



**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΟΥ  
ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΟΣ ΣΤΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ**

**ΓΙΑΝΝΑΚΟΠΟΥΛΟΣ ΓΙΩΡΓΟΣ**

Αθήνα 2010

*«Most people, if you describe a train of events to them will tell you what the result will be. There are few people, however, that if you told them a result, would be able to evolve from their own inner consciousness what the steps were that led to that result. This power is what I mean when I talk of reasoning backward».*

Sherlock Holmes  
A Study in Scarlet  
Sir Arthur Conan Doyle (1887)



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ερευνούμε την εφαρμογή των ελαχίστων τετραγώνων σε ένα αντίστροφο πρόβλημα στην περιοχή της φασματοσκοπίας φθορισμού. Ο σκοπός μας είναι να αναπτύξουμε μια μέθοδο με σκοπό να βρούμε το βάθος μιας φθορίζουσας μάζας εγκλεισμένης σε ιστό. Αυτό είναι ένα σημαντικό πρόβλημα στην βιοαπεικόνιση: Βρίσκοντας το βάθος μιας φθορίζουσας σήμανσης που συζεύγνυται με καρκινικά κύτταρα, μπορεί κανείς να ανιχνεύσει τη θέση ενός μη υγιούς ιστού. Εφαρμόζοντας ένα μοντέλο τυχαίων περιπάτων για τη διάδοση φωτονίων, βρίσκουμε μια ακριβή έκφραση για σήματα φθορισμού που εκπέμπονται από ένα ομογενές, οπτικά τυρβοειδές μέσο που περιέχει μια μοναδική φθορίζουσα μάζα. Βασιζόμενοι σε αυτήν την έκφραση και χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Mathematica, αποκτούμε αποτελέσματα για τα βάθη του φθοροφόρου σε κάθε πείραμα, και το συγκρίνουμε με το πραγματικό βάθος. Παρουσιάζουμε βασικά αποτελέσματα που αποκτώνται από ομοιώματα ιστών και πλάκες ιστών ex-vivo χρησιμοποιώντας ένα σύστημα υπέρυθρης απεικόνισης φθορισμού. Συζητάμε τα φαινόμενα της αλληλεπίδρασης φωτός-ιστού, επισημαίνουμε τις διαφορετικές τεχνικές φασματοσκοπίας με έμφαση στη φασματοσκοπία φθορισμού, και ασχολούμαστε με τη χρήση της βιοαπεικόνισης ως ένα σημαντικό βιοϊατρικό εργαλείο. Τέλος, αναλύουμε τις θεωρίες των διακριτών αντιστρόφων προβλημάτων στη βάση της ανάλυσης πινάκων.

## ABSTRACT

We explore the application of least squares method to an inverse problem in the area of fluorescence spectroscopy. Our purpose is to develop a method in order to find the depth of one fluorescent mass embedded in tissue. This is an important problem in bioimaging: Finding the depth of a fluorescent marker conjugated with cancerous cells one can detect the position of the diseased tissue. By applying a random-walk model for photon migration, we find an exact expression for fluorescent signals emitted from a homogenous, optically turbid medium containing a single fluorescent mass. Based on this expression, and using the Mathematica software, we infer results for the depth of the fluorophore in each experiment, and we contrast it with the actual depth. We present preliminary results obtained for tissue-like phantoms and ex-vivo tissue slabs using a system for infrared fluorescence imaging. We discuss the phenomena of light-tissue interaction, mention some of the various spectroscopy techniques with emphasis in fluorescence spectroscopy, and deal with the use of bioimaging as an important biomedical tool. Finally, we analyse the theories behind discrete inverse problems in the basis of matrix analysis.

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να εκφράσω πολλές ευχαριστίες στον Επίκουρο Καθηγητή της Σ.Ε.Μ.Φ.Ε κύριο Δρόσο Γκιντίδη, ο οποίος μου εμπιστεύθηκε το παρόν θέμα. Η καθοδήγηση και βοήθεια που μου παρείχε ήταν καθοριστικές σε όλα τα στάδια εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής. Επίσης οφείλω να ευχαριστήσω και την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια της Σ.Ε.Μ.Φ.Ε κυρία Μυρσίνη Μακροπούλου για τις πολύτιμες υποδείξεις της σε επιμέρους θέματα της εργασίας.

## ➤ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Εισαγωγή</b>  | <b>9</b>  |
| <b>1. Φως και ύλη</b>                                    | <b>11</b> |
| 1.1 Η φύση του φωτός                                     | 11        |
| 1.1.1 Ο δυαδικός χαρακτήρας του φωτός                    | 11        |
| 1.1.2 Το φως ως κύμα                                     | 12        |
| 1.1.3 Συμφωνία του φωτός                                 | 13        |
| 1.1.4 Το φως ως σωματίδια φωτονίων                       | 14        |
| 1.2 Κβαντικές καταστάσεις της ύλης                       | 15        |
| 1.2.1 Κβαντικές καταστάσεις ατόμων                       | 15        |
| 1.2.2 Κβαντικές καταστάσεις μορίων                       | 16        |
| 1.2.3 Το διάγραμμα Jablonski                             | 16        |
| <b>2. Η αλληλεπίδραση του φωτός με τους ιστούς</b>       | <b>19</b> |
| 2.1 Γενικά για τους ιστούς                               | 19        |
| 2.2 Οι τύποι της αλληλεπίδρασης του φωτός με τους ιστούς | 20        |
| 2.2.1 Ανάκλαση και διάθλαση                              | 21        |
| 2.2.2 Απορρόφηση   | 23        |
| 2.2.3 Σκέδαση  | 24        |
| 2.3 Οι ιστοί ως τυρβοειδή μέσα                           | 27        |
| 2.4 Πηγές απορρόφησης και σκέδασης στους ιστούς          | 28        |
| 2.5 Μέτρηση των οπτικών παραμέτρων του ιστού             | 29        |
| <b>3. Τύποι φασματοσκοπίας</b>                           | <b>31</b> |
| 3.1 In vivo φασματοσκοπία                                | 31        |
| 3.2 Χαρακτηριστικά γνωρίσματα φθορισμού                  | 32        |
| 3.3 Πλεονεκτήματα φασματοσκοπίας φθορισμού               | 35        |
| 3.4 Βιοχημικά φθοροφόρα                                  | 36        |
| 3.5 Τα φθοροφόρα ως ιχνηθέτες βιοαπεικόνισης             | 36        |
| 3.5.1 Ενδογενή φθοροφόρα                                 | 36        |
| 3.5.2 Εξωγενή φθοροφόρα                                  | 36        |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>4. Βιοαπεικόνιση</b>                                      | <b>39</b> |
| 4.1 Βιοαπεικόνιση: ένα σημαντικό βιοιατρικό εργαλείο         | 39        |
| 4.2 Πρακτικές απεικόνισης ιστών                              | 40        |
| 4.3 Απεικονιστικά συστήματα φθορισμού                        | 41        |
| 4.3.1 Μικροσκοπία φθορισμού                                  | 43        |
| 4.3.2 Μικροσκοπία σάρωσης                                    | 44        |
| 4.3.3 Συνεστιακή μικροσκοπία                                 | 45        |
| 4.3.4 Πολυφωτονική μικροσκοπία φθορισμού                     | 46        |
| 4.4 Οπτική τομογραφία  | 46        |
| 4.5 Οπτική Βιοψία  | 47        |
| <br>   |           |
| <b>5. Στοιχεία θεωρίας αντιστρόφων προβλημάτων</b>           | <b>49</b> |
| 5.1 Αντίστροφα προβλήματα – διακριτοποίηση                   | 50        |
| 5.1.1 Συνεχή-Διακριτά προβλήματα                             | 52        |
| 5.1.2 Αντίστροφες διαδικασίες στην ανάλυση σήματος           | 54        |
| 5.1.3 Ανάλυση προσαρμογής                                    | 55        |
| 5.1.4 Χρόνος διάδοσης τομογραφικής απεικόνισης               | 56        |
| 5.1.5 Καθορισμός θέσης μιας πηγής                            | 60        |
| 5.2 Γραμμικοποίηση μη γραμμικών προβλημάτων                  | 63        |
| 5.3 Επίλυση καθοδηγούμενη από τα γεγονότα – Νόρμες σφαλμάτων | 64        |
| 5.2.1 Σφάλματα   | 64        |
| 5.2.2 Νόρμες σφαλμάτων                                       | 66        |
| 5.3 Εκλογή του μοντέλου-Το ξυράφι του Occam                  | 67        |
| 5.3.1 Ο κανόνας της απλότητας: Το ξυράφι του Occam           | 68        |
| 5.3.2 Μειώνοντας τον αριθμό των αγνώστων                     | 69        |
| 5.4 Πληροφορία   | 71        |
| 5.4.1 Διαθέσιμη πληροφορία                                   | 71        |
| 5.4.2 Πυκνότητα πληροφορίας-Χωρική κατανομή                  | 71        |
| 5.5 Σφάλματα δεδομένων και μοντέλου                          | 72        |
| 5.6 Μη κυρτές επιφάνειες σφαλμάτων                           | 73        |
| <br>   |           |
| <b>6. Επίλυση με αντιστροφή πίνακα</b>                       | <b>74</b> |
| 6.1 Ο ψευδοαντίστροφος πίνακας                               | 74        |
| 6.2 Κατηγοριοποίηση των αντιστρόφων προβλημάτων              | 75        |
| 6.2.1 Τάξη και Δείκτης κατάστασης                            | 75        |

|           |   |            |
|-----------|---|------------|
| 6.2.2     | Σφάλματα-Συμβατότητα  | 76         |
| 6.2.3     | Κατηγοριοποίηση του προβλήματος                               | 77         |
| 6.3       | Η λύση των ελαχίστων τετραγώνων                               | 78         |
| 6.4       | Η κανονικοποιημένη λύση ελαχίστων τετραγώνων                  | 79         |
| 6.4.1     | Ειδικές περιπτώσεις   | 80         |
| 6.4.2     | Ο συντελεστής κανονικοποίησης $\lambda$                       | 81         |
| 6.5       | Η ενσωμάτωση επιπλέον πληροφορίας                             | 83         |
| 6.5.1     | Μετρήσεις με βάρος  | 83         |
| 6.5.2     | Αρχική εικασία της λύσης                                      | 84         |
| 6.5.3     | Απλό μοντέλο-Το κριτήριο του Occam                            | 85         |
| 6.5.4     | Συνδυασμένη επίλυση   | 85         |
| 6.6       | Λύση βασισμένη στην ανάλυση ιδιαζουσών τιμών                  | 86         |
| 6.6.1     | Επιλέγοντας τον βέλτιστο αριθμό ιδιοτιμών $p$ που έχουν νόημα | 87         |
| 6.6.2     | Η SVD και άλλες αντίστροφες επιλύσεις                         | 87         |
| 6.7       | Η παραμετρική αναπαράσταση                                    | 88         |
| <b>7.</b> | <b>Το αντίστροφο πρόβλημα στον εντοπισμό φθοροφόρων</b>       | <b>90</b>  |
| 7.1       | Μοντελοποίηση του προβλήματος: Το ευθύ πρόβλημα               | 91         |
| 7.1.1     | Μοντελοποίηση του ιστού                                       | 91         |
| 7.1.2     | Μοντελοποίηση της διάδοσης των φωτονίων στον ιστό             | 92         |
| 7.2       | Υπολογιστική αντιμετώπιση του αντιστρόφου προβλήματος         | 103        |
| 7.2.1     | Βασικά χαρακτηριστικά της θεωρητικής εξίσωσης του μοντέλου    | 103        |
| 7.2.2     | Εντοπισμός φθοροφόρου: Το αντίστροφο πρόβλημα                 | 110        |
| 7.2.3     | Αριθμητικά αποτελέσματα                                       | 113        |
|           | <b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ</b>  | <b>124</b> |
|           | <b>A.</b> Στοιχεία θεωρίας πινάκων                            | 124        |
|           | <b>B.</b> Ανάλυση Ιδιαζουσών Τιμών (SVD)                      | 127        |
|           | <b>Γ.</b> Παράγωγοι – Βελτιστοποίηση με περιορισμούς          | 129        |
|           | <b>Δ.</b> Μεθοδολογική διαδικασία                             | 131        |
|           | <b>ΑΝΑΦΟΡΕΣ</b>   | <b>133</b> |



# Εισαγωγή

Η εφαρμογή της οπτικής απεικόνισης για ιατρικούς διαγνωστικούς σκοπούς έχει προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια. Οι οπτικές διαγνωστικές μέθοδοι μπορούν να βοηθήσουν στη διάγνωση και απεικόνιση αλλοιωμένου ιστού, όπως π.χ. καρκινικά κύτταρα.

Η επιφανειακή απεικόνιση ιστού έχει αποδειχθεί άκρως επιτυχημένη στην παροχή υψηλής ακρίβειας εικόνων *in vivo*. Όμως, καθώς ο ιστός ακτινοβολείται, συμβαίνει ισχυρή σκέδαση και απορρόφηση του φωτός σε όλα τα στρώματα του ιστού. Άλλες μοντέρνες δυνατότητες για μη επεμβατική διαγνωστική απεικόνιση, όπως αυτές που βασίζονται σε ακτίνες X, έχουν αποδειχθεί περισσότερο ισχυρές στην ανίχνευση ανωμαλιών σε ιστό σε σχέση με την οπτική απεικόνιση. Όμως, αυτές οι τεχνικές είναι συχνά ανάκανες να διαχωρίσουν μεταξύ κανονικών και ήπια ανώμαλων ιστών, και επίσης οι ακτίνες X είναι επικίνδυνες και δεν συνιστώνται για συχνή χρήση. Οι οπτικές μέθοδοι, αντίθετα, μπορούν να παρέχουν τέτοιου είδους πληροφορίες χρησιμοποιώντας, για παράδειγμα, οπτικούς παράγοντες ή σηματοδύνοντας τον προσβεβλημένο ιστό με ουσίες που ονομάζονται φθοροφόρα.

Τα συστήματα που βασίζονται σε φθορισμό, χρησιμοποιούν φθοροφόρα που εκπέμπουν ακτινοβολία φθορισμού ως ανταπόκριση στην ακτινοβολία διέγερσης. Η ακτινοβολία φθορισμού, μπορεί να ανιχνευθεί και να παρέχει πληροφορίες για τη θέση του παθολογικού ιστού (π.χ. ενός όγκου). Η διπλωματική αυτή, ασχολείται με το πρόβλημα εύρεσης του βάθους στο οποίο βρίσκεται εμφυτευμένη μία φθοροφόρος μάζα μέσα στον ιστό. Το βάθος του φθοροφόρου βρίσκεται από δεδομένα που αποκτώνται μέσω δισδιάστατων εικόνων κατανομής της έντασης φθορισμού. Γενικά, η εκτίμηση μιας παραμέτρου χρησιμοποιώντας πληροφορίες από πειραματικά δεδομένα αναφέρεται ως *το αντίστροφο πρόβλημα*. Η παράμετρος που θα προσπαθήσουμε να εκτιμήσουμε είναι το βάθος του φθοροφόρου και τα πειραματικά δεδομένα είναι οι κατανομές έντασης φθορισμού. Η διαδικασία αντιστροφής θα γίνει υπολογιστικά με το πρόγραμμα Mathematica. Προτύτερα, θα παρουσιαστούν αναλυτικά, ορισμένα στοιχεία θεωρίας που έχουν να κάνουν με τα διακριτά αντίστροφα προβλήματα και τις μεθόδους επίλυσής τους.

Συγκεκριμένα:

**Κεφάλαιο 1:** Γίνεται αναφορά στη φύση του φωτός και της ύλης. Παρουσιάζεται ο δυαδικός χαρακτήρας του φωτός, η συμφωνία του φωτός, οι κβαντικές καταστάσεις ατόμων και μορίων, και το διάγραμμα Jablonski.

**Κεφάλαιο 2:** Αναφέρεται στην αλληλεπίδραση φωτός με ιστούς. Πιο συγκεκριμένα, παρουσιάζονται οι τέσσερις τύποι της αλληλεπίδρασης φωτός με ιστούς (ανάκλαση, διάθλαση, σκέδαση, απορρόφηση) και δίνεται έμφαση στα φαινόμενα σκέδασης και απορρόφησης, ορίζοντας τις αντίστοιχες οπτικές παραμέτρους και τους τρόπους

πειραματικής μέτρησής τους. Αναφέρονται επίσης, και οι κυριότερες πηγές σκέδασης και απορρόφησης μέσα σε έναν ιστό.

**Κεφάλαιο 3:** Εδώ αναλύονται οι διάφοροι τύποι φασματοσκοπίας με έμφαση στη φασματοσκοπία φθορισμού. Περιγράφονται επίσης και τα βασικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα της διαδικασίας του φθορισμού. Τέλος συζητείται η χρησιμότητα των φθοροφόρων στην ανίχνευση φθορισμού και αναφέρονται ορισμένοι βασικοί τύποι φθοροφόρων.

**Κεφάλαιο 4:** Παρουσιάζεται η μεγάλη χρησιμότητα της οπτικής βιοαπεικόνισης και τα πλεονεκτήματά της. Δίνεται έμφαση στη βιοαπεικόνιση μέσω απεικονιστικών συστημάτων φθορισμού (μικροσκοπία φθορισμού, μικροσκοπία σάρωσης, συνεστιακή μικροσκοπία, πολυφωτονική μικροσκοπία φθορισμού) και μέσω της τεχνικής της οπτικής τομογραφίας. Τέλος περιγράφεται η «οπτική βιοψία» που είναι μια από τις κυριότερες εφαρμογές της *in vivo* φασματοσκοπίας.

**Κεφάλαιο 5:** Στο κεφάλαιο αυτό επιχειρείται η κάλυψη ορισμένων βασικών στοιχείων θεωρίας των διακριτών γραμμικών αντιστρόφων προβλημάτων. Η μαθηματική ανάλυση γίνεται με χρήση θεωρίας πινάκων. Εισάγονται αρχικά ορισμένα παραδείγματα αντιστρόφων προβλημάτων. Περιγράφεται η διαδικασία της προσαρμογής μιας καμπύλης σε πειραματικά δεδομένα και παρουσιάζονται παραδείγματα αντιστροφής στην τομογραφική απεικόνιση και στον εντοπισμό θέσης. Επισημαίνεται ο τρόπος γραμμικοποίησης των μη γραμμικών προβλημάτων και η επίλυση μέσω ελαχιστοποίησης νορμών σφαλμάτων και κατάλληλης επιλογής του μοντέλου και τέλος το πώς τα σφάλματα μοντέλου και δεδομένων και η διαθέσιμη πληροφορία επηρεάζουν την ορθότητα της λύσης.

**Κεφάλαιο 6:** Στο κεφάλαιο αυτό δίνεται έμφαση στις διάφορες μαθηματικές μεθόδους επίλυσης των αντιστρόφων. Πολύ σημαντική είναι η έννοια του ψευδοαντιστρόφου πίνακα που περιγράφεται στην αρχή του κεφαλαίου. Στη συνέχεια θα δούμε πως κατηγοριοποιούνται τα αντίστροφα προβλήματα με βάση την ποσότητα της διαθέσιμης πληροφορίας. Παρουσιάζονται αναλυτικά η λύση ελαχίστων τετραγώνων και η λύση κανονικοποιημένων ελαχίστων τετραγώνων. Τέλος θα δούμε πως μπορεί να εκφραστεί μαθηματικά η ενσωμάτωση της επιπλέον πληροφορίας και θα παρουσιαστεί η μέθοδος επίλυσης SVD και η μέθοδος της παραμετρικής αναπαράστασης.

**Κεφάλαιο 7:** Εφαρμόζεται το αντίστροφο πρόβλημα για την εύρεση βάθους ενός μοναδικού φθοροφόρου που εμφυτεύεται στον ιστό. Η διαδικασία εύρεσης του μαθηματικού μοντέλου παρουσιάζεται αναλυτικά. Σύμφωνα με αυτό προκύπτει μια θεωρητική εξίσωση χωρικής κατανομής έντασης φθορισμού, η οποία προσαρμόζεται στα πειραματικά σημεία. Τα αποτελέσματα της βέλτιστης προσαρμογής, θα δώσουν και τις τιμές που αναζητάμε. Η αντιμετώπιση του αντιστρόφου προβλήματος θα γίνει υπολογιστικά μέσω του προγράμματος Mathematica.

# 1

## ΦΩΣ ΚΑΙ ΥΛΗ

Η κατανόηση των ιδιοτήτων του φωτός και της ύλης παρέχει τη βάση για να δημιουργηθεί μια εικόνα όσον αφορά τη φύση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ φωτός και βιολογικών συστημάτων. Στο κεφάλαιο αυτό θα περιγραφούν τα κύρια στοιχεία του φωτός και της ύλης, αγνοώντας μαθηματικές λεπτομέρειες. Στην Παράγραφο 1.1 έμφαση δίνεται στη φύση του φωτός που παρέχει το υπόβαθρο για έννοιες οι οποίες θα συζητηθούν αργότερα. Η Παράγραφος 1.2 ασχολείται με το γεγονός ότι οι ενέργειες των ηλεκτρονίων στα άτομα και στα μόρια μπορούν να πάρουν μόνο διακριτές τιμές, μια κατάσταση που ονομάζεται κβάντωση της ενέργειας και παίζει κυρίαρχο ρόλο στην κατανόηση των αλληλεπιδράσεων φωτός και ύλης.

### 1.1 Η ΦΥΣΗ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ

#### 1.1.1 Ο δυαδικός χαρακτήρας του φωτός

Το φως είναι ένα ηλεκτρομαγνητικό πεδίο που αποτελείται από ένα ταλαντώνουμένο ηλεκτρικό πεδίο ( $E$ ) και ένα ταλαντώνουμένο μαγνητικό πεδίο ( $B$ ). Τα δύο αυτά πεδία ικανοποιούν την ίδια μερική διαφορική εξίσωση:

$$\nabla^2(E, H) = \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2}(E, H) \quad \text{κυματική εξίσωση} \quad (1.1)$$

Όμως, η θεωρία της κβαντομηχανικής εισάγει μια σωματιδιακή περιγραφή του φωτός με πακέτα ενέργειας τα οποία ονομάζονται *φωτόνια* ή *κβάντα φωτός*. Ενώ όλα τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα ταξιδεύουν με την ίδια ταχύτητα  $c$  στο κενό, σε ένα μέσο (π.χ. ένα βιολογικό υλικό), η ταχύτητα  $v$  ενός ηλεκτρομαγνητικού κύματος, είναι διαφορετική. Ο λόγος των ταχυτήτων  $c$  προς  $v$ , ονομάζεται *δείκτης διάθλασης*,  $n$ , του μέσου. Δηλαδή

$$\frac{c}{v} = n \quad \text{ή} \quad v = \frac{c}{n} \quad (1.2)$$

Συνεπώς, το  $n$  μπορεί να θεωρηθεί σαν μια αντίσταση που προκαλείται από το μέσο κατά τη διάδοση του φωτός μέσα από αυτό.

Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα ορίζεται από την κατανομή μιας σειράς ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων ως συνάρτηση του μήκους κύματος (της απόστασης μεταξύ δύο διαδοχικών μεγίστων του κύματος), της συχνότητας ή του κυματαριθμού. Η περιοχή από το μακρύ υπέρυθρο (Far-IR) μέχρι το υπεριώδες κενού (vacuum UV) ονομάζεται *περιοχή οπτικών κυμάτων* (*optic wave region*). Ο Πίνακας 1.1 επισημαίνει τις διαφορετικές φασματικές περιοχές των οπτικών κυμάτων σε σχέση με το μήκος κύματος (σε μονάδες nm,  $1\text{nm} = 10^{-9}\text{m} = 10^{-3}\mu\text{m}$ ) και τον κυματαριθμό (σε  $\text{cm}^{-1}$ ).

Ανάλογα με την περιοχή, χρησιμοποιούνται και διαφορετικές μονάδες για τον χαρακτηρισμό του κύματος. Για την ορατή περιοχή, η κοινή πρακτική είναι να χρησιμοποιείται το nm (ή το angstrom ( $\text{\AA}$ ) =  $10^{-1}\text{nm}$ ) σαν μονάδα του μήκους κύματος και το  $\text{cm}^{-1}$  σαν μονάδα του κυματαριθμού. Για την περιοχή από το κοντινό υπέρυθρο (near-IR) μέχρι το μεσαίο υπέρυθρο (mid-IR), χρησιμοποιείται συνήθως στη φασματοσκοπία ο κυματαριθμός σε  $\text{cm}^{-1}$  για τον χαρακτηρισμό ενός κύματος.

**Πίνακας 1.1. Οι φασματικές περιοχές του φωτός**

| Περιοχή                           | Far-IR      | Mid-IR    | Near-IR                  | Ορατή                               | UV                                | UV κενού               |
|-----------------------------------|-------------|-----------|--------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|------------------------|
| Μήκος κύματος (nm)                | $5000-10^6$ | 2500-5000 | 700-2500                 | 400-700                             | 200-400                           | 100-200                |
| Κυματαριθμός ( $\text{cm}^{-1}$ ) | 200-10      | 4000-200  | $1.4 \times 10^4 - 4000$ | $2.5 \times 10^4 - 1.4 \times 10^4$ | $5 \times 10^4 - 2.5 \times 10^4$ | $10^5 - 5 \times 10^4$ |

### 1.1.2 Το φως ως κύμα

Οι περισσότερες αλληλεπιδράσεις μεταξύ φωτός και μορίων βιολογικού ενδιαφέροντος, είναι ηλεκτρικής φύσης. Κατά συνέπεια, η περιγραφή ενός φωτεινού κύματος εστιάζει στη φύση του ταλαντωνόμενου ηλεκτρικού πεδίου  $E$ , το οποίο έχει μία κατεύθυνση και ένα πλάτος (η τιμή που αντιστοιχεί στο μέγιστο ή ελάχιστο του κύματος). Η κατεύθυνση του ηλεκτρικού πεδίου για ένα επίπεδο κύμα που ταξιδεύει σε μία διεύθυνση είναι πάντα κάθετη και στην κατεύθυνση διάδοσης, αλλά και στο ταλαντωνόμενο μαγνητικό πεδίο,  $B$ . Όμως, το φως μπορεί να πολωθεί γραμμικά, με το ηλεκτρικό πεδίο σε κάθε σημείο να είναι σε μία κατεύθυνση. Όταν το ηλεκτρικό πεδίο κατανέμεται ισόποσα σε ένα επίπεδο κάθετο στη διεύθυνση διάδοσης, ονομάζεται κυκλικά πολωμένο.

Η διάδοση του φωτός στην  $z$  κατεύθυνση με το ταλαντωνόμενο ηλεκτρικό πεδίο του να είναι  $E(z,t)$ , περιγράφεται μαθηματικά ως

$$E(z,t) = E_0 \cos(\omega t - kz) \quad (1.3)$$

$$k^2 = \frac{\varepsilon\omega^2}{c^2} \quad (1.4)$$

με το  $E_0$  να ορίζει το πλάτος του ηλεκτρικού πεδίου. Ο όρος  $\omega$  είναι η γωνιακή συχνότητα του φωτός:  $\omega = 2\pi\nu$ . Το  $k$  είναι το κυματόνισμα που ορίζεται ως

$$k = \frac{2\pi}{\lambda} \quad (1.5)$$

και χαρακτηρίζει τη φάση του οπτικού κύματος ως προς ένα σημείο αναφοράς ( $z=0$ ). Έτσι, το  $kz$  περιγράφει την σχετική μετατόπιση φάσης ως προς το σημείο αναφοράς.

Ο όρος  $\varepsilon$  της Εξίσωσης 1.4 ονομάζεται διηλεκτρική σταθερά, η οποία για τα οπτικά κύματα ισούται με  $n^2$ , όπου  $n$  ο δείκτης διάθλασης του μέσου. Η ταχύτητα ενός οπτικού κύματος περιγράφεται με τη διάδοση των κυμάτων σε ένα μέσο. Αυτή η διάδοση χαρακτηρίζεται από δύο ταχύτητες:

- Την ταχύτητα φάσης, η οποία περιγράφει την πορεία ενός μετώπου φάσης (δηλ. τη χωρική μεταβολή της κορυφής ενός κύματος) για ένα μοναδικό κύμα. Η ταχύτητα φάσης ισούται με αυτό που προηγουμένως ορίστηκε ως ταχύτητα του ηλεκτρομαγνητικού κύματος σε ένα μέσο:  $v = \frac{c}{n}$ .
- Την ταχύτητα ομάδας, που περιγράφει την διάδοση ενός κυματοπακέτου. Ένα κυματοπακέτο συνίσταται από πολλά κύματα που ταξιδεύουν μαζί.

Γενικά, ένα υλικό, ως ένα οπτικό μέσο διάδοσης, παρουσιάζει μια διασπορά (αλλαγή) του δείκτη διάθλασης σαν συνάρτηση του μήκους κύματος. Η κανονική συμπεριφορά διασποράς παρουσιάζει αύξηση του δείκτη διάθλασης  $n$  με τη μείωση του μήκους κύματος. Συνεπώς η εξίσωση  $v = c/n$  προβλέπει ότι η ταχύτητα φάσης θα αυξάνεται με την αύξηση του μήκους κύματος. Με άλλα λόγια, το κόκκινο φως θα ταξιδεύει γρηγορότερα από ότι το μπλε φως. Η ταχύτητα ομάδας ενός κυματοπακέτου συμπεριφέρεται όμοια. Αυτό το άπλωμα της ταχύτητας ομάδας για διαφορετικά μήκη κύματος είναι γνωστό σαν φαινόμενο διασποράς της ταχύτητας ομάδας. Έτσι, το φως ενός παλμού laser διευρύνεται κατά τη διάδοσή του σε ένα μέσο, επειδή το μπλε άκρο του φάσματος του παλμού υστερεί χρονικά σε σχέση με το κόκκινο άκρο.

### 1.1.3 Συμφωνία του φωτός

Η συμφωνία του φωτός καθορίζει τις συλλογικές ιδιότητες των οπτικών κυμάτων που παράγονται από μια φωτεινή πηγή. Περιγράφει τη σχέση φάσης μεταξύ διαφορετικών κυμάτων. Αν διατηρείται μια σταθερή σχέση φάσης, η φωτεινή πηγή ονομάζεται

σύμφωνη. Αν αντίθετα η σχέση φάσης είναι εντελώς τυχαία, χαρακτηρίζεται ως ασύμφωνη. Όμως, μια φωτεινή πηγή μπορεί επίσης να είναι και μερικώς σύμφωνη. Μια περισσότερο σχολαστική και ποσοτική περιγραφή της συμφωνίας περιλαμβάνει την έννοια του μήκους συμφωνίας, την κλίμακα δηλαδή του μήκους κατά την οποία μια σταθερή σχέση φάσης διατηρείται.

