακή προσβολή ή εγκεφαλικό επεισόδιο.

Όμως, ελάχιστοι πιστεύουν πια αυτή την ερμηνεία. Έρευνες που έχουν αρχίσει εδώ και πάνω από είκοσι χρόνια, έχουν αποδείξει ότι οι αρτηρίες παρουσιάζουν ελάχιστες ομοιότητες με τους άψυχους σωλήνες. Περιέχουν ζωντανά κύτταρα που επικοινωνούν συνεχώς μεταξύ τους και με το περιβάλλον τους. Αυτά τα κύτταρα συμμετέχουν στην ανάπτυξη αθηρωματικών πλακών, που σχηματίζονται μέσα και όχι στα τοιχώματα των αγγείων. Επιπλέον, εμφανίζεται μία διαταραχή της λειτουργίας τους, με αποτέλεσμα να μην αποβάλλονται τα αθηρωματικά λιπίδια από το αρτηριακό τοίχωμα [Williams, 1995]. Σχετικά λίγες από τις πλάκες αυτές αναπτύσσονται τόσο πολύ μέσα στον αυλό του αγγείου, ώστε να συρρικνώνουν τη ροή του αίματος στο ελάχιστο δυνατό. Αντίθετα, οι περισσότερες καρδιακές προσβολές και πολλά εγκεφαλικά επεισόδια οφείλονται σε λιγότερο ογκώδεις πλάκες που σπάζουν ξαφνικά, πυροδοτώντας το σχηματισμό θρόμβου, που διακόπτει τη ροή του αίματος.

Η έρευνα απέδειξε, επίσης, το ρόλο-κλειδί που παίζει η φλεγμονή στην αθηροσκλήρωση. Η διαδικασία αυτή –η ίδια που κάνει τις μολυσμένες πληγές να κοκκινίζουν, να πρήζονται, να καίνε και να πονούν– βρίσκεται πίσω από κάθε φάση της νόσου, από τη δημιουργία των πλακών μέχρι την ανάπτυξη και τη ρήξη τους. Όταν εισβάλλουν μικρόβια στον οργανισμό και απειλούν να του προξενήσουν βλάβη, η φλεγμονή βοηθά στην αποτροπή της λοίμωξης. Στην περίπτωση της αθηροσκλήρωσης, ωστόσο, η φλεγμονή αποδεικνύεται επικίνδυνη. Με άλλα λόγια, το ίδιο το αμυντικό σύστημα του οργανισμού βομβαρδίζει με φιλικά “πυρά”, ανάλογα με ότι συμβαίνει σε πιο γνωστές φλεγμονώδεις καταστάσεις, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα [Libby, 2002].

Συνδυάζοντας αυτές τις δύο, όχι ανεξάρτητες μεταξύ τους, θεωρίες σχετικά με την προέλευση της αθηροσκλήρωσης, δηλαδή την εναπόθεση λίπους συνοδευόμενη από μία διαταραχή στην αποβολή του από το αρτηριακό τοίχωμα και τη θεωρία της φλεγμονής, προκύπτουν νέοι τρόποι για την ανίχνευση και τη θεραπεία της

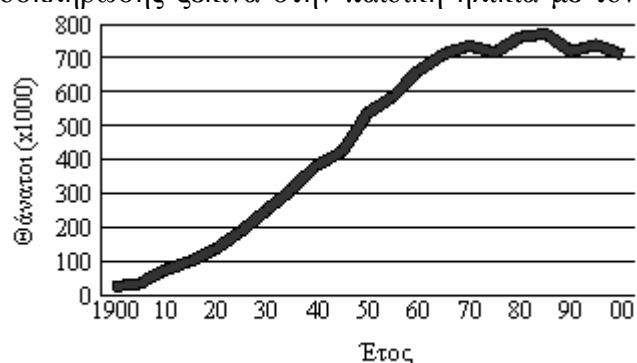
ασθένειας. Δίνεται, επίσης, λύση σε κάποια ανησυχητικά αινίγματα –και κυρίως στο γιατί πολλές καρδιακές προσβολές χτυπούν χωρίς προειδοποίηση και γιατί ορισμένες θεραπείες που έχουν σκοπό να αποτρέψουν τις καρδιακές προσβολές συχνά αποτυγχάνουν. Είναι επιτακτική ανάγκη να σημειωθεί πρόοδος στον τομέα της πρόληψης, της ανίχνευσης και της θεραπείας της αθηροσκλήρωσης καθώς αντίθετα με την κοινή αντίληψη, οι καρδιακές προσβολές και τα εγκεφαλικά επεισόδια που οφείλονται σε αυτή τη πάθηση ξεπερνούν τον καρκίνο ως αιτία θανάτου στις ανεπτυγμένες χώρες κι εξαπλώνονται όλο και περισσότερο στις αναπτυσσόμενες.

Μάλιστα, το 2000 οι θάνατοι στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής λόγω καρδιαγγειακών παθήσεων άγγιξαν τους 709,000 (160,000 περισσότεροι από ότι οι θάνατοι προερχόμενοι από τον καρκίνο), σε ένα σύνολο 2.4 εκατομμυρίων θανάτων. Επιπροσθέτως, σε παγκόσμιο επίπεδο περίπου 16.6 εκατομμύρια άνθρωποι πεθαίνουν ετησίως από ασθένειες σχετιζόμενες άμεσα με την αθηροσκλήρωση (το 2001 ο αριθμός αυτός άγγιξε το ένα τρίτο του συνολικού παγκόσμιου αριθμού θανάτων), ενώ 600 εκατομμύρια άνθρωποι με υψηλή πίεση κινδυνεύουν να πάθουν καρδιακή προσβολή, εγκεφαλικό ή καρδιακή ανεπάρκεια. Έρευνες σε δείγματα στεφανιαίων αρτηριών που παρουσιάζουν προχωρημένες αθηροσκληρωτικές αλλοιώσεις κατέδειξαν ότι το 20% των περιπτώσεων ανήκει σε ομάδες δειγμάτων ατόμων ηλικίας από 20 έως 24 ετών, ενώ το 35% σε άτομα από 25 έως 29 ετών. Εκτός, όμως, από το κόστος σε ανθρώπινες ζωές, η αθηροσκλήρωση επιβαρύνει σημαντικά και την παγκόσμια οικονομία. Υπολογίζεται ότι σε ετήσια βάση η αθηροσκλήρωση στοιχίζει στην οικονομία εκατό δισεκατομμύρια δολάρια [AHA, 2003a; AHA, 2003b; NHLBI, 2002].

## 1.2 Αθηροσκλήρωση και Πληθυσμός

Η πραγματική συχνότητα της αθηροσκλήρωσης είναι δύσκολο, εάν όχι αδύνατο, να καθοριστεί επακριβώς, διότι αποτελεί μία δεσπόζουσα ασυμπτωματική κατάσταση. Η διαδικασία της αθηροσκλήρωσης ξεκινά στην παιδική ηλικία με τον σχηματισμό των λιπαρών λωρίδων. Οι βλάβες αυτές μπορούν να βρεθούν στην αορτή αμέσως μετά την γέννηση και φαίνεται να αυξάνουν σε αριθμό κατά την ηλικία των 8 με 18 ετών. Πιο ανεπτυγμένες βλάβες ξεκινούν να σχηματίζονται όταν το άτομο είναι περίπου 25 ετών. Μεταγενέστερα, μία αυξανόμενη διαδικασία των πιο ανεπτυγμένων, περίπλοκων, βλαβών της αθηροσκλήρωσης λαμβάνει χώρα και οι κλινικές εκδηλώσεις της ασθένειας, άμεσα σχετιζόμενες με κάποιο συγκεκριμένο όργανο, κορυφώνονται κατά τη διάρκεια της πέμπτης κι έκτης δεκαετίας της ζωής.

Στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, περίπου 1.5 εκατομμύρια εμφράγματα συμβαίνουν ετησίως και περίπου 13 εκατομμύρια Αμερικανών έχουν



Σχήμα 1.1 : Θάνατοι από ασθένειες της καρδιάς Η.Π.Α. : 1900-2000

χρόνια ασθένεια των στεφανιαίων αρτηριών. Από τα άτομα άνω των 50 ετών, 30% έχουν κάποια απόδειξη για ασθένεια της αρτηρίας της καρωτίδας, ενώ οι αγγειοεγκεφαλικές ασθένειες ευθύνονται για περισσότερους από 200,000 θανάτους το χρόνο, μόνο στις Η.Π.Α. Καθημερινά, σχεδόν 2,600 Αμερικανοί πεθαίνουν από καρδιαγγειακές παθήσεις, γεγονός που μεταφράζεται σε ένα θάνατο κάθε 33 δευτερόλεπτα [Orford, 2003; AHA, 2003a].

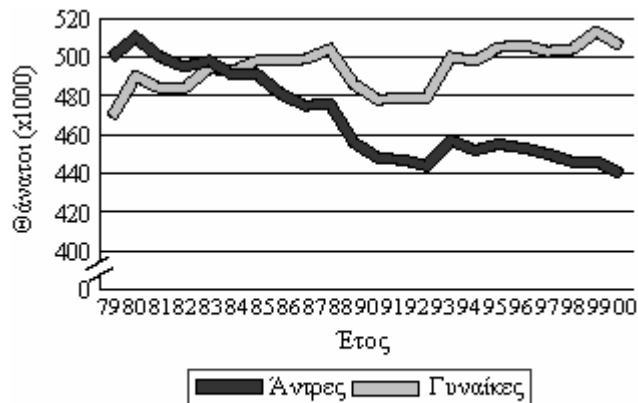
Ο δείκτης των κλινικών εκδηλώσεων της αθηροσκλήρωσης στην Μεγάλη Βρετανία, δυτικά της Σκωτίας πιο συγκεκριμένα, είναι εξαιρετικά υψηλός. Το 2001 περισσότεροι από 240,000 βρετανοί πέθαναν από καρδιαγγειακές παθήσεις, ενώ στην Γλασκόβη εμφανιζόταν το μεγαλύτερο ποσοστό περιστατικών, σε παγκόσμιο επίπεδο, για τις γυναίκες. Το ίδιο υψηλός είναι στην Φιλανδία (το υψηλότερο ποσοστό περιστατικών για τους άντρες), συγκεκριμένα, αλλά και στις υπόλοιπες Σκανδιναβικές χώρες, γενικότερα. Για την Ευρωπαϊκή Ένωση οι παθήσεις που οφείλονται στην αθηροσκλήρωση θεωρούνται ως ο πρωτεύον παράγοντας θανάτου, με περισσότερους από 1.5 εκατομμύρια ασθενείς να καταλήγουν κάθε χρόνο. Σχεδόν οι μισές (42%) περιπτώσεις θανάτου στην Ευρωπαϊκή Ένωση οφείλονται σε καρδιαγγειακές παθήσεις (46% για τις γυναίκες και 38% για τους άντρες) [AHA, 2003b].

Υπολογίζεται ότι 8 εκατομμύρια Καναδοί (ένας στους τέσσερις) έχει κάποιες μορφές καρδιαγγειακή πάθηση. Τα εγκεφαλικά επεισόδια, μόνο, ευθύνονται για περίπου 16,000 θανάτους ετησίως, ενώ επιβαρύνουν την οικονομία της χώρας με 2.7 δισεκατομμύρια το χρόνο. Η Ρωσία και πολλές χώρες της πρώην Σοβιετικής Ένωσης προσφάτως βίωσαν μία εκθετική αύξηση των περιπτώσεων καρδιακών παθήσεων, που πιθανώς να είναι το αποτέλεσμα της παγκόσμιας οικονομικής ύφεσης και κοινωνικής αναστάτωσης, της καθολικής επικράτησης του εθισμού στη νικοτίνη και μίας δίαιτας πλούσιας σε κορεσμένα λίπη. Ο αντίστοιχος δείκτης στην Άπω Ανατολή είναι σημαντικά χαμηλότερος από ότι στη Μέση, με χαρακτηριστικό παράδειγμα την περιοχή Beijing της Κίνας, όπου εμφανίζεται το χαμηλότερο ποσοστό περιστατικών στο σύνολο του παγκόσμιου πληθυσμού. Πρόσφατες μελέτες ανέδειξαν την ύπαρξη γενετικών παραγόντων για την καθιέρωση της διαφοράς αυτής, όμως αξιοσημείωτο ενδιαφέρον επικεντρώνεται στον ρόλο της διατροφής και άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων σχετικά με την απώλεια κλινικών εκδηλώσεων της αθηροσκλήρωσης στους πληθυσμούς αυτούς [Orford, 2003; AHA, 2003a].

Οι περιπτώσεις της ασθένειας της στεφανιαίας αρτηρίας σε πληθυσμούς εθνικών μειονοτήτων στις Η.Π.Α. αγγίζουν εκείνες των “λευκών”, υποστηρίζοντας έτσι τον ρόλο των περιβαλλοντικών παραγόντων. Τέλος, η αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή ασθένεια είναι σπάνια στην επικράτεια της Αφρικής, αν και υπάρχουν ολόένα και αυξανόμενες αποδείξεις ότι οι κλινικές περιπτώσεις πολλαπλασιάζονται ραγδαία, σαν αποτέλεσμα της βεβιασμένης δυτικοποίησης και αστικοποίησης των παραδοσιακών αγροτικών πληθυσμών.

Η αθηροσκλήρωση είναι περισσότερο κοινή ανάμεσα στους άντρες, από ότι είναι στις γυναίκες. Η επικράτησή της στους άντρες πιστεύεται ότι οφείλεται στις προστατευτικές επιδράσεις των ορμονών που υπάρχουν στο γυναικείο φύλο. Αυτή η

φυλετική διαφορά παύει να υφίσταται με την έναρξη της εμμηνόπαυσης στις γυναίκες. Οι περιπτώσεις καρδιακών παθήσεων ανάμεσα στις γυναίκες είναι ανάλογη προς εκείνες των ανδρών, μόνο που οι γυναίκες παρουσιάζουν μία χρονική καθυστέρηση περίπου 10 ετών στην εμφάνιση των κλινικών εκδηλώσεων.



Σχήμα 1.2 : Τάσεις θνησιμότητας από καρδιοαγγειακές παθήσεις, Η.Π.Α. : 1979-2000

Οι περισσότερες περιπτώσεις αθηροσκληρωτικών αγγειακών παθήσεων γίνονται κλινικά εμφανείς σε ασθενείς ηλικίας από 40 έως 70 ετών. Περίπου 150,000 Αμερικανών που πεθαίνουν κάθε χρόνο από καρδιοαγγειακές ασθένειες είναι κάτω των 65 ετών [AHA, 2003a].

### 1.3 Δομή και Σύσταση Αρτηριακού Τοιχώματος

Οι αρτηρίες ταξινομούνται σε δύο ευρείες κατηγορίες: τις μεγάλες ελαστικές αρτηρίες με διάμετρο αυλού περίπου 1 με 2 cm, όπως είναι η αορτή, και τις ενδιάμεσου μεγέθους μυϊκές αρτηρίες με διάμετρο αυλού περίπου 3 με 10 cm, όπως είναι οι στεφανιαίες. Το τοίχωμα των αρτηριών αποτελείται από τρεις χιτώνες, τον έσω, τον ενδιάμεσο και τον εξωτερικό χιτώνα.

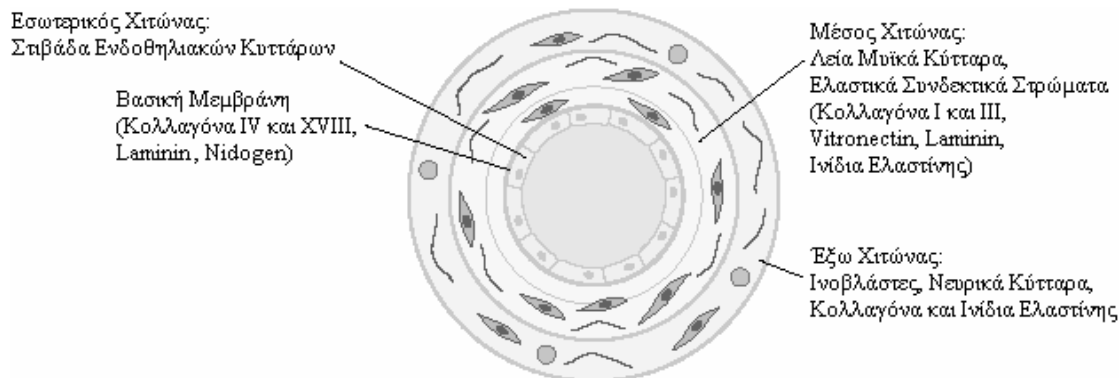
Ο έσω χιτώνας των υγιών στεφανιαίων αρτηριών αποτελείται από ευαίσθητο συνεκτικό ιστό κι ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά βρίσκονται επάνω σε μεμβράνη, η οποία αποτελείται από κολλαγόνο, που δημιουργεί συνεχείς συνδέσμους μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων και του συνδετικού ιστού, και πρωτεογλυκάνες. Κάτω από την μεμβράνη βρίσκονται ίνες κολλαγόνου, συνδεδεμένες κατά δέσμες. Έτσι, συνοψίζοντας, ο έσω χιτώνας αποτελείται από διάφορους τύπους κολλαγόνου (I, III, IV, V και VII), γλυκοπρωτεΐνες και υαλουρονικό οξύ. Το πάχος του δε, κυμαίνεται από 10 έως 50  $\mu\text{m}$ .

Ο μέσος χιτώνας περιέχει 50 έως 65 συγκεντρικά ελαστικά στρώματα, τα οποία αποτελούνται από λεία μυϊκά κύτταρα, ελαστικές ίνες και ινίδια κολλαγόνου. Οι τύποι κολλαγόνου που περιέχει ο χιτώνας αυτός είναι I, III, IV και V. Γλυκοπρωτεΐνες υπάρχουν και στις ίνες κολλαγόνου, σε διαλυτά σύμπλοκα με υαλουρονικό οξύ και συνδεδεμένα με λεία μυϊκά κύτταρα. Στις στεφανιαίες αρτηρίες ο μέσος χιτώνας εμφανίζει πάχος που κυμαίνεται μεταξύ 100 και 200  $\mu\text{m}$ , περιέχει κυρίως λεία μυϊκά κύτταρα κι εκλείπουν σε μεγάλο βαθμό οι ίνες ελαστίνης.

Ο έξω χιτώνας είναι η εξωτερική ελασματική μονάδα, ενώ τα εξωτερικά του όρια είναι συνεχόμενα με τον περιβάλλοντα συνδετικό ιστό. Αποτελείται από ινοβλάστες, ίνες κολλαγόνου μεγάλης διαμέτρου και γλυκοπρωτεΐνες.

Οι χιτώνες διαχωρίζονται από ελαστικές μεμβράνες: την έσω ελαστική μεμβράνη (IEL) μεταξύ έσω κι ενδιάμεσου χιτώνα και την εξωτερική ελαστική μεμβράνη μεταξύ μέσου κι εξωτερικού χιτώνα. Μία φυσιολογική παραλλαγή, η οποία

εμφανίζεται ακόμη και στις πολύ νεαρές ηλικίες, είναι η ύπαρξη ενός επιπλέον στρώματος μεταξύ του έσω και του ενδιάμεσου χιτώνα, το οποίο αποτελεί μυοελαστικό στρώμα και χαρακτηρίζεται από συσσωματώματα λείων μυών και συνδετικού ιστού.



**Σχήμα 1.3:** Σχηματικό διάγραμμα τοιχώματος αρτηρίας σε διατομή

Στο Σχήμα 1.3 παρουσιάζεται μία αρτηρία σε διατομή. Είναι εμφανή τα μέρη από τα οποία αποτελείται το τοίχωμα της αρτηρίας, καθώς και τα συστατικά στοιχεία του κάθε τμήματος.

Η αορτή και οι υπόλοιπες συστηματικές αρτηρίες, επομένως, έχουν λεπτά τοιχώματα που περιέχουν μεγάλες ποσότητες ελαστίνης. Παρόλη την παρουσία λείων μυών, μπορούν να θεωρηθούν ως ελαστικοί σωλήνες. Καθώς οι αρτηρίες έχουν μεγάλη ακτίνα λειτουργούν ως σωλήνες χαμηλής αντίστασης, που άγουν το αίμα στα διάφορα όργανα. Η δεύτερη κύρια λειτουργία τους, που σχετίζεται με την ελαστικότητά τους, είναι να δρουν ως “δεξαμενή πίεσης” για την διατήρηση της αιματικής ροής μέσω των ιστών κατά την διαστολή [Vander, 2001].

#### **1.4 Παθοφυσιολογία της Αθηροσκλήρωσης**

Η αθηροσκλήρωση είναι μία ασθένεια των μεγάλων και μεσαίων μυϊκών αρτηριών και χαρακτηρίζεται από ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, αγγειακή φλεγμονή και από συγκέντρωση λιπιδίων, χοληστερόλης, ασβεστίου και κυτταρικών υπολοίπων μέσα στον εσωτερικό χιτώνα του τοιχώματος των αρτηριών. Αυτή η συγκέντρωση οδηγεί στον σχηματισμό πλάκας, κυτταρική αναδιαμόρφωση, οξεία και χρόνια απόφραξη του αυλού, ανωμαλίες στην αιματική ροή κι ελάττωση της οξυγόνωσης των διαφόρων οργάνων. Μία πολύπλοκη και ατελώς κατανοητή αλληλεπίδραση υπάρχει μεταξύ των σημαντικών κυτταρικών στοιχείων της αθηροσκληρωτικής βλάβης. Αυτά τα κυτταρικά στοιχεία είναι ενδοθηλιακά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα, αιμοπετάλια και λευκά αιμοσφαίρια. Η αγγειοκινητική λειτουργία, η θρομβογένωση του αίματος του αγγειακού τοιχώματος, η κατάσταση ενεργοποίησης των αντιπηκτικών μηχανισμών, το ινωδολυτικό (fibrinolytic) σύστημα, η μετανάστευση και ο πολλαπλασιασμός των λείων μυϊκών κυττάρων και η κυτταρική φλεγμονή αποτελούν περίπλοκες και αλληλένδετες βιολογικές διαδικασίες που συμβάλουν στην αθηρογένεση και την κλινική εκδήλωση της αθηροσκλήρωσης [Orford, 2003].

Οι μηχανισμοί της αθηρογένεσης παραμένουν αβέβαιοι. Η “αντίδραση-στον-τραυματισμό” (“response-to-injury”) είναι η πιο κοινώς αποδεκτή θεωρία. Ο ενδοθηλιακός τραυματισμός προκαλεί αγγειακή φλεγμονή και μία αυξητική αντίδραση του ινωδογόνου επακολουθεί. Τα πιθανά αίτια του ενδοθηλιακού τραυματισμού περιλαμβάνουν οξειδωμένα χοληστερίνη λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (ox-LDL), λοιμώδεις παράγοντες, τοξίνες (συμπεριλαμβανομένου των παραπροϊόντων του καπνίσματος), υπεργλυκαιμία και υπερομοκυστεϊναιμία. Τα μονοκύτταρα, φλεγμονώδη κύτταρα, που κυκλοφορούν διεισδύουν στον εσωτερικό χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος. Αυτά τα μακροφάγα ιστού δρουν ως νεκροφάγα κύτταρα, λαμβάνοντας την LDL χοληστερίνη και σχηματίζουν το χαρακτηριστικό αφρώδες κύτταρο της πρώιμης αθηροσκλήρωσης. Έτσι τα ενεργοποιημένα μακροφάγα παράγουν πληθώρα παραγόντων που είναι βλαβεροί για το ενδοθήλιο.

Τα ανυψωμένα επίπεδα ορού από LDL χοληστερόλη καταβάλλουν τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες του υγιούς ενδοθηλίου και καταλήγουν σε παθολογικό ενδοθηλιακό μεταβολισμό αυτού του λιπιδικού τμήματος. Η οξειδωμένη LDL είναι ικανή για ένα σημαντικό εύρος τοξικών επιδράσεων και δυσλειτουργιών του τοιχώματος των αγγείων ή των κυττάρων, που είναι χαρακτηριστικώς και διαρκώς συνδεδεμένα με τον σχηματισμό της αθηροσκλήρωσης. Αυτές οι δυσλειτουργίες περιλαμβάνουν εξασθενημένη, ενδοθηλιακώς εξαρτώμενη, διαστολή και παράδοξη αγγειοσυστολή. Οι δυσλειτουργίες είναι αποτέλεσμα της άμεσης αδρανοποίησης του νιτρικού οξειδίου λόγω της υπερβολικής παραγωγής ελευθέρων ριζών, της μειωμένης μεταγραφής του συντακτικού αγγελιοφόρου RNA (mRNA) του νιτρικού οξειδίου και της μετα-μεταγραφικής αποσταθεροποίησης του mRNA.

Η μείωση στη διαθεσιμότητα του νιτρικού οξειδίου σχετίζεται επίσης, με την αυξημένη πρόσφυση αιμοπεταλίων, τους αυξημένους αναστολείς πλασμινογόνων ενεργοποιητών, τους ελαττωμένους πλασμινογόνους ενεργοποιητές, τους αυξημένους παράγοντες ιστού, τους μειωμένους θρομβοδιαμορφωτές (thrombomodulin) και με μεταβολές στις πρωτεογλυκάνες της θειικής ηπαράνης. Οι συνέπειες περιλαμβάνουν ένα προπηκτικό περιβάλλον κι ενισχυμένο σχηματισμό θρόμβου αιμοπεταλίων. Επιπροσθέτως, η οξειδωμένη LDL ενεργοποιεί φλεγμονώδεις διαδικασίες στο επίπεδο της γονιδιακής μεταγραφής, ανακανονίζοντας τον πυρηνικό παράγοντα κάπα-B (kappa-B), με την έκφραση πρόσφυσης μορίων και με την αποκατάσταση των μονοκυττάρων / μακροφάγων.

Η βλάβη της αθηροσκλήρωσης δε συμβαίνει σε τυχαία φάση. Αιμοδυναμικοί παράγοντες αλληλεπιδρούν με το ενεργοποιημένο αγγειακό ενδοθήλιο. Πιέσεις, που δημιουργούνται από την αιματική ροή, επηρεάζουν τον φαινότυπο των ενδοθηλιακών κυττάρων, διαμορφώνοντας την έκφραση του γονιδίου και ρυθμίζοντας την δραστηριότητα των, ευαίσθητων προς την ροή, πρωτεϊνών. Οι αθηροσκληρωτικές πλάκες συμβαίνουν σε περιοχές διακλάδωσης και σημαδεμένης κύρτωσης (marked curvature), όπου υπάρχει γεωμετρική ανωμαλία και όπου το αίμα υπόκειται σε ξαφνικές αλλαγές στην ταχύτητα και την κατεύθυνση της ροής. Η μειωμένη πίεση (shear stress) και ο στροβιλισμός μπορεί να υποκινήσει αθηροσκλήρωση σε αυτές τις

περιοχές των στεφανιαίων αρτηριών (των σημαντικότερων κλάδων της θωρακικής και κοιλιακής αορτής) και στα μεγάλα αγγεία, στα χαμηλότερα άκρα.

Η πιο πρώιμη παθολογική βλάβη της αθηροσκλήρωσης είναι η λιπαρή λωρίδα. Η λιπαρή αυτή λωρίδα παρατηρείται στην αορτή και τις στεφανιαίες αρτηρίες των περισσότερων ατόμων, μέχρι την ηλικία των 20 ετών. Η λιπαρή λωρίδα είναι αποτέλεσμα της εστιακής συσσώρευσης ορού λιποπρωτεϊνών εντός του εσωτερικού χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος. Η μικροσκοπία έχει αποκαλύψει μακροφάγα γεμάτα λιπίδια, T λεμφοκύτταρα και λεία μυϊκά κύτταρα σε ποικίλες αναλογίες.

Η λιπαρή λωρίδα μπορεί να εξελιχθεί στον σχηματισμό ινώδους πλάκας, το αποτέλεσμα της προοδευτικής λιπιδικής συσσώρευσης και της μετανάστευσης και αναπαραγωγής των λείων μυϊκών κυττάρων. Οι παράγοντες ανάπτυξης που οφείλονται στα αιμοπετάλια, την ινσουλίνη και τους μετασχηματισμούς άλφα και βήτα, η θρομβίνη και η αγγειοπτερίνη II είναι ισχυρά μιτογόνα –παράγονται από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, μακροφάγα και ενδοθηλιακά κύτταρα σε δυσλειτουργία– που χαρακτηρίζουν την πρώιμη αθηροσκλήρωση, την αγγειακή φλεγμονή και την πλούσια σε αιμοπετάλια θρόμβωση, σε περιοχές ενδοθηλιακής διάσπασης. Η σχετική ανεπάρκεια του νιτρικού οξειδίου που προέρχεται από το ενδοθήλιο δυναμιτίζει περαιτέρω αυτό το πολλαπλασιαστικό στάδιο της ωρίμανσης της πλάκας.

Τα λεία μυϊκά κύτταρα είναι υπεύθυνα για την εναπόθεση του εξωκυττάριου στρώματος συνεκτικού ιστού και σχηματίζουν ένα ινώδες κάλυμμα που επικαλύπτει έναν πυρήνα από αφρώδη κύτταρα γεμάτα λιπίδια, εξωκυττάρια λιπίδια και νεκρωμένα κυτταρικά υπόλοιπα. Η ανάπτυξη της ινώδους πλάκας οδηγεί σε αγγειακή αναδιαμόρφωση, σταδιακή στένωση του αυλού, ανωμαλίες της αιματικής ροής και συμβιβαστική παροχή οξυγόνου στα διάφορα όργανα. Οι ανθρώπινες στεφανιαίες αρτηρίες μεγαλώνουν, ως αντίδραση στον σχηματισμό πλάκας και η στένωση του αυλού μπορεί να συμβεί μονάχα όταν η πλάκα καταλαμβάνει περισσότερο από το 40% της περιοχής που ορίζεται από το εσωτερικό ελαστικό έλασμα.

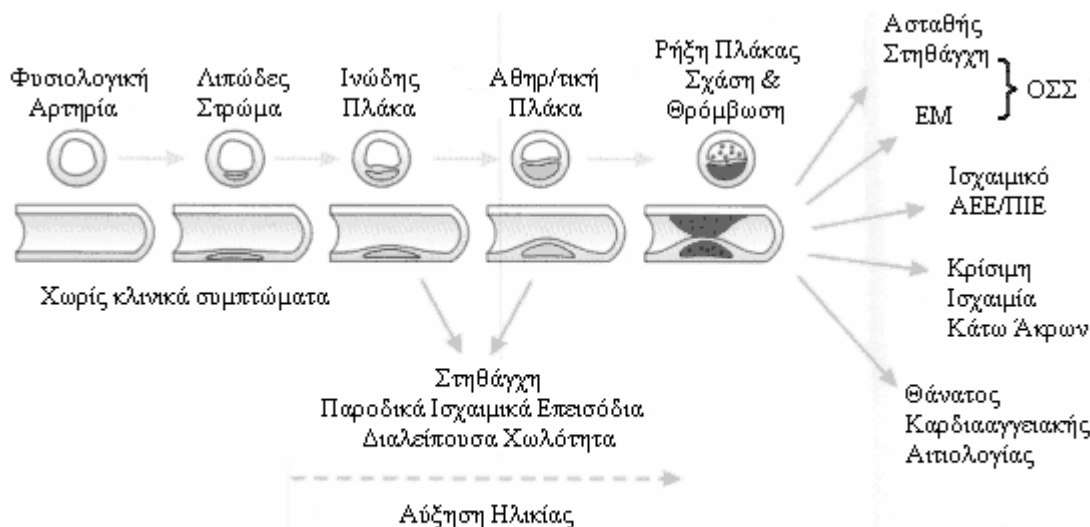
Η απογύμνωση του επικαλυπτόμενου ενδοθηλίου ή η ρήξη του προστατευτικού ινώδους καλύμματος μπορεί να οδηγήσει στην έκθεση των θρομβογόνων περιεχομένων του πυρήνα της πλάκας στην αιματική κυκλοφορία. Αυτή η έκθεση συνιστά μία προχωρημένη και περίπλοκη βλάβη. Η ρήξη της πλάκας συμβαίνει λόγω του αδυνατίσματος του ινώδους καλύμματος. Φλεγμονώδη κύτταρα εντοπίζονται στην ωμική περιοχή της ευπρόσβλητης πλάκας. Τα T λεμφοκύτταρα επεξεργάζονται ιντερφερόνη γάμα (interferon gamma), μία σημαντική κυτοκίνη που εξασθενίζει την αναπαραγωγή των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων και τη σύνθεση του κολλαγόνου. Επιπροσθέτως, ενεργοποιημένα μακροφάγα παράγουν στρώματα μεταλλοπρωτεΐνης, που υποβιβάζει το κολλαγόνο. Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί εξηγούν την προδιάθεση της ρήξης της πλάκας και υπογραμμίζουν τον ρόλο της φλεγμονής στην γένεση των περιπλοκών της ινώδους αθηρωματικής πλάκας. Μία ρήξη πλάκας μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό θρόμβου, στην μερική ή ολική απόφραξη των αιματικών αγγείων και στην πρόοδο της

αθηροσκληρωτικής βλάβης, εξαιτίας της οργάνωσης του θρόμβου και της ενσωμάτωσής μέσα στην πλάκα.

Απόρροια της όλης μελέτης που προηγήθηκε είναι το συμπέρασμα ότι η εξέλιξη της ασθένειας της αθηροσκλήρωσης είναι σταδιακή και διαρκής. Έτσι υπάρχει ένα συνεχές φάσμα παθολογίας μεταξύ των βλαβών και οι διαφορές ουσιαστικά αναφέρονται στο βαθμό και όχι στο είδος των αλλοιώσεων. Παρόλα αυτά χωρίζονται ιστοπαθολογικά σε πέντε κατηγορίες [Mohan, 2002], που συνοψίζονται στον Πίνακα 1.1, στο Σχήμα 1.4 (ιδεατή αλυσιδωτή απεικόνιση) και στο Σχήμα 1.5 (εικόνες μικροσκοπίου).

**Πίνακας 1.1:** Πρόοδος στεφανιαίας αθηροσκλήρωσης

Στάδιο	Ιστοπαθολογία
I	Αφρώδη κύτταρα, λιπαρές λωρίδες
II	Αθηρωματική βλάβη με πυρήνα πλούσιο σε λιπίδια και με ινώδες κάλυμμα μη αποφρακτική
III	Ρήξη του σταδίου II, πλάκα με τοιχωματικό θρόμβο συνήθως αποφρακτική
IV	Ρήξη της φάσης II, πλάκα με βαθιά σχισμή κι ενδοαυλικό θρόμβο συνήθως εμφρακτική
V	Οργανωμένος συνδετικός ιστός

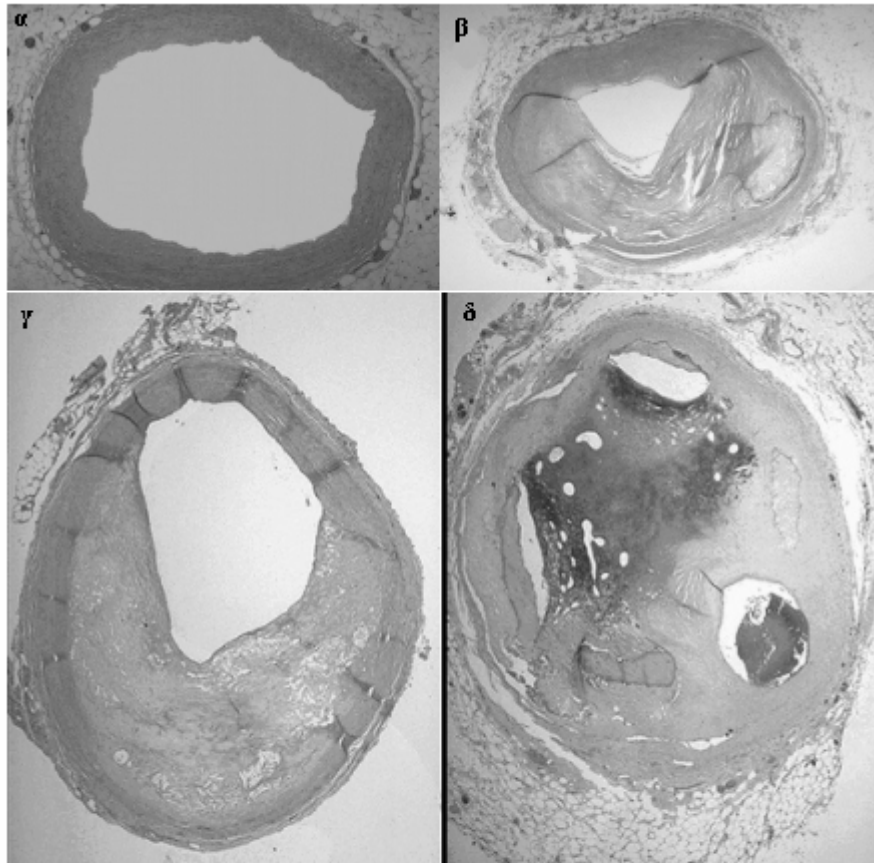


**Σχήμα 1.4:** Πρόοδος αθηρωματικού γεγονότος. (ΟΣΣ: Οξύ Στεφανιαίο Σύνδρομο, ΠΙΕ: Παροδικό Ισχαιμικό Εγκεφαλικό, ΑΕΕ: Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο)

**1.5 Παράγοντες Κινδύνου**

Παρόλο που η LDL πυροδοτεί την αλληλουχία των γεγονότων που έχουν περιγραφεί παραπάνω, οι επιστήμονες έχουν αναγνωρίσει και αρκετούς άλλους παράγοντες που, αναμφισβήτητα, αυξάνουν τον κίνδυνο της αθηροσκλήρωσης ή των επιπλοκών της. Πολλοί από αυτούς τους παράγοντες κινδύνου, καθώς και μερικοί άλλοι που βρίσκονται υπό μελέτη, παρουσιάζουν πολύ ενδιαφέρουσες φλεγμονώδεις ιδιότητες. Αξίζει να σημειωθεί ότι η LDL παίζει πολύ μεγαλύτερο ρόλο στην αρχική





**Σχήμα 1.5:** α. Φυσιολογική αρτηρία.

β. Αρτηρία με τον αυλό αποφραγμένο κατά το ήμισυ. Είναι εμφανής μία μικρή περιοχή αποκατάστασης στην πλάκα, δεξιά.

γ. Η αρτηρία είναι αποφραγμένη κατά 60 με 70%.

δ. Η αρτηρία αυτή βρίσκεται στο στάδιο V της αθηροσκλήρωσης. Παρατηρείται οργάνωση του θρόμβου κι επαναπροσδιορισμός του καναλιού, έτσι ώστε να παραμένουν μόνο τρεις μικροί αυλοί.

εμφάνιση καθώς και στη μακροχρόνια διατήρηση της αθηροσκλήρωσης από ότι πιστεύεται γενικά.

Σύμφωνα με επανειλημμένες στατιστικές, οι μισοί ασθενείς που πάσχουν από στηθάγχη (μία αίσθηση έντασης, ένα σφίξιμο ή μία πίεση πίσω από το στήρνο) ή που έχουν υποστεί καρδιακή προσβολή δεν έχουν τιμές LDL υψηλότερες από το μέσο επίπεδο –διαπίστωση που συχνά φέρεται να σημαίνει ότι σε τέτοια άτομα η LDL δεν επηρεάζει την αθηροσκλήρωση στο αρχικό στάδιο. Ωστόσο, τα επίπεδα LDL στις δυτικές κοινωνίες ξεπερνούν κατά πολύ τις ανάγκες του οργανισμού και μπορούν να προκαλέσουν αρτηριακές παθήσεις. Πράγματι, ανταποκρινόμενοι στα νέα δεδομένα που συσχετίζουν την υγεία του καρδιαγγειακού συστήματος με τα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών, οι ειδικοί της δημόσιας υγείας έχουν προοδευτικά αναπροσαρμόσει την έννοια των “φυσιολογικών” επιπέδων LDL. Οι κατευθυντήριες γραμμές που εξέδωσε το 2001 μία επιτροπή ειδικών που συνεδρίασε σε συνεργασία με τα Εθνικά Ινστιτούτα Υγείας των Η.Π.Α., ορίζουν ρητά ότι τα κανονικά επίπεδα βλαβερής χοληστερίνης είναι κάτω από 100 χιλιοστόγραμμα ανά δέκατο του λίτρου αίματος [AHA, 2001].

Οι ερευνητές πρέπει ακόμα να εξιχνιάσουν τις σχέσεις μεταξύ άλλων παραγόντων κινδύνου και φλεγμονής με το ίδιο ενδιαφέρον που επέδειξαν για την

LDL, αλλά έχουν ήδη αποκαλύψει μερικά ενδιαφέροντα στοιχεία. Ο διαβήτης, για παράδειγμα, ανεβάζει τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα. Το σάκχαρο αυτό ενώνεται με την LDL, διεγείροντας τις φλεγμονώδεις ιδιότητές της. Το κάπνισμα προκαλεί το σχηματισμό οξειδωτικών και είναι πιθανό να επιταχύνει την οξείδωση των συστατικών της LDL, ευνοώντας έτσι τη δημιουργία φλεγμονής στις αρτηρίες ακόμη και σε άτομα με μέτρια επίπεδα LDL. Η αθηροσκλήρωση παρακινείται από το κάπνισμα με πολλούς τρόπους: το κάπνισμα προσβάλλει άμεσα τον ενδοθήλιο, αυξάνει τον αγγειακό τόνο, αυξάνει την ενεργητικότητα των αιμοπεταλίων, υποκινεί την οξείδωση της LDL και μειώνει τα επίπεδα της ελεύθερης πρωτεΐνης S. Η παχυσαρκία ευνοεί το διαβήτη και την αγγειακή φλεγμονή. Η υψηλή πίεση του αίματος μπορεί να μην έχει άμεσες φλεγμονώδεις επιδράσεις, αλλά μία ορμόνη μερικά υπεύθυνη για μεγάλο ποσοστό υπερτασικών –η αγγειοπρεσίνη II– συμβάλλει άμεσα, όπως ειπώθηκε και προηγουμένως, στην εμφάνιση φλεγμονής. Μάλιστα, υψηλά επίπεδα της ορμόνης αυτής είναι δυνατό να επιφέρουν υπέρταση και αθηροσκλήρωση, ταυτόχρονα. Τέλος, κατά ένα τρόπο, η εμμηνόπαυση μπορεί επίσης να θεωρηθεί ως παράγοντας κινδύνου της αθηροσκλήρωσης, αφού η πιθανότητα καρδιακού επεισοδίου στις γυναίκες είναι πολύ μικρή μέχρι πριν την εμμηνόπαυση. Αυτή η σχέση εξηγείται από τις προστατευτικές επιδράσεις των οιστρογόνων, συμπεριλαμβανομένου και των επιδράσεων της ορμόνης αυτής στην συγκέντρωση της χοληστερίνης στο αίμα [Vander, 2001].

Αντίθετα, η λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (HDL) φαίνεται να είναι προστατευτική. Καθώς τα επίπεδα αυτής της “καλής” χοληστερίνης μειώνονται, η πιθανότητα καρδιακής προσβολής αυξάνεται. Αντίστοιχα, για να βελτιώσουν τον υπολογισμό του κινδύνου καρδιαγγειακών παθήσεων, πολλοί γιατροί, σήμερα, μετρούν όχι μόνο τα επίπεδα της LDL στο αίμα, αλλά και τα επίπεδα της HDL και το λόγο της LDL προς την HDL. Η HDL μπορεί να επιτύχει την ωφέλιμη επίδρασή της, εν μέρει περιορίζοντας τη φλεγμονή: μαζί με τη χοληστερίνη μπορεί να μεταφέρει αντιοξειδωτικά ένζυμα, ικανά να διασπάσουν τα οξειδωμένα λιπίδια.

Πρόσφατες έρευνες υποδηλώνουν ότι η αθηροσκλήρωση μπορεί να συμβεί και κατά την απουσία λοίμωξης. Ωστόσο, σύμφωνα με ορισμένες ενδείξεις, μερικοί μικροοργανισμοί, όπως οι ιοί του έρπητα ή το βακτήριο *Chlamydia pneumoniae* (συχνή αιτία αναπνευστικών λοιμώξεων) θα μπορούσε κάλλιστα κάποιες φορές να προκαλέσουν αθηροσκλήρωση ή να την επιδεινώσουν. Τα χλαμύδια της πνευμονίας, για παράδειγμα, εμφανίζονται σε πολλές αθηρωματικές πλάκες και τα συστατικά τους μπορούν να προκαλέσουν φλεγμονώδεις αντιδράσεις από τα μακροφάγα, από τα κύτταρα του αγγειακού ενδοθηλίου και από τα λεία μυϊκά κύτταρα [Fahdi, 2003].

Οι λοιμώξεις, επίσης είναι δυνατό να δράσουν από απόσταση, σε ένα φαινόμενο που πολλοί επιστήμονες αποκαλούν “ηχώ”. Όταν ο οργανισμός καταπολεμά τις λοιμώξεις, οι παράγοντες που μεσολαβούν για την εκδήλωση της φλεγμονής μπορούν να διαφύγουν μέσα στο αίμα και να ταξιδέψουν σε απομακρυσμένα σημεία. Θεωρητικά, οι ουσίες αυτές μπορούν να διεγείρουν τα λευκά αιμοσφαίρια στις αθηρωματικές πλάκες, προκαλώντας με τον τρόπο αυτό την ανάπτυξη ή τη ρήξη πλακών. Σήμερα βρίσκονται σε εξέλιξη κλινικές μελέτες

προκειμένου να διαπιστωθεί αν περιορισμένης διάρκειας αγωγές με αντιβιοτικά είναι δυνατό να εμποδίσουν επαναλαμβανόμενες καρδιακές προσβολές. Μία μελέτη που ολοκληρώθηκε πρόσφατα υποδηλώνει, όμως, ότι τα αντιβιοτικά δεν προλαμβάνουν τις υποτροπές στους επιζήσαντες από καρδιακή προσβολή [Libby, 2002].

Οι καθιερωμένοι παράγοντες κινδύνου που αναφέρονται παραπάνω προβλέπουν επιτυχώς μελλοντικά καρδιακά επεισόδια σε ένα ποσοστό περίπου 50 με 60 τοις εκατό εκ των ασθενών. Πρόσφατα ξεκίνησαν εναρμονισμένες προσπάθειες για την επικύρωση νέων δεικτών πιθανού κινδύνου λόγω των κλινικών συνεπειών της αθηροσκλήρωσης [Orford, 2003]. Μεταξύ αυτών είναι και η επονομαζόμενη C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP). Η CRP αντανακλά τη συστηματική φλεγμονή και τα αποτελέσματα της μέτρησης της CRP υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η χρόνια φλεγμονή μπορεί να παίζει ρόλο στην παθογένεια και την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης. Τυποποίηση της ανάλυσης της CRP απαιτείται πριν η διαδικασία αυτή καταστεί κλινικά χρήσιμη, ενώ παραμένει, μέχρι σήμερα, ασαφές το κατά πόσο η πρωτεΐνη αυτή αποτελεί πράγματι τροποποιημένο παράγοντα κινδύνου.

Ένας ακόμη παράγοντας κινδύνου που ελέγχεται συστηματικά είναι η υπερομοκυστεϊναιμία. Ως υπερομοκυστεϊναιμία ορίζονται τιμές ομοκυστεΐνης (θειούχο αμινοξύ, προερχόμενο από απομεθυλίωση του απαραίτητου αμινοξέος μεθειονίνη) μεγαλύτερες από το 95% του φυσιολογικού και μπορεί να παρατηρηθεί σε πολλές καταστάσεις. Η υπερομοκυστεϊναιμία αναγνωρίζεται σήμερα σε διάφορες μελέτες ως ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για αθηροσκληρωτική και θρομβοεμβολική καρδιαγγειακή νόσο. Οι μηχανισμοί με τους οποίους προκαλεί ή επιδεινώνει την προϋπάρχουσα αθηροσκλήρωση δεν είναι σαφείς. Πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν την άμεση τοξική βλάβη και την αναστολή του πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων, την προαγωγή της ανάπτυξης των λείων μυϊκών κυττάρων, την αναστολή της ενεργοποίησης της πρωτεΐνης C, την αυξημένη συσσώρευση αιμοπεταλίων και τη συμμετοχή του νιτρικού οξέος στη δυσλειτουργία των αγγείων [Κούκης, 2000].

Άλλοι πιθανοί παράγοντες κινδύνου είναι το ιωδογόνο και η λιποπρωτεΐνη (α). Τόσο η σχέση τους με την εμφάνιση ή επιδείνωση της αθηροσκλήρωσης, όσο και η διαγνωστική τους αξία υπόκειται σε εκτενή και λεπτομερή έρευνα στα σύγχρονα κλινικά εργαστήρια.

Συνοψίζοντας, οι παράγοντες που επηρεάζουν την εμφάνιση της αθηροσκλήρωσης μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε ιδιοσυστατικούς και μη. Ιδιοσυστατικοί είναι οι παράγοντες εκείνοι που δεν καταδεικνύουν κάποια συσχέτιση με μία συγκεκριμένη παθολογική κατάσταση του ατόμου, ή δεν έχουν σχέση με συγκεκριμένες συνήθειές του. Έτσι σε αυτούς ανήκουν η ηλικία, το φύλο και η κληρονομικότητα. Οι υπόλοιποι παράγοντες υποδιαιρούνται σε υψηλού και χαμηλού κινδύνου με βάση τον βαθμό της εμπειριστατωμένης επιστημονικής τεκμηρίωσης της συσχέτισής τους με τη νόσο. Στον Πίνακα 1.2 παρουσιάζονται οι σημαντικότεροι παράγοντες κινδύνου ταξινομημένοι σύμφωνα με την κατηγορία στην οποία ανήκουν και με τον βαθμό κινδύνου που τους χαρακτηρίζει.

**Πίνακας 1.2:** Παράγοντες που επηρεάζουν την εμφάνιση της αθηροσκλήρωσης

<b>Ιδιοσυστατικοί</b>	
Ηλικία	Η πιθανότητα εμφάνισης αυξάνει σε κάθε δεκαετία ζωής
Φύλο	Χρονική καθυστέρηση 10 ετών στις γυναίκες
Κληρονομικότητα	Παρατηρείται συσχέτιση οικογενειακού, ακόμη και φυλετικού, ιστορικού
<b>Υψηλού Κινδύνου Μη Ιδιοσυστατικοί</b>	
Υπερλιπιδαιμία	Ειδικά αυξημένα επίπεδα της LDL
Υπέρταση	Ειδικά μετά το 45 <sup>ο</sup> έτος
Κάπνισμα	Οι καπνιστές εμφανίζουν θνησιμότητα 2 με 3 φορές μεγαλύτερη από ότι οι μη καπνιστές
Διαβήτης	Στο μέλλον ο διαβήτης θα εμφανίζεται κυρίως στις αστικές περιοχές, πλήττοντας περισσότερο τις γυναίκες
<b>Χαμηλού Κινδύνου Μη Ιδιοσυστατικοί</b>	
Καθιστική ζωή, παχυσαρκία, άγχος, αρνητική κατάθλιψη	

### **1.6 Περιορισμός του Κινδύνου Εμφάνισης Αθηροσκλήρωσης**

Ο σημαντικός ρόλος της φλεγμονής στην αθηροσκλήρωση υποδηλώνει ότι τα αντιφλεγμονώδη φάρμακα θα μπορούσαν να επιβραδύνουν αυτή την πάθηση και μερικά από αυτά, όπως η ασπιρίνη, έχουν ήδη δοθεί στην κυκλοφορία ή βρίσκονται υπό μελέτη. Αλλά η λογική και οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι στιγμής υποδεικνύουν την ανάγκη να στραφούν οι ερευνητές και προς κάποια άλλη κατεύθυνση [Libby, 2002].

Η ασπιρίνη ανήκει σε μία κατηγορία φαρμάκων που ονομάζονται μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη, μία ομάδα που επίσης διεκδικεί και τα πολύ δημοφιλή παυσίπονα ibuprofen και naproxen. Όπως τα άλλα φάρμακα της ίδιας κατηγορίας, έτσι και η ασπιρίνη μπορεί να εμποδίσει τον σχηματισμό ορισμένων λιπιδίων που μεσολαβούν ώστε να δημιουργηθεί φλεγμονή, συμπεριλαμβανομένων και των προσταγλανδινών, που προκαλούν πόνο και πυρετό. Σύμφωνα με ισχυρές ενδείξεις από επιτυχημένες κλινικές δοκιμές, η ασπιρίνη προστατεύει τον οργανισμό από καρδιακές προσβολές και, σε ορισμένους ασθενείς, από μικρά εγκεφαλικά επεισόδια (παροδικά ισχαιμικά επεισόδια). Αλλά οι χαμηλές δόσεις που εξασφαλίζουν αυτή την προστασία μειώνουν την τάση του αίματος να δημιουργεί θρόμβους αντί να ανακουφίζει τη φλεγμονή.