Τα δύο χαρακτηριστικά που καθορίζουν όλες τις ιδιότητες συμφωνίας του φωτός είναι η χρονική και η χωρική συμφωνία:

- *Χρονική Συμφωνία.* Ορίζεται από το άπλωμα συχνότητας του κυματοπακέτου. Εάν όλα τα κύματα που εκπέμπονται από μια φωτεινή πηγή είναι της ίδιας συχνότητας ή εντός ενός πολύ στενού εύρους, χαρακτηρίζονται από χρονική συμφωνία.
- *Χωρική Συμφωνία.* Ορίζεται από την χωρική σχέση μεταξύ των φάσεων των διαφορετικών κυμάτων που εκπέμπονται από μια φωτεινή πηγή. Αν υπάρχει μια σταθερή σχέση φάσης και διατηρείται κατά τη διάδοση ενός κυματοπακέτου στο χώρο, η φωτεινή δέσμη είναι χωρικά σύμφωνη.

#### 1.1.4 Το φως ως σωματίδια φωτονίων

Η κυματική εικόνα του φωτός που περιγράφηκε προηγουμένως, δεν εξηγεί επαρκώς τον τρόπο με τον οποίο η ενέργεια του φωτός απορροφάται ή σκεδάζεται. Η αλληλεπίδραση του φωτός με τα σωματίδια (όπως τα ηλεκτρόνια) της ύλης περιλαμβάνει ανταλλαγή ενέργειας και ορμής. Αυτές οι διαδικασίες μπορούν να περιγραφούν μόνο αν υποθεθεί ότι το φως συμπεριφέρεται και ως σωματίδια, που ονομάζονται φωτόνια. Ένα φωτόνιο μιας συγκεκριμένης συχνότητας  $\nu$  έχει μια διακριτή, καθορισμένη ενέργεια με τιμή  $h\nu$ , όπου  $h$  η σταθερά του Planck ( $h=6.63 \times 10^{-34}$  Jsec). Ως αποτέλεσμα, η ενέργεια ενός ηλεκτρομαγνητικού κύματος είναι κβαντισμένη (διακριτή) και όχι συνεχής μεταβλητή. Η μικρότερη ενέργεια ενός ηλεκτρομαγνητικού κύματος είναι ίση με αυτήν ενός φωτονίου. Η ολική ενέργεια  $E$  είναι ίση με  $Nh\nu$ , όπου το  $N$  είναι ο αριθμός των φωτονίων:

$$E = h\nu \quad \text{ή} \quad N = \text{αριθμός φωτονίων} = E/h\nu$$

Η κβάντωση της ενέργειας ενός φωτονίου χρησιμοποιείται στην περιγραφή της απορρόφησης, της εκπομπής, ή της σκέδασης του φωτός από την ύλη.

Τα φωτόνια επίσης, ως σωματίδια, μεταφέρουν ορμή. Η ορμή,  $p$ , ενός φωτονίου δίνεται από την σχέση

$$p = h/\lambda = h\nu/c$$

Η ορμή ενός φωτονίου «έρχεται στο παιχνίδι» όταν ένα φωτόνιο μεταβάλλει την κατεύθυνση διάδοσής του καθώς σκεδάζεται από ένα άλλο σωματίδιο, ή καθώς διαθλάται στην επιφάνεια ενός μέσου.

## 1.2 ΚΒΑΝΤΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΥΛΗΣ

### 1.2.1 Κβαντικές καταστάσεις ατόμων

Η εξίσωση Shrodinger για την περίπτωση ενός ατόμου προβλέπει ότι τα ηλεκτρόνια κινούνται γύρω από τον πυρήνα ενός ατόμου σε επιτρεπτά ενεργειακά επίπεδα. Για ένα συγκεκριμένο κβαντικό επίπεδο που καταλαμβάνει ένα ηλεκτρόνιο, η πιθανότητα να βρεθεί το ηλεκτρόνιο στο χώρο γύρω από τον πυρήνα περιγράφεται από μια κυματοσυνάρτηση που ορίζει ένα τροχιακό. Ένα τροχιακό είναι η περιοχή του χώρου όπου η πιθανότητα να βρεθεί ένα ηλεκτρόνιο είναι υψηλή. Η εξίσωση Schrodinger για ένα άτομο υδρογόνου μπορεί να λυθεί μαθηματικά με ακρίβεια σε αντίθεση με ένα πολυηλεκτρονιακό άτομο όπου υπάρχει άπωση μεταξύ δύο ηλεκτρονίων που κινούνται ταυτόχρονα γύρω από τον πυρήνα. Η ηλεκτρονιακή κατανομή στα πολυηλεκτρονιακά άτομα ακολουθεί τους επόμενους κανόνες:

- Τον νόμο *Aufbau*, ο οποίος υποδεικνύει ότι τα ηλεκτρόνια πρέπει να καταλαμβάνουν διαδοχικά τροχιακά αυξανόμενης ενέργειας, αρχίζοντας από το τροχιακό χαμηλότερης ενέργειας.
- Την αρχή του *Pauli*, σύμφωνα με την οποία κάθε τροχιακό καταλαμβάνει το πολύ δύο ηλεκτρόνια, υπό την προϋπόθεση ότι τα σπιν τους είναι αντίθετα.
- Τον κανόνα του *Hund*, ο οποίος λέει ότι αν περισσότερα από ένα τροχιακά έχουν την ίδια ενέργεια, μια κατάσταση που ονομάζεται εκφυλισμός, τότε τα ηλεκτρόνια τείνουν να γεμίσουν ένα-ένα κάθε τροχιακό πριν δημιουργηθούν ζεύγη ηλεκτρονίων.

Στην περίπτωση πολλών ηλεκτρονίων, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους παράγουν τους συνολικούς κβαντικούς αριθμούς  $L$  και  $M_L$ . Παρόμοια, η σύζευξη των σπιν τους παράγει έναν συνολικό κβαντικό αριθμό  $S$ . Άλλη μια σημαντική κατάσταση, είναι η σύζευξη σπιν-τροχιάς, η οποία προκύπτει από την αλληλεπίδραση μεταξύ της μαγνητικής ροπής λόγω σπιν του ηλεκτρονίου και του μαγνητικού πεδίου που παράγεται από την τροχιακή κίνηση του ηλεκτρονίου γύρω από τον πυρήνα. Η σύζευξη αυτή, που είναι ισχυρότερη για βαριά άτομα, οδηγεί στο χαρακτηρισμό της συνολικής γωνιακής στροφορμής από τον κβαντικό αριθμό  $J$ .

Τα παραπάνω φαινόμενα διαχωρίζουν τα ατομικά ενεργειακά επίπεδα τα οποία χαρακτηρίζονται από ένα συμβολισμό της μορφής  $^{2S+1}\{L\}_J$ . Το  $2S+1$  είναι η πολλαπλότητα του σπιν. Όταν  $S = 0$ , η κατάσταση ονομάζεται μονήρης ( $2S+1=1$ ), και όταν  $S = 1$ , η κατάσταση ονομάζεται τριπλή ( $2S+1=3$ ). Το  $\{L\}$  με το κατάλληλο γράμμα αντιπροσωπεύει την ολική τροχιακή στροφορμή. Για παράδειγμα οι τιμές 0,1,2,3 αντιστοιχούν σε  $S, P, D, F$ . Τα σύμβολα αυτά χρησιμοποιούνται στην αναπαράσταση των μεταβάσεων μεταξύ δύο κβαντισμένων καταστάσεων ενός ατόμου ή ιόντος.

### 1.2.2 Κβαντικές καταστάσεις μορίων

Ένα μόριο περιέχει περισσότερους από έναν πυρήνες και η εξίσωση Shrodinger περιλαμβάνει και ηλεκτρονιακές και πυρηνικές κινήσεις, όπως επίσης και δυναμικές ενέργειες λόγω άπωσης ηλεκτρονίου-ηλεκτρονίου, έλξης ηλεκτρονίου-πυρήνα, άπωσης πυρήνα-πυρήνα. Σύμφωνα με την προσέγγιση Born-Oppenheimer η λύση της εξίσωσης Shrodinger χωρίζεται σε δύο μέρη. Το ένα μέρος περιγράφει τη γρήγορη κίνηση των ηλεκτρονίων, τα οποία κινούνται στο αργά μεταβαλλόμενο ηλεκτροστατικό πεδίο του πυρήνα, και το άλλο περιγράφει τις αργές κινήσεις των πυρήνων, οι οποίοι δέχονται ένα μέσο πεδίο δυναμικού λόγω των ταχέως κινούμενων ηλεκτρονίων. Το αποτέλεσμα είναι ότι προκύπτουν κβαντισμένες *ηλεκτρονιακές, ταλαντωτικές και περιστροφικές* καταστάσεις. Οι ηλεκτρονιακές καταστάσεις ενός μορίου αποκτώνται χρησιμοποιώντας τη λεγόμενη προσέγγιση μοριακής τροχιάς (Molecular Orbital, MO), η οποία περιλαμβάνει την επικάλυψη των ατομικών τροχιακών από άτομα που σχηματίζουν δεσμούς. Από την άλλη, οι ταλαντωτικές ενεργειακές καταστάσεις ενός μορίου περιγράφονται από το μοντέλο του αρμονικού ταλαντωτή.

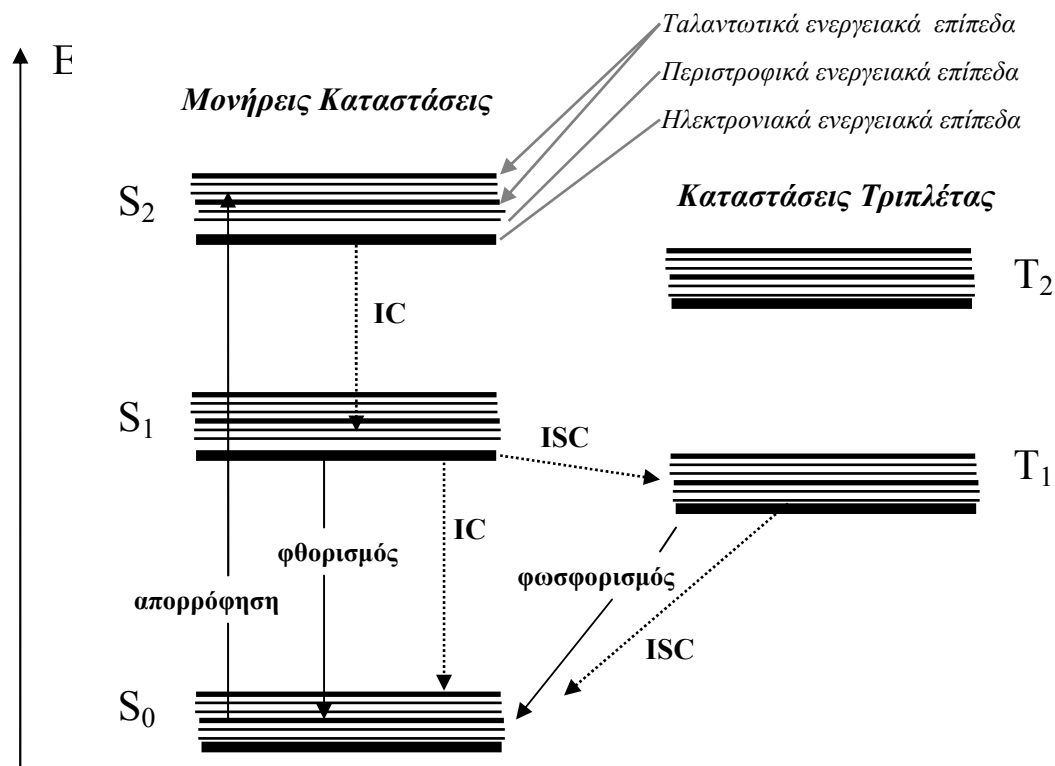
Έτσι, λόγω της ύπαρξης αυτών των κβαντισμένων ενεργειακών επιπέδων, η αλληλεπίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με την ύλη εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το αν η συχνότητα της ακτινοβολίας, δηλαδή η ενέργεια  $h\nu$  του φωτονίου, «ταιριάζει» σε κάποιες από τις διαθέσιμες ενεργειακές μεταβάσεις: το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης εξαρτάται από τη σχέση της τιμής της ενέργειας αυτής με τις πιθανές διαφορές των ενεργειακών σταθμών.

### 1.2.3 Το διάγραμμα Jablonski

Στην παράγραφο αυτή θα συζητηθούν οι διαδικασίες που μπορεί να συμβούν μετά από μια διέγερση ενός μορίου σε μια ανώτερη ενεργειακή στάθμη που δημιουργείται λόγω απορρόφησης φωτός από το μόριο αυτό. Αυτές οι διαδικασίες μπορεί να είναι *ακτινοβολητικές*, όπου ένα φωτόνιο εκπέμπεται και το μόριο επιστρέφει πίσω στην βασική του κατάσταση. Μπορεί επίσης να είναι *μη ακτινοβολητικές*, όπου η διεγερμένη ενεργειακή κατάσταση αποδιεγείρεται με την παραγωγή θερμότητας ή μέσω μιας χημικής αντίδρασης. Η επιστροφή στη βασική κατάσταση μπορεί επίσης να περιλαμβάνει έναν συνδυασμό των δύο παραπάνω διαδικασιών. Οι μη ακτινοβολητικές διαδικασίες που παράγουν θερμότητα, αντιστοιχούν σε μετάβαση από ένα ηλεκτρονιακό επίπεδο σε ένα άλλο χαμηλότερης ενέργειας, με την ενέργεια που περισσεύει να μετατρέπεται σε *ταλαντωτική* ενέργεια μέσω μιας αλληλεπίδρασης που ονομάζεται *σύζευξη ηλεκτρονιακής-ταλαντωτικής κατάστασης (electronic-vibrational state coupling)*. Ως αποτέλεσμα, η περίσσεια της ταλαντωτικής ενέργειας μετατρέπεται σε θερμότητα. Αυτή η διαδικασία ονομάζεται *ταλαντωτική χαλάρωση (vibrational relaxation)*.

Η μετάβαση από μια κατάσταση σε μια άλλη και οι πολλαπλές πιθανές ακτινοβολητικές και μη ακτινοβολητικές διαδικασίες σε μια οργανική δομή, συχνά αναπαρίστανται από το διάγραμμα Jablonski που φαίνεται στην Εικόνα 1.1





**Εικόνα 1.1.** Το διάγραμμα Jablonski που περιγράφει τις πιθανές καταλήξεις των αποδιεγέρσεων. Στις αποδιεγέρσεις, με συμπαγή βέλη παριστάνονται οι ακτινοβολητικές διαδικασίες και τα διακεκομμένα βέλη αντιπροσωπεύουν τις μη ακτινοβολητικές διαδικασίες. Ο κάθετος άξονας παριστάνει την ενέργεια (E).

Η βασική κατάσταση των περισσότερων μορίων (συγκεκριμένα οργανικών) περιέχει ζεύγη ηλεκτρονίων. Αυτό έχει ως συνέπεια το ολικό σπιν να είναι μηδέν ( $S=0$ ) και η πολλαπλότητα του σπιν ίση με ένα ( $2S+1=1$ ). Αυτές ονομάζονται μονήρεις καταστάσεις (singlet states) και συμβολίζονται με  $S_0, S_1, S_2, \dots, S_n$ , αυξανόμενης της ενέργειας. Εξάιρεση αποτελεί το οξυγόνο ( $O_2$ ), όπου η βασική του κατάσταση είναι μια τριπλέτα (triplet)  $T_0$ . Αυτή η περίπτωση δεν φαίνεται στην Εικόνα 1.1, που περιγράφει μόνο την περίπτωση μορίων με μια μονήρη βασική κατάσταση,  $S_0$ . Για μόρια των οποίων οι βασικές καταστάσεις είναι οι  $S_0$ , η διέγερση ενός ηλεκτρονίου από ένα ηλεκτρονιακό ζεύγος σε μια ανώτερη ενεργειακή κατάσταση, μπορεί να οδηγήσει σε μια κατάσταση όπου είτε δύο ηλεκτρόνια είναι ακόμα ζευγαρωμένα (όπως η  $S_1$ ) ή δύο ηλεκτρόνια είναι

ασύζευκτα (μια κατάσταση τριπλέτας T). Οι διεγερμένες καταστάσεις τριπλέτας συμβολίζονται με  $T_1$ ,  $T_2$  και ούτω καθεξής, με σειρά αυξανόμενης ενέργειας.

Σύμφωνα με την κβαντομηχανική, για διέγερση στο ίδιο τροχιακό, η ενέργεια της διεγερμένης τριπλής κατάστασης (όπως η  $T_1$ ) είναι χαμηλότερη από την αντίστοιχη της μονήρους κατάστασης ( $S_1$  στην περίπτωση αυτή). Στην Εικόνα 1.1 περιγράφονται οι πιθανότητες της κατάληξης μιας διεγερμένης μονήρους κατάστασης  $S_2$ . Υποθέτουμε ότι η διέγερση γίνεται σε ένα ηλεκτρονιακό επίπεδο  $S_2$ . Μια μη ακτινοβολητική μετάβαση από την κατάσταση  $S_2$  στην  $S_1$  είναι γενικά ο κυρίαρχος μηχανισμός. Πολύ λίγα μόρια εμφανίζουν εκπομπή ακτινοβολίας από την  $S_2$ . Αυτή η μετάβαση μεταξύ δύο ηλεκτρονιακών καταστάσεων της ίδιας πολλαπλότητας του σπιν (όπως από την  $S_2$  στην  $S_1$ ) καλείται *εσωτερική μετατροπή* (*internal conversion-IC*). Η διαδικασία IC ακολουθείται από μια απότομη ταλαντωτική αποδιέγερση όπου η πλεονάζουσα ταλαντωτική ενέργεια μετατρέπεται σε θερμότητα και το μόριο καταλήγει στο χαμηλότερο ταλαντωτικό επίπεδο της ηλεκτρονιακής κατάστασης  $S_1$ . Από εκεί μπορεί να επιστρέψει στην βασική κατάσταση  $S_0$  εκπέμποντας ένα φωτόνιο. Αυτή η εκπομπή, μέσω μετάβασης από μια κατάσταση σε μια άλλη της ίδιας πολλαπλότητας σπιν, ονομάζεται *φθορισμός* (*fluorescence*). Εναλλακτικά, μπορεί να συμβεί μετάβαση από την  $S_1$  στην  $T_1$  μέσω μιας άλλης μη ακτινοβολητικής διαδικασίας που καλείται *μετάβαση συστήματος* (*intersystem crossing-ISC*) μεταξύ δύο καταστάσεων διαφορετικού σπιν. Τελικά, η διεγερμένη ταλαντωτική κατάσταση, ακολουθούμενη από μια ταλαντωτική αποδιέγερση, καταλήγει στο μηδενικό ταλαντωτικό επίπεδο της κατάστασης  $T_1$ . Από εδώ, μια ακτινοβολητική διαδικασία εκπομπής που ονομάζεται *φωσφορισμός* (*phosphorescence*), οδηγεί στην  $S_0$ . Αυτή είναι μια ασθενέστατη διαδικασία εκπομπής και έχει έτσι μεγάλο χρόνο ζωής, που σε μερικές περιπτώσεις είναι της τάξης των second. Πολλές φωτοχημικές διαδικασίες πηγάζουν από αυτή τη μορφή (μεγάλου χρόνου ζωής) της τριπλής κατάστασης. Πολλά μέταλλα, το μοριακό οξυγόνο, παραμαγνητικά μόρια και βαριά άτομα έχουν αυξημένο ρυθμό μετάβασης συστήματος, μειώνοντας έτσι το φθορισμό και αυξάνοντας τη διαδικασία που λαμβάνει χώρα από τη διεγερμένη τριπλή κατάσταση.

Τέλος, να σημειωθεί ότι μπορεί να υπάρξει και μια μη ακτινοβολητική μετάβαση συστήματος από την  $T_1$  στην  $S_0$ .

# 2

## Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ ΜΕ ΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

Σε αυτό το κεφάλαιο θα περιγραφούν τα βασικά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα όταν το φως αλληλεπιδρά με τους ιστούς. Οι γνώσεις για τις οπτικές αλληλεπιδράσεις αποτελούν τα απαραίτητα εργαλεία για τις εφαρμογές της βιοφωτονικής. Δίνεται έμφαση στις διαδικασίες απορρόφησης και σκέδασης που λαμβάνουν χώρα μέσα στους ιστούς, ορίζονται οι οπτικές παράμετροι και οι τρόποι πειραματικής μέτρησης τους, και περιγράφεται η γενική συμπεριφορά του φωτός στους ιστούς ανάλογα και με την περιοχή του φάσματος.

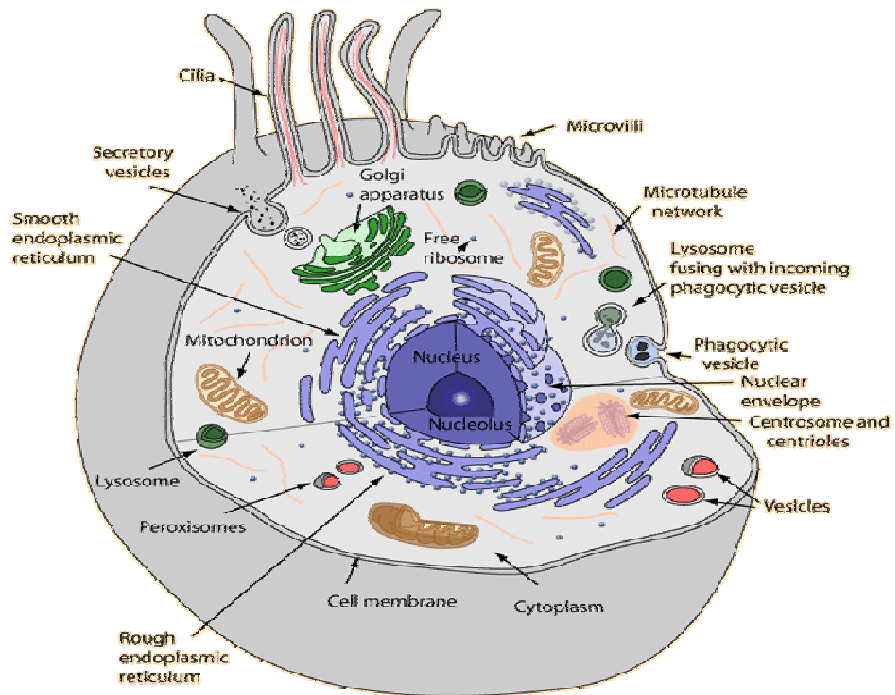
### 2.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

Ένας ιστός είναι μια πολυκυτταρική βιοδομή στην οποία τα κύτταρα είναι εξειδικευμένα να επιτελούν συγκεκριμένες λειτουργίες, αλληλεπιδρώντας το ένα με το άλλο. Οι λειτουργίες των πολλών διαφορετικών τύπων κυττάρων μέσα στους ιστούς είναι συντονισμένες και επιτρέπουν συλλογικά σε έναν οργανισμό να εκτελεί διαφόρων ειδών λειτουργίες.

Τα εσωτερικά συστατικά ενός κυττάρου, που περικλείονται από την πλασματική μεμβράνη, περιλαμβάνουν πολλά διαφορετικά οργανίδια (συστατικά μέρη) όπως το κυτταρόπλασμα, κυτταροσκελετός (cytoskeleton), ο πυρήνας, τα μιτοχόνδρια, το ενδοπλασματικό δίκτυο (endoplasmic reticulum, ER), το σύμπλεγμα Golgi, τα λυσοσώματα, και τα υπεροξειδισώματα (peroxisomes). Ένας ιστός περιέχει επίσης μόρια προσκόλλησης κυττάρου (cell-adhesion molecules, CAM): πρωτεΐνες που λειτουργούν ως κολλητικό υλικό για διαφορετικά κύτταρα, εξωκυττάρια ουσία (Extracellular matrix, ECM): ένα πλέγμα από πρωτεΐνες και πολυμερή ανάμεσα στους χώρους μεταξύ των κυττάρων), και επαφές κυττάρου (cell junctions): μια συστοιχία από μόρια προσκόλλησης κυττάρου που σταθεροποιούν την αλληλεπίδραση κυττάρου-κυττάρου και επιτελούν τις λειτουργίες επικοινωνίας μεταξύ τους, (Εικόνα 2.1).

Υπάρχουν περισσότερα από 200 ξεχωριστά είδη κυττάρων που οργανώνονται για να δημιουργήσουν μια ποικιλία τύπων ιστών. Οι πιο κοινοί τύποι ιστών είναι οι επιθηλιακοί ιστοί, οι μυϊκοί ιστοί, οι συνδετικοί ιστοί και οι ιστοί νεύρων.

Ένας ιστός συμπεριφέρεται σαν ένα συμπαγές αυτοϋποστηριζόμενο μέσο (σε αντίθεση με τα κύτταρα που πρέπει να υποστηρίζονται από ένα μέσο) στο οποίο η διάδοση του φωτός προκαλεί φαινόμενα απορρόφησης, σκέδασης, διάθλασης και ανάκλασης όπως θα περιγραφεί στην επόμενη παράγραφο.

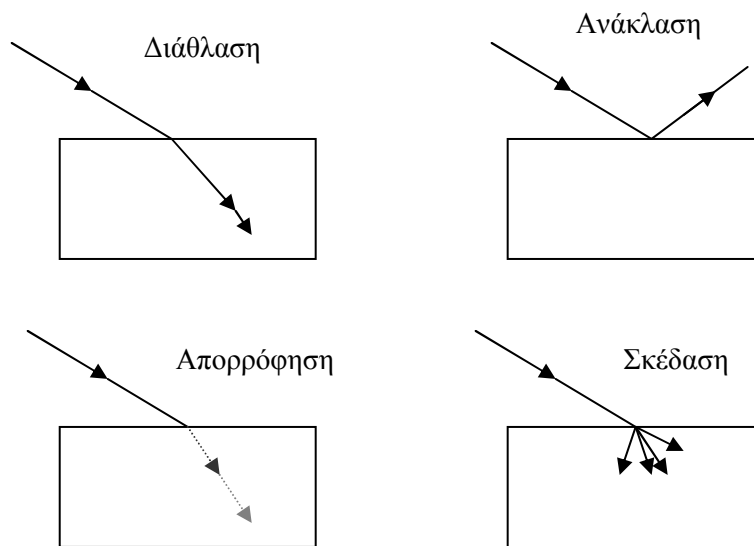


**Εικόνα 2.1.** Η εσωτερική δομή ενός ευκαρυωτικού κυττάρου. Η εικόνα δείχνει τους διάφορους πιθανούς τύπους των οργανιδίων που μπορεί να βρίσκονται μέσα στο κύτταρο.

## 2.2 ΟΙ ΤΥΠΟΙ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ ΜΕ ΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

Γενικά, η ύλη μπορεί να επιδράσει στην ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με πολλούς τρόπους. Κατά κανόνα υπάρχουν τέσσερα φαινόμενα που μπορεί να εμπλακούν κατά τη διάδοση της ακτινοβολίας σε ένα μέσο όπως ο ιστός (Εικόνα 2.2):

1. ανάκλαση
2. διάθλαση
3. απορρόφηση
4. σκέδαση



**Εικόνα 2.2:** Οι τέσσερις πιθανές μορφές αλληλεπίδρασης μεταξύ φωτός και ιστού

Η ανάκλαση και η διάθλαση σχετίζονται στενά μεταξύ τους με τους νόμους Fresnel. Στις ιατρικές εφαρμογές των laser, η διάθλαση παίζει σημαντικό ρόλο μόνο σε περιπτώσεις ακτινοβολήσης διαπερατών μέσων, όπως για παράδειγμα ο ιστός του κερατοειδή. Σε αδιαφανή μέσα το φαινόμενο της διάθλασης είναι συνήθως δύσκολο να μετρηθεί λόγω των έντονων φαινομένων σκέδασης και απορρόφησης. Μόνο τα φωτόνια τα οποία δεν ανακλώνται ή δεν απορροφώνται, διέρχονται από τη διαχωριστική επιφάνεια ιστού-αέρα και συνεισφέρουν στην ένταση που καταγράφεται πίσω από τη διαχωριστική επιφάνεια. Ο λόγος της διερχόμενης προς την προσπίπτουσα ένταση ονομάζεται *διαπερατότητα (transmittance)*.

Τα τρία φαινόμενα που οδηγούν σε απώλειες της έντασης της ακτινοβολίας είναι η *ανάκλαση*, η *απορρόφηση* και η *σκέδαση*. Το ποιο φαινόμενο θα κυριαρχήσει εξαρτάται από τον τύπο του υλικού μέσου και από το προσπίπτον μήκος κύματος. Το μήκος κύματος δηλαδή, καθορίζει τους συντελεστές απορρόφησης και σκέδασης -που θα οριστούν μετέπειτα- καθώς επίσης και το δείκτη διάθλασης. Ο δείκτης διάθλασης καθορίζει τη συνολική ανακλαστικότητα του στόχου και παρουσιάζει ισχυρή εξάρτηση από το μήκος κύματος, μόνο σε περιοχές υψηλής απορροφητικότητας.