Οι επιστήμονες διαθέτουν ελάχιστα κλινικά δεδομένα σε σχέση με τις επιδράσεις των άλλων μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων στην αθηροσκλήρωση και μερικά στοιχεία υποδηλώνουν ότι οι εκλεκτικοί αναστολείς του ενζύμου COX-2, που παράγει προσταγλανδίνες, θα μπορούσαν στην πραγματικότητα να επιταχύνουν την ανάπτυξη θρόμβων σε ορισμένους ασθενείς. Η κορτιζόνη και άλλα παρεμφερή στεροειδή, θα μπορούσαν να αποδειχθούν υπερβολικά τοξικά για χρόνια χρήση και δεν υπάρχουν στοιχεία που να στηρίζουν τη χρησιμότητά τους στον περιορισμό των αθηροσκληρωτικών επιπλοκών.

Ακόμη και αν τα αντιφλεγμονώδη φάρμακα αποδεικνύονται αποτελεσματικά, θα έπρεπε ίσως να χορηγηθούν επί χρόνια, χωρίς διακοπή, για να αποφευχθεί η αθηροσκλήρωση. Η προοπτική αυτή είναι ανησυχητική, γιατί μία παρατεταμένη παρέμβαση στη φλεγμονή θα μπορούσε να έχει πολύ μεγάλο τίμημα· αυξημένο κίνδυνο λοίμωξης.

Επιπλέον, από το 1994 αρκετές, άρτιες σε σύλληψη κι εκτέλεση, κλινικές μελέτες έχουν αποδείξει πέρα από κάθε αμφιβολία ότι τα αντιλιπιδαιμικά φάρμακα μπορεί να μειώσουν και την πιθανότητα αθηροσκληρωτικών επιπλοκών και να παρατείνουν το χρόνο ζωής, όπως φάνηκε σε άτομα των οποίων τα επίπεδα κινδύνου καλύπτουν μεγάλο εύρος.

Πειραματικά φάρμακα που στοχεύουν σε άλλους παράγοντες κινδύνου καρδιακής προσβολής ή εγκεφαλικού επεισοδίου είναι πιθανό να ασκούν επίσης ωφέλιμη αντιφλεγμονώδη δράση. Ως πιθανό παράδειγμα θα μπορούσε να αναφερθούν τα φάρμακα που αυξάνουν τα επίπεδα της HDL ή περιορίζουν τη δράση της αγγειοπρεσίνης II. Όμως, η θεραπεία με αντιοξειδωτικές βιταμίνες έχει αποδειχθεί απογοητευτική.

Σε αντιδιαστολή με την φαρμακευτική αγωγή, που πολλές φορές αποδεικνύεται επικίνδυνη, κάποια απλά μέτρα της καθημερινής ζωής μπορούν να αποβούν άκρως ωφέλιμα για την πρόληψη της αθηροσκλήρωσης. Άτομα που σταματούν το κάπνισμα, ασκούνται, ελέγχουν την αιματική τους πίεση και ρυθμίζουν, με διατροφικά μέσα, την χοληστερίνη τους παρουσιάζουν αισθητά λιγότερα καρδιοαγγειακά επεισόδια.

Στον Πίνακα 1.3 παρουσιάζονται τα ποσοστά ελάττωσης του κινδύνου εμφάνισης αθηρωματικών επιπλοκών σε σχέση με διάφορους μηχανισμούς πρόληψης αυτών.

**Πίνακας 1.3:** Μηχανισμοί Πρόληψης

Μηχανισμός Πρόληψης	Μείωση Παράγοντα Κινδύνου
Κόψιμο καπνίσματος	50-70%
Μείωση χοληστερίνης	2-3%/1% της μείωσης της χοληστερίνης
Άσκηση	45%
Ιδανικό βάρος σώματος	35-55%
Οιστρογόνα	44%
Ασπιρίνη	33%
Αγωγή της υπέρτασης	2-3%/1mmHg μείωση της πίεσης

[Mason, 1992]

### 1.7 Διάγνωση

Η διάγνωση της αθηροσκλήρωσης, μέχρι πρόσφατα, γινόταν μέσω των ισχαιμικών αποτελεσμάτων που επάγει σε ιστούς, οι οποίοι βρίσκονται χαμηλότερα στο κυκλοφορικό σύστημα. Τα αποτελέσματα αυτά είναι κυρίως η στηθάγχη, το μη φυσιολογικό καρδιογράφημα και τελικά το έμφραγμα. Όμως, και τα τρία αυτά συμπτώματα παρουσιάζονται στα τελευταία στάδια της νόσου και προφανώς η αντιμετώπιση της αθηροσκλήρωσης είναι τότε δυσχερέστερη. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με το εύρος του πληθυσμού που ενδιαφέρει η ασθένεια της

αθηροσκλήρωσης, καθιστά αναγκαία την ανάπτυξη καινοτομικών μεθόδων πρόωμης διάγνωσης της νόσου.

Για τη σωστή εκτίμηση του βαθμού της νόσου είναι απαραίτητη η συλλογή στοιχείων για διάφορα χαρακτηριστικά της αλλοίωσης. Τέτοια σημαντικά χαρακτηριστικά είναι η θέση και ο βαθμός της αλλοίωσης που έχει προκαλέσει στην αρτηρία η ασθένεια, καθώς και η φυσικοχημικής της σύσταση.

Η προσέγγιση του αυλού με ενδοσκόπιο είναι η πιο προφανής μη επεμβατική μέθοδος. Η τεχνολογία των ενδοσκοπίων έχει γνωρίσει μεγάλη ανάπτυξη, ώστε να μπορούν να συλλεγούν εικόνες από αρτηρίες τόσο μικρές, όσο οι στεφανιαίες. Αν και αυτές οι εικόνες είναι συχνά χρήσιμες στην εκτίμηση της στένωσης, δεν παρέχουν καμία ποιοτική και ποσοτική πληροφορία για τη σύσταση της πλάκας.

Η συνηθέστερη εξέταση για τη διάγνωση της αθηροσκλήρωσης και για τη λήψη αποφάσεων γύρω από τη πρόγνωση και τη θεραπευτική αγωγή που θα πρέπει να ακολουθήσει ο εκάστοτε ασθενής, είναι μία ειδική τεχνική απεικόνισης με ακτίνες X, η αγγειογραφία. Στην τεχνική αυτή ένα φθορίζον υλικό εγχύεται στην αρτηρία, σε σημείο κοντά στην αλλοίωση, κι ενώ την διαπερνά παρατηρείται ο φθορισμός του, ο οποίος επάγεται από την ακτινοβολία X. Οι αγγειογραφικές εικόνες δίνουν μία δυσδιάστατη εικόνα του αγγείου και παρέχουν πληροφορία για το μέγεθος και τη θέση της αλλοίωσης, μια και το φθορίζον υλικό παρέχει το σχήμα της τομής του αγγείου. Αυτές οι εικόνες αναλύονται με κλασικές τεχνικές επεξεργασίας εικόνων [Bruschke, 1991].

Παρόλα αυτά η αγγειογραφία δε δίνει πληροφορία σχετικά με τον όγκο ή τη χημική σύνθεση του αθηρώματος. Επίσης είναι δύσκολο να απεικονισθούν ανατομικές λεπτομέρειες της πλάκας που διαρρηγνύεται μετά από αγγειοπλαστική, οι οποίες περιλαμβάνουν αποκοπή, πτερύγια ιστού ή ψευδοαυλούς. Η απεικόνιση μίας μέτριας στένωσης είναι πιθανό να κρύβει ένα μεγάλο όγκο αθηρώματος. Συγχρόνως η αγγειογραφία δε θεωρείται ακίνδυνη αφού στις επιπλοκές της συμπεριλαμβάνονται αρκετές σημαντικές βλάβες διαφόρων οργάνων. Στον Πίνακα 1.4 παρουσιάζονται οι πιο σημαντικές εκ των επιπλοκών αυτών καθώς και η συχνότητα εμφάνισής τους.

Για την εκτίμηση της αιματικής ροής σε μεγαλύτερες αρτηρίες, έχουν επιτυχώς χρησιμοποιηθεί τεχνικές όπως η απεικόνιση πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων και οι υπέρηχοι Doppler. Η διακριτική ικανότητα των τεχνικών αυτών συνεχώς βελτιώνεται με στόχο την απεικόνιση ολοένα και μικρότερων αρτηριών, όπως οι στεφανιαίες.

Δύο ακόμη τεχνικές, που βρίσκονται σε πειραματικό στάδιο, είναι ο ενδοαρτηριακός υπέρηχος [Schoenhagen, 2002] και η φασματοσκοπία φθορισμού επαγόμενου από laser. Είναι δύο τεχνικές που βασίζονται σε διαφορετικές φυσικές αρχές, εκμεταλλευόμενες διαφορετικές παραμέτρους του αρτηριακού τοιχώματος, για

**Πίνακας 1.4:** Επιπλοκές Αγγειογραφίας

Επιπλοκή	Ποσοστό
Θάνατος	0.05%
Οξύ Έμφραγμα Μυοκαρδίου	0.05%
Εγκεφαλική Εμβολή	0.01%
Αρτηριακή Βλάβη	0.1%
Βλάβη Μέσου Νεύρου	0.05%
Κοιλιακή Μαρμαρυγή	0.75%
Σπασμός Στεφανιαίων	2.1%
Καρδιακή Ανακοπή	0.1%

την απεικόνιση. Πολλοί ερευνητές, σήμερα, καταβάλουν μία έντονη προσπάθεια για τον συνδυασμό των προκυπτουσών δεδομένων, από τις δύο τεχνικές, με απώτερο σκοπό την εξαγωγή διαγνωστικού συμπεράσματος για τη ποιότητα και το μέγεθος της αλλοίωσης



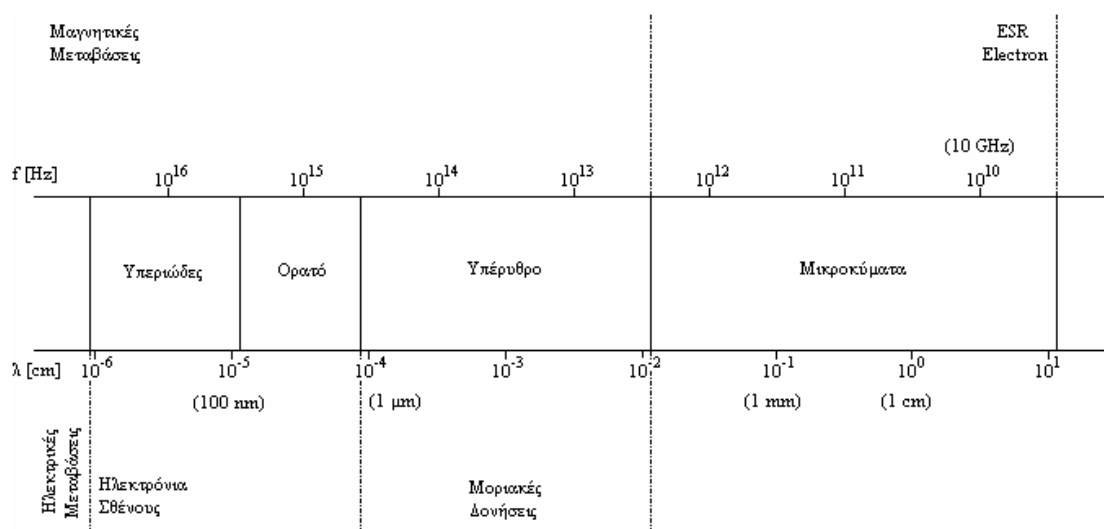


## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ**

### **ΟΠΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΙΣΤΩΝ**

#### **2.1 Εισαγωγή**

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αποτελείται από ταλαντούμενα ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία και διακρίνεται στις ραδιοσυχνότητες, τα μικροκύματα, την υπέρυθρη ακτινοβολία, το ορατό, το υπεριώδες και τις ακτίνες X και γ. Όλες οι μορφές ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας διαδίδονται τόσο στον ελεύθερο χώρο, όσο και στην ύλη, ενώ ταξινομημένες κατά αυξανόμενο μήκος κύματος (ή μειούμενη συχνότητα) σχηματίζουν το λεγόμενο ηλεκτρομαγνητικό φάσμα.



Σχήμα 2.1 : Το Ηλεκτρομαγνητικό Φάσμα.

Σαν κυματικό φαινόμενο, η διάδοση του φωτός περιγράφεται από το μήκος κύματος ( $\lambda$ ) και τη συχνότητα ( $f$ ) της ακτινοβολίας. Τα μεγέθη αυτά συνδέονται με τη σχέση

$$c = \lambda \cdot f \quad (2.1)$$

όπου  $c = 3 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{sec}^{-1}$  είναι η ταχύτητα του φωτός στο κενό.

Η οπτική ακτινοβολία είναι εκείνη η περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος που βρίσκεται μεταξύ των ακτίνων X και των μικροκυμάτων και υποδιαιρείται σε τρεις κύριες περιοχές. Η πρώτη εξ αυτών είναι η περιοχή της υπεριώδους ακτινοβολίας (UV, από 185 έως 400 nm), γειτονική προς τις ακτίνες X. Η δεύτερη περιοχή είναι η ορατή (από 400 έως 700 nm), ενώ η τρίτη και τελευταία περιοχή της οπτικής ακτινοβολίας είναι η περιοχή των υπέρυθρων (IR, από 700 έως 10,600 nm), γειτονική στα μικροκύματα.

Η μελέτη της διάδοσης της φωτεινής ακτινοβολίας στους ιστούς αποτελεί το κεντρικό πρόβλημα των περισσότερων ιατρικών και βιοϊατρικών εφαρμογών των lasers. Οι πιθανές αλληλεπιδράσεις του ιστού με μία προσπίπτουσα δέσμη φωτός διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες.

Κατά την πρώτη κατηγορία, η προσπίπτουσα φωτεινή ακτινοβολία δύναται να υποστεί ολική ανάκλαση στην επιφάνεια του ιστού κι έτσι να μην προκληθεί καμία

μεταβολή σε αυτόν. Συνήθως, όμως, το ποσοστό της δέσμης που ανακλάται κυμαίνεται στο 3 ~ 5% της ακτινοβολίας, γεγονός που οφείλεται, κυρίως, στους διαφορετικούς δείκτες διάθλασης του αέρα και του ιστού.

Το υπόλοιπο της δέσμης, διαδίδεται μέσα στον ιστό, σκεδάζεται πολλαπλά, ενώ ένα μέρος αυτής απορροφάται. Η ακτινοβολία που απορροφάται από τον ιστό μπορεί να προκαλέσει τη θέρμανσή του, φωτοχημικές αντιδράσεις ή/και εκπομπή φθορισμού. Το ποσοστό του φωτός που απορροφάται ή σκεδάζεται εξαρτάται από το μήκος κύματος του χρησιμοποιούμενου laser και από τις οπτικές ιδιότητες του ιστού.

Τέλος, ορισμένα μήκη κύματος μπορούν να διέλθουν μέσα από τον ιστό, χωρίς να προκαλέσουν κανένα θερμικό, ή οποιοδήποτε άλλο, αποτέλεσμα. Σε αυτή την περίπτωση, λέγεται ότι ο ιστός είναι διάφανος για τα συγκεκριμένα μήκη κύματος.

Προκύπτει, επομένως, το συμπέρασμα ότι η μελέτη της διάδοσης και της κατανομής της οπτικής ακτινοβολίας σε βιολογικούς μαλακούς ιστούς είναι ιδιαίτερα σημαντική για μία σειρά ιατρικών εφαρμογών, που σχετίζονται τόσο με διαγνωστικές τεχνικές, όσο και με θεραπευτικές αγωγές. Για τη μελέτη αυτή είναι απαραίτητη η γνώση ή ο προσδιορισμός των οπτικών ιδιοτήτων των ιστών, καθώς και μοντέλων διάδοσης, που περιγράφουν τους μηχανισμούς αλληλεπίδρασης της φωτεινής ακτινοβολίας με τον ιστό.

## **2.2 Οπτικές Ιδιότητες Ιστών**

Ο ιστός θεωρείται ως ένα τυχαίο, μη διαυγές μέσο, με διακυμάνσεις στις οπτικές του ιδιότητες αρκετά μικρές ούτως ώστε να παρεμποδιστεί η τοπική απορρόφηση. Με άλλα λόγια, ο ιστός θεωρείται ότι εμφανίζει ογκομετρικές ιδιότητες σκέδασης και απορρόφησης, παρά ότι αποτελείται από διακριτά κέντρα σκέδασης και απορρόφησης, κατανεμημένα σε ένα μη σκεδαστικό και μη απορροφητικό μέσο. Το πλεονέκτημα της προσέγγισης με κατανεμημένα κέντρα σκέδασης είναι ότι για τέλειες σφαίρες η συνάρτηση φάσης είναι γνωστή, ωστόσο υπάρχει ελάχιστη ομοιότητα μεταξύ τέλειων σφαιρών και ιστού.

Παρόλο που τόσο η σκέδαση, όσο και η απορρόφηση, είναι εξαιρετικά σημαντικές παράμετροι για την περιγραφή των οπτικών ιδιοτήτων ενός ιστού, ως κυρίαρχος μηχανισμός λαμβάνεται η σκέδαση [Cheong, 1990]. Ακόμη και για λεπτά, με πάχος κάτω από ένα χιλιοστό, τμήματα ιστού, τα εγχυόμενα φωτόνια είναι πολύ πιθανό να υποστούν σκέδαση αρκετές φορές, μέχρι να φτάσουν στο σύνορο του ιστού. Ως αποτέλεσμα, μία συνεχόμενη σύμφωνη δέσμη laser εισόδου θα γίνει αποτελεσματικά μη συνεχόμενη και ισοτροπική διανύοντας μερικά μόνο χιλιοστά, μέσα στον ιστό.

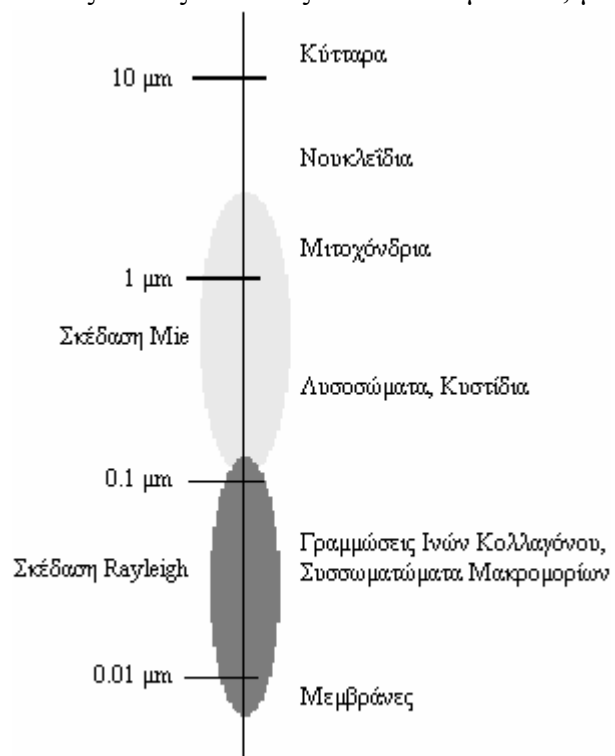
### **Απορρόφηση**

Η απορρόφηση εκφράζει τον λόγο της απορροφούμενης προς την προσπίπτουσα ένταση ακτινοβολίας. Οφείλεται, κυρίως, στη μερική μετατροπή της ενέργειας του φωτός σε θερμική κίνηση ή σε συγκεκριμένες δονήσεις των μορίων του μέσου απορρόφησης κι εξαρτάται από την ηλεκτρονική σύσταση των ατόμων και των

μορίων, το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, το πάχος του επιπέδου απορρόφησης και από διάφορες εσωτερικές παραμέτρους (συγκέντρωση, θερμοκρασία). Στους βιολογικούς ιστούς, η απορρόφηση συμβαίνει κυρίως λόγω της παρουσίας των μορίων νερού ή διαφόρων μακρομορίων, όπως είναι οι πρωτεΐνες και οι χρωστικές. Σε εφαρμογές βιοϊατρικής οπτικής η απορρόφηση των φωτονίων αποτελεί μία πολύ σημαντική ιδιότητα των ιστών, για δύο κυρίως λόγους. Ο πρώτος εξ αυτών συνίσταται στο γεγονός ότι μέσω της απορρόφησης ένα laser, ή κάποια άλλη πηγή φωτός, δύναται να προκαλέσει μία δυναμική θεραπευτική (ή καταστροφική) επίδραση σε κάποιον ιστό. Χωρίς βέβαια την απορρόφηση δεν υφίσταται μεταφορά ενέργειας στον ιστό κι έτσι μένει ανεπηρέαστος από το φως. Από την άλλη, η απορρόφηση του φωτός διαθέτει και διαγνωστικό ρόλο, γεγονός που αξιοποιείται στην φασματοσκοπία των ιστών. Επίσης, με την απορρόφηση παρέχεται μία υποψία για την χημική σύσταση ενός ιστού και λειτουργεί ως μηχανισμός οπτικής αντίθεσης (optical contrast) κατά τη διαδικασία απεικονιστικών μεθόδων.

### Σκέδαση

Η σκέδαση αποτελεί ένα ακόμη φαινόμενο που λαμβάνει χώρα σε έναν ακτινοβολούμενο ιστό. Συμβαίνει σε συχνότητες που δεν ανταποκρίνονται στις φυσικές συχνότητες των σωματιδίων και στις οποίες συντονίζονται τα σωματίδια, με την εφαρμογή ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων. Το ποσοστό του σκεδαζόμενου φωτός που ανακλάται από έναν ιστό ή διαδίδεται μέσω αυτού, εξαρτάται από τις εσωτερικές ιδιότητες ανάκλασης και απορρόφησης του ιστού. Η σκέδαση παρέχει μία ανάδραση κατά τη διάρκεια κάποιας θεραπευτικής αγωγής. Για παράδειγμα, κατά τη διάρκεια συγκόλλησης ιστών με χρήση laser η εμφάνιση σκέδασης αποτελεί ένα αισθητό τέλμα, που σχετίζεται άμεσα με τον επιθυμητό θεραπευτικό σκοπό. Επίσης, η σκέδαση επηρεάζει σημαντικά τη δοσιμετρία ακτινοβολίας, κατά τις θεραπευτικές αγωγές που εξαρτώνται από την απορρόφηση. Η σκέδαση επηρεάζει, δηλαδή, το που θα συμβεί απορρόφηση. Από την άλλη, η σκέδαση κατέχει και διαγνωστική αξία καθώς εξαρτάται από την υπερδομή (ultrastructure) ενός ιστού, όπως για παράδειγμα από την πυκνότητα των μεμβρανών λιπιδίων των κυττάρων, το μέγεθος των νουκλεϊδίων, την παρουσία ινών κολλαγόνου, την κατάσταση ενυδάτωσης του ιστού και από αρκετούς άλλους παράγοντες. Έτσι, όταν κανείς



Σχήμα 2.2 : Ιεραρχία Υπερδομής

πραγματοποιεί μετρήσεις σχετικά με την εξάρτηση της σκέδασης από το μήκος κύματος, την εξάρτηση της σκέδασης από την πόλωση, την εξάρτηση της σκέδασης από την γωνία ή τη σκέδαση του συνεχόμενου φωτός, αποκτά ένα πολύ σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο. Όπως και η απορρόφηση, η σκέδαση μπορεί, επομένως, να χρησιμοποιηθεί τόσο για φασματοσκοπικές όσο και για απεικονιστικές εφαρμογές.

Οι παράμετροι που περιγράφουν τις οπτικές ιδιότητες ενός ιστού χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες, στις ποσότητες εκείνες που έχουν διαστάσεις και τις αδιάστατες ποσότητες. Ακολουθώς περιγράφονται οι ποσότητες που ανήκουν και στις δύο αυτές κατηγορίες.

### 2.2.1 Ποσότητες Με Διαστάσεις

Στις ποσότητες με διαστάσεις συμπεριλαμβάνεται ο συντελεστής απορρόφησης, ο συντελεστής σκέδασης, το βάθος διείσδυσης, ο ολικός συντελεστής εξασθένησης, η εκπεμπόμενη ακτινοβολία και η πυκνότητα ροής ακτινοβολίας.

#### 2.2.1.1 Συντελεστής Απορρόφησης

Η ικανότητα του ιστού να απορροφά το φως χαρακτηρίζεται από τον συντελεστή απορρόφησης,  $\mu_a$ . Ο συντελεστής αυτός ορίζεται από την εξίσωση

$$dI = -\mu_a \cdot I dx \quad (2.2)$$

όπου  $dI$  είναι η διαφορική μεταβολή της έντασης  $I$  μιας σύμφωνης δέσμης φωτός που διασχίζει μία απειροελάχιστη διαδρομή  $dx$  μέσω ενός ομογενούς μέσου, με συντελεστή απορρόφησης  $\mu_a$ . Από την εξίσωση (2.2) καθίσταται εμφανές ότι ο συντελεστής απορρόφησης εκφράζεται με διαστάσεις αντιστρόφου μήκους.

Επίσης, ο συντελεστής απορρόφησης περιγράφοντας ένα μέσο που περιέχει πολλά απορροφητικά σωματίδια μπορεί να εκφραστεί και με την ακόλουθη σχέση

$$\mu_a = \rho_a \cdot \sigma_a \quad (2.3)$$

όπου το  $\rho_a$  (μονάδες αντιστρόφου όγκου) εκφράζει την πυκνότητα όγκου και το  $\sigma_a$  (μονάδες εμβαδού) την περιοχή της ενεργούς διατομής απορρόφησης. Με ολοκλήρωση της (2.2) σε ένα πάχος  $x$  και αντικατάσταση του συντελεστή απορρόφησης από την (2.3) προκύπτει ο νόμος των Beer-Lambert

$$I(x) = I_0 \cdot e^{-\rho_a \cdot \sigma_a \cdot x} \quad (2.4)$$

όπου  $I_0$  είναι η ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.

Η αντίστροφη ποσότητα του συντελεστή απορρόφησης,  $1/\mu_a$ , εκφράζει τη μέση ελεύθερη διαδρομή ενός φωτονίου, μέχρι να λάβει χώρα απορρόφηση. Μία άλλη ποσότητα, που χρησιμοποιείται συχνά, είναι ο μοριακός συντελεστής απορρόφησης,  $\varepsilon$ . Ο συντελεστής αυτός ορίζεται χρησιμοποιώντας λογάριθμο με βάση το δέκα και συσχετίζεται με τον συντελεστή απορρόφησης μέσω της ακόλουθης εξίσωσης

$$\varepsilon = \log_{10}(e) \cdot \frac{\mu_a}{C} \quad (2.5)$$

όπου  $C$  είναι η συγκέντρωση της ουσίας στο διάλυμα. Από τη σχέση ορισμού του εύκολα μπορούν να προκύψουν οι μονάδες του μοριακού συντελεστή απορρόφησης ( $cm^{-1} \cdot M^{-1}$ ).

### 2.2.1.2 Συντελεστής Σκέδασης

Ο συντελεστής σκέδασης,  $\mu_s$ , ορίζεται ως η ικανότητα του ιστού να σκεδάζει το φως. Η εξίσωση που περιγράφει τον συντελεστή σκέδασης είναι ανάλογη προς εκείνη του συντελεστή απορρόφησης

$$I(x) = I_0 \cdot e^{-\mu_s \cdot x} \quad (2.6)$$

όπου  $I$  είναι το ποσό του φωτός που δεν έχει σκεδαστεί, αφού έχει διανύσει ένα μη απορροφητικό μέσο, πάχους  $x$ . Και αυτός ο συντελεστής μετράται σε μονάδες αντιστρόφου μήκους.

Επίσης, ο συντελεστής σκέδασης περιγράφοντας ένα μέσο που περιέχει πολλά σωματίδια σκέδασης, μπορεί να εκφραστεί και με την ακόλουθη σχέση

$$\mu_s = \rho_s \cdot \sigma_s \quad (2.7)$$

όπου το  $\rho_s$  (μονάδες αντιστρόφου όγκου) εκφράζει την πυκνότητα όγκου και το  $\sigma_s$  (μονάδες εμβαδού) την περιοχή ενεργούς διατομής σκέδασης.

Η αντίστροφη ποσότητα του συντελεστή σκέδασης,  $1/\mu_s$ , εκφράζει τη μέση ελεύθερη διαδρομή ενός φωτονίου, μέχρι να λάβει χώρα σκέδαση. Τέλος, η ποσότητα  $\mu_s \cdot x$  (αδιάστατη ποσότητα) εκφράζει το οπτικό βάθος ενός σκεδαστή.

### 2.2.1.3 Βάθος Διείσδυσης

Το βάθος διείσδυσης ορίζεται ως η μέση απόσταση που δύναται να ταξιδέψει το φως πριν απορροφηθεί ή/και σκεδαστεί. Υπολογίζεται ως το αντίστροφο του αθροίσματος των συντελεστών απορρόφησης και σκέδασης [Γιόβα, 2000]

$$\delta = \frac{1}{\mu_a + \mu_s} \quad (2.8)$$

Το πάχος διείσδυσης εκφράζει το πάχος του ιστού στο οποίο το μέτρο της έντασης της φωτεινής ακτινοβολίας ελαττώνεται στο  $1/e$  (37%) της αρχικής προσπίπτουσας τιμής. Ο ισχυρισμός αυτός αποδεικνύεται εύκολα από το νόμο του Lambert

$$I(x) = I_0 \cdot \exp[-(\mu_a + \mu_s) \cdot x] \quad (2.9)$$

θέτοντας  $I(x) = (1/e) \cdot I_0$ . Πράγματι, με την αντικατάσταση αυτή, η εξίσωση (2.9) καταλήγει στην (2.8), που αποτελεί και την εξίσωση ορισμού του βάθους διείσδυσης.

### 2.2.1.4 Ολικός Συντελεστής Εξασθένησης

Ο ολικός συντελεστής εξασθένησης ορίζεται ως το άθροισμα του συντελεστή απορρόφησης με τον συντελεστή σκέδασης

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s \quad (2.10)$$

Από την παραπάνω εξίσωση καθίσταται εμφανής η σχέση αντιστροφής μεταξύ του ολικού συντελεστή εξασθένησης και του βάθους διείσδυσης.

Ο ολικός συντελεστής εξασθένησης είναι εξαιρετικά χρήσιμος, καθώς στις περισσότερες περιπτώσεις βιολογικών μέσων τόσο η απορρόφηση, όσο και η

σκέδαση, λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα. Τα μέσα αυτά αποτελούν τα επονομαζόμενα μη διαυγή δείγματα.

#### 2.2.1.5 Εκπεμπόμενη Ακτινοβολία (Radiance)

Το θεμελιώδες φυσικό μέγεθος στη θεωρία διάδοσης του φωτός είναι η εκπεμπόμενη ακτινοβολία,  $L(\vec{r}, \hat{s})$ , δηλαδή η ισχύς ανά μονάδα εμβαδού προβαλλόμενης επιφάνειας, που εκπέμπεται εντός της μοναδιαίας στερεάς γωνίας [Μαραγκός, 2002]

$$L(\vec{r}, \hat{s}) = \frac{\Delta^2 \Phi}{\Delta A \cdot \cos(\theta) \cdot \Delta \Omega} \quad (2.11)$$

όπου  $\Delta \Phi$  είναι η εκπεμπόμενη ισχύς,  $\Delta A$  είναι το εμβαδόν της επιφάνειας ενδιαφέροντος,  $\Delta \Omega$  είναι η στερεά γωνία και  $\theta$  είναι η γωνία μεταξύ της καθέτου στην επιφάνεια και της κατεύθυνσης εκπομπής. Η εκπεμπόμενη ακτινοβολία εκφράζεται σε μονάδες ισχύος ανά εμβαδόν και ανά στερεά γωνία και είναι, επίσης, γνωστή ως συγκεκριμένη ένταση (specific intensity) ή απλά ως ένταση (intensity).

#### 2.2.1.6 Πυκνότητα Ροής Ακτινοβολίας (Radiant Flux Density)

Η πυκνότητα ροής ακτινοβολίας,  $\vec{\varphi}(\vec{r})$ , είναι η συνολική εκπεμπόμενη ακτινοβολία στο σημείο  $\vec{r}$  και υπολογίζεται ολοκληρώνοντας την εκπεμπόμενη ακτινοβολία σε όλες τις γωνίες [Arridge, 1997]

$$\vec{\varphi}(\vec{r}) = \int_{4\pi} L(\vec{r}, \hat{s}) \cdot \hat{s} \cdot d\omega \quad (2.12)$$

όπου  $d\omega$  είναι η διαφορική στερεά γωνία κατά τη κατεύθυνση  $\hat{s}$ . Με άλλα λόγια, η ποσότητα αυτή εκφράζει τη ροή ισχύος ανά μονάδα επιφάνειας και μετράται σε μονάδες ισχύος ανά εμβαδόν.

Το γινόμενο της πυκνότητας ροής ακτινοβολίας με τον συντελεστή απορρόφησης ισούται με το ποσό της ενέργειας που απορροφάται από μοναδιαίο όγκο ιστού [Ishimaru, 1989].

### 2.2.2 Αδιάστατες Ποσότητες

Στην περίπτωση που χρησιμοποιούνται αδιάστατες ποσότητες, η διάδοση του φωτός σε έναν ιστό εξαρτάται από δύο παραμέτρους, την albedo και το οπτικό βάθος. Ακολουθώς περιγράφονται οι δύο αυτές παράμετροι.

#### 2.2.2.1 Albedo

Η albedo,  $\alpha$ , είναι μία αδιάστατη παράμετρος που ορίζεται ως ο λόγος της σκέδασης με το άθροισμα σκέδασης και απορρόφησης [Prah1, 1988]

$$\alpha = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} \quad (2.13)$$

Από την παραπάνω σχέση προκύπτει άμεσα ότι όταν η albedo ισούται με την μονάδα υπάρχει μόνο σκέδαση, ενώ όταν ισούται με το μηδέν το μέσο δεν σκεδάζει το φως. Γενικά, οι τιμές που μπορεί να πάρει η albedo κυμαίνονται από το μηδέν έως τη μονάδα.

### 2.2.2.2 Οπτικό Βάθος

Το οπτικό βάθος,  $\tau$ , είναι το γινόμενο του πάχους του ιστού με το άθροισμα των συντελεστών σκέδασης και απορρόφησης [Prahl, 1988]

$$\tau = d \cdot (\mu_a + \mu_s) \quad (2.14)$$

όπου  $d$  είναι το πάχος του ιστού.

Στην περίπτωση που το οπτικό βάθος ισούται με τη μονάδα, η πιθανότητα το φως να ταξιδέψει την απόσταση  $d$ , χωρίς να υποστεί σκέδαση ή απορρόφηση, ισούται με  $1/e$ , δηλαδή με 37%.

### 2.3 Συνάρτηση Φάσης

Όταν το φως προσπίπτει σε ένα σωματίδιο με δείκτη διάθλασης διαφορετικό από εκείνο του περιβάλλοντος, στο οποίο βρίσκεται, τότε υπόκειται σε σκέδαση. Η γωνία διάθλασης είναι συνάρτηση του μεγέθους και του σχήματος του σωματιδίου, καθώς επίσης του μήκους κύματος και της γωνίας προσπτώσεως του φωτός. Γενικά, κάθε σωματίδιο θα εμφανίζει και διαφορετικό προφίλ σκέδασης, γνωστό ως συνάρτηση φάσης. Βέβαια το προφίλ σκέδασης δεν παρουσιάζει καμία εξάρτηση από τη φάση του προσπίπτοντος φωτός, με αποτέλεσμα η ονομασία ‘συνάρτηση φάσης’ πολλές φορές να αποβαίνει παραπλανητική. Μία πιο συγκεκριμένη ονομασία για το προφίλ σκέδασης θα ήταν η ‘συνάρτηση σκέδασης’. Παρόλα αυτά, όμως, έχει επικρατήσει ο πρώτος όρος.

Η συνάρτηση φάσης,  $p(\hat{s}, \hat{s}')$ , περιγράφει τη ποσότητα του φωτός που σκεδάζεται από την κατεύθυνση  $\hat{s}$ , προς την κατεύθυνση  $\hat{s}'$ . Υπάρχει μία πληθώρα τρόπων, κατά τους οποίους η συνάρτηση φάσης δύναται να κανονικοποιηθεί, αλλά η πιο κοινή μεθοδολογία είναι εκείνη που χρησιμοποιούν οι αστροφυσικοί. Αντιμετωπίζουν τη συνάρτηση φάσης σαν μία κατανομή πιθανότητας, με αποτέλεσμα η συνθήκη κανονικοποίησης να απαιτεί το ολοκλήρωμα της συνάρτησης φάσης, σε όλες τις γωνίες, να ισούται με την μονάδα [Prahl, 1988]

$$\int_{4\pi} p(\hat{s}, \hat{s}') \cdot d\omega = 1 \quad (2.15)$$

όπου  $d\omega$  είναι η διαφορική στερεά γωνία κατά τη κατεύθυνση  $\hat{s}$ . Η συνθήκη που περιγράφεται με τη σχέση (2.15) δεν επιτρέπει στη συνάρτηση φάσης να περιγράφει γεγονότα απορρόφησης, αλλά αποτελεί περιγραφή μόνο της κατανομής σκέδασης από το σωματίδιο.

Επομένως, η κανονικοποιημένη συνάρτηση φάσης,  $p(\hat{s}, \hat{s}') \cdot d\omega$ , εκφράζει τη γωνιακή πιθανότητα ένα φωτόνιο με κατεύθυνση παράλληλη προς το μοναδιαίο διάνυσμα  $\hat{s}$ , να σκεδαστεί προς τη κατεύθυνση  $\hat{s}'$ . Για τυχαίους, μαλακούς ιστούς μπορεί να θεωρηθεί ότι η κατανομή πιθανότητας αυτής είναι μία συνάρτηση της γωνίας μεταξύ προσπίπτοντος και σκεδαζόμενου φωτονίου και ότι δεν εξαρτάται από τη γωνία που σχηματίζει το προσπίπτον φως με τον σκεδαστή. Με βάση αυτή τη θεώρηση, η συνάρτηση φάσης μπορεί να εκφραστεί ως συνάρτηση του συνημίτονου της γωνίας σκέδασης [Prahl, 1988]

$$\begin{aligned} p(\hat{s}, \hat{s}') = p(\hat{s} \cdot \hat{s}') &\Rightarrow p(\hat{s}, \hat{s}') = p[|\hat{s}| \cdot |\hat{s}'| \cdot \cos(\theta)] \Rightarrow \\ p(\hat{s}, \hat{s}') &= p[\cos(\theta)] \end{aligned} \quad (2.16)$$

όπου  $\theta$  είναι η γωνία σκέδασης.

Σε πολλές πρακτικές εφαρμογές, η ακόλουθη Henyey-Greenstein σχέση αποτελεί μία καλή προσέγγιση της συνάρτησης φάσης [Ishimaru, 1989]

$$p(\theta) = \frac{\alpha \cdot (1 - g^2)}{(1 + g^2 - 2 \cdot g \cdot \cos \theta)^{3/2}} \quad (2.17)$$

όπου  $\alpha$  είναι η albedo και  $g$  είναι ο παράγοντας ανισοτροπίας.

Η απλούστερη, όμως, συνάρτηση φάσης είναι η ισότροπη συνάρτηση φάσης και δίνεται από την ακόλουθη σχέση

$$p(\hat{s}, \hat{s}') = \frac{1}{4 \cdot \pi} \quad (2.18)$$

Ο παράγοντας  $1/(4 \cdot \pi)$  προκύπτει από τη συνθήκη κανονικοποίησης (2.15) και από το γεγονός ότι ένας πλήρης κύκλος αντιστοιχεί σε  $4 \cdot \pi \text{ sr}$ . Άμεσα διαφαίνεται ότι η συνάρτηση φάσης μετράται σε  $\text{sr}^{-1}$ .

Η θεωρία που αναπτύχθηκε από τον Mie το 1908, επιτρέπει την ύπαρξη αναλυτικών λύσεων της συνάρτησης φάσης, στην περίπτωση σκέδασης επίπεδου ηλεκτρομαγνητικού κύματος από ισοτροπικό σφαιρικό σωματίδιο οποιουδήποτε μεγέθους. Αξίζει να σημειωθεί, ότι στην περίπτωση που το μέγεθος του σκεδαστή είναι κατά πολύ μικρότερο από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτονίου, η θεωρία του Mie μπορεί να προσεγγιστεί από τη θεωρία του Rayleigh για τη σκέδαση. Ωστόσο, αυτό είναι περιορισμένης σημασίας για την σκέδαση σε βιολογικούς ιστούς για δύο βασικά λόγους. Κατ' αρχάς, η σκέδαση στους ιστούς συμβαίνει κυρίως κατά την εμπρόσθια κατεύθυνση, κάτι που δεν μπορεί να περιγράψει η σκέδαση Rayleigh και κατά δεύτερο λόγο η σκέδαση που συμβαίνει στους βιολογικούς ιστούς εξαρτάται άμεσα από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός, γεγονός που δεν συμπεριλαμβάνεται στη θεωρία του Mie για την σκέδαση.

Όταν η συνάρτηση φάσης δεν είναι ισότροπη, μία παράμετρος, που ονομάζεται μέσο συνημίτονο της συνάρτησης φάσης, χρησιμοποιείται για να περιγράψει τον βαθμό της ανισοτροπίας της συνάρτησης φάσης. Η παράμετρος αυτή συμβολίζεται με  $g$  και ορίζεται ως το ολοκλήρωμα σε όλες τις γωνίες της συνάρτησης φάσης, πολλαπλασιασμένη με το συνημίτονο της γωνίας [Prah1, 1988]

$$g = \int_{4\pi} p(\hat{s}, \hat{s}') \cdot (\hat{s} \cdot \hat{s}') \cdot d\omega \quad (2.19)$$

Μία άλλη προσέγγιση της κανονικοποίησης είναι εκείνη κατά την οποία το ποσοστό του προσπίπτοντος φωτός κατά την κατεύθυνση  $\hat{s}$  που σκεδάζεται προς την  $\hat{s}'$  δίνεται από την σχέση  $p(\hat{s}, \hat{s}')/\sigma_s$ . Έτσι, προκύπτει ότι η διατομή σκέδασης συνδέεται με τη συνάρτηση φάσης μέσω της σχέσεως [Kim, 2003]

$$\sigma_s = \int_{4\pi} p(\hat{s}, \hat{s}') \cdot d\omega \quad (2.20)$$

Με χρήση της παραπάνω σχέσης δύναται να οριστεί ο παράγοντας ανισοτροπίας με την έκφραση

$$g = \frac{1}{\sigma_s} \cdot \int_{4\pi} p(\hat{s}, \hat{s}') \cdot (\hat{s} \cdot \hat{s}') \cdot d\omega \quad (2.21)$$



Τα όρια, εντός των οποίων κυμαίνονται οι τιμές που μπορεί να πάρει ο παράγοντας ανισοτροπίας, είναι το ελάχιστο  $g = 0$ , για ιδανική ισότροπη σκέδαση και το μέγιστο  $g = 1$ , για ολοκληρωτική εμπρόσθια σκέδαση του προσπίπτοντος φωτός. Στην περίπτωση που ο παράγοντας ανισοτροπίας προκύψει  $g = -1$ , τότε εμφανίζεται το φαινόμενο της οπισθοσκέδασης. Οι βιολογικοί ιστοί, στην περιοχή του εγγύς υπερύθρου, εμφανίζουν ισχυρή εμπρόσθια σκέδαση με τυπικούς παράγοντες ανισοτροπίας εντός του διαστήματος  $0.69 \leq g \leq 0.99$  [Cheong, 1990].

Μία ακόμη σημαντική, για τις οπτικές ιδιότητες των ιστών, ποσότητα είναι ο ενεργός συντελεστής σκέδασης (transport ή reduced scattering coefficient),  $\mu'_s$ , που ορίζεται με βάση τον παράγοντα ανισοτροπίας [Schmidt, 1999]

$$\mu'_s = \mu_s \cdot (1 - g) \quad (2.22)$$

Η ποσότητα αυτή αντιπροσωπεύει τον ισοδύναμο ισότροπο συντελεστή σκέδασης και αποτελεί βασική παράμετρο για τη θεωρία διάχυσης της διάδοσης του φωτός από ένα τυχαίο μέσο. Με άλλα λόγια, η ποσότητα αυτή περιγράφει την διάχυση των φωτονίων σε μία τυχαία διαδρομή, με βήμα  $1/\mu'_s$  και όπου, μετά από κάθε βήμα, συμβαίνει ισότροπη σκέδαση. Αυτό συμβαίνει όταν πολλά γεγονότα σκέδασης προηγούνται χρονικά ενός γεγονότος απορρόφησης, δηλαδή όταν ο συντελεστής απορρόφησης είναι κατά πολύ μικρότερος του ενεργού συντελεστή σκέδασης,  $\mu_a \ll \mu'_s$ . Από τη σχέση (2.22) καθίσταται σαφές ότι ο ενεργός συντελεστής σκέδασης μετράται σε μονάδες αντιστρόφου μήκους.

Τέλος, κατά αναλογία προς τη σχέση (2.10), που ορίζει τον ολικό συντελεστή εξασθένησης και με χρήση της σχέσης (2.22) δύναται να ορισθεί ο ολικός ενεργός συντελεστής εξασθένησης (transport attenuation coefficient),  $\mu_{tr}$ , ως εξής

$$\mu_{tr} = \mu_a + \mu'_s \quad (2.23)$$

όπου η αντίστροφη ποσότητα εκφράζει τη μέση ελεύθερη διαδρομή που μπορεί να διανύσει ένα φωτόνιο χωρίς να υποστεί απορρόφηση ή/και ισότροπη σκέδαση.

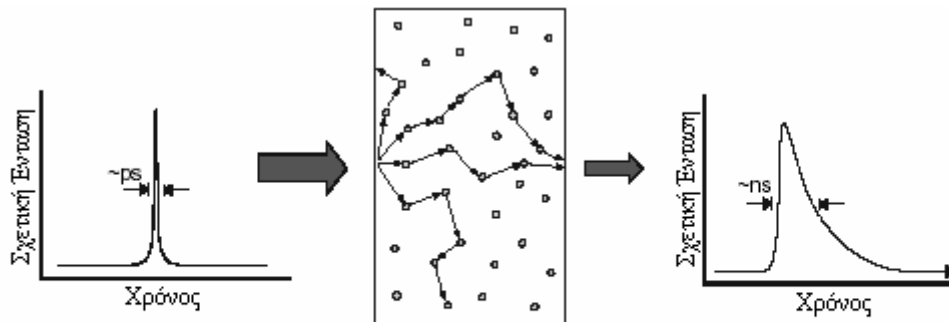
## **2.4 Μοντελοποίηση της Διάδοσης Φωτονίου σε Ιστό**

### **2.4.1 Εισαγωγή**

Στην προηγούμενη παράγραφο αναφέρθηκαν οι βασικότερες παράμετροι που επηρεάζουν την αλληλεπίδραση των φωτονίων με έναν βιολογικό ιστό. Η διάδοση του φωτός μέσω ιστού καθορίζεται πρωταρχικά από αλληλεπιδράσεις της απορρόφησης και της σκέδασης, με τη δεύτερη να αποτελεί τον κυρίαρχο μηχανισμό. Σαν αποτέλεσμα, ένας πολύ μικρός παλμός εισόδου από σύμφωνο φως σε μέσο υψηλής σκέδασης (όπως είναι οι ιστοί) θα γίνει αποτελεσματικά διάχυτο και διασκορπιζόμενο χρονικά μετά από μερικά mm. Το Σχήμα 2.3 απεικονίζει αυτή την επίδραση.

Το laser ως εργαλείο καθίσταται διαθέσιμο σε έναν συνεχώς αυξανόμενο αριθμό φυσιολόγων, όμως πριν ο ιατρός χρησιμοποιήσει αυτό το εργαλείο θα πρέπει να επιλέξει το κατάλληλο laser, την ισχύ της δέσμης, το μέγεθος του σημείου ακτινοβολήσης και τον χρόνο που θα λάβει χώρα η διαδικασία της ακτινοβολήσης.

Καθώς, όμως, οποιεσδήποτε μικρές μεταβολές των παραμέτρων αυτών μπορούν να καθορίσουν το κατά πόσο η εφαρμογή είναι αποτελεσματική ή καταστροφική, κάποια εκ των προτέρων γνώση σχετικά με τις επιδράσεις της κάθε παραμέτρου στους



**Σχήμα 2.3:** Διάγραμμα που απεικονίζει την διάχυτη διάδοση του φωτός μέσω ενός πυκνού τμήματος ιστού. Μία στενή δέσμη εισόδου από παλμικό φως εγχέεται και διασκορπίζεται μόνιμα και χωρικά λόγω πολλαπλών γεγονότων σκέδασης. Οι ισχυρά εξασθενημένοι παλμοί εξόδου διευρύνονται χάρη στην ποικιλία των χρόνων πτήσης των φωτονίων.

βιολογικούς ιστούς κρίνεται αναγκαία. Η πληροφορία αυτή, συνήθως, δίδεται από μαθηματικά μοντέλα που περιγράφουν την διάδοση του φωτός σε κάποιον ιστό. Τα πλέον γνωστά και χρησιμοποιούμενα, εξ αυτών μοντέλα, περιγράφονται ακολούθως.

#### 2.4.2 Η Εξίσωση Μεταφοράς

Η διάδοση του φωτός στους ιστούς μπορεί, κατά κανόνα, να περιγραφεί χρησιμοποιώντας τη θεμελιώδη ηλεκτρομαγνητική θεωρία, ή αλλιώς αναλυτική θεωρία. Σε αυτή την περίπτωση ο ιστός μπορεί να θεωρηθεί ως ένα τυχαίο μέσο με χωρικά μεταβαλλόμενη επιτρεπτότητα  $\epsilon(r)$  και οι μεταβολές του ηλεκτρικού πεδίου θα περιγράφονται με χρήση των εξισώσεων Maxwell. Ωστόσο, μία τέτοια αντιμετώπιση προς το παρόν δεν είναι εφικτή λόγω της πολυπλοκότητας του προβλήματος και της αδυναμίας ακριβούς γνώσης του  $\epsilon(r)$ . Αντιθέτως, το πρόβλημα μπορεί να απλοποιηθεί αγνοώντας κυματικά φαινόμενα, όπως η πόλωση και η συμβολή, και ιδιότητες των στοιχείων, όπως ανελαστικές συγκρούσεις. Αυτή είναι μία πολύ καλή προσέγγιση για μεγάλες πυκνότητες (μεγαλύτερες από αρκετά mm) βιολογικών ιστών στο εγγύς υπέρυθρο.

Η βασική παραδοχή στην θεωρία μεταφοράς ακτινοβολίας είναι ότι λαμβάνεται υπόψη μόνο η ροή ενέργειας από το μέσο. Η Εξίσωση Μεταφοράς Ακτινοβολίας (Radiative Transfer Equation, RTE) [Arridge, 1997; Schmidt, 1999]

$$\begin{aligned} \frac{1}{c} \cdot \frac{\partial L(\vec{r}, t, \hat{s})}{\partial t} + \hat{s} \cdot \nabla L(\vec{r}, t, \hat{s}) + (\mu_a + \mu_s) \cdot L(\vec{r}, t, \hat{s}) \\ = \mu_s \cdot \int_{4\pi} p(\hat{s}, \hat{s}') \cdot L(\vec{r}, t, \hat{s}') \cdot d\omega' + q(\vec{r}, t, \hat{s}) \end{aligned} \quad (2.24)$$

αποτελεί μία ολοκληρο-διαφορική εξίσωση και περιγράφει τη μεταβολή της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας  $L(\vec{r}, t, \hat{s})$  στη θέση  $\vec{r}$  και κατά τη κατεύθυνση  $\hat{s}$  (βλ. παράγραφο 2.2.1.5). Η παράμετρος  $c$  είναι η ταχύτητα φωτός στο μέσο,  $\mu_a$  είναι ο συντελεστής απορρόφησης,  $\mu_s$  είναι ο συντελεστής σκέδασης,  $p(\hat{s}, \hat{s}')$  είναι η συνάρτηση φάσης της σκέδασης,  $d\omega'$  είναι το διαφορικό της στερεάς γωνίας στην κατεύθυνση  $\hat{s}'$  και  $q(\vec{r}, t, \hat{s})$  είναι η πηγή ακτινοβολίας.

Η μορφή αυτή της εξίσωσης μεταφοράς δεν περιλαμβάνει τις ιδιότητες των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων, όπως είναι η πόλωση, και τις ιδιότητες των σωματιδίων, όπως για παράδειγμα ανελαστικές συνδέσεις. Παρ' όλα αυτά, γενικά, είναι επαρκής για να περιγράψει την αλληλεπίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με τους ιστούς για πολλές ιατρικές, απεικονιστικές, εφαρμογές.

Η RTE μπορεί να παραχθεί θεωρώντας ισορροπία της ακτινοβολούσας ενέργειας σε έναν αυθαίρετο στοιχειώδη όγκο ιστού. Είναι μία εξίσωση ισορροπίας που συσχετίζει τη χρονική μεταβολή της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας  $L(\vec{r}, t, \hat{s})$  ( $1^{ος}$  όρος) με τη μεταβολή της ροής της ενέργειας ( $2^{ος}$  όρος), την απώλεια λόγω της απορρόφησης και της σκέδασης ( $3^{ος}$  όρος), το κέρδος λόγω των πηγών σκέδασης ( $4^{ος}$  όρος) και το κέρδος λόγω των πηγών ακτινοβολίας ( $5^{ος}$  όρος).

Παρόλο που η κυματική φύση του φωτός αγνοείται κατά την παραγωγή της, η πόλωση μπορεί να συμπεριληφθεί χρησιμοποιώντας τις παραμέτρους του Stokes, παράγοντας έτσι τέσσερις, αντί μίας, εξισώσεις μεταφοράς ακτινοβολίας. Ενώ ακριβείς λύσεις για την RTE υπάρχουν μόνο για απλές περιπτώσεις, όπως ισοτροπική σκέδαση σε απλές γεωμετρίες, δεν υπάρχει γενική λύση. Συνεπώς, κανείς απαιτείται να πραγματοποιήσει περαιτέρω προσεγγίσεις ή να υπολογίσει αριθμητικές λύσεις. Ακολουθώς περιγράφεται ένας αριθμός από ντετερμινιστικά και στοχαστικά μοντέλα της μεταφοράς φωτονίων, που προκύπτουν από την RTE.

### 2.4.3 Ντετερμινιστικά Μοντέλα

Είναι δυνατό να παραχθούν ντετερμινιστικές προσεγγίσεις στην RTE, οι οποίες μπορούν να επιλυθούν για μία ποικιλία γεωμετριών. Τρία συχνά εφαρμοζόμενα μοντέλα, η προσέγγιση διάχυσης, η θεωρία των Kubelka και Munk και η σκέδαση πρώτης τάξεως, θα περιγραφούν σε αυτή την ενότητα.

#### 2.4.3.1 Η Προσέγγιση Διάχυσης στην RTE

Αναλύοντας την RTE σε σφαιρικές αρμονικές μπορεί κανείς να παράγει μία ιεραρχία από εξισώσεις, εκ των οποίων η απλούστερη, η επονομαζόμενη  $P_1$  προσέγγιση, είναι η χρονικά εξαρτώμενη εξίσωση διάχυσης [Arridge, 1999]

$$\frac{1}{c} \cdot \frac{\partial \psi(\vec{r}, t)}{\partial t} - \nabla k(\vec{r}) \cdot \nabla \psi(\vec{r}, t) + \mu_a(\vec{r}) \cdot \psi(\vec{r}, t) = q_0(\vec{r}, t) \quad (2.25)$$

όπου  $\psi(\vec{r}, t)$  είναι η ολική διάχυτη (σκεδαζόμενη) ενεργειακή ροή, που ορίζεται από την ακόλουθη σχέση

$$\psi(\vec{r}, t) = \int_{4\pi} L(\vec{r}, t, \hat{s}) \cdot d\omega \quad (2.26)$$

και  $k(\vec{r})$  είναι ο συντελεστής διάχυσης, που ορίζεται ως εξής

$$k(\vec{r}) = \frac{1}{3 \cdot [\mu_a(\vec{r}) + \mu'_s(\vec{r})]} \quad (2.27)$$

με  $\mu'_s(\vec{r})$  τον ενεργό συντελεστή σκέδασης. Τέλος, ο όρος  $q_0$  αντιπροσωπεύει μία ισοτροπική πηγή. Η πυκνότητα ροής ακτινοβολίας  $\phi(\vec{r}, t)$  κατά μήκος της επιφάνειας του συνόρου που ορίζεται από το μοναδιαίο διάνυσμα  $\hat{n}$ , στο σημείο  $\xi$ , μπορεί τότε να δειχθεί ότι είναι [Schmidt, 1999]

$$\varphi(\xi, t) = -k(\xi) \cdot \frac{\partial}{\partial n} \psi(\xi, t) \quad (2.28)$$

Για την εφαρμογή της εν λόγω μεθόδου πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες δύο, πολύ σημαντικές, προσεγγίσεις:

**a.** Η προσέγγιση  $P_1$  ισχύει μόνο στην περίπτωση που  $\mu_a \ll \mu'_s$ . Παρόλο που αυτό είναι αληθές για τους περισσότερους βιολογικούς ιστούς στο εγγύς υπέρυθρο, υπάρχουν περιοχές του σώματος όπου η προσέγγιση διάχυσης δεν είναι απολύτως ορθή. Μία τέτοια περιοχή είναι το καθαρό στρώμα, γεμάτο με CSF (εγκεφαλονωτιαίο υγρό, cerebrospinal fluid), του κεφαλιού. Απομένει να αποδειχθεί πόσο σοβαρή είναι η επίδραση αυτού του στρώματος στο σχέδιο ανακατασκευής εικόνας που στηρίζεται σε ένα μοντέλο διάχυσης.

**b.** Όροι πηγών μεγαλύτερης τάξεως αγνοούνται. Αυτό υπαινίσσεται ότι μη ισότροπες πηγές δεν μπορούν απευθείας να συγχωνευτούν σε ένα μοντέλο που στηρίζεται στην διάχυση.

#### 2.4.3.1.1 Αναλυτικές Λύσεις

Αναλυτικές λύσεις στην χρονικά εξαρτώμενη εξίσωση διάχυσης υπάρχουν μόνο για μερικές απλές γεωμετρίες [Arridge, 1992]. Η απλούστερη περίπτωση είναι εκείνη ενός απειροστά σύντομου παλμού μέσα σε άπειρο ομογενές μέσο, τέτοιο ώστε η πηγή να είναι  $q(\vec{r}', t') = \delta(\vec{r}', t')$ . Η λύση για την ολική διάχυτη ενεργειακή ροή,  $\psi(\vec{r}, t)$ , στη θέση  $\vec{r}$  και τον χρόνο  $t$ , είναι η συνάρτηση του Green

$$\psi(\vec{r}, t) = \frac{1}{[4 \cdot \pi \cdot c \cdot k \cdot (t - t')]^{3/2}} \cdot \exp\left[-\frac{(r - r')^2}{4 \cdot c \cdot k \cdot (t - t')} - \mu_a \cdot c \cdot (t - t')\right] \quad (2.29)$$

Επίσης, είναι δυνατό να εξαχθεί μία αναλυτική λύση για την περίπτωση μίας ημιάπειρης πλάκας, η οποία εκτείνεται πέρα από το  $z \geq 0$ . Μία αποτελεσματική ισοτροπική σημειακή πηγή, η οποία μπορεί να θεωρηθεί ως προσομοίωση μιας στενής δέσμης laser που προσπίπτει στο  $z = 0$ , τοποθετείται σε βάθος  $z_0 = 1/\mu'_s$ . Σε συνάρτηση με την οριακή συνθήκη  $\psi(z = 0, t) = 0$ , αυτό φαίνεται ότι δίνει:

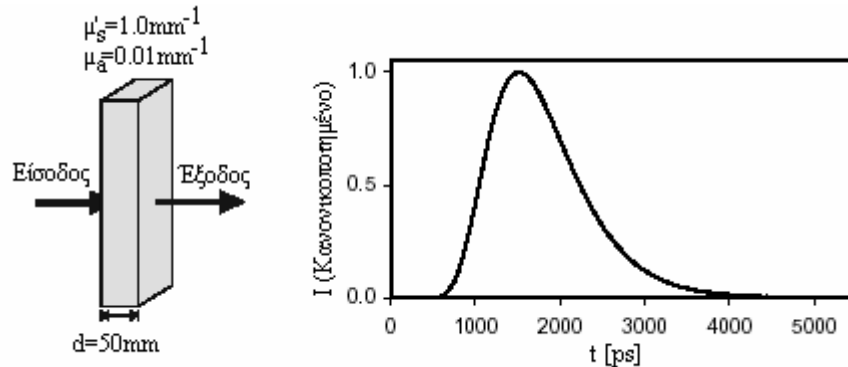
$$\psi(\vec{r}, t) = \left\{ \frac{1}{[4 \cdot \pi \cdot c \cdot k \cdot (t - t')]^{3/2}} \cdot \exp\left[-\mu_a \cdot c \cdot (t - t') - \frac{\rho^2}{4 \cdot c \cdot k \cdot (t - t')}\right] \cdot \left[ \exp\left[\frac{-(z - z_0)^2}{4 \cdot c \cdot k \cdot (t - t')}\right] - \exp\left[\frac{-(z + z_0)^2}{4 \cdot c \cdot k \cdot (t - t')}\right] \right] \right\} \quad (2.30)$$

όπου  $\rho = \sqrt{(x - x')^2 + (y - y')^2}$  είναι η ακτινωτή απόσταση από τη θέση εισόδου.

Η λύση για μία άπειρη πλάκα με όρια στα  $z = 0$  και  $z = d$  και με την οριακή συνθήκη  $\psi(z = 0, t) = \psi(z = d, t) = 0$  είναι

$$\psi(\vec{r}, t) = \left\{ \frac{1}{[4 \cdot \pi \cdot c \cdot k \cdot (t - t')]^{3/2}} \cdot \exp\left[-\mu_a \cdot c \cdot (t - t') - \frac{\rho^2}{4 \cdot c \cdot k \cdot (t - t')}\right] \cdot \sum_{N=-\infty}^{N=+\infty} \left[ \exp\left[\frac{-(z - 2 \cdot N \cdot d - z_0)^2}{4 \cdot c \cdot k \cdot (t - t')}\right] - \exp\left[\frac{-(z - 2 \cdot N \cdot d + z_0)^2}{4 \cdot c \cdot k \cdot (t - t')}\right] \right] \right\} \quad (2.31)$$

Η παραπάνω έκφραση προέκυψε με εφαρμογή της επονομαζόμενης μεθόδου των ειδώλων [Arridge, 1992; Patterson, 1989]. Ως παράδειγμα, το υπολογισμένο TPSF (Temporal Point Spread Function, [Hebden, 1995]) μιας άπειρης πλάκας πάχους  $d = 50\text{mm}$  και οπτικών ιδιοτήτων  $\mu'_s = 1.0\text{mm}^{-1}$  και  $\mu_a = 0.01\text{mm}^{-1}$ , φαίνεται στο Σχήμα 2.4.



**Σχήμα 2.4:** Ένα TPSF (δεξιά) υπολογισμένο από την συνάρτηση του Green για μία άπειρη πλάκα (αριστερά)

Αναλυτικές λύσεις για άλλες απλές γεωμετρίες, όπως σφαίρες και κύλινδροι, όπως επίσης και τα ισοδύναμα των παραπάνω εξισώσεων στην περιοχή της συχνότητας μπορούν να βρεθούν στην διεθνή βιβλιογραφία [Arridge, 1992]. Παρόλο που δεν υπάρχουν γενικές λύσεις για ανομοιογενή μέσα, αναλυτικές εκφράσεις έχουν εξαχθεί, οι οποίες είναι ικανές να συγχωνεύσουν μία μονή, σχεδόν σημειακή, διαταραχή απορρόφησης σε ένα, κατά τα άλλα, ομογενές μέσο.

#### 2.4.3.1.2 Αριθμητικές Λύσεις

Οι πιο κοινές μέθοδοι για αριθμητική επίλυση της χρονικά εξαρτώμενης εξίσωσης διάχυσης για ανομοιογενή μέσα, αυθαίρετου σχήματος, είναι οι μέθοδοι πεπερασμένων διαφορών και πεπερασμένων στοιχείων.

Η μέθοδος των πεπερασμένων διαφορών (finite-difference method, FDM) αποτελεί μία δεδομένη τεχνική για την επίλυση μερικών διαφορικών εξισώσεων (partial differential equation, PDE). Ένα κανονικό πλέγμα δημιουργείται στην περιοχή του προβλήματος και οι διαφορικοί χειριστές αντικαθίστανται από διακριτές διαφορές. Τότε, το πρόβλημα μετατρέπεται σε πρόβλημα άλγεβρας αραιών μήτρων ή (σε εξαιρετικές περιπτώσεις) σε πρόβλημα τοπικής συνέλιξης. Για ελλειπτικές εξισώσεις (διαφορικές εξισώσεις στην περιοχή της συχνότητας) η χρήση διάταξης πολλαπλού πλέγματος είναι ιδανική κι έχει προσφάτως εφαρμοστεί στην οπτική τομογραφία. Για παραβολικές εξισώσεις (διαφορικές εξισώσεις στην περιοχή του χρόνου) η χρήση μίας, μεταβαλλόμενης κατεύθυνσης, άπειρης διάταξης είναι ιδανική, με τη προϋπόθεση ότι το πλέγμα είναι κανονικά χωρισμένο προς όλες τις κατευθύνσεις (x,y,z) του στοιχείου. Τέλος, στην περίπτωση της εξίσωσης μεταφοράς, η επίλυσή της είναι εφικτή με εφαρμογή της μεθόδου των πεπερασμένων διαφορών, με προϋπόθεση την διακριτοποίηση του γωνιακού ολοκληρώματος προς τις κατευθύνσεις της σκέδασης [Arridge, 1997].

Η μέθοδος πεπερασμένων στοιχείων (Finite Element Method, FEM) περιλαμβάνει την διαίρεση του μέσου σε έναν μεγάλο αριθμό στοιχειωδών όγκων ή

περιοχών, κάθε ένα από τα οποία εμφανίζει τις δικές του οπτικές ιδιότητες,  $\mu_a$  και  $\mu'_s$ . Οι λύσεις βρίσκονται ταυτοχρόνως σε όλους τους κόμβους του βρόγχου πεπερασμένων στοιχείων, αναστρέφοντας την συσχετιζόμενη μήτρα. Η ολική διάχυτη ενεργειακή ροή για τα ξεχωριστά στοιχεία υπολογίζεται κατόπιν, από τις τιμές των κόμβων μέσω ενός διαγράμματος παρεμβολής, το οποίο διασφαλίζει τη συνέχεια της συνολικής λύσης, *piecewise* γραμμικότητα κατά μήκος των στοιχείων και την ικανοποίηση των υπολοίπων ιδιοτήτων. Η μέθοδος αυτή πλεονεκτεί έναντι της μεθόδου των πεπερασμένων διαφορών, κυρίως ως προς την αποτελεσματικότητά της σε μία μεγάλη ποικιλία σύνθετων γεωμετριών και την μοντελοποίηση οριακών επιδράσεων [Arridge, 1997; Arridge, 1993].

Παρόλο που η FEM είναι σχετικά γρήγορη συγκρινόμενη με την, υψηλά πολλαπλής χρησιμότητας, μέθοδο Monte Carlo, είναι ακόμη υπολογιστικά ακριβή κι επίσης απαιτεί μία μεγάλη ποσότητα υπολογιστικής μνήμης. Αυτό είναι αληθές ειδικά στην περίπτωση μίας άκρως τρισδιάστατης αντιμετώπισης του προβλήματος.

#### 2.4.3.2 Η Μέθοδος Kubelka & Munk

Όταν θεωρείται μία ομογενής, παραλληλεπίπεδη, άπειρη πλάκα πάχους  $d$ , η οποία φωτίζεται από ένα κανονικό επίπεδο κύμα, δύναται να προκύψουν δύο (ή και περισσότερα) μοντέλα ροής. Οι Kubelka και Munk [Kubelka, 1931] διατύπωσαν ένα μοντέλο δυο ροών, το οποίο θεωρούσε ότι μόνο η εμπρόσθια,  $d\varphi_-$ , και η αντίθετη ροή,  $d\varphi_+$ , διαδίδονται μέσα από άπειρη πλάκα πάχους  $d$ . Ο ρυθμός μεταβολής των δύο αυτών ροών δίνεται από τις ακόλουθες σχέσεις

$$d\varphi_+ = -(K + S) \cdot \varphi_+ \cdot dz + S \cdot \varphi_- \cdot dz \quad (2.32a)$$

$$d\varphi_- = -(K + S) \cdot \varphi_- \cdot (-dz) + S \cdot \varphi_+ \cdot (-dz) \quad (2.32b)$$

όπου τα  $K$  και  $S$  είναι οι συντελεστές απορρόφησης και σκέδασης (*diffusion absorption and scattering coefficients*), αντίστοιχα, για διάχυτο φως και οι οποίες, στην περίπτωση ισοτροπικής ακτινοβολίας, ισούνται με  $K = 2 \cdot \mu_a$  και  $S = \mu_s$  [Mudgett, 1972]. Πολλοί ερευνητές έχουν υιοθετήσει διαφορετικές ερμηνείες για τους συντελεστές αυτούς, όπως για παράδειγμα  $K = 2 \cdot \mu_a$  και  $S = \frac{3}{4} \cdot \mu_s$  [Brinkworth, 1971] ή  $K = 2 \cdot \mu_a$  και  $S = [3 \cdot \mu_2 \cdot (1 - g) - \mu_a] / 4$  [Molenaar, 1999]. Τα πρόσημα, τόσο στους δείκτες, όσο και τις εξισώσεις, εξαρτώνται από την επιλογή της θετικής κατεύθυνσης [Kubelka, 1931].

Οι σχέσεις αυτές, συνδυαζόμενες με τις οριακές συνθήκες  $\varphi_+(z=0) = \varphi_0$  και  $\varphi_-(z=d) = 0$  δίνουν τις λύσεις [Schmidt, 1999]

$$\varphi_+(z) = \varphi_0 \cdot \frac{\sinh(b \cdot S \cdot z)}{a \cdot \sinh(b \cdot S \cdot d) + b \cdot \cosh(b \cdot S \cdot d)} \quad (2.33a)$$

$$\varphi_-(z) = \varphi_0 \cdot \frac{a \cdot \sinh(b \cdot S \cdot z) + b \cdot \cosh(b \cdot S \cdot z)}{a \cdot \sinh(b \cdot S \cdot d) + b \cdot \cosh(b \cdot S \cdot d)} \quad (2.33b)$$

όπου

$$a = \frac{S + K}{S} \quad (2.34a)$$

και

$$b = \sqrt{a^2 - 1} \quad (2.34b)$$

Το πλεονέκτημα του μοντέλου των Kubelka και Munk είναι ότι οι συντελεστές σκέδασης και απορρόφησης μπορούν να εκφραστούν απευθείας με χρήση της μετρούμενης ανάκλασης και διάδοσης. Οι αντίστοιχες σχέσεις είναι οι ακόλουθες [Cheong, 1990]

$$S = \frac{1}{y \cdot d} \cdot \ln \left[ \frac{1 - R \cdot (x - y)}{T} \right] \quad (2.35a)$$

$$K = (x - 1) \cdot S \quad (2.35b)$$

όπου

$$x = \frac{1 + R^2 - T^2}{2 \cdot R} \quad (2.36)$$

και

$$y = \sqrt{x^2 - 1} \quad (2.37)$$

ενώ R και T είναι η μετρούμενη ανάκλαση και η μετρούμενη διάδοση, αντίστοιχα.

Μοντέλα τεσσάρων ροών, τα οποία, μαζί με την διαχυμένη ευθεία και αντίθετη ροή, λαμβάνουν υπόψη τη σύμφωνη εμπρόσθια και αντίθετη ροή, δίνουν πιο ακριβείς λύσεις. Μοντέλα μεγαλύτερης τάξεως (έξι ή και οχτώ ροών) έχουν επίσης αναφερθεί. Τα μοντέλα πολλαπλών ροών δίνουν αποτελέσματα που προσεγγίζουν αρκετά καλά τα πειραματικά δεδομένα [Mudgett, 1972]. Παρόλα αυτά, η χρησιμότητά τους είναι περιορισμένη, λόγω του ότι γενικά αναφέρονται σε απλές επίπεδες γεωμετρίες.

Συνολικά, η θεωρία των Kubelka και Munk υπόκειται στις ακόλουθες παραδοχές [Molenaar, 1999]:

- a. Το δείγμα πρέπει να είναι επίπεδο. Μη επίπεδες γεωμετρίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν, μόνο με την πραγματοποίηση συμπληρωματικών παραδοχών.
- b. Το δείγμα δεν πρέπει να εμφανίζει απώλειες άκρων.
- c. Οι οπτικές ανομοιογένειες στο δείγμα, που συμβάλουν στη σκέδαση, θα πρέπει να είναι κατά πολύ μικρότερες από το πάχος του δείγματος και να είναι ομοιόμορφα κατανομημένες μέσα σε αυτό.
- d. Ο φωτισμός που χρησιμοποιείται θα πρέπει να είναι ομογενής και διάχυτος.
- e. Το δείγμα θα πρέπει να είναι από μη διαυγές υλικό και να παρουσιάζει ένα σταθερό και πεπερασμένο πάχος.
- f. Τα όρια του δείγματος δεν θα πρέπει να εκθέτουν κατοπτρική ανάκλαση.

Παρόλα αυτά, η απλότητα του μοντέλου το έχει καταστήσει μία πολύ διαδεδομένη μέθοδο για τη μέτρηση των οπτικών ιδιοτήτων των ιστών.

#### 2.4.3.3 Σκέδαση Πρώτης Τάξεως

Η μέθοδος σκέδασης πρώτης τάξεως εφαρμόζεται μόνο σε περιπτώσεις όπου η διάχυτη ακτινοβολία είναι αισθητά μικρότερη από τη συνεχόμενη. Σε αυτή την περίπτωση μία αναλυτική λύση της RTE μπορεί να δοθεί, πραγματοποιώντας την παραδοχή

$$L_c + L_d \cong L_c \quad (2.38)$$

όπου  $L_c$  είναι η συνεχόμενη (coherent) ακτινοβολία και  $L_d$  η διάχυτη (diffuse). Τότε το φως που σκεδάζεται μπορεί να αντιμετωπισθεί με ανάλογο τρόπο προς εκείνο που απορροφάται. Έτσι, η ένταση σε μία απόσταση  $z$  από την επιφάνεια του ιστού δίνεται από το νόμο του Lambert

$$L(z) = L_0 \cdot \exp[-(\mu_a + \mu_s) \cdot z] \quad (2.39)$$

Η σκέδαση πρώτης τάξεως περιορίζεται σε επίπεδα προσπίπτοντα κύματα και η πολλαπλή σκέδαση δε λαμβάνεται υπόψη. Στα θετικά της μεθόδου συμπεριλαμβάνεται η πολύ απλή επίλυση του προβλήματος, χρήσιμη, όμως, μόνο για πάχος δείγματος  $d \ll 1mm$  και για  $a \ll 0.5$ . Το μεγαλύτερο όμως μειονέκτημα της μεθόδου και το οποίο την καθιστά, ουσιαστικά, αναποτελεσματική είναι ότι στο οπτικό παράθυρο ( $600-1200nm$ ), όπου οι περισσότεροι ιστοί είναι διάφανοι, η albedo (βλ. παράγραφο 2.2.2.1) προσεγγίζει τη μονάδα. Ως εκ τούτου, για αυτά τα μήκη κύματος, η επίλυση πρώτης τάξεως δε δύναται να εφαρμοστεί.

#### **2.4.4 Στοχαστικά Μοντέλα**

Στα στοχαστικά μοντέλα μεταφοράς φωτονίων μέσω ιστών (ή οποιουδήποτε άλλου μέσου υψηλής σκέδασης), μεμονωμένες διαδρομές φωτονίων προσομοιώνονται θεωρώντας την πιθανότητα αλληλεπιδράσεων λόγω απορρόφησης και σκέδασης. Τα τρία πιο συχνά χρησιμοποιούμενα στοχαστικά μοντέλα, η μέθοδος Monte Carlo, η θεωρία Random Walk και η θεωρία Adding-Doubling, αναφέρονται συνοπτικά σε αυτή την ενότητα.

##### **2.4.4.1 Monte Carlo**

Οι μέθοδοι Monte Carlo (MC) αναφέρονται σε αριθμητικές προσομοιώσεις που βασίζονται στην τυχαία δειγματοληψία από κατάλληλες κατανομές πιθανοτήτων. Το φως θεωρείται ότι είναι ένα ρεύμα από σωματίδια (φωτόνια) τα οποία εγχέονται στο μέσο και κινούνται σε ευθείες γραμμές μέσα στον ιστό, ανάμεσα από επιτυχείς αλληλεπιδράσεις. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου Monte Carlo περιλαμβάνουν απλή εφαρμογή, την ικανότητα να διαχειρίζονται κάθε πολύπλοκη γεωμετρία και ανομοιογένεια, καθώς και τη δυνατότητα να ενσωματώνει χρονική εξάρτηση. Είναι επίσης δυνατό να μοντελοποιήσει κυματικά φαινόμενα, όπως πόλωση και παρεμβολή. Το κύριο μειονέκτημα της μεθόδου είναι το έμφυτο υψηλό υπολογιστικό κόστος. Δεδομένου ότι τα φωτόνια διέπονται από τις στατιστικές του Poisson, ο λόγος σήματος προς θόρυβο (SNR) της κατανομής δειγματοληψίας αυξάνεται με την τετραγωνική ρίζα του αριθμού των καθορισμένων φωτονίων.

Οι παράμετροι που απαιτούνται για να καθοριστεί ένας διάδρομος φωτονίου, μέσω κάποιου αυθαιρέτως τυχαίου μέσου, είναι ο τοπικοί συντελεστές απορρόφησης  $\mu_a$  και σκέδασης  $\mu_s$  και η συνάρτηση φάσης της σκέδασης  $p(\hat{s}, \hat{s}')$ . Τα φωτόνια εκπέμπονται από μία πηγή και ταξιδεύουν σε ευθείες γραμμές μέχρι να σκεδαστούν. Η πιθανότητα κάποιο φωτόνιο να σκεδαστεί μετά από απόσταση  $d\tau$  ορίζεται ως εξής

$$P(\tau) \cdot d\tau = e^{-\mu_s \cdot \tau} \cdot d\tau \quad (2.40)$$

Έτσι, η αθροιστική πιθανότητα να πραγματοποιηθεί σκέδαση μετά από απόσταση  $\tau$  είναι



$$\int_0^{\tau} \exp(-\mu_s \cdot \tau') \cdot d\tau' = 1 - e^{-\mu_s \cdot \tau} \equiv r \quad (2.41)$$

όπου  $r \in [0, \dots, 1]$  είναι ένας τυχαίος αριθμός. Επομένως, η απόσταση μεταξύ γεγονότων σκέδασης δίνεται από την σχέση [Wilson, 1983; Hiraoka, 1993]

$$\tau = -\frac{1}{\mu_s} \cdot \ln(1-r) \quad (2.42)$$

που ισοδυναμεί με

$$\tau = -\frac{1}{\mu_s} \cdot \ln(r) \quad (2.43)$$

Η αξιμουθιακή και η πολική γωνία σκέδασης,  $\theta$  και  $\varphi$ , που σχετίζονται με την προηγούμενη κατεύθυνση της κίνησης δίνονται από τις σχέσεις [Schmidt, 1999]

$$\varphi = 2 \cdot \pi \cdot r_1 \quad (2.44)$$

και

$$\int_0^{\theta} p(\theta') \cdot d\theta' = r_2 \quad (2.45)$$

όπου  $r_1$  και  $r_2 \in [0, \dots, 1]$  είναι ομοιόμορφα κατανομημένοι τυχαίοι αριθμοί.

Η απορρόφηση μπορεί να ληφθεί υπόψη είτε τερματίζοντας τον δρόμο ενός απορροφημένου φωτονίου, είτε εισάγοντας ένα σενάριο βάρους. Ως εκ τούτου το βάρος του φωτονίου  $w \in [0, \dots, 1]$  μειώνεται ανάμεσα σε διαδοχικά γεγονότα σκέδασης σύμφωνα με τον τύπο [Hiraoka, 1993]

$$w = w' \cdot \exp(-\mu_a \cdot \tau) \quad (2.46)$$

όπου  $w'$  είναι το βάρος πριν από την αλληλεπίδραση και  $\tau$  είναι η απόσταση που το φωτόνιο έχει διανύσει μετά το τελευταίο γεγονός σκέδασης. Οι δρόμοι των φωτονίων τερματίζονται όταν είτε το βάρος γίνει αμελητέο, είτε το φωτόνιο εγκαταλείψει το όριο ή την περιοχή ενδιαφέροντος, είτε τέλος φτάσει στον ανιχνευτή. Στην τελευταία περίπτωση ο ρυθμός μέτρησης του ανιχνευτή αυξάνεται κατά το υπολειπόμενο βάρος,  $w$ , του φωτονίου. Αυτή η τεχνική, επίσης γνωστή και ως ‘survival weighting’, αποτελεί μία εκ των αρκετών, επονομαζόμενων, ‘τεχνικών μείωσης μεταβλητών’, που αποσκοπούν στο να κάνουν τις μεθόδους Monte Carlo πιο ακριβείς, καθώς γίνονται και υπολογιστικά αποτελεσματικές.

#### 2.4.4.2 Random Walk

Στην θεωρία Random Walk (RWT), η στατιστική συμπεριφορά τυχαίων διαδρομών στον χώρο χρησιμοποιείται για την επίλυση ποσοτήτων, όπως η χωρική εξάρτηση της σκεδαζόμενης ανάκλασης που προκύπτει από μία σημειακή πηγή. Οι τυχαίες διαδρομές του φωτονίου συμβαίνουν σε ένα διακριτό κυβικό πλέγμα, όπου οι αποστάσεις του πλέγματος ισοδυναμούν με τη μέση τετραγωνική ρίζα της απόστασης ανάμεσα από γεγονότα σκέδασης και με την απορρόφηση να συμβαίνει στα ενδιάμεσα διαστήματα. Ενώ αυτό ισοδυναμεί με ιστροπική σκέδαση, το μοντέλο μπορεί να επεκταθεί και σε ανιστροπική σκέδαση μέσω της χρήσης των επονομαζόμενων ‘βεβιασμένων βημάτων’ (constrained walks).

Παρόλο το γεγονός ότι ο αριθμός των κατευθύνσεων κατά τις οποίες δύναται να πραγματοποιηθεί κίνηση είναι αυστηρά περιορισμένος, η RWT παρέχει μία ισχυρή περιγραφή της μετανάστευσης των φωτονίων σε ένα τυχαίο μέσο. Προβλέψεις τέτοιων μοντέλων έχουν αξιολογηθεί με προσομοιώσεις Monte Carlo, με την θεωρία διάχυσης και με πειραματικές μετρήσεις [Hebden, 1995]. Στο όριο μεγάλων αριθμών βημάτων κατά την διαδρομή, μπορεί κανείς να εξαγάγει αναλυτικές εκφράσεις για φυσικές ποσότητες, όπως η πιθανότητα να βρεθεί ένα φωτόνιο σε μία δεδομένη απόσταση από μία σημειακή πηγή. Ωστόσο, καθώς ένας μεγάλος αριθμός από βήματα αντιστοιχεί σε μία μικρή πιθανότητα απορρόφησης, αυτό το μοντέλο είναι περισσότερο χρήσιμο σε περιπτώσεις όπου εφαρμόζεται και η θεωρία διάχυσης. Μάλιστα ο Chandrasekhar (1943) έχει αποδείξει την ισοδυναμία των δύο μοντέλων μεταφοράς φωτονίων μέσω μέσων υψηλής σκέδασης.

#### **2.4.4.3 Adding-Doubling**

Η μέθοδος Adding-Doubling χρησιμοποιείται για την εύρεση των οπτικών ιδιοτήτων (σκέδαση, απορρόφηση και βαθμού ανισοτροπίας) μίας πλάκας μη διαυγούς υλικού, χρησιμοποιώντας μετρήσεις της ολικής ανάκλασης, της μη σκεδαζόμενης διάδοσης και της ολικής διάδοσης. Η μέθοδος αυτή είναι εφαρμόσιμη σε ομογενείς θολές πλάκες, με οποιοδήποτε οπτικό πάχος, albedo ή συνάρτηση φάσης. Η πλάκα μπορεί να εμφανίζει διαφορετικό δείκτη διάθλασης από το περιβάλλον της και μπορεί να, ή να μην, περιορίζεται από γυαλί. Οι οπτικές ιδιότητες λαμβάνονται επαναλαμβάνοντας μία adding-doubling λύση της εξίσωσης μεταφοράς ακτινοβολίας, μέχρις ότου οι υπολογιζόμενες τιμές της ανάκλασης και της διάδοσης εξισωθούν με τις πειραματικά μετρούμενες. Εκτενή αριθμητικά τεστ έδειξαν ότι το ενδογενές σφάλμα της μεθόδου είναι μικρότερο από 3%, όταν χρησιμοποιούνται τέσσερα τετραγωνικά σημεία (quadrature points) [Prah, 1993].

Για την ακρίβεια η μέθοδος αυτή είναι γνωστή με την ονομασία ανάστροφη adding-doubling (Inverse Adding-Doubling, IAD), με τον όρο ‘ανάστροφη’ να εκφράζει μία αναστροφή της συνήθους διαδικασίας υπολογισμού της ανάκλασης και της διάδοσης από τις οπτικές ιδιότητες του δείγματος και με τον όρο ‘adding-doubling’ να προσδιορίζει τη μέθοδο που θα χρησιμοποιηθεί για την επίλυση της εξίσωσης μεταφοράς ακτινοβολίας. Η μέθοδος IAD αποτελείται από τέσσερα βήματα. Το πρώτο εξ αυτών περιλαμβάνει τη θεώρηση κάποιων αυθαίρετων οπτικών ιδιοτήτων. Κατόπιν, στο δεύτερο βήμα, υπολογίζεται η ανάκλαση και η διάδοση χρησιμοποιώντας τη μέθοδο adding-doubling. Κατά το τρίτο βήμα πραγματοποιείται σύγκριση των υπολογιζόμενων τιμών με τις πειραματικά μετρούμενες και η διαδικασία επαναλαμβάνεται, στο τέταρτο και τελευταίο βήμα, μέχρις ότου προκύψει ταύτιση των αποτελεσμάτων της προσομοίωσης με εκείνα του πειράματος. Εκείνες οι οπτικές ιδιότητες που θα παράγουν τιμές ανάκλασης και διάδοσης ταυτόσημες με τις μετρούμενες τιμές λαμβάνονται ως οι πραγματικές οπτικές ιδιότητες του δείγματος. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν με τη μέθοδο IAD είναι ακριβή για όλες τις οπτικές ιδιότητες και μπορούν να γίνουν αυθαίρετως ακριβή, με το κόστος όμως της αύξησης του υπολογιστικού χρόνου. Επιπροσθέτως, αποφεύγοντας μία αναλυτική

επίλυση του προβλήματος, είναι δυνατό να ενσωματώσει τις απαραίτητες διορθώσεις για μετρήσεις που ελήφθησαν απευθείας από σφαίρες ολοκλήρωσης. Τέτοιες διορθώσεις είναι συνήθως αρκετά ακατάλληλες για να εφαρμοστούν διότι το μέγεθος της διόρθωσης εξαρτάται από τις οπτικές ιδιότητες του δείγματος που μετράται.

Η μέθοδος αυτή εισήχθη από τον van de Hulst για την επίλυση της εξίσωσης μεταφοράς ακτινοβολίας σε μία επίπεδη γεωμετρία. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου έγκεινται στο ότι απαιτούνται μόνο ολοκληρώσεις σε γωνία, φυσικές ερμηνείες των αποτελεσμάτων δύναται να πραγματοποιηθούν σε κάθε βήμα της μεθόδου, η μέθοδος είναι ισοδύναμη για ισοτροπική και ανισοτροπική σκέδαση και ότι αποτελέσματα λαμβάνονται για όλες τις γωνίες που χρησιμοποιούνται για την ολοκλήρωση. Από την άλλη, τα μειονεκτήματα είναι ότι η μέθοδος είναι αρκετά αργή και ακατάλληλη για τον υπολογισμό εσωτερικών ροών, κατάλληλη για γεωμετρία επιπέδων με ομοιόμορφη ακτινοβολία και ότι απαιτεί το κάθε επίπεδο να έχει ομογενείς οπτικές ιδιότητες. Για τον προσδιορισμό των οπτικών ιδιοτήτων, χρησιμοποιώντας μόνο ανάκλαση και διάδοση, οι εσωτερικές ροές δεν είναι απαραίτητες κι έτσι το πρώτο μειονέκτημα της μεθόδου δεν αποτελεί ουσιαστικό πρόβλημα. Τα άλλα δύο μειονεκτήματα εισάγουν περιορισμούς στη γεωμετρία του δείγματος – τα δείγματα θα πρέπει να δέχονται ομοιόμορφη ακτινοβολία και να είναι ομογενή πλακίδια. Η μέθοδος adding-doubling είναι αρκετά κατάλληλη για επαναληπτικά προβλήματα καθώς παρέχει ακριβείς υπολογισμούς της ολικής ανάκλασης και διάδοσης με σχετικά λίγα τετραγωνικά σημεία (quadrature points). Επίσης, η μέθοδος είναι πολύ γρήγορη για μικρούς αριθμούς τετραγωνικών σημείων (quadrature points) κι επομένως η επαναληπτικότητα είναι πρακτική.

Η μέθοδος διπλασιασμού προϋποθέτει ότι η ανάκλαση και η διάδοση φωτός που προσπίπτει κατά μία γωνία  $\nu$  κι εξέρχεται κατά μία γωνία  $\nu'$  είναι γνωστές για ένα επίπεδο. Η ανάκλαση και η διάδοση μίας πλάκας, διπλάσιου πάχους, βρίσκεται αντιπαραθέτοντας δύο πανομοιότυπες πλάκες και προσθέτοντας τις συνεισφορές ανάκλασης και διάδοσης της κάθε μίας. Η ανάκλαση και η διάδοση μίας τυχαίας πλάκας υπολογίζονται αρχικά βρίσκοντας την ανάκλαση και την διάδοση μίας λεπτής πλάκας εκκίνησης, με τις ίδιες οπτικές ιδιότητες (για παράδειγμα χρησιμοποιώντας μονή σκέδαση) και κατόπιν διπλασιάζοντας έως ότου το επιθυμητό πάχος να επιτευχθεί. Η μέθοδος αθροίσματος επεκτείνει τη μέθοδο διπλασιασμού σε ανόμοιες πλάκες. Έτσι πλάκες με διαφορετικές οπτικές ιδιότητες μπορούν να τοποθετηθούν συνεχόμενα και να προσομοιωθούν με αυτό τον τρόπο πολυεπίπεδα μέσα ή εσωτερική ανάκλαση που δημιουργείται από διαφορές στο δείκτη διάθλασης. Οι οριακές συνθήκες εισέρχονται στη μέθοδο adding-doubling με την δημιουργία ενός επιπέδου που μιμείται την ανάκλαση και την διάδοση του ορίου. Αυτό το επίπεδο προστίθεται στην πλάκα, για να βρεθούν η ανάκλαση και η διάδοση αυτής, συμπεριλαμβανομένου και των οριακών συνθηκών.



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ**

### **ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**

#### **3.1 Εισαγωγή**

Οι καρδιοαγγειακές παθήσεις που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση τόσο της στεφανιαίας αρτηρίας, όσο και των περιφερικών αρτηριών, αποτελεί την βασικότερη αιτία θανάτου στον κόσμο σήμερα. Λαμβάνοντας υπόψη την ευρεία διάδοση της ασθένειας της αθηροσκλήρωσης, καθώς και την άμεση συσχέτισή της με την αύξουσα τάση θνησιμότητας, η αποτελεσματική αντιμετώπισή της θα βοηθούσε τον συντριπτικό αριθμό ασθενών σε παγκόσμιο επίπεδο.

Ένα παράδειγμα ελάχιστης τραυματικής παρέμβασης που χρησιμοποιείται σήμερα για την μείωση της αθηροσκληρωτικής στένωσης είναι η διαστολή των αγγείων με μπαλόνι. Δυστυχώς, παρόλη την επιτυχία της μεθόδου, η αγγειοπλαστική μπαλονιού δεν είναι αποτελεσματική στα προχωρημένα στάδια της ασθένειας, συμπεριλαμβανομένης και της ολικής απόφραξης.

Εναλλακτικές μη επεμβατικές μέθοδοι αντιμετώπισης της ασθένειας θα μπορούσαν να αποβούν πολύ σημαντικές στο μέλλον τόσο σαν ενισχυτικές μέθοδοι, όσο και σαν αντικαταστάτες της αγγειοπλαστικής μπαλονιού. Μία πολλά υποσχόμενη μέθοδος είναι η χρησιμοποίηση laser υψηλής ενέργειας για την αποκόλληση της αθηροσκληρωτικής πλάκας.

Εν τούτοις εργαστηριακά πειράματα και κλινικές δοκιμές απέδειξαν ότι η αγγειοπλαστική με laser σχετίζεται άμεσα με την πρόκληση βλαβών στα υγιή αγγεία, βλάβες που μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές επιπλοκές. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα lasers Αργού (514 nm) και Nd:YAG (1060 nm) που προξενούν σημαντική θερμική βλάβη στον περιβάλλοντα αγγειακό ιστό.

Αποσκοπώντας στην βελτίωση της θεραπευτικής αγγειοπλαστικής με laser και την ελαχιστοποίηση των επιβλαβών επιδράσεων, δεδομένα που σχετίζονται με την ανάκλαση και την απορρόφηση της ενέργειας, υγιών και αθηροσκληρωτικών δειγμάτων, είναι απαραίτητα. Οι υγιείς και οι αθηροσκληρωτικές αρτηρίες, θεωρώντας τα διαφορετικά τους μοριακά προφίλ, αντιδρούν διαφορετικά στην ακτινοβολία κι έτσι αναμένεται να εμφανίζουν διαφορετικά φασματικά χαρακτηριστικά. Έτσι λοιπόν, φασματικά κριτήρια κατηγοριοποίησης των αρτηριών θα συμβάλλουν τα μέγιστα στην καταλληλότερη επιλογή των θεραπευτικών αγωγών και παραμέτρων.

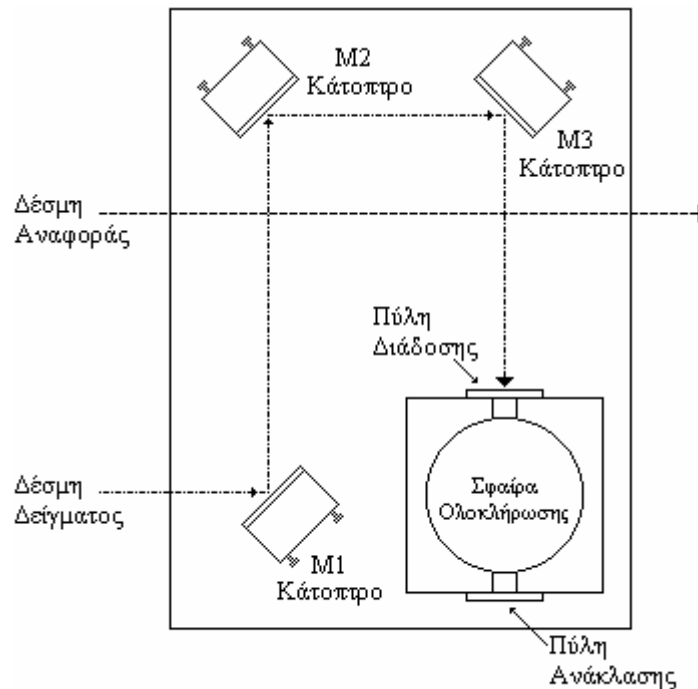
Εκτός, όμως από την βελτιστοποίηση των θεραπευτικών αγωγών, η μελέτη των οπτικών ιδιοτήτων των υγιών και των αθηροσκληρωτικών αρτηριών συμβάλει τα μέγιστα και στον διαγνωστικό τομέα, που από πολλούς επιστήμονες θεωρείται ως το σημαντικότερο μέσο καταπολέμησης της αθηροσκλήρωσης. Πιο συγκεκριμένα, η φασματική κατηγοριοποίηση των αρτηριών αποτελεί το πλέον βασικό στάδιο της ανάπτυξης της φασματοσκοπίας φθορισμού, μιας διαδικασίας που ερευνητικές μελέτες ανάγουν σε ικανό διαγνωστικό εργαλείο για διάφορες περιπτώσεις παθολογίας, συμπεριλαμβανομένης και της αθηροσκλήρωσης.

Στη συγκεκριμένη εργασία θα πραγματοποιηθούν φασματοσκοπικές μετρήσεις υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών. Χρησιμοποιώντας τις μετρήσεις αυτές, θα υπολογιστούν οι συντελεστές σκέδασης και απορρόφησης των αρτηριών, δηλαδή οι οπτικές τους ιδιότητες. Τέλος με περαιτέρω επεξεργασία των δεδομένων θα γίνει προσπάθεια διαχωρισμού των υγιών από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες. Η κατηγοριοποίηση αυτή θα είναι ιδιαίτερα σημαντική τόσο σε διαγνωστικό όσο και σε θεραπευτικό επίπεδο.

### 3.2 Πειραματική Διάταξη

Η τεχνική που εφαρμόστηκε, για τη μέτρηση της διάδοσης και της απορρόφησης του φωτός μέσα από υγιή και αθηροσκληρωτικά δείγματα αρτηριών, ήταν εκείνη της φασματοφωτομετρίας. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο Lambda 35 της εταιρείας PerkinElmer με την προσθήκη του εξαρτήματος RSA-PE-20, το οποίο φέρει σφαίρα ολοκλήρωσης διαμέτρου 50mm.

Στο σχήμα που ακολουθεί φαίνεται σχηματικά η πειραματική διάταξη της συγκεκριμένης εφαρμογής.



Σχήμα 3.1 : Φασματοφωτόμετρο

Το όργανο αυτό χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση του φωτός, το οποίο διέρχεται διαμέσου του δείγματος ή ανακλάται από αυτό. Τα επιμέρους μέρη από τα οποία αποτελείται το φασματοφωτόμετρο είναι οι πηγές φωτός, ο μονοχρωμάτορας, η σφαίρα ολοκλήρωσης, οι ανιχνευτές και τα οπτικά μεταφοράς.

Τα φασματοφωτόμετρα κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες, ανάλογα με τον τρόπο συλλογής δεδομένων. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν τα μοντέλα μονής δέσμης και αποτελούν τα πιο απλά μοντέλα φασματοφωτομέτρων. Η δέσμη δείγματος προσπίπτει άμεσα στο δείγμα (σε γνωστή συχνότητα), για το οποίο υπάρχει μία μόνο θέση τοποθέτησης, είτε μπροστά από την σφαίρα ολοκλήρωσης, εάν πρόκειται για μέτρηση διάδοσης, είτε από πίσω, εάν πρόκειται για μέτρηση της

ανάκλασης. Η πιο σημαντική προϋπόθεση για τα μοντέλα μονής δέσμης είναι η δέσμη εξόδου να είναι σταθερή, καθώς οι αλλαγές της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας, λόγω μεταβολών της έντασης της πηγής, δεν αντισταθμίζονται.

Οι διορθώσεις των μεταβολών της έντασης της πηγής μπορούν να πραγματοποιηθούν αυτομάτως εάν η δέσμη διέγερσης μοιραστεί μεταξύ των υλικών αναφοράς και δείγματος. Αυτή η στρατηγική υιοθετείται από τα μοντέλα διπλής δέσμης, κατηγορία στην οποία ανήκει και το φασματοφωτόμετρο που χρησιμοποιείται στη συγκεκριμένη εργασία. Η βασική προϋπόθεση είναι φωτεινή ακτινοβολία ίδιου μήκους κύματος να ακτινοβολεί τόσο το δείγμα στόχο, όσο και το δείγμα αναφοράς (αισθητήρας αναφοράς εν προκειμένω).

Τέλος, υπάρχουν και τα μοντέλα δυαδικής συχνότητας, τα οποία αντισταθμίζουν αλλαγές στην ένταση της λάμπας, αλλά δεν μπορούν να αντισταθμίσουν γενικευμένες αλλαγές στο δείγμα, που οδηγούν σε αλλαγές της απορρόφησης ανεξάρτητες από εκείνες του υλικού αναφοράς [Harris, 1987].

### **3.2.1 Πηγές Φωτός**

Η πηγή φωτός παρέχει ακτινοβολία στα κατάλληλα μήκη κύματος. Το φασματοφωτόμετρο το οποίο χρησιμοποιήθηκε στην εργασία αυτή, διαθέτει λάμπα βολφραμίου – αλογόνου με εκπομπή στα 350 έως 900nm και λάμπα δευτερίου (βαρύ υδρογόνο) για την UV περιοχή (200-400nm). Γενικά, οι τοξοειδείς λάμπες, είτε ξένου είτε υδραργύρου, συνήθως περιέχουν δέσμες πολύ μεγάλης έντασης ή η έντασή τους αυξομειώνεται πάρα πολύ για να χρησιμοποιηθούν στα κοινά φασματοφωτόμετρα.

### **3.2.2 Μονοχρωμάτορας**

Ένα άλλο πολύ σημαντικό στοιχείο των φασματοφωτομέτρων είναι ο μονοχρωμάτορας, ο οποίος επιλέγει επακριβώς το μήκος κύματος που ενδιαφέρει, ανάλογα με την εφαρμογή. Σε αντίθεση με τη λειτουργία των φίλτρων, ο μονοχρωμάτορας δεν αποκόβει συγκεκριμένα μήκη κύματος, αλλά, περιλαμβάνοντας ένα διαχωριστή μηκών κύματος, επιλέγει τα ζητούμενα. Επιπλέον, ένας μονοχρωμάτορας περιλαμβάνει σχισμές εισόδου κι εξόδου και κατάλληλους καθρέπτες.

Ως διαχωριστής χρησιμοποιείται ένα φράγμα περίθλασης, που είναι ένα κομμάτι γυαλισμένο αλου μίνιο, πάνω στο οποίο έχει χαραχτεί ένας μεγάλος αριθμός αυλακώσεων (συνήθως 300 με 1500 γραμμές ανά mm). Όταν μία δέσμη πολυχρωματικού φωτός εστιάζεται σε ένα φράγμα περίθλασης, κάθε χαρακιά θα συμπεριφερθεί σαν μία πηγή ακτινοβολίας. Σε συγκεκριμένα σημεία στην άλλη πλευρά του φράγματος προσθετική συμβολή θα συμβεί για συγκεκριμένα μήκη κύματος, ενώ για άλλα θα συμβεί αφαιρετική συμβολή. Όπου λαμβάνει χώρα προσθετική συμβολή, το φως θα μεταδίδεται, ενώ, αντίθετα, κατά την αφαιρετική θα πραγματοποιηθεί αποκοπή του φωτός. Το αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι μία εναλλαγή έντονων φωτεινών και σκοτεινών περιοχών. Το μήκος κύματος του διαδιδόμενου φωτός εξαρτάται από τη γωνία πρόσπτωσης της ακτινοβολίας διέγερσης, σε σχέση με το φράγμα. Ο μονοχρωμάτορας που συνοδεύει το μοντέλο

Lambda 35 διαθέτει ολογραφικό κοίλο διαχωριστή, με 1053 γραμμές ανά mm, στο κέντρο.

Στα περισσότερα μοντέλα φασματοφωτομέτρων η επιλογή των μηκών κύματος πραγματοποιείται κάπου μεταξύ της λάμπας και του δείγματος. Υπάρχουν, όμως, και μοντέλα (όπως το HP-8450) στα οποία η επιλογή συμβαίνει μεταξύ του δείγματος και του ανιχνευτή (διάταξη που είναι γνωστή ως ανάστροφη οπτική).

### **3.2.3 Σφαίρα Ολοκλήρωσης**

Η σφαίρα ολοκλήρωσης του RSA-PE-20 είναι διαμέτρου 50 mm και είναι κατασκευασμένη από Spectralon, το υλικό που χρησιμοποιείται για τα πρότυπα ανάκλασης της εταιρείας PerkinElmer. Η σφαίρα, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 3.1, έχει δύο πύλες: την πύλη διάδοσης, από όπου η δέσμη εισέρχεται στην σφαίρα και την πύλη ανάκλασης. Ανάλογα με την ζητούμενη μέτρηση, το δείγμα τοποθετείται εμπρός από την αντίστοιχη πύλη και συγκρατείται με την κατάλληλη βάση. Εάν πρόκειται για μετρήσεις διάδοσης, η πύλη ανάκλασης σφραγίζεται με ειδικά διαμορφωμένο κομμάτι Spectralon, που συγκρατείται με την βάση της πύλης. Εντός της σφαίρας υπάρχουν δύο εμπόδια από Spectralon, που προστατεύουν τον αισθητήρα ανίχνευσης από άμεσο φωτισμό μέσω της πύλης διάδοσης. Ο αισθητήρας βρίσκεται τοποθετημένος κάτω από την σφαίρα, σε ειδική θύρα.

Η σφαίρα ολοκλήρωσης αποσκοπεί στην συγκέντρωση της ακτινοβολίας, που εισέρχεται στο εσωτερικό της, στην ειδική θύρα του ανιχνευτή.

### **3.2.4 Ανιχνευτές**

Ο ανιχνευτής είναι από τα πλέον σημαντικά εξαρτήματα ενός φασματοφωτομέτρου, καθώς αυτός είναι που μετρά το ποσό του φωτός που διαδίδεται ή ανακλάται από το δείγμα. Συνήθεις ανιχνευτές είναι οι φωτοπολλαπλασιαστές και οι δίοδοι σιλικόνης. Το μοντέλο Lambda 35 διαθέτει φωτοδιόδους, που λειτουργούν σε φωτοβολταϊκή κατάσταση.