### 2.2.1 Ανάκλαση και διάθλαση

Ως ανάκλαση ορίζεται η επιστροφή της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από επιφάνειες στις οποίες προσπίπτει. Γενικά, μια επιφάνεια ανάκλασης είναι το φυσικό σύνορο μεταξύ δύο υλικών με διαφορετικούς δείκτες διάθλασης, όπως ο αέρας και ο ιστός. Ο νόμος της

ανάκλασης απαιτεί η προσπίπτουσα και ανακλώμενη ακτίνα να παραμένουν πάνω στο ίδιο επίπεδο, που ονομάζεται επίπεδο πρόσπτωσης. Επίσης, προβλέπει ότι η γωνία ανάκλασης  $\theta'$  ισούται με τη γωνία πρόσπτωσης  $\theta$  ( $\theta' = \theta$ ). Οι γωνίες  $\theta$  και  $\theta'$  ορίζονται μεταξύ της καθέτου στην επιφάνεια, και της προσπίπτουσας και ανακλώμενης δέσμης αντίστοιχα όπου η επιφάνεια θεωρείται ότι είναι λεία και οι ανωμαλίες της είναι μικρές συγκρινόμενες με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας. Το γεγονός αυτό οδηγεί στη λεγόμενη *κατοπτρική ανάκλαση* (*specular reflection*). Στην αντίθετη περίπτωση, όταν δηλαδή οι ανωμαλίες της ανακλαστικής επιφάνειας είναι συγκρίσιμες ή και μεγαλύτερες από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας έχουμε *διάχυτη ανάκλαση* (*diffuse reflection*). Στην περίπτωση αυτή, αρκετές ακτίνες ανακλώνται εκτός του επιπέδου πρόσπτωσης και δεν ισχύει πλέον η ισότητα  $\theta' = \theta$ . Η ανάκλαση διάχυσης είναι κοινό φαινόμενο για όλους τους ιστούς, αφού κανείς τους δεν παρουσιάζει έντονα στιλπνές επιφάνειες όπως οι οπτικοί καθρέπτες.

Η διάθλαση συνήθως συμβαίνει όταν η ανακλαστική επιφάνεια, διαχωρίζει δύο μέσα διαφορετικών δεικτών διάθλασης και δημιουργείται λόγω αλλαγής της ταχύτητας του κύματος φωτός. Η απλή μαθηματική έκφραση που περιγράφει τη διάθλαση, ονομάζεται νόμος του Snell και δίνεται από τη σχέση

$$\frac{\sin \theta}{\sin \theta''} = \frac{u}{u'} \quad (2.1)$$

όπου  $\theta''$  είναι η γωνία της διάθλασης και  $u, u'$  οι ταχύτητες του φωτός πριν και μετά την ανακλαστική επιφάνεια αντίστοιχα. Εφόσον οι αντίστοιχοι δείκτες διάθλασης ορίζονται ως  $n = \frac{c}{u}$ ,  $n' = \frac{c}{u'}$ , με το  $c$  να είναι η ταχύτητα του φωτός στο κενό, ο νόμος του Snell γράφεται

$$n \sin \theta = n' \sin \theta''. \quad (\text{νόμος του Snell}) \quad (2.2)$$

Για  $\sin \theta > n'/n$  η παραπάνω εξίσωση δεν πληρείται, που σημαίνει ότι δε θα υπάρξει διάθλαση. Αυτό το φαινόμενο αναφέρεται και ως *ολική ανάκλαση*.

Η *ειδική ανακλαστικότητα* (*reflectivity*) μιας επιφάνειας είναι ένα μέτρο του ποσού της ανακλώμενης ακτινοβολίας. Ορίζεται ως ο λόγος του ανακλώμενου προς το προσπίπτον πλάτος ηλεκτρικού πεδίου. *Ανακλαστικότητα* (*reflectance*) είναι ο λόγος των αντίστοιχων εντάσεων και άρα ισούται με το τετράγωνο της ειδικής ανακλαστικότητας. Η ειδική ανακλαστικότητα και η ανακλαστικότητα εξαρτώνται από τη γωνία πρόσπτωσης, την πόλωση της ακτινοβολίας και τους δείκτες διάθλασης των υλικών που ορίζουν την συνοριακή επιφάνεια.

Η ανάκλαση του φωτός από έναν ιστό πραγματοποιείται στην επιφάνειά του. Όσο μεγαλύτερη είναι η γωνία πρόσπτωσης, τόσο μεγαλύτερη θα είναι η ανάκλαση από την επιφάνεια. Συνεπώς, μέγιστο φως θα αποθεθεί στον ιστό (διαπερνά τον ιστό), όταν προσπίπτει σε  $90^\circ$  (η φωτεινή δέσμη είναι κάθετη στην επιφάνεια του ιστού).

### 2.2.2 Απορρόφηση

Κατά τη διάρκεια της απορρόφησης η ένταση ενός προσπίπτοντος ηλεκτρομαγνητικού κύματος εξασθενεί καθώς διαδίδεται σε ένα μέσο. Ως *απορροφητικότητα* (*absorbance*) ενός μέσου, ορίζεται ο λόγος της απορροφούμενης έντασης προς την προσπίπτουσα ένταση. Η απορρόφηση οφείλεται σε μια μερική μετατροπή της ενέργειας του φωτός σε θερμική κίνηση ή σε ταλαντώσεις των μορίων του απορροφητικού υλικού. Ένα πλήρως διαπερατό υλικό επιτρέπει τη διέλευση του φωτός χωρίς καθόλου απορρόφηση. Αυτό σημαίνει ότι η ολική ενέργεια ακτινοβολίας που εισέρχεται σε ένα τέτοιο μέσο είναι ίση με αυτήν που εξέρχεται από αυτό. Μεταξύ των βιολογικών ιστών, ο κερατοειδής και ο φακός μπορούν να θεωρηθούν ότι είναι σε υψηλό βαθμό διαπερατοί για το ορατό φως. Αντίθετα, τα μέσα στα οποία η ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας πέφτει πρακτικά στο μηδέν, ονομάζονται αδιαφανή.

Οι όροι «διαφανής» και «αδιαφανής» είναι σχετικοί, καθώς εξαρτώνται κυρίως από το μήκος κύματος. Για παράδειγμα, ο φακός και ο κερατοειδής αποτελούνται κυρίως από νερό το οποίο παρουσιάζει ισχυρή απορρόφηση στα μήκη κύματος του υπέρυθρου φάσματος. Έτσι, αυτοί οι ιστοί εμφανίζονται αδιαφανείς για αυτήν τη φασματική περιοχή. Ουσιαστικά κανένα μέσο δεν είναι διαφανές ή αδιαφανές για όλα τα μήκη κύματος.

Μια ουσία λέγεται ότι παρουσιάζει *γενική απορρόφηση* αν μειώνεται η ένταση όλων των μηκών κύματος του θεωρούμενου φάσματος κατά ένα παρόμοιο ποσό. Η *επιλεκτική απορρόφηση* από την άλλη, είναι η απορρόφηση ορισμένων μόνο μηκών κύματος. Η ύπαρξη των χρωμάτων πηγάζει από την επιλεκτική απορρόφηση.

Η ικανότητα ενός μέσου να απορροφά την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία εξαρτάται κυρίως από τις εξής παραμέτρους:

- την ηλεκτρονιακή σύνθεση των ατόμων και μορίων του
- το μήκος κύματος της ακτινοβολίας
- το πάχος του απορροφητικού υλικού
- τις εσωτερικές παραμέτρους, όπως η θερμοκρασία και η συγκέντρωση των απορροφούντων παραγόντων.

Ως *συντελεστής απορρόφησης*  $\mu_a$  ορίζεται η πιθανότητα απορρόφησης ενός φωτονίου σε ένα μέσο ανά μονάδα μήκους διαδρομής ή πιο αυστηρά, ανά μονάδα απειροστού μήκους διαδρομής. Η αντιπροσωπευτική τιμή του για βιολογικούς ιστούς είναι  $0,1 \text{ cm}^{-1}$ . Το αντίστροφο του  $\mu_a$  αναφέρεται ως *μέσο μήκος απορρόφησης* (*mean absorption length*).

Για ένα μοναδικό απορροφητή, η διατομή απορρόφησης  $\sigma_a$ , η οποία υποδηλώνει την ικανότητα απορρόφησής του, σχετίζεται με τη γεωμετρική επιφάνεια διατομής του,  $\sigma_g$ , διαμέσου της απόδοσης απορρόφησης  $Q_a$  ως εξής:  $\sigma_a = Q_a \sigma_g$ . Σε ένα μέσο που περιέχει πολλούς απορροφητές με αριθμητική πυκνότητα  $N_a$ , ο συντελεστής

απορρόφησης μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι η συνολική επιφάνεια διατομής απορρόφησης ανά μονάδα όγκου:

$$\mu_a = N_a \sigma_a, \quad (2.3)$$

όπου η απορρόφηση από τους διάφορους απορροφητές θεωρείται ανεξάρτητη.

Σύμφωνα με τον ορισμό του συντελεστή απορρόφησης, το φως εξασθενεί καθώς διαδίδεται διαμέσου ενός αποκλειστικά απορροφητικού μέσου, σύμφωνα με τη σχέση:

$$\frac{dI}{I} = -\mu_a dx, \quad (2.4)$$

όπου το  $I$  είναι η ένταση του φωτός και  $x$  είναι η απόσταση κατά μήκος της διεύθυνσης διάδοσης της δέσμης. Αυτή η εξίσωση δείχνει ότι το ποσοστό της ακτινοβολίας που απορροφάται μέσα σε ένα διάστημα  $(x, x + dx)$  είναι ανάλογο του γινομένου των  $\mu_a$  και  $dx$ . Το αρνητικό πρόσημο, εισάγεται λόγω της μείωσης του  $I$  καθώς το  $x$  αυξάνει. Η ολοκλήρωση της παραπάνω εξίσωσης, οδηγεί στο νόμο του Beer :

$$I(x) = I_0 \exp(-\mu_a x), \quad (2.5)$$

όπου  $I_0$  είναι η ένταση του φωτός για  $x=0$ . Ο νόμος του Beer ουσιαστικά ισχύει ακόμη και για μια στρεβλή διαδρομή. Η διαπερατότητα

$$T(x) = \frac{I(x)}{I_0}, \quad (2.6)$$

αντιπροσωπεύει την πιθανότητα «επιβίωσης» μετά από απόσταση διάδοσης  $x$ .

### 2.2.3 Σκέδαση

Όταν ελαστικώς δέσμια φορτισμένα σωματίδια εκτίθενται σε ηλεκτρομαγνητικά κύματα, τα σωματίδια αρχίζουν να κινούνται εξαιτίας του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου. Αν η συχνότητα των κυμάτων ισούται με τη φυσική συχνότητα των ελεύθερων ταλαντώσεων ενός σωματιδίου, έχουμε συντονισμό με αποτέλεσμα ένα σημαντικό ποσό απορρόφησης. Η σκέδαση, από την άλλη, λαμβάνει χώρα σε συχνότητες που δεν αντιστοιχούν σε αυτές τις φυσικές συχνότητες των σωματιδίων. Η ταλαντωτική κίνηση που προκύπτει καθορίζεται από μια εξαναγκασμένη ταλάντωση. Γενικά, αυτή η ταλάντωση, θα έχει την ίδια συχνότητα και κατεύθυνση με την ηλεκτρική δύναμη του προσπίπτοντος κύματος, με το πλάτος της όμως να είναι μικρότερο από ότι στην περίπτωση του συντονισμού. Επίσης, η φάση της εξαναγκασμένης ταλάντωσης διαφέρει από αυτήν του προσπίπτοντος



κύματος, επιβραδύνοντας έτσι τα φωτόνια που διεισδύουν σε ένα πυκνότερο μέσο. Έτσι η σκέδαση μπορεί να θεωρηθεί σαν το βασικότερο αίτιο της διασποράς.

Η σκέδαση, είναι το πιο έντονο φαινόμενο σε έναν ιστό. Ένας ιστός είναι ένα άκρως σκεδάζον τυρβοειδές μέσο. Η τύρβη (Παράγραφος 2.3) ενός ιστού προκαλείται από πολλαπλή σκέδαση από μία αρκετά ετερογενή δομή αποτελούμενη από μακρομόρια, κυτταρικά οργανίδια και μια συγκέντρωση νερού. Αυτή η σκέδαση οδηγεί σε εξάπλωση και αποεστίαση μιας κατευθυντικής δέσμης. Η πολλαπλή σκέδαση μπορεί να υποβαθμίσει σημαντικά την ανάλυση εικόνας ή τον εντοπισμό θέσης στις απεικονιστικές τεχνικές, λόγω της τυχαιότητας των διαδρομών των φωτονίων στο μέσο. Το γεγονός αυτό έχει αποδειχθεί το κυριότερο εμπόδιο στην κλινική χρησιμοποίηση της οπτικής απεικόνισης.

Η διαδικασία σκέδασης σε έναν ιστό περιλαμβάνει τους μηχανισμούς της ελαστικής και της μη ελαστικής σκέδασης. Υπάρχει διάκριση μεταξύ ελαστικής και μη ελαστικής σκέδασης, ανάλογα με το αν ένα μέρος της προσπίπτουσας ενέργειας του φωτονίου υφίσταται μετατροπή κατά τη διαδικασία της σκέδασης. Αμέσως μετά θα θεωρήσουμε τους τύπους της ελαστικής σκέδασης, όπου τα προσπίπτοντα και τα σκεδαζόμενα φωτόνια έχουν την ίδια ενέργεια. Έπειτα θα συζητηθούν και οι τύποι της μη ελαστικής σκέδασης όπου γενικά υπάρχει διαφορά ενέργειας μεταξύ προσπίπτοντος και σκεδαζόμενου φωτονίου.

### **Ελαστικές σκεδάσεις**

Οι ελαστικές σκεδάσεις περιλαμβάνουν τη σκέδαση Mie και τη σκέδαση Rayleigh:

*α) Η σκέδαση Rayleigh.* Ο μόνος περιορισμός που ισχύει στη σκέδαση Rayleigh, είναι ότι τα σωματίδια που σκεδαζουν είναι μικρότερα από το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Συγκεκριμένα, προκύπτει ότι η σκέδαση είναι αντιστρόφως ανάλογη προς την τέταρτη δύναμη του μήκους κύματος. Αυτό είναι γνωστό ως νόμος του Rayleigh. Στη σκέδαση Rayleigh, η έντασή της είναι ανάλογη με το  $1 + \cos^2 \theta$  που σημαίνει ότι οι εντάσεις εμπρόσθιας και οπίσθιας σκέδασης είναι ίδιες.

*β) Η σκέδαση Mie.* Αν η χωρική έκταση των σκεδαζόντων σωματιδίων γίνει συγκρίσιμη με το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας όπως στην περίπτωση των κυττάρων του αίματος, η σκέδαση Rayleigh δεν εφαρμόζεται πια, και συμβαίνει ένας άλλος τύπος σκέδασης, η σκέδαση Mie. Η σκέδαση Mie παρουσιάζει μια ασθενέστερη εξάρτηση με το μήκος κύματος ( $\sim \lambda^{-x}$  με  $0.4 \leq x \leq 0.5$ ) συγκριτικά με τη σκέδαση Rayleigh ( $\sim \lambda^{-4}$ ), και εδώ, η εμπρόσθια σκέδαση είναι αυτή που ευνοείται.

### **Μη ελαστικές σκεδάσεις**

Οι μη ελαστικές σκεδάσεις σε ένα βιολογικό ιστό είναι γενικά ασθενείς. Περιλαμβάνουν τη σκέδαση Brillouin και τη σκέδαση Raman:

α) *Η σκέδαση Brillouin.* Προκύπτει από ακουστικά κύματα που διαδίδονται σε ένα μέσο με ανομοιογένεια του δείκτη διάθλασης. Με τη σκέδαση Brillouin συμβαίνει σκέδαση φωτονίων σε υψηλότερες (ή χαμηλότερες) συχνότητες επειδή τα σωματίδια που τα σκεδάζουν κινούνται προς (ή μακριά από) τη φωτεινή πηγή. Έτσι, μπορεί να θεωρηθεί σαν ένα οπτικό φαινόμενο Doppler στο οποίο η συχνότητα των φωτονίων μετατοπίζεται προς υψηλότερες ή χαμηλότερες συχνότητες. Σε αλληλεπιδράσεις laser-ιστού, η σκέδαση Brillouin γίνεται σημαντική μόνο κατά τη δημιουργία shock wave.

β) *Η σκέδαση Raman.* Στη σκέδαση Raman, το μόριο διεγείρεται σε μια εικονική κατάσταση (virtual state) και αποδιεγείρεται σε ένα ενεργειακό επίπεδο της βασικής κατάστασης εκπέμποντας ένα φωτόνιο. Το μόριο μπορεί είτε να κερδίσει είτε να χάσει ενέργεια από το φωτόνιο. Αν το μόριο κερδίσει ενέργεια, η μετάβαση είναι γνωστή ως *μετάβαση Stokes*. Στην άλλη περίπτωση η μετάβαση είναι γνωστή ως *μετάβαση anti-Stokes*. Το σκεδαζόμενο φωτόνιο μεταβάλλει ανάλογα τη συχνότητά του ώστε να διατηρείται η συνολική ενέργεια. Η σκέδαση Raman μπορεί να αποκαλύψει τη συγκεκριμένη χημική σύνθεση και μοριακή δομή ενός βιολογικού ιστού.

Για τους περισσότερους βιολογικούς ιστούς, τα φωτόνια σκεδάζονται κατά προτίμηση κατά την εμπρόσθια κατεύθυνση. Αυτό το φαινόμενο δεν μπορεί να εξηγηθεί από την σκέδαση Rayleigh. Από την άλλη, η παρατηρούμενη εξάρτηση από το μήκος κύματος, είναι κάπως ισχυρότερη από την προβλεπόμενη μέσω της σκέδασης Mie. Συνεπώς, ούτε η σκέδαση Rayleigh, ούτε η σκέδαση Mie περιγράφουν πλήρως τη σκέδαση στους ιστούς. Έτσι, είναι βολικό να ορίσουμε μια συνάρτηση πιθανότητας  $p(\theta)$  ενός φωτονίου να σκεδαστεί υπό γωνία  $\theta$ . Αν η  $p(\theta)$  δεν εξαρτάται από την γωνία  $\theta$ , μιλάμε για *ισοτροπική σκέδαση*. Αλλιώς έχουμε την περίπτωση της *ανισοτροπικής σκέδασης*.

Ως *συντελεστής σκέδασης*  $\mu_s$ , ορίζεται η πιθανότητα σκέδασης ενός φωτονίου σε ένα μέσο ανά μονάδα μήκους διαδρομής. Έχει αντιπροσωπευτική τιμή  $100 \text{ cm}^{-1}$  για βιολογικούς ιστούς. Το αντίστροφο του  $\mu_s$  αναφέρεται σαν η μέση ελεύθερη διαδρομή σκέδασης.

Για ένα μοναδικό σκεδαστή, η διατομή σκέδασης  $\sigma_s$ , η οποία καθορίζει την ικανότητα σκέδασης, σχετίζεται με τη γεωμετρική επιφάνεια διατομής της  $\sigma_g$  διαμέσου της απόδοσης σκέδασης  $Q_s$ , ως εξής:  $\sigma_s = Q_s \sigma_g$ . Για ένα μέσο που περιέχει πολλούς σκεδαστές με αριθμητική πυκνότητα  $N_s$ , ο συντελεστής σκέδασης μπορεί να θεωρηθεί σαν η συνολική διατομή σκέδασης ανά μονάδα όγκου:

$$\mu_s = N_s \sigma_s. \quad (2.7)$$

Η πιθανότητα  $T(x)$  να μη σκέδαστεί το φωτόνιο μετά από μήκος διάδοσης  $x$ , υπολογίζεται από το νόμο του Beer :

$$T(x) = \exp(-\mu_s x) \quad (2.8)$$

Ο μειωμένος συντελεστής σκέδασης  $\mu'_s$  δίνεται από τον τύπο

$$\mu'_s = \mu_s (1-g), \quad (2.9)$$

όπου  $g$  ο ανισοτροπικός παράγοντας που ισούται με τη μέση τιμή του  $\cos\theta$  ( $g = \langle \cos\theta \rangle$ ), με  $\theta$  να είναι η πολική γωνία σκέδασης ( $0 \leq \theta \leq \pi$ ). Το  $g$  παίρνει τιμές από -1 ως 1. Αν το  $g$  έχει την τιμή 0, η σκέδαση είναι ισοτροπική, ενώ αν έχει τιμές κοντά στη μονάδα, κυριαρχεί η εμπρόσθια σκέδαση.

### 2.3 ΟΙ ΙΣΤΟΙ ΩΣ ΤΥΡΒΟΕΙΔΗ ΜΕΣΑ

Στους περισσότερους ιστούς, τα φαινόμενα της απορρόφησης και της σκέδασης λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα. Τέτοια μέσα ονομάζονται *τυρβοειδή μέσα*. Ο συνολικός συντελεστής εξασθένισης μπορεί να εκφραστεί ως

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

Ο παραπάνω όρος περιγράφει τη συνολική οπτική απώλεια μέσω της σχέσης που δίνει την *ολική εξασθένιση έντασης* σε έναν ιστό:

$$I(z) = I_0 \exp(-\mu_a + \mu_s z) \quad (2.11)$$

όπου  $I(z)$  η φωτεινή ένταση σε βάθος  $z$  μέσα στον ιστό, και  $I_0$  η ένταση λίγο πριν εισχωρήσει σε αυτόν .

Σε ένα τυρβοειδές μέσο, η μέση ελεύθερη διαδρομή των προσπίπτοντων φωτονίων είναι

$$L_t = \frac{1}{\mu_t} = \frac{1}{\mu_a + \mu_s} . \quad (2.12)$$

Ο όρος αυτός ονομάζεται αλλιώς *οπτικό βάθος διαπερατότητας (optical penetration depth)* και είναι η απόσταση  $z$  στον ιστό στην οποία η ένταση  $I(z)$  πέφτει στο  $1/e$  της αρχικής τιμής της  $I_0$ . Ο όρος  $L_t$  παρέχει μια μέτρηση του πόσο βαθιά το φως μπορεί να διαπεράσει τον ιστό και έτσι είναι ένα μέτρο της οπτικής διαφάνειάς του. Η αρχική ένταση ελαττώνεται περίπου κατά 90% για βάθος  $2L_t$ . Γενικά, το  $L_t$  μειώνεται με την

αύξηση της συγκέντρωσης του αίματος μέσα σε έναν ιστό, είναι σημαντικά μικρότερο για το μπλε φως από ότι για το κόκκινο και παίρνει τις μεγαλύτερες τιμές στην περιοχή των 800-1300 nm.

Με σκοπό να ξεπεραστεί αυτή η τυρβοειδής συμπεριφορά των ιστών, εντατικές ερευνητικές μελέτες έχουν ξεκινήσει, με στόχο (1) τη βαθύτερη κατανόηση του διασκορπισμού των φωτονίων σε τυρβοειδή μέσα, και (2) τη μελέτη πειραματικών μεθόδων (οι περισσότερες από τις οποίες χρησιμοποιούν τεχνικές ανάλυσης στο χρόνο, που ποικίλουν από μετρήσεις στο πεδίο του χρόνου, μετρήσεις στο πεδίο της συχνότητας και συμβολομετρικές μεθόδους) ώστε να αποκαλύψουν το μέγιστο ποσοστό της χωρικής πληροφορίας σε ότι αφορά εσωτερικές δομές.

#### 2.4. ΠΗΓΕΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΚΕΔΑΣΗΣ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

Για εύρος μηκών κύματος στο κοντινό υπέρυθρο (NIR), η απορρόφηση του φωτός από τους βιολογικούς ιστούς είναι πολύ μικρή. Για παράδειγμα, ο συντελεστής απορρόφησης  $\mu_a$  είναι της τάξης του  $0.01 \text{ mm}^{-1}$ . Με άλλα λόγια, τα φωτόνια απορροφούνται από τον ιστό, κατά μέσο όρο, μετά από 100 mm απόσταση διαδρομής μέσα σε βιολογικό ιστό. Ως αποτέλεσμα, το NIR φως μπορεί εύκολα να διαπεράσει βαθιά τον ιστό. Η μικρή απορρόφηση επιτρέπει στο NIR φως να παρέχεται σε υψηλές εντάσεις χωρίς τη δημιουργία ανεπιθύμητων θερμικών φαινομένων, εφόσον μόνο ένα μικρό μέρος αυτής της ενέργειας απορροφάται από τον ιστό και μετατρέπεται σε θερμότητα. Επιπλέον, αντίθετα με το υπεριώδες (UV) φως, η ενέργεια των NIR φωτονίων είναι γενικά μικρή σε σχέση με την ενέργεια που απαιτείται για τη διάσπαση των χημικών δεσμών. Έτσι, μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια στην κλινική διάγνωση χωρίς μεγάλη ανησυχία για φαινόμενα ιονισμού.

Στους βιολογικούς ιστούς η απορρόφηση οφείλεται κυρίως σε *μόρια νερού*, σε *μακρομόρια* όπως πρωτεΐνες, και σε *χρωστικές ουσίες*. Ενώ η απορρόφηση στην υπέρυθη περιοχή (IR) του φάσματος μπορεί κυρίως να αποδοθεί στα μόρια του νερού, οι πρωτεΐνες όπως επίσης και οι χρωστικές, απορροφούν ως επί το πλείστον στην υπεριώδη (UV) και ορατή περιοχή του φάσματος. Οι πρωτεΐνες συγκεκριμένα έχουν μέγιστο απορρόφησης περίπου στα 280 nm.

Οι περισσότεροι βιολογικοί ιστοί, όπως αναφέρθηκε, χαρακτηρίζονται από ισχυρή οπτική σκέδαση. Αντίθετα με τις ακτίνες X, τα φωτόνια NIR σκεδάζονται ισχυρά από τους ιστούς. Για παράδειγμα, όπως αναφέρθηκε, ο συντελεστής σκέδασης  $\mu_s$  ενός βιολογικού ιστού είναι τυπικά της τάξης των  $10 \text{ mm}^{-1}$ . Με άλλα λόγια, τα φωτόνια σκεδάζονται από τους ιστούς, κατά μέσο όρο, δέκα φορές σε μια απόσταση διαδρομής ενός χιλιοστού του μέτρου.

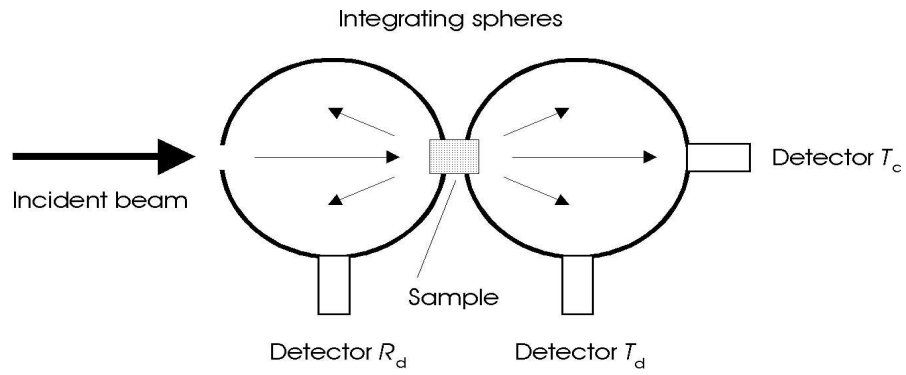
Η κύρια συνεισφορά στη σκέδαση που λαμβάνει χώρα σε έναν ιστό, προέρχεται από το περιεχόμενο των οργανιδίων, όπως τα *μιτοχόνδρια* και ο *πυρήνας*. Ο μικροσκοπικός δείκτης διάθλασης μεταξύ του εσωτερικού και του εξωτερικού αυτών των μικρών σωμάτων, οδηγεί στην αλλαγή της κατεύθυνσης διάδοσης των φωτονίων. Επειδή τα

μεγέθη τους ( $\sim 1 \mu\text{m}$ ) είναι παραπλήσια με το μήκος κύματος της NIR περιοχής, είναι πολύ καλύτεροι σκεδαστές σε σχέση με σωματίδια άλλων μεγεθών, όπως ολόκληρα κύτταρα ( $\sim 10 \mu\text{m}$ ). Οι μέσες ιδιότητες αυτών των υπερδομών είναι αυτές που καθορίζουν τελικά τις μακροσκοπικές οπτικές ιδιότητες των ιστών.

## 2.5 ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΟΠΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΟΥ ΙΣΤΟΥ

Σε αυτήν την παράγραφο θα περιγραφεί μια μέθοδος καθορισμού των διαδικασιών ανάκλασης, απορρόφησης και σκέδασης σε έναν ιστό. Σε ένα τυπικό πείραμα διάδοσης, μετράται η διάδοση μιας κατευθυντικής δέσμης (πηγή laser) διαμέσου ενός ιστού πεπερασμένου μήκους. Αυτή η μέθοδος, στην απλούστερή της μορφή, παρέχει έναν ολικό συντελεστή εξασθένισης που περιλαμβάνει οπτικές απώλειες από ανάκλαση, απορρόφηση και σκέδαση. Με σκοπό να αποκτηθούν πληροφορίες για κάθε μία από αυτές τις διαδικασίες, χρειάζεται μια περισσότερο πολύπλοκη πειραματική διάταξη που να λαμβάνει επίσης υπόψη της τη γωνιακή κατανομή της σκεδαζόμενης έντασης. Ένα σύνηθες πείραμα για τον ταυτόχρονο υπολογισμό της ανάκλασης, της απορρόφησης και της σκέδασης είναι αυτό των σφαιρών διπλής ολοκλήρωσης (double integrating spheres) και έχει αποδειχθεί ένα αξιόπιστα διαγνωστικό εργαλείο. Σχηματικά η διάταξη φαίνεται στην Εικόνα 2.3.

Η γεωμετρία των διπλών σφαιρών ολοκλήρωσης περιλαμβάνει δύο σχεδόν πανομοιότυπες σφαίρες, οι οποίες τοποθετούνται μπροστά και πίσω από το υπό εξέταση δείγμα. Αυτές οι σφαίρες έχουν μια έντονα ανακλαστική επένδυση στην εσωτερική τους επιφάνεια. Έτσι, το φως που φτάνει στους ανιχνευτές  $R_d$  και  $T_d$  συλλέγεται από όλες τις γωνίες (γι' αυτό και ο όρος *σφαίρες ολοκλήρωσης-integrating spheres*). Η πρώτη σφαίρα ολοκληρώνει όλο το φως που είτε ανακλάται είτε οπισθοσκεδάζεται από το δείγμα. Η διαδιδόμενη και εμπρόσθια σκεδαζόμενη ακτινοβολία ανιχνεύονται από τη δεύτερη σφαίρα σε δύο θυρίδες. Η θυρίδα με τον ανιχνευτή  $T_d$  καταγράφει όλη την εμπρόσθια σκέδαση της διαδιδόμενης ακτινοβολίας, ενώ ο ανιχνευτής  $T_c$  μετρά την ένταση της ακτινοβολίας στην εμπρόσθια κατεύθυνση διάδοσης. Από αυτές τις δύο μετρήσεις μπορεί κανείς να διαχωρίσει τις συνεισφορές σκέδασης και απορρόφησης.