### **3.2.5 Οπτικά Μεταφορές**

Τα οπτικά μεταφορές του εξαρτήματος RSA-PE-20 κατευθύνουν τη δέσμη δείγματος από το φασματοφωτόμετρο στην πύλη διάδοσης της σφαίρας ολοκλήρωσης. Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 3.1 τα κάτοπτρα M1, M2 και M3 οδηγούν τη δέσμη δείγματος μέσω της πύλης διάδοσης στην πύλη ανάκλασης σαν κανονική προσπίπτουσα ακτινοβολία. Όλα τα κάτοπτρα είναι καλυμμένα με AlMgF<sub>2</sub> και τα M1, M2 είναι επίπεδα, σε αντίθεση με το κάτοπτρο M3 που είναι σφαιρικό για να συμπυκνώνει τη δέσμη δείγματος επάνω στο δείγμα στόχο. Η δέσμη αναφοράς διέρχεται από το εξάρτημα ανεμπόδιστη.

## **3.3 Θεωρία Λειτουργίας Φασματοφωτομέτρου**

Κατά την διάρκεια της κλασικής μέτρησης της απορρόφησης ενός δείγματος με χρήση φασματοφωτομέτρου η σχέση μεταξύ της απορρόφησης και της διέλευσης της δέσμης δείγματος περιγράφεται από την εξίσωση του Kirchhoff



$$A + T = 1 \quad (3.1)$$

όπου  $A$  είναι η απορρόφηση και  $T$  η διέλευση. Όταν μετράται η απορρόφηση ενός δείγματος το σήμα του ανιχνευτή αντιπροσωπεύει το κλάσμα της δέσμης δείγματος που δεν απορροφάται ή σκεδάζεται από το δείγμα.

Χρησιμοποίηση του εξαρτήματος RSA-PE-20 καθιστά πιο αποτελεσματική την εφαρμογή της ακόλουθης σχέσης του Kirchhoff

$$A + T + R = 1 \quad (3.2)$$

όπου  $R$  είναι η ανάκλαση της δέσμης δείγματος στην επιφάνεια του ανακλαστήρα (δείγμα ή Spectralon).

Κατά τη διάρκεια των μετρήσεων ανάκλασης, το ανακλώμενο μέρος της δέσμης δείγματος συλλέγεται από την σφαίρα ολοκλήρωσης και ανιχνεύεται από την δίοδο. Το σήμα του ανιχνευτή, σε αυτή την περίπτωση, αποτελεί το μέρος της δέσμης δείγματος που δεν διαδίδεται ούτε απορροφάται από το δείγμα.

Η απορρόφηση ενός δείγματος εξαρτάται από τον λόγο της προσπίπτουσας ακτινοβολίας ( $I_0$ ) κι εκείνης που εισέρχεται στην σφαίρα ολοκλήρωσης ( $I_t$ ), σύμφωνα με την ακόλουθη σχέση

$$A = \log_{10} \left( \frac{I_0}{I_t} \right) \quad (3.3)$$

ενώ η διέλευση δίνεται από την σχέση

$$T = \frac{I_t}{I_0} \quad (3.4)$$

Η διέλευση μπορεί να πάρει οποιαδήποτε τιμή μεταξύ του 0 και του 1 και συχνά εκφράζεται ως ποσοστό επί τοις εκατό (οπότε οι τιμές που μπορεί να πάρει βρίσκονται μεταξύ του 0 και του 100%). Η απορρόφηση και η διέλευση σχετίζονται επομένως ως εξής

$$A = -\log_{10} T \quad (3.5)$$

Η πλέον χρήσιμη σχέση στην φασματοφωτομετρία απορρόφησης προκύπτει από τον συνδυασμό του νόμου του Lambert (κάθε στρώμα, ίσης επιφάνειας, ενός απορροφητικού μέσου απορροφά ίσο ποσοστό της ακτινοβολίας που το διασχίζει) και του νόμου του Beer (η απορρόφηση ενός διαλύματος είναι ανάλογη προς την συγκέντρωση της απορροφητικής ουσίας). Μαθηματικά αυτό μεταφράζεται ως εξής

$$A = \varepsilon \cdot C \cdot l \quad (3.6)$$

όπου  $\varepsilon$  είναι ο μοριακός συντελεστής απορρόφησης (εξίσωση (2.5)),  $C$  είναι η συγκέντρωση της απορροφητικής ουσίας στο διάλυμα και  $l$  είναι το μήκος της διαδρομής που διανύει το φως μέσα στον ιστό.

Το φάσμα απορρόφησης και ο μοριακός συντελεστής απορρόφησης σε μήκος κύματος  $\lambda$  είναι παράμετροι που χαρακτηρίζουν μοναδικά συγκεκριμένα μόρια και μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο για ποσοτικοποίηση, όσο και για χαρακτηρισμό δειγμάτων.

### 3.4 Λογισμικό

Ο έλεγχος του εν λόγω φασματοφωτομέτρου πραγματοποιείται μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή, με την χρήση του λογισμικού πακέτου UV WinLab. Τα σήματα των ανιχνευτών του φασματοφωτομέτρου μετατρέπονται από αναλογικά σε ψηφιακά και εισάγονται στον υπολογιστή μέσω σειριακής θύρας, όπου κι επεξεργάζονται.

Η θεωρία της προηγούμενης παραγράφου αποτελεί την βάση λειτουργίας του λογισμικού πακέτου που συνοδεύει το φασματοφωτόμετρο. Σε αυτή τη θεωρία επομένως στηρίζονται και οι προσφερόμενες μέθοδοι φασματοφωτομετρίας που παρέχει το UV WinLab και κατά συνέπεια το φασματοφωτόμετρο. Οι μέθοδοι αυτές παρατίθενται στον Πίνακα 3.1.

**Πίνακας 3.1:** Μέθοδοι Φασματοφωτομετρίας

Μέθοδος	Περιγραφή
Σάρωσης	Πραγματοποιείται σάρωση σε ένα προκαθορισμένο φάσμα
Χρονική	Πραγματοποιείται μέτρηση των τεταγμένων τιμών ενός δείγματος σε μία χρονική περίοδο
Προοδευτικού Κύματος	Πραγματοποιείται μέτρηση των τεταγμένων τιμών ενός δείγματος σε μία χρονική περίοδο σε αρκετά μήκη κύματος και υπολογίζονται λόγοι ή διαφορές αυτών των τιμών
Συγκέντρωσης	Πραγματοποιείται μέτρηση της συγκέντρωσης ενός στοιχείου του δείγματος

Επίσης προσφέρεται η δυνατότητα ρύθμισης κάποιων παραμέτρων, μέσω της επιλογής Setup, που επηρεάζουν τόσο την μέθοδο φασματοφωτομετρίας όσο και το φασματοφωτόμετρο. Η απόκριση του φασματοφωτομέτρου σε αυτές τις αλλαγές είναι άμεση. Ορισμένες από τις παραμέτρους αυτές είναι η επιλογή του φάσματος, η χρονική περίοδος, η ταχύτητα σάρωσης (εάν πρόκειται για μέθοδο σάρωσης) και το πλάτος της σχισμής του μονοχρωμάτορα.

Υπάρχει ακόμη η επιλογή Autozero. Η επιλογή αυτή θέτει τις γραμμές αναφοράς είτε πρόκειται για μετρήσεις διέλευσης είτε για μετρήσεις ανάκλασης. Ανάλογα με την μέθοδο πραγματοποιούνται μετρήσεις στο δείγμα αναφοράς, βάση των οποίων οι μετρήσεις του δείγματος στόχου καθίστανται ανεξάρτητες του μηχανήματος και του θορύβου. Εάν διακοπεί, για οποιονδήποτε λόγο, η διαδικασία αυτή τότε το φασματοφωτόμετρο και η επιλεγμένη μέθοδος επιστρέφουν στις αρχικές συνθήκες, που είχαν πριν την εφαρμογή της επιλογής.

Τέλος, η διαδικασία των μετρήσεων ξεκινάει με την επιλογή Start. Ενεργοποίηση της επιλογής πριν την ρύθμιση των παραμέτρων θέτει το φασματοφωτόμετρο στις προεπιλεγμένες ρυθμίσεις, ανάλογα με την μέθοδο, διαδικασία που διαρκεί αρκετά δευτερόλεπτα και που είναι άκρως ακατάλληλη για τις μεθόδους κίνησης, όπως είναι η χρονική και η προοδευτικού κύματος. Διακοπή της επιλογής επαναφέρει το φασματοφωτόμετρο και την μέθοδο στις αρχικές τους συνθήκες.

### 3.5 Πρωτόκολλο Διαχείρισης Δειγμάτων

Τα δείγματα που εξετάστηκαν προέρχονταν από αρτηρίες λευκών κουνελιών Νέας Ζηλανδίας (*albinos*). Για τη συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν επτά υγιή δείγματα ιστού αρτηρίας και τέσσερα αθηροσκληρωτικά δείγματα. Προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν τα αποτελέσματα της autolysis τα δείγματα εισήχθησαν σε υγρό άζωτο, καταψύχθηκαν και φυλάχθηκαν στους  $-70^{\circ}\text{C}$  μέχρι την παραλαβή τους και την πραγματοποίηση των μετρήσεων. Πριν την χρησιμοποίησή τους, τα δείγματα αποκτούσαν τη θερμοκρασία δωματίου και διατηρούσαν την υγρασία τους σε διάλυμα φυσιολογικού ορού, pH 7.1.

Κάθε δείγμα κόπηκε, με τη χρησιμοποίηση νυστεριού, κατά τέτοιο τρόπο ώστε να αποκτήσει το απαιτούμενο, για την πραγματοποίηση των μετρήσεων, επίπεδο σχήμα και να αποκαλύψει τον αυλό του. Η εισαγωγή των δειγμάτων στο φασματοφωτόμετρο έγινε με την στερέωσή τους σε πλαστικό πλαίσιο και με την δέσμη δείγματος να είναι πάντοτε προσπίπτουσα στον αυλό των αρτηριών, είτε επρόκειτο για μετρήσεις διάδοσης, είτε ανάκλασης. Το πλαίσιο είχε ελεγχθεί εκ των προτέρων για τυχόν επιδράσεις στην διαδικασία των μετρήσεων και κρίθηκε κατάλληλο, αφού η παρουσία του δεν επηρέαζε καθόλου τη δέσμη δείγματος. Μετά την εξέταση των δειγμάτων ακολούθησε η εισαγωγή τους σε διάλυμα φορμόλης, προκειμένου να διατηρήσουν τα μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά τους ώστε να υποβληθούν σε ιστολογική εξέταση και ταξινόμηση.

Όλα τα δείγματα αποτελούσαν τμήμα της θωρακικής αορτής των κουνελιών. Η κατανομή των ένδεκα δειγμάτων, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ιστολογικής εξέτασης, δίνεται στον Πίνακα 3.2. Το πάχος τους υπολογίστηκε με ακρίβεια από την ιστοπαθολογική εξέταση, με τη βοήθεια μικροσκοπίου.

**Πίνακας 3.2:** Κατανομή των δειγμάτων μετά από την ιστολογική εξέταση.

<i>Δείγμα</i>	<i>Ιστοπαθολογική Κατάταξη</i>	<i>Περιοχή</i>	<i>Πάχος</i>
H1	Υγιές	Ανωτέρα Θωρακική Αορτή	0.025
H2	Υγιές	Θωρακική Αορτή	0.030
H3	Υγιές	Θωρακική Αορτή	0.020
H4	Υγιές	Κατιούσα Θωρακική Αορτή	0.025
H5	Υγιές	Κατιούσα Θωρακική Αορτή	0.036
H6	Υγιές	Θωρακική Αορτή	0.040
H7	Υγιές	Ανωτέρα Θωρακική Αορτή	0.040
A1	Αθηροσκληρωτική	Κατιούσα Θωρακική Αορτή	0.028
A2	Αθηροσκληρωτική	Ανωτέρα Κοιλιακή Αορτή	0.025
A3	Αθηροσκληρωτική	Κατιούσα Θωρακική Αορτή	0.030
A4	Αθηροσκληρωτική	Αορτικό Τόξο	0.028

### 3.6 Πειραματική Διαδικασία

Για τη διεξαγωγή των πειραματικών μετρήσεων επιλέχθηκε η μέθοδος της σάρωσης, εφόσον επρόκειτο για μη διαλυτικά ακίνητα δείγματα. Οι ρυθμίσεις που πραγματοποιήθηκαν μέσω του λογισμικού πακέτου UV WinLab αφορούσαν το εύρος του φάσματος μέτρησης, το πλάτος της σχισμής του μονοχρωμάτορα και την ταχύτητα της σάρωσης.

Το εύρος του φάσματος καθορίστηκε να είναι από 200 έως 1100 nm. Ο βασικός λόγος που επιλέχθηκε αυτό το εύρος είναι ότι σε αυτή την περιοχή εστιάζεται το μεγαλύτερο ενδιαφέρον. Εκτεταμένες έρευνες απέδειξαν ότι τα περισσότερα συστατικά των ιστών απορροφούν ακτινοβολία σε αυτά τα μήκη κύματος, με κλασικό παράδειγμα το κολλαγόνο που απορροφάει στο υπεριώδες, οπότε οποιαδήποτε διαφορά υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών αναμένεται σε αυτή την περιοχή [Korovin, 1999].

Το φασματικό εύρος ζώνης είναι μία ιδιότητα του φασματοφωτομέτρου και είτε θα δίνεται είτε θα υπολογίζεται. Ορίζεται ως το εύρος των μηκών κύματος που περιέχουν το κεντρικό μισό ολόκληρου του εύρους που διέρχεται από την σχισμή εξόδου του μονοχρωμάτορα. Αυτή η σχισμή είναι που γενικά ρυθμίζεται από τον χρήστη και μπορεί να εκφραστεί ως φασματικό εύρος ζώνης (nm), πλάτος σχισμής (mm) ή και τα δύο. Για τον υπολογισμό του φασματικού εύρους ζώνης από το πλάτος σχισμής απαιτείται η γνώση της αντίστροφης διασποράς του μονοχρωμάτορα. Αυτό είναι το  $d\lambda/dx$ , όπου  $x$  (mm) είναι η απόσταση στο επίπεδο της σχισμής εξόδου. Τυπικές τιμές της αντίστροφης διασποράς του μονοχρωμάτορα είναι 2 ή 4 nm/mm. Για την συγκεκριμένη εφαρμογή το πλάτος της σχισμής εξόδου του μονοχρωμάτορα τέθηκε ίσο με 2 nm.

Η επιλογή μίας πολύ μεγάλης ταχύτητας σάρωσης θα προκαλούσε φασματική παραμόρφωση, ενώ μία πολύ μικρή ταχύτητα συναρτήσκει μεγάλου φασματικού εύρους ενδεχομένως να επέτρεπε αλλοιώσεις στο δείγμα, όπως για παράδειγμα διαχωρισμό του διαλύτη από την διαλυμένη ουσία σε κάποιο εναιώρημα. Για την αποφυγή οποιουδήποτε από αυτά τα δύο προβλήματα, η ταχύτητα σάρωσης ρυθμίστηκε στα 480 nm/min.

Όλες αυτές οι ρυθμίσεις αποθηκεύτηκαν υπό τη μορφή αρχείου (arteries.msc), για την εξασφάλιση πανομοιότυπης λειτουργίας του φασματοφωτομέτρου για όλα τα δείγματα. Έτσι κάθε φορά που επρόκειτο να πραγματοποιηθεί κάποια μέτρηση γινόταν ανάκληση αυτού του αρχείου, αντί να επαναλαμβάνεται ο καθορισμός των προηγούμενων ρυθμίσεων.

Το προς μέτρηση δείγμα εισερχόταν στο φασματοφωτόμετρο μέσω ειδικής θύρας και τοποθετούταν σε μία από τις καθορισμένες βάσεις του εξαρτήματος RSA-PE-20, με τον αυλό να εκτίθεται στην δέσμη δείγματος, ανάλογα με το εάν επρόκειτο για μέτρηση διέλευσης ή ανάκλασης. Λόγω του ότι φωτεινή ακτινοβολία από τον φωτισμό του εργαστηρίου δεσμευόταν στην σφαίρα ολοκλήρωσης κάθε φορά που άνοιγε η θύρα του φασματοφωτομέτρου, πάντοτε προηγούταν των μετρήσεων καθορισμός των γραμμών αναφοράς, με την επιλογή Autozero του UV WinLab, για την ελαχιστοποίηση των σφαλμάτων από αυτόν τον παράγοντα.

Τα δεδομένα των μετρήσεων αποθηκεύονταν υπό την μορφή χαρακτήρων `ascii` σε αρχεία με ονομασία ανάλογη προς εκείνη της κατανομής των δειγμάτων (βλ. Πίνακα 3.2) με πρόθεμα `R` για δεδομένα μετρήσεων ανάκλασης και `T` για δεδομένα μετρήσεων διέλευσης. Έτσι, επί παραδείγματι, για το πρώτο δείγμα του Πίνακα 3.2 το αρχείο ανάκλασης ονομάστηκε `RH1`, ενώ το αρχείο με τα δεδομένα διέλευσης πήρε την ονομασία `TH1`.

Η επιλογή της κωδικοποίησης των δεδομένων σε αρχεία με χαρακτήρες `ascii` πραγματοποιήθηκε για την δυνατότητα κλήσης κι επεξεργασίας των αρχείων αυτών από το λογισμικό πακέτο `MatLab 12.1` και πιο συγκεκριμένα από τον αλγόριθμο `Kubelka_Munk` (βλ. Κεφάλαιο 4) που συντάχθηκε στο `MatLab` και αποθηκεύτηκε ως `M` αρχείο.



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ** **ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ**

### **4.1 Εισαγωγή**

Τα πειραματικά δεδομένα, που προέκυψαν από την φασματοφωτομετρία (βλ. Κεφάλαιο 3), αποτελούν τα φάσματα διέλευσης και ανάκλασης των έντεκα δειγμάτων. Για να καταστεί δυνατός, όμως, ο χαρακτηρισμός των δειγμάτων αυτών ως προς τις απορροφητικές ή σκεδαστικές τους ιδιότητες απαιτείται ο προσδιορισμός των συντελεστών απορρόφησης και σκέδασης, αντίστοιχα. Με τον τρόπο αυτό ποσοτικοποιούνται οι οπτικές ιδιότητες των δειγμάτων και καθίσταται δυνατή η σύγκρισή τους, καθώς τα φάσματα διέλευσης και ανάκλασης είναι σχετικά μεγέθη για το κάθε δείγμα (εξαρτώνται από την σύσταση, το πάχος, την θερμοκρασία και άλλους παράγοντες), σε αντίθεση με τα απόλυτα και συγκρίσιμα μεγέθη των συντελεστών απορρόφησης και σκέδασης.

Η μέθοδος βάση της οποίας θα εξαχθούν από τα πειραματικά δεδομένα οι συντελεστές αυτοί είναι το μοντέλο των Kubelka και Munk (βλ. Κεφάλαιο 2) και πιο συγκεκριμένα η αντίστροφη διαδικασία του μοντέλου. Η επιλογή του βασίστηκε σε αρκετούς παράγοντες, αλλά κυρίως στην εναρμόνιση των προϋποθέσεων του με την πραγματοποιηθείσα, στα πλαίσια της εν λόγω εργασίας, πειραματική διαδικασία.

Στο κεφάλαιο αυτό αναλύονται όλοι εκείνοι οι παράγοντες που οδήγησαν στην επιλογή της μεθόδου των Kubelka και Munk και στην απόρριψη κάποιων άλλων δημοφιλών μοντέλων. Επιπροσθέτως παρατίθεται η απόδειξη του μοντέλου, χωρίς την άμεση επίλυση του συστήματος των διαφορικών εξισώσεων και τέλος περιγράφεται ένα αλγόριθμος για την επίλυση του αντιστρόφου μοντέλου.

### **4.2 Επιλογή Μεθόδου**

Η γεωμετρία των χρησιμοποιηθέντων δειγμάτων θα μπορούσε να θεωρηθεί ως μία άπειρη επίπεδη πλάκα, εξαιρετικά μικρού πάχους. Μάλιστα, κρίνοντας από το πάχος των δειγμάτων, που σε καμιά περίπτωση δεν ξεπερνά τα 400 μm, η πλάκα αυτή μπορεί χωρίς βλάβη της γενικότητας να θεωρηθεί ότι αποτελεί μία ομογενή, ως προς τις οπτικές της ιδιότητες, πλάκα.

Η προσέγγιση διάχυσης (βλ. παράγραφο 2.4.3.1) αποτελεί μία εξαιρετική θεωρία μοντελοποίησης της διάδοσης του φωτός στους ιστούς, όμως αναλυτικές λύσεις του μοντέλου είναι αδύνατον να υπολογιστούν, εκτός από απλές γεωμετρίες μία από τις οποίες είναι και η πλάκα που μόλις περιγράφηκε. Παρόλα αυτά το ύφος της πειραματικής διαδικασίας έρχεται σε αντίθεση με τις χρονικά εξαρτώμενες θεωρήσεις των αναλυτικών λύσεων, με αποτέλεσμα να καθίσταται ανέφικτη η αναλυτική επίλυση του μοντέλου για τη συγκεκριμένη εφαρμογή. Από την άλλη, η σχετική ομοιογένεια των οπτικών ιδιοτήτων των δειγμάτων αυξάνει σημαντικά το υπολογιστικό κόστος τόσο της μεθόδου των πεπερασμένων διαφορών, όσο και της μεθόδου των πεπερασμένων στοιχείων. Πράγματι, η διακριτοποίηση των δειγμάτων βάση των προϋποθέσεων των δύο μεθόδων απαιτεί εξαιρετικά μικρά όρια δυσχεραίνοντας την υπολογιστική διαδικασία και ανάγει την όποια εξάρτηση των

οπτικών ιδιοτήτων των δειγμάτων από το πάχος αμελητέα σε σχέση με το έμφυτο σφάλμα των μεθόδων και ως εκ τούτου καθίσταται υπολογιστικά ασύμφορη η αριθμητική επίλυση της προσέγγισης διάχυσης. Με την απόρριψη τόσο των αναλυτικών, όσο και των αριθμητικών λύσεων του μοντέλου αυτού, άμεση είναι η απόρριψη και του ίδιου του χρονικά εξαρτώμενου μοντέλου προσέγγισης διάχυσης.

Το μοντέλο Monte Carlo αποτελεί για ένα τεράστιο εύρος περιπτώσεων το πιο ακριβές μοντέλο διάδοσης του φωτός μέσα από βιολογικά δείγματα. Μοναδικό του μειονέκτημα αποτελεί ουσιαστικά το μεγάλο υπολογιστικό του κόστος, το μεγαλύτερο ίσος από όλα τα μοντέλα που παρουσιάστηκαν στο δεύτερο κεφάλαιο. Εκεί ακριβώς στηρίχθηκε και ο λόγος της απόρριψής του. Η απλότητα της γεωμετρίας των δειγμάτων σε συνδυασμό με το πολύ λεπτό τους πάχος καλλιέργησε εξ αρχής την υποψία ότι το μοντέλο των Kubelka και Munk θα μπορούσε να εφαρμοστεί με σχετικά μικρό υπολογιστικό σφάλμα. Εάν πράγματι ίσχυε κάτι τέτοιο, τότε σαφώς το μοντέλο των Kubelka και Munk θα υπερίσχυε του μοντέλου Monte Carlo, καθότι είναι πιο απλό μοντέλο, πολύ πιο άμεσο και κυρίως υπολογιστικά ταχύτερο.

Η πρώτη, λοιπόν, σημαντική προϋπόθεση εφαρμογής του μοντέλου των Kubelka και Munk είναι ότι παρόλο που οι διάχυτοι συντελεστές σκέδασης και απορρόφησης,  $S$  και  $K$  αντίστοιχα, έχουν αποδειχθεί ισχυρά εξαρτώμενοι από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, θεωρούνται ότι δεν μεταβάλλονται συναρτήσει του πάχους της πλάκας του δείγματος. Για την συγκεκριμένη εφαρμογή, όπου το μέγιστο πάχος φτάνει μόνο τα 400  $\mu\text{m}$ , δεν αναμένεται να υπάρχει σημαντική διακύμανση των τιμών των συντελεστών αυτών, οπότε ως προς αυτήν την προϋπόθεση το μοντέλο καλύπτεται πλήρως.

Η δεύτερη προϋπόθεση είναι η ροή της φωτεινής ακτινοβολίας μέσα στο δείγμα να είναι διάχυτη. Εάν η μέση ελεύθερη διαδρομή σκέδασης ενός φωτονίου είναι πολύ μικρότερη από το πάχος του δείγματος, τότε η προσπίπτουσα ακτινοβολία σκεδάζεται πολύ γρήγορα και γίνεται διάχυτη μετά από μικρή απόσταση μέσα στο δείγμα. Για τους βιολογικούς ιστούς αυτό είναι αληθές, ιδίως στην ορατή και την υπεριώδη ακτινοβολία, λόγω του ότι εκεί η σκεδαστική τους συμπεριφορά είναι εντονότατη. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με το ότι η μέθοδος της φασματοφωτομετρίας που χρησιμοποιήθηκε αναφέρεται τυπικά σε αυτά τα μήκη κύματος καθιστούν το μοντέλο συμβατό και ως προς αυτή την προϋπόθεση για την συγκεκριμένη εφαρμογή.

Η τρίτη και τελευταία προϋπόθεση είναι η απουσία των απωλειών άκρων. Η ισχύς αυτής της προϋπόθεσης είναι άμεση κι έγκειται στο πολύ μικρό πάχος των δειγμάτων και την σχετικά άπειρη επιφάνειά τους σε σχέση με την διάμετρο της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Επομένως οι απώλειες των άκρων μπορούν να θεωρηθούν αμελητέες και να καλυφθεί και αυτή η προϋπόθεση.

Με την κάλυψη και των τριών προϋποθέσεων της μεθόδου των Kubelka και Munk η χρησιμοποίησή της για τον υπολογισμό των οπτικών ιδιοτήτων των ιστών θεωρείται ικανοποιητική, με σχετικά μικρά σφάλματα. Το γεγονός αυτό οδηγεί στην



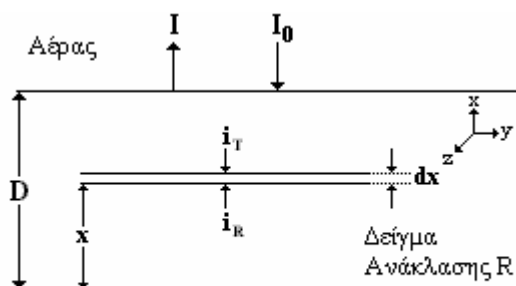
επιλογή της εν λόγω μεθόδου έναντι της αρκετά πιο πολύπλοκης κι εξαιρετικά χρονοβόρας μεθόδου Monte Carlo, παρόλη την αποδεδειγμένη ακρίβειά της.

Όσον αφορά τις υπόλοιπες μεθόδους που αναφέρονται στο δεύτερο κεφάλαιο, όλες απορρίπτονται εκ των προτέρων καθότι είτε αποτελούν τροποποίηση κάποιας από τις προαναφερθείσες είτε απλά ισοδυναμούν με κάποια από αυτές.

Έτσι τελικά η μέθοδος που θα χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό των οπτικών ιδιοτήτων των δειγμάτων είναι η αντίστροφη μέθοδος των Kubelka και Munk. Στη συνέχεια παρατίθεται η απόδειξη του μοντέλου Kubelka-Munk, η επίλυση του οποίου θα οδηγήσει στον υπολογισμό των συντελεστών απορρόφησης και σκέδασης.

### 4.3 Απόδειξη Μοντέλου Kubelka-Munk

Η απόδειξη της θεωρίας της ανάκλασης των Kubelka και Munk θα πραγματοποιηθεί με βάση το ακόλουθο σχήμα.



Σχήμα 4.1 : Υποθετικό δείγμα του μοντέλου των Kubelka και Munk

Όπως φαίνεται και στο σχήμα, για την απόδειξη της θεωρίας υποτίθεται φωτεινή ακτινοβολία, έντασης  $I_0$ , προσπίπτουσα σε ένα δείγμα πάχους  $D$  και ανάκλασης  $R$ . Πίσω από το δείγμα υποτίθεται ότι υπάρχει επιφάνεια ανάκλασης  $R' = 0$ . Το φως, το οποίο εξέρχεται από την επάνω επιφάνεια του δείγματος μετά την σκέδαση, απορρόφηση ή διάδοση, έχει ένταση  $I$ . Σε μία απόσταση  $x$ , μετρούμενη από την κάτω επιφάνεια του δείγματος, θεωρείται μία στοιχειώδης φέτα, πάχους  $dx$  και με το σκεδαζόμενο φως να είναι προσπίπτον σε αυτή. Το φως αυτό διαδίδεται τόσο προς τα πάνω όσο και προς τα κάτω διάμεσο της φέτας με εντάσεις  $i_R$  και  $i_T$ , αντιστοίχως.

Με την πειραματική υπόθεση, που μόλις περιγράφηκε, θα υπολογιστεί ο διάχυτος συντελεστής απορρόφησης (*diffusion absorption coefficient*,  $K$ ) και ο διάχυτος συντελεστής σκέδασης (*diffusion scattering coefficient*,  $S$ ) (βλ. παράγραφο 2.4.3.2).

Η επίδραση της στοιχειώδους φέτας  $dx$  του υλικού πάνω στα  $i_R$  και  $i_T$  διακρίνεται στις ακόλουθες τέσσερις περιπτώσεις:

- Λόγω απορρόφησης και σκέδασης η  $i_T$  μειώνεται κατά τον παράγοντα

$$i_1 = i_T \cdot (S + K) \cdot dx$$

- Λόγω, πάλι, απορρόφησης και σκέδασης η  $i_R$  μειώνεται κατά τον παράγοντα

$$i_2 = i_R \cdot (S + K) \cdot dx$$

• Επειδή το σκεδαζόμενο φως από την  $i_R$  ενισχύει την  $i_T$ , η δεύτερη αυξάνει κατά τον παράγοντα

$$i_3 = i_R \cdot S \cdot dx$$

• Αντίστοιχα, επειδή το σκεδαζόμενο φως από την  $i_T$  ενισχύει την  $i_R$ , η δεύτερη αυξάνει κατά τον παράγοντα

$$i_4 = i_T \cdot S \cdot dx$$

Έτσι, οι συνολικές μεταβολές των εντάσεων  $i_R$  και  $i_T$  προκύπτει ότι είναι

$$di_R = -(S + K) \cdot i_R \cdot dx + i_T \cdot S \cdot dx \quad (4.1)$$

$$-di_T = -(S + K) \cdot i_T \cdot dx + i_R \cdot S \cdot dx \quad (4.2)$$

αντίστοιχα. Τα πρόσημα καθορίζονται από τον τρόπο μέτρησης της απόστασης  $x$ , που εν προκειμένω είναι από την κάτω επιφάνεια προς την επάνω.

Διαιρώντας, τώρα, την πρώτη εξίσωση με τον παράγοντα  $i_R$  προκύπτει η ακόλουθη σχέση

$$\frac{di_R}{i_R} = -(S + K) \cdot dx + \frac{i_T}{i_R} \cdot S \cdot dx \quad (4.3)$$

Ομοίως, διαιρώντας και την δεύτερη εξίσωση με τον παράγοντα  $i_T$  προκύπτει η ακόλουθη σχέση

$$-\frac{di_T}{i_T} = -(S + K) \cdot dx + \frac{i_R}{i_T} \cdot S \cdot dx \quad (4.4)$$

Αθροίζοντας τις δύο αυτές σχέσεις και λαμβάνοντας υπόψη ότι

$$\frac{dx}{x} - \frac{dy}{y} = d \left[ \ln \left( \frac{x}{y} \right) \right]$$

προκύπτει η εξίσωση

$$d \left[ \ln \left( \frac{i_R}{i_T} \right) \right] = -2 \cdot (S + K) \cdot dx + S \cdot \left( \frac{i_T}{i_R} + \frac{i_R}{i_T} \right) \cdot dx \quad (4.5)$$

Η ανάκλαση, όπως είναι γνωστό, εκφράζεται από τον λόγο της σκεδαζόμενης προς την προσπίπτουσα ακτινοβολία, δηλαδή από την σχέση

$$R = \frac{I}{I_0} \quad (4.6)$$

Με την ίδια λογική ορίζεται και η ανάκλαση επάνω στην στοιχειώδη φέτα πάχους  $dx$ , δηλαδή από την αντίστοιχη σχέση

$$r = \frac{i_R}{i_T} \quad (4.7)$$

Αντικαθιστώντας, επομένως, την σχέση της ανάκλασης, στην στοιχειώδη φέτα, στην εξίσωση (4.5), αυτή μετασχηματίζεται στην ακόλουθη ισοδύναμή της

$$d[\ln(r)] = \frac{dr}{r} = -2 \cdot (S + K) \cdot dx + S \cdot \left( \frac{1}{r} + r \right) \cdot dx \quad (4.8)$$

και χωρίζοντας τις μεταβλητές γίνεται

$$\frac{dr}{r \cdot \left[ \left( \frac{1}{r} + r \right) - 2 \cdot \left( 1 + \frac{K}{S} \right) \right]} = S \cdot dx \quad (4.9)$$

Ολοκληρώνοντας, τώρα, το αριστερό μέλος της ισότητας από  $R'$  μέχρι  $R$  και το δεξί από 0 έως  $X$ , προκύπτει η εξίσωση της μορφής

$$\int_{R'}^R \frac{dr}{1 + r^2 - 2 \cdot \left( \frac{S + K}{S} \right) \cdot r} = S \cdot \int_0^D dx \quad (4.10)$$

που υπολογίζει την ανάκλαση σε σχέση με τους συντελεστές  $S$  και  $K$  και με την ανάκλαση  $R'$ , όπου για την συγκεκριμένη εφαρμογή, όπως έχει προαναφερθεί, θεωρείται ότι  $R' = 0$ . Για απλοποίηση των εκφράσεων ορίζεται ότι

$$a = (S + K) \cdot S^{-1} \quad (4.11)$$

οπότε η εξίσωση (4.10) μετασχηματίζεται στην πιο απλή μορφή

$$\int_{R'}^R \frac{dr}{r^2 - 2 \cdot a \cdot r + 1} = S \cdot \int_0^D dx \quad (4.12)$$

Στο ολοκλήρωμα του αριστερού μέλους της παραπάνω ισότητας είναι εμφανές ότι το πολυώνυμο του παρονομαστή έχει βαθμό μεγαλύτερο από τον βαθμό του αριθμητή. Έτσι, ο υπολογισμός του συνίσταται στα ακόλουθα βήματα.

i. Βήμα Πρώτο

Ο παρονομαστής τίθεται ίσος με μηδέν και υπολογίζονται οι ρίζες της προκύπτουσας εξίσωσης, οι οποίες είναι

$$r_{1,2} = a \pm \sqrt{a^2 - 1} \quad (4.13)$$

άρα ο παρονομαστής γράφεται στη μορφή

$$r^2 - 2 \cdot a \cdot r + 1 = (r - a - \sqrt{a^2 - 1}) \cdot (r - a + \sqrt{a^2 - 1}) \quad (4.14)$$

ii. Βήμα Δεύτερο

Κατόπιν το όρισμα του ολοκληρώματος αναλύεται σε άθροισμα απλών κλασμάτων σύμφωνα με την εξίσωση

$$\frac{1}{r^2 - 2 \cdot a \cdot r + 1} = \frac{A}{r - a - \sqrt{a^2 - 1}} + \frac{B}{r - a + \sqrt{a^2 - 1}} \quad (4.15)$$

Απαλείφοντας τους παρονομαστές η εξίσωση (4.15) παίρνει την ακόλουθη μορφή

$$1 = A \cdot (r - a + \sqrt{a^2 - 1}) + B \cdot (r - a - \sqrt{a^2 - 1}) \quad (4.16)$$

Για  $r = a + \sqrt{a^2 - 1}$  προκύπτει απ' ευθείας η τιμή του αγνώστου  $A$ , που είναι

$$A = \frac{1}{2 \cdot \sqrt{a^2 - 1}} \quad (4.17)$$

ενώ για  $r = a - \sqrt{a^2 - 1}$  προκύπτει απ' ευθείας η τιμή του αγνώστου  $B$ , που είναι

$$B = -\frac{1}{2 \cdot \sqrt{a^2 - 1}} \quad (4.18)$$

Τελικά το όρισμα του ολοκληρώματος (4.12) μπορεί να γραφεί ως άθροισμα απλών κλασμάτων με την ακόλουθη μορφή

$$\frac{1}{r^2 - 2 \cdot a \cdot r + 1} = \frac{1}{2 \cdot \sqrt{a^2 - 1}} \cdot \left( \frac{1}{r - a - \sqrt{a^2 - 1}} - \frac{1}{r - a + \sqrt{a^2 - 1}} \right) \quad (4.19)$$

iii. Βήμα Τρίτο

Το εν λόγω ολοκλήρωμα υπολογίζεται, τώρα, ως άθροισμα ολοκληρωμάτων, που έχουν την μορφή των βασικών ολοκληρωμάτων. Έτσι αν το ολοκλήρωμα συμβολιστεί με  $O$  και ο παράγοντας  $\sqrt{a^2 - 1}$  με  $b$  (για διευκόλυνση στη γραφή), αυτό υπολογίζεται ως εξής

$$\begin{aligned} O &= \frac{1}{2 \cdot b} \cdot \int_R^R \frac{1}{r - a - b} \cdot dr - \frac{1}{2 \cdot b} \cdot \int_R^R \frac{1}{r - a + b} \cdot dr \Rightarrow \\ O &= \frac{1}{2 \cdot b} \cdot \ln(r - a - b) \Big|_R^R - \frac{1}{2 \cdot b} \cdot \ln(r - a + b) \Big|_R^R \Rightarrow \\ O &= \frac{1}{2 \cdot b} \cdot [\ln(R - a - b) - \ln(R' - a - b) - \ln(R - a + b) + \ln(R' - a + b)] \Rightarrow \\ O &= \frac{1}{2 \cdot b} \cdot \ln \left( \frac{R - a - b}{R - a + b} \cdot \frac{R' - a + b}{R' - a - b} \right) \end{aligned} \quad (4.20)$$

Όμως, από τη σχέση (4.12) ισχύει ότι

$$O = S \cdot \int_0^D dx$$

επομένως προκύπτει ότι

$$\ln \left( \frac{R - a - b}{R - a + b} \cdot \frac{R' - a + b}{R' - a - b} \right) = 2 \cdot b \cdot S \cdot D \quad (4.21)$$

Στην περίπτωση που το  $D$  τείνει στο άπειρο,  $D \mapsto \infty$ , η ανάκλαση,  $R$ , τείνει στην τιμή  $R \mapsto R_\infty$ , ενώ η ανάκλαση  $R' = 0$ . Τότε, στην παραπάνω σχέση το δεξί μέλος ισούται με το άπειρο, πράγμα που σημαίνει ότι και το αριστερό πρέπει να ισούται επίσης με το άπειρο. Για να συμβαίνει αυτό, όμως, θα πρέπει ο παρονομαστής να ισούται με μηδέν, δηλαδή θα πρέπει να ισχύει

$$\begin{aligned} (R_\infty - a + b) \cdot (0 - a - b) &= 0 \xrightarrow{a \neq b} R_\infty = a - b = a - \sqrt{a^2 - 1} \Rightarrow \\ R_\infty &= 1 + \frac{K}{S} - \sqrt{\left(\frac{K}{S}\right)^2 + \frac{2 \cdot K}{S}} \end{aligned} \quad (4.22)$$

Η εξίσωση αυτή σημαίνει ότι η  $R_\infty$  μπορεί να είναι μόνο μικρότερη της μονάδας για μη μηδενικό συντελεστή απορρόφησης ( $K$ ). Αυτό είναι λογικό καθότι εάν δεν υφίσταται απορρόφηση, όλο το φως θα πρέπει να σκεδάζεται μέχρις ότου να επανεμφανιστεί από την επάνω επιφάνεια του δείγματος (για άπειρο πάχος δείγματος, φυσικά).

Όπως προέκυψε από τους προηγούμενους υπολογισμούς το  $R_\infty$  ισούται με  $a - b$ , επομένως δύναται να πραγματοποιηθούν οι κάτωθι υπολογισμοί

$$R_{\infty} = a - \sqrt{a^2 - 1} \Rightarrow a = \frac{R_{\infty}^2 + 1}{2 \cdot R_{\infty}} \quad (4.23)$$

$$b = a - R_{\infty} \Rightarrow b = \frac{R_{\infty}^2 + 1}{2 \cdot R_{\infty}} - R_{\infty} \Rightarrow b = \frac{1 - R_{\infty}^2}{2 \cdot R_{\infty}} \quad (4.24)$$

και

$$a + b = \frac{R_{\infty}^2 + 1}{2 \cdot R_{\infty}} + \frac{1 - R_{\infty}^2}{2 \cdot R_{\infty}} \Rightarrow a + b = \frac{1}{R_{\infty}} \quad (4.25)$$

επομένως

$$\ln\left(\frac{R - a - b}{R - a + b} \cdot \frac{R' - a + b}{R' - a - b}\right) = 2 \cdot b \cdot S \cdot D \Rightarrow \ln\left(\frac{R' - R_{\infty}}{R - R_{\infty}} \cdot \frac{R \cdot R_{\infty} - 1}{R' \cdot R_{\infty} - 1}\right) = \frac{1 - R_{\infty}^2}{R_{\infty}} \cdot S \cdot D \Rightarrow$$

$$\boxed{S = \frac{1}{D} \cdot \frac{R_{\infty}}{1 - R_{\infty}^2} \cdot \ln\left(\frac{R' - R_{\infty}}{R - R_{\infty}} \cdot \frac{R \cdot R_{\infty} - 1}{R' \cdot R_{\infty} - 1}\right)} \quad (4.26)$$

και για  $R' = 0$ , η σχέση απλοποιείται περαιτέρω

$$\boxed{S = \frac{1}{D} \cdot \frac{R_{\infty}}{1 - R_{\infty}^2} \cdot \ln\left(\frac{R_{\infty} \cdot (R \cdot R_{\infty} - 1)}{R - R_{\infty}}\right)} \quad (4.27)$$

Οι σχέσεις (4.26) και (4.27) μπορούν να μετασχηματιστούν κατάλληλα, ούτως ώστε να υπολογίζεται η ανάκλαση  $R$ . Οι μετασχηματισμοί αυτοί υλοποιούνται με τους ακόλουθους υπολογισμούς

$$\ln\left(\frac{R - a - b}{R - a + b} \cdot \frac{R' - a + b}{R' - a - b}\right) = 2 \cdot b \cdot S \cdot D \Rightarrow \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) = \frac{R - a - b}{R - a + b} \cdot \frac{R' - a + b}{R' - a - b} \Rightarrow$$

$$R \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - (a - b) \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) = R \cdot \frac{R' - a + b}{R' - a - b} - (a + b) \cdot \frac{R' - a + b}{R' - a - b} \Rightarrow$$

$$R \cdot \left[ \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - \frac{R' - a + b}{R' - a - b} \right] = (a - b) \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - (a + b) \cdot \frac{R' - a + b}{R' - a - b} \Rightarrow$$

$$\boxed{R = \frac{R_{\infty} \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - \frac{R' - R_{\infty}}{R' \cdot R_{\infty} - 1}}{\exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - \frac{R_{\infty} \cdot (R' - R_{\infty})}{R' \cdot R_{\infty} - 1}}} \quad (4.28)$$

και για  $R' = 0$ , η σχέση απλοποιείται περαιτέρω

$$R = \frac{R_{\infty} \cdot \exp\left(\frac{1 - R_{\infty}^2}{R_{\infty}} \cdot S \cdot D\right) - R_{\infty}}{\exp\left(\frac{1 - R_{\infty}^2}{R_{\infty}} \cdot S \cdot D\right) - R_{\infty}^2} \Rightarrow \boxed{R = \frac{\exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - 1}{R_{\infty}^{-1} \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - R_{\infty}}} \quad (4.29)$$

Από την άλλη, όσον αφορά την διάδοση, αυτή υπολογίζεται από την εξίσωση (4.2), η οποία, για διευκόλυνση, παρατίθεται ακολούθως

$$-di_T = -(S + K) \cdot i_T \cdot dx + i_R \cdot S \cdot dx$$

Διαιρώντας την με  $i_T$  μετασχηματίζεται στην μορφή

$$-\frac{di_T}{i_T} = -(S + K) \cdot dx + \frac{i_R}{i_T} \cdot S \cdot dx \quad (4.30)$$

Όμως από την τιμή του  $a$ , όπως αυτή έχει οριστεί στη σχέση (4.11), προκύπτει ότι

$$a = (S + K) \cdot S^{-1} \Rightarrow S + K = a \cdot S \quad (4.31)$$

ενώ, επίσης, έχει οριστεί ότι ο λόγος  $i_R$  προς  $i_T$  περιγράφει την ανάκλαση στην στοιχειώδη φέτα, πάχους  $dx$ , δηλαδή

$$r = \frac{i_R}{i_T}$$

οπότε η διαφορική εξίσωση γίνεται

$$-\frac{di_T}{i_T} = (-a + r) \cdot S \cdot dx \quad (4.32)$$

όπου το γινόμενο  $S$  επί  $dx$  ισούται με

$$\frac{dr}{r^2 - 2 \cdot a \cdot r + 1} = S \cdot dx \quad (4.33)$$

σύμφωνα, πάντα, με τα όσα έχουν αναφερθεί προηγουμένως. Έτσι, η εν λόγω διαφορική εξίσωση παίρνει την μορφή

$$-\frac{di_T}{i_T} = \frac{r - a}{r^2 - 2 \cdot a \cdot r + 1} \cdot dr \quad (4.34)$$

η οποία με ολοκλήρωση και των δύο μελών της γίνεται

$$-\int_{I'}^{I_0} \frac{di_T}{i_T} = \int_{R'}^R \frac{r - a}{r^2 - 2 \cdot a \cdot r + 1} \cdot dr \quad (4.35)$$

όπου το  $I'$  αντιστοιχεί στην ένταση που τελικά διαπερνά το δείγμα. Το αριστερό ολοκλήρωμα, έστω  $O$ , υπολογίζεται

$$O = -[\ln(i_T)]_{I'}^{I_0} \Rightarrow O = -[\ln(I_0) - \ln(I')] \Rightarrow O = \ln\left(\frac{I'}{I_0}\right) \quad (4.36)$$

κι επειδή η διάδοση ορίζεται ως ο λόγος της έντασης που διαπερνά το δείγμα, προς την προσπίπτουσα ένταση, δηλαδή

$$T = \frac{I'}{I_0} \quad (4.37)$$

το ολοκλήρωμα του αριστερού μέλους ισούται με

$$O = \ln(T) \quad (4.38)$$

Όσον αφορά το ολοκλήρωμα του δεξιού μέλους, έστω  $O'$ , αυτό θα υπολογιστεί με την μέθοδο που περιγράφηκε παραπάνω, για την επίλυση ενός αντίστοιχου ολοκληρώματος. Έτσι, τα τρία βήματα, συνοπτικά, έχουν ως εξής

i. Βήμα Πρώτο

Οι ρίζες του παρονομαστή παραμένουν οι ίδιες με την προηγούμενη περίπτωση, οπότε αυτός γράφεται σαν γινόμενο με την ακόλουθη μορφή

$$r^2 - 2 \cdot a \cdot r + 1 = (r - a - b) \cdot (r - a + b) \quad (4.39)$$

όπου  $b = \sqrt{a^2 - 1}$ .

ii. Βήμα Δεύτερο

Απαλείφοντας τους παρονομαστές προκύπτει η ακόλουθη εξίσωση

$$r - a = A \cdot (r - a + b) + B \cdot (r - a - b) \quad (4.40)$$

όπου  $A$  και  $B$  οι αριθμητές (ανεξάρτητοι του  $r$ ) των δύο απλών κλασμάτων. Έτσι για  $r = a + b$  προκύπτει ότι

$$A = \frac{1}{2} \quad (4.41)$$

και για  $r = a - b$  προκύπτει ότι

$$B = \frac{1}{2} \quad (4.42)$$

### iii. Βήμα Τρίτο

Το εν λόγω ολοκλήρωμα παίρνει, επομένως, την εξής μορφή

$$O' = \frac{1}{2} \cdot \int_{R'}^R \frac{1}{r - a - b} \cdot dr + \frac{1}{2} \cdot \int_{R'}^R \frac{1}{r - a + b} \cdot dr \quad (4.43)$$

το οποίο υπολογίζεται

$$\begin{aligned} O' &= \frac{1}{2} \cdot \ln(r - a - b) \Big|_{R'}^R + \frac{1}{2} \cdot \ln(r - a + b) \Big|_{R'}^R \Rightarrow \\ O' &= \frac{1}{2} \cdot [\ln(R - a - b) - \ln(R' - a - b) + \ln(R - a + b) - \ln(R' - a + b)] \Rightarrow \\ O' &= \frac{1}{2} \cdot \ln\left(\frac{R - a - b}{R' - a - b} \cdot \frac{R - a + b}{R' - a + b}\right) \end{aligned} \quad (4.44)$$

Κατά τον υπολογισμό του συντελεστή ανάκλασης,  $S$ , είχε αποδειχθεί η σχέση (4.21), η οποία μετασχηματίζεται στην

$$\exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) = \frac{R - a - b}{R - a + b} \cdot \frac{R' - a + b}{R' - a - b} \quad (4.45)$$

από την οποία προκύπτει ότι

$$\frac{R - a + b}{R' - a + b} = \exp(-2 \cdot b \cdot S \cdot D) \cdot \frac{R - a - b}{R' - a - b} \quad (4.46)$$

οπότε το  $O'$  γίνεται

$$\begin{aligned} O' &= \frac{1}{2} \cdot \ln\left[\left(\frac{R - a - b}{R' - a - b}\right)^2 \cdot \exp(-2 \cdot b \cdot S \cdot D)\right] \Rightarrow \\ O' &= \frac{1}{2} \cdot \ln\left[\left(\frac{R - a - b}{R' - a - b}\right)^2\right] + \frac{1}{2} \cdot (-2 \cdot b \cdot S \cdot D) \Rightarrow \\ O' &= \ln\left(\frac{R - a - b}{R' - a - b}\right) - b \cdot S \cdot D \end{aligned} \quad (4.47)$$

Όμως, από την αρχική σχέση των δύο ολοκληρωμάτων που μόλις υπολογίστηκαν, ισχύει ότι  $O = O'$ . Έτσι

$$T = \frac{R - a - b}{R' - a - b} \cdot \exp(-b \cdot S \cdot D) \quad (4.48a)$$

ή

$$T = \frac{R \cdot R_\infty - 1}{R' \cdot R_\infty - 1} \cdot \exp(-b \cdot S \cdot D) \quad (4.48b)$$

όπου το άθροισμα  $a + b$  αντικαταστάθηκε από την εξίσωση (4.25).

Τέλος, αντικαθιστώντας στην παραπάνω σχέση και την τιμή της ανάκλασης,  $R$ , η σχέση που υπολογίζει την διάδοση γίνεται

$$T = \frac{\left[ \frac{R_{\infty} \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - \frac{R' - R_{\infty}}{R' \cdot R_{\infty} - 1}}{\exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - \frac{R_{\infty} \cdot (R' - R_{\infty})}{R' \cdot R_{\infty} - 1}} \right] \cdot R_{\infty} - 1}{R' \cdot R_{\infty} - 1} \cdot \exp(-b \cdot S \cdot D) \Rightarrow$$

$$T = \begin{cases} \frac{[R_{\infty} \cdot (R' \cdot R_{\infty} - 1) \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - R' + R_{\infty}] \cdot R_{\infty}}{(R' \cdot R_{\infty} - 1) \cdot [(R' \cdot R_{\infty} - 1) \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - R_{\infty} \cdot (R' - R_{\infty})]} \cdot \exp(-b \cdot S \cdot D) - \\ - \frac{(R' \cdot R_{\infty} - 1) \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - R_{\infty} \cdot (R' - R_{\infty})}{(R' \cdot R_{\infty} - 1) \cdot [(R' \cdot R_{\infty} - 1) \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - R_{\infty} \cdot (R' - R_{\infty})]} \cdot \exp(-b \cdot S \cdot D) \end{cases} \Rightarrow$$

$$T = \frac{(R_{\infty}^2 - 1) \cdot (R' \cdot R_{\infty} - 1) \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D)}{(R' \cdot R_{\infty} - 1)^2 \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - R_{\infty}^2 \cdot (R' - R_{\infty}) \cdot \left( R' - \frac{1}{R_{\infty}} \right)} \cdot \exp(-b \cdot S \cdot D) \Rightarrow$$

$$T = \frac{(R_{\infty}^2 - 1) \cdot (R' \cdot R_{\infty} - 1) \cdot \exp(b \cdot S \cdot D)}{(R' \cdot R_{\infty} - 1)^2 \cdot \exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - R_{\infty}^2 \cdot (R' - R_{\infty}) \cdot \left( R' - \frac{1}{R_{\infty}} \right)} \quad (4.49)$$

και για  $R' = 0$ , η σχέση απλοποιείται περαιτέρω

$$T = \frac{(1 - R_{\infty}^2) \cdot \exp(b \cdot S \cdot D)}{\exp(2 \cdot b \cdot S \cdot D) - R_{\infty}^2} \quad (4.50)$$

#### 4.4 Υπολογισμός Οπτικών Ιδιοτήτων των Δειγμάτων

Η πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε στο τρίτο κεφάλαιο και που πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της συγκεκριμένης μελέτης προϋπόθετε την απουσία ανακλαστικής επιφάνειας πίσω από το δείγμα, με άμεση συνέπεια την εξίσωση της ανάκλασης  $R'$  με το μηδέν. Έτσι, με υιοθέτηση του μοντέλου των Kubelka και Munk, την διάδοση του φωτός στα δείγματα περιγράφουν οι εξισώσεις (4.29) και (4.50).

Τα δεδομένα, όμως, που προέκυψαν από τις μετρήσεις καθιστούν τις δύο αυτές εξισώσεις ένα σύστημα δύο εξισώσεων με δύο αγνώστους, τα  $S$  και  $K$  και όπου  $D$  είναι το πάχος των δειγμάτων και  $R_{\infty}$  είναι συνάρτηση των αγνώστων  $S$  και  $K$  (βλ. εξίσωση (4.22)). Η επίλυση του συστήματος αυτού πραγματοποιήθηκε με την χρήση του λογισμικού πακέτου MatLab και πιο συγκεκριμένα με την εντολή solve του MatLab.

Σε ένα αρχείο τύπου M ορίστηκαν αρχικά οι δύο εξισώσεις, όπως αυτές εμφανίζονται στις σχέσεις (4.29) και (4.50), με την μεταβλητή  $R_{\infty}$  να έχει την μορφή της σχέσεως (4.22). Κατόπιν χαρακτηρίστηκαν ως άγνωστοι οι μεταβλητές  $S$  και  $K$  και με αυτούς τους αγνώστους επιλύθηκε το σύστημα καλώντας την εντολή solve. Η όλη διαδικασία συμπεριλήφθη σε δύο διαδοχικούς επαναληπτικούς

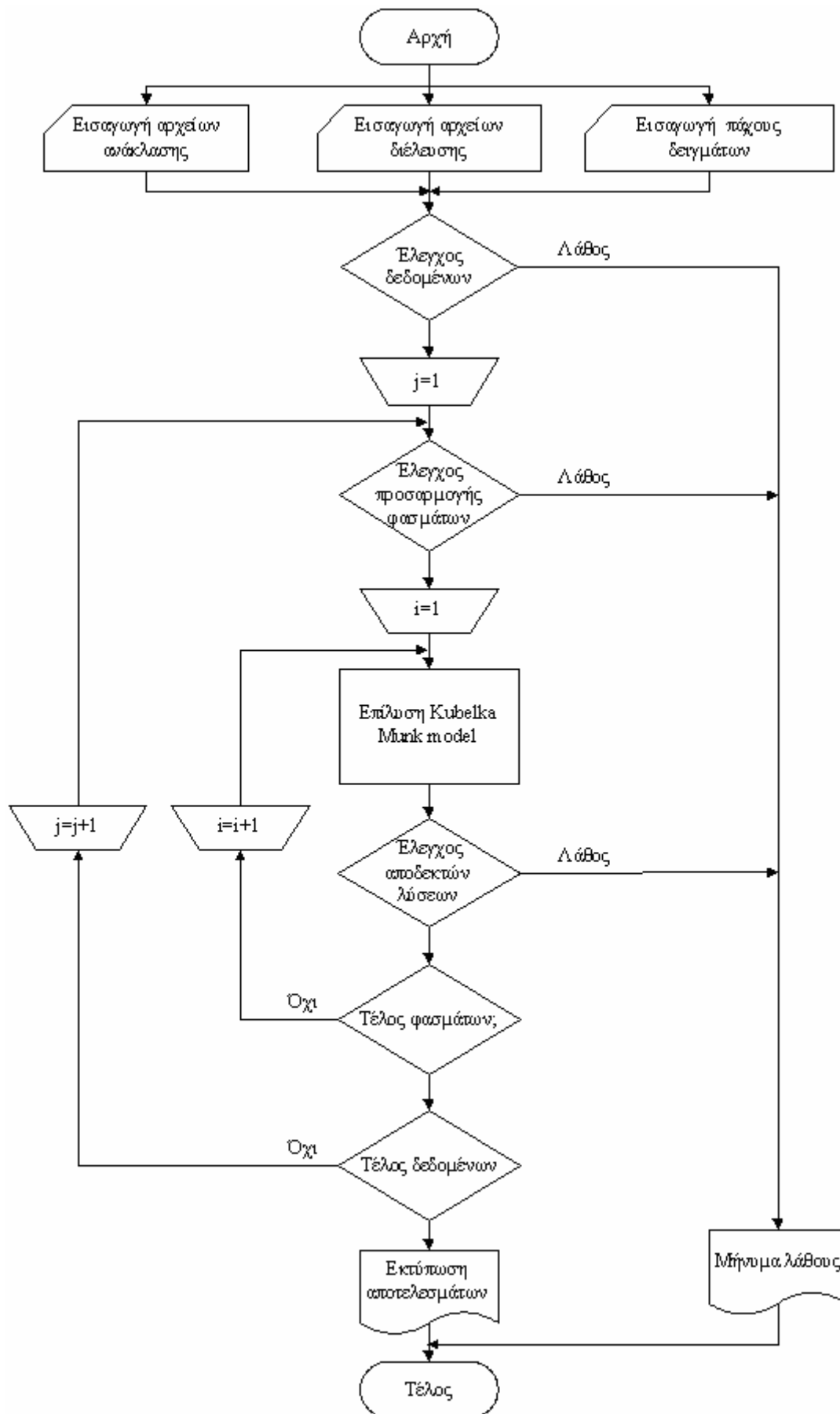


βρόγχους for για την επίλυση του προβλήματος σε ολόκληρο το φάσμα των πειραματικών μετρήσεων και για το σύνολο των δειγμάτων. Τα δεδομένα που προέκυψαν αποθηκεύτηκαν σε δύο πίνακες  $i \times j$ , όπου  $i$  αποτελεί το φάσμα των πειραματικών μετρήσεων και  $j$  είναι ο αριθμός των χρησιμοποιηθέντων δειγμάτων, με στοιχεία τους διάχυτους συντελεστές σκέδασης και απορρόφησης αντίστοιχα στον κάθε πίνακα.

Με σκοπό την λειτουργικότητα του αλγορίθμου που μόλις περιγράφηκε ανεξαρτήτως του πλήθους των δειγμάτων ή του φάσματος των μετρήσεων δόθηκε η δυνατότητα στον χρήστη να επιλέγει μόνος του τα αρχεία των δεδομένων του και να καταχωρεί το πάχος του κάθε δείγματος, χωρίς να επιβάλλεται η τροποποίηση του αλγορίθμου κάθε φορά που αλλάζουν τα δείγματα. Αυτό επιτεύχθηκε με έναν αριθμό παραθύρων επικοινωνίας του αλγορίθμου με τον χρήστη, όπου ο τελευταίος καλείται να επιλέξει τα δεδομένα που τον ενδιαφέρουν, να ορίσει τα πάχη των δειγμάτων του και να σχεδιάσει ή/και να αποθηκεύσει τα αποτελέσματα της διαδικασίας. Επίσης έχει την δυνατότητα να διακόψει την διαδικασία σε οποιοδήποτε στάδιο εκείνος επιθυμεί.

Τέλος, για την εξοικονόμηση υπολογιστικού χρόνου σε περίπτωση ελλιπούς εισαγωγής δεδομένων ή ύπαρξης σφαλμάτων στα ίδια τα δεδομένα (π.χ. διαφορετικό εύρος των φασμάτων διέλευσης και ανάκλασης) ο αλγόριθμος συμπληρώθηκε με έναν αριθμό εσωτερικών ελέγχων τόσο ποσοτικών, όσο και ποιοτικών χαρακτηριστικών των δεδομένων εισαγωγής. Σε κάθε περίπτωση σφάλματος η διαδικασία επίλυσης του αντίστροφου μοντέλου των Kubelka και Munk διακόπτεται, συνοδευόμενη με ανάλογο μήνυμα ενημέρωσης του χρήστη για την περιοχή εντοπισμού του σφάλματος.

Το Μ αρχείο που περιέχει τον αλγόριθμο έλαβε την ονομασία Kubelka\_Munk και το πλήρες περιεχόμενό του παρατίθεται στο Παράρτημα. Στο Σχήμα 4.2 παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής λειτουργίας του αλγορίθμου, όπου φαίνονται όλοι οι έλεγχοι που πραγματοποιούνται.



Σχήμα 4.2: Διάγραμμα Ροής Λειτουργίας Αλγορίθμου Kubelka\_Munk

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ** **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

### **5.1 Εισαγωγή**

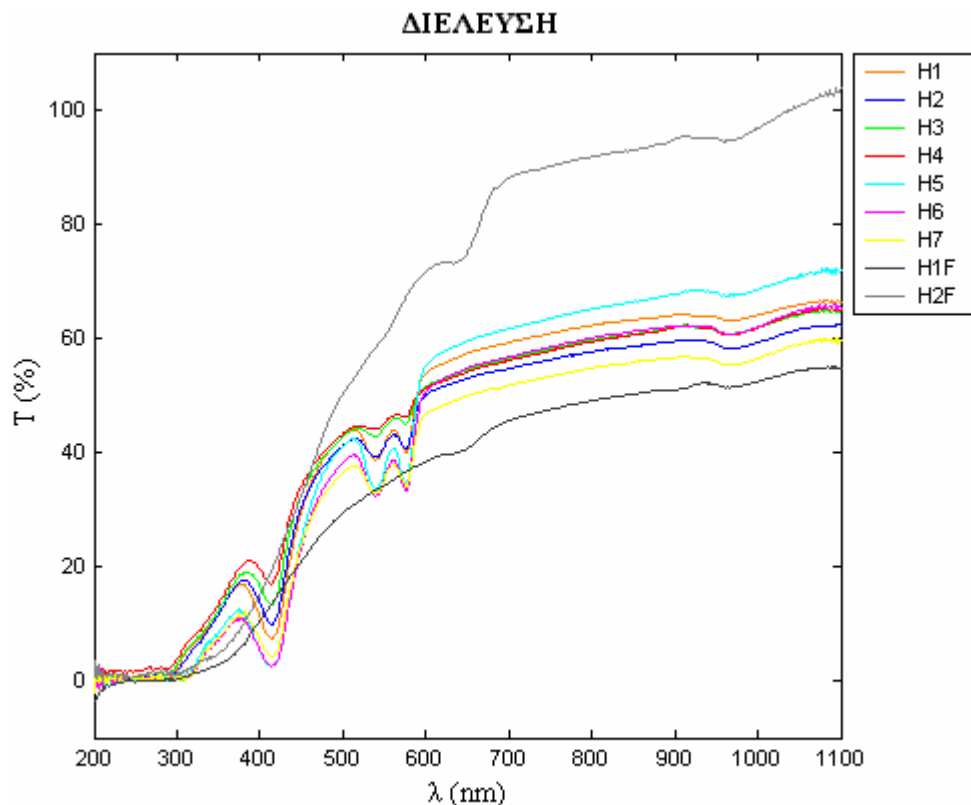
Μετά την ολοκλήρωση των πειραματικών μετρήσεων και την επιλογή της μεθόδου διαχείρισης των δεδομένων που προέκυψαν, απομένει ο προσδιορισμός ενός ικανού και αξιόπιστου διαγνωστικού εργαλείου για τον σαφή διαχωρισμό των υγιών από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες.

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται τόσο τα πειραματικά, όσο και τα υπολογιστικά δεδομένα. Επίσης προτείνονται και δύο αλγόριθμοι διάγνωσης της ασθένειας της αθηροσκλήρωσης, που όπως φαίνεται, για τη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία, ανταποκρίνεται πλήρως στις προϋποθέσεις της εν λόγω εργασίας.

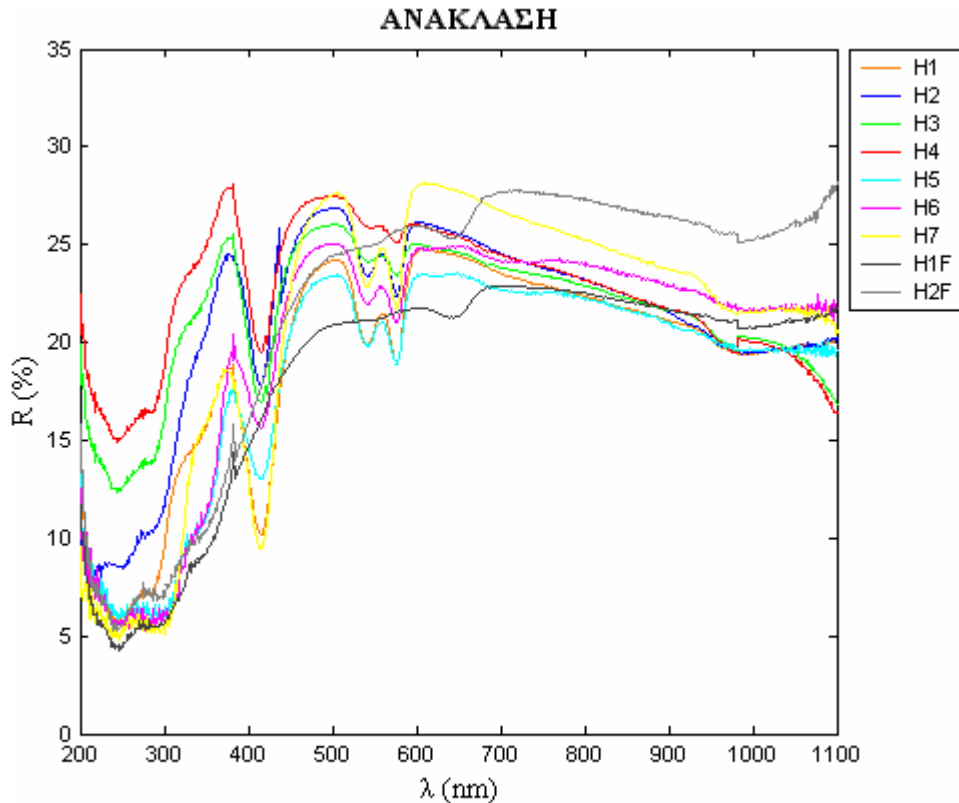
### **5.2 Φάσματα Διέλευσης και Ανάκλασης**

Τα δείγματα, όπως αναφέρθηκε και στο τρίτο κεφάλαιο, αποτελούσαν επτά υγιή και τέσσερα αθηροσκληρωτικά τμήματα θωρακικών αρτηριών λευκών κουνελιών Νέας Ζηλανδίας. Σε αυτά τα δείγματα μετρήθηκαν, με τη μέθοδο της φασματοφωτομετρίας, η διέλευση και η ανάκλαση του αυλού των αρτηριών σε ένα εύρος μηκών κύματος από 200 έως 1100 nm. Από αυτά τα δεδομένα σχεδιάζονται τα φάσματα διέλευσης και ανάκλασης για το κάθε δείγμα.

Αρχικά θα παρουσιασθούν τα φάσματα αυτά ξεχωριστά για τις υγιείς και ξεχωριστά για τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες. Έτσι στο Σχήμα 5.1 φαίνεται το



**Σχήμα 5.1 :** Φάσματα Διέλευσης υγιών αρτηριών αποθηκευμένων σε υγρό άζωτο (H1-H7) και σε φορμόλη (H1F,H2F)



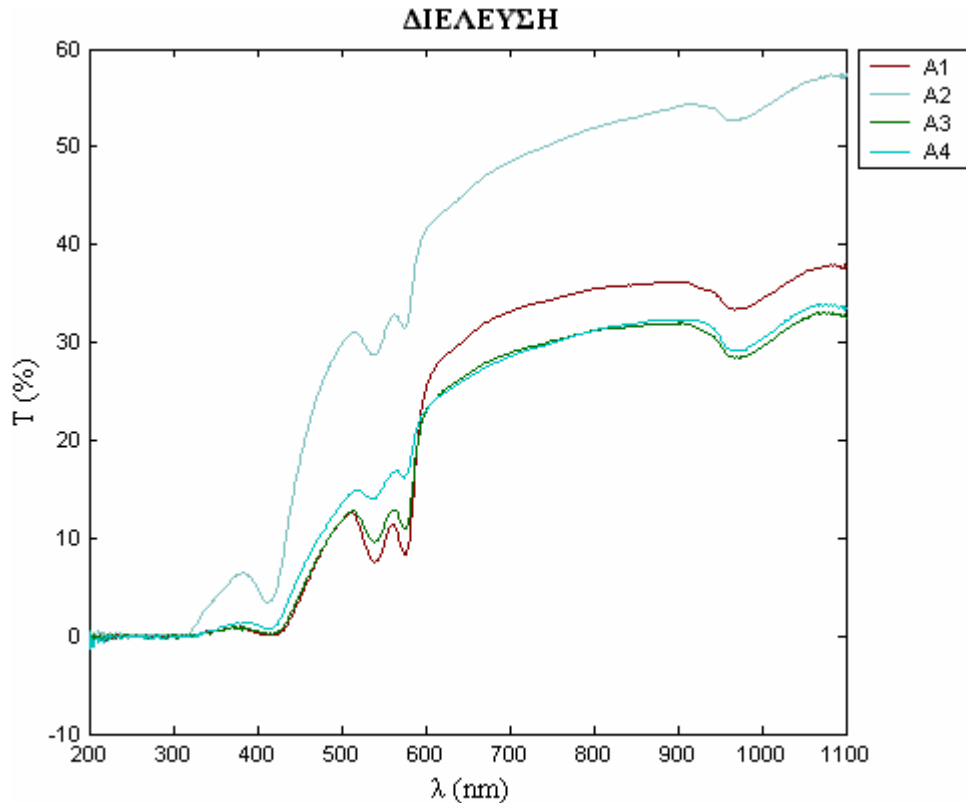
**Σχήμα 5.2** : Φάσματα Ανάκλασης υγίων αρτηριών αποθηκευμένων σε υγρό άζωτο (H1-H7) και σε φορμόλη (H1F,H2F)

φάσμα διέλευσης, ενώ στο Σχήμα 5.2 το φάσμα ανάκλασης των υγίων αρτηριών, ακριβώς όπως αυτά προέκυψαν από την πειραματική διαδικασία.

Στα διαγράμματα αυτά εκτός από τα φάσματα των επτά υγίων δειγμάτων που προσήχθησαν κατεψυγμένα στους  $-70^{\circ}\text{C}$  σε υγρό άζωτο φαίνονται και τα φάσματα δύο ακόμη δειγμάτων, των H1F και H2F. Αυτά τα δύο δείγματα αποτελούσαν υγιή τμήματα θωρακικής αορτής, τα οποία όμως προσήχθησαν αποθηκευμένα σε διάλυμα φορμόλης.

Παρατηρώντας τα δύο διαγράμματα μπορεί κανείς να διακρίνει τρεις περιοχές έντονης απορρόφησης. Αυτές οι περιοχές είναι στα 410 nm (ζώνη Soret), στα 540 και στα 577 nm (ζώνες α και β της οξυαιμοσφαιρίνης αντίστοιχα) περίπου κι εκδηλώνονται με βυθίσματα στα αντίστοιχα μήκη κύματος στα εν λόγω διαγράμματα [LaMuraglia, 1990]. Επίσης είναι εμφανής από τα διαγράμματα η έντονη απορροφητική συμπεριφορά του ιστού των αρτηριών στην ζώνη κάτω των 300 nm, κάτι που άλλωστε είναι αληθές για τους περισσότερους βιολογικούς ιστούς.

Όλες αυτές οι παρατηρήσεις, όμως, γίνονται μόνο για τα φάσματα που προέκυψαν από τις επτά πρώτες αρτηρίες. Οι φασματικές διαφορές που εμφανίζουν οι δύο αρτηρίες που αποθηκεύθηκαν στο διάλυμα της φορμόλης είναι εντονότερες. Πιο συγκεκριμένα, φαίνεται σαφέστατα ότι η φορμόλη επηρεάζει κάποια συστατικά των ιστών ως προς τις οπτικές τους ιδιότητες, πράγμα που μεταφράζεται με την απουσία απορρόφησης στα 410, 540 και 577 nm. Άλλη μία διαφορά είναι η εμφάνιση απορρόφησης στα 650 nm στην περίπτωση των δειγμάτων φορμόλης. Όλες αυτές οι διαφορές οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η φορμόλη επηρεάζει σημαντικά τις οπτικές



**Σχήμα 5.3** : Φάσματα Διέλευσης αθηροσκληρωτικών αρτηριών αποθηκευμένων σε υγρό άζωτο (A1-A4)

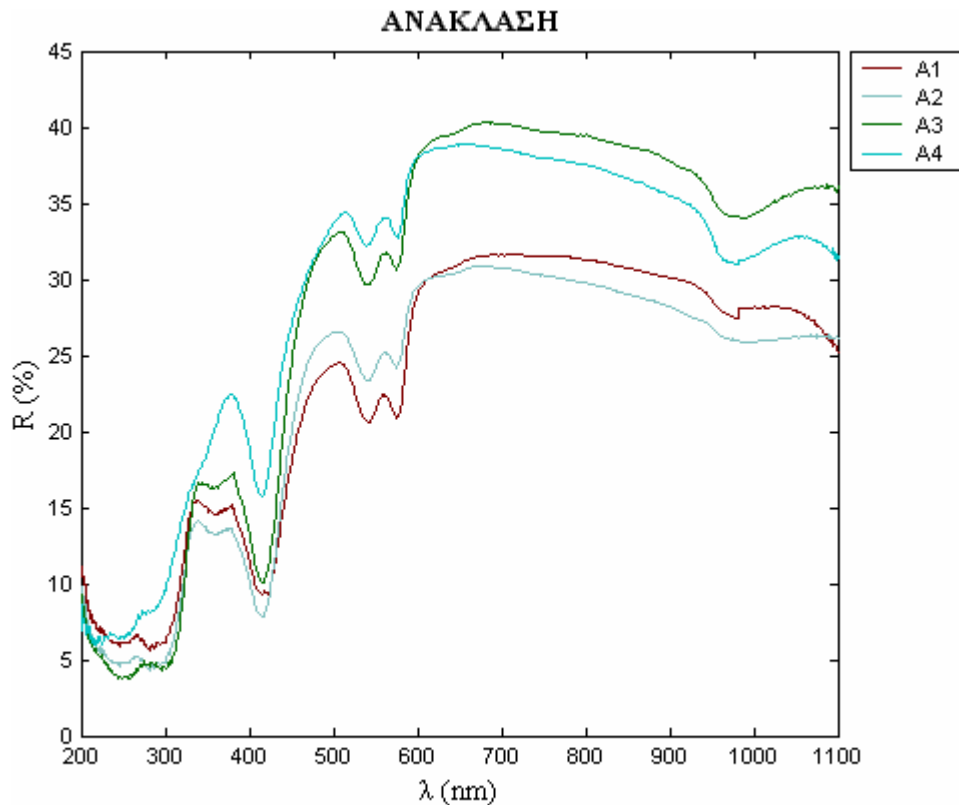
ιδιότητες των ιστών και ως εκ τούτου κρίνεται ακατάλληλο υλικό για την αποθήκευση των δειγμάτων σε τέτοιου είδους πειραματικές διαδικασίες.

Σε αντιστοιχία με τα φασματικά διαγράμματα των υγιών αρτηριών είναι και τα Σχήματα 5.3 και 5.4, στα οποία παρουσιάζονται τα φάσματα διέλευσης και ανάκλασης των τεσσάρων αθηροσκληρωτικών δειγμάτων.

Είναι έκδηλη η ομοιομορφία μεταξύ των αντίστοιχων φασμάτων των υγιών και των αθηροσκληρωτικών αρτηριών. Μία απλή παρατήρηση των Σχημάτων 5.3 και 5.4 οδηγεί στα ίδια με προηγουμένως συμπεράσματα σχετικά με τις ζώνες έντονης απορρόφησης.

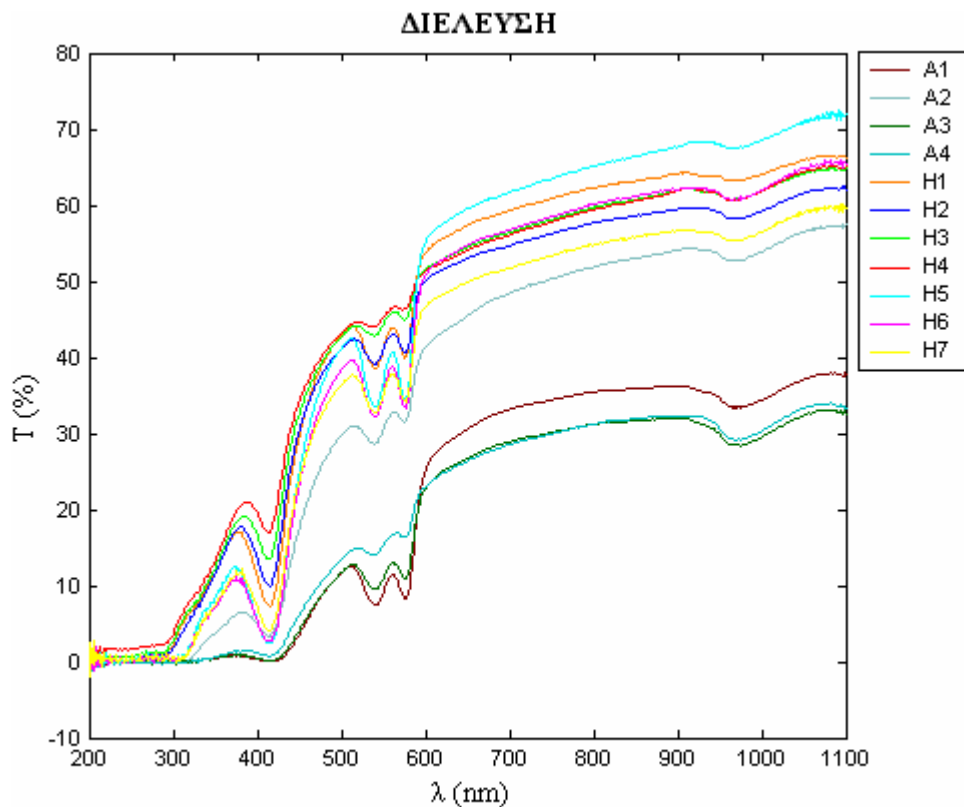
Σε μία προσπάθεια να εντοπιστούν κάποιες πρώτες φασματικές διαφορές υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών όλα τα φάσματα διέλευσης και όλα τα φάσματα ανάκλασης συγκεντρώνονται στα Σχήματα 5.5 και 5.6.

Από τα διαγράμματα αυτά μπορούν να εντοπιστούν κάποιες διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες αρτηριών. Στο Σχήμα 5.5 φαίνεται ότι η διέλευση του φωτός από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες είναι σημαντικά περιορισμένη σε σχέση με τις υγιείς (η τιμή της αγγίζει το ήμισυ της αντίστοιχης τιμής των υγιών αρτηριών) με εξαίρεση το αθηροσκληρωτικό δείγμα A2 που το φάσμα διέλευσής του προσεγγίζει εκείνο των υγιών αρτηριών. Αυτό είναι βέβαια αναμενόμενο, αφού από την ιστοπαθολογική εξέταση των αρτηριών προέκυψε ότι το εν λόγω δείγμα βρίσκεται σε πολύ αρχικό στάδιο αθηροσκλήρωσης κι επομένως ελάχιστα έχει αλλοιωθεί σε σχέση με τις υγιείς αρτηρίες.



**Σχήμα 5.4 :** Φάσματα Ανάκλασης αθηροσκληρωτικών αρτηριών αποθηκευμένων σε υγρό άζωτο (A1-A4)

Μία άλλη σημαντική διαφορά που προκύπτει από τα φάσματα διέλευσης βρίσκεται στη ζώνη Soret. Εκεί οι αθηροσκληρωτικές αρτηρίες δεν παρουσιάζουν

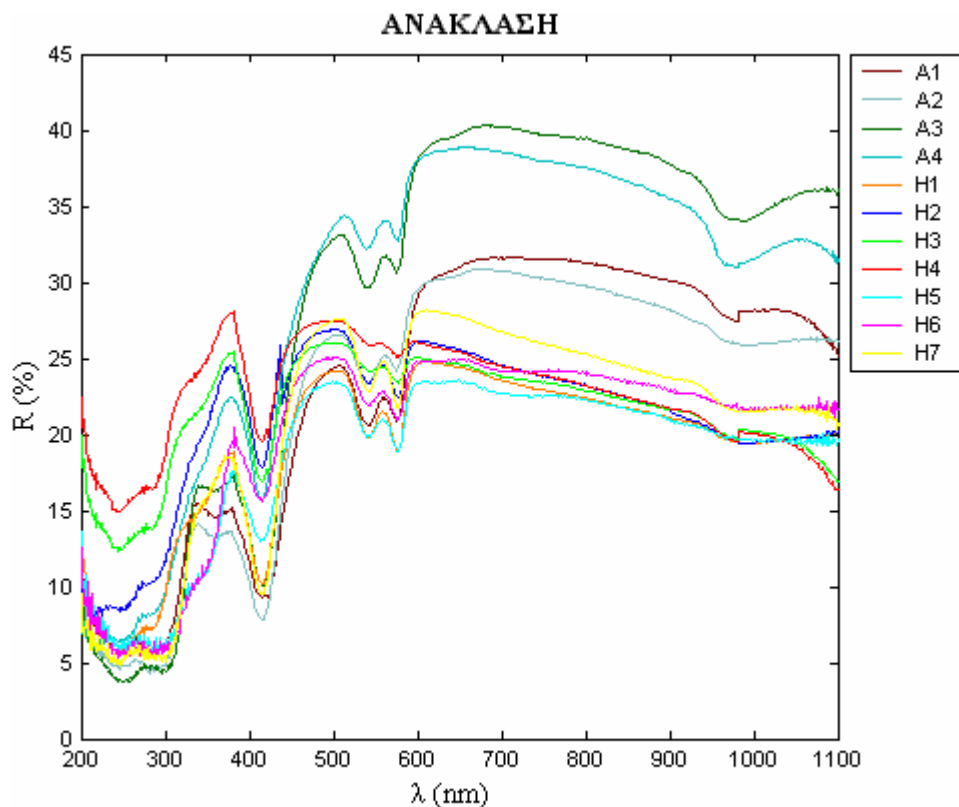


**Σχήμα 5.5 :** Φάσματα Διέλευσης υγιών (H1-H7) και αθηροσκληρωτικών (A1-A4) αρτηριών

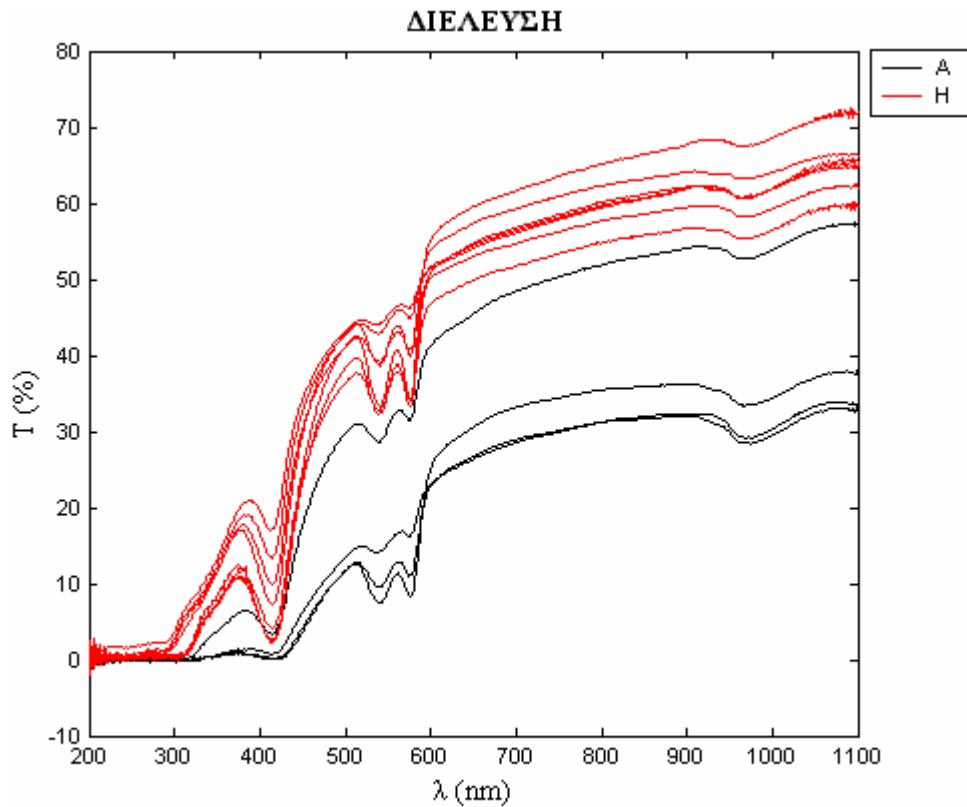
απλώς μία αυξημένη απορρόφηση, όπως οι υγιείς, αλλά εμφανίζουν σχεδόν την μέγιστη απορρόφηση, την οποία διατηρούν μέχρι και τα 200 nm, που αποτελούσε το κάτω όριο των πειραματικών μετρήσεων, με μία ελάχιστη αύξηση της διέλευσης στην περιοχή 350 με 400 nm. Πρακτικά επομένως η μέγιστη απορρόφηση των αθηροσκληρωτικών δειγμάτων ξεκινά από τη ζώνη Soret, σε αντίθεση με την μέγιστη απορρόφηση των υγιών που ξεκινά από τα 300 nm περίπου. Και πάλι το δείγμα A2 παρουσιάζει κάποια διαφοροποίηση από τα υπόλοιπα αθηροσκληρωτικά δείγματα, αρκετά μικρότερης εντάσεως, όμως, από ότι στην προηγούμενη παρατήρηση. Μάλιστα στην ζώνη 350 με 400 nm το φάσμα διέλευσης αυτού του δείγματος προσεγγίζει σημαντικά τα φάσματα των αθηροσκληρωτικών αρτηριών, γεγονός που προσδίδει την υποψία ότι σε αυτή τη ζώνη ενδεχομένως να έγκειται και η κρίση διαχωρισμού υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών.

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν από το Σχήμα 5.6 είναι κάπως διαφοροποιημένα από εκείνα των φασμάτων διέλευσης. Σύμφωνα με το διάγραμμα η ανάκλαση που παρουσιάζουν τα αθηροσκληρωτικά δείγματα είναι σαφώς μεγαλύτερη από εκείνη που εμφανίζουν τα υγιή, για μήκη κύματος εντός της περιοχής 600 με 1100 nm. Το δείγμα A2, που στην περίπτωση της διέλευσης προσέγγιζε τα υγιή δείγματα, τώρα παρουσιάζει παρόμοια συμπεριφορά με τα αθηροσκληρωτικά. Όμως αυτή η διαφοροποίηση του μεγέθους της ανάκλασης εξαφανίζεται σταδιακά από τα 600 nm, ενώ στη ζώνη Soret η συμπεριφορά και των ένδεκα δειγμάτων είναι πανομοιότυπη, δυσχεραίνοντας των προσδιορισμό κάποιας διαφοράς μεταξύ υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών.

Παρόλα αυτά, όμως, στην περιοχή 320 με 400 nm διαφαίνεται κάποια

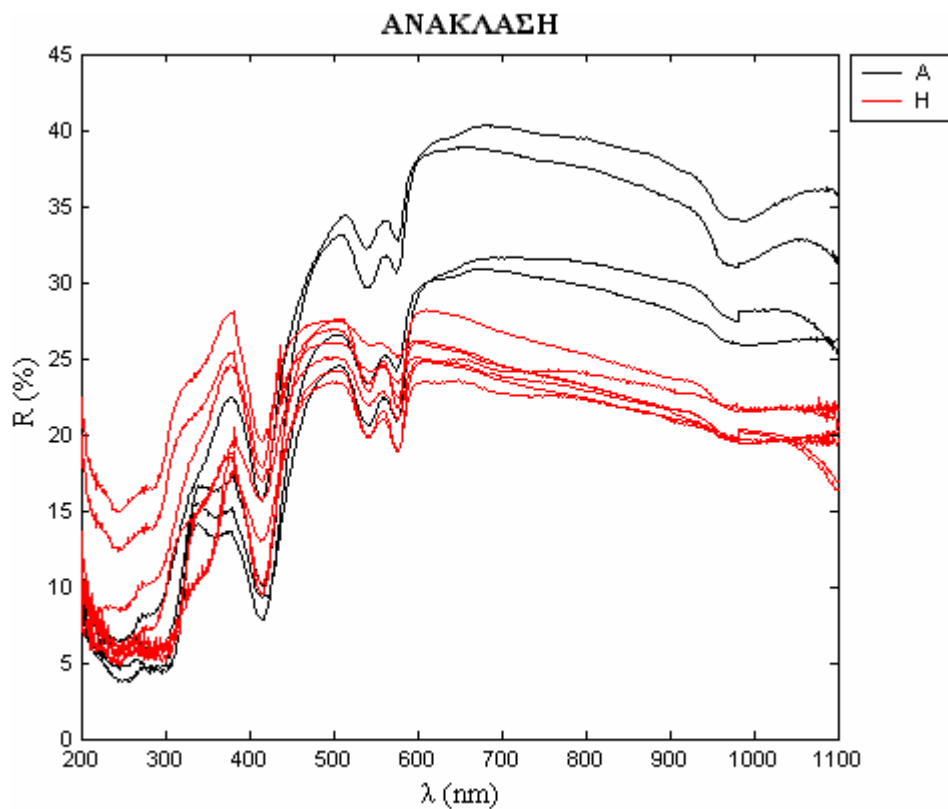


**Σχήμα 5.6 :** Φάσματα Ανάκλασης υγιών (H1-H7) και αθηροσκληρωτικών (A1-A4) αρτηριών



**Σχήμα 5.7 :** Ομαδοποιημένα Φάσματα Διέλευσης υγιών (H) και αθηροσκληρωτικών (A) αρτηριών

σημαντική διαφοροποίηση. Πιο συγκεκριμένα, ενώ η τιμή της ανάκλασης των υγιών δειγμάτων μετά τη μείωση που παρουσιάζει στη ζώνη Soret αυξάνει σταδιακά μέχρι



**Σχήμα 5.8 :** Ομαδοποιημένα Φάσματα Ανάκλασης υγιών (H) και αθηροσκληρωτικών (A) αρτηριών



κάποιο τοπικό μέγιστο και κατόπιν μειώνεται πάλι, τα αθηροσκληρωτικά δείγματα συμπεριφέρονται διαφορετικά. Μετά τη μείωση στη ζώνη Soret η τιμή της ανάκλασης που εμφανίζουν αυξάνει σταδιακά, αλλά όταν φτάσει σε μια κάποια τιμή την διατηρεί για περίπου 60 nm και μετά αρχίζει να μειώνεται. Η παρατήρηση αυτή ενισχύει ακόμη περισσότερο την υποψία ότι η ικανή να οδηγήσει σε διαχωρισμό των υγιών από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες διαφοροποίηση παρουσιάζεται στην περιοχή 320 με 400 nm.

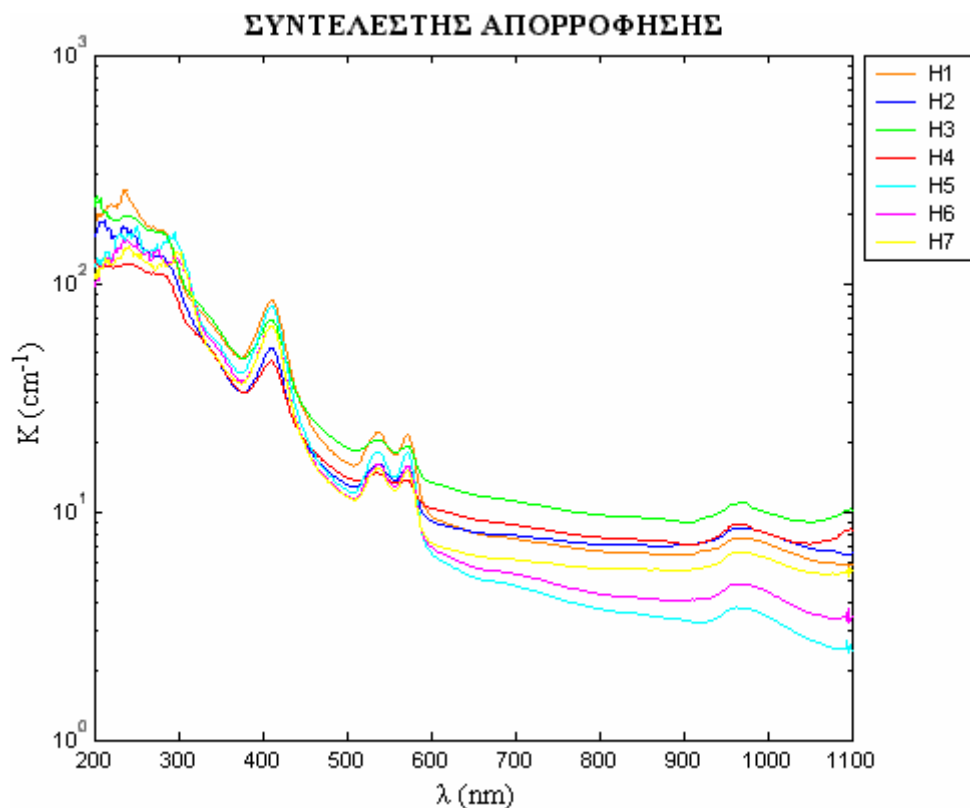
Όλες αυτές οι διαφορές, τόσο για τα φάσματα διέλευσης, όσο και ανάκλασης, φαίνονται καλύτερα στα Σχήματα 5.7 και 5.8. Στα διαγράμματα αυτά έχουν σχεδιαστεί πάλι τα φάσματα, αυτή τη φορά όμως ομαδοποιημένα σε αθηροσκληρωτικά (μαύρο χρώμα) και υγιή (κόκκινο χρώμα). Με αυτό τον τρόπο μπορεί κανείς να παρατηρήσει τις όποιες διαφορές του συνόλου των αθηροσκληρωτικών δειγμάτων σε σχέση με το σύνολο των υγιών.

### 5.3 Διάχυτοι Συντελεστές Σκέδασης και Απορρόφησης

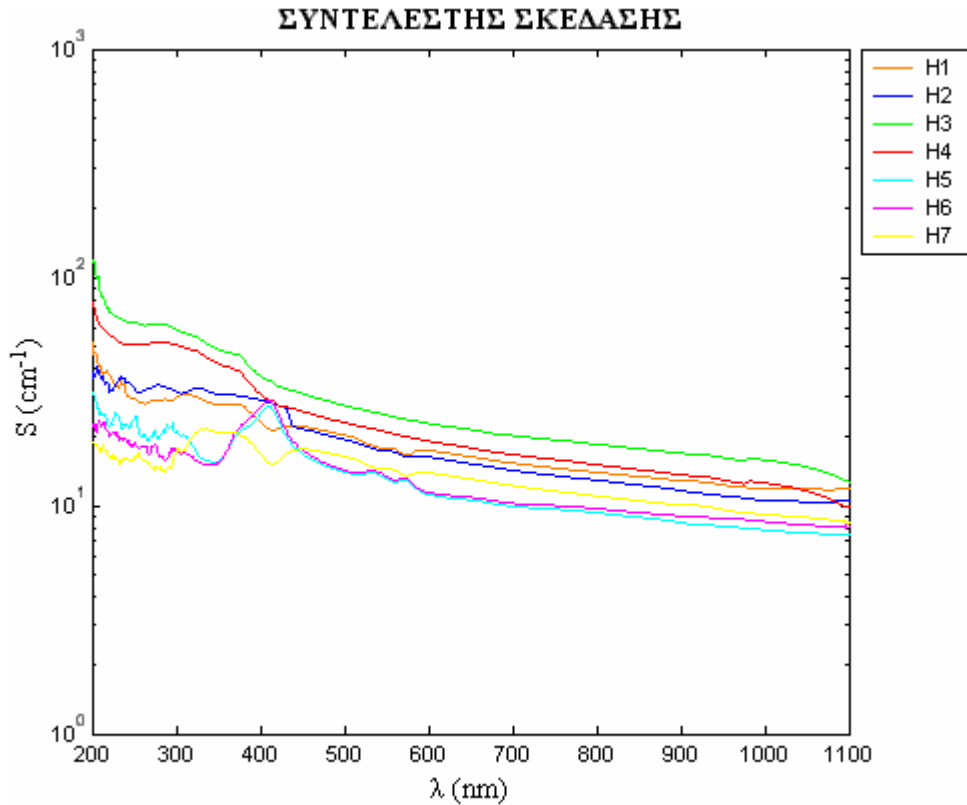
Οι διάχυτοι συντελεστές σκέδασης και απορρόφησης (S και K) υπολογίστηκαν με την χρησιμοποίηση του αλγορίθμου Kubelka\_Munk, σύμφωνα με τα όσα αναφέρθηκαν στο τέταρτο κεφάλαιο. Στο παρόν κεφάλαιο θα εξετασθεί το κατά πόσο τα φασματικά διαγράμματα των συντελεστών αυτών προσφέρουν πληροφορίες σχετικά με τον διαχωρισμό υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών.

Στα Σχήματα 5.9 και 5.10 παρουσιάζονται τα φάσματα των δύο αυτών συντελεστών για τα επτά υγιή δείγματα σε ημιλογαριθμική κλίμακα.

Παρατηρώντας το Σχήμα 5.9 επαληθεύονται όλες οι παρατηρήσεις της

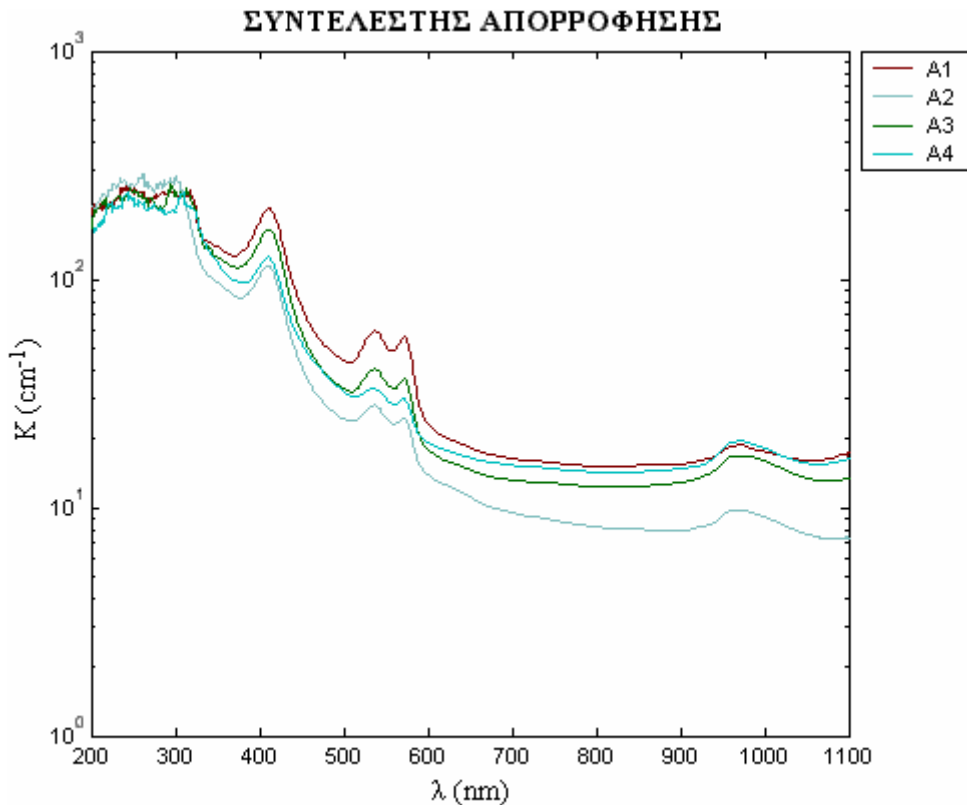


**Σχήμα 5.9** : Συντελεστές Απορρόφησης υγιών αρτηριών (H1-H7)



**Σχήμα 5.10** : Συντελεστές Σκέδασης υγιών αρτηριών (H1-H7)

προηγούμενης παραγράφου σχετικά με την απορρόφηση. Πράγματι στις ζώνες που αναφέρθηκαν (Soret,  $\alpha$  και  $\beta$  της οξυαιμοσφαιρίνης) εμφανίζεται έντονη απορρόφηση. Μάλιστα φαίνεται ότι στα 540 και 577 nm (ζώνες  $\alpha$  και  $\beta$  της οξυαιμοσφαιρίνης) η απορρόφηση για το κάθε δείγμα είναι ίδια, στα 410 nm (ζώνη



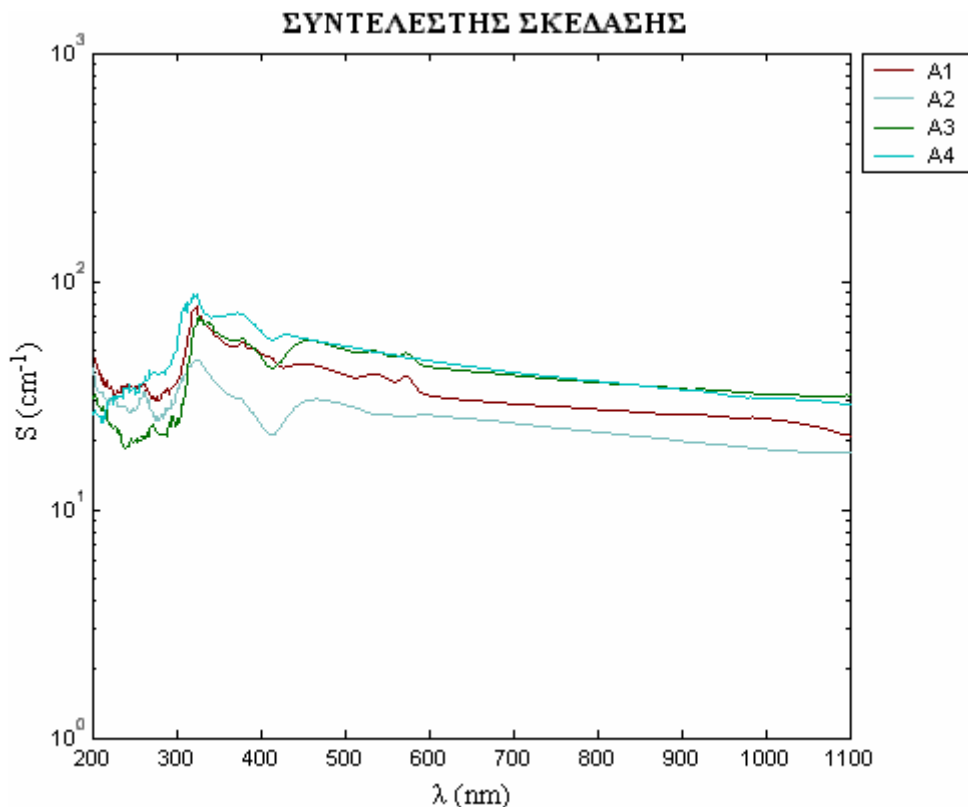
**Σχήμα 5.11** : Συντελεστές Απορρόφησης αθηροσκληρωτικών αρτηριών (A1-A4)

Soret) αυξάνει αρκετά και κορυφώνεται από τα 300 nm και κάτω, όπου και διατηρεί σχεδόν σταθερή τιμή.

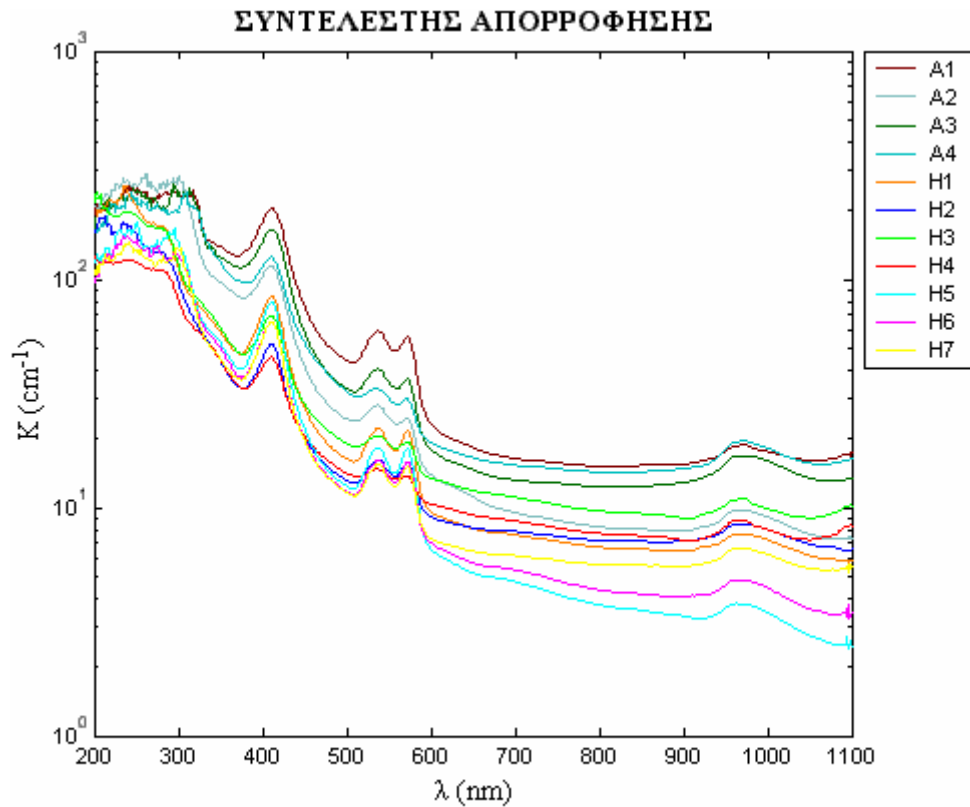
Από την άλλη, ο συντελεστής σκέδασης φαίνεται να μειώνεται σχεδόν γραμμικά από τα 500 μέχρι τα 1100 nm, που αποτελεί και το ανώτατο όριο των πειραματικών μετρήσεων, με μία αρκετά μικρή κλίση. Από τα 500 nm και κάτω σύμφωνα με το Σχήμα 5.10 το κάθε δείγμα φαίνεται να σκεδάζει μοναδικά την φωτεινή ακτινοβολία, αφού υπάρχει ανομοιομορφία στα φάσματα του συντελεστή σκέδασης σε αυτό το εύρος μηκών κύματος.