**Εικόνα 2.3.** Η μορφή μιας πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιεί μια γεωμετρία δύο σφαιρών ολοκλήρωσης για ταυτόχρονη μέτρηση της ανάκλασης, της σκέδασης και της απορρόφησης. Οι ανιχνευτές  $T_c$ ,  $T_d$  και  $R_d$  μετράνε αντίστοιχα τις ποσότητες: (i) το διαδιδόμενο σύμφωνο φως που περνά διαμέσου του ιστού στην κατεύθυνση διάδοσης της ακτινοβολίας, (ii) τη διάχυτη διαδιδόμενη ένταση, και (iii) τη διάχυτη ανακλώμενη ένταση.

# 3

## ΤΥΠΟΙ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ

Η φασματοσκοπία ασχολείται με το χαρακτηρισμό και τις εφαρμογές της μετάβασης μεταξύ δύο κβαντισμένων καταστάσεων ενός ατόμου, ενός μορίου ή ενός συμπλέγματος.

Οι πολλοί τύποι φασματοσκοπικών μεταβάσεων και μεθόδων περιγράφονται στον Πίνακα 3.1. Οι ηλεκτρονιακές μεταβάσεις δεν διεγείρονται αποδοτικά σε μια διαδικασία Raman. Μια ταλαντωτική διέγερση γενικά αποδιεγείρεται μέσω μη ακτινοβολητικών διαδικασιών και δεν εμφανίζει φθορισμό (εξαιρέσεις αφορούν τα μικρά μόρια)

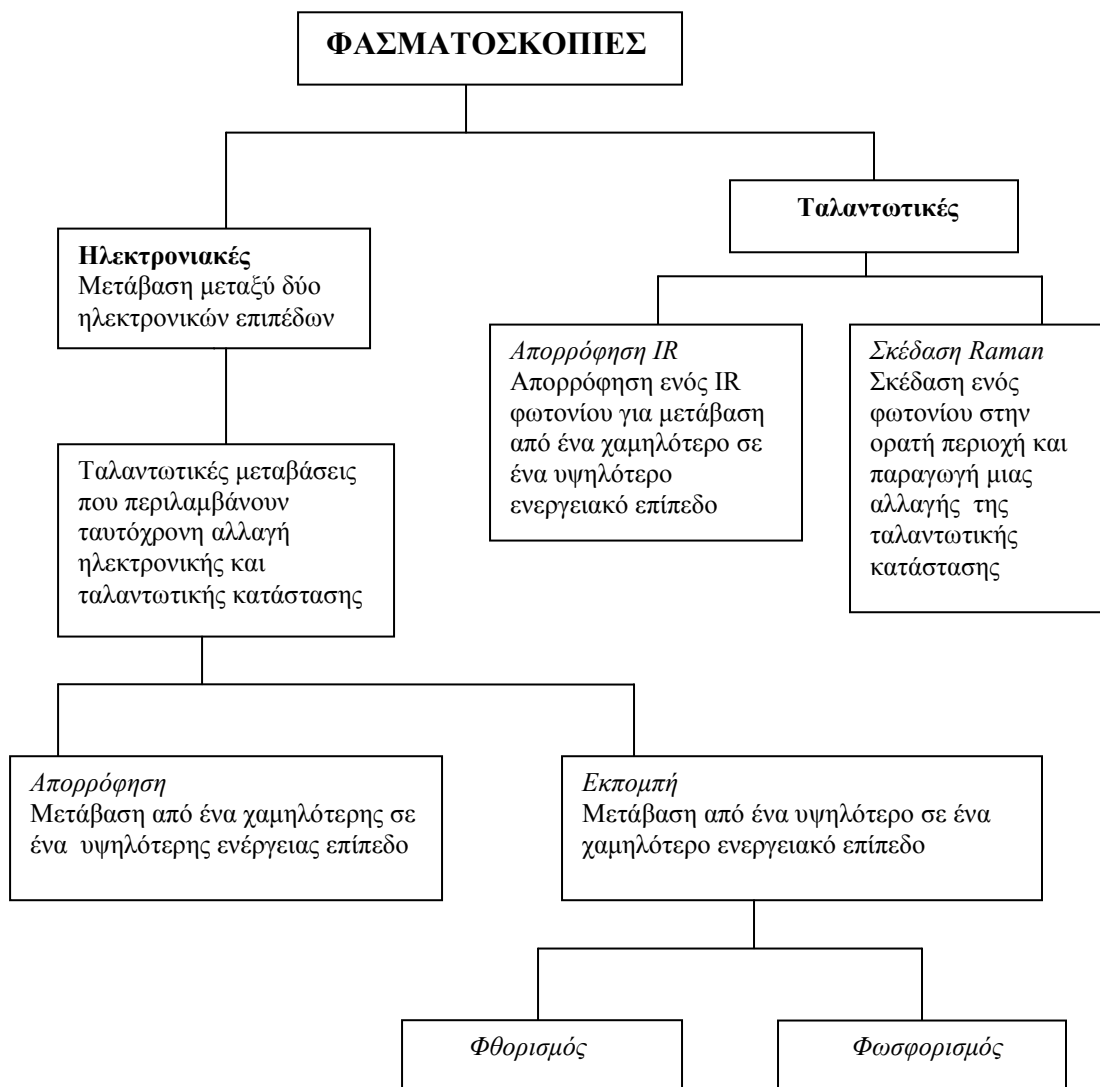
Ένα φάσμα είναι μια γραφική παράσταση της έντασης εξόδου του φωτός που εξέρχεται από ένα μέσο, συναρτήσει της συχνότητάς του (ή του μήκους κύματος). Για την απορρόφηση, χρησιμοποιείται μια ευρέως φάσματος φωτεινή πηγή, και η διάδοση της ακτινοβολίας της αποκτάται ως συνάρτηση του μήκους κύματος. Για μια διαδικασία εκπομπής ή μια διαδικασία Raman, το μέσο διεγείρεται με ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος που ονομάζεται μήκος κύματος διέγερσης (excitation wavelength), και η εκπεμπόμενη ή σκεδαζόμενη ένταση ακτινοβολίας καταγράφεται σαν συνάρτηση του μήκους κύματος.

### 3.1 IN VIVO ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ

Η in vivo φασματοσκοπία είναι μια πολύ ισχυρή τεχνική βιοϊατρικής έρευνας καλύπτοντας ένα μεγάλο φάσμα, που εκτείνεται από τη μελέτη δομών κυττάρων και ιστών και τις βιολογικές τους λειτουργίες, μέχρι την πρόιμη διάγνωση καρκίνου. Οι φασματοσκοπικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται, περιλαμβάνουν τη μελέτη φασμάτων ηλεκτρονικής απορρόφησης μέσω της ανάλυσης του οπισθοσκεδαζόμενου φωτός, τη σκέδαση Raman, και τον φθορισμό.

Η κύρια εστίαση της in vivo φασματοσκοπίας είναι η πρόιμη ανίχνευση του καρκίνου. Η ανίχνευση της καρκινικής κατάστασης ενός ιστού χρησιμοποιώντας οπτικές μεθόδους αναφέρεται και ως «οπτική βιοψία» (Παράγραφος 4.5). Ο βασικός κανόνας που χρησιμοποιείται για τη μέθοδο της οπτικής βιοψίας, είναι ότι το εκπεμπόμενο και σκεδαζόμενο φως επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από τη σύνθεση και τις κυτταρικές δομές των ιστών. Η ανάπτυξη του καρκίνου ή μιας ασθένειας προκαλεί μια αλλαγή στη σύνθεση και δομή των κυττάρων των επηρεασμένων ιστών, προκαλώντας μια αλλαγή στο εκπεμπόμενο και σκεδαζόμενο φως. Οι βασικές φασματοσκοπικές μέθοδοι για οπτική βιοψία είναι η φασματοσκοπία Raman και η φασματοσκοπία φθορισμού. Οι αλλαγές σε έναν ιστό, από μια κανονική σε μια καρκινική κατάσταση, μεταβάλλουν τα φάσματα Raman και φθορισμού.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 3.1. Οι διάφοροι τύποι φασματοσκοπίας**



### 3.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ

Η διαδικασία του φθορισμού περιγράφηκε στην Παράγραφο 1.2.3 μέσω του διαγράμματος Jablonski. Σε αυτήν την παράγραφο θα αναφερθούν τα βασικότερα χαρακτηριστικά του φθορισμού.



**Χρονική κλίμακα διαδικασίας φθορισμού.** Η διαδικασία φθορισμού περιλαμβάνει τρία γεγονότα σκέδασης με αρκετά διαφορετικές χρονικές κλίμακες. Η διαδικασία διέγερσης από ένα φωτόνιο συμβαίνει σε femtosecond ( $1\text{fs}=10^{-15}\text{ s}$ ). Η ταλαντωτική αποδιέγερση (IC) μιας διεγερμένης ηλεκτρονιακής κατάστασης στο χαμηλότερο ενεργειακά ταλαντωτικό ενεργειακό επίπεδο της διεγερμένης κατάστασης, διαρκεί picosecond ( $1\text{ps}=10^{-12}\text{ s}$ ). Η εκπομπή φωτονίου λόγω φθορισμού διαρκεί nanosecond ( $1\text{ns}=10^{-9}\text{ s}$ ). Συνεπώς, ο χρόνος ζωής φθορισμού (*fluorescence lifetime*) θα είναι της τάξης των ns.

Ο χρόνος ζωής φθορισμού αντιπροσωπεύει την εξασθένιση της έντασης φθορισμού. Μια απλή μορφή εξασθένισης φθορισμού είναι η εκθετική, που περιλαμβάνει μια σταθερά  $k$  με την οποία περιγράφεται η εξασθένιση της έντασης  $I$  ως  $I = I_0 e^{-kt}$  όπου  $I_0$  είναι η ένταση φθορισμού στην αρχή του φθορισμού (για  $t = 0$ ). Αυτή η συμπεριφορά ονομάζεται *απλή εκθετική εξασθένιση (single exponential decay)*. Η σταθερά  $k$  έχει δύο συνεισφορές: (1) μια σταθερά λόγω ακτινοβολητικής εξασθένισης  $k_r$ , που χαρακτηρίζεται από έναν ακτινοβολητικό χρόνο ζωής  $\tau_r$ , και (2) μια σταθερά λόγω μη ακτινοβολητικής εξασθένισης  $k_{nr}$ , που χαρακτηρίζεται από ένα μη ακτινοβολητικό χρόνο ζωής  $\tau_{nr}$ . Οπότε:

$$k = k_r + k_{nr} = \frac{1}{\tau_r} + \frac{1}{\tau_{nr}} = \frac{1}{\tau}$$

$$I = I_0 e^{-kt}$$

όπου  $\tau$  ο συνολικός χρόνος ζωής.

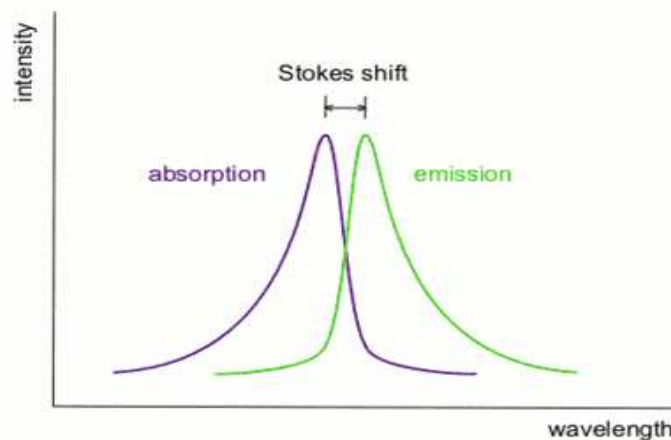
**Φάσματα διέγερσης και εκπομπής.** Η σχετική πιθανότητα διέγερσης ενός φθοροφόρου από ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος, παρουσιάζεται στο φάσμα διέγερσης (ή απορρόφησης). Το φάσμα αυτό είναι ένα γράφημα της απορρόφησης (διέγερσης) συναρτήσει του μήκους κύματος. Η ενέργεια φωτονίου στην κορυφή του φάσματος διέγερσης, ισούται με την ενεργειακή διαφορά μεταξύ του βασικού ενεργειακού επιπέδου του μορίου που φθορίζει (φθοροφόρου), και ενός ευνοημένου (με την έννοια της μεγαλύτερης πιθανότητας διέγερσης) ταλαντωτικού επιπέδου της πρώτης διεγερμένης κατάστασης του μορίου. Σε ορισμένες περιπτώσεις, το φάσμα διέγερσης παρουσιάζει μια δεύτερη κορυφή σε ένα μικρότερο μήκος κύματος (υψηλότερη ενέργεια) που σημαίνει μετάβαση του μορίου από τη βασική κατάσταση στη δεύτερη διεγερμένη κατάσταση.

Το πλάτος του φάσματος διέγερσης αντικατοπτρίζει το γεγονός ότι το μόριο του φθοροφόρου μπορεί να βρίσκεται σε οποιοδήποτε από τα ταλαντωτικά και περιστροφικά ενεργειακά επίπεδα της βασικής κατάστασης και μπορεί να καταλήξει σε οποιοδήποτε από τα ταλαντωτικά και περιστροφικά ενεργειακά επίπεδα της διεγερμένης κατάστασης. Θεωρητικά, ένα φθοροφόρο διεγείρεται περισσότερο αποτελεσματικά από μήκη κύματος κοντά στην περιοχή της κορυφής διέγερσης. Πρακτικά, όμως, άλλοι παράγοντες όπως η ισχύς του laser και το περιβάλλον των φθοροφόρων μπορούν να επηρεάσουν επίσης την αποτελεσματικότητα της διέγερσης.

Η σχετική πιθανότητα ένα εκπεμπόμενο φωτόνιο να έχει ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος περιγράφεται από το φάσμα εκπομπής το οποίο είναι το γράφημα της σχετικής έντασης του εκπεμπόμενου φωτός σαν συνάρτηση του εκπεμπόμενου μήκους κύματος. Η κορυφή του φάσματος εκπομπής συμβαίνει σε μήκος κύματος που ισούται με την ενεργειακή διαφορά μεταξύ του βασικού επιπέδου της διεγερμένης κατάστασης και ενός ευνοημένου ταλαντωτικού επιπέδου της βασικής κατάστασης. Το πλάτος του φάσματος εκπομπής αντικατοπτρίζει το γεγονός ότι το μόριο του φθοροφόρου μπορεί να βρεθεί σε οποιοδήποτε από τα ταλαντωτικά και περιστροφικά ενεργειακά επίπεδα της βασικής κατάστασης.

Το σχήμα του φάσματος εκπομπής είναι προσεγγιστικά μια κατοπτρική εικόνα του φάσματος απορρόφησης υπό την προϋπόθεση ότι οι ταλαντωτικές δομές της διεγερμένης και της βασικής κατάστασης είναι όμοιες (Εικόνα 3.1).

**Η μετατόπιση Stokes.** Από το διάγραμμα Jablonski φαίνεται ότι η ενέργεια της εκπομπής γενικά είναι μικρότερη από την ενέργεια της απορρόφησης. Ο φθορισμός τυπικά συμβαίνει σε μικρότερες ενέργειες δηλαδή μεγαλύτερα μήκη κύματος. Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε για πρώτη φορά από τον Sir G.G. Stokes το 1852 και καλείται *φαινόμενο Stokes*. Η διαφορά μήκους κύματος μεταξύ της κορυφής της εκπομπής και της κορυφής της διέγερσης, ονομάζεται *μετατόπιση Stokes (Stokes shift)*. Αυτή η μετατόπιση μήκους κύματος (ή ενέργειας) αντιπροσωπεύει την ενέργεια που αποτίθεται ως θερμότητα κατά τη διάρκεια του χρόνου ζωής της διεγερμένης κατάστασης πριν εκπεμφθεί το φως φθορισμού. Αυτή η μη ακτινοβολητική απώλεια ενέργειας είναι η διαφορά μεταξύ του απορροφούμενου και του εκπεμπόμενου φωτονίου.



**Εικόνα 3.1.** Φάσμα απορρόφησης (absorption) και εκπομπής (emission) φθορισμού. Το φάσμα απορρόφησης (διέγερσης) είναι σχεδόν κατοπτρικό με το φάσμα εκπομπής. Η διαφορά μήκους κύματος μεταξύ των κορυφών απορρόφησης και εκπομπής καλείται μετατόπιση Stokes (Stokes shift).

*Το φάσμα εκπομπής είναι τυπικά ανεξάρτητο από το μήκος κύματος διέγερσης.* Μια άλλη γενική ιδιότητα του φθορισμού είναι το γεγονός ότι το φάσμα εκπομπής φθορισμού είναι γενικά ανεξάρτητο από το μήκος κύματος διέγερσης (νόμος Kasha). Η περίσσεια της ενέργειας εκλύεται γρήγορα, αφήνοντας το φθοροφόρο στο κατώτερο ταλαντωτικό επίπεδο. Αυτή η αποδιέγερση διαρκεί περίπου  $10^{-12}$  s και είναι αποτέλεσμα μιας ισχυρής επικάλυψης μεταξύ πολλών καταστάσεων με παραπλήσια ενέργεια. Λόγω αυτής της ταχείας αποδιέγερσης, το φάσμα εκπομπής είναι συνήθως ανεξάρτητο από το μήκος κύματος διέγερσης. Υπάρχουν όμως και εξαιρέσεις, όπως φθοροφόρα με δύο καταστάσεις ιονισμού, κάθε μία από τις οποίες παρουσιάζει ξεχωριστά φάσματα απορρόφησης και εκπομπής.

**Κβαντική απόδοση φθορισμού.** Η κβαντική απόδοση φθορισμού συμβολίζεται συνήθως με  $\Phi$  και ορίζεται ως

$$\Phi = \frac{\tau_{nr}}{\tau_{nr} + \tau_r} = \frac{k_r}{k_r + k_{nr}}$$

Η κβαντική απόδοση είναι ένα ποσοτικό μέτρο του λόγου του αριθμού των φωτονίων που εκπέμπονται προς τον αριθμό των φωτονίων που απορροφούνται. Απουσία μη ακτινοβολητικών αποδιεγέρσεων, η κβαντική απόδοση  $\Phi$  ισούται με 1 που σημαίνει ότι η διεγερμένη κατάσταση αποδιεγείρεται μόνο μέσω ακτινοβολητικής διαδικασίας (φθορισμός). Σε αυτήν την περίπτωση παράγεται ο πιο αποδοτικός φθορισμός. Ως αποτέλεσμα, φθοροφόρα που θα χρησιμοποιηθούν ως ιδεατοί φθορίζοντες ιχνηθέτες θα πρέπει να έχουν κβαντική απόδοση όσο το δυνατόν πιο κοντά στη μονάδα.

### 3.3 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ

Η φασματοσκοπία φθορισμού είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική λόγω της ευαισθησίας της και της εξειδίκευσής της. Τα βασικά της πλεονεκτήματά είναι:

1. **Ευαισθησία.** Οι φθορίζοντες ιχνηθέτες επιτρέπουν ευαισθησία στην ανίχνευση του σήματος φθορισμού πολλών βιολογικών μορίων. Οι χρωστικές φθορισμού είναι γενικά πολύ πιο ευαίσθητες από τις παραδοσιακές χρωματομετρικές μεθόδους ανίχνευσης DNA, RNA, και πρωτεϊνών. Πολλές εφαρμογές φθορισμού, προσεγγίζουν την ευαισθησία που παρέχεται από τα ραδιοϊσότοπα.
2. **Πολυφωτονική ανίχνευση.** Η πολυφωτονική ανίχνευση, επιτρέπει την ανίχνευση και ανάλυση του σήματος φθορισμού από πολλαπλές πηγές χρησιμοποιώντας σημάνσεις φθορισμού που μπορούν να αναλυθούν φασματικά. Η ικανότητα ανίχνευσης και ανάλυσης δύο ή περισσότερων στόχων στο ίδιο δείγμα, εξοικονομεί πολύτιμο χρόνο.

3. **Σταθερότητα.** Τα σημασμένα για φθορισμό μόρια προσφέρουν πολλά πλεονεκτήματα έναντι των ραδιοσημασμένων μορίων όσον αφορά τη σταθερότητα. Αντισώματα φθορισμού και ιχνηθέτες υβριδισμού ολιγονουκλεοτιδίων (oligonucleotide hybridization probes) μπορούν να αποθηκευτούν για έξι μήνες ή και περισσότερο, αντίθετα με αντισώματα σημασμένα με  $^{135}\text{I}$  τα οποία αχρηστεύονται μετά από ένα μήνα, ενώ τα νουκλεοτίδια και ολιγονουκλεοτίδια αποδιεγείρονται σημαντικά μέσα σε περίπου μια εβδομάδα.

### 3.4 ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΦΘΟΡΟΦΟΡΑ

Ένα φθοροφόρο είναι ένα συστατικό ενός μορίου που καθιστά ένα μόριο φθορίζον. Είναι μια χαρακτηριστική ομάδα (functional group) σε ένα μόριο, που απορροφά ενέργεια ενός καθορισμένου μήκους κύματος και επανεκπέμπει ενέργεια σε ένα διαφορετικό αλλά καθορισμένο μήκος κύματος (φθορισμός). Το ποσό και το μήκος κύματος της εκπεμπόμενης ενέργειας εξαρτάται και από το φθοροφόρο αλλά και από το χημικό περιβάλλον του φθοροφόρου.

Τα φθοροφόρα υποδιαιρούνται σε δύο γενικές κατηγορίες: *τα ενδογενή και τα εξωγενή*. Τα ενδογενή φθοροφόρα είναι εκείνα που υπάρχουν εκ φύσεως. Τα εξωγενή φθοροφόρα είναι εκείνα που προστίθενται σε ένα δείγμα όταν δεν εμφανίζει τις επιθυμητές φασματικές ιδιότητες.

### 3.5 ΤΑ ΦΘΟΡΟΦΟΡΑ ΩΣ ΙΧΝΗΘΕΤΕΣ ΒΙΟΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ

Για τη βιοαπεικόνιση χρησιμοποιούνται και ενδογενή και εξωγενή φθοροφόρα. Σε αυτήν την παράγραφο θα περιγραφούν κάποια αυτά τα φθοροφόρα.

#### 3.5.1 Ενδογενή φθοροφόρα

Ένας αριθμός ενδογενών φθοροφόρων που παράγουν αυτοφθορισμό, έχουν αποδειχθεί εξαιρετικά χρήσιμος για βιοαπεικόνιση. Κατά τη χρήση όμως εξωγενών φθοροφόρων, ο αυτοφθορισμός που παράγεται από ενδογενή φθοροφόρα οδηγεί σε ανεπιθύμητο υπόβαθρο. Παρ'όλα αυτά, σε μερικές περιπτώσεις, τα ενδογενή φθοροφόρα αποδεικνύονται χρήσιμα για περιγραφή κυτταρικών διαδικασιών και για κυτταρική βιοαπεικόνιση.

Ορισμένα από τα πιο κοινά ενδογενή φθοροφόρα είναι:

- Φλαβίνες : παράγωγα της ριβοφλαβίνης (βιταμίνη  $B_2$  )
- NAD(P)H: φθορίζοντα ένζυμα (fluorescent coenzymes) που συμμετέχουν σε πολλές κυτταρικές αντιδράσεις

- Λιποφουσκίνη (Lipofuscin): καλείται και «χρωστική ηλικίας, age pigment» γιατί εμφανίζεται όλο και πιο συχνά κατά τη γήρανση στο κυτόπλασμα των μεταμιτωτικών (postmitotic) κυττάρων
- Ελαστίνη και κολλαγόνο (elastin and collagene): δομικές πρωτεΐνες

### 3.5.2 Εξωγενή φθοροφόρα

Υπάρχουν πολλές βιολογικές δομές και διαδικασίες που δεν μπορούν να απεικονιστούν ή να εξεταστούν χρησιμοποιώντας εσωτερικό φθορισμό από ενδογενή φθοροφόρα. Για παράδειγμα το DNA δεν παρουσιάζει καθόλου φθορισμό. Σε αυτές τις περιπτώσεις για να επιτευχθεί η βιοαπεικόνιση είναι αναγκαία η σήμανση αυτών των βιολογικών δομών με εξωγενή φθοροφόρα. Μερικά φθοροφόρα μπορεί να απλωθούν σε ολόκληρο το κύτταρο, ενώ άλλα εντοπίζονται σε ένα συγκεκριμένο οργανίδιο ενός κυττάρου. Σε μερικές περιπτώσεις, ένα φθοροφόρο μπορεί να συζευχθεί χημικά ώστε να στοχευθεί ένα συγκεκριμένο βιολογικό σημείο (ένα συγκεκριμένου τύπου καρκινικό κύτταρο ή ένα ανεξάρτητο οργανίδιο μέσα στο κύτταρο). Έτσι, η επιλεκτικότητα και ευαισθησία ενός φθορίζοντος ιχνηθέτη μπορεί να αξιοποιηθούν με σκοπό να αποκτηθούν χρήσιμες δομικές, βιοχημικές και βιοφυσικές πληροφορίες για κύτταρα και ιστούς.

Για τη βιοαπεικόνιση οι βασικές απαιτήσεις για ένα ιδανικό φθοροφόρο είναι οι ακόλουθες :

- Ικανότητα διασκορπισμού (διαλυτότητα) του φθοροφόρου στο βιολογικό μέσο που εξετάζεται.
- Συνάφεια με ένα μοριακό, οργανιδιακό, ή κυτταρικό στόχο.
- Υψηλή κβαντική απόδοση εκπομπής.
- Σταθερότητα του περιβάλλοντος του φθοροφόρου.
- Η απουσία φωτοαπόσβεσης (photobleaching).

Η *φωτοαπόσβεση* αποτελεί μεγάλο πρόβλημα για πολλά οργανικά φθοροφόρα. Η φωτοαπόσβεση γενικά αναφέρεται στη χημική διάσπαση ενός φθοροφόρου που οδηγεί στην εξάλειψη του φθορισμού. Αυτή η φωτοδιάσπαση μπορεί να οφείλεται σε φωτοχημικές διαδικασίες στη διεγερμένη κατάσταση, σε φωτοοξείδωση παρουσία οξυγόνου ή σε θερμική αποσύνθεση λόγω τοπικής θέρμανσης μέσω μη ακτινοβολιακών διαδικασιών που ακολουθούν την απορρόφηση του φωτός.

Για την σωστή επιλογή ενός φθοροφόρου, λαμβάνουμε υπόψη ότι θα πρέπει να διεγείρεται ικανοποιητικά στα μήκη κύματος των κοινών πηγών laser που χρησιμοποιούνται στη μικροσκοπία (Παρ.4.3). Επίσης, το μήκος κύματος εκπομπής του φθοροφόρου θα πρέπει να είναι συμβατό με τα φίλτρα εκπομπής του μικροσκοπίου.

Σε κάποιες καταστάσεις, ίσως χρειαστεί πολλαπλή σήμανση με περισσότερα του ενός φθοροφόρα, ώστε να εξεταστούν ταυτόχρονα διαφορετικοί μοριακοί/οργανιδιακοί στόχοι. Στις περιπτώσεις αυτές, μια επιπλέον θεώρηση αποτελεί το γεγονός ότι τα αντίστοιχα φάσματα (κορυφές) φθορισμού, πρέπει να είναι ικανοποιητικά διαχωρισμένα,

έτσι που κατάλληλα φίλτρα αποκοπής να χρησιμοποιηθούν για τη διάκριση των εκπομπών τους. Σε μερικές περιπτώσεις, όπως στην απεικόνιση FRET, είναι επιθυμητό οι κορυφές διέγερσης να είναι επίσης καλά διαχωρισμένες, έτσι που τα μήκη κύματος εκπομπής να καθίστανται ικανά να διεγείρουν μόνο ένα φθοροφόρο.

Στο εμπόριο υπάρχουν διαθέσιμα πολλοί φθορίζοντες ιχνηθέτες για τις περισσότερες εφαρμογές απεικόνισης όπως επίσης και φωτεινές πηγές κατάλληλες να τα διεγείρουν.

Χρησιμοποιώντας σήμανση φθορισμού, η βιοαπεικόνιση ενός συγκεκριμένου οργανιδίου ή ενός σημείου ενός κυττάρου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της δομής και της λειτουργίας του. Οι φθορίζοντες ιχνηθέτες που χρησιμοποιούνται για τη σήμανση συγκεκριμένων σημείων και οργανιδίων ενός κυττάρου μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες:

1. Φθοροφόρα που στοχεύουν βιολογικά μόρια, σημεία ή οργανίδια χωρίς εκ των προτέρων σύνδεση με κάποιο βιομόριο. Για παράδειγμα, κάποια εμπορικά διαθέσιμα φθοροφόρα, παρουσιάζουν επιλεκτικό χρωματισμό (staining) ορισμένων οργανιδίων. Ως εκ τούτου, αποδεικνύονται χρήσιμα στη διερεύνηση της δομής ενός οργανιδίου καθώς και πολλών βιοφυσικών και βιοχημικών διαδικασιών που συμβαίνουν εντός του.
2. Φθοροφόρα που χρειάζεται να συζευχθούν με ένα βιομόριο με σκοπό να καθιστούν ικανά να στοχεύσουν ορισμένα βιολογικά σημεία.

Στην πρώτη περίπτωση, τα χαρακτηριστικά της σήμανσης αποκτώνται συνήθως μέσω ηλεκτροστατικών και υδροφιλικών/υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων ενός ιχνηθέτη με το εξεταζόμενο βιομόριο ή οργανίδιο.

Στη δεύτερη περίπτωση, οι φθορίζοντες ιχνηθέτες που απαιτούν σύζευξη με ένα άλλο βιομόριο για επιλεκτικό χρωματισμό, συχνά χρησιμοποιούνται για ιστολογικές εφαρμογές. Είναι χημικά συνδεδεμένα με ολιγονουκλεοτίδια ή πρωτείνες ώστε να επιτρέπουν τη στόχευση και την απεικόνιση συγκεκριμένων σημείων του κυττάρου. Παραδείγματα αποτελούν τα εξής φθοροφόρα: Alexa Fluor dyes, Cy dyes και Texas red. Σε αυτήν την περίπτωση, η υψηλή κβαντική απόδοση φθορισμού Φ, η χαμηλή ευαισθησία στο pH και η υψηλή φωτοσταθερότητα είναι κάποιες από τις απαιτήσεις για ένα φθοροφόρο. Επίσης, ο φθορισμός του ιχνηθέτη δε θα πρέπει να μειωθεί σημαντικά ή να παρουσιάσει έντονη φωτοαπόσβεση κατά τη σύζευξή του με βιολογικά μόρια.

Για εφαρμογές ανίχνευσης φθορισμού, ο ενδογενής φθορισμός (αυτοφθορισμός) από έναν ιστό, γενικά προτιμάται έναντι του εξωγενούς φθορισμού (φθορισμός από μια χρωστική που προστίθεται). Ο ενδογενής φθορισμός προκύπτει από έναν αριθμό φθοροφόρων που είναι συστατικά ενός ιστού ή ενός κυττάρου.

# 4

## ΒΙΟΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ

Η οπτική βιοαπεικόνιση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την μελέτη ενός μεγάλου εύρους βιολογικών ειδών, από κύτταρα μέχρι *ex vivo* δείγματα ιστών και *in vivo* απεικόνιση ζωντανών οργανισμών. Η οπτική βιοαπεικόνιση επίσης, καλύπτει ένα μεγάλο εύρος της κλίμακας μήκους, από μικροσκοπικά μεγέθη ιών και βακτηρίων, μέχρι μακροσκοπικά μεγέθη ζωντανών βιολογικών ειδών. Αυτό που εκμεταλλεύεται η οπτική βιοαπεικόνιση είναι μια οπτική αντίθεση όπως μια διαφορά στην διάδοση του φωτός, στην ανάκλαση και στον φθορισμό μεταξύ της περιοχής που θέλουμε να απεικονίσουμε και του περιβάλλοντος μέσου (υποβάθρου). Υπάρχουν πολλοί οπτικοί νόμοι και πολλές μικροσκοπικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για να επαυξηθούν αυτές οι διαφορές και να αξιοποιηθούν στην βιοαπεικόνιση.

Υπάρχουν αρκετοί διαφορετικοί μικροσκοπικοί μέθοδοι φθορισμού, που σήμερα χρησιμοποιούνται ευρέως. Ένα πλεονέκτημα που προσφέρει η μικροσκοπία φθορισμού είναι η χρησιμοποίηση δεσμών laser για την διέγερση ενός φωτισμένου σημείου και την σάρωση του σημείου φωτισμού ώστε να σχηματιστεί η εικόνα. Αυτή η τεχνική ονομάζεται *μικροσκοπία σάρωσης με laser (laser scanning microscopy)*. Η συμβολομετρική τομογραφία, η οποία χρησιμοποιεί μια συμβολομετρική μέθοδο ώστε να αυξήσει τα καλά οπτικά χαρακτηριστικά σε μια γεωμετρία ανάκλασης και έχει αποδειχθεί ένα ισχυρό εργαλείο για 3D απεικόνιση έντονα σκαδαζόντων βιολογικών μέσων. Άλλες τεχνικές βιοαπεικόνισης είναι (1) η φασματική απεικόνιση (*spectral imaging*), η οποία παρέχει πληροφορίες από την χωρική μεταβολή του φάσματος, (2) η FRET (*fluorescence resonance energy transfer*), η οποία χρησιμοποιεί την μεταφορά ενέργειας από ένα κέντρο φθορισμού σε ένα άλλο ώστε να διερευνηθούν αλληλεπιδράσεις και (3) η FLIM (*fluorescence lifetime imaging microscopy*) που χρησιμοποιείται για να ληφθεί η χωρική κατανομή του χρόνου ζωής του φθορισμού και αποτελεί μια πολύ ευαίσθητη μέθοδο ανάλυσης του τοπικού περιβάλλοντος του φθοροφόρου.

### 4.1 ΒΙΟΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ: ΕΝΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ

Η βιοϊατρική απεικόνιση έχει αποδειχθεί ένα από τα πιο αξιόπιστα εργαλεία στην προστασία της υγείας εξαιτίας της διάγνωσης θεραπείας ανθρώπινων ασθενειών. Η εξέλιξη της ιατρικής απεικόνισης έχει οδηγήσει σε επαναστατικές βελτιώσεις σε ότι αφορά την ποιότητα της προστασίας της υγείας στην σημερινή εποχή. Ονομαστικά,

υπάρχουν τεχνικές όπως η απεικόνιση ακτίνων X (x-ray imaging), η τομογραφία με την βοήθεια υπολογιστή (CAT scans), η υπερηχητική απεικόνιση (ultrasound imaging) και η απεικόνιση πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (MRI). Όμως, αυτές οι τεχνικές εστιάζονται κυρίως στην δομική και ανατομική απεικόνιση σε επίπεδο ιστού ή οργάνου. Με σκοπό να αναπτυχθούν νέες τεχνικές απεικόνισης για πρόωμη καταγραφή, προβολή, διάγνωση και απεικονιστικά-καθοδηγούμενη θεραπεία του καρκίνου και άλλων ασθενειών απειλητικών για την ζωή, υπάρχει ξεκάθαρη ανάγκη επέκτασης της απεικόνισης σε επίπεδα μοριακής και κυτταρικής βιολογίας. Μόνο πληροφορίες σε μοριακό και κυτταρικό επίπεδο μπορούν να οδηγήσουν στην καταγραφή των πρόωρων σταδίων της δημιουργίας μιας ασθένειας ή πρόωρων μοριακών αλλαγών κατά τη διάρκεια θεραπείας.

Η οπτική απεικόνιση ξεπερνάει πολλές από τις δυσκολίες που εμφανίζουν οι τεχνικές που αναφέρθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο. Το φως ειδικά στην περιοχή του κοντινού υπέρυθρου (near-IR), διεισδύει βαθιά μέσα στους ιστούς. Επίσης υπάρχει η δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν συστήματα ενδοσκοπικών ινών για να φτάσει κανείς πολλά όργανα και σημεία ιστού για οπτική απεικόνιση.

Η οπτική απεικόνιση κάνει χρήση της χωρικής διαφοροποίησης των οπτικών ιδιοτήτων ενός βιοδείγματος, είτε αυτό είναι ένα κύτταρο, ένας ιστός, ένα όργανο ή ένας ολόκληρος ζωντανός οργανισμός. Οι οπτικές ιδιότητες περιλαμβάνουν την ανάκλαση, την σκέδαση, την απορρόφηση και τον φθορισμό. Συνεπώς, μπορεί κανείς να εκμεταλλευτεί τη χωρική διαφοροποίηση της διάδοσης, της ανάκλασης ή του φθορισμού με σκοπό να αποκτήσει μια οπτική εικόνα. Η χρήση των laser σαν μια έντονη και βολική φωτεινή πηγή για δημιουργία μιας οπτικής απόκρισης (ανάκλασης, διάδοσης, ή εκπομπής), έχει επεκτείνει σημαντικά τα όρια της οπτικής απεικόνισης, καθιστώντας την μια εξαιρετικά ισχυρή τεχνική για βασικές μελέτες όπως επίσης και για κλινική διάγνωση. Μερικά από τα πλεονεκτήματα που προσφέρει η ιατρική απεικόνιση είναι:

- Μη επίπονη διαδικασία.
- Δυνατότητα απεικόνισης από μεγέθη της τάξης των 100nm μέχρι μεγέθη μακροσκοπικής κλίμακας.
- Δυνατότητα πολυδιάστατης απεικόνισης, χρησιμοποιώντας διάδοση, ανάκλαση και φθορισμό σε συνδυασμό με φασματοσκοπικές πληροφορίες.
- Δυνατότητα in vitro, in vivo, και ex vivo απεικόνισης διαφόρων δειγμάτων.
- Προβολή μέσω απεικόνισης φθορισμού πολλών παραμέτρων (φάσμα, κβαντική απόδοση, χρόνος ζωής, πόλωση) που παρέχουν λεπτομερείς χημικές και δυναμικές πληροφορίες.
- Ικανότητα συνδυασμού της οπτικής απεικόνισης με άλλες απεικονιστικές τεχνικές όπως οι υπέρηχοι.
- Ευαισθησία και επιλεκτικότητα στην απεικόνιση μοριακών γεγονότων.

## 4.2 ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ ΙΣΤΩΝ



Οι κύριες πρακτικές που αφορούν τις βιολογικές διαδικασίες κατηγοριοποιούνται στις

- *in vitro* στις οποίες είναι δυνατή η μελέτη μεμονωμένων κυττάρων, χωρίς όμως να είναι δυνατή η ακριβής μίμηση του περιβάλλοντος στο οποίο συμβαίνουν πραγματικές διαδικασίες.
- *in vivo* όπου πραγματοποιείται η μελέτη κυττάρων και ιστών σε ζωντανούς οργανισμούς.
- *ex vivo* όπου η μελέτη αφορά ένα αφαιρούμενο είδος ιστού από έναν οργανισμό.

Οι ιστοί διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: (i) μαλακοί ιστοί (soft tissues) όπως ένα όργανο και (ii) σκληροί ιστοί (hard tissues) όπως τα κόκκαλα. Η οπτική απεικόνιση και για τους δύο τύπους ιστών, έχει εφαρμοστεί με επιτυχία. Στην περίπτωση πάντως του μαλακού ιστού, οι τεχνικές οπτικής απεικόνισης δουλεύουν πολύ καλύτερα, επειδή η διείσδυση του φωτός είναι βαθύτερη και η σκέδαση μικρότερη. Η οπτική απεικόνιση των σκληρών ιστών παρουσιάζει περισσότερες δυσκολίες, επειδή τέτοιοι ιστοί παρουσιάζουν εντονότερη σκέδαση

#### 4.3 ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ

Οι επόμενες παράγραφοι παρέχουν λεπτομέρειες που αφορούν τα στοιχεία που συνθέτουν ένα σύστημα ανίχνευσης φθορισμού και παρουσιάζονται ορισμένες βασικές τεχνικές μικροσκοπίας που κάνουν χρήση του φθορισμού.

**Πηγές διέγερσης και οπτικά παροχής φωτός.** Οι φωτεινές πηγές αφορούν δύο μεγάλες κατηγορίες. Τις πηγές ευρέους μήκους κύματος, όπως οι λάμπες υπεριώδους και ξένου (UV and xenon arc lamps) και τις πηγές διακριτών μηκών κύματος, όπως τα laser. Αν και η φασματική έξοδος μιας λάμπας είναι απλωμένη, μπορεί να μετατραπεί σε μια στενή ζώνη φωτός διέγερσης με χρήση φίλτρων ή φραγμάτων. Αντίθετα, οι πηγές laser παρέχουν μια σύμφωνη, στενή και παράλληλη δέσμη φωτός που είναι σε μεγάλο βαθμό μονοχρωματική.

Ο συνδυασμός της εστιασμένης ενέργειας και του μικρού εύρους της κηλίδας, συντελεί στην εξαιρετική ευαισθησία και ανάλυση που μπορεί να επιτευχθεί στη σάρωση με laser. Το ενεργό μέσο ενός laser, είναι συνήθως υλικό στερεάς κατάστασης (γυαλί, κρύσταλλος), υγρό, ή αέριο. Τα laser αερίου και τα laser στερεάς κατάστασης, παρέχουν ένα ευρύ φάσμα επιλογών μηκών κύματος για τις διαφορετικές ανάγκες απεικόνισης. Άλλες φωτεινές πηγές που χρησιμοποιούνται στα απεικονιστικά συστήματα, περιλαμβάνουν τις διόδους εκπομπής (LEDs), οι οποίες είναι πιο φτηνές από τις πηγές laser, αλλά παράγουν μια μεγάλου εύρους και χαμηλής ισχύος έξοδο.

*Κοινές πηγές φωτός που χρησιμοποιούνται στη φασματοσκοπία φθορισμού*

*Laser Αργού:* Τα laser αυτά παράγουν μια ποικιλία μηκών κύματος, που περιλαμβάνουν τα 457nm, τα 488nm, και τα 514nm και χρησιμεύουν για διέγερση πολλών κοινών φθοροφόρων. Τα 488 nm, συγκεκριμένα, είναι κατάλληλα για τη φλουροσκεΐνη (fluorescein) και άλλα σχετικά «διεγειρόμενα στο μπλε» φθοροφόρα. Τα laser Αργού είναι σχετικά μεγάλα laser αερίου και απαιτούν εξωτερική ψύξη.

*Laser He-Ne:* Τα laser αυτά εκπέμπουν στα 633 nm και είναι πολύ δημοφιλή σε πολλούς σαρωτές laser όπως τα συστήματα φθορισμού. Στην ανίχνευση φθορισμού, το laser He-Ne μπορεί να χρησιμοποιηθεί με φθοροφόρα «διεγειρόμενα στο κόκκινο» όπως το Cy5. Αυτά τα laser είναι μικρότερα από τα laser Αργού και δεν απαιτούν εξωτερική ψύξη.

*Laser Nd:Yag:* Τα laser αυτά είναι στερεάς κατάστασης και εκπέμπουν ισχυρά στα 532 nm. Η εκπομπή σε αυτό το μήκος κύματος είναι χρήσιμη για απεικόνιση μιας ευρείας λίστας φθοροφόρων που διεγείρονται αποτελεσματικά σε μήκη κύματος μεταξύ 490 nm και 600 nm. Η ψύξη είναι απαραίτητη για τη σταθεροποίηση της εξόδου.

*Laser διόδου (ή laser ημιαγωγών):* Λόγω του μικρού μεγέθους και βάρους, τα laser αυτά, μπορούν να ενσωματωθούν μέσα στο μηχανισμό σάρωσης ενός συστήματος φθορισμού. Τα laser διόδου είναι φτηνά και η εκπομπή τους γενικά περιορίζεται σε μήκη κύματος πάνω από τα 635 nm.

*Δίοδοι εκπομπής φωτός (LEDs):* Εκτός από τα laser μπορούν να χρησιμοποιηθούν και LED τα οποία εκπέμπουν σε πολύ μεγαλύτερο εύρος ζώνης ( $\geq 60$  nm) και με μια απλωμένη έξοδο ισχύος, από χαμηλές μέχρι μέτριες εξόδους. Επειδή η εκπομπή μιας πηγής LED δεν είναι κατευθυντική, η πηγή πρέπει να βρίσκεται κοντά στο δείγμα για την εστίαση του φωτός μέσω φακών. Τα LED είναι μικρότερα και φτηνότερα από τα laser και είναι διαθέσιμα στην περιοχή των ορατών μηκών κύματος πάνω από τα 430 nm.

Στα περισσότερα απεικονιστικά συστήματα, το φως διέγερσης προσπίπτει στο δείγμα με απευθείας φωτισμό και η πηγή διέγερσης βρίσκεται είτε πάνω είτε κάτω είτε δίπλα από το δείγμα. Από την άλλη, τα απεικονιστικά συστήματα που χρησιμοποιούν πηγές laser χρησιμοποιούν περισσότερο πολύπλοκους οπτικούς δρόμους, περιλαμβάνοντας κάτοπτρα και φακούς, οδηγώντας τη δέσμη στο εξεταζόμενο δείγμα. Μπορεί επίσης να χρειαστεί και κάποιο φιλτράρισμα του φωτός laser πριν η δέσμη διέγερσης κατευθυνθεί στο δείγμα.

Επειδή η δέσμη ενός laser είναι κατευθυντική και σημαντικής ισχύος, η παροχή του φωτός διέγερσης στο δείγμα είναι σχετικά άμεση και με ελάχιστες απώλειες. Για laser τα οποία παράγουν πολλαπλές γραμμές μηκών κύματος, η επιθυμητή γραμμή επιλέγεται χρησιμοποιώντας φίλτρα που αποκλείουν τα ανεπιθύμητα μήκη κύματος και επιτρέπουν τα επιθυμητά να περάσουν κατά ένα πολύ υψηλό ποσοστό. Επίσης, φίλτρα διέγερσης είναι απαραίτητα με τα μοναδικού μήκους κύματος laser, από τη στιγμή που η έξοδός τους δεν είναι 100% καθαρή.

**Οπτικά συλλογής του φωτός.** Υψηλής ποιότητας οπτικά στοιχεία, όπως φακοί, κάτοπτρα και φίλτρα, περιλαμβάνονται σε κάθε αποδοτικό απεικονιστικό σύστημα.. Τα φίλτρα μπορούν να επιστρωθούν κατάλληλα ώστε να απορροφούν ή να ανακλούν διαφορετικά μήκη κύματος της ακτινοβολίας.

Παρ'όλο που η ακτινοβολία λόγω φθορισμού από ένα φθοροφόρο εκπέμπεται σε όλες τις κατευθύνσεις, τυπικά συλλέγεται μόνο από μια σχετικά μικρή κωνική γωνία στη μία πλευρά του δείγματος. Για αυτόν τον λόγο, τα οπτικά απορρόφησης φωτός πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πιο αποτελεσματικά. Κάθε ακτινοβολία που ανακλάται ή σκεδάζεται από το δείγμα πρέπει να απορριφθεί μέσω μιας σειράς οπτικών φίλτρων. Το εκπεμπόμενο φως μπορεί επίσης να φιλτραριστεί ώστε να επιλεγθεί μόνο το εύρος των μηκών κύματος που ενδιαφέρει τον αναλυτή. Συστήματα που χρησιμοποιούν περισσότερους από έναν ανιχνευτές, απαιτούν επιπλέον φίλτρα διαχωριστών δέσμης ώστε να οδηγήσουν την εκπεμπόμενη ακτινοβολία μέσω ξεχωριστών δρόμων στους κατάλληλους ανιχνευτές.

**Ανίχνευση.** Για ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του εκπεμπόμενου φωτός, μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε ένας φωτοπολλαπλασιαστής (PMT), είτε μια συσκευή συζευγμένου φορτίου (CCD). Και στις δύο περιπτώσεις, η ενέργεια του φωτονίου από το εκπεμπόμενο φως φθορισμού μετατρέπεται σε ηλεκτρική ενέργεια, παράγοντας ένα μετρήσιμο σήμα που είναι ανάλογο με τα φωτόνια που ανιχνεύονται. Αφού ανιχνευθεί και πολλαπλασιαστεί το εκπεμπόμενο φως, το αναλογικό σήμα από έναν ανιχνευτή PMT ή CCD μετατρέπεται σε ψηφιακό σήμα. Η διαδικασία της ψηφιοποίησης μετατρέπει ένα μετρούμενο, συνεχές αναλογικό σήμα σε διακριτούς αριθμούς ανάλογα με τα επίπεδα της έντασης. Ο αριθμός των επιπέδων έντασης βασίζεται στη ψηφιακή ανάλυση του οργάνου, και συνήθως δίνεται σαν ένας αριθμός bit.

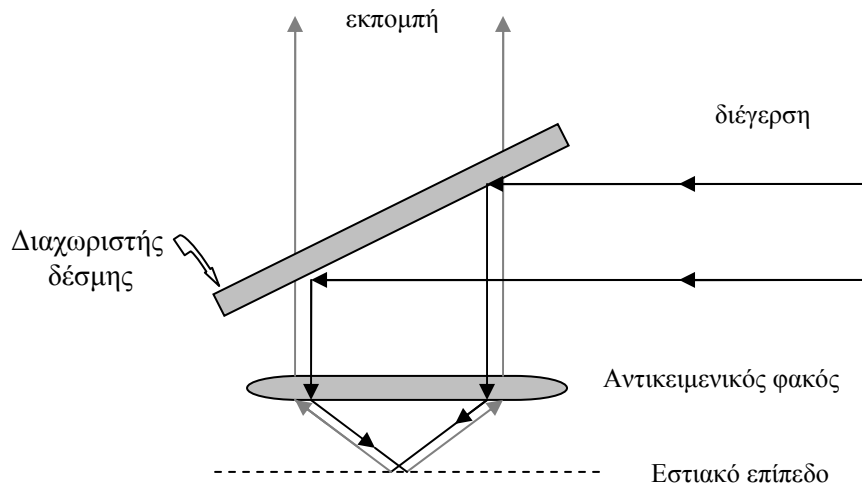
#### **4.3.1 Μικροσκοπία φθορισμού**

Η μικροσκοπία φθορισμού έχει αποδειχθεί μια σπουδαία τεχνική βιοαπεικόνισης. Ο φθορισμός έχει το πλεονέκτημα να παρέχει πολύ υψηλό λόγο σήματος προς θόρυβο, δίνοντας τη δυνατότητα διάκρισης χωρικών κατανομών ακόμα και για δείγματα μικρής συγκέντρωσης. Για να κάνει κανείς χρήση του φθορισμού μπορεί είτε να χρησιμοποιήσει τον ενδογενή φθορισμό ή αυτοφθορισμό (autofluorescence) είτε να σημάνει (label) το δείγμα (ένα κύτταρο, ένας ιστός ή ένα gel) με ένα κατάλληλο μόριο (ένα φθοροφόρο) του οποίου η κατανομή θα αποκαλυφθεί μετά από την ακτινοβόλησή του. Το μικροσκόπιο φθορισμού είναι ιδανικό για την ανίχνευση συγκεκριμένων φθοροφόρων στα κύτταρα και στους ιστούς.

Το μικροσκόπιο φθορισμού χρησιμοποιεί φίλτρα και έναν διχρωμικό διαχωριστή δέσμης. Το αντικείμενο φωτίζεται με φως διέγερσης φθορισμού μέσω του ίδιου αντικειμενικού φακού που συλλέγει το σήμα φθορισμού για την απεικόνιση. Ένας διαχωριστής δέσμης, ο οποίος ανάλογα με το μήκος κύματος του φωτός που προσπίπτει αφήνει το φως να περνά ή το ανακλά, χρησιμοποιείται με σκοπό να διαχωρίσει το φως διέγερσης από το φως φθορισμού. Στην διάταξη που παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.10, το

φως διέγερσης έχοντας μικρότερο μήκος κύματος από το εκπεμπόμενο φως ανακλάται, ενώ το εκπεμπόμενο φως περνάει από τον διαχωριστή.

Με τον ερχομό στο προσκήνιο διαφορετικών φθοροφόρων, τα οποία στοχεύουν σε διαφορετικά μέρη κυττάρων ή διερευνούν διαφορετικές διαδικασίες καναλιού ιόντων (π.χ., δείκτες  $\text{Ca}^{2++}$ ), η μικροσκοπία φθορισμού έχει πολύ σημαντική επίδραση στην βιολογία.



Εικόνα 4.1. Η βασική μορφή της μικροσκοπίας φθορισμού

### 4.3.2 Μικροσκοπία σάρωσης

Ένα βασικό πρόβλημα με τις εικόνες φθορισμού είναι ότι οι εκτός εστίας (out-of-focus) περιοχές του δείγματος εμφανίζονται σαν μια «θολούρα» στο αντικείμενο, μειώνοντας τον λόγο σήματος προς θόρυβο. Ακόμη, κατά τη διάρκεια της απεικόνισης, ολόκληρο το δείγμα φωτίζεται με υψηλής έντασης φως διέγερσης που μπορεί εύκολα να προκαλέσει φωτοοξειδωση (φωτοαπόσβεση) στο φθοροφόρο. Για την αντιμετώπιση των δύο αυτών προβλημάτων χρησιμοποιείται ένα οπτικό μικροσκόπιο σάρωσης που επιτρέπει την παρατήρηση των δειγμάτων σε πολύ υψηλή ανάλυση, με σχετικά μικρή φωτοοξειδωση του φθοροφόρου.

Ένα οπτικό μικροσκόπιο σάρωσης είναι σχεδιασμένο έτσι ώστε να φωτίζει ένα αντικείμενο συνεχώς, σημείο προς σημείο, όπου μια εστιασμένη δέσμη φωτός (από ένα laser) σαρώνει το αντικείμενο ταχύτητα σε μια X-Y μορφή ράστερ. Δηλαδή, η φωτεινή κηλίδα του φωτός σαρώνει το αντικείμενο και η εικόνα σχηματίζεται σημείο προς σημείο

σε μορφή ράστερ χρησιμοποιώντας ένα σύστημα ανίχνευσης με φωτοπολλαπλασιαστές. Η ανάλυση του μικροσκοπίου σάρωσης περιορίζεται από το μέγεθος κηλίδας της δέσμης laser, η οποία μπορεί να προσεγγίσει το όριο περίθλασης για το μήκος κύματος που χρησιμοποιείται.

Οι περισσότερες συσκευές φθορισμού τύπου σάρωσης χρησιμοποιούν φως laser για τη διέγερση. Οπτικοί φακοί χρησιμοποιούνται για να ευθυγραμμίσουν τη δέσμη laser, και κάτοπτρα για να την επανακατευθύνουν μέσα στο οπτικό όργανο. Ένα από τα κυριότερα χαρακτηριστικά που πρέπει να επισημανθεί στα συστήματα σάρωσης με laser, είναι το γεγονός ότι η φωτεινή πηγή είναι σημειακή, ενώ το δείγμα συχνά καταλαμβάνει ένα σχετικά μεγάλο όγκο. Η αποτελεσματική κάλυψη του δείγματος μπορεί να επιτευχθεί μετακινώντας ταχέως την δέσμη διέγερσης κατά μήκος του δείγματος στις δύο διαστάσεις (X-Y).

Υπάρχουν δύο τεχνικές για την μετακίνηση της σημειακής πηγής επάνω στο δείγμα:

1. *τα γαλβανομετρικά συστήματα*: τα συστήματα αυτά χρησιμοποιούν ένα μικρό κάτοπτρο το οποίο ταλαντώνεται με γρήγορο ρυθμό εκτρέποντας τη δέσμη του laser, δημιουργώντας έτσι μια αποτελεσματική πηγή γραμμής. Η γρήγορη εκτροπή της δέσμης συνεπάγεται μικρό χρόνο σάρωσης. Η χρησιμότητα των γαλβανομετρικών συστημάτων έγκυται στην απεικόνιση δειγμάτων σχετικά μεγάλου πάχους λόγω της ικανότητάς τους να συλλέγουν περισσότερο φως φθορισμού στην εγκάρσια διάσταση.
2. *Οι σαρωτές κινούμενης κεφαλής*: Οι σαρωτές αυτοί χρησιμοποιούν ένα μηχανισμό που ισαπέχει από το δείγμα. Αυτό σημαίνει ότι η γωνία και το μήκος δρόμου της διεγείρουσας δέσμης είναι η ίδια για κάθε σημείο του δείγματος. Το γεγονός αυτό ελαχιστοποιεί τις μεταβολές στην πυκνότητα ισχύος και την χωρική παραμόρφωση της δέσμης, που είναι κοινά φαινόμενα στα γαλβανομετρικά συστήματα

### 4.3.3 Συνεστιακή Μικροσκοπία

Με τα συμβατικά μικροσκόπια (εκτεταμένου οπτικού πεδίου), μεγάλου πάχους δείγματα θα παράγουν μια εικόνα που προέρχεται από το συνδυασμό μιας λεπτομερούς εικόνας από την εστιασμένη περιοχή (in-focus region), με θολές εικόνες από τις περιοχές εκτός εστίασης (out-of-focus regions). Ένα δείγμα με πάχος μεγαλύτερο από τρία με πέντε μικρά, θα παράγουν μια εικόνα με τη μεγαλύτερη συνεισφορά φωτός να προέρχεται από περιοχές που δεν είναι απολύτως εστιασμένες. Η συνεισφορά ενός θολού υποβάθρου μειώνει τα καλά οπτικά χαρακτηριστικά (contrast) της εντός εστίας εικόνας.

Το πρόβλημα αντιμετωπίζεται με την χρησιμοποίηση της συνεστιακής μικροσκοπίας. Η συνεστιακή μικροσκοπία είναι μια διαδεδομένη απεικονιστική τεχνική, που χρησιμοποιεί μια συνεστιακή διάταξη, όπως μια μικροοπή (pinhole), ώστε να ελαττωθεί το εκτός εστίας φως (φθορισμού στην περίπτωση της μικροσκοπίας φθορισμού) που φτάνει στον ανιχνευτή. Παρέχει με αυτόν τον τρόπο αυξημένα οπτικά χαρακτηριστικά

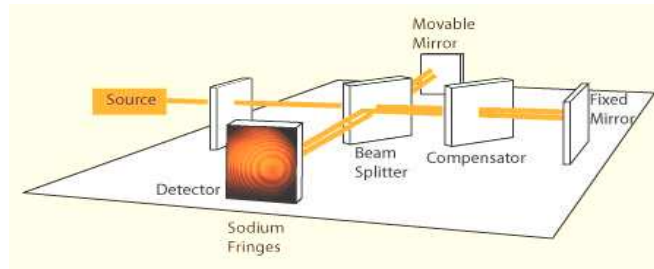
και επίσης την ικανότητα να αποκτήσει κανείς διάκριση βάθους για απεικόνιση στις τρεις διαστάσεις. Όμως, καθώς αρκετό φως εκπομπής κόβεται από τη μικροσκόπη είναι αναγκαία μια μακράς διάρκειας έκθεση του δείγματος στην ακτινοβολία.

#### **4.3.4 Πολυφωτονική μικροσκοπία φθορισμού**

Η πολυφωτονική μικροσκοπία φθορισμού (multiphoton microscopy-MFM) χρησιμοποιεί παλμικό φως μεγάλου μήκους κύματος για να διεγείρει φθοροφόρα μέσα στο υπο παρατήρηση δείγμα. Το φθοροφόρο απορροφά την ενέργεια από δύο μεγάλου μήκους κύματος φωτόνια τα οποία πρέπει να φτάσουν ταυτόχρονα για να διεγείρουν ένα ηλεκτρόνιο σε μια υψηλότερη ενεργειακή κατάσταση, από όπου μπορεί να αποδιεγερθεί, εκπέμποντας σήμα φθορισμού. Διαφέρει από την κλασική μικροσκοπία φθορισμού (όπου το μήκος κύματος διέγερσης είναι μικρότερο από το μήκος κύματος εκπομπής) επειδή η συνολική ενέργεια των δύο μεγάλων μηκών κύματος διέγερσης παράγουν ένα μήκος κύματος εκπομπής μικρότερο από το μήκος κύματος διέγερσης. Τα laser διέγερσης των MFM έχουν λοιπόν χαμηλή ενέργεια (τυπικά στο IR) και είναι κατάλληλα για απεικόνιση ζωντανών κυττάρων εφόσον προκαλούν λιγότερη καταστροφή έναντι των πιο επικίνδυνων laser υψηλής ενέργειας.