Ακολουθώντας την ίδια διαδικασία σχεδιάζονται τα διαγράμματα των διάχυτων συντελεστών σκέδασης και απορρόφησης των αθηροσκληρωτικών αρτηριών. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στα Σχήματα 5.11 και 5.12.

Οι παρατηρήσεις που μπορούν να γίνουν για τα διαγράμματα αυτά είναι παρόμοιες με εκείνες που έγιναν για τα αντίστοιχα διαγράμματα των υγιών αρτηριών. Υπάρχει μόνο μία σημαντική διαφορά. Ενώ για τα υγιή δείγματα η τιμή του συντελεστή απορρόφησης στη ζώνη Soret ήταν αρκετά μικρότερη από τη μέγιστη τιμή του, στην περιοχή κάτω των 300 nm, στα αθηροσκληρωτικά δείγματα η τιμή του συντελεστή αυτού στη ζώνη Soret είναι συγκρίσιμη εάν όχι ίση με τη μέγιστη τιμή του. Επίσης, όπως φαίνεται στο Σχήμα 5.11, μετά τη ζώνη Soret η απορρόφηση μειώνεται αρκετά μέχρι να ξαναποκτήσει μέγιστη τιμή στην περιοχή των 300 nm. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με την ποιοτική παρατήρηση της προηγούμενης παραγράφου ότι η απορρόφηση διατηρεί το μέγεθός της από τη ζώνη Soret και κάτω. Ενδεχομένως η μείωση της διέλευσης στην περιοχή των 350 με 400 nm να οφείλεται σε κάποια άλλη αλληλεπίδραση του ιστού των αρτηριών με το φως και όχι στην



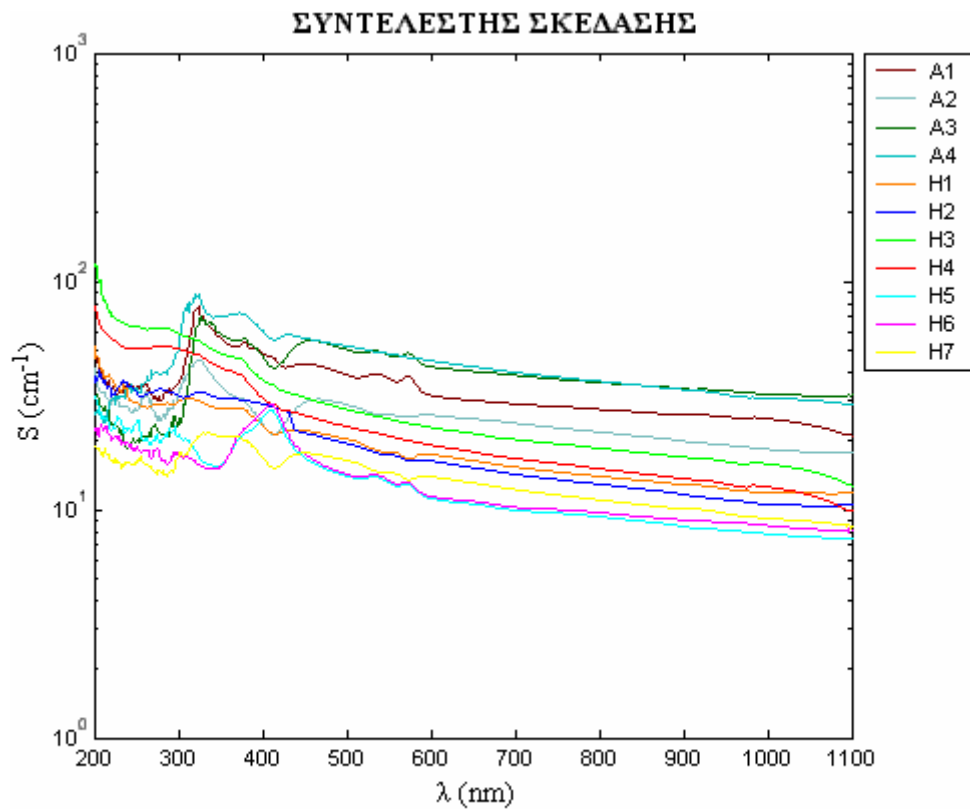
**Σχήμα 5.12** : Συντελεστές Σκέδασης αθηροσκληρωτικών αρτηριών (A1-A4)



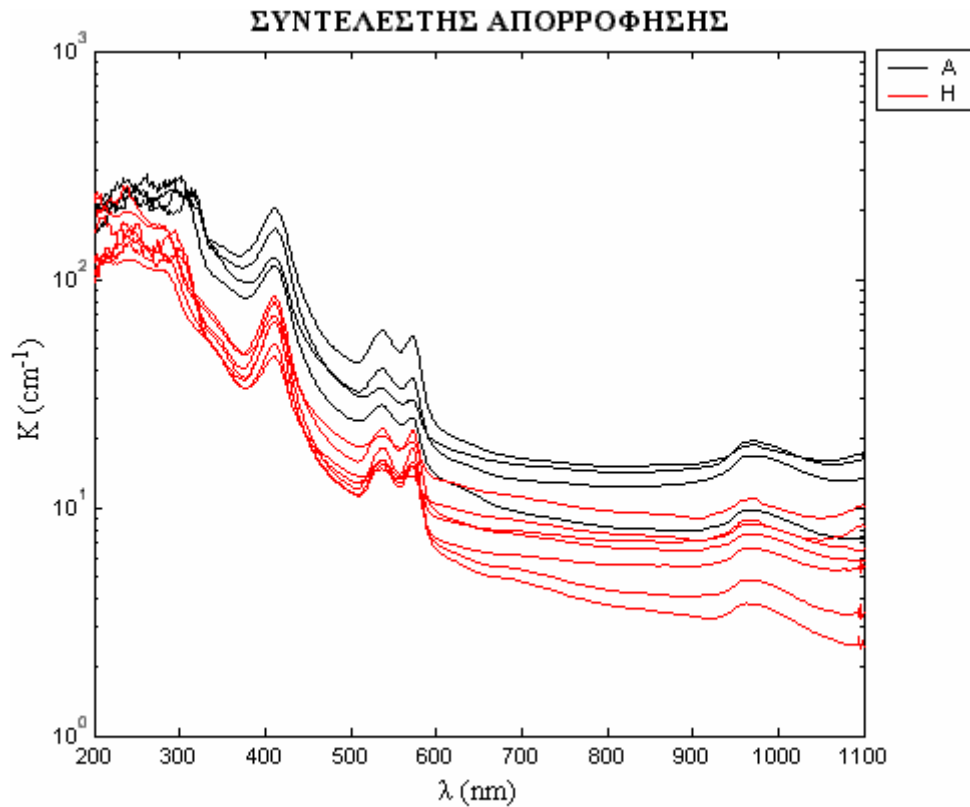
**Σχήμα 5.13 :** Συντελεστές Απορρόφησης υγίων (H1-H7) και αθηροσκληρωτικών (A1-A4) αρτηριών

απορρόφηση.

Για να συγκεκριμενοποιηθούν οι όποιες διαφορές υπάρχουν μεταξύ των



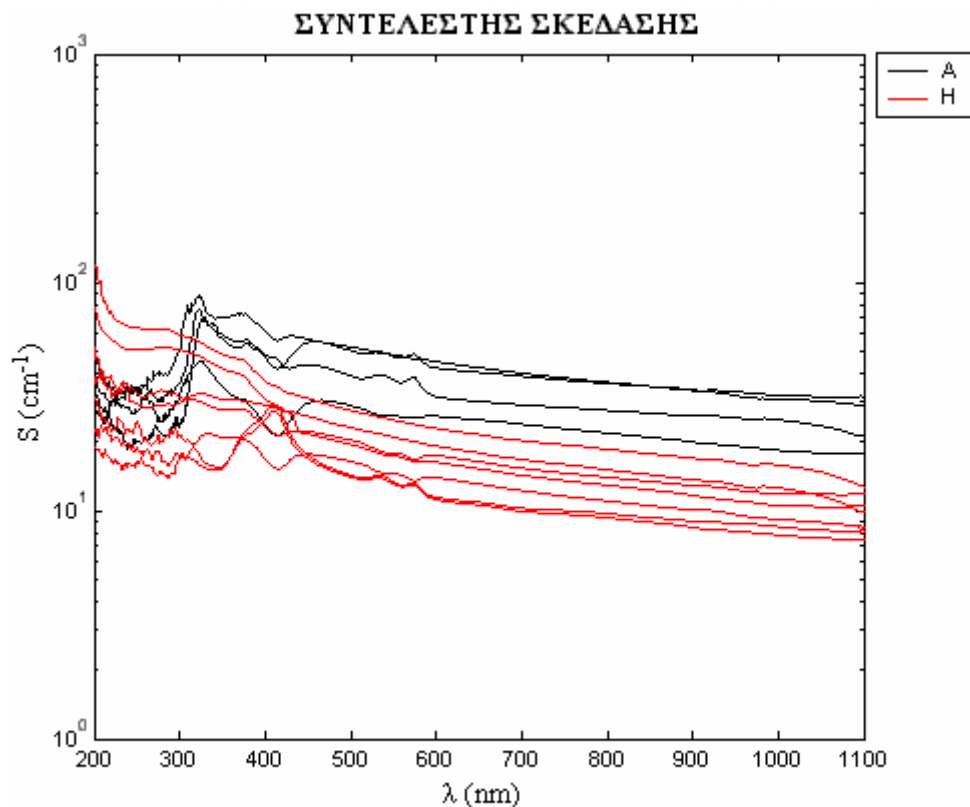
**Σχήμα 5.14 :** Συντελεστές Σκέδασης υγίων (H) και αθηροσκληρωτικών (A) αρτηριών



**Σχήμα 5.15:** Ομαδοποιημένοι Συντελεστές Απορρόφησης υγίων (H) και αθηροσκληρωτικών (A) αρτηριών

διάχυτων συντελεστών σκέδασης και απορρόφησης τα προηγούμενα διαγράμματα συγκεντρώνονται στα Σχήματα 5.13 και 5.14.

Για μεγαλύτερη σαφήνεια και ακρίβεια των παρατηρήσεων σχετικά με τις



**Σχήμα 5.16:** Ομαδοποιημένοι Συντελεστές Σκέδασης υγίων (H) και αθηροσκληρωτικών (A) αρτηριών

όποιες διαφορές μεταξύ των υγιών και των αθηροσκληρωτικών αρτηριών τα δύο προηγούμενα διαγράμματα ξανασχεδιάζονται με τα φάσματα ομαδοποιημένα σε υγιή και αθηροσκληρωτικά. Αυτά βρίσκονται στα Σχήματα 5.15 και 5.16.

#### 5.4 Στατιστική Ανάλυση

Την παρουσίαση των διαγνωστικών μεθόδων θα προηγηθεί η παρουσίαση κάποιων χρήσιμων στατιστικών εργαλείων, απαραίτητων για την πληθυσμιακή κατάταξη των όποιων δεδομένων και ως εκ τούτου τον σαφέστερο διαχωρισμό υγιών και αθηροσκληρωτικών δειγμάτων.

Στις δύο ακόλουθες διαγνωστικές μεθόδους την βάση διαχωρισμού των δεδομένων θα αποτελέσει ο λόγος των πιθανοτήτων

$$L(x_0) = \frac{pr(x_0|D)}{pr(x_0|\bar{D})} \quad (5.1)$$

όπου  $pr(x_0|D)$  αποτελεί την συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας της παρατηρούμενης τιμής  $X$  στο σημείο  $x_0$  υπό την παρουσία της καταστάσεως  $D$ , ενώ  $pr(x_0|\bar{D})$  είναι η συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας υπό την απουσία της  $D$ . Μία γενική μορφή του λόγου των πιθανοτήτων αποτελεί το μοντέλο της ακόλουθης σχέσης

$$L(x) = \exp(a_0 + a_1 \cdot x_1 + \dots + a_k \cdot x_k) \quad (5.2)$$

όπου  $x^T = (x_1, \dots, x_k)$  είναι οι μετρούμενες τιμές,  $a_0$  είναι μία σταθερά και  $a^T = (a_1, \dots, a_k)$  είναι ένας πίνακας συντελεστών που προκύπτουν από τα δεδομένα των δύο πληθυσμών,  $D$  και  $\bar{D}$ .

Ειδικά, τώρα, για κανονικώς κατανεμημένους πληθυσμούς με μέσους  $\mu_D$  και  $\mu_{\bar{D}}$ , αλλά κοινή διασπορά  $\sigma^2$ , η εξίσωση (5.2) παίρνει την πιο απλή εκθετική μορφή

$$L(x) = \exp(a_0 + a_1 \cdot x) \quad (5.3)$$

όπου οι συντελεστές  $a_0$  και  $a_1$  δίνονται από τις σχέσεις

$$a_0 = -\frac{1}{2} \cdot \frac{\mu_D^2 - \mu_{\bar{D}}^2}{\sigma^2} \quad (5.4)$$

και

$$a_1 = \frac{\mu_D - \mu_{\bar{D}}}{\sigma^2} \quad (5.5)$$

αντίστοιχα.

Στην περίπτωση, όμως, που τα δεδομένα  $X$  αποτελούν ένα διάνυσμα  $k$  πειραματικών μετρήσεων σε κανονικώς κατανεμημένους πληθυσμούς, τότε η εξίσωση (5.2) παίρνει την μορφή

$$L(x) = \exp(a_0 + a^T \cdot x) \quad (5.6)$$

όπου

$$a_0 = -\frac{1}{2} \cdot (\mu_D - \mu_{\bar{D}})^T \cdot \Sigma^{-1} \cdot (\mu_{\bar{D}} + \mu_D) \quad (5.7)$$

και

$$a^T = (\mu_D - \mu_{\bar{D}})^T \cdot \Sigma^{-1} \quad (5.8)$$

με  $\mu_D$  και  $\mu_{\bar{D}}$  να αποτελούν τους μέσους των  $k$  πειραματικών μετρήσεων και  $\Sigma$  να είναι ο κοινός πίνακας συνδιακύμανσης.

Από την άλλη, υπό την προϋπόθεση ότι δύο πληθυσμοί  $D$  και  $\bar{D}$  δεν εμφανίζουν κοινή διασπορά η σχέση (5.1) παίρνει την ακόλουθη μορφή

$$L(x) = \exp(a_0 + a_1 \cdot x + a_2 \cdot x^2) \quad (5.9)$$

με τους συντελεστές να υπολογίζονται από τις εξισώσεις

$$a_0 = -\frac{1}{2} \cdot \frac{\mu_D^2 \cdot \sigma_{\bar{D}}^2 - \mu_{\bar{D}}^2 \cdot \sigma_D^2}{(\sigma_D \cdot \sigma_{\bar{D}})^2} + \log\left(\frac{\sigma_{\bar{D}}}{\sigma_D}\right) \quad (5.10)$$

$$a_1 = \frac{\mu_D \cdot \sigma_{\bar{D}}^2 - \mu_{\bar{D}} \cdot \sigma_D^2}{(\sigma_D \cdot \sigma_{\bar{D}})^2} \quad (5.11)$$

και

$$a_2 = -\frac{1}{2} \cdot \frac{\sigma_{\bar{D}}^2 - \sigma_D^2}{(\sigma_D \cdot \sigma_{\bar{D}})^2} \quad (5.12)$$

αντίστοιχα. Στις τρεις προηγούμενες εξισώσεις  $\mu_D, \mu_{\bar{D}}$  είναι οι μέσοι και  $\sigma_D, \sigma_{\bar{D}}$  είναι οι διασπορές των πληθυσμών  $D$  και  $\bar{D}$  αντίστοιχα [Albert, 1987].

Σύμφωνα με την μορφή του λόγου πιθανότητας που δίνεται από την σχέση (5.1) η κρίσιμη τιμή προκύπτει για εκείνο το  $x$  στο οποίο  $L(x)=1$ , ή αλλιώς  $pr(x|D) = pr(x|\bar{D})$ . Η τιμή αυτή του  $x$  αποτελεί την διαχωριστική γραμμή κατάταξης μιας πειραματικής μέτρησης σε μία από τις καταστάσεις  $D$  ή  $\bar{D}$ .

Στην παραπάνω περιγραφή του λόγου των πιθανοτήτων πραγματοποιήθηκε ειδική μνεία για την μορφή που αυτός παίρνει σε κανονικούς πληθυσμούς, καθότι η φύση των δειγμάτων (βιολογικοί ιστοί) που μελετώνται στην παρούσα εργασία υποθάλπουν ισχυρότατες ενδείξεις ότι αποτελούν δείγματα κανονικώς κατανεμημένων πληθυσμών. Άλλωστε η κοινή επιστημονική εμπειρία έχει αποδείξει ότι το σύνολο των βιολογικών δειγμάτων όντως περιγράφονται από κανονικές κατανομές. Βέβαια οι ενδείξεις αυτές δεν θα καταστούν a priori πραγματικότητα, αλλά η ισχύς τους θα ελεγχθεί με το τεστ κανονικότητας των Kolmogorov-Smirnov. Επιπροσθέτως άλλοι δύο έλεγχοι θα λάβουν χώρα (F-test και T-test) για την εξακρίβωση του κατά πόσο τα δείγματα αυτά εμφανίζουν κοινή διασπορά,  $\sigma^2$ , και ανήκουν σε διαφορετικούς πληθυσμούς,  $\mu_D \neq \mu_{\bar{D}}$ . Ο λόγος διεξαγωγής των δύο τελευταίων ελέγχων είναι διότι με αληθείς τις δύο προϋποθέσεις (κοινό  $\sigma^2$  και  $\mu_D \neq \mu_{\bar{D}}$ ) ο υπολογισμός του λόγου πιθανότητας ανάγεται στις εξισώσεις (5.3) έως (5.8), που αποτελούν απλές αλγεβρικές εφαρμογές.

Στη συγκεκριμένη εργασία, οι προαναφερθέντες έλεγχοι λαμβάνουν χώρα με το κάλεσμα τριών αντίστοιχων αλγορίθμων, KS\_TEST, F\_TEST και T\_TEST, με κώδικες γραμμένους στο λογισμικό περιβάλλον MatLab. Ακολούθως περιγράφονται οι αλγόριθμοι αυτοί τόσο ως προς την δομή τους, όσο και ως προς την θεωρία στην οποία στηρίζονται.

5.4.1 *KS-TEST.m*

Ο κώδικας `KS_TEST` δημιουργήθηκε στο λογισμικό περιβάλλον `MatLab` και ουσιαστικά αποτελεί μία αλληλουχία υπολογισμών για την εύρεση των στοιχείων του τεστ των Kolmogorov-Smirnov για συνεχή δεδομένα [Zar, 1996]. Ο αλγόριθμος αυτός παρέχει τη δυνατότητα επικοινωνίας με τον χρήστη, ούτως ώστε ο τελευταίος να εισάγει τα προς έλεγχο δεδομένα χωρίς να παρεμβαίνει στη δομή του αλγορίθμου.

Πιο συγκεκριμένα, πρώτα ζητείται από τον χρήστη να εισάγει τα δεδομένα. Κατόπιν αυτά ταξινομούνται με την εντολή `sort`. Με την εντολή `unique` υπολογίζεται η αθροιστική παρατηρούμενη συχνότητα ( $F_i$ ). Η σχετική αθροιστική συχνότητα προκύπτει από την σχέση

$$relF_i = \frac{F_i}{n} \quad (5.13)$$

όπου  $n$  είναι ο αριθμός των δεδομένων εισαγωγής. Η αναμενόμενη σχετική αθροιστική συχνότητα για κανονική κατανομή υπολογίζεται από τη σχέση

$$relF_{i,1} = \frac{1}{2} \cdot \left[ 1 + erf\left(\frac{X_i - \bar{X}}{s \cdot \sqrt{2}}\right) \right] \quad (5.14)$$

όπου  $\bar{X}$  είναι η μέση τιμή των δεδομένων,  $s^2$  είναι η εκτιμήτρια της διασποράς και  $erf(x)$  είναι η συνάρτηση λάθους. Η μέση τιμή υπολογίζεται με την εντολή `mean(X)`, ενώ το  $s$  με την εντολή `std(X)`, εντολές που υπάρχουν στο λογισμικό περιβάλλον που λειτουργεί ο αλγόριθμος. Επίσης από τις σχέσεις

$$relF_{i,2} = \frac{F_i}{n+1} \quad (5.15)$$

και

$$relF_{i,3} = \frac{F_i - 1}{n - 1} \quad (5.16)$$

υπολογίζονται οι δύο αθροιστικές συχνότητες της τροποποιημένης μεθόδου του τεστ. Τέλος, οι διαφορές  $D_i$ ,  $D'_i$ ,  $D_{0,i}$  και  $D_{1,i}$  δίνονται από τις εξισώσεις

$$D_i = |relF_i - relF_{i,1}| \quad (5.17)$$

$$D'_i = |relF_{i-1} - relF_{i,1}| \quad (5.18)$$

$$D_{0,i} = |relF_{i,2} - relF_{i,1}| \quad (5.19)$$

και

$$D_{1,i} = |relF_{i,3} - relF_{i,1}| \quad (5.20)$$

Μόλις υπολογιστούν όλα τα στοιχεία που συμπληρώνουν τον πίνακα `KS` του αλγορίθμου, πραγματοποιείται ο έλεγχος για το πλήθος των στοιχείων εισαγωγής. Εάν τα δεδομένα εισαγωγής είναι λιγότερα από είκοσι ο αλγόριθμος υπολογίζει τα μέγιστα των διαφορών των δύο τελευταίων εξισώσεων (τροποποιημένο τεστ Kolmogorov-Smirnov), ενώ σε αντίθετη περίπτωση ο αλγόριθμος υπολογίζει το μέγιστο των μεγίστων των διαφορών που δίνονται από τις εξισώσεις (5.17) και (5.18).

Το τεστ κανονικότητας ολοκληρώνεται συγκρίνοντας τις παραπάνω διαφορές με τις κρίσιμες τιμές για τις εκτιμήτριες κατά Kolmogorov-Smirnov. Πιο



συγκεκριμένα για το τεστ κανονικότητας η μέγιστη διαφορά που προκύπτει από τις εξισώσεις (5.17) και (5.18) συγκρίνεται με την εκτιμήτρια  $D_{n,a}$ , όπου  $n$  είναι το πλήθος των δεδομένων και  $a$  είναι το επίπεδο σημαντικότητας. Έτσι από τους πίνακες εκτιμητριών κατά Kolmogorov-Smirnov [Zar, 1996] προσδιορίζεται κάθε φορά η εκτιμήτρια. Εάν η μέγιστη διαφορά του τεστ (που καλείται στατιστικό αποτέλεσμα του ελέγχου) είναι μεγαλύτερη από την εκτιμήτρια, η αρχική υπόθεση κανονικότητας του πληθυσμού απορρίπτεται, διαφορετικά δεν απορρίπτεται.

Αντίστοιχη είναι και η μεθοδολογία που ακολουθείται κατά το τροποποιημένο τεστ κανονικότητας [Harter, 1984; Khamis, 1990; Khamis, 1993]. Σε αυτή τη περίπτωση προκύπτουν δύο μέγιστες διαφορές, όπως έχει ήδη ειπωθεί, έστω  $D_{0,j}$  και  $D_{1,k}$ , με  $j$  και  $k$  να συνδέουν τις διαφορές με τα αντίστοιχα δεδομένα. Τώρα η εκτιμήτρια κατά Kolmogorov-Smirnov είναι η  $D_{\delta,n,a}$ , με  $n$  και  $a$  το πλήθος των δεδομένων και το επίπεδο σημαντικότητας αντίστοιχα. Ο δείκτης  $\delta$  παίρνει είτε την τιμή  $\delta = 0$  είτε την τιμή  $\delta = 1$ , ανάλογα με το ποια διαφορά από τις  $D_{0,j}$  και  $D_{1,k}$  θα επιλεγεί ως στατιστικό αποτέλεσμα του τεστ. Η επιλογή στηρίζεται στο μεγαλύτερο επίπεδο σημαντικότητας. Πιο συγκεκριμένα η διαφορά που απορρίπτει την αρχική υπόθεση κανονικότητας του πληθυσμού με το μεγαλύτερο επίπεδο σημαντικότητας (μικρότερη πιθανότητα) αποτελεί και το στατιστικό αποτέλεσμα του ελέγχου και ο δείκτης της δίνει τιμή στον δείκτη  $\delta$ . Η κρίση πραγματοποιείται με την ίδια λογική που ακολουθείται και στο τεστ κανονικότητας των Kolmogorov-Smirnov, ενώ οι ζητούμενες κρίσιμες τιμές των εκτιμητριών προκύπτουν από κατάλληλους πίνακες [Zar, 1996].

Ο πίνακας KS, πάντως, συμπληρώνεται με όλα τα στοιχεία που παρουσιάστηκαν προηγουμένως καθώς αρκετές φορές πραγματοποιείται το τεστ των Kolmogorov-Smirnov και με τις δύο μεθόδους. Έτσι ο χρήστης καλώντας τον πίνακα KS δύναται να ελέγξει την αρχική του υπόθεση και με την εναλλακτική της μεθόδου που του έδωσε ο αλγόριθμος.

Δυστυχώς το λογισμικό πακέτο MatLab δεν περιέχει τους πίνακες για τις εκτιμήτριες κατά Kolmogorov-Smirnov, κι έτσι ο αλγόριθμος KS\_TEST σταματάει με τον υπολογισμό των μεγίστων των παραπάνω διαφορών. Σε κάθε περίπτωση ένα μήνυμα προτρέπει τον χρήστη να κατατρέξει στους απαιτούμενους πίνακες για να εξάγει το αποτέλεσμα που επιθυμεί. Ο αλγόριθμος αυτός αποθηκεύτηκε ως M αρχείο και ολόκληρο το περιεχόμενό του παρατίθεται στο παράρτημα. Επίσης στο παράρτημα παρατίθενται και οι εν λόγω πίνακες εκτιμητριών κατά Kolmogorov-Smirnov.

Το τεστ των Kolmogorov-Smirnov αποτελεί στην ουσία ένα απορριπτικό τεστ, δηλαδή ελέγχεται το κατά πόσο η αρχική υπόθεση απορρίπτεται ή όχι. Στη συγκεκριμένη εργασία η αρχική υπόθεση ( $H_0$ ) είναι ότι τα δείγματα ακολουθούν κανονική κατανομή. Μη απόρριψη της υποθέσεως  $H_0$  δε σημαίνει ότι όντως τα δείγματα ακολουθούν κανονική κατανομή, εν τούτοις η αργία υποψία ότι τα προς μελέτη δείγματα είναι κανονικώς κατανομημένα ενισχύεται σε τέτοιο βαθμό που ουσιαστικά μη απόρριψη της  $H_0$  συνεπάγεται αποδοχή της.

5.4.2 *F-TEST.m*

Ο αλγόριθμος `F_TEST` πραγματοποιεί τον έλεγχο του κατά πόσο δύο πληθυσμοί εμφανίζουν κοινή διασπορά,  $\sigma^2$ , και είναι γραμμένος στο λογισμικό περιβάλλον `MatLab`, όπως ακριβώς και ο αλγόριθμος `KS_TEST`.

Ο `F_TEST` παρέχει τη δυνατότητα εισαγωγής των απαιτούμενων για τον κάθε έλεγχο δεδομένων από τον χρήστη, χωρίς των επέμβαση του τελευταίου στην δομή του αλγορίθμου. Έτσι ο χρήστης εισάγει αρχικά τα δείγματα από τους δύο κανονικώς κατανομημένους πληθυσμούς που θέλει να ελέγξει. Ο αλγόριθμος κατόπιν ζητά από τον χρήστη να εισάγει τον βαθμό εμπιστοσύνης που επιθυμεί. Ο βαθμός αυτός εισάγεται υπό την μορφή  $a$  (συνήθης τιμή  $a = 0.005$ ). Τέλος πραγματοποιείται ο έλεγχος ως προς την ισότητα των διασπορών των δύο πληθυσμών. Ο έλεγχος στηρίζεται στην ανισότητα

$$F_{n_1-1, n_2-1, 1-a/2} \leq \frac{s_1^2}{s_2^2} \leq F_{n_1-1, n_2-1, a/2} \quad (5.21)$$

όπου  $n_1$  και  $n_2$  είναι το πλήθος των δύο δειγμάτων και  $s_1^2$  και  $s_2^2$  είναι οι εκτιμήτριες των διακυμάνσεων για τους δύο πληθυσμούς. Η εκτιμήτρια διασποράς ενός πληθυσμού υπολογίζεται από τη σχέση

$$s^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1} \quad (5.22)$$

με  $X_i$  τις τιμές των στοιχείων του δείγματος και  $\bar{X}$  τη μέση τιμή αυτού. Το `MatLab` υπολογίζει την εκτιμήτρια διασποράς άμεσα με την εντολή `var(X)`. Όσον αφορά τις τιμές των ορίων της διπλής ανισότητας (5.21), αυτές προκύπτουν από τους πίνακες της ποσοστιαίας σημαίας της κατανομής  $F$  του `Snedecor`. Το `MatLab` διαθέτει τους πίνακες αυτούς και η επιλογή των ζητούμενων τιμών πραγματοποιείται με την εντολή `finv(p, v_1, v_2)` όπου  $p$  είναι ο βαθμός εμπιστοσύνης όπως αυτός εμφανίζεται στη σχέση (5.21) και  $v_1, v_2$  είναι οι βαθμοί ελευθερίας των δειγμάτων ( $v = n - 1$ ).

Η υπολογιστική διαδικασία ολοκληρώνεται με τον έλεγχο αληθείας της ανισότητας (5.21). Εάν αυτή είναι αληθής, τότε και η αρχική υπόθεση ότι οι δύο πληθυσμοί εμφανίζουν κοινή διασπορά, έστω  $H_0$ , είναι αληθής με βαθμό εμπιστοσύνης  $\beta = 1 - a$  ή πιθανότητα  $P = 100 \cdot \beta\%$  και περιοχή αποδοχής που ορίζεται από τα όρια της (5.21). Ο αλγόριθμος `F_TEST` υπολογίζει την πιο προσεγγιστική, προς την πραγματική τιμή, εκτιμήτρια της κοινής διασποράς (*pooled variance*), που δίνεται από τη σχέση

$$s_p^2 = \frac{(n_1 - 1) \cdot s_1^2 + (n_2 - 1) \cdot s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \quad (5.23)$$

Στην αντίθετη περίπτωση ισχύει η υπόθεση  $\bar{H}_0$  και οι δύο πληθυσμοί εμφανίζουν διαφορετικές διακυμάνσεις.

Ο αλγόριθμος αποθηκεύτηκε με την μορφή `M` αρχείου και η κλήση του πραγματοποιείται με το λογισμικό πακέτο `MatLab`. Στο παράρτημα παρατίθεται το συνολικό περιεχόμενο του `M` αρχείου.

### 5.4.3 T-TEST.m

Ο αλγόριθμος T\_TEST ελέγχει εάν δύο πληθυσμοί εμφανίζουν κοινή μέση τιμή. Ο έλεγχος αυτός στηρίζεται στην διπλή ανισότητα

$$t_{n_1+n_2-2, a/2} \leq \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{s_p \cdot \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \leq t_{n_1+n_2-2, 1-a/2} \quad (5.24)$$

όπου  $\bar{X}_1, \bar{X}_2$  είναι οι μέσες τιμές των δειγμάτων και  $s_p$  είναι η τετραγωνική ρίζα της εκτιμήτριας της κοινής διασποράς και υπολογίζεται από την σχέση (5.23). Οι μέσες τιμές των δειγμάτων υπολογίζονται από την εντολή  $mean(X)$  του λογισμικού πακέτου MatLab. Όσον αφορά τα όρια της ανισότητας (5.24) αυτά βρίσκονται στους πίνακες των ποσοστιαίων σημείων της κατανομής t του Student. Το MatLab διαθέτει αυτούς τους πίνακες και η ζητούμενες τιμές καθορίζονται από την εντολή  $tinv(p, v)$ , όπου  $p$  είναι ο βαθμός εμπιστοσύνης, όπως αυτός καθορίζεται στην ανισότητα (5.24) και  $v$  είναι οι συνολικοί βαθμοί ελευθερίας ( $v = n_1 + n_2 - 2$ ).

Ο αλγόριθμος λοιπόν ζητά από τον χρήστη να εισάγει τα δεδομένα των δειγμάτων του και την τιμή του  $a$  (προεπιλεγμένη τιμή  $a = 0.005$ ). Αφού καθοριστούν όλες οι απαραίτητες μεταβλητές, εξετάζεται η ισχύς της διπλής ανισότητας (5.24). Στην περίπτωση που αυτή αληθεύει, τότε τα δύο δείγματα αποτελούν μέρος του ίδιου πληθυσμού (υπόθεση  $H_0$ ), διαφορετικά αποτελούν δείγματα δύο διαφορετικών πληθυσμών (υπόθεση  $\bar{H}_0$ ). Σε κάθε περίπτωση αντίστοιχο μήνυμα ενημερώνει τον χρήστη για το αποτέλεσμα της απόφασης του αλγορίθμου.

Εκτός, όμως, από τον έλεγχο των προαναφερθέντων υποθέσεων ο αλγόριθμος T\_TEST υπολογίζει και τα όρια εμπιστοσύνης των μέσων των δύο εισαγόμενων πληθυσμών. Τα όρια αυτά αποτελούν διαστήματα μέσα στα οποία εκτιμάται ότι βρίσκεται ο μέσος του εκάστοτε πληθυσμού. Η διπλή ανισότητα που δίνει τα όρια εμπιστοσύνης για τη μέση τιμή ενός πληθυσμού είναι

$$\bar{X} + \frac{s}{\sqrt{n}} \cdot t_{n-1, a/2} \leq \mu \leq \bar{X} + \frac{s}{\sqrt{n}} \cdot t_{n-1, 1-a/2} \quad (5.25)$$

Κατάλληλα μηνύματα γνωστοποιούν τα όρια εμπιστοσύνης των μέσων των εισαγόμενων πληθυσμών στον χρήστη, ανάλογα με την σειρά εισαγωγής των δεδομένων.

Ο αλγόριθμος αποθηκεύτηκε με τη μορφή M αρχείου και ολόκληρο το περιεχόμενό του παρουσιάζεται στο παράρτημα. Αξίζει, τέλος, να σημειωθεί ότι ο αλγόριθμος αυτός είναι συμβατός για δείγματα που ακολουθούν κανονικές κατανομές κι εμφανίζουν άγνωστες, αλλά κοινές, διασπορές.

## 5.5 Πρώτη Διαγνωστική Μέθοδος

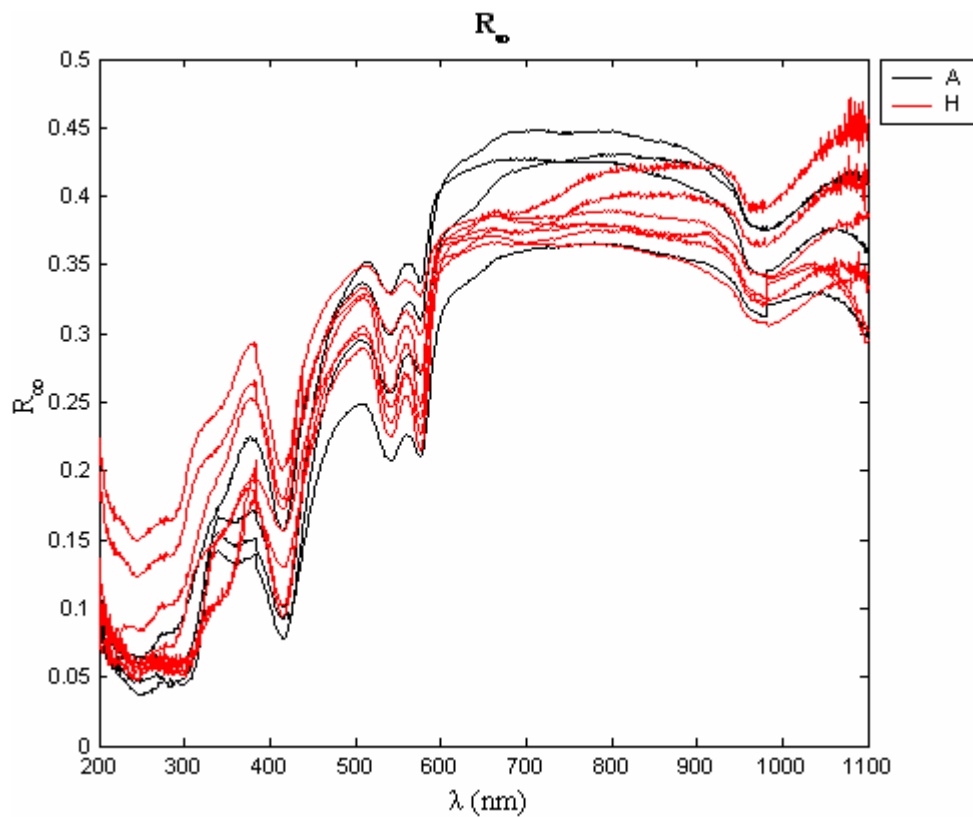
Στην προσπάθεια εύρεσης μιας αποτελεσματικής και ικανής διαγνωστικής μεθόδου δοκιμάστηκαν αρκετές τεχνικές, άμεσα σχετιζόμενες με τους συντελεστές απορρόφησης και σκέδασης. Μερικές από αυτές ήταν η σύγκριση των κλίσεων υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών για τους αντίστοιχους συντελεστές, υπολογισμός

του οπτικού βάθους (βλ. παράγραφο 2.2.1.3) και υπολογισμός της albedo (βλ. παράγραφο 2.2.2.1). Δυστυχώς καμία από αυτές δε μπορούσε να διαχωρίσει με σαφήνεια τις δύο ομάδες δειγμάτων, με αποτέλεσμα να απορριφθούν όλες.

Έντονο ενδιαφέρον, όμως, προκάλεσε ο υπολογισμός της  $R_{\infty}$ , δηλαδή της ανάκλασης που θα εμφάνιζαν τα δείγματα εάν το πάχος τους ήταν άπειρο. Το μέγεθος αυτό υπολογίστηκε στο τέταρτο κεφάλαιο (παράγραφο 4.3) και δίνεται από τη σχέση

$$R_{\infty} = 1 + \frac{K}{S} - \sqrt{\left(\frac{K}{S}\right)^2 + \frac{2 \cdot K}{S}} \quad (5.26)$$

Με γνωστούς, από την προηγούμενη παράγραφο, τους διάχυτους συντελεστές απορρόφησης και σκέδασης καθίσταται δυνατός ο υπολογισμός της ανάκλασης αυτής και ως εκ τούτου ο σχεδιασμός του φασματικού της διαγράμματος, το οποίο και φαίνεται στο Σχήμα 5.17.

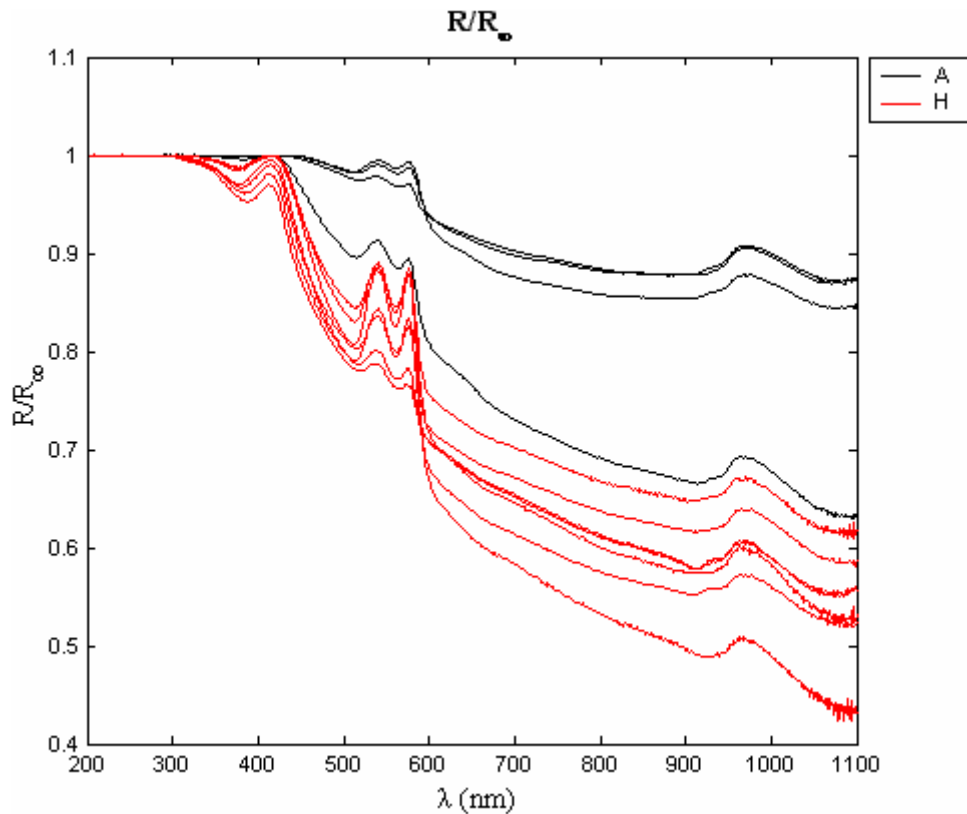


Σχήμα 5.17 : Ομαδοποιημένα Φάσματα Ανάκλασης  $R_{\infty}$

Συγκρίνοντας το σχήμα αυτό με το Σχήμα 5.8 προκύπτουν σημαντικές ομοιότητες ανάμεσα στα δύο φασματικά διαγράμματα, όχι μόνο στη μορφή, αλλά και στις τιμές. Αυτό το τελευταίο φαίνεται εάν το  $R_{\infty}$  εκφραστεί επί τοις εκατό.

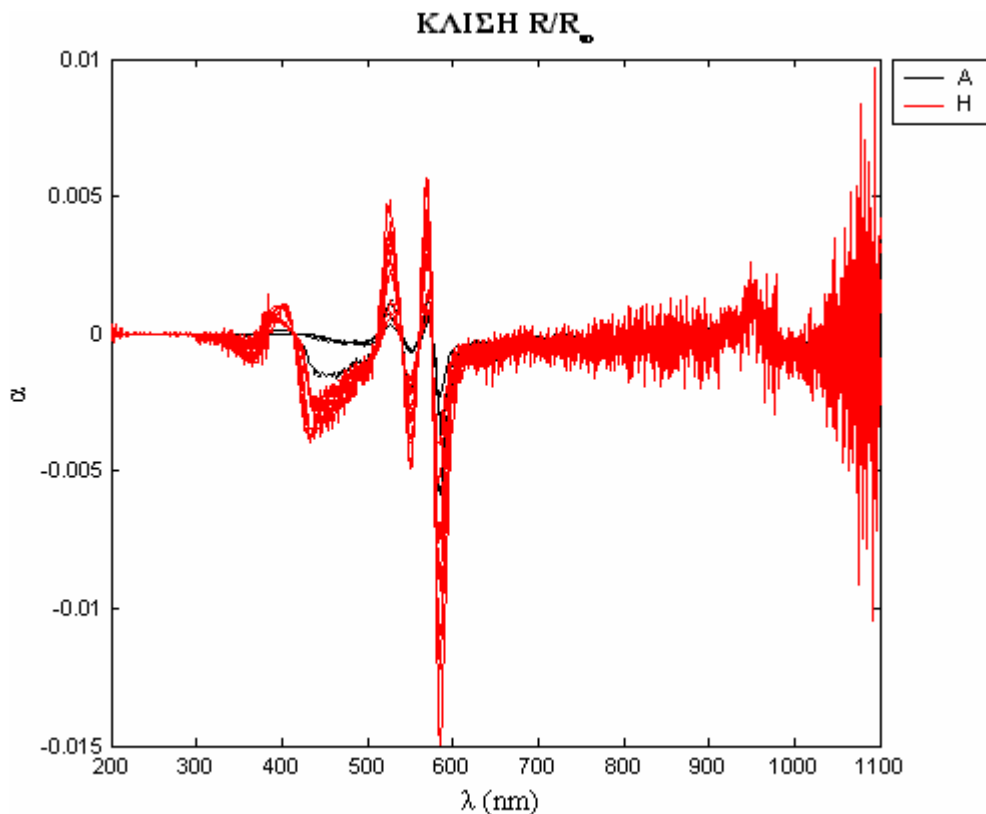
Γεννάται λοιπόν η υποψία ότι λαμβάνοντας τους λόγους της ανάκλασης ( $R$ ) προς την ανάκλαση εάν το πάχος των δειγμάτων ήταν άπειρο ( $R_{\infty}$ ) θα προκύψουν διαφορές ικανές να διαχωρίσουν τις υγιείς από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες. Το αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας παρουσιάζεται στα διαγράμματα του Σχήματος 5.18.

Στα διαγράμματα αυτά οι διαφορές είναι εμφανέστερες, ιδίως στην περιοχή 300 με 420 nm. Αξιοσημείωτο είναι επίσης το γεγονός ότι για τα αθηροσκληρωτικά



**Σχήμα 5.18** : Ομαδοποιημένα Φάσματα Λόγου Ανακλάσεων

δείγματα στην περιοχή 200 με 500 nm περίπου ισχύει  $R = R_{\infty}$ . Η παρατήρηση αυτή είναι κάτι που εξηγείται με την βοήθεια του Σχήματος 5.15. Πιο συγκεκριμένα στην περιοχή αυτή οι βιολογικοί ιστοί παρουσιάζουν έντονο απορροφητικό χαρακτήρα, με αποτέλεσμα η όποια ανάκλαση του φωτός να συμβαίνει στην επιφάνεια του ιστού και



**Σχήμα 5.19** : Κλίσεις Φασμάτων Λόγου Ανακλάσεων

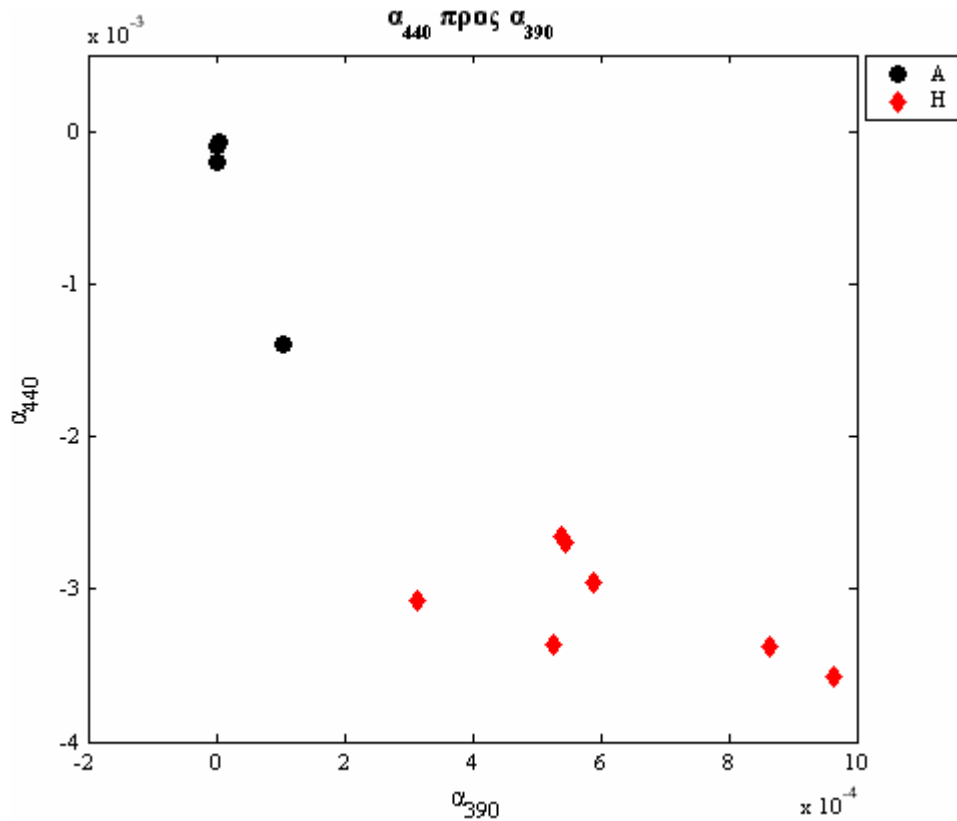
σε πολύ μικρή απόσταση από αυτή. Σε μεγαλύτερο βάθος το συντριπτικό μέρος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας απορροφάται από τον ιστό. Σε μήκη κύματος μεγαλύτερα των 500 nm παρατηρείται σημαντική διαφορά στις τιμές των λόγων, παρόλα αυτά τα φασματικά διαγράμματα φαίνεται να διατηρούν παρόμοια μορφή τόσο για τις αθηροσκληρωτικές, όσο και για τις υγιείς αρτηρίες. Για την παρατήρηση των απολύτων διαφορών μεταξύ υγιών και ασθενών δειγμάτων σχεδιάζονται τα φασματικά διαγράμματα των κλίσεων του λόγου ανακλάσεων. Έτσι οποιαδήποτε ομοιομορφία πιστοποιείται, ενώ καθορίζονται με σαφήνεια όλες εκείνες οι περιοχές στις οποίες υπάρχει πραγματική διαφοροποίηση. Οι εν λόγω κλίσεις φαίνονται στα διαγράμματα του Σχήματος 5.19.

Από το Σχήμα 5.19 μπορούν να καθοριστούν δύο περιοχές, η πρώτη στα 390 nm και η δεύτερη στα 440 nm περίπου, στις οποίες διαφαίνονται σημαντικές διαφοροποιήσεις των υγιών από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες. Λαμβάνοντας τις τιμές της κλίσεως για αυτές τις περιοχές συμπληρώνεται ο Πίνακας 5.1 τα δεδομένα του οποίου σχεδιάστηκαν στο Σχήμα 5.20.

**Πίνακας 5.1:** Κλίσεις & χαρακτηριστικά μεγέθη φασμάτων λόγου ανακλάσεων στα 390 και 440 nm

Δείγματα	Κλίση Ανά Μήκος Κύματος			
	$\alpha_{390 \text{ nm}}$	$\alpha_{440 \text{ nm}}$		
H <sub>1</sub>	9.65E-4	-3,58E-3		
H <sub>2</sub>	8.65E-4	-3,38E-3		
H <sub>3</sub>	5.27E-4	-3,36E-3		
H <sub>4</sub>	3.53E-4	-3,08E-3		
H <sub>5</sub>	5.90E-4	-2,96E-3		
H <sub>6</sub>	5.44E-4	-2,69E-3		
H <sub>7</sub>	5.38E-4	-2,66E-3		
A <sub>1</sub>	4,62E-6	-6,63E-5		
A <sub>2</sub>	1,05E-4	-1,39E-3		
A <sub>3</sub>	1,84E-6	-9,23E-5		
A <sub>4</sub>	4,38E-7	-1,98E-4		
Μέγεθος	Τιμή			
	H	A	H	A
Μέση Τιμή	6.2E-4	2.8E-5	-3.1E-3	-4.4E-4
Εκτιμήτρια Διασποράς	4.9E-8	2.6E-9	1.3E-7	4.1E-7

Παρατηρώντας το Σχήμα 5.20 φαίνεται άμεσα ότι οι δύο πληθυσμοί, υγιείς και αθηροσκληρωτικές αρτηρίες, διαχωρίζονται σαφώς. Απομένει να προσδιοριστεί η γραμμή εκείνη που θα αποτελεί το κριτήριο κατάταξης οποιουδήποτε δείγματος αρτηρίας σε μία από τις δύο κατηγορίες. Η γραμμή αυτή θα καθοριστεί βάση των όσων ειπώθηκαν στην παράγραφο 5.4. Έτσι ακολούθως πραγματοποιούνται τα τρία απαραίτητα τεστ και κατόπιν, από τον λόγο πιθανότητας, καθορίζεται η ζητούμενη διαχωριστική γραμμή.