#### **4.4 ΟΠΤΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ (OCT)**

Στην οπτική τομογραφία, μια φωτεινή πηγή φωτίζει το δείγμα σε ένα σημείο της επιφάνειάς του, το φως ανακλάται ή εν γένει σκεδαζόμαστε από το υλικό και μια συστοιχία ανιχνευτών μετρά την ένταση του σκεδαζόμενου φωτός. Η κατανομή του σκεδαζόμενου φωτός, όπως καταγράφεται από τους ανιχνευτές, δίνει μια εικόνα της διαπερατότητας του υπό εξέταση αντικειμένου στη συγκεκριμένη διάταξη πηγής ανιχνευτή. Η οπτική τομογραφική απεικόνιση επιτυγχάνεται με τη χωρική καταγραφή των οπτικών ιδιοτήτων μέσα σε όλο τον όγκο του υπό εξέταση ιστού. Η βασική αρχή της οπτικής τομογραφίας μπορεί να αποδοθεί περιληπτικά ως εξής: Ένας υπερβραχύς παλμός δέσμης laser κατευθύνεται σε ένα συμβολόμετρο Michelson και διαιρείται σε δύο μέρη. Το ένα τμήμα κατευθύνεται προς τον υπό εξέταση ιστό και το άλλο αποτελεί τη δέσμη αναφοράς. Το φως που ανακλάται άμεσα από τις διάφορες δομές του ιστού, συδυάζεται με τη δέσμη αναφοράς και συμβάλλει στον ανιχνευτή. Η ανίχνευση είναι λοιπόν συμβολομετρική, δηλαδή ο ανασυνδυασμός του φωτός από τις δύο διαδρομές οδηγεί σε αναιρετική ή ενισχυτική συμβολή, η σχετική διαφορά δρόμου προσδιορίζει την ένταση που φθάνει στον ανιχνευτή.



**Εικόνα 4.2:** Η διάταξη του συμβολομέτρου Michelson

#### 4.5 ΟΠΤΙΚΗ ΒΙΟΨΙΑ

Μια από τις κυριότερες εφαρμογές της *in vivo* φασματοσκοπίας εστιάζεται στην ανίχνευση πρώιμων σταδίων του καρκίνου. Η οπτική βιοψία αναφέρεται στην ανίχνευση της καρκινικής κατάστασης χρησιμοποιώντας οπτικές μεθόδους. Παρέχει τη δυνατότητα μη επεμβατικών *in vivo* οπτικές μεθόδους αναγνώρισης ενός καρκίνου και παρακολούθησης της ανάπτυξής του.

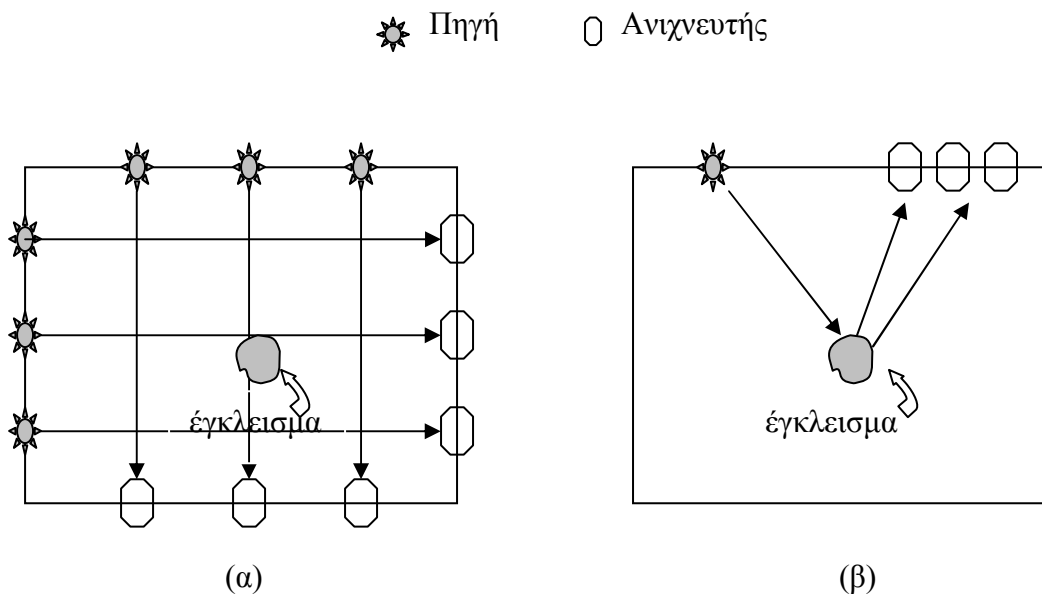
Ο βασικός κανόνας που χρησιμοποιείται στη μέθοδο της οπτικής βιοψίας, είναι ότι το εκπεμπόμενο και το σκεδαζόμενο φως επηρεάζεται σημαντικά από τη σύνθεση και την κυτταρική δομή των ιστών. Η ανάπτυξη καρκίνου ή άλλης ασθένειας προκαλεί μια αλλαγή στη σύνθεση και στην κυτταρική δομή των προσβληθέντων ιστών, παράγοντας μια αλλαγή στο εκπεμπόμενο και σκεδαζόμενο φως. Τα κύρια πλεονεκτήματα που παρέχει η οπτική βιοψία είναι τα ακόλουθα:

- είναι μια μη επεμβατική ή ελάχιστα επεμβατική τεχνική που κάνει χρήση ενδοσκοπικών οργάνων. Έτσι δεν απαιτείται αφαίρεση δείγματος ιστού.
- παρέχει ταχείες μετρήσεις. Έτσι υπάρχει η δυνατότητα μετρήσεων σε πραγματικό χρόνο
- Η υψηλή χωρική ανάλυση παρέχει την ικανότητα ανίχνευσης μικρών όγκων.
- παρέχει την ικανότητα ανίχνευσης προκαρκινικών σταδίων. Αυτή η ικανότητα προέρχεται από την παρουσία φασματικών χαρακτηριστικών που σχετίζονται με μοριακές αλλαγές που εκδηλώνονται ακόμα και πριν την ανίχνευση καρκίνου

Όσον αφορά την ανίχνευση μέσω φθορισμού, συγκρίνονται τα φάσματα φθορισμού υγιούς και παθολογικού ιστού. Αυτό συχνά αναφέρεται και ως φωτοδιάγνωση μέσω laser επαγόμενου φθορισμού (laser induced fluorescence-LIF). Ο ενδογενής φθορισμός (αυτοφθορισμός) από έναν ιστό γενικά προτιμάται έναντι του εξωγενούς φθορισμού (φθορισμός από μια χρωστική που προστίθεται). Οι μελέτες οπτικής βιοψίας έχουν επεκταθεί και σε *ex vivo* και *in vivo* ανθρώπινους ιστούς.

Τα συστήματα που βασίζονται στον εξωγενή φθορισμό, χρησιμοποιούν εξωγενή φθοροφόρα. Ένα φθοροφόρο μπορεί να δημιουργηθεί όταν ένα σύμπλεγμα ειδικής

χρωστικής-αντισώματος αντιδρά με ένα βιολογικό δείκτη (αντιγόνο) στην περιοχή της ασθένειας σημαίνοντάς το με ένα φθορίζον δείκτη. Κατά τη διέγερσή τους τα σημασμένα αντιγόνα εκπέμπουν ακτινοβολία φθορισμού που μπορεί να ανιχνευτεί και να παρέχει πληροφορίες για τη θέση του ιστού που έχει προσβληθεί από μια ασθένεια (πχ καρκίνος). Η καταγραφή της χωρικής κατανομής φθορισμού από το φθοροφόρο γίνεται συνήθως με τομογραφική γεωμετρία, όπου η περιοχή ενδιαφέροντος περικυκλώνεται από πολλαπλές πηγές και ανιχνευτές ή με γεωμετρία ανάκλασης όπου ένα σήμα από μια πηγή εισάγεται στην μία πλευρά της επιφάνειας του ιστού και το σήμα εκπομπής συλλέγεται από ανιχνευτές που βρίσκονται στην άλλη πλευρά της επιφάνειάς του. Οι διατάξεις αυτές παρουσιάζονται στην Εικόνα 4.2



**Εικόνα 4.2** Διατάξεις συλλογής δεδομένων: (α) η τομογραφική γεωμετρία και (β) η γεωμετρία ανάκλασης

Στην παρούσα διπλωματική θα ασχοληθούμε με το πρόβλημα του εντοπισμού φθοροφόρου εμφυτευμένου σε ιστό με ανάλυση της χωρικής κατανομής της έντασης φθορισμού με βάση την γεωμετρία ανάκλασης (Εικόνα 4.2β).



# 5

## ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΘΕΩΡΙΑΣ ΔΙΑΚΡΙΤΩΝ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΩΝ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

Οι φυσικές θεωρίες μας επιτρέπουν να κάνουμε προβλέψεις: δεδομένης μιας πλήρους περιγραφής ενός φυσικού συστήματος, μπορούμε να προβλέψουμε την εμφάνιση μερικών μετρήσεων. Το πρόβλημα της πρόβλεψης των αποτελεσμάτων των μετρήσεων ονομάζεται μοντελοποίηση του προβλήματος. Αυτό είναι το *ευθύ πρόβλημα* (*direct problem*).

Η απόκτηση πειραματικών δεδομένων έχει ως σκοπό να αποκομίσουμε χρήσιμες πληροφορίες όσον αφορά ένα φυσικό σύστημα ή ένα φαινόμενο που μας ενδιαφέρει. Όμως, σε πολλές περιπτώσεις οι ποσότητες που επιθυμούμε να καθορίσουμε δεν είναι εφικτό να υπολογιστούν πειραματικά. Αν τα πειραματικά δεδομένα εξαρτώνται με κάποιον τρόπο από τις ζητούμενες ποσότητες, τότε έχουμε τουλάχιστον κάποια πληροφορία που παρέχεται από τα δεδομένα σε αυτές τις ποσότητες. Ξεκινώντας από δεδομένα που μας παρέχει το πείραμα, το πρόβλημα της προσπάθειας ανακατασκευής των ποσοτήτων που αναζητάμε, ονομάζεται *αντίστροφο πρόβλημα* (*inverse problem*). Μιλώντας λιγότερο αυστηρά, συχνά αναφέρουμε ότι σε ένα αντίστροφο πρόβλημα μετράμε ένα αποτέλεσμα και θέλουμε να καθορίσουμε την αιτία.

Ενώ το ευθύ πρόβλημα έχει (σε ντετερμινιστικά προβλήματα) μία μοναδική λύση, το αντίστροφο πρόβλημα γενικά δεν έχει. Για αυτό το λόγο, στο αντίστροφο πρόβλημα, χρειάζεται να έχουμε στη διάθεσή μας κάθε *a priori* πληροφορία για τις παραμέτρους του μοντέλου.

Στην περίπτωση του προβλήματος του καθορισμού συστήματος, τα σήματα εισόδου και εξόδου είναι γνωστά και το ζητούμενο είναι ο καθορισμός των χαρακτηριστικών του συστήματος. Ο άλλος τύπος των αντιστρόφων προβλημάτων περιλαμβάνει τον καθορισμό του σήματος εισόδου γνωρίζοντας τα χαρακτηριστικά του συστήματος και το σήμα εξόδου. Αυτό ονομάζεται αποσυνέλιξη (*deconvolution*), αντίθετα με το ευθύ πρόβλημα που ονομάζεται συνέλιξη (*convolution*).

**Πίνακας 5.1. Ευθέα και αντίστροφα προβλήματα που εμφανίζονται στην επιστήμη**



| Ευθέα Προβλήματα              |                        | Αντίστροφα Προβλήματα   |                         |
|-------------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Σχεδιασμός συστήματος         | Συνελιξη               | Καθορισμός συστήματος   | Αποσυνέλιξη             |
| Είσοδος: γνωστή               | Είσοδος: γνωστή        | Είσοδος: γνωστή         | Είσοδος: <u>άγνωστη</u> |
| Σύστημα: <u>να σχεδιαστεί</u> | Σύστημα: γνωστό        | Σύστημα: <u>άγνωστο</u> | Σύστημα: γνωστό         |
| Έξοδος: προκαθορισμένη        | Έξοδος: <u>άγνωστη</u> | Έξοδος: γνωστή          | Έξοδος: <u>άγνωστη</u>  |

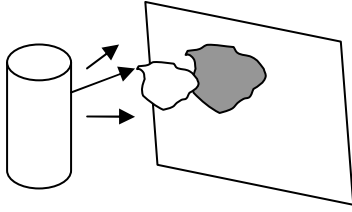
Ο στόχος της επίλυσης ενός αντιστρόφου προβλήματος είναι να καθορίσει άγνωστες παραμέτρους με τη βοήθεια μετρούμενων ποσοτήτων υποθέτοντας ένα μοντέλο που τα συνδέει μεταξύ τους. Σε αυτό το κεφάλαιο θα παρουσιαστούν ορισμένα παραδείγματα αντιστρόφων προβλημάτων, θα εισαχθεί το γενικό πλάνο των λύσεων καθοδηγούμενων από τα δεδομένα (data-driven solutions) και θα αναφερθούν κάποιες από τις δυσκολίες που εμφανίζονται στα αντίστροφα προβλήματα.

## 5.1 ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ - ΔΙΑΚΡΙΤΟΠΟΙΗΣΗ

Το ευθύ πρόβλημα ξεκινά από μια γνωστή είσοδο. Αντίθετα, το αντίστροφο πρόβλημα αρχίζει από την γνωστή έξοδο και επιχειρεί να καθορίσει είτε την είσοδο, είτε τις ιδιότητες του συστήματος. Αντίστροφα προβλήματα εμφανίζονται σε όλες τις εφαρμογές της μηχανικής και γενικότερα της επιστήμης.

Παρακάτω παρουσιάζονται ορισμένα απλά παραδείγματα ευθέων και αντιστρόφων προβλημάτων:

### Παράδειγμα 1



**Περιγραφή:** Η λάμπα φωτίζει ένα αδιαφανές αντικείμενο και μια σκιά δημιουργείται στον τοίχο.

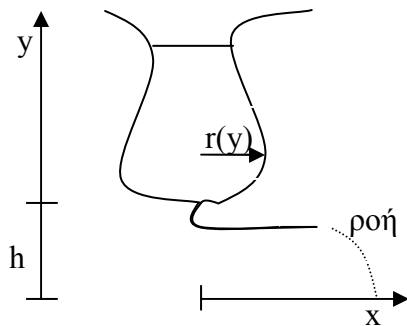
**Ευθύ πρόβλημα:** Δεδομένων ενός ημιδιαφανούς αντικειμένου και μιας γνωστής πηγής, το ζητούμενο είναι ο υπολογισμός της σκιάς στον τοίχο.

**Αντίστροφα προβλήματα:** Για ένα γνωστό μέσο και μια γνωστή φωτεινή ένταση στον τοίχο,

**Είσοδος:** ζητάμε να καθορίσουμε τη θέση, τον προσανατολισμό ή την ένταση της λάμπας.

**Σύστημα:** ζητάμε να αποκτήσουμε τα χαρακτηριστικά του ημιδιαφανούς αντικειμένου.

### Παράδειγμα 2



**Περιγραφή:** Σε ένα δοχείο, το ύψος του νερού τη χρονική στιγμή  $t$  είναι  $y(t)$ , η επιφάνεια του νερού έχει μια ακτίνα  $r(t)$  και η ροή φτάνει σε απόσταση  $x(t)$ .

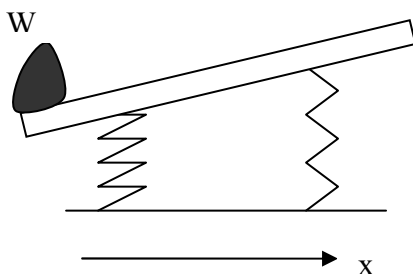
**Ευθέα προβλήματα:** Ζητούμενο είναι ο καθορισμός της απόστασης  $x$  όταν το δοχείο είναι γεμάτο μέχρι ένα ύψος  $y$ , ή του χρόνου που απαιτείται για να αδειάσει εντελώς το δοχείο.

**Αντίστροφα προβλήματα:**

**Είσοδος:** Γνωρίζοντας το  $x$  σε μια συγκεκριμένη χρονική στιγμή, ζητούμενο είναι ο προσδιορισμός του ύψους του νερού στο δοχείο εκείνη τη χρονική στιγμή.

**Σύστημα:** Γνωρίζοντας την χρονική ιστορία  $x(t)$ , ζητούμενο είναι ο προσδιορισμός του σχήματος του δοχείου,  $r(y)$ .

### Παράδειγμα 3



**Περιγραφή:** Μια στέρα δοκός που υποστηρίζεται από δύο ελατήρια, φορτώνεται με ένα σώμα γνωστού βάρους  $W$  σε μια θέση  $x$ .

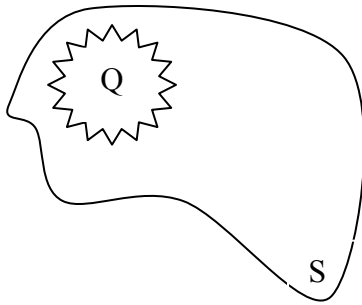
**Ευθύ πρόβλημα:** Ζητούμενο είναι ο υπολογισμός της απόκλισης της δοκού με γνωστές ποσότητες την θέση και τις σταθερές των δύο ελατηρίων.

**Αντίστροφα προβλήματα:**

**Είσοδος:** Γνωρίζοντας τα χαρακτηριστικά του συστήματος και την απόκλιση του, ζητούμενο είναι ο υπολογισμός της θέσης και του βάρους του σώματος.

**Σύστημα:** Γνωρίζοντας την απόκλιση της δοκού για διαφορετικές θέσεις του βάρους, ζητούμενο είναι ο υπολογισμός των θέσεων και των σταθερών των δύο ελατηρίων.

#### Παράδειγμα 4



**Περιγραφή:** Υπάρχει μια πηγή θερμότητας  $Q$  μέσα σε ένα σώμα. Η θερμοκρασία είναι δυνατόν να μετρηθεί οπουδήποτε πάνω στην επιφάνεια  $S$ .

**Ευθέα προβλήματα:** Ζητούμενο είναι ο υπολογισμός της επιφανειακής θερμοκρασίας γνωρίζοντας τη θέση και το μέγεθος της πηγής  $Q$ , καθώς και τις ιδιότητες του μέσου.

**Αντίστροφα προβλήματα:**

**Είσοδος:** Γνωρίζοντας τις ιδιότητες του μέσου και τη χωρική κατανομή της επιφανειακής θερμοκρασίας, ζητούμενο είναι ο προσδιορισμός της θέσης και του μεγέθους της πηγής.

**Σύστημα:** Δεδομένης της θέσης και του μεγέθους της πηγής και δεδομένης της επιφανειακής θερμοκρασίας, ζητούμενο είναι ο καθορισμός της ογκομετρικής κατανομής της θερμικής αγωγιμότητας.

Τα παραπάνω παραδείγματα αποτελούν τη βάση περισσότερο σύνθετων προβλημάτων: η αντιστροφή της σκιάς σχετίζεται με την τομογραφική απεικόνιση. Το νερό που ρέει έξω από το δοχείο είναι ανάλογο της βροχής που πέφτει στην κοιλάδα ενός ποταμού και προκαλεί πλημμύρα. Το κινούμενο βάρος στη δοκό είναι ένα απλό μοντέλο μιας γέφυρας. Τέλος, η πηγή θερμότητας μέσα στο σώμα είναι κοινή σε φαινόμενα αγωγής όλων των ειδών και σχετίζεται άμεσα με γεωθεμικούς πόρους, όπως επίσης και με συστήματα ανίχνευσης υπέρυθρης ακτινοβολίας.

#### **5.1.1 Συνεχή – Διακριτά προβλήματα**

Τα προηγούμενα παραδείγματα μπορούν να φορμαλιστούν χρησιμοποιώντας είτε συνεχή είτε διακριτά μαθηματικά. Η εξασθένιση του φωτός από την πηγή της λάμπας μέχρι τον τοίχο (Παράδειγμα 1) είναι το ολοκλήρωμα της απορρόφησης που συμβαίνει σε κάθε διαφορικό μήκος της φωτεινής ακτίνας,  $ds$ , κατά μήκος της διαδρομής της ακτίνας. Από την άλλη, η έξοδος από το δοχείο σε χρόνο  $t$  (Παράδειγμα 2) εξαρτάται από την αντίστοιχη ανύψωση  $z$  του νερού μέσα στο δοχείο σε χρόνο  $t$  καθώς και από τη γεωμετρία του δοχείου πάνω από αυτό το ύψος. Τα δύο αυτά παραδείγματα μπορούν να περιγραφούν με εξισώσεις της παρακάτω μορφής:

$$y(p) = \int_a^b h(p,s)x(s)ds \quad \text{εξίσωση Fredholm} \quad (5.1)$$

$$\text{ή } y(p) = \int_a^p h(p,s)x(s)ds \quad \text{εξίσωση Volterra} \quad (5.2)$$

όπου η συνάρτηση  $x(s)$  μετασχηματίζεται σε μια άλλη συνάρτηση  $y(p)$  μέσω ενός ολοκληρώματος. Η συνάρτηση  $y(p)$  καλείται ο μετασχηματισμός της  $x(s)$ , και η συνάρτηση  $h(p,s)$  ονομάζεται πυρήνας (kernel) του μετασχηματισμού. Η γενική ιδέα των μετασχηματισμών αυτών είναι να μετατραπεί το πρόβλημα για την  $x(s)$  σε ένα απλούστερο πρόβλημα για την  $y(p)$ , να λυθεί το νέο πρόβλημα και ακολούθως να ανακτηθεί η ζητούμενη συνάρτηση  $x(s)$  μέσω της  $y(p)$  με κατάλληλη επιλογή του πυρήνα  $h(p,s)$ . Όταν ο πυρήνας  $h(p,s)$  περιγράφει την απόκριση του συστήματος στη θέση  $p$ , που οφείλεται σε μια μοναδιαία είσοδο (unit input) στην θέση  $s$ , τότε η συνάρτηση  $h(p,s)$  είναι η συνάρτηση Green.

Στα αντίστροφα προβλήματα, η  $y(p)$  και ο πυρήνας  $h(p,s)$  είναι γνωστές ποσότητες, αλλά η συνάρτηση  $x(s)$  είναι άγνωστη. Όταν η άγνωστη συνάρτηση εμφανίζεται μέσα στο ολοκλήρωμα, η εξίσωση ονομάζεται *ολοκληρωτική εξίσωση (integral equation)*. Υπάρχουν δύο βασικοί τύποι για τις ολοκληρωτικές εξισώσεις: οι εξισώσεις Fredholm όταν και τα δύο όρια ολοκλήρωσης είναι σταθερά, και οι εξισώσεις Volterra όταν το ένα όριο ολοκλήρωσης είναι μεταβλητό. Μια ολοκληρωτική εξίσωση ονομάζεται *πρώτου είδους (first kind)* όταν η άγνωστη συνάρτηση εμφανίζεται μόνο μέσα στο ολοκλήρωμα, και *δευτέρου είδους (second kind)* όταν η άγνωστη συνάρτηση εμφανίζεται και μέσα και έξω από το ολοκλήρωμα. Έτσι, οι Εξισώσεις 5.1 και 5.2 είναι πρώτου είδους.

Η διακριτή μορφή των ολοκληρωτικών εξισώσεων προκύπτει από το άθροισμα:

$$y_i = \sum_k h_{i,k} x_k \quad (5.3)$$

Όταν πολλές μετρήσεις είναι διαθέσιμες, το σύστημα των εξισώσεων μπορεί να εκφραστεί σαν ένα γινόμενο πινάκων:

$$\underline{y} = \underline{h} \cdot \underline{x} \quad (5.4)$$

όπου ο πίνακας  $\underline{x}$  περιέχει τις άγνωστες τιμές. (Σημειώνεται ότι ο πίνακας  $\underline{h}$  είναι κάτω τριγωνικός σε προβλήματα τύπου Volterra.) Αν ο πίνακας  $\underline{h}$  είναι αντιστρέψιμος, ο αντίστροφος πίνακας είναι ο  $\underline{h}^{-1}$  και η λύση του αντιστρόφου προβλήματος είναι η

$$\underline{x} = \underline{h}^{-1} \cdot \underline{y} \quad \text{αντίστροφο πρόβλημα} \quad (5.5)$$

Όμως, στις περισσότερες περιπτώσεις ο πίνακας  $\underline{h}$  είναι μη αντιστρέψιμος και έτσι αντί αυτού χρησιμοποιούμε το λεγόμενο *ψευδοαντίστροφο* (*pseudoinverse*) πίνακα.

Για την ανάλυση διακριτών σημάτων είναι βολική μια αναπαράσταση που χρησιμοποιεί διανύσματα και πίνακες. Έτσι, αναζητάμε μια έκφραση των αντιστρόφων προβλημάτων στη διακριτή τους μορφή όπως στην Εξίσωση 5.5. (Παρ' όλα αυτά, μερικά προβλήματα δε μπορούν να αναπαρασταθούν με αυτόν τον τρόπο.) Από τη στιγμή που το ευθύ πρόβλημα θα κωδικοποιηθεί σε μορφή πινάκων, υπάρχει η δυνατότητα με τη βοήθεια αλγεβρικών μεθόδων να υπολογιστεί ο ψευδοαντίστροφος πίνακας και να βρεθεί η λύση του αντιστρόφου προβλήματος.

### 5.1.2 Αντίστροφες διαδικασίες στην ανάλυση σήματος

Σε πολλές εφαρμογές ανάλυσης σήματος κάνουν την εμφάνισή τους αντίστροφα προβλήματα. Παραδείγματα αποτελούν η αποσυνέλιξη στο πεδίο του χρόνου, ο αντίστροφος μετασχηματισμός Fourier και ο καθορισμός συστήματος.

Η συνέλιξη είναι το ευθύ πρόβλημα καθορισμού του σήματος εξόδου  $\underline{y}$  γνωρίζοντας την είσοδο  $\underline{x}$  και την κρουστική απόκριση (impulse response)  $\underline{h}$ . Σε όρους διακριτών μαθηματικών, η συνέλιξη είναι ένα άθροισμα πολλαπλασιασμών και μπορεί εύκολα να αναπαρασταθεί με τη βοήθεια πινάκων ως

$$\underline{y} = \underline{h} \cdot \underline{x} \quad \text{ευθύ πρόβλημα: συνέλιξη} \quad (5.6)$$

όπου οι στήλες του πίνακα  $\underline{h}$  είναι μετατοπισμένες μορφές (shifted versions) της κρουστικής απόκρισης  $\underline{h}$ . Το αντίστροφο πρόβλημα, η αποσυνέλιξη, συνίσταται στο να καθοριστεί η είσοδος  $\underline{x}$  γνωρίζοντας την έξοδο  $\underline{y}$  και την κρουστική απόκριση  $\underline{h}$ . Αν ο πίνακας  $\underline{h}$  είναι αντιστρέψιμος, θα είναι

$$\underline{x} = \underline{h}^{-1} \cdot \underline{y} \quad \text{αντίστροφο πρόβλημα: αποσυνέλιξη} \quad (5.7)$$

Ο άλλος τύπος αντιστρόφου προβλήματος είναι ο καθορισμός συστήματος. Επειδή στη συνέλιξη ισχύει η αντιμεταθετική ιδιότητα, το άθροισμα της συνέλιξης μπορεί να εκφραστεί με μορφή πίνακα ως ο πολλαπλασιασμός ενός πίνακα  $\underline{x}$  του οποίου οι στήλες είναι μετατοπισμένες μορφές του σήματος εισόδου  $x$  επί το διάνυσμα της κρουστικής απόκρισης  $\underline{h}$ ,  $\underline{y} = \underline{x} \cdot \underline{h}$ . Ακολουθώντας μια παρόμοια συλλογιστική διαδικασία, αν ένας πίνακας  $\underline{x}$  είναι αντιστρέψιμος, η κρουστική απόκριση  $\underline{h}$  μπορεί να βρεθεί:

$$\underline{h} = \underline{x}^{-1} \cdot \underline{y} \quad \text{αντίστροφο πρόβλημα: καθορισμός συστήματος} \quad (5.8)$$

### 5.1.3 Ανάλυση προσαρμογής (Regression analysis)

Τα προβλήματα καθορισμού συστήματος μπορούν να θεωρηθούν σαν προβλήματα προσαρμογής ενός υποθετικού μοντέλου στις πειραματικές μετρήσεις με σκοπό την εξαγωγή των αγνώστων παραμέτρων του μοντέλου. Η διαδικασία της λύσης αρχίζει με την εκλογή ενός εύλογου μοντέλου ή φυσικού νόμου που θα καθορίσει τη συνάρτηση που θα προσαρμοστεί.

Σαν ένα παράδειγμα προσαρμογής, θεωρούμε ένα σώμα που κάνει ελεύθερη πτώση. Έστω ότι πραγματοποιούνται  $M$  μετρήσεις της απόστασης  $z_i$  που έχει διανύσει το σώμα σε χρόνους  $t_i$ . Σε αυτές τις μετρήσεις θα προσαρμοστεί ένα πολυώνυμο βαθμού  $N-1$ . Για κάθε  $i$ -οστή μέτρηση μπορεί να γραφεί μια πολυωνυμική εξίσωση:

$$\begin{aligned} t_1 &= c_0 \cdot z_1^0 + c_1 \cdot z_1^1 + c_2 \cdot z_1^2 + \dots + c_j \cdot z_1^j + \dots c_{N-1} \cdot z_1^{N-1} \\ &\dots \quad \dots \quad \dots \quad \dots \quad \dots \quad \dots \\ t_i &= c_0 \cdot z_i^0 + c_1 \cdot z_i^1 + c_2 \cdot z_i^2 + \dots + c_j \cdot z_i^j + \dots c_{N-1} \cdot z_i^{N-1} \\ &\dots \quad \dots \quad \dots \quad \dots \quad \dots \quad \dots \\ t_M &= c_0 \cdot z_M^0 + c_1 \cdot z_M^1 + c_2 \cdot z_M^2 + \dots + c_j \cdot z_M^j + \dots c_{N-1} \cdot z_M^{N-1} \end{aligned} \quad (5.9)$$

Το παραπάνω σύνολο εξισώσεων μπορεί να γραφεί με μορφή πινάκων ως:

$$\begin{bmatrix} t_1 \\ \dots \\ t_i \\ \dots \\ t_M \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & z_1 & \dots & z_1^k & \dots & z_1^{N-1} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 1 & z_i & \dots & z_i^k & \dots & z_i^{N-1} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 1 & z_M & \dots & z_M^k & \dots & z_M^{N-1} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} c_0 \\ c_1 \\ \dots \\ c_k \\ \dots \\ c_{N-1} \end{bmatrix} \quad (5.10)$$

ή

$$\underline{t} = \underline{z} \cdot \underline{c}$$

Οι N παράμετροι του μοντέλου,  $\underline{c} = (c_0, \dots, c_k, \dots, c_{N-1})$  είναι άγνωστες. Γενικά, υπάρχουν περισσότερες μετρήσεις από ότι άγνωστοι. Δηλαδή  $M > N$ , το σύστημα είναι υπερκαθορισμένο (overdetermined) και οι μετρήσεις παρουσιάζουν θόρυβο (ασύμβατο σύνολο εξισώσεων).