Σχήμα 5.20 : Κατανομή των κλίσεων στα 390 και 440 nm

### 5.5.1 Έλεγχος Κατανομής Πληθυσμών

Η πρώτη υπόθεση που θα ελεγχθεί ως προς την ισχύ της είναι ότι όλοι οι πληθυσμοί ακολουθούν κανονική κατανομή. Ο έλεγχος αυτός θα διεξαχθεί με τη χρήση του τεστ των Kolmogorov-Smirnov για συνεχή δεδομένα και συγκεκριμένα με χρήση του τροποποιημένου αλγορίθμου, καθώς το πλήθος των δεδομένων είναι σε κάθε περίπτωση αρκετά μικρό ( $n < 20$ ). Έτσι λοιπόν για κάθε πληθυσμό θα υποθεθεί ότι ακολουθεί κανονική κατανομή (έστω κατάσταση  $H_0$ ) και θα εξετασθεί η αλήθεια της υπόθεσης έναντι της υπόθεσης ότι ο εν λόγω πληθυσμός δεν ακολουθεί την κανονική κατανομή (έστω κατάσταση  $\bar{H}_0$ ). Όλοι οι ακόλουθοι πίνακες συμπληρώνονται με την κλήση του αλγορίθμου KS\_TEST (βλ. παράγραφο 5.4.1)

#### 5.5.1.1 Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Αθηροσκληρωτικών Δειγμάτων (390 nm)

Έστω :

$H_0$  : Τα αθηροσκληρωτικά δείγματα στα 390 nm ακολουθούν κανονική κατανομή.

$\bar{H}_0$  : Τα αθηροσκληρωτικά δείγματα στα 390 nm δεν ακολουθούν κανονική κατανομή.

Πίνακας 5.2: Kolmogorov-Smirnov τεστ για τα αθηρ/τικά δείγματα στα 390 nm

i	$X_i (x10^{-3})$	$f_i$	$F_i$	RelF <sub>i,1</sub>	RelF <sub>i,2</sub>	$D_{0,i}$	RelF <sub>i,3</sub>	$D_{1,i}$
1	0.0004	1	1	0.2960	0.2	0.0960	0	0.2960
2	0.0018	1	2	0.3055	0.4	0.0945	0.3333	0.0278
3	0.0046	1	3	0.3247	0.6	0.2753	0.6667	0.3420
4	0.1051	1	4	0.9331	0.8	0.1331	1.0000	0.0669

Με βάση τις τιμές των κλίσεων για τα δείγματα αυτά συμπληρώνεται ο Πίνακας 5.2. Από τα δεδομένα του Πίνακα 5.2 προκύπτει ότι  $\max(D_{0,i}) = D_{0,3} = 0.2753$  και  $\max(D_{1,i}) = D_{1,3} = 0.3420$ . Επειδή και οι δύο διαφορές οδηγούν στον ίδιο ελάχιστο βαθμό εμπιστοσύνης εκλέγεται τυχαία η πρώτη ως στατιστικό αποτέλεσμα του τεστ. Έτσι για  $\alpha = 0.005$  ισχύει  $D_{\delta=0,n=4} = 0.57722 > D_{0,3}$ . Επομένως **τα δείγματα των αθηροσκληρωτικών αρτηριών στα 390 nm ακολουθούν κανονική κατανομή με πιθανότητα 99.5%**. Η τιμή της εκτιμήτριας κατά Kolmogorov-Smirnov,  $D_{\delta,n}$ , προέκυψε από τον Πίνακα B.10 [Zar, 1996].

### 5.5.1.2 Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Αθηροσκληρωτικών Δειγμάτων (440 nm)

Έστω :

$H_0$  : Τα αθηροσκληρωτικά δείγματα στα 440 nm ακολουθούν κανονική κατανομή.

$\bar{H}_0$  : Τα αθηροσκληρωτικά δείγματα στα 440 nm δεν ακολουθούν κανονική κατανομή.

Με κάλεσμα του αλγορίθμου KS\_TEST συμπληρώνεται ο Πίνακας 5.3.

**Πίνακας 5.3:** Kolmogorov-Smirnov τεστ για τα αθηρ/τικά δείγματα στα 440 nm

i	$X_i$	$f_i$	$F_i$	$RelF_{i,1}$	$RelF_{i,2}$	$D_{0,i}$	$RelF_{i,3}$	$D_{1,i}$
1	-0.0014	1	1	0.0676	0.2	0.1324	0	0.0676
2	-0.0002	1	2	0.6456	0.4	0.2456	0.3333	0.3123
3	-0.0001	1	3	0.7054	0.6	0.1054	0.6667	0.0387
4	-0.0001	1	4	0.7192	0.8	0.0808	1.0000	0.2808

Από τα δεδομένα του Πίνακα 5.3 φαίνεται ότι  $\max(D_{0,i}) = D_{0,2} = 0.2456$  και  $\max(D_{1,i}) = D_{1,2} = 0.3123$ . Σε αυτή την περίπτωση στατιστικό αποτέλεσμα του τεστ είναι το  $D_{1,2}$ , που οδηγεί στον ελάχιστο βαθμό εμπιστοσύνης. Από τον πίνακα εκτιμητριών κατά Kolmogorov-Smirnov προκύπτει για  $\alpha = 0.005$  ότι  $D_{\delta=1,n=4} = 0.77639 > D_{1,2}$  και η  $H_0$  δεν απορρίπτεται. Επομένως **τα δείγματα των αθηροσκληρωτικών αρτηριών στα 440 nm ακολουθούν κανονική κατανομή με πιθανότητα 99.5%**.

### 5.5.1.3 Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Υγιών Δειγμάτων (390 nm)

Έστω :

$H_0$  : Τα υγιή δείγματα στα 390 nm ακολουθούν κανονική κατανομή.

$\bar{H}_0$  : Τα υγιή δείγματα στα 390 nm δεν ακολουθούν κανονική κατανομή.

Αφού εκτελεστεί ο αλγόριθμος KS\_TEST στο λογισμικό περιβάλλον MatLab, καλείται ο πίνακας KS, από τον οποίο συμπληρώνεται ο Πίνακας 5.4.



**Πίνακας 5.4:** Kolmogorov-Smirnov test για τα υγιή δείγματα στα 390 nm

i	$X_i (x10^{-3})$	$f_i$	$F_i$	$RelF_{i,1}$	$RelF_{i,2}$	$D_{0,i}$	$RelF_{i,3}$	$D_{1,i}$
1	0.3536	1	1	0.0839	0.125	0.0411	0	0.0839
2	0.5274	1	2	0.3365	0.250	0.0865	0.1667	0.1698
3	0.5376	1	3	0.3536	0.375	0.0214	0.3333	0.0202
4	0.5443	1	4	0.3648	0.500	0.1352	0.5000	0.1352
5	0.5903	1	5	0.4453	0.625	0.1797	0.6667	0.2213
6	0.8651	1	6	0.8653	0.750	0.1153	0.8333	0.0319
7	0.9649	1	7	0.9401	0.875	0.0651	1.0000	0.0599

Άμεσα από τον Πίνακα 5.4 προκύπτει ότι  $\max(D_{0,i}) = D_{0,5} = 0.1797$  και  $\max(D_{1,i}) = D_{1,5} = 0.2213$ . Επειδή και οι δύο διαφορές οδηγούν στον ίδιο ελάχιστο βαθμό εμπιστοσύνης, επιλέγεται τυχαία ως στατιστικό αποτέλεσμα του test το  $D_{0,5}$ . Έτσι για  $\alpha = 0.005$  από τον πίνακα εκτιμητριών κατά Kolmogorov-Smirnov προκύπτει ότι  $D_{\delta=0, n=7} = 0.49932 > D_{0,5}$  και η  $H_0$  δεν απορρίπτεται. Επομένως **τα δείγματα των υγιών αρτηριών στα 390 nm ακολουθούν κανονική κατανομή με πιθανότητα 99.5%**.

#### 5.5.1.4 Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Υγιών Δειγμάτων (440 nm)

Έστω :

$H_0$  : Τα υγιή δείγματα στα 440 nm ακολουθούν κανονική κατανομή.

$\bar{H}_0$  : Τα υγιή δείγματα στα 440 nm δεν ακολουθούν κανονική κατανομή.

Η διαδικασία συμπλήρωσης του Πίνακα 5.5 παραμένει η ίδια με τις προηγούμενες περιπτώσεις.

**Πίνακας 5.5:** Kolmogorov-Smirnov test για τα υγιή δείγματα στα 440 nm

i	$X_i$	$f_i$	$F_i$	$RelF_{i,1}$	$RelF_{i,2}$	$D_{0,i}$	$RelF_{i,3}$	$D_{1,i}$
1	-0.0036	1	1	0.0891	0.125	0.0359	0	0.0891
2	-0.0034	1	2	0.2166	0.250	0.0334	0.1667	0.0499
3	-0.0034	1	3	0.2335	0.375	0.1415	0.3333	0.0999
4	-0.0031	1	4	0.5240	0.500	0.0240	0.5000	0.0240
5	-0.0030	1	5	0.6546	0.625	0.0296	0.6667	0.0120
6	-0.0027	1	6	0.8765	0.750	0.1265	0.8333	0.0431
7	-0.0027	1	7	0.8929	0.875	0.0179	1.0000	0.1071

Εδώ οι μέγιστες διαφορές προκύπτει ότι είναι  $\max(D_{0,i}) = D_{0,3} = 0.1415$  και  $\max(D_{1,i}) = D_{1,7} = 0.1071$ . Επειδή και οι δύο οδηγούν στον ίδιο ελάχιστο βαθμό εμπιστοσύνης επιλέγεται τυχαία ως στατιστικό αποτέλεσμα του test η διαφορά  $D_{0,3}$ . Έτσι από τον πίνακα εκτιμητριών κατά Kolmogorov-Smirnov και για  $\alpha = 0.005$  προκύπτει ότι  $D_{\delta=0, n=7} = 0.49932 > D_{0,3}$ . Άρα η υπόθεση  $H_0$  είναι αληθής κι Επομένως **τα δείγματα των υγιών αρτηριών στα 440 nm ακολουθούν κανονική κατανομή με πιθανότητα 99.5%**.

### 5.5.2 Αμφίπλευρος Έλεγχος Ισότητας Διασπορών Κανονικών Πληθυσμών

Στην προηγούμενη παράγραφο αποδείχθηκε, με χρήση του αλγορίθμου KS\_TEST, ότι όλοι οι προς μελέτη πληθυσμοί αποτελούν με πιθανότητα 99.5% κανονικούς πληθυσμούς. Σε αυτή την παράγραφο, καλώντας τον αλγόριθμο F\_TEST, θα ερευνηθεί το κατά πόσο οι δύο πληθυσμοί των 390 nm και οι δύο των 440 nm εμφανίζουν ίσες διασπορές. Για παράδειγμα, στα 390 nm έχουν καταγραφεί δύο ανεξάρτητα δείγματα,  $D_1$  (υγιείς αρτηρίες) και  $D_2$  (αθηροσκληρωτικές αρτηρίες), από κανονικούς πληθυσμούς  $N(\mu_1, \sigma_1^2)$  και  $N(\mu_2, \sigma_2^2)$ , αντίστοιχα. Αυτό που ενδιαφέρει είναι ο έλεγχος των υποθέσεων

$$H_0 : \sigma_1 = \sigma_2 \quad (5.27)$$

$$\bar{H}_0 : \sigma_1 \neq \sigma_2 \quad (5.28)$$

δηλαδή το κατά πόσο οι δύο αυτοί πληθυσμοί εμφανίζουν ίσες διασπορές. Ίδια διαδικασία θα ακολουθηθεί και για τους πληθυσμούς των 440 nm.

#### 5.5.2.1 Έλεγχος Ισότητας Διασπορών Κανονικών Πληθυσμών (390 nm)

Οι πρώτοι δύο πληθυσμοί που θα ελεγχθούν ως προς την ισότητα των διασπορών τους είναι εκείνοι στα 390 nm. Καλώντας λοιπόν τον αλγόριθμο F\_TEST, εισάγοντας τα αντίστοιχα δεδομένα κι επιλέγοντας  $a = 0.005$  προκύπτει ότι **οι δύο αυτοί πληθυσμοί έχουν κοινή διασπορά με πιθανότητα 99.5%** και περιοχή αποδοχής  $A[0.014, 16.87]$ . Η εκτιμήτρια της κοινής διασποράς υπολογίζεται από τον αλγόριθμο ότι είναι

$$s_{p,390}^2 = 3.4 \cdot 10^{-8}$$

#### 5.5.2.2 Έλεγχος Ισότητας Διασπορών Κανονικών Πληθυσμών (440 nm)

Ομοίως θα ελεγχθούν ως προς την ισότητα των διασπορών τους και οι επόμενοι δύο πληθυσμοί, εκείνοι στα 440 nm. Έτσι κάλεσμα του αλγορίθμου F\_TEST, εισαγωγή των δεδομένων κι επιλογή  $a = 0.005$  επιφέρει **πιθανότητα 99.5% οι δύο αυτοί πληθυσμοί να έχουν κοινή διασπορά**. Η περιοχή αποδοχής είναι η  $A[0.014, 16.87]$ . Η εκτιμήτρια της κοινής αυτής διασποράς υπολογίζεται από τον αλγόριθμο ότι ισούται με

$$s_{p,440}^2 = 2.2 \cdot 10^{-7}$$

### 5.5.3 Αμφίπλευρος Έλεγχος Ισότητας Μέσων Κανονικών Πληθυσμών με Άγνωστη αλλά Κοινή Διασπορά

Στην προηγούμενη παράγραφο δείχθηκε ότι οι πληθυσμοί ανά δύο (ανάλογα με το μήκος κύματος) εμφανίζουν κοινή διασπορά. Σε αυτή την παράγραφο θα δειχθεί ότι, και πάλι ανά δύο, οι πληθυσμοί είναι διαφορετικοί, εμφανίζουν δηλαδή διαφορετικούς μέσους. Έτσι οι υποθέσεις προς έλεγχο είναι

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2 \quad (5.29)$$

$$\bar{H}_0 : \mu_1 \neq \mu_2 \quad (5.30)$$

για τους πληθυσμούς και στα δύο μήκη κύματος. Ο αλγόριθμος που θα πραγματοποιήσει αυτούς τους ελέγχους είναι ο T\_TEST (βλ. παράγραφο 5.4.3).

### 5.5.3.1 Έλεγχος Ισότητας Μέσων Κανονικών Πληθυσμών με Άγνωστη αλλά Κοινή Διασπορά (390 nm)

Όπως αποδείχθηκε σε προηγούμενες παραγράφους, οι δύο πληθυσμοί (υγιείς και αθηροσκληρωτικές αρτηρίες) στα 390 nm ακολουθούν κανονική κατανομή κι εμφανίζουν κοινή διασπορά. Με το κάλεσμα του αλγορίθμου T\_TEST θα εξετασθεί το κατά πόσο αυτοί οι δύο πληθυσμοί είναι διαφορετικοί μεταξύ τους (υπόθεση  $\bar{H}_0$ ). Αφήνοντας την προεπιλεγμένη τιμή για τον βαθμό εμπιστοσύνης προκύπτει ότι η υπόθεση  $\bar{H}_0$  ισχύει με πιθανότητα  $P = 99.5\%$  (πιο συγκεκριμένα ο αλγόριθμος απορρίπτει την υπόθεση  $H_0$  για τον δεδομένο βαθμό εμπιστοσύνης). Επομένως **οι δύο πληθυσμοί στα 390 nm είναι διαφορετικοί μεταξύ τους με πιθανότητα 99.5%**. Επίσης τα όρια εμπιστοσύνης για τις μέσες τιμές των πληθυσμών είναι  $A[-0.0002, 0.0002]$  για τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες και  $B[0.0003, 0.0010]$  για τις υγιείς.

### 5.5.3.2 Έλεγχος Ισότητας Μέσων Κανονικών Πληθυσμών με Άγνωστη αλλά Κοινή Διασπορά (440 nm)

Ομοίως με την προηγούμενη περίπτωση οι δύο πληθυσμοί στα 440 nm ακολουθούν κανονική κατανομή κι εμφανίζουν κοινή, αλλά άγνωστη, διασπορά. Κάλεσμα του αλγορίθμου T\_TEST αποδεικνύει ότι και αυτοί οι πληθυσμοί έχουν διαφορετικούς μέσους κι επομένως θεωρούνται δύο διαφορετικοί πληθυσμοί με πιθανότητα  $P = 99.5\%$  (και σε αυτόν τον έλεγχο αφέθηκε η προεπιλεγμένη τιμή για τον βαθμό εμπιστοσύνης). Επομένως **οι δύο πληθυσμοί στα 440 nm είναι διαφορετικοί μεταξύ τους με πιθανότητα 99.5%**. Τα όρια εμπιστοσύνης υπολογίστηκαν ότι είναι  $A[-0.0028, 0.0019]$  για τις αθηροσκληρωτικές και  $B[-0.0037, -0.0025]$  για τις υγιείς αρτηρίες.

### 5.5.4 Διαχωρισμός Πληθυσμών

Ολοκληρώνοντας την διαδικασία ελέγχου των δεδομένων, απομένει η πραγματοποίηση του ζητούμενου διαχωρισμού και ο καθορισμός του διαγνωστικού εργαλείου. Από τις προηγούμενες παραγράφους προέκυψε ότι τα δεδομένα τόσο στα 390 όσο και στα 440 nm ακολουθούν κανονικές κατανομές, ανήκουν σε διαφορετικούς πληθυσμούς και ανά μήκος κύματος εμφανίζουν κοινή διασπορά. Έτσι είναι δυνατή η χρήση του λόγου πιθανοτήτων υπό την μορφή των εξισώσεων (5.3) και (5.6).

Στην συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκαν δύο μήκη κύματος, τα 390 και τα 440 nm. Λόγω του ότι στην πράξη ενδέχεται να υπάρχουν πειραματικά δεδομένα μόνο για ένα από τα δύο αυτά μήκη κύματος, ο διαχωρισμός που ακολουθεί βασίζεται σε τρεις γραμμές, όσοι είναι και οι πιθανοί συνδυασμοί μετρήσεων.

#### 5.5.4.1 Διαχωρισμός στα 390 nm

Για τα πειραματικά δεδομένα στα 390 nm υπολογίστηκε στην παράγραφο 5.5.2.1 ότι η κοινή διασπορά ισούται με

$$s_{p,390}^2 = 3.4 \cdot 10^{-8}$$

Επίσης, για τα υγιή δείγματα έχει βρεθεί ότι η μέση τιμή είναι  $\bar{x}_{H,390} = 6.2 \cdot 10^{-4}$ , ενώ για τα αθηροσκληρωτικά η αντίστοιχη τιμή είναι  $\bar{x}_{A,390} = 2.8 \cdot 10^{-5}$ . Έτσι από την σχέση (5.4) υπολογίζεται ότι ο συντελεστής  $a_0$  ισούται με

$$a_0 = 5.74$$

ενώ από την σχέση (5.5) υπολογίζεται ο συντελεστής  $a_1$  ίσος προς

$$a_1 = -1.77 \cdot 10^4$$

Με αυτές τις τιμές των συντελεστών ο λόγος πιθανότητας της εξίσωσης (5.3) παίρνει τη μορφή

$$L(x) = \exp(5.74 - 1.77 \cdot 10^4 \cdot x) \quad (5.31)$$

Για τον υπολογισμό, επομένως, της διαχωριστικής γραμμής, αρκεί να εξισωθεί η σχέση (5.31) με τη μονάδα. Δηλαδή

$$\exp(5.74 - 1.77 \cdot 10^4 \cdot x_{390}) = 1 = \exp(0) \Rightarrow 1.77 \cdot 10^4 \cdot x_{390} = 5.74 \Rightarrow$$

$$\boxed{x_{390} = 3.24 \cdot 10^{-4}}$$

Η γραμμή που προέκυψε είναι μία ευθεία κάθετη στον άξονα των δεδομένων για τα 390 nm στο σημείο  $3.24 \cdot 10^{-4}$ . Διαγνωστικά αυτό σημαίνει ότι **οποιαδήποτε μέτρηση της κλίσης  $R/R_\infty$  στα 390 nm προκύψει μικρότερη από  $3.24 \cdot 10^{-4}$ , τότε το δείγμα που την έδωσε κατατάσσεται στον αθηροσκληρωτικό πληθυσμό, διαφορετικά θεωρείται υγιές δείγμα.**

#### 5.5.4.2 Διαχωρισμός στα 440 nm

Με εντελώς όμοιο τρόπο πραγματοποιείται και ο καθορισμός της κρίσιμης γραμμής στα 440 nm. Έτσι με  $s_{p,440}^2 = 2.2 \cdot 10^{-7}$  και  $\bar{x}_{H,440} = -3.1 \cdot 10^{-3}$  και  $\bar{x}_{A,440} = -4.4 \cdot 10^{-4}$  προκύπτει

$$a_0 = 21.43$$

και

$$a_1 = 1.21 \cdot 10^4$$

οπότε η (5.3) γίνεται

$$L(x) = \exp(21.43 + 1.21 \cdot 10^4 \cdot x) \quad (5.32)$$

Εξισώνοντας την (5.32) με τη μονάδα θα προκύψει η κρίσιμη γραμμή για τα 440 nm. Επομένως

$$\exp(21.43 + 1.21 \cdot 10^4 \cdot x_{440}) = 0 = \exp(0) \Rightarrow 1.21 \cdot 10^4 \cdot x_{440} = -21.43 \Rightarrow$$

$$\boxed{x_{440} = -1.8 \cdot 10^{-3}}$$

Τώρα προέκυψε μία γραμμή κάθετη προς τον άξονα τιμών των δεδομένων στα 440 nm στο σημείο  $-1.8 \cdot 10^{-3}$ . **Οποιαδήποτε μέτρηση της κλίσης  $R/R_\infty$  στα 440 nm μεγαλύτερη από  $-1.8 \cdot 10^{-3}$  χαρακτηρίζει το δείγμα που την έδωσε ως αθηροσκληρωτικό, ενώ αντίθετα μικρότερες τιμές προέρχονται από υγιή δείγματα.**

Αξίζει να σημειωθεί ότι επειδή ο άξονας των 440 nm αποτελείται από αρνητικές τιμές κλίσεων, τα διαγνωστικά συμπεράσματα είναι αντίθετα από την περίπτωση των 390 nm. Κατά απόλυτες τιμές τα συμπεράσματα είναι πανομοιότυπα και για τις δύο γραμμές.

#### 5.5.4.3 Διαχωρισμός Πληθυσμών και για τα Δύο Μήκη Κύματος

Τέλος, στην περίπτωση διαχωρισμού των υγιών από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες και για τα δύο μήκη ταυτόχρονα, η εξίσωση που περιγράφει τον λόγο πιθανότητας είναι η (5.6), ενώ οι συντελεστές θα υπολογιστούν από τις σχέσεις (5.7) και (5.8) για τον  $a_0$  και  $a^T$  αντίστοιχα και αυτό γιατί στην πράξη πραγματοποιούνται δύο πειραματικές μετρήσεις. Έτσι οι μέσοι τώρα είναι

$$\bar{x}_H = \begin{bmatrix} \bar{x}_{H,390} \\ \bar{x}_{H,440} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 6.2 \cdot 10^{-4} \\ -3.1 \cdot 10^{-3} \end{bmatrix} \text{ και } \bar{x}_A = \begin{bmatrix} \bar{x}_{A,390} \\ \bar{x}_{A,440} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 2.8 \cdot 10^{-5} \\ -4.4 \cdot 10^{-4} \end{bmatrix}$$

ενώ ο πίνακας κοινής συνδιακύμανσης θα είναι της μορφής

$$\Sigma = \begin{bmatrix} S_{p,390}^2 & S_{390,440}^2 \\ S_{440,390}^2 & S_{p,440}^2 \end{bmatrix}$$

Ο υπολογισμός αυτού του πίνακα θα στηριχθεί στο γεγονός ότι οι πληθυσμοί ανά μήκος κύματος εμφανίζουν κοινή διασπορά. Έτσι η κύρια διαγώνιος του πίνακα θα αποτελείται από τις εκτιμήτριες της κοινής διασποράς, ανά περίπτωση. Τα στοιχεία της άλλης διαγώνιου θα υπολογιστούν και αυτά κατ' εκτίμηση από τους πίνακες συνδιακύμανσης των υγιών και των αθηροσκληρωτικών δειγμάτων.

Για τα υγιή δείγματα ο πίνακας συνδιακύμανσης υπολογίζεται ότι είναι ίσος με

$$\Sigma_H = \begin{bmatrix} 4.89 \cdot 10^{-8} & -4.79 \cdot 10^{-8} \\ -4.79 \cdot 10^{-8} & 12.63 \cdot 10^{-8} \end{bmatrix}$$

ενώ για τα αθηροσκληρωτικά είναι

$$\Sigma_A = \begin{bmatrix} 0.26 \cdot 10^{-8} & -3.26 \cdot 10^{-8} \\ -3.26 \cdot 10^{-8} & 40.71 \cdot 10^{-8} \end{bmatrix}$$

Οι υπολογισμοί αυτοί πραγματοποιήθηκαν στο λογισμικό πακέτο MatLab με χρήση της εντολής  $\text{cov}(X)$ , όπου  $X$  ένας πίνακας δύο στηλών με κάθε στήλη να αντιπροσωπεύει κι ένα πείραμα. Οι κύριες διαγώνιοι των παραπάνω πινάκων αντιπροσωπεύουν τις διασπορές των αντίστοιχων δειγμάτων, με τα 390 nm να βρίσκονται στην πάνω γραμμή. Με αυτή την παρατήρηση άμεσα προκύπτει ο αλγόριθμος υπολογισμού της εκτιμήτριας του κοινού πίνακα συνδιακύμανσης ως εξής

$$\Sigma = \begin{bmatrix} \frac{(n_{H,390} - 1) \cdot \Sigma_H(1,1) + (n_{A,390} - 1) \cdot \Sigma_A(1,1)}{n_{H,390} + n_{A,390} - 2} & \frac{(n_H - 1) \cdot \Sigma_H(1,2) + (n_A - 1) \cdot \Sigma_A(1,2)}{n_H + n_A - 2} \\ \frac{(n_H - 1) \cdot \Sigma_H(2,1) + (n_A - 1) \cdot \Sigma_A(2,1)}{n_H + n_A - 2} & \frac{(n_{H,440} - 1) \cdot \Sigma_H(2,2) + (n_{A,440} - 1) \cdot \Sigma_A(2,2)}{n_{H,440} + n_{A,440} - 2} \end{bmatrix}$$

όπου  $n_H = n_{H,390} = n_{H,440}$  και αντίστοιχα για τα αθηροσκληρωτικά δείγματα. Έτσι μετά τις πράξεις προκύπτει η εκτιμήτρια του κοινού πίνακα συνδιακύμανσης ίση με

$$\Sigma = \begin{bmatrix} 3.4 \cdot 10^{-8} & -4.3 \cdot 10^{-8} \\ -4.3 \cdot 10^{-8} & 2.2 \cdot 10^{-7} \end{bmatrix}$$

Αφού λοιπόν υπολογίστηκε και ο κοινός πίνακας συνδιακύμανσης δύναται να υπολογιστούν οι συντελεστές  $a_0$  και  $a^T$  από τις εξισώσεις (5.7) και (5.8). Έτσι προκύπτει ότι

$$a_0 = 21.37$$

και

$$a = \begin{bmatrix} -0.3 \cdot 10^4 \\ 1.2 \cdot 10^4 \end{bmatrix}$$

οπότε η εξίσωση (5.6) παίρνει την μορφή

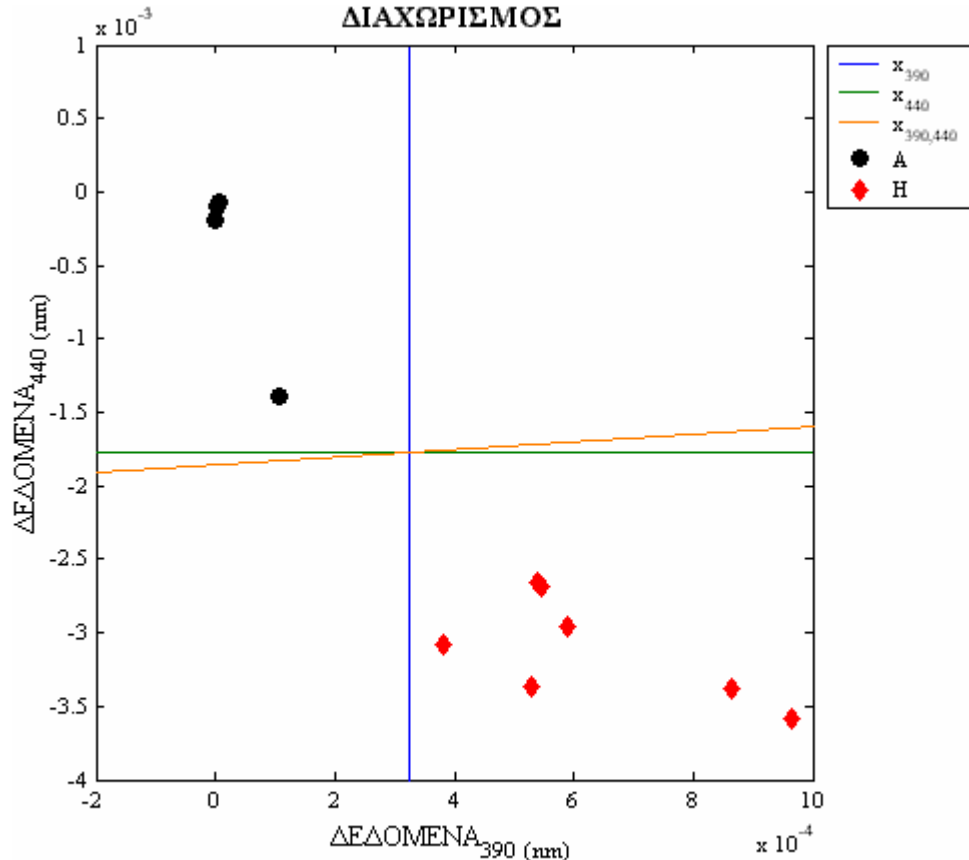
$$L(x) = \exp(21.37 - 0.3 \cdot 10^4 \cdot x_{390} + 1.2 \cdot 10^4 \cdot x_{440}) \quad (5.32)$$

Για να προσδιοριστεί η γραμμή διαχωρισμού η σχέση (5.32) τίθεται ίση με τη μονάδα, δηλαδή

$$\exp(21.37 - 0.3 \cdot 10^4 \cdot x_{390} + 1.2 \cdot 10^4 \cdot x_{440}) = 1 = \exp(0) \Rightarrow$$

$$x_{390} = 3.93 \cdot x_{440} + 0.0073$$

Η ευθεία αυτή, όπως φαίνεται εξαρτάται και από τα δύο μήκη κύματος, γεγονός που σημαίνει ότι για να λειτουργήσει ως διαγνωστικό εργαλείο προϋποθέτει την



**Σχήμα 5.21** : Διαγνωστικός Αλγόριθμος διαχωρισμού υγιών από αθηροσκληρωτικές αρτηρίες βασισμένος στην κλίση του  $R/R_\infty$  για 2 μήκη κύματος

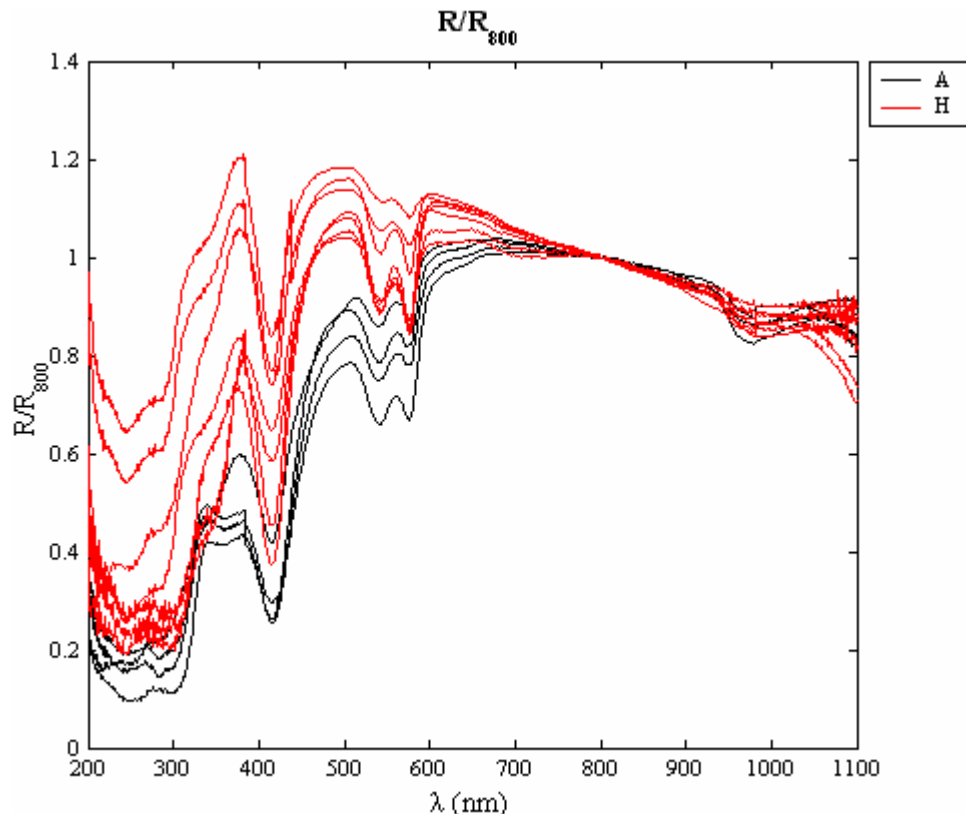
πραγματοποίηση μετρήσεων τόσο στα 390, όσο και στα 440 nm. Παρόλα αυτά, η γραμμή απόφασης η οποία σχεδιάζεται χρησιμοποιώντας τις κλίσεις του  $R/R_\infty$  στα 390 και 440 nm είναι πιο έγκυρη για το διαχωρισμό υγιών από αθηροσκληρωτικές αρτηρίες συγκρινόμενη με αυτή που βασίζεται μόνο στη μία από τις δύο παραμέτρους.

Στο Σχήμα 5.21 σχεδιάστηκαν και οι τρεις γραμμές απόφασης που διαχωρίζουν τις υγιείς από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες.

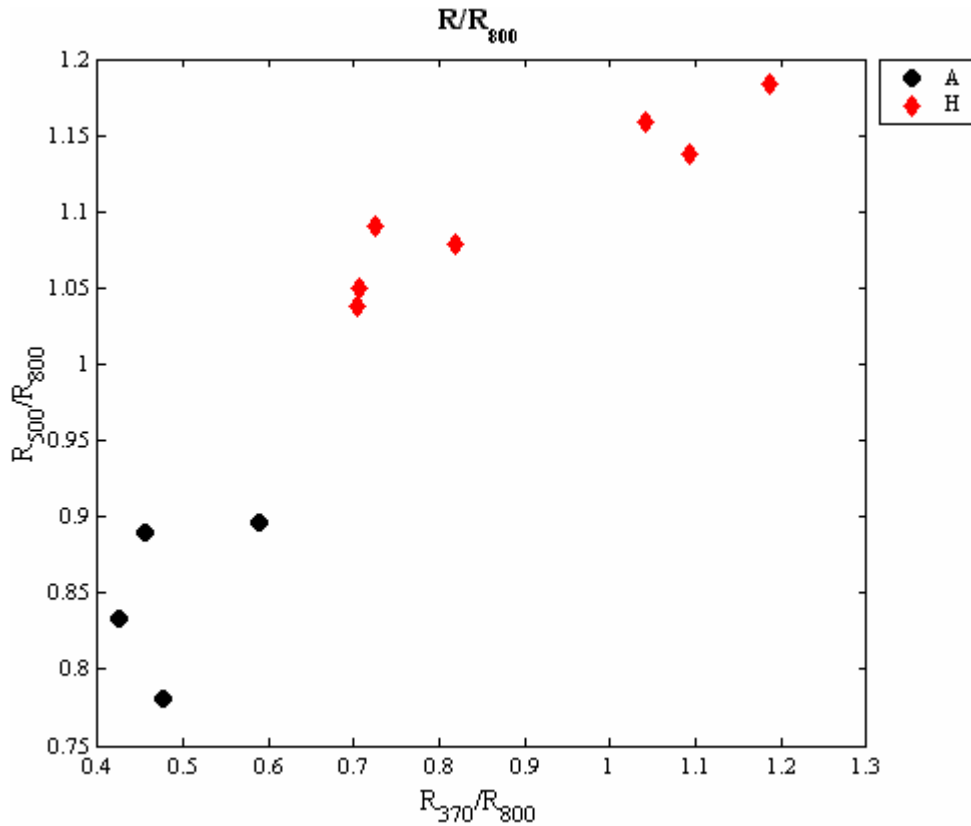
### 5.6 Δεύτερη Διαγνωστική Μέθοδος

Η διαγνωστική μέθοδος που σχεδιάστηκε στην προηγούμενη παράγραφο βασίστηκε στον λόγο της ανάκλασης προς την ανάκλαση εάν το πάχος των δειγμάτων ήταν άπειρο. Παρόλο, όμως, που το εργαλείο αυτό φαίνεται να ικανοποιεί πλήρως τις απαιτήσεις για έναν σαφή διαχωρισμό των υγιών από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες, στην πράξη είναι εφαρμόσιμος μόνο σε εργαστηριακές μελέτες, όπου το δείγμα έχει αφαιρεθεί από τον οργανισμό. Και αυτό διότι η συλλογή των δεδομένων προϋποθέτει μετρήσεις της διάδοσης του φωτός μέσω του δείγματος για τον υπολογισμό της  $R_\infty$ . Τέτοιες μετρήσεις βέβαια είναι αδύνατο να πραγματοποιηθούν απευθείας στον οργανισμό.

Παραμένει, λοιπόν, η απαίτηση για ένα διαγνωστικό εργαλείο που να μπορεί άμεσα να χρησιμοποιηθεί in vivo. Από όλες τις μετρήσεις και τους υπολογισμούς που προηγήθηκαν σε αυτό το κεφάλαιο, αυτή τη συνθήκη ικανοποιούν μόνο οι μετρήσεις της ανάκλασης. Επιπροσθέτως το γεγονός ότι η πρώτη διαγνωστική μέθοδος σχετιζόταν άμεσα με την ανάκλαση οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ενδεχομένως η



Σχήμα 5.22: Κανονικοποιημένα Φάσματα Ανάκλασης ως προς τα 800 nm



**Σχήμα 5.23** : Λόγοι Ανακλάσεων στα 370 και 500 nm

ανάκλαση μπορεί να δώσει πληροφορία σχετικά με το εάν κάποια μέτρηση προέρχεται από υγιές ή αθηροσκληρωτικό δείγμα.

Βέβαια, όπως ειπώθηκε και στην παράγραφο 5.2, τα φάσματα της ανάκλασης δεν παρέχουν ικανοποιητικές πληροφορίες, ούτως ώστε να βασιστεί κάποιος αλγόριθμος διαχωρισμού σε αυτά. Στο στάδιο αυτό τα φάσματα ανάκλασης κάθε δείγματος, διαιρέθηκαν με την τιμή του φάσματος στα 800 nm, όπου όλα τα φάσματα διατηρούν σταθερή μορφή (baseline). Έτσι διαιρώντας με τα δεδομένα αυτού του μήκους κύματος προκύπτει το Σχήμα 22.

Στο προηγούμενο κεφάλαιο είχε αναφερθεί ότι η ανάκλαση δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικό μέσο, καθότι αποτελεί ένα σχετικό μέγεθος για το κάθε δείγμα, εξαρτώμενο από το πάχος του, τη θερμοκρασία και άλλους παράγοντες. Ο λόγος των ανακλάσεων, όμως, με την μορφή των φασμάτων του Σχήματος 5.22 αποτελεί απόλυτο μέγεθος και μπορεί να χρησιμοποιηθεί χωρίς κανένα απολύτως πρόβλημα. Ο λόγος είναι ότι διαιρώντας με τα δεδομένα κάποιου μήκους κύματος, τα 800 nm για τη συγκεκριμένη εφαρμογή, οι μετρήσεις καθίστανται ανεξάρτητες τόσο του δείγματος όσο και του φασματοφωτομέτρου.

Παρατηρώντας το Σχήμα 5.22 διαφαίνονται δύο περιοχές στις οποίες μπορεί κανείς να εντοπίσει σημαντικές διαφορές. Αυτές είναι τα 370 nm και τα 500 nm. Συλλέγοντας τα δεδομένα των περιοχών αυτών δύναται να συμπληρωθεί ο Πίνακας 5.6.

Η διάταξη των δεδομένων του Πίνακα 5.6 φαίνεται στο Σχήμα 5.23.



**Πίνακας 5.6:** Τιμές & χαρακτηριστικά μεγέθη φασμάτων λόγων ανάκλασης στα 370 και 500 nm

Δείγματα	Λόγοι Ανά Μήκος Κύματος			
	$R_{370}/R_{800}$		$R_{500}/R_{800}$	
H <sub>1</sub>	0.8187		1.0782	
H <sub>2</sub>	1.0418		1.1589	
H <sub>3</sub>	1.0922		1.1374	
H <sub>4</sub>	1.1867		1.1833	
H <sub>5</sub>	0.7056		1.0497	
H <sub>6</sub>	0.7029		1.0384	
H <sub>7</sub>	0.7248		1.0909	
A <sub>1</sub>	0.4762		0.7808	
A <sub>2</sub>	0.4548		0.8902	
A <sub>3</sub>	0.4239		0.8330	
A <sub>4</sub>	0.5878		0.8959	
Μέγεθος	Τιμή			
	H	A	H	A
Μέση Τιμή	0.89	0.49	1.11	0.85
Εκτιμητρια Διασποράς	4.2E-2	5.1E-3	3.1E-3	2.9E-3

Η διαδικασία διαχωρισμού των δεδομένων αυτών είναι πανομοιότυπη με εκείνη της παραγράφου 5.5, ενώ ισχύουν και οι ίδιες παρατηρήσεις. Επιπροσθέτως οι αλγόριθμοι που θα χρησιμοποιηθούν για τους στατιστικούς ελέγχους είναι οι KS\_TEST, F\_TEST και T\_TEST. Τέλος για τον προσδιορισμό των ζητούμενων κρίσιμων γραμμών θα επιλυθούν οι εξισώσεις (5.3) και (5.6). Έτσι για την αποφυγή επαναλήψεων θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα των όποιων διαδικασιών, χωρίς περαιτέρω σχόλια.

### 5.6.1 Στατιστικός Έλεγχος

#### 5.6.1.1 Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Αθηροσκληρωτικών Δειγμάτων (370 nm)

Έστω :

$H_0$ : Τα αθηροσκληρωτικά δείγματα στα 370 nm ακολουθούν κανονική κατανομή.

$\bar{H}_0$ : Τα αθηροσκληρωτικά δείγματα στα 370 nm δεν ακολουθούν κανονική κατανομή.

Με βάση τις τιμές για τα δείγματα στα 370 nm συμπληρώνεται ο Πίνακας 5.7.

**Πίνακας 5.7:** Kolmogorov-Smirnov test για τα αθηρ/τικά δείγματα στα 370 nm

i	X <sub>i</sub>	f <sub>i</sub>	F <sub>i</sub>	RelF <sub>i,1</sub>	RelF <sub>i,2</sub>	D <sub>0,i</sub>	RelF <sub>i,3</sub>	D <sub>1,i</sub>
1	0.4239	1	1	0.1934	0.2	0.0066	0	0.1934
2	0.4548	1	2	0.3328	0.4	0.0672	0.3333	0.0005
3	0.4762	1	3	0.4471	0.6	0.1529	0.6667	0.2196
4	0.5878	1	4	0.9237	0.8	0.1237	1.0000	0.0763

Έτσι προκύπτει ότι  $\max(D_{0,i}) = D_{0,3} = 0.1529$  και  $\max(D_{1,i}) = D_{1,3} = 0.2196$ . Επειδή και οι δύο διαφορές οδηγούν στον ίδιο ελάχιστο βαθμό εμπιστοσύνης εκλέγεται τυχαία η πρώτη ως στατιστικό αποτέλεσμα του τεστ. Έτσι για  $\alpha = 0.005$  ισχύει  $D_{\delta=0,n=4} = 0.57722 > D_{0,3}$ . Επομένως **τα αθηροσκληρωτικά δείγματα στα 370 nm ακολουθούν κανονική κατανομή με πιθανότητα 99.5%.**

#### 5.6.1.2 Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Αθηροσκληρωτικών Δειγμάτων (500 nm)

Έστω :

$H_0$  : Τα αθηροσκληρωτικά δείγματα στα 500 nm ακολουθούν κανονική κατανομή.

$\bar{H}_0$  : Τα αθηροσκληρωτικά δείγματα στα 500 nm δεν ακολουθούν κανονική κατανομή.

Ομοίως συμπληρώνεται ο Πίνακας 5.8 καλώντας τον αλγόριθμο KS\_TEST.

**Πίνακας 5.8:** Kolmogorov-Smirnov test για τα αθηρ/τικά δείγματα στα 500 nm

i	$X_i$	$f_i$	$F_i$	Rel $F_{i,1}$	Rel $F_{i,2}$	$D_{0,i}$	Rel $F_{i,3}$	$D_{1,i}$
1	0.7808	1	1	0.1008	0.2	0.0992	0	0.1008
2	0.8330	1	2	0.3770	0.4	0.0230	0.3333	0.0436
3	0.8902	1	3	0.7710	0.6	0.1710	0.6667	0.1043
4	0.8959	1	4	0.8019	0.8	0.0019	1.0000	0.1981

Από τα δεδομένα του Πίνακα 5.8 φαίνεται ότι  $\max(D_{0,i}) = D_{0,3} = 0.1710$  και  $\max(D_{1,i}) = D_{1,4} = 0.1981$ . Και σε αυτή την περίπτωση επιλέγεται τυχαία ως στατιστικό αποτέλεσμα του τεστ η διαφορά  $D_{0,3}$ . Από τον πίνακα εκτιμητριών κατά Kolmogorov-Smirnov προκύπτει για  $\alpha = 0.005$  ότι  $D_{\delta=1,n=4} = 0.77639 > D_{1,3}$  κι επομένως η  $H_0$  είναι αληθής. Άρα **τα αθηροσκληρωτικά δείγματα στα 500 nm ακολουθούν κανονική κατανομή με πιθανότητα 99.5%.**

#### 5.6.1.3 Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Υγιών Δειγμάτων (370 nm)

Έστω :

$H_0$  : Τα υγιή δείγματα στα 370 nm ακολουθούν κανονική κατανομή.

$\bar{H}_0$  : Τα υγιή δείγματα στα 370 nm δεν ακολουθούν κανονική κατανομή.

Τα υπολογιστικά δεδομένα που προκύπτουν από το κάλεσμα του αλγορίθμου KS\_TEST για τα δείγματα αυτά συμπληρώνουν τον Πίνακα 5.9.

**Πίνακας 5.9:** Kolmogorov-Smirnov test για τα υγιή δείγματα στα 370 nm

i	$X_i (x10^{-3})$	$f_i$	$F_i$	Rel $F_{i,1}$	Rel $F_{i,2}$	$D_{0,i}$	Rel $F_{i,3}$	$D_{1,i}$
1	0.7029	1	1	0.1734	0.125	0.0484	0	0.1734
2	0.7056	1	2	0.1768	0.250	0.0732	0.1667	0.0101
3	0.7248	1	3	0.2022	0.375	0.1728	0.3333	0.1312
4	0.8187	1	4	0.3531	0.500	0.1469	0.5000	0.1469
5	1.0418	1	5	0.7609	0.625	0.1359	0.6667	0.0943
6	1.0922	1	6	0.8302	0.750	0.0802	0.8333	0.0031
7	1.1867	1	7	0.9214	0.875	0.0464	1.0000	0.0786

Άμεσα από τον Πίνακα 5.9 προκύπτει ότι  $\max(D_{0,i}) = D_{0,3} = 0.1728$  και  $\max(D_{1,i}) = D_{1,1} = 0.1734$ . Επειδή και οι δύο διαφορές οδηγούν στον ίδιο ελάχιστο βαθμό εμπιστοσύνης, επιλέγεται τυχαία ως στατιστικό αποτέλεσμα του τεστ το  $D_{0,3}$ . Έτσι για  $a = 0.005$  από τον πίνακα εκτιμητριών κατά Kolmogorov-Smirnov προκύπτει ότι  $D_{\delta=0,n=7} = 0.49932 > D_{0,3}$ . Επομένως **τα υγιή δείγματα στα 370 nm ακολουθούν κανονική κατανομή με πιθανότητα 99.5%**.

#### 5.6.1.4 Έλεγχος Κανονικής Κατανομής Υγιών Δειγμάτων (500 nm)

Έστω :

$H_0$  : Τα υγιή δείγματα στα 370 nm ακολουθούν κανονική κατανομή.

$\bar{H}_0$  : Τα υγιή δείγματα στα 370 nm δεν ακολουθούν κανονική κατανομή.

Η διαδικασία συμπλήρωσης του Πίνακα 5.10 παραμένει η ίδια με τις προηγούμενες περιπτώσεις, δηλαδή κλήση του αλγορίθμου KS\_TEST από το λογισμικό περιβάλλον MatLab.

**Πίνακας 5.10:** Kolmogorov-Smirnov τεστ για τα υγιή δείγματα στα 500 nm

i	$X_i$	$f_i$	$F_i$	$RelF_{i,1}$	$RelF_{i,2}$	$D_{0,i}$	$RelF_{i,3}$	$D_{1,i}$
1	1.0384	1	1	0.1141	0.125	0.0109	0	0.1141
2	1.0497	1	2	0.1586	0.250	0.0914	0.1667	0.0080
3	1.0782	1	3	0.3129	0.375	0.0621	0.3333	0.0205
4	1.0909	1	4	0.3982	0.500	0.1018	0.5000	0.1018
5	1.1374	1	5	0.7189	0.625	0.0939	0.6667	0.0523
6	1.1589	1	6	0.8329	0.750	0.0829	0.8333	0.0004
7	1.1833	1	7	0.9200	0.875	0.0450	1.0000	0.0800

Εδώ οι μέγιστες διαφορές είναι  $\max(D_{0,i}) = D_{0,4} = 0.1018$  και  $\max(D_{1,i}) = D_{1,1} = 0.1141$ . Επειδή και οι δύο οδηγούν στον ίδιο ελάχιστο βαθμό εμπιστοσύνης επιλέγεται τυχαία ως στατιστικό αποτέλεσμα του τεστ η διαφορά  $D_{0,4}$ . Έτσι από τον πίνακα εκτιμητριών κατά Kolmogorov-Smirnov και για  $a = 0.005$  προκύπτει ότι  $D_{\delta=0,n=7} = 0.49932 > D_{0,3}$ . Άρα **τα υγιή δείγματα στα 500 nm ακολουθούν κανονική κατανομή με πιθανότητα 99.5%**.

#### 5.6.1.5 Έλεγχος Ισότητας Διασπορών Κανονικών Πληθυσμών (370 nm)

Κλήση του αλγορίθμου F\_TEST, εισαγωγή των αντίστοιχων δεδομένων κι επιλογή  $a = 0.005$  αποδεικνύει ότι **οι δύο πληθυσμοί στα 370 nm έχουν κοινή διασπορά με πιθανότητα 99.5%** και περιοχή αποδοχής  $A[0.014,16.87]$ . Η εκτιμήτρια της κοινής διασποράς υπολογίζεται ότι είναι

$$s_{p,370}^2 = 2.98 \cdot 10^{-2}$$

#### 5.6.1.6 Έλεγχος Ισότητας Διασπορών Κανονικών Πληθυσμών (500 nm)

Ομοίως, κάλεση του αλγορίθμου F\_TEST, εισαγωγή των δεδομένων κι επιλογή  $a = 0.005$  επιφέρει **πιθανότητα 99.5% οι δύο στα 500 nm πληθυσμοί να**

έχουν κοινή διασπορά. Η περιοχή αποδοχής είναι η  $A[0.014,16.87]$ . Η εκτιμήτρια της κοινής αυτής διασποράς υπολογίζεται από τον αλγόριθμο ότι ισούται με

$$s_{p,500}^2 = 3.03 \cdot 10^{-3}$$

#### 5.6.1.7 Έλεγχος Ισότητας Μέσων Κανονικών Πληθυσμών με Άγνωστη αλλά Κοινή Διασπορά (370 nm)

Όπως αποδείχθηκε στις προηγούμενες παραγράφους, οι δύο πληθυσμοί (υγιείς και αθηροσκληρωτικές αρτηρίες) στα 370 nm ακολουθούν κανονική κατανομή κι εμφανίζουν κοινή διασπορά. Τώρα θα εξετασθεί το κατά πόσο αυτοί οι δύο πληθυσμοί είναι διαφορετικοί μεταξύ τους (υπόθεση  $\bar{H}_0$ ). Αφήνοντας την προεπιλεγμένη τιμή για τον βαθμό εμπιστοσύνης προκύπτει ότι η υπόθεση  $\bar{H}_0$  ισχύει με πιθανότητα  $P = 99.5\%$ . Επομένως **τα δείγματα στα 370 nm ανήκουν σε διαφορετικούς πληθυσμούς με πιθανότητα 99.5%**. Επίσης τα όρια εμπιστοσύνης για τις μέσες τιμές των πληθυσμών είναι  $A[-0.22,0.75]$  για τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες και  $B[0.56,1.23]$  για τις υγιείς.

#### 5.6.1.8 Έλεγχος Ισότητας Μέσων Κανονικών Πληθυσμών με Άγνωστη αλλά Κοινή Διασπορά (500 nm)

Οι δύο πληθυσμοί στα 500 nm ακολουθούν, όπως κι εκείνοι στα 370, κανονική κατανομή κι εμφανίζουν κοινή, αλλά άγνωστη, διασπορά. Σύμφωνα με τον αλγόριθμο **T\_TEST οι πληθυσμοί στα 500 nm εμφανίζουν διαφορετικούς μέσους κι επομένως θεωρούνται δύο διαφορετικοί πληθυσμοί με πιθανότητα 99.5%** (και σε αυτόν τον έλεγχο αφέθηκε η προεπιλεγμένη τιμή για τον βαθμό εμπιστοσύνης). Τα όρια εμπιστοσύνης υπολογίστηκαν ότι είναι  $A[0.65,1.05]$  για τις αθηροσκληρωτικές και  $B[1.02,1.20]$  για τις υγιείς αρτηρίες.

### 5.6.2 Διαχωρισμός Πληθυσμών

Ο διαχωρισμός των πληθυσμών στην περίπτωση των λόγων των ανακλάσεων που μελετώνται ταυτίζεται πλήρως με την μεθοδολογία που περιγράφηκε στην παράγραφο 5.5.4 και αυτό διότι τα στατιστικά αποτελέσματα των δύο περιπτώσεων συμπίπτουν. Έτσι κι εδώ θα καθοριστούν τρεις γραμμές διαχωρισμού, χρήσιμες σε κάθε συνδυασμό πειραματικών μετρήσεων για τα μήκη κύματος 370 και 500 nm.

#### 5.6.2.1 Διαχωρισμός στα 370 nm

Για τα πειραματικά δεδομένα στα 370 nm έχει ήδη υπολογιστεί ότι η κοινή διασπορά ισούται με  $s_{p,370}^2 = 2.98 \cdot 10^{-2}$ , ενώ έχει βρεθεί ότι η μέση τιμή είναι  $\bar{x}_{H,370} = 0.89$  για τα υγιή δείγματα και  $\bar{x}_{A,370} = 0.49$  για τα αθηροσκληρωτικά.

Από την σχέση (5.4) υπολογίζεται ότι ο συντελεστής  $a_0$  ισούται με

$$a_0 = 9.51$$

ενώ από την σχέση (5.5) υπολογίζεται ο συντελεστής  $a_1$  ίσος προς

$$a_1 = -13.77$$

Με αυτές τις τιμές των συντελεστών ο λόγος πιθανότητας της εξίσωσης (5.3) παίρνει τη μορφή

$$L(x) = \exp(9.51 - 13.77 \cdot x) \quad (5.33)$$

ενώ για τον υπολογισμό της διαχωριστικής γραμμής, αρκεί να εξισωθεί η σχέση (5.33) με τη μονάδα. Δηλαδή

$$\exp(9.51 - 13.77 \cdot x_{370}) = 1 = \exp(0) \Rightarrow 13.77 \cdot x_{370} = 9.51 \Rightarrow$$

$$\boxed{x_{370} = 0.69}$$

Με αυτό τον τρόπο προέκυψε μία ευθεία κάθετη στον άξονα των δεδομένων για τα 370 nm στο σημείο 0.69. Διαγνωστικά αυτό σημαίνει ότι **οποιαδήποτε μέτρηση του λόγου  $R/R_{800}$  στα 370 nm είναι μικρότερη από 0.69, τότε το δείγμα που την έδωσε κατατάσσεται στον αθηροσκληρωτικό πληθυσμό, διαφορετικά θεωρείται υγιές δείγμα.**

#### 5.6.2.2 Διαχωρισμός στα 500 nm

Αντίστοιχα καθορίζεται και η κρίσιμη γραμμή στα 500 nm. Έτσι με  $s_{p,500}^2 = 3.03 \cdot 10^{-3}$  και  $\bar{x}_{H,500} = 1.11$  και  $\bar{x}_{A,500} = 0.85$  προκύπτει

$$a_0 = 82.31$$

και

$$a_1 = -84.19$$

οπότε η (5.3) γίνεται

$$L(x) = \exp(82.31 - 84.19 \cdot x) \quad (5.34)$$

Εξισώνοντας την (5.34) με τη μονάδα θα προκύψει η κρίσιμη γραμμή για τα 500 nm. Επομένως

$$\exp(82.31 - 84.19 \cdot x_{500}) = 1 = \exp(0) \Rightarrow 84.19 \cdot x_{500} = 82.31 \Rightarrow$$

$$\boxed{x_{500} = 0.98}$$

Τώρα προέκυψε μία γραμμή κάθετη προς τον άξονα τιμών των δεδομένων στα 500 nm στο σημείο 0.98. **Οποιαδήποτε μέτρηση του λόγου  $R/R_{800}$  μεγαλύτερη της τιμής 0.98 χαρακτηρίζει το δείγμα που την έδωσε ως υγιές, ενώ αντίθετα μικρότερες τιμές προέρχονται από αθηροσκληρωτικά δείγματα.**

#### 5.6.2.3 Διαχωρισμός Πληθυσμών και για τα Δύο Μήκη Κύματος

Τέλος, στην περίπτωση διαχωρισμού των υγιών από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες και για τα δύο μήκη ταυτόχρονα, η εξίσωση που περιγράφει τον λόγο πιθανότητας είναι η (5.6), ενώ οι συντελεστές θα υπολογιστούν από τις σχέσεις (5.7) και (5.8) για τον  $a_0$  και  $a^T$  αντίστοιχα, όπως ακριβώς έγινε και στην παράγραφο 5.5.4.4. Έτσι οι μέσοι τώρα είναι

$$\bar{x}_H = \begin{bmatrix} \bar{x}_{H,370} \\ \bar{x}_{H,500} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.89 \\ 1.11 \end{bmatrix} \text{ και } \bar{x}_A = \begin{bmatrix} \bar{x}_{A,370} \\ \bar{x}_{A,500} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.49 \\ 0.85 \end{bmatrix}$$

ενώ ο πίνακας κοινής συνδιακύμανσης θα είναι

$$\Sigma = \begin{bmatrix} 2.98 \cdot 10^{-2} & 7.8 \cdot 10^{-3} \\ 7.8 \cdot 10^{-3} & 3.03 \cdot 10^{-3} \end{bmatrix}$$

Επομένως μπορούν πλέον να υπολογιστούν οι συντελεστές  $a_0$  και  $a^T$  από τις εξισώσεις (5.7) και (5.8). Από τις σχέσεις αυτές προκύπτει ότι

$$a_0 = 127.26$$

και

$$a^T = [24.75 \quad -147.67]$$

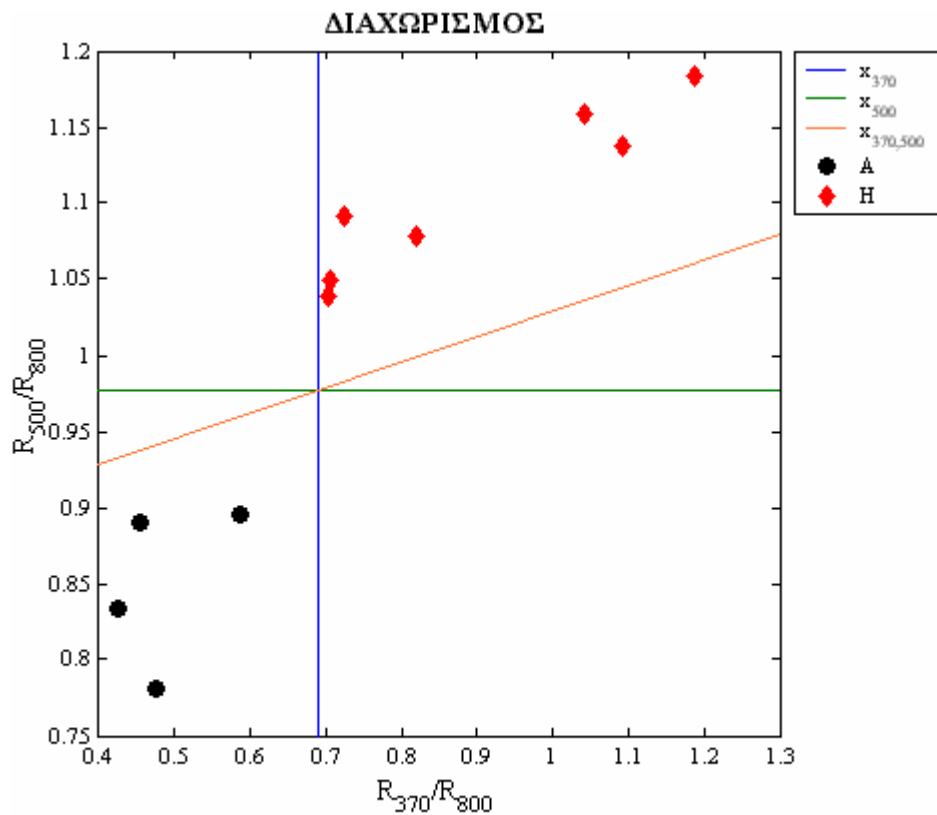
οπότε η εξίσωση (5.6) παίρνει την μορφή

$$L(x) = \exp(127.26 + 24.75 \cdot x_{370} - 147.67 \cdot x_{500}) \quad (5.35)$$

Για να προσδιοριστεί η γραμμή διαχωρισμού η σχέση (5.35) τίθεται ίση με τη μονάδα, δηλαδή

$$\exp(127.26 + 24.75 \cdot x_{370} - 147.67 \cdot x_{500}) = 1 = \exp(0) \Rightarrow$$

$$x_{500} = 0.17 \cdot x_{370} + 0.86$$



**Σχήμα 5.24** : Διαγνωστικός Αλγόριθμος διαχωρισμού υγιών από αθηροσκληρωτικές αρτηρίες βασισμένος στον λόγο  $R/R_{800}$  για 2 μήκη κύματος

Η ευθεία αυτή, όπως φαίνεται εξαρτάται και από τα δύο μήκη κύματος, γεγονός που σημαίνει ότι για να λειτουργήσει ως διαγνωστικό εργαλείο προϋποθέτει την πραγματοποίηση μετρήσεων τόσο στα 370, όσο και στα 500 nm. Παρόλα αυτά *η γραμμή απόφασης η οποία σχεδιάζεται χρησιμοποιώντας τις κλίσεις του  $R/R_{800}$  στα 370 και 500 nm είναι πιο έγκυρη για το διαχωρισμό υγιών από αθηροσκληρωτικές αρτηρίες συγκρινόμενη με αυτή που βασίζεται μόνο στη μία από τις δύο παραμέτρους.*

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ**

### **ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

Στη συγκεκριμένη εργασία μετρήθηκε η διέλευση και η ανάκλαση του φωτός από έναν αριθμό υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών από λευκά κουνέλια Νέας Ζηλανδίας. Από τα δεδομένα αυτά και με εφαρμογή του μοντέλου των Kubelka και Munk προσδιορίστηκαν οι διάχυτοι συντελεστές σκέδασης και απορρόφησης του κάθε δείγματος και σχεδιάστηκαν τα φασματικά τους διαγράμματα.

Το μοντέλο των Kubelka και Munk που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των μετρούμενων δεδομένων υπόκειται σε αρκετούς περιορισμούς, με σημαντικότερο όλων τις απώλειες σκέδασης από τα άκρα των δειγμάτων. Η χρήση, όμως, πολύ λεπτών δειγμάτων κατέστησε τις απώλειες αυτές αμελητέες σε σχέση με τις πειραματικές μετρήσεις. Επιπρόσθετη μείωση των σφαλμάτων αυτών επιτυγχάνεται στις περιπτώσεις όπου η απορρόφηση του φωτός υπερισχύει δραματικά της σκέδασης, κάτι που συμβαίνει στα βιολογικά δείγματα. Με την ικανοποίηση και των υπολοίπων περιορισμών το μοντέλο των Kubelka και Munk κρίθηκε αξιόπιστο για τον υπολογισμό των διάχυτων συντελεστών σκέδασης και απορρόφησης.

Τα φάσματα ανάκλασης και διέλευσης, καθώς και οι υπολογιζόμενοι από αυτά συντελεστές απορρόφησης και σκέδασης, ανέδειξαν αρκετές διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες δειγμάτων. Στην εργασία αυτή διερευνήθηκαν διάφοροι συνδυασμοί των δεδομένων, αποσκοπώντας στη διαφοροποίηση των υγιών από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες με βάση τις οπτικές τους ιδιότητες και τη σχεδίαση ενός διαγνωστικού αλγορίθμου.

Η αρχική σύγκριση των φασμάτων διέλευσης και ανάκλασης των υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών, ανέδειξε τις πρώτες διαφορές. Τα φάσματα διέλευσης του φωτός από τις αθηροσκληρωτικές αρτηρίες εμφανίζουν σημαντικά μειωμένες τιμές σε σχέση με εκείνα των υγιών. Διαφορές επίσης εμφανίζονται στη ζώνη Soret (410 nm), όπου οι αθηροσκληρωτικές αρτηρίες παρουσιάζουν εντονότερη απορρόφηση από τις υγιείς.

Συγκρίνοντας τα φάσματα ανάκλασης παρατηρείται μεγαλύτερη ανάκλαση στα αθηροσκληρωτικά δείγματα σε σχέση με τα υγιή στην περιοχή 600 με 1100 nm. Η διαφοροποίηση αυτή σταδιακά μειώνεται ενώ στη ζώνη Soret οι δύο ομάδες εμφανίζουν σχεδόν όμοια συμπεριφορά. Σε ακόμα μικρότερα μήκη κύματος (320 με 400 nm), κάτω από τη ζώνη Soret, όπου και οι δύο ομάδες εμφανίζουν τοπικό ελάχιστο, παρατηρείται αυξημένη ανάκλαση όλων των αρτηριών, φτάνοντας σε ένα τοπικό μέγιστο. Στη ζώνη αυτή (320 με 400 nm), ενώ οι υγιείς αρτηρίες κάτω από το τοπικό μέγιστο εμφανίζουν μείωση της ανάκλασης, οι αθηροσκληρωτικές διατηρούν τη μέγιστη αυτή τιμή για περίπου 60 nm και στη συνέχεια παρατηρείται η μείωση.

Κατόπιν με τη βοήθεια του μοντέλου Kubelka-Munk και του αλγορίθμου ο οποίος αναπτύχθηκε, υπολογίζονται, από τα πειραματικά δεδομένα και το πάχος των δειγμάτων, οι διάχυτοι συντελεστές απορρόφησης και σκέδασης των αρτηριών. Στα διαγράμματα που προκύπτουν μπορούν να διακριθούν οι ζώνες απορρόφησης Soret (410 nm) καθώς και οι ζώνες  $\alpha$  και  $\beta$  της οξυαιμοσφαιρίνης (540 και 577 nm).

Ωστόσο ενώ για τα υγιή δείγματα η τιμή του συντελεστή απορρόφησης στη ζώνη Soret είναι αρκετά μικρότερη από τη μέγιστη τιμή του, η οποία εμφανίζεται στην περιοχή κάτω των 300 nm, στα αθηροσκληρωτικά δείγματα η τιμή του συντελεστή απορρόφησης στη ζώνη Soret είναι συγκρίσιμη με την αντίστοιχη μέγιστη τιμή.

Στο επόμενο στάδιο της εργασίας αυτής καταβλήθηκε προσπάθεια ποσοτικοποίησης των εμφανιζόμενων διαφοροποιήσεων ανάμεσα στις οπτικές ιδιότητες των υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών. Για το σκοπό αυτό δοκιμάστηκαν διάφορες διαγνωστικές παράμετροι. Ο λόγος της ανάκλασης ( $R$ ) προς την ανάκλαση στο άπειρο ( $R_{\infty}$ ), δηλαδή της ανάκλασης που θα εμφάνιζαν τα δείγματα εάν το πάχος τους ήταν άπειρο, αποδείχθηκε η αποτελεσματικότερη παράμετρος διαχωρισμού των δύο ομάδων. Οι υγιείς και αθηροσκληρωτικές αρτηρίες εμφανίζουν σημαντικές διαφορές στις τιμές του  $R/R_{\infty}$  κυρίως στην περιοχή 300 με 420 nm. Στα αθηροσκληρωτικά δείγματα στην περιοχή 200 με 500 nm ισχύει περίπου ότι  $R = R_{\infty}$ . Οι βιολογικοί ιστοί, στην περιοχή αυτή, παρουσιάζουν έντονη απορρόφηση, με αποτέλεσμα η ανάκλαση του φωτός να είναι σχεδόν επιφανειακή. Γενικά, τα διαγράμματα  $R/R_{\infty}$  εμφανίζουν την ίδια μορφή για τις δύο ομάδες αρτηριών, αλλά παρουσιάζονται διαφορές στις κλίσεις τους.

Βέβαια η χρησιμοποίηση της ανάκλασης ως διαγνωστικό εργαλείο εκ πρώτης όψεως κρίνεται αναξιόπιστη καθώς αυτή αποτελεί σχετικό μέγεθος για το εκάστοτε δείγμα. Όμως οι φασματικές γραφικές παραστάσεις των κλίσεων αποκαλύπτουν ότι τα μεν αθηροσκληρωτικά δείγματα παρουσιάζουν μηδενικές κλίσεις των λόγων των μετρούμενων προς τις υπολογιζόμενες ανακλάσεις ασχέτως του πάχους των ή των υπολοίπων παραγόντων που επηρεάζουν την ανάκλαση. Από την άλλη τα υγιή δείγματα εμφανίζουν μη μηδενικές κλίσεις και μάλιστα οι τιμές των κλίσεων αυτών συγκλίνουν μεταξύ τους. Οι δύο αυτές παρατηρήσεις αναιρούν την αρχική δυσπιστία χρησιμοποίησης της ανάκλασης στην εν λόγω μέθοδο.

Για την ολοκλήρωση του σχεδιασμού του διαγνωστικού αλγορίθμου απομένει η ποσοτικοποίηση των διαφορών αυτών. Σημαντικές διαφοροποιήσεις των υγιών από τις αθηροσκληρωτικές εμφανίζονται στις κλίσεις των διαγραμμάτων  $R/R_{\infty}$  για 390 και 440 nm. Η στατιστική ανάλυση των κλίσεων και στα δύο αυτά μήκη κύματος, απέδειξε ότι τα δείγματα διαχωρίζονται επιτυχώς σε δύο πληθυσμούς, τις υγιείς και αθηροσκληρωτικές αρτηρίες. Η οριοθέτηση των περιοχών διαχωρισμού επιτυγχάνεται μέσω του λόγου των πιθανοτήτων και πιο συγκεκριμένα μέσω της κρίσιμης τιμής του, που είναι μονάδα. Έτσι χαράζονται εκείνες οι γραμμές που δύνανται να χαρακτηρίσουν κάποιο δείγμα ως υγιές ή αθηροσκληρωτικό.

Η κατηγοριοποίηση αυτή είναι εφικτή χρησιμοποιώντας είτε κάθε ένα από τα προτεινόμενα χαρακτηριστικά, κλίση του  $R/R_{\infty}$  στα 390 ή στα 440 nm, είτε λαμβάνοντας υπόψη ταυτόχρονα και τα δύο χαρακτηριστικά. Ωστόσο η γραμμή απόφασης η οποία σχεδιάζεται στηριζόμενη και στα δύο χαρακτηριστικά θεωρείται πιο έγκυρη από αυτή του ενός χαρακτηριστικού.

Ο αλγόριθμος που μόλις περιγράφηκε εμφανίζει ένα σημαντικό μειονέκτημα. Παρόλο που φαίνεται ικανοποιητικά αξιόπιστος, η χρησιμοποίησή του in vivo για την διάγνωση της αθηροσκλήρωσης είναι ανέφικτη, καθώς απαιτεί αφαίρεση της



αρτηρίας για να πραγματοποιηθούν οι μετρήσεις της διέλευσης του φωτός από τις αρτηρίες για τον υπολογισμό της ανάκλασης στο άπειρο. Έτσι η εν λόγω εργασία επικεντρώθηκε και στον σχεδιασμό ενός δεύτερου διαγνωστικού αλγορίθμου, ο οποίος να εξαρτάται μόνο από την μετρούμενη ανάκλαση, η οποία είναι ένα οπτικό μέγεθος των αρτηριών που δύνανται να μετρηθεί *in vivo*.

Στην περίπτωση της ανάκλασης χρησιμοποιήθηκε ο λόγος των ανακλάσεων του κάθε δείγματος και των αντίστοιχων γραμμών αναφοράς (baseline). Για τα συγκεκριμένα δείγματα οι γραμμές αναφοράς των ανακλάσεων βρίσκονται στην περιοχή των 800 nm. Η χρήση των λόγων επιτυγχάνει ανεξαρτητοποίηση της ανάκλασης τόσο από τους παράγοντες που την καθιστούν σχετικό μέγεθος (όπως είναι το πάχος των δειγμάτων, η θερμοκρασία και άλλοι παράγοντες) όσο και από τα τυχόν σφάλματα του οργάνου μέτρησης. Έτσι η χρησιμοποίηση μόνο της ανάκλασης ως διαγνωστικό εργαλείο καθίσταται αξιόπιστη και ανεξάρτητη μέθοδος. Η ποσοτικοποίηση των παρατηρούμενων διαφοροποιήσεων πραγματοποιείται με την ίδια ακριβώς μεθοδολογία που ακολουθήθηκε και κατά τον πρώτο διαγνωστικό αλγόριθμο. Στην περίπτωση αυτή τα μήκη κύματος τα οποία επιλέγονται και διαχωρίζουν καλύτερα τις δύο ομάδες αρτηριών είναι τα 370 και 500 nm. Επομένως εξισώνοντας τους λόγους των πιθανοτήτων με την κρίσιμη τιμή τους για τα δύο μήκη κύματος που παρουσιάζουν τις μέγιστες διαφορές μεταξύ υγιών και αθηροσκληρωτικών αρτηριών, χαράζονται εκείνες οι γραμμές που συνιστούν τον δεύτερο διαγνωστικό αλγόριθμο. Ο διαχωρισμός των δύο ομάδων μπορεί να γίνει είτε με το λόγο  $R_{370}/R_{800}$  ή  $R_{500}/R_{800}$ , είτε χρησιμοποιώντας και τους δύο μαζί. Όμοια με τον προηγούμενη μέθοδο, η γραμμή απόφασης η οποία σχεδιάζεται στηριζόμενη και στα δύο χαρακτηριστικά θεωρείται πιο έγκυρη.

Σε ερευνητικό επίπεδο και τα δύο διαγνωστικά εργαλεία που προτείνει η εργασία αυτή χρήζουν μεγάλου ενδιαφέροντος. Μελλοντική χρησιμοποίησή τους προϋποθέτει την εδραίωση των συμπερασμάτων μέσα από ένα αρκετά μεγαλύτερο πλήθος δειγμάτων, τόσο υγιών όσο και αθηροσκληρωτικών αρτηριών (training test). Με τον τρόπο αυτό θα καθοριστούν με μεγαλύτερη ακρίβεια τα όρια των περιοχών διαχωρισμού, ενώ η έκφραση του βαθμού αθηροσκλήρωσης με τη μορφή πιθανότητας θα είναι δυνατή και πολύ πιο αντιπροσωπευτική από εκείνη των περιοχών. Επίσης απαιτείται ένας αριθμός δειγμάτων με τη βοήθεια του οποίου μπορεί να γίνει αξιολόγηση της διαγνωστικής αξίας των προτεινόμενων μεθόδων. Αρχικά τα δείγματα θα καταταχθούν με βάση τους διαγνωστικούς αλγορίθμους που προτείνονται εδώ και μετά η κατηγοριοποίηση θα επαληθευτεί ή όχι από ιστοπαθολογική εξέταση (evaluation set). Επιπροσθέτως, ο σχεδιασμός και η κατασκευή κατάλληλης διάταξης θα προάγει την δεύτερη διαγνωστική μέθοδο σε ένα χρήσιμο εργαλείο *in vivo* διάγνωσης της μεγαλύτερης ασθένειας σε παγκόσμιο επίπεδο σήμερα.



**Βιβλιογραφία**

- Γιόβα Δ., “Εισαγωγή στην Κυτταρική Μηχανική κι Εφαρμοσμένη Βιοφυσική”, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα 2000
- Κούκης Π., “Υπερομοκυστεϊναιμία”, Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής, **17**:348-351 (2000)
- Μαραγκός Π., “Όραση Υπολογιστών”, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα 2002
- Albert A., Harris E.K., “*Multivariate Interpretation of Clinical Laboratory Data*”, Marcel Dekker, Inc. (1987)
- American Heart Association, “*AHA/ACC Secondary Prevention for Patients with Coronary and Other Vascular Disease*”, American Heart Association, Dallas, Tex., Update (2001)
- American Heart Association, “*Heart Disease and Stroke Statistics*”, American Heart Association, Dallas, Tex., Update (2003)
- American Heart Association, “*International Cardiovascular Disease Statistics*”, American Heart Association, Dallas, Tex. (2003)
- Arridge S.R., “*Optical Tomography in medical imaging*”, *Inverse Problems*, **15**:R41-R93 (1999)
- Arridge S.R., Cope M., Delpy D.T., “*The theoretical basis for the determination of optical pathlengths in tissue: temporal and frequency analysis*”, *Phys. Med. Biol.*, **37**:1531-1560 (1992)
- Arridge S.R., Hebden J.C., “*Optical Imaging in Medicine II: Modelling and Reconstruction*”, *Phys. Med. Biol.*, **45**:841-883 (1997)
- Arridge S.R., Schweiger M., Hiraoka M., Delpy D.T., “*A finite element approach for modeling photon transport in tissue*”, *Med. Phys.*, **20**:299-309 (1993)
- Brinkworth B.J., “*On the theory of reflection by scattering and absorbing media*”, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **4**:1105-1106 (1971)
- Bruschke A.V.G., Reiber J.H.C., Relik-van Wely L., van Wesemael J.W.J., “*Coronary Arteriography-I*”, *The Netherlands Journal of Cardiology*, **5**:210-221 (1991)
- Cheong W., Prahl S.A., Welch A.J., “*A Review of the optical properties of Biological Tissues*”, *IEEE J. Quant. Elec.*, **26**:2166-2185 (1990)
- Fahdi I.E., Gaddam V., Garza L., Romeo F., Mehta J., “*Inflammation, infection and atherosclerosis*”, *Brain, Behavior, and Immunity*, **17**:238-244 (2003)
- Harris D.A., Bashford C.L., “*Spectrophotometry and Spectrofluorimetry: a practical approach*”, IRL Press, Oxford, United Kingdom (1987)
- Harter H.L., Khamis H.J., Lamb R.E., “*Modified Kolmogorov-Smirnov tests for Goodness of fit*”, *Communic. Statist. Simula. Computa.*, **13**:293-323 (1984)
- Hebden J.C., Gandjbakhche A.H., “*Experimental validation of an elementary formula for estimating the spatial resolution for optical transillumination imaging*”, *Med. Phys.*, **22**:1271-1272 (1995)
- Hiraoka M., Firbank M., Essenpreis M., Cope M., Arridge S.R., van de Zee P., Delpy D.T., “*A Monte Carlo investigation of optical pathlength in inhomogeneous tissue and its application to near infrared spectroscopy*”, *Phys. Med. Biol.*, **38**:1859-1876 (1993)
- Ishimaru A., “*Diffusion of light in turbid media*”, *App. Opt.*, **28**:17-22 (1989)
- Ishimaru A., “*Single Scattering and Transport Theory: Wave Propagation and Scattering in Random Media I*”, N.Y., Academic (1978)
- Khamis H.J., “*The  $\delta$ -corrected Kolmogorov-Smirnov test for Goodness of fit*”, *J. Statist. Plan. Infer.*, **24**:317-335 (1990)
- Khamis H.J., “*A comparative study of the  $\delta$ -corrected Kolmogorov-Smirnov test*”, *J. Appl. Statist.*, **20**:401-421 (1993)

- Kim A.D., Keller J.B., “*Light Propagation in Biological Tissue*”, J. Opt. Soc. Am., **20**:92-98 (2003)
- Korovin N., “*Spectral Differences Between Normal and Atherosclerotic Aorta*”, McGill Journal of Medicine, **5**:5-12 (1999)
- Kubelka P., Munk F., “*An Article on Optics of Paint Layers*”, Zeitschrift für Technische Physik, **12**:593-601 (1931)
- Labsphere, “*RSA-PE-20*”, Instruction Manual
- LaMuraglia G.M, Prince M.R., Nishioka N.S, Obremski S., Birngruber R., “*Optical Properties of Human Arterial Thrombus, Vascular Grafts, and Sutures: Implications for Selective Laser Thrombus Ablation*”, IEEE Journal Of Quantum Electronics, **26**: 2200-2206 (1990)
- Libby P., “*Atherosclerosis: The New View*”, Scientific American, **286**:46-56 (2002)
- Mason J.E., Tosteson H., Satterfiled S., Hebert P., O’Conner G.T., Buring J.E., Hennekens C.H., “*The primary prevention of myocardial infarction*”, NEJM, **326**:1406-1416 (1992)
- Mohan R., Warren L., “*Myocardial Infarction and the Culprit Plaque: Myths, Data and Statistics*”, J. Invasive Cardiol, **14**:347-352 (2002)
- Molenaar R., Bosch J.J., Zijp J.R., “*Determination of Kubelka-Munk scattering and absorption coefficients by diffuse illumination*”, App. Opt., **38**:2068-2077 (1999)
- Mudgett P.S., Richards L.W., “*Multiple Scattering calculations for technology II*”, J. Coll. Interface Sci., **39**:551-567 (1972)
- National Heart, Lung and Blood Institute, “*Morbidity & Mortality: 2002 Chart Book on Cardiovascular, Lung and Blood Diseases*”, National Institutes of Health (2002)
- Orford J.L, Selwyn A.P., “*Atherosclerosis*”, Internet Publication, E-Medicine, [www.emedicine.com/med/topic182.htm](http://www.emedicine.com/med/topic182.htm) (2003)
- Patterson M.S., Chance B., Wilson B.C., “*Time resolved reflectance and transmittance for the non invasive measurement of tissue optical properties*”, App. Opt., **28**:2331-2336 (1989)
- PerkinElmer, “*Lambda 25, 35, 45*”, User’s Guide
- PerkinElmer, “*UV WinLab Software*”, User’s Guide
- Prahl S.A., “*Light Transport In Tissue*”, Phd Thesis, The University of Texas at Austin (1988)
- Prahl S.A., van Gemert M.J.C., Welch A.J., “*Determining the Optical Properties of Turbid Media using the Adding-Doubling Method*”, App. Opt., **32**:559-568 (1993)
- Schmidt F.E.W., “*Development of a Time-Resolved Optical Tomography System for Neonatal Brain Imaging*”, Phd Thesis, Dpt. Of Medical Physics and Bioengineering, University College London (1999)
- Schoenhagen P., Nissen S., “*Understanding Coronary Artery Disease: Tomographic Imaging with Intravascular Ultrasound*”, Heart, **88**:91-96 (2002)
- Vander A., Sherman J., Luciano D., “*Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*”, McGraw-Hill, Eight Edition (2001)
- Williams K.J., Tabas I., “*The Response-to-Retention Hypothesis of Early Atherogenesis*”, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, **15**:551-561 (1995)
- Wilson B.C., Adam G., “*A Monte Carlo model for the absorption and flux distributions of light in tissue*”, Med. Phys., **10**:824-830 (1983)
- Zar J.H., “*Biostatistical Analysis*”, Prentice Hall International Editions, Third Edition (1996)

**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**



```

% Kubelka_Munk Algorithm %
clear
msg0 = msgbox('Welcome to the Kubelka-Munk inverse model. This model
calculates the diffuse scattering and absorbance coefficients. If it is not located in the
same directory as your data files, you have to define the proper path in the next dialog
box, otherwise simply press on OK.',...
    'Welcome');
waitfor(msg0);
prompt = {'Enter the proper path for Reflection data files (leave empty if default):',...
    'Enter the proper path for Transmission data files (leave empty if default):'};
title = 'Data file name paths';
lines = 1;
def = {"",""};
f = inputdlg(prompt,title,lines,def);
if strcmp(char(f),"")
    msg1 = msgbox('Thank you for using Kubelka-Munk Model','Action Canceled');
    waitfor(msg1);
    clear
    break
end
d1 = dir(char(f(1)));
str1 = {d1.name};
[s1,v1] = listdlg('PromptString','Select the Reflection data file(s):',...
    'SelectionMode','multiple',...
    'Name','Reflection Data Files',...
    'ListString',str1);
if eq(v1,0)
    msg2 = msgbox('Thank you for using Kubelka-Munk Model','Action Canceled');
    waitfor(msg2);
    clear
    break
end
A1 = str1(s1);
d2 = dir(char(f(2)));
str2 = {d2.name};
[s2,v2] = listdlg('PromptString','Select Transmission data file(s):',...
    'SelectionMode','multiple',...
    'Name','Transmission Data Files',...
    'ListString',str2);
if eq(v2,0)
    msg3 = msgbox('Thank you for using Kubelka-Munk Model','Action Canceled');
    waitfor(msg3);
    clear

```

```

    break
end
A2 = str2(s2);
prompt = {'Enter the thickness in the previous order (in cm):'};
title = 'Sample Thickness';
lines = 2;
def = {'0.02'};
Resize = 'on';
x = inputdlg(prompt,title,lines,def,Resize);
if strcmp(char(x),'')
    msg4 = msgbox('Thank you for using Kubelka-Munk Model','Action Canceled');
    waitfor(msg4);
    clear
    break
elseif strcmp(x,'')
    er0 = errordlg('You must enter thickness data','Fatal Error');
    waitfor(er0);
    clear
    error('Please check your thickness input data.');
```

```

end
A3 = str2num(char(x));
if (ne(length(A1),length(A2))|(ne(length(A1),length(A3))))
    er1 = errordlg('Please check your input data. You must have missed
something','Fatal Error');
    waitfor(er1);
    clear
    error('Please check your input data. You must have missed something')
else
    quest1 = questdlg('Your input data are accepted. Do you want to continue with the
procedure?',...
        'Continue Operation','Yes','No','Yes');
    if strcmp(quest1,'No')
        msg5 = msgbox('Thank you for using Kubelka-Munk Model','Action Canceled');
        waitfor(msg5);
        clear
        break
    end
end
end
L1 = length(A1);
wait = waitbar(0,'Please wait...');
for j=[1:L1];
    G1 = load(char(A1(j)));
    G2 = load(char(A2(j)));
end

```



```

    sprintf('%s %s %s %s %s','I will check the',char(A1(j)), 'and', char(A2(j)), 'data files
for errors')
    SUM_G1 = sum(G1,1);
    SUM_G2 = sum(G2,1);
    MIN_G1 = min(G1);
    MIN_G2 = min(G2);
    if
(ne(length(G1),length(G2))|(ne(G1(1,1),G2(1,1))|(ne(G1(length(G1),1),G2(length(G
2),1))|(ne(SUM_G1(1),SUM_G2(1))))
        close(wait)
        er2 = errordlg('The wavelength range was not the same at the data files. I have to
abord the procedure','Fatal Error');
        waitfor(er2);
        clear
        error('The wavelength range was not the same at the data files. I have to abord
the procedure')
    elseif (lt(MIN_G1(2),-2.5)|(lt(MIN_G2(2),-2.5))
        close(wait)
        er3 = errordlg('An error must have occured during the experiment, since in your
data files were not negligible negative measurmements',...
        'Fatal Error');
        waitfor(er3);
        clear
        error('An error must have occured during the experiment, since in your data files
were not negligible negative measurmements')
    else
        sprintf('%s','The data files have no errors, so now I will calculate the diffuse
coefficients in cm^-1')
    end
    eq1 = 'T(i)=((1-(S/(S+K+sqrt(K*(K+2*S))))^2)*exp(-
(sqrt(K*(K+2*S))/S)*S*D))/(1-((S/(S+K+sqrt(K*(K+2*S))))^2*exp(-
2*(sqrt(K*(K+2*S))/S)*S*D)))';
    eq2 = 'R(i)=((S/(S+K+sqrt(K*(K+2*S))))*(exp(2*(sqrt(K*(K+2*S))/S)*S*D)-
1))/(exp(2*(sqrt(K*(K+2*S))/S)*S*D)-(S/(S+K+sqrt(K*(K+2*S))))^2)';
    vars = 'S,K';
    A = solve(eq1,eq2,vars);
    S1 = A.S;, K1 = A.K;
    L2 = length(G1);
    for i=[1:L2];
        T(i) = abs(G2(i,2))/100;
        R(i) = abs(G1(i,2))/100;
        if eq(T(i),0)
            T(i) = 0.000001;

```

```

end
if eq(R(i),0)
    R(i) = 0.000001;
end
D = A3(j);
S = eval(S1);
K = eval(K1);
X(i,1) = S(1)/S(2);
X(i,2) = K(1)/K(2);
if
(lt(X(i,1),0.999999)|(gt(X(i,1),1.000001))|(~isreal(S))|(lt(X(i,2),0.999999)|(gt(X(i,2)
,1.000001))|(~isreal(K))
    close(wait)
    sprintf('%s %d %s %s %s %s','Procedure interraption at',G1(i,1),...
        'nm for the data files',char(A1(j)), 'and', char(A2(j)))
    er4 = errorldg('An error has occured during the calculations for the diffuse
coefficients. Your measurements may either not be proper for the Kubelka and Munk
theory, or not be correct',...
        'Fatal Error');
    waitfor(er4);
    clear
    error('An error has occured during the calculations for the diffuse coefficients.
Your measurements may either not be proper for the Kubelka and Munk theory, or
not be correct')
end
Refl(i,j) = G1(i,2);
Trans(i,j) = G2(i,2);
Scat(i,j) = S(1);
Absor(i,j) = K(1);
waitbar(((L2*(j-1))+i)/(L1*L2));
end
end
Lamda = G1(:,1);
close(wait)
quest2 = questdlg('Kubelka-Munk method finished successfully!What do you want to
do now?',...
    'Method succeeded','Save as Excel files','Draw Plots','Both','Both');
if strcmp(quest2,'Save as Excel files')
    def1 = char(cd);
    prompt = {'Enter the proper path for Wavelength data file:',...
        'Enter the proper path for Reflection data file:',...
        'Enter the proper path for Transmition data file:',...
        'Enter the proper path for Scattering data file:',...

```

```

        'Enter the proper path for Absorption data file:');
title = 'Data file paths';
lines = 1;
def = {def1,def1,def1,def1,def1};
fl = inputdlg(prompt,title,lines,def);
if strcmp(char(fl),'')
    msg6 = msgbox('Thank you for using Kubelka-Munk Model','Action
Canceled');
    waitfor(msg6);
    clear
    break
elseif (strcmp(fl(1,''))|(strcmp(fl(2,''))|(strcmp(fl(3,''))|(strcmp(fl(4,''))
    er5 = errorldg('You must define paths for all the data','Fatal Error');
    waitfor(er5);
    clear
    error('You must define paths for all the data')
end
w = cd;
cd(char(fl(1)));
save Lamda.xls -ASCII Lamda;
cd(char(fl(2)));
save Refl.xls -ASCII -TABS Refl;
cd(char(fl(3)));
save Trans.xls -ASCII -TABS Trans;
cd(char(fl(4)));
save Scat.xls -ASCII -TABS Scat;
cd(char(fl(5)));
save Absor.xls -ASCII -TABS Absor;
cd(w);
elseif strcmp(quest2,'Draw Plots')
    clear title;
    axes('FontName','Times','FontSize',8);
    plot(Lamda,Refl);
    xlabel('\fontname{Times} \fontsize{10} Wavelength (nm)');
    ylabel('\fontname{Times} \fontsize{10} Reflection (%)');
    title('\fontname{Times} \fontsize{11} \bf Reflection');
    legend(A1,-1);
    figure
    axes('FontName','Times','FontSize',8);
    plot(Lamda,Trans);
    xlabel('\fontname{Times} \fontsize{10} Wavelength (nm)');
    ylabel('\fontname{Times} \fontsize{10} Transmittion (%)');
    title('\fontname{Times} \fontsize{11} \bf Transmittion');

```

```

legend(A2,-1);
figure
axes('FontName','Times','FontSize',8);
semilogy(Lamda,Scat);
xlabel('\fontname{Times} \fontsize{10} Wavelength (nm)');
ylabel('\fontname{Times} \fontsize{10} S (cm-1)');
title('\fontname{Times} \fontsize{11} \bf Scattering Coefficient');
legend(A1,-1);
figure
axes('FontName','Times','FontSize',8);
semilogy(Lamda,Absor);
xlabel('\fontname{Times} \fontsize{10} Wavelength (nm)');
ylabel('\fontname{Times} \fontsize{10} K (cm-1)');
title('\fontname{Times} \fontsize{11} \bf Absorption Coefficient');
legend(A1,-1);
elseif strcmp(quest2,'Both')
def1 = char(cd);
prompt = {'Enter the proper path for Wavelength data file:',...
          'Enter the proper path for Reflection data file:',...
          'Enter the proper path for Transmission data file:',...
          'Enter the proper path for Scattering data file:',...
          'Enter the proper path for Absorption data file:'};
title = 'Data file paths';
lines = 1;
def = {def1,def1,def1,def1,def1};
f1 = inputdlg(prompt,title,lines,def);
if strcmp(char(f1),'')
    msg7 = msgbox('Thank you for using Kubelka-Munk Model','Action
Canceled');
    waitfor(msg7);
    clear
    break
elseif (strcmp(f1(1,''))|(strcmp(f1(2,''))|(strcmp(f1(3,''))|(strcmp(f1(4,''))
    er5 = errordlg('You must define paths for all the data','Fatal Error');
    waitfor(er5);
    clear
    error('You must define paths for all the data')
end
w = cd;
cd(char(f1(1)));
save Lamda.xls -ASCII Lamda;
cd(char(f1(2)));
save Refl.xls -ASCII -TABS Refl;

```

```

cd(char(f1(3)));
save Trans.xls -ASCII -TABS Trans;
cd(char(f1(4)));
save Scat.xls -ASCII -TABS Scat;
cd(char(f1(5)));
save Absor.xls -ASCII -TABS Absor;
cd(w);
clear title;
axes('FontName','Times','FontSize',8);
plot(Lamda,Refl);
xlabel('\fontname{Times} \fontsize{10} Wavelength (nm)');
ylabel('\fontname{Times} \fontsize{10} Reflection (%)');
title('\fontname{Times} \fontsize{11} \bf Reflection');
legend(A1,-1);
figure
axes('FontName','Times','FontSize',8);
plot(Lamda,Trans);
xlabel('\fontname{Times} \fontsize{10} Wavelength (nm)');
ylabel('\fontname{Times} \fontsize{10} Transmission (%)');
title('\fontname{Times} \fontsize{11} \bf Transmission');
legend(A2,-1);
figure
axes('FontName','Times','FontSize',8);
semilogy(Lamda,Scat);
xlabel('\fontname{Times} \fontsize{10} Wavelength (nm)');
ylabel('\fontname{Times} \fontsize{10} S (cm-1)');
title('\fontname{Times} \fontsize{11} \bf Scattering Coefficient');
legend(A1,-1);
figure
axes('FontName','Times','FontSize',8);
semilogy(Lamda,Absor);
xlabel('\fontname{Times} \fontsize{10} Wavelength (nm)');
ylabel('\fontname{Times} \fontsize{10} K (cm-1)');
title('\fontname{Times} \fontsize{11} \bf Absorption Coefficient');
legend(A1,-1);
end

```

```

% Kolmogorov-Smirnov One Sample Test for Normal Distribution %
clear
msg0 = msgbox('Welcome to the Kolmogorov-Smirnov One Sample Test for Normal
Distribution.','Welcome');
waitfor(msg0);
prompt = {'Enter the input data:'};
title = 'Data';
lines = 2;
def = {'0.0000'};
Resize = 'on';
x = inputdlg(prompt,title,lines,def,Resize);
if strcmp(char(x),'')
    msg1 = msgbox('Thank you for using this algorithm','Action Canceled');
    waitfor(msg1);
    clear
    break
elseif strcmp(x,'')
    er0 = errordlg('You must enter data for the test to take place.','Fatal Error');
    waitfor(er0);
    clear
    error('You must enter data for the test to take place.')
end
X = str2num(char(x));
% Calculation of the data of KS table %
SX = sort(X);
m = mean(SX);
s = std(SX);
[Xi,Fi] = unique(SX);
for i = 1:length(Fi);
    KS(i,1) = i;
    KS(i,2) = Xi(i);
    KS(i,3) = Fi(i);
    KS(i,4) = (1/2)*(1+erf((Xi(i)-m)/(s*sqrt(2))));
    KS(i,5) = Fi(i)/(length(X)+1);
    KS(i,6) = abs(KS(i,5)-KS(i,4));
    KS(i,7) = (Fi(i)-1)/(length(X)-1);
    KS(i,8) = abs(KS(i,7)-KS(i,4));
    KS(i,9) = Fi(i)/length(X);
    KS(i,10) = abs(KS(i,9)-KS(i,4));
    if gt(i,1)
        KS(i,11) = abs(KS(i-1,9)-KS(i,4));
    else
        KS(i,11) = abs(-KS(i,4));
    end
end

```

```

    end
end
% Test Statistics %
if gt(length(SX),20)
    sprintf('%s','KS Test statistic')
    D = max((max(KS(:,10))),max(KS(:,11))))
else
    sprintf('%s','KS Correction for Increased Power (n<25)')
    D0 = max(KS(:,6))
    D1 = max(KS(:,8))
end
msg2 = msgbox('For D, if D >= D(á,n) your hypothesis is rejected at the á level of
significance. For D0 and D1, the one that leads to the highest level of significance
(i.e. the smallest probabillity) is the test statistic. Critical Values of D(á,n) and D(ä,n)
can be found in several statistical handbooks','Final Result');
waitfor(msg2);
quest1 = questdlg('Do you want to see the KS table?',...
    'KS Table','Yes','No','Yes');
if strcmp(quest1,'No')
    msg2 = msgbox('Thank you for using this algorithm','Action Canceled');
    waitfor(msg2);
    clear
    break
else
    disp('   i   X(i)   F(i)   RelF(i,1) RelF(i,2) D(0,i)   RelF(i,3) D(1,i)
RelF(i,4) D_1(i)')
    disp('
_____')
    disp(KS(:,1:10))
    disp('   D_2(i)')
    disp(' _____')
    disp(KS(:,11))
end

```

```

% F Test Algorithm %
clear
msg0 = msgbox('This is an algorithm for testing differences between two variances of
normal distributions. It also produces an estimation of the common variance, if there
is one.','F-TEST');
waitfor(msg0);
prompt = {'Enter the data from the First Population:'};
title = 'First Population';
lines = 2;
def = {'0.0000'};
Resize = 'on';
x1 = inputdlg(prompt,title,lines,def,Resize);
if strcmp(char(x1),")
    msg1 = msgbox('Thank you for using this algorithm','Action Canceled');
    waitfor(msg1);
    clear
    break
elseif strcmp(x1,")
    er0 = errorldg('You must enter data from the first population.','Fatal Error');
    waitfor(er0);
    clear
    error('You must enter data from the first population.')
end
X1 = str2num(char(x1));
s1_2 = var(X1);
n1 = length(X1);
prompt = {'Enter the data from the Second Population:'};
title = 'Second Population';
lines = 2;
def = {'0.0000'};
Resize = 'on';
x2 = inputdlg(prompt,title,lines,def,Resize);
if strcmp(char(x2),")
    msg2 = msgbox('Thank you for using this algorithm','Action Canceled');
    waitfor(msg2);
    clear
    break
elseif strcmp(x2,")
    er1 = errorldg('You must enter data from the second population.','Fatal Error');
    waitfor(er1);
    clear
    error('You must enter data from the second population.')
end

```



```

X2 = str2num(char(x2));
s2_2 = var(X2);
n2 = length(X2);
prompt = {'Enter the level of significance:'};
title = 'Level of Significance';
lines = 1;
def = {'0.005'};
a1 = inputdlg(prompt,title,lines,def);
if strcmp(char(a1),'')
    msg2 = msgbox('Thank you for using this algorithm','Action Canceled');
    waitfor(msg2);
    clear
    break
elseif strcmp(a1,'')
    er2 = errordlg('You must enter a level of significance.','Fatal Error');
    waitfor(er2);
    clear
    error('You must enter a level of significance.')
end
a = str2num(char(a1));
% F Test :  $f1 < (s1\_2/s2\_2) < f2$  %
f1 = finv(1-a/2,n1-1,n2-1);
f2 = finv(a/2,n1-1,n2-1);
if (ge(s1_2/s2_2,f2)) & (le(s1_2/s2_2,f1))
    sprintf('%s %0.5g%s','Your Normal distributed Populations have equal variances
with probability P =',100*(1-a),'%')
    s_2 = (((n1-1)*s1_2)+((n2-1)*s2_2))/(n1+n2-2);
    sprintf('%s %0.5g','The best estimate of the common variance is  $Sp^2 =$ ',s_2)
else
    sprintf('%s %0.5g','Your populations do not have equal variances for a =',a)
end
end

```

```

% T Test Algorithm %
clear
msg0 = msgbox('This is an algorithm for testing differences between two means of
normal distributions with unknown but common variance.','T-TEST');
waitfor(msg0);
prompt = {'Enter the data from the First Population:'};
title = 'First Population';
lines = 2;
def = {'0.0000'};
Resize = 'on';
x1 = inputdlg(prompt,title,lines,def,Resize);
if strcmp(char(x1),'')
    msg1 = msgbox('Thank you for using this algorithm','Action Canceled');
    waitfor(msg1);
    clear
    break
elseif strcmp(x1,'')
    er0 = errordlg('You must enter data from the first population','Fatal Error');
    waitfor(er0);
    clear
    error('You must enter data from the first population')
end
X1 = str2num(char(x1));
m1 = mean(X1);
s1_2 = var(X1);
n1 = length(X1);
prompt = {'Enter the data from the Second Population:'};
title = 'Second Population';
lines = 2;
def = {'0.0000'};
Resize = 'on';
x2 = inputdlg(prompt,title,lines,def,Resize);
if strcmp(char(x2),'')
    msg2 = msgbox('Thank you for using this algorithm','Action Canceled');
    waitfor(msg2);
    clear
    break
elseif strcmp(x2,'')
    er1 = errordlg('You must enter data from the second population','Fatal Error');
    waitfor(er1);
    clear
    error('You must enter data from the second population')
end

```

```

X2 = str2num(char(x2));
m2 = mean(X2);
s2_2 = var(X2);
n2 = length(X2);
prompt = {'Enter the level of significance:'};
title = 'Level of Significance';
lines = 1;
def = {'0.005'};
a1 = inputdlg(prompt,title,lines,def);
if strcmp(char(a1),")
    msg3 = msgbox('Thank you for using this algorithm','Action Canceled');
    waitfor(msg3);
    clear
    break
elseif strcmp(a1,")
    er2 = errorldg('You must enter data a level of significance','Fatal Error');
    waitfor(er2);
    clear
    error('You must enter data a level of significance')
end
a = str2num(char(a1));
t1 = tinv(1-a/2,n1+n2-2);
t2 = tinv(a/2,n1+n2-2);
s = sqrt((((n1-1)*s1_2)+((n2-1)*s2_2))/(n1+n2-2));
% Critical region : X[T1,T2] %
t1_1 = tinv(1-a/2,n1-1);
t2_1 = tinv(a/2,n1-1);
t1_2 = tinv(1-a/2,n2-1);
t2_2 = tinv(a/2,n2-1);
T1_1 = m1+((sqrt(s1_2)*t2_1)/sqrt(n1));
T2_1 = m1+((sqrt(s1_2)*t1_1)/sqrt(n1));
sprintf('%s%0.5g%s%0.5g%s','The critical region for the first population is
A[,T1_1,',',T2_1,']')
T1_2 = m2+((sqrt(s2_2)*t2_2)/sqrt(n2));
T2_2 = m2+((sqrt(s2_2)*t1_2)/sqrt(n2));
sprintf('%s%0.5g%s%0.5g%s','The critical region for the second population is
B[,T1_2,',',T2_2,']')
% T Test :  $t_2 < t < t_1$  %
t = (m1-m2)/(s*sqrt((1/n1)+(1/n2)));
if (ge(t,t2))&(le(t,t1))
    sprintf('%s %0.5g%s','Your Normal distributed Populations have equal means with
probability P =',100*(1-a),'%')
else

```

```
    sprintf('%s %0.5g','Your populations do not have equal means for a =',a)  
end
```