Πρέπει να σημειωθεί ότι για να εκφραστεί το πρόβλημα σε μορφή πινάκων, δεν απαιτείται μια γραμμική συναρτησιακή σχέση  $t = f(z)$ , αλλά ένας γραμμικός συνδυασμός συναρτήσεων βάσης του  $z$ . Ένα καλό παράδειγμα είναι οι σειρές Fourier:  $t = c_0 + c_1 \cdot \cos(\omega \cdot z) + c_2 \cdot \sin(\omega \cdot z) + \dots$ , όπου τα ημίτονα και τα συνημίτονα είναι οι συναρτήσεις βάσης.

Όταν είναι διαθέσιμη μια πληθώρα μοντέλων τα οποία συναγωνίζονται μεταξύ τους για την καλύτερη αναπαράσταση του φυσικού προβλήματος που μας ενδιαφέρει, το πόσο καλή είναι η προσαρμογή είναι αυτό που θα κρίνει τελικά την κατάλληλότερη επιλογή του μοντέλου. Όμως, αυτό είναι ένα αναγκαίο και όχι ικανό κριτήριο όπως θα γίνει φανερό στην συνέχεια του κεφαλαίου.

#### 5.1.4 Χρόνος διάδοσης τομογραφικής απεικόνισης

Η τομογραφική αντιστροφή επιχειρεί να υπολογίσει τις υλικές παραμέτρους, καθώς και τη χωρική τους κατανομή μέσα σε ένα σώμα, αναλύοντας μαθηματικά μετρήσεις που αποκτώνται στο σύνορο. Η τεχνική αυτή βρίσκει εφαρμογή σε χημικές, ηλεκτρικές, θερμικές ή μηχανικές παραμέτρους. Έτσι, αποτελεί μια δυναμική προσέγγιση στη μελέτη πολλών επιστημονικών συστημάτων. Σε όλες τις περιπτώσεις, πρέπει να υποθεθεί ένα φυσικό μοντέλο.

Παραδείγματος χάριν, θεωρούμε ένα υπερηχητικό διαγνωστικό σύστημα, όπου μετρήσεις χρόνου διαδρομής αντιστρέφονται για να ληφθεί μια τομογραφική εικόνα της χωρικής κατανομής της ταχύτητας  $v$  μέσα στο σώμα. Για την αντιστροφή, μπορούν να χρησιμοποιηθούν δεδομένα διάδοσης όπως και και δεδομένα ανάκλασης (Εικόνες 5.1α και 5.1β). Το σήμα που εκπέμπεται από την πηγή S, ταξιδεύει στο μέσο και ανιχνεύεται στο δέκτη R (Εικόνα 5.2). Ο χρόνος διαδρομής από την πηγή στο δέκτη είναι το



ολοκλήρωμα των διαφορικών χρόνων που έκανε το σήμα να ταξιδέψει διαφορεικά μήκη  $dh$  κατά μήκος της πορείας της ακτίνας:

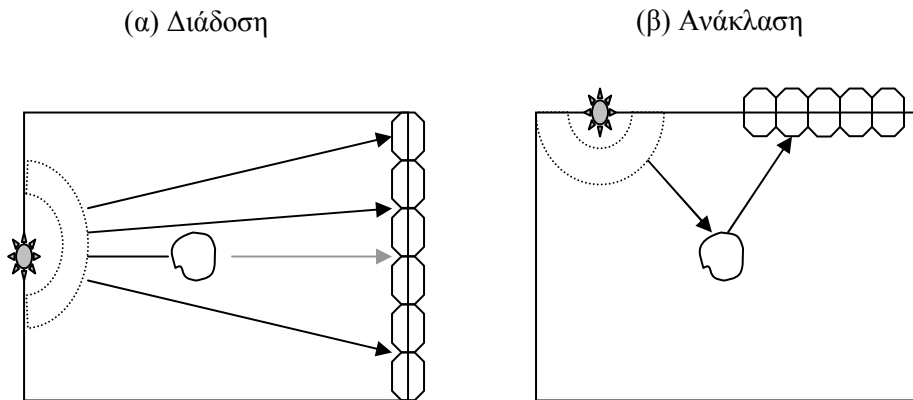
$$t = \int_{\text{πηγη}}^{\text{δεκτης}} \frac{1}{v(p, q)} dh \quad (5.11)$$

όπου  $v(p, q)$  είναι η ταχύτητα διάδοσης στο μέσο στη θέση  $(p, q)$ .

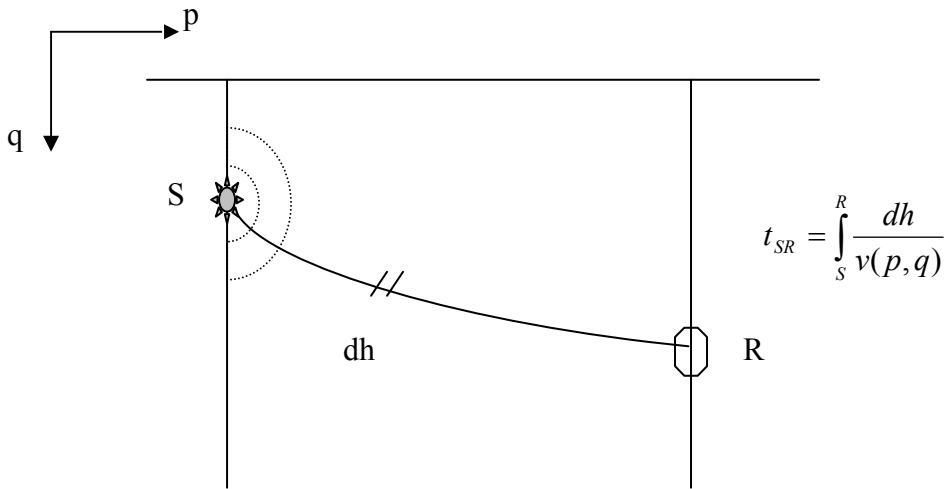
Το πρόβλημα μπορεί να γραφεί σε διακριτή μορφή, διαιρώντας την ενδιαφερόμενη περιοχή σε εικονοστοιχεία (pixels). Για παράδειγμα, υποθέτουμε ότι η άγνωστη περιοχή που εξετάζεται, έχει διακριτοποιηθεί σε τέσσερις υποπεριοχές ή pixels ( $N=4$ ), έτσι ώστε κάθε pixel  $k$  να έχει μια σταθερή ταχύτητα  $v_k$ . Για απλότητα, κατά τη θεώρηση του φυσικού μοντέλου, γίνεται η υπόθεση διάδοσης ευθείων ακτίνων. Τότε, ο χρόνος διάδοσης θα είναι:

$$t_1 = \frac{h_{1,1}}{v_1} + \frac{h_{1,2}}{v_2} = \sum_{k=1}^2 \frac{h_{1,k}}{v_k} \quad (5.12)$$

που είναι η διακριτή μορφή της Εξίσωσης 5.11. Η τιμή  $h_{i,k}$  είναι η απόσταση που ταξίδεψε η ακτίνα  $i$  στο pixel  $k$ . Ορίζοντας ως βραδύτητα (slowness)  $s$  το αντίστροφο της ταχύτητας,  $s_k = \frac{1}{v_k}$ , οι χρόνοι διάδοσης για τις τέσσερις μετρήσεις της Εικόνας 5.3 είναι (ακτίνες 1,2,3 και 4  $\rightarrow M=4$ ):



**Εικόνα 5.1.** Τεχνικές μέτρησης χρόνου διάδοσης. Τα δεδομένα μπορούν να συλλεχθούν είτε με (α) διάδοση είτε με (β) ανάκλαση κυμάτων και να αναλυθούν έπειτα με τις μεθόδους επίλυσης αντιστρόφων προβλημάτων.

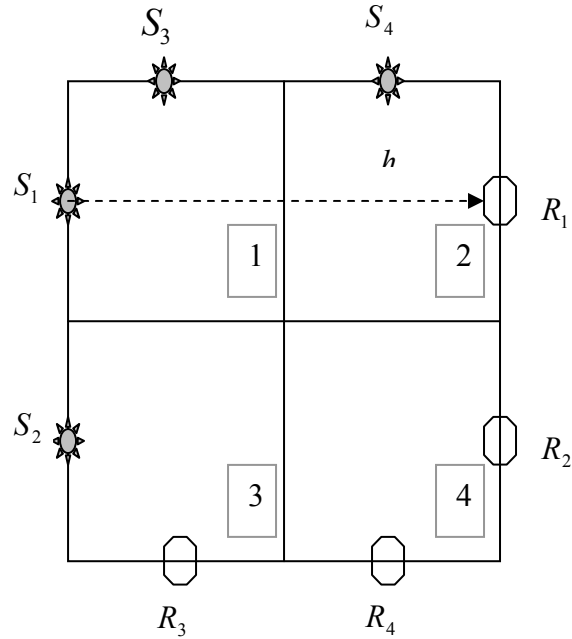


**Εικόνα 5.2.** Ο χρόνος διάδοσης είναι το γραμμικό ολοκλήρωμα της βραδύτητας (slowness), που ορίζεται ως το αντίστροφο της ταχύτητας, κατά μήκος της ακτίνας. S είναι η πηγή και R ο ανιχνευτής.

$$\begin{aligned}
 t_1 &= h_{1,1} \cdot s_1 + h_{1,2} \cdot s_2 \\
 t_2 &= h_{2,3} \cdot s_3 + h_{2,4} \cdot s_4 \\
 t_3 &= h_{3,1} \cdot s_1 + h_{3,3} \cdot s_3 \\
 t_4 &= h_{4,2} \cdot s_2 + h_{4,4} \cdot s_4
 \end{aligned}
 \tag{5.13}$$

Αυτές οι εξισώσεις μπορούν να γραφούν με μορφή πινάκων ως εξής:

$$\begin{bmatrix} t_1 \\ t_2 \\ t_3 \\ t_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} h_{1,1} & h_{1,2} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & h_{2,3} & h_{2,4} \\ h_{3,1} & 0 & h_{3,3} & 0 \\ 0 & h_{4,2} & 0 & h_{4,4} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} s_1 \\ s_2 \\ s_3 \\ s_4 \end{bmatrix}
 \tag{5.14}$$



**Εικόνα 5.3.** Τομογραφία. Η άγνωστη περιοχή διακριτοποιείται σε τέσσερις υποπεριοχές ή pixel. Η περιοχή «ακτινοβολείται» με ευθείες ακτίνες. Πηγές  $S$  και δέκτες  $R$  τοποθετούνται στο σύνορο. Μόνο μία ακτίνα παρουσιάζεται:  $S_1 \rightarrow R_1$ . Οι άλλες τέσσερις ακτίνες είναι  $S_2 \rightarrow R_2$ ,  $S_3 \rightarrow R_3$  και  $S_4 \rightarrow R_4$ .

Στη γενική περίπτωση  $M$ -μετρήσεων του χρόνου διάδοσης και  $N$ -αγνώστων τιμών pixel θα είναι:

$$\begin{bmatrix} t_1 \\ \dots \\ t_i \\ \dots \\ t_M \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} h_{1,1} & \dots & h_{1,k} & \dots & h_{1,N} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ h_{i,1} & \dots & h_{i,k} & \dots & h_{i,N} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ h_{M,1} & \dots & h_{M,k} & \dots & h_{M,N} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} S_1 \\ \dots \\ S_k \\ \dots \\ S_N \end{bmatrix} \quad (5.15)$$

ή

$$\underline{t} = \underline{h} \cdot \underline{s}$$

όπου

το  $i$  αναφέρεται στον αριθμό της ακτίνας,

το  $k$  αναφέρεται στον αριθμό του pixel,

$\underline{t}$  είναι το  $[M \times 1]$  διάνυσμα των μετρούμενων χρόνων διάδοσης,

$h_{i,k}$  είναι το μήκος που διανύεται από την  $i$ -οστή ακτίνα στο  $k$ -οστό pixel,

$\underline{h}$  είναι ο  $[M \times N]$  πίνακας των μηκών διάδοσης, και

$\underline{s}$  είναι το  $[N \times 1]$  διάνυσμα της άγνωστης βραδύτητας για κάθε pixel.

Η Εξίσωση 5.15 είναι το ευθύ πρόβλημα: οι χρόνοι διάδοσης  $\underline{t}$  υπολογίζονται γνωρίζοντας τα μήκη διάδοσης  $\underline{h}$  και τη βραδύτητα σε κάθε pixel  $\underline{s}$ . Ο σκοπός του αντιστρόφου προβλήματος, είναι να καθορίσει τις τιμές  $\underline{s}$  των pixel μετρώντας τους χρόνους διάδοσης  $\underline{t}$ . Σημειώνεται ότι θεωρείται ένα φυσικό μοντέλο διάδοσης κυμάτων ώστε να εκτιμηθούν τα μήκη διάδοσης  $\underline{h}$ . Από τη στιγμή που θα υπολογιστούν οι τιμές  $\underline{s}$  των pixel, η εικόνα μπορεί να υλοποιηθεί χρωματίζοντας τα pixel με βάση τις τιμές της βραδύτητας που έχει το καθένα, χρησιμοποιώντας έναν κατάλληλο συνδυασμό χρωμάτων.

### 5.1.5 Καθορισμός θέσης μιας πηγής

Σε πολλές εφαρμογές απαιτούνται ακριβείς πληροφορίες όσον αφορά τη θέση των πηγών των σημάτων. Η διαδικασία εντοπισμού της θέσης μιας πηγής χρησιμοποιείται σε πολλές διαφορετικές περιπτώσεις όπως:

- καθορισμός της εξέλιξης της αστοχίας ενός υλικού, χρησιμοποιώντας είτε ηλεκτρομαγνητικά είτε ακουστικά σήματα.
- Εντοπισμός της θέσης διαφόρων κακώσεων του εγκεφάλου μέσω ηλεκτροεγκεφαλογραφημάτων.
- εκτίμηση της εξέλιξης μιας ρωγμής από τη θέση του επικέντρου ενός σεισμού.
- αναγνώριση των στιγμιαίων θέσεων μιας κεραίας εκπομπής.

- καθορισμός της τροχιάς ενός ακτινοβολητικού φαρμάκου που καταπίνεται από τον ασθενή και ταξιδεύει μέσα στο σώμα του.

Ο χρόνος  $t_i$  που διανύει ένα σήμα ξεκινώντας από μια πηγή καταλήγοντας στον  $i$ -οστό ανιχνευτή σε ένα ομογενές μέσο, είναι:

$$t_i = \frac{1}{v} \sqrt{(p_s - p_i)^2 + (q_s - q_i)^2 + (r_s - r_i)^2} \quad \text{ομογενές μέσο} \quad (5.16)$$

όπου  $(p_s, q_s, r_s)$  είναι οι άγνωστες συντεταγμένες της πηγής,  $(p_i, q_i, r_i)$  είναι οι γνωστές συντεταγμένες του  $i$ -οστού δέκτη και  $v$  η ταχύτητα διάδοσης στο μέσο. Ο χρόνος διαδρομής  $t_i$  μπορεί να εκφραστεί ως το άθροισμα του χρόνου  $t_0$  που κάνει το σήμα να φτάσει σε έναν δέκτη αναφοράς (άγνωστη ποσότητα), και της χρονικής διαφοράς  $\Delta t_i$  μεταξύ της άφιξης στο δέκτη αναφοράς και της άφιξης στον  $i$ -οστό δέκτη:

$$t_0 + \Delta t_i = \frac{1}{v} \sqrt{(p_s - p_i)^2 + (q_s - q_i)^2 + (r_s - r_i)^2} \quad (5.17)$$

Μια παρόμοια εξίσωση ισχύει για κάθε δέκτη. Κάθε τέτοια εξίσωση είναι ένας *μη γραμμικός* συνδυασμός χωρικών συντεταγμένων. Το πρόβλημα μπορεί να γραμμικοποιηθεί εάν αφαιρεθούν οι εξισώσεις που αντιστοιχούν σε δύο διαφορετικούς δέκτες, έστω  $i$  και  $k$ . Άρα θα είναι:

$$v^2[(t_0 + \Delta t_i)^2 - (t_0 + \Delta t_k)^2] = (p_s - p_i)^2 + (q_s - q_i)^2 + (r_s - r_i)^2 - (p_s - p_k)^2 - (q_s - q_k)^2 - (r_s - r_k)^2 \quad (5.18)$$

και αναπτύσσοντας τις ταυτότητες,

$$v^2[2t_0(\Delta t_i - \Delta t_k) + \Delta t_i^2 - \Delta t_k^2] = 2p_s(p_k - p_i) + 2q_s(q_k - q_i) + 2r_s(r_k - r_i) + p_i^2 + q_i^2 + r_i^2 - p_k^2 - q_k^2 - r_k^2 \quad (5.19)$$

Τελικά,

$$t_0 v^2 (\Delta t_i - \Delta t_k) - p_s (p_k - p_i) - q_s (q_k - q_i) - r_s (r_k - r_i) = \frac{1}{2} [p_i^2 + q_i^2 + r_i^2 - p_k^2 - q_k^2 - r_k^2 - v^2 (\Delta t_i^2 - \Delta t_k^2)] \quad (5.20)$$

Θέτουμε:

$$\begin{aligned}
a_{i,k} &= v^2 (\Delta t_i - \Delta t_k) \\
b_{i,k} &= (p_k - p_i) \\
c_{i,k} &= (q_k - q_i) \\
d_{i,k} &= (r_k - r_i) \\
e_{i,k} &= \frac{1}{2} [p_i^2 + q_i^2 + r_i^2 - p_k^2 - q_k^2 - r_k^2 - v^2 (\Delta t_i^2 - \Delta t_k^2)]
\end{aligned}$$

όπου τα  $a, b, c, d$  και  $e$  είναι αυθαίρετες παράμετροι που εξαρτώνται από γνωστές τιμές που αφορούν τους δέκτες  $i$  και  $k$  και τον δέκτη αναφοράς. Η Εξίσωση 5.20 είναι μια γραμμική σχέση εκφρασμένη σε όρους του χρόνου αναφοράς  $t_0$  και των συντεταγμένων της πηγής  $(p_s, q_s, r_s)$ . Για κάθε ζευγάρι δεκτών  $i$  και  $k$  μπορεί να γραφεί η παρακάτω σχέση πινάκων:

$$\begin{bmatrix} e_{1,2} \\ \dots \\ e_{ik} \\ \dots \\ \dots \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a_{1,2} & b_{1,2} & c_{1,2} & d_{1,2} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ a_{ik} & b_{ik} & c_{ik} & d_{ik} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} t_0 \\ p_s \\ q_s \\ r_s \end{bmatrix} \quad (5.21)$$

ή

$$\underline{e} = \underline{A} \cdot \underline{u}$$

όπου το διάνυσμα  $\underline{e}$  και ο πίνακας  $\underline{A}$  είναι γνωστές ποσότητες, και το διάνυσμα  $\underline{u}$  άγνωστη ποσότητα.

Ο στόχος του αντιστρόφου προβλήματος είναι η επίλυση ως προς το χρόνο του γεγονότος (με αναφορά την άφιξή του στο δέκτη αναφοράς) και τις συντεταγμένες της πηγής. Αυτό είναι το διάνυσμα αγνώστων:  $\underline{u} = (t_0, p_s, q_s, r_s)$ .

Αν είναι διαθέσιμος ένας μεγάλος αριθμός σταθμών παρακολούθησης (δεκτών), η Εξίσωση 5.21 μπορεί να επεκταθεί ώστε να λάβει υπόψη της και τη χωρική ανομοιογένεια του μέσου. Σε αυτήν την περίπτωση, η αντιστροφή δε θα δώσει μόνο τη χρονομέτρηση του γεγονότος και τη θέση της πηγής, αλλά επίσης και τα χαρακτηριστικά του μέσου.

## 5.2 ΓΡΑΜΜΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΜΗ ΓΡΑΜΜΙΚΩΝ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

Η έκφραση  $\underline{y} = \underline{h} \cdot \underline{x}$  υποδηλώνει μια γραμμική σχέση. Όμως, η γραμμικότητα είναι απλά μια εφαπτομενική προσέγγιση σε μια οποιαδήποτε φυσική διαδικασία. Παράδειγμα αποτελεί ο γραμμικός νόμος του Ohm μεταξύ ρεύματος και τάσης, ο οποίος δεν ισχύει για υψηλές πυκνότητες ρεύματος. Σε περιπτώσεις μη γραμμικότητας, ο αναλυτής πρέπει να αποφασίσει κατά πόσο μπορεί να εφαρμοστεί ένα γραμμικό μοντέλο.

Μια μη γραμμική σχέση μπορεί να γραμμικοποιηθεί γύρω από ένα σημείο χρησιμοποιώντας ένα ανάπτυγμα Taylor πρώτης τάξης. Αν θεωρηθεί μια μη γραμμική συνάρτηση  $z = f(x)$ , το ανάπτυγμα Taylor πρώτης τάξης γύρω από το  $x^{<0>}$ , επιτρέπει την εκτίμηση της τιμής της συνάρτησης  $z$  στο  $x^{<1>}$  από την τιμή του  $z$  στο  $x^{<0>}$ :

$$z(x^{<1>}) \cong z(x^{<0>}) + \left. \frac{dz}{dx} \right|_{x^{<0>}} \cdot (x^{<1>} - x^{<0>}) \quad (5.22)$$

όπου η κλίση  $\left. \frac{dz}{dx} \right|_{x^{<0>}}$  είναι η παράγωγος της συνάρτησης υπολογισμένη στο  $x^{<0>}$ . Αν η  $z$  είναι συνάρτηση δύο μεταβλητών,  $x_1$  και  $x_2$ , η τιμή του  $z(x_1^{<1>}, x_2^{<1>})$  σε ένα σημείο  $x_1^{<1>} = x_1^{<0>} + \Delta x_1$  και  $x_2^{<1>} = x_2^{<0>} + \Delta x_2$  υπολογίζεται ως εξής:

$$z(x_1^{<1>}, x_2^{<1>}) \cong z(x_1^{<0>}, x_2^{<0>}) + \left. \frac{\partial z}{\partial x_1} \right|_{(x_1^{<0>}, x_2^{<0>})} \cdot \Delta x_1 + \left. \frac{\partial z}{\partial x_2} \right|_{(x_1^{<0>}, x_2^{<0>})} \cdot \Delta x_2 \quad (5.23)$$

Γενικά, αν το  $z$  είναι μια συνάρτηση  $N$  μεταβλητών  $\underline{x} = (x_1 \dots x_N)$ ,

$$z(x^{<1>}) \cong z(x^{<0>}) + \sum \left( \left. \frac{\partial z}{\partial x_k} \right|_{x^{<0>}} \cdot \Delta x_k \right). \quad (5.24)$$

Αν υπάρχουν  $M$  μη γραμμικές εξισώσεις, οι γραμμικοποιημένες προσεγγίσεις γράφονται με τη μορφή πίνακα ως

$$\underline{\Delta z} = \underline{J} \cdot \underline{\Delta x} \quad (5.25)$$

όπου

$$\Delta z_i = z_i^{<1>} - z_i^{<0>} \quad \text{για } i=1 \text{ μέχρι } M \text{ πειραματικές μετρήσεις}$$

$$\Delta x_k = x_k^{<1>} - x_k^{<0>} \quad \text{για } k=1 \text{ μέχρι } N \text{ μεταβλητές}$$

$$J_{i,k} = \left. \frac{\partial z_i}{\partial x_k} \right|_{\underline{x}^{<0>}} \quad \text{o } [M \times N] \text{ Ιακωβιανός πίνακας μερικών παραγώγων}$$

Η Εξίσωση 5.25 έχει τη μαθηματική μορφή των γραμμικών προβλημάτων που παρουσιάστηκαν στην προηγούμενη παράγραφο. Κατά συνέπεια, τα αντίστροφα προβλήματα που αναφέρονται σε μη γραμμικά συστήματα, μπορούν να επιλυθούν με διαδοχικές γραμμικοποιήσεις. Οι δυσκολίες που σχετίζονται με τη σύγκλιση και τη μοναδικότητα των λύσεων συχνά οξύνονται στα μη γραμμικά προβλήματα.

### 5.3 ΕΠΙΛΥΣΗ ΚΑΘΟΔΗΓΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΤΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ-ΝΟΡΜΕΣ ΣΦΑΛΜΑΤΩΝ

Η επίλυση των αντιστρόφων προβλημάτων καθοδηγείται από τα πειραματικά δεδομένα και τις φυσικές απαιτήσεις του εκάστοτε μοντέλου. Σε αυτήν την παράγραφο θα συζητηθούν θέματα που σχετίζονται με την καθοδηγούμενη από τα δεδομένα (data-driven) επίλυση του αντιστρόφου προβλήματος.

#### 5.3.1 Σφάλματα

Στο σημείο αυτό, θα εξεταστεί η περίπτωση της προσαρμογής μιας συνάρτησης σε πειραματικά δεδομένα. Η διαφορά μεταξύ της μετρούμενης τιμής  $y_i^{<meas>}$  και της προβλεπόμενης τιμής  $y_i^{<pred>}$  ορίζεται ως σφάλμα ή υπόλοιπο της  $i$ -οστής μέτρησης :

$$e_i = y_i^{<meas>} - y_i^{<pred>} \quad (5.26)$$

Για παράδειγμα, αν η συνάρτηση που προσαρμόζεται (προσαρμόσιμη συνάρτηση) είναι ένα πολυώνυμο δευτέρου βαθμού,  $y(t) = a + bt + ct^2$ , όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 5.4, τότε οι προβλεπόμενες τιμές θα είναι  $y_i^{<pred>} = a + bt_i + ct_i^2$  όπου  $a, b, c$  οι άγνωστες παράμετροι της συνάρτησης. Η τιμή  $y_i^{<pred>}$  υπολογίζεται για δεδομένες τιμές των παραμέτρων. Ο στόχος είναι ο προσδιορισμός του συνόλου των παραμέτρων που ελαχιστοποιούν το υπόλοιπο, λαμβάνοντας υπόψη όλες τις μετρήσεις.

Πολλές φυσικές παράμετροι διαφέρουν μεταξύ τους κατά πολλές τάξεις μεγέθους. Για παράδειγμα, τέτοιες μεγάλες διαφορές είναι τυπικές σε προβλήματα αγωγιμότητας (ρευστών, θερμότητας, ή ηλεκτρισμού). Επιπλέον, συμπληρωματικές εκδηλώσεις του ίδιου φυσικού φαινομένου, μπορεί να λάβουν χώρα σε πολύ διαφορετικές συνθήκες κλίμακας. Όταν στα πειραματικά δεδομένα συνυπάρχουν πολύ μικρές και πολύ μεγάλες τιμές, ο ορισμός του σφάλματος της Εξίσωσης 5.26 θα οδηγήσει την αντιστροφή προς τις



μεγαλύτερες πειραματικές τιμές, και έτσι θα πρέπει να θεωρηθούν εναλλακτικοί ορισμοί σφαλμάτων:

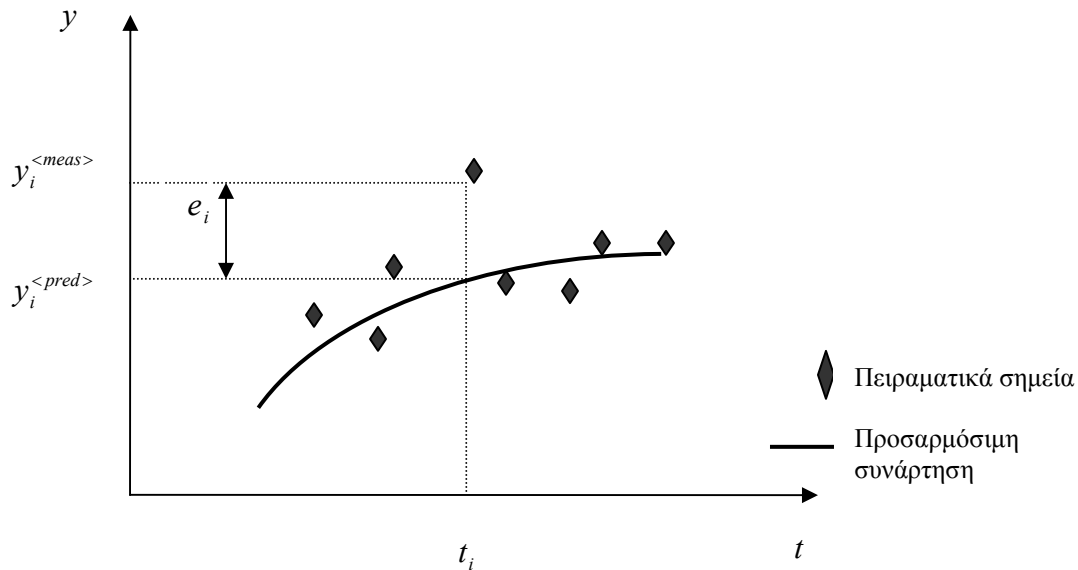
$$e_i = \log(y_i^{<meas>}) - \log(y_i^{<pred>}) \quad \text{διαφορά λογαρίθμων} \quad (5.27)$$

$$e_i = \frac{y_i^{<meas>} - y_i^{<pred>}}{y_i^{<pred>}} \quad \text{ανάλογο σφάλμα} \quad (5.28)$$

$$e_i = \frac{y_i^{<meas>} - y_i^{<pred>}}{\sigma_i} \quad \text{τυπικό σφάλμα} \quad (5.29)$$

όπου  $\sigma_i$  είναι η τυπική απόκλιση της  $i$ -οστής μέτρησης. Επίσης ορίζεται και το *κάθετο σφάλμα* ως η κάθετη απόσταση στην καμπύλη. Παρ'όλο που αυτός ο ορισμός έχει αρκετά πλεονεκτήματα (για παράδειγμα όταν αντιστρέφουμε πολύ απότομες καμπύλες), η εφαρμογή του είναι περισσότερο πολύπλοκη.

Πρέπει τέλος να τονιστεί ότι ο επιλεγόμενος ορισμός του σφάλματος επηρεάζει τις αντιστρεφόμενες παραμέτρους.



**Εικόνα 5.4.** Το σφάλμα  $e_i$  μεταξύ των μετρούμενων και προβλεπόμενων τιμών για την  $i$ -οστή μέτρηση. (Μετρούμενες τιμές  $y_i^{<meas>}$  και προβλεπόμενες τιμές  $y_i^{<pred>} = a + bt_i + ct_i^2$ )

### 5.3.2 Νόρμες σφαλμάτων

Η έννοια της νόρμας σε ένα διανυσματικό χώρο είναι πολύ χρήσιμη στα Μαθηματικά και ειδικά στην Αριθμητική Ανάλυση, και είναι γενίκευση του μήκους ενός διανύσματος. Η νόρμα της διαφοράς δύο διανυσμάτων ορίζει την «απόσταση» δύο στοιχείων στο διανυσματικό χώρο.

Μια καλή προσαρμογή μιας συνάρτησης στα πειραματικά δεδομένα επιτυγχάνεται υπολογίζοντας τη νόρμα του διανύσματος των υπολοίπων  $\underline{e}$ . Μια χρήσιμη οικογένεια νορμών σφαλμάτων είναι το σύνολο των  $n$ -νορμών :

$$L_n = \left( \sum_i |e_i|^n \right)^{\frac{1}{n}} \quad (5.30)$$

Τρεις αξιοσημείωτες νόρμες αντιστοιχούν για  $n=1$ ,  $n=2$  και  $n=\infty$  :

$$L_1 = \sum_i |e_i| \quad \text{άθροισμα απολύτων σφαλμάτων} \quad (5.31)$$

$$L_2 = \left( \sum_i |e_i|^2 \right)^{\frac{1}{2}} = \sqrt{\underline{e}^T \underline{e}} \quad \text{άθροισμα τετραγώνων σφαλμάτων} \quad (5.32)$$

$$L_\infty = \max(|e_1|, \dots, |e_i|, \dots, |e_M|) \quad \text{μέγιστο απόλυτου σφάλματος} \quad (5.33)$$

Η εύρεση της καλύτερης προσαρμογής (best fit) συνίσταται στην ελαχιστοποίηση μιας επιλεγόμενης νόρμας και οδηγεί στα παρακάτω τρία κριτήρια:

1. κριτήριο  $\min(L_1)$  ή κριτήριο ολικής απόλυτης τιμής. Η νόρμα  $L_1$  δεν είναι ευαίσθητη σε λίγα μεγάλα σφάλματα και παρέχει «εύρωστες» (robust) λύσεις.
2. κριτήριο  $\min(L_2)$  ή κριτήριο ελαχίστων τετραγώνων. Αυτό το κριτήριο είναι συμβατό με τον προσθετικό Gaussian θόρυβο που παρουσιάζεται στα πειραματικά δεδομένα.
3. κριτήριο  $\min(L_\infty)$  ή κριτήριο  $\min$ - $\max$ . Όσο υψηλότερη είναι η τάξη της νόρμας, τόσο υψηλότερο είναι είναι το βάρος που εναποτίθεται στα μεγαλύτερα σφάλματα. Η νόρμα  $L_\infty$  είναι η ακραία κατάσταση και λαμβάνει υπόψη της μόνο το μεγαλύτερο σφάλμα. Αυτό το κριτήριο είναι περισσότερο ευαίσθητο σε σφάλματα δεδομένων και έχει μια υψηλότερη πιθανότητα να παρέχει μη μοναδικές λύσεις.

Ο όρος «εύρωστη» περιγράφει μια διαδικασία (ή έναν αλγόριθμο) που δεν είναι ευαίσθητη σε τυχόν μεγάλες αποκλίσεις των πειραματικών δεδομένων. Για τον χαρακτηρισμό μιας διαδικασίας όπου τα σφάλματα μικραίνουν αντί να μεγαθύνονται, χρησιμοποιείται ο όρος «σταθερή».

Σε μια προσαρμογή πειραματικών σημείων με μια γραμμική εξίσωση (linear regression)  $y = a + bt$ , υπολογίζονται οι επιφάνειες των σφαλμάτων και για τις τρεις νόρμες που αναφέρθηκαν. Το σημαντικό στοιχείο που προκύπτει, είναι ότι το ελάχιστο της επιφάνειας της νόρμας  $L_\infty$  δεν είναι ένα σημείο αλλά μια επιφάνεια: κάθε συνδυασμός των παραμέτρων  $a$  και  $b$  σε αυτήν την περιοχή του ελαχίστου δίνει το ίδιο ελάχιστο σφάλμα, και έτσι η λύση δεν είναι μοναδική.

Οι νόρμες σφαλμάτων και οι σχετιζόμενες με αυτές επιφάνειες προσδιορίζουν την αξιοπιστία μιας λύσης και παρέχουν πληροφορίες σε ότι αφορά τη σύγκλιση προς την βέλτιστη λύση. Μια απλή μέθοδος δοκιμής για την επίλυση αντιστρόφων προβλημάτων που βασίζεται στην παραπάνω παρατήρηση, αρχίζει με μια αρχική υπόθεση για τη λύση και συνεχίζεται μεταβάλλοντας έναν άγνωστο τη φορά, με σκοπό να ελαχιστοποιηθεί η νόρμα σφάλματος ανάμεσα στις μετρούμενες και προβλεπόμενες τιμές.

Η παραπάνω διαδικασία χρησιμοποιείται για να αξιολογηθούν τα αποτελέσματα της επιλογής διαφορετικών νορμών. Κάθε βέλτιστη προσαρμογή της ευθείας  $y = a + bt$  χρησιμοποιώντας τις διαφορετικές νόρμες σφαλμάτων  $L_1, L_2, L_\infty$ , θα δώσει και διαφορετικές τιμές για τις αντιστραμμένες παραμέτρους  $a$  και  $b$ . Η ύπαρξη πειραματικών σημείων εκτός καμπύλης επηρεάζει περισσότερο τις νόρμες  $L_2, L_\infty$ .

Είναι σημαντικό να μελετηθεί η μεταβολή της εκάστοτε νόρμας στην περιοχή των βέλτιστων αντιστραμμένων παραμέτρων. Αυτό γίνεται κρατώντας σταθερές όλες τις αντιστραμμένες παραμέτρους εκτός από μία η οποία μεταβάλλεται κοντά στη βέλτιστη τιμή. Έτσι, αυτή η μεταβολή της νόρμας, θα είναι γραφικά μια δισδιάστατη διατομή της επιφάνειας σφάλματος που περνάει από τη βέλτιστη τιμή, δηλαδή θα είναι η τομή της επιφάνειας σφάλματος με ένα επίπεδο που περιέχει την μεταβλητή που εξετάζεται και περνάει από το ελάχιστο σημείο της επιφάνειας σφάλματος.

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι κάθε νόρμα συγκλίνει με διαφορετικό ρυθμό προς το ελάχιστο.

## 5.4 ΕΚΛΟΓΗ ΤΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ-ΤΟ ΞΥΡΑΦΙ ΤΟΥ OCCAM

Η ελαχιστοποίηση του σφάλματος μεταξύ των μετρούμενων πειραματικών δεδομένων και των προβλεπόμενων τιμών, είναι μόνο ένα μέρος της επίλυσης του αντιστρόφου προβλήματος. Το άλλο μέρος είναι η εκλογή του κατάλληλου μοντέλου. Παρακάτω θα εξεταστεί η ιδέα που υποστηρίζει ότι ένα απλό μοντέλο είναι και το πλέον κατάλληλο.

### 5.4.1 Ο κανόνας της απλότητας: Το ξυράφι του Occam<sup>1</sup>

Κατά τη διάρκεια της επίλυσης αντιστρόφων προβλημάτων, ο αναλυτής επιχειρεί να εξαγάγει όσο το δυνατόν περισσότερες πληροφορίες με βάση τα πειραματικά δεδομένα που έχει στη διάθεσή του. Συνεπώς, η τάση είναι να επιλέγει μοντέλα με έναν μεγάλο αριθμό αγνώστων παραμέτρων. Όμως, αυτή η πρακτική πολλές φορές είναι ανεπιθύμητη.

Στην παράγραφο που αφορούσε την ανάλυση προσαρμογής (Παρ. 5.1.3), θεωρήθηκε ότι η προσαρμόσιμη συνάρτηση είναι ένα πολυώνυμο N-1 τάξης. Αν θεωρηθούν N πειραματικά σημεία, μπορεί κανείς να προσαρμόσει αυξανόμενης τάξης πολυώνυμο και να παρατηρήσει ότι το σφάλμα υπολοίπου μεταξύ μετρούμενων και προβλεπόμενων τιμών μειώνεται καθώς ο αριθμός των αγνώστων αυξάνει. Ουσιαστικά, υπάρχει τέλεια προσαρμογή του πολυωνύμου βαθμού N-1 (με N αγνώστους) στα N πειραματικά σημεία και άρα μηδενικό υπόλοιπο.

Αλλά, θα ήταν θεμιτό ένα N-1 πολυώνυμο να προσαρμόζεται στα πειραματικά δεδομένα; Γραμμικοί και τετραγωνικοί νόμοι (2ου βαθμού εξισώσεις) - παρά νόμοι που περιγράφονται από υψηλής τάξης πολυώνυμο - φαίνεται να επικρατούν στις φυσικές επιστήμες. Για παράδειγμα, ο Γαλιλαίος εισήγαγε ένα δεύτερης τάξης πολυώνυμο για να προβλέψει την απόσταση  $d$  σαν συνάρτηση του χρόνου  $t$ , σε όρους της ταχύτητας  $v$  και της επιτάχυνσης  $g$ :  $d = d_0 + vt + gt^2/2$ . Γιατί ο Γαλιλαίος δεν συμπεριέλαβε υψηλότερης τάξης όρους για να προσαρμόσει τα δεδομένα;

Τα υψηλής τάξης πολυώνυμο προσαρμόζονται στα πειραματικά δεδομένα αρκετά καλά, αλλά οι συνελεστές των όρων υψηλότερης τάξης είναι μικροί και προσθέτουν ελάχιστη πληροφορία σε ότι αφορά τον φυσικό νόμο. Αντίθετα, τα χαμηλότερης τάξης πολυώνυμο «ακολουθούν» τις καμπύλες, φιλτράρουν τον θόρυβο των πειραματικών δεδομένων και εξαγάγουν τις πιο ουσιώδεις πληροφορίες που εμπεριέχονται στις μετρήσεις. Έτσι, νέα πειραματικά σημεία σε περιοχές εκτός του εύρους των αρχικών πειραματικών σημείων, θα είναι πιο πιθανό να «πέσουν» κοντά στο χαμηλής τάξης πολυώνυμο. Σε όρους Μπευσιανών πιθανοτήτων, «μια υπόθεση με λιγότερες παραμέτρους, αυτόματα έχει μια αυξημένη a posteriori πιθανότητα».

Συνοψίζοντας, μια καλύτερη προσαρμογή δεν σημαίνει απαραίτητα ότι απαιτεί και ένα καλύτερο μοντέλο. Ένα μοντέλο με πολλούς αγνώστους είναι προτιμότερο από ένα πιο απλό μοντέλο, μόνο αν οι προβλέψεις του είναι σημαντικά πιο ακριβείς για πολλά διαφορετικά σύνολα πειραματικών δεδομένων. Αν όμως οι προβλέψεις είναι παραπλήσιες, θα πρέπει να προτιμηθεί το απλούστερο μοντέλο.

---

1. Ο φιλόσοφος William Occam (14<sup>ος</sup> αι.) είναι γνωστός για την φράση "Plurality is not to be posited without necessity": «δεν θα πρέπει να προϋποτιθενται επαυξήσεις χωρίς να είναι απαραίτητο».

### 5.4.2 Μειώνοντας τον αριθμό των αγνώστων

Υπάρχουν διάφορες προσεγγίσεις στην εφαρμογή του κριτηρίου του Occam στα διακριτά αντίστροφα προβλήματα της μορφής  $\underline{y} = \underline{h} \cdot \underline{x}$ .

Θεωρούμε και πάλι το πρόβλημα της τομογραφικής απεικόνισης. Το διάνυσμα των γνωστών μετρούμενων χρόνων διαδρομής  $\underline{t} [M \times 1]$  σχετίζεται με το διάνυσμα των αγνώστων βραδυτήτων των pixel  $\underline{s} [M \times 1]$  μέσω του πίνακα των μηκών διαδρομής  $\underline{h} [M \times N]$ , με τη σχέση  $\underline{t} = \underline{h} \cdot \underline{s}$ . Τα τομογραφήματα υψηλής ανάλυσης απαιτούν μεγάλη διαθέσιμη πληροφορία στα δεδομένα. Δυστυχώς, φυσικοί περιορισμοί (π.χ. διαθέσιμο μήκος κύματος) και περιορισμοί στην εκτέλεση του εκάστοτε πειράματος (π.χ. θόρυβος, γωνίες φωτισμού) θέτουν όρια για το ποσό της πληροφορίας στα δεδομένα. Έτσι, μέριμνα πρέπει να ληφθεί για τη μείωση του αριθμού των αγνώστων.

Στη διάθεσή μας έχουμε αρκετές επιλογές. Η απλούστερη είναι να μειώσουμε τον αριθμό των pixel,  $N$ , αυξάνοντας το μέγεθός τους, αλλά αυτό θα προκαλέσει μια ανεπιθύμητη κοκκώδη μορφή της εικόνας. Μια πιο αποτελεσματική μέθοδος, είναι να προσαρμόσουμε στα δεδομένα μια κατάλληλη συνάρτηση βραδύτητας. Παραδείγματος χάριν, υποθέτουμε ότι το πεδίο της βραδύτητας στον χώρο  $p-q$  της εικόνας μπορεί να προσεγγιστεί από την ακόλουθη συνάρτηση:

$$s(p, q) = a + b \cdot (p) + c \cdot (q) + d \cdot (p \cdot q) + e \cdot (p^2) + f \cdot (q^2), \quad (5.34)$$

η οποία έχει έξι αγνώστους:  $a, b, c, d, e, f$ . Τότε, κάθε τιμή βραδύτητας pixel στην εξίσωση  $\underline{t} = \underline{h} \cdot \underline{s}$  μπορεί να εκφραστεί σαν συνάρτηση της θέσης στον χώρο  $p-q$ :

$$\begin{bmatrix} t_1 \\ \dots \\ t_i \\ \dots \\ t_M \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} h_{1,1} & \dots & h_{1,k} & \dots & h_{1,N} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ h_{i,1} & \dots & h_{i,k} & \dots & h_{i,N} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ h_{M,1} & \dots & h_{M,k} & \dots & h_{M,N} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} a + bp_1 + cq_1 + dp_1q_1 + ep_1^2 + fq_1^2 \\ \dots \\ a + bp_k + cq_k + dp_kq_k + ep_k^2 + fq_k^2 \\ \dots \\ a + bq_N + cq_N + dp_Nq_N + ep_N^2 + fq_N^2 \end{bmatrix} \quad (5.35)$$

Η παραπάνω εξίσωση μπορεί να γραφεί και ως:

$$\begin{bmatrix} t_1 \\ \dots \\ t_i \\ \dots \\ t_M \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} h_{1,1} & \dots & h_{1,k} & \dots & h_{1,N} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ h_{i,1} & \dots & h_{i,k} & \dots & h_{i,N} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ h_{M,1} & \dots & h_{M,k} & \dots & h_{M,N} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} 1 & p_1 & q_1 & p_1 q_1 & p_1^2 & q_1^2 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 1 & p_k & q_k & p_k q_k & p_k^2 & q_k^2 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 1 & p_N & q_N & p_N q_N & p_N^2 & q_N^2 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} a \\ b \\ c \\ d \\ e \\ f \end{bmatrix}$$

δηλαδή,

$$\underline{t} = \underline{h} \cdot \underline{O} \cdot \underline{u}. \quad (5.36)$$

Ο πίνακας  $\underline{O}$  είναι μια συνάρτηση των γνωστών συντεταγμένων των pixel  $p_k$  και  $q_k$ . Επίσης, τα στοιχεία  $h_{i,k}$  του πίνακα  $\underline{h}$  είναι γνωστά από τη στιγμή που θα καθοριστεί η γεωμετρία του προβλήματος. Το γινόμενο των δύο πινάκων  $\underline{h} [M \times N]$  και  $\underline{O} [N \times 6]$  μπορεί να εκτελεστεί και να προκύψει έτσι μόνο ένας πίνακας  $\underline{h}^* = \underline{h} \cdot \underline{O} [M \times 6]$ . Η σχέση μεταξύ του διανύσματος των μετρήσεων και του διανύσματος των αγνώστων είναι η

$$\underline{t} = \underline{h}^* \cdot \underline{u} \quad (5.37)$$

Το αποτέλεσμα είναι ένα σύστημα  $M$  εξισώσεων με μόνο έξι αγνώστους  $\underline{u}^T = (a, b, c, d, e, f)$ , και όχι το αρχικό σύστημα των  $M$  εξισώσεων με τις  $N$  άγνωστες τιμές βραδύτητας pixel, όπου τυπικά  $N \gg 6$ . Η μορφή της Εξίσωσης 5.37 είναι ταυτόσημη με τη μορφή των προηγούμενων διακριτών προβλημάτων που συζητήθηκαν.

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι σύμφωνα με τη θεωρούμενη συνάρτηση  $s(p, q)$ , η βραδύτητα δεν είναι σταθερή μέσα σε κάθε pixel. Όμως, μία και μοναδική τιμή της βραδύτητας αντιστοιχεί σε κάθε pixel, όταν το πρόβλημα διακριτοποιηθεί με τη μορφή  $\underline{t} = \underline{h} \cdot \underline{s}$ . Το σφάλμα σε αυτή την προσέγγιση μπορεί να μικρύνει στον επιθυμητό βαθμό θεωρώντας όλο και μικρότερου μεγέθους pixel. Ενώ ο αριθμός των pixel  $N$  αυξάνεται, το μέγεθος του πίνακα  $\underline{h}^*$  στην Εξίσωση 5.37 παραμένει το ίδιο:  $[M \times N][N \times 6] = [M \times 6]$ .

## 5.5 ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑ

Η πληροφορία διατηρείται σε έναν αντίστροφο μετασχηματισμό, δηλαδή: αν  $\underline{y} = \underline{h} \cdot \underline{x}$  και ο πίνακας  $\underline{h}$  είναι αντιστρέψιμος, τότε  $\underline{x} = \underline{h}^{-1} \cdot \underline{y}$  χωρίς απώλεια πληροφορίας. Στην ουσία, το  $\underline{y}$  μπορεί να επανακτηθεί από το  $\underline{x}$  ως εξής:  $\underline{y} = \underline{h} \cdot (\underline{h}^{-1} \cdot \underline{y})$ . Το αντίστροφο πρόβλημα δε μπορεί να οδηγήσει σε μία και μοναδική λύση όταν απαιτείται περισσότερη πληροφορία κατά τη διάρκεια της αντιστροφής ( $N$  άγνωστοι) από το ποσό της διαθέσιμης πληροφορίας. Σε αυτήν την περίπτωση, είτε θα πρέπει να μειωθεί ο αριθμός των αγνώστων είτε να προσφερθεί επιπλέον πληροφορία.

### 5.5.1 Διαθέσιμη πληροφορία

Ένας μεγάλος αριθμός μετρήσεων δεν υποδηλώνει απαραίτητα μια μεγάλη ποσότητα διαθέσιμης πληροφορίας, καθώς πολλές από τις μετρήσεις μπορεί να αντανakλούν την ίδια πληροφορία. Η απάντηση για το αν η ίδια πληροφορία προέρχεται πάνω από μία φορές από διαφορετικές μετρήσεις, μπορεί να μην είναι προφανής με την πρώτη ματιά. Παραδείγματος χάριν, το σύστημα των εξισώσεων για το τομογραφικό πρόβλημα της Εικόνας 5.3 (υποθέτοντας τετραγωνικά pixel μοναδιαίου μήκους) γράφεται ως:

$$\underline{t} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 1 \\ 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 1 \end{bmatrix} \cdot \underline{s} \quad (5.38)$$

Παρατηρούμε ότι η τέταρτη γραμμή μπορεί να προκύψει προσθέτοντας την πρώτη και δεύτερη γραμμή και αφαιρώντας έπειτα την τρίτη γραμμή. Η Εξίσωση 5.38 γίνεται λοιπόν:

$$\underline{t}' = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 1 \\ 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \cdot \underline{s} \quad (5.39)$$

Ως αποτέλεσμα, υπάρχουν μόνο τρεις ανεξάρτητες εξισώσεις στο σύστημα, η τάξη είναι  $r[h]=3$  και συμπερασματικά, η συλλεγόμενη πληροφορία με τις  $M=4$  μετρήσεις είναι ανεπαρκής για την επίλυση ως προς τις  $N=4$  άγνωστες τιμές των pixel.

### 5.5.1 Πυκνότητα πληροφορίας - Χωρική κατανομή

Μια ανομοιογενής πυκνότητα πληροφορίας έχει διαφορετική επίδραση στις διαφορετικές νόρμες σφαλμάτων καθώς και στις αντιστραμμένες παραμέτρους. Συγκεκριμένα, οι  $L_1$  και  $L_2$  νόρμες αθροίζουν όλα τα ανεξάρτητα σφάλματα  $e_i$ . Ως εκ τούτου, περιοχές με μεγάλη πυκνότητα πληροφορίας έχουν ισχυρότερη επίδραση στη λύση από τις περιοχές με χαμηλή πυκνότητα πληροφορίας. Από την άλλη, η νόρμα  $L_\infty$  δεν είναι μια συνάρτηση μέσου όρου σφαλμάτων και καθορίζεται από το μεγαλύτερο σφάλμα. Έτσι, η νόρμα  $L_\infty$  δεν επηρεάζεται από την πυκνότητα πληροφορίας.

Συμπερασματικά, οι υψηλότερης τάξης νόρμες είναι περισσότερο ευαίσθητες σε πειραματικά σημεία εκτός καμπύλης και λιγότερο ευαίσθητες στην ανομοιογενή πυκνότητα πληροφορίας.

## 5.6 ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

Τα σφάλματα επηρεάζουν την αντιστρεψιμότητα των αγνώστων παραμέτρων στο αντίστροφο πρόβλημα  $\underline{y} = \underline{h} \cdot \underline{x}$ . Υπάρχουν δύο κύριες πηγές σφαλμάτων:

- *Σφάλματα δεδομένων (data errors)*. Τα σφάλματα αυτά δημιουργούν θόρυβο στις πειραματικές μετρήσεις  $\underline{y}$ .
- *Σφάλματα μοντέλου (model errors)*. Τα σφάλματα αυτά απορρέουν από το γεγονός ότι το υποτιθέμενο μοντέλο μέσω του οποίου υπολογίζεται ο πίνακας  $\underline{h}$ , δεν αντανακλά με ακρίβεια το φαινόμενο που εξετάζεται. Τέτοια σφάλματα εμφανίζονται για παράδειγμα, όταν ένα γραμμικό μοντέλο ελαστικότητας χρησιμοποιείται για να αναλυθεί ένα υλικό με μη γραμμική ελαστική συμπεριφορά, ή όταν ευθείες ακτίνες χρησιμοποιούνται για την ανάλυση δεδομένων διάδοσης ήχου σε ετερογενή μέσα.

Τα σφάλματα δεδομένων και μοντέλου συνδυάζονται, και συχνά μεγεθύνονται κατά την αντιστροφή της εξίσωσης  $\underline{y} = \underline{h} \cdot \underline{x}$ .

Οι επιπτώσεις των σφαλμάτων αυτών θα ερευνηθούν παρακάτω κατά την προσαρμογή με ελάχιστα τετράγωνα μιας ευθείας  $y = a + b \cdot t$  (που αποτελεί το θεωρούμενο μοντέλο ενός γραμμικού φαινομένου), στα αποκτούμενα πειραματικά δεδομένα. Τρεις περιπτώσεις εξετάζονται εδώ:

1. Πειραματικά σημεία απουσία θορύβου που συμπίπτουν ακριβώς με την ευθεία γραμμή του μοντέλου.
2. Πειραματικά σημεία με θόρυβο που είναι «πάνω» στην ευθεία γραμμή του μοντέλου.



### 3. Πειραματικά σημεία χωρίς θόρυβο κατά μήκος μιας μη γραμμικής καμπύλης (θεωρείται δηλαδή ένα λανθασμένο μοντέλο)

Για κάθε περίπτωση υπολογίζουμε τις επιφάνειες σφαλμάτων για την  $L_2$  νόρμα. Από τη στιγμή που θα εντοπιστεί το ελάχιστο, η νόρμα  $L_2$  υπολογίζεται κοντά στο βέλτιστο σημείο μεταβάλλοντας μία παράμετρο τη φορά: αυτές είναι οι δισδιάστατες διατομές της τρισδιάστατης επιφάνειας σφάλματος. Απουσία σφαλμάτων δεδομένων και μοντέλου, τα δεδομένα προσαρμόζονται τέλεια με την εξίσωση του μοντέλου και το ελάχιστο της επιφάνειας σφάλματος είναι μηδέν. Από την άλλη, τα σφάλματα δεδομένων και μοντέλου διευρύνουν την επιφάνεια σφάλματος, το ελάχιστο είναι πάνω από το μηδέν και η καμπυλότητα γύρω από αυτό μειώνεται, ελαττώνοντας την ικανότητα εύρεσης των βέλτιστων τιμών για τα  $a$  και  $b$ . Επιπρόσθετα, οι παράμετροι που υπολογίζονται με λανθασμένο μοντέλο, «κρύβουν» τα πραγματικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα των πειραματικών δεδομένων και οδηγούν σε λανθασμένη ερμηνεία των μετρήσεων.

Συνέπεια των παραπάνω είναι το γεγονός ότι η επιφάνεια σφάλματος παρέχει την πληροφορία η οποία καθοδηγεί την έρευνα για το βέλτιστο σύνολο παραμέτρων που ελαχιστοποιεί το σφάλμα και παρέχει μια ένδειξη για το μέγεθος του σφάλματος. Όμως, η αναγνώριση της πηγής των σφαλμάτων παραμένει αντικείμενο του αναλυτή και απαιτεί εις βάθος κατανόηση της φυσικής διαδικασίας και επίσης λεπτομερής γνώση της πειραματικής διαδικασίας.

## 5.7 ΜΗ ΚΥΡΤΕΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΕΣ ΣΦΑΛΜΑΤΩΝ

Οι επιφάνειες σφαλμάτων των προηγούμενων παραδειγμάτων είναι κυρτές. Όμως συχνά, ακόμα και σε απλά παραδείγματα, αυτό δεν ισχύει..

Το ελάχιστο σε μια κυρτή επιφάνεια σφάλματος αναζητείται ακολουθώντας τη βαθμίδα. Όμως, οι αλγόριθμοι που βασίζονται σε μια αναζήτηση μέσω βαθμίδας μπορεί να παγιδευτούν σε τοπικά ελάχιστα ή να αποκλίνουν από το ελάχιστο. Ως αποτέλεσμα, πρέπει να χρησιμοποιηθούν κατάλληλοι αλγόριθμοι αναζήτησης όταν η επιφάνεια σφάλματος εμφανίζεται υποψήφια να είναι μη συγκλίνουσα.

Τέλος, είναι αξιοσημείωτο ότι μια ανομοιογενής πυκνότητα πληροφορίας τείνει να προκαλέσει μη κυρτές συναρτήσεις σφάλματος, ειδικά όταν χρησιμοποιούνται οι νόρμες  $L_1$  και  $L_2$ .

# 6

## ΕΠΙΛΥΣΗ ΜΕ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗ ΠΙΝΑΚΑ

Σε αυτήν την παράγραφο θα εξεταστεί η αντιστροφή των ευθέων προβλημάτων  $\underline{y} = \underline{h} \cdot \underline{x}$ . Ο στόχος είναι να αποκτηθεί μια λύση  $\underline{x}^{<est>}$  που να μπορεί να δικαιολογεί (justify) ικανοποιητικά τα πειραματικά δεδομένα  $y_i^{<meas>}$  σύμφωνα με το θεωρούμενο φυσικό μοντέλο και λαμβάνοντας υπόψη όλη την παρεχόμενη πληροφορία.

### 6.1 Ο ΨΕΥΔΟΑΝΤΙΣΤΡΟΦΟΣ ΠΙΝΑΚΑΣ

Η λύση του ευθέους πρόβληματος *προβλέπει* την εμφάνιση των  $y_i^{<pred>}$   $[M \times 1]$  ως μια συνάρτηση του διανύσματος των γνωστών τιμών εισόδου  $\underline{x}^{<true>}$   $[N \times 1]$  και του πίνακα μετασχηματισμού  $\underline{h}$   $[M \times N]$ , ο οποίος αντιπροσωπεύει τον φυσικό νόμο που συνδέει το  $\underline{x}$  με το  $\underline{y}$ :

$$\underline{y}^{<pred>} = \underline{h} \cdot \underline{x}^{<true>} \quad \text{ευθύ πρόβλημα} \quad (6.1)$$

Στο αντίστροφο πρόβλημα, οι  $M$  τιμές  $y_i$  μετρώνται πειραματικά και ο σκοπός είναι να *εκτιμηθούν* οι  $N$  άγνωστες παράμετροι  $\underline{x}^{<est>}$ . Γενικά, ο  $\underline{h}$  είναι μη αναστρέψιμος και στη θέση του πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένας ψευδοαντίστροφος  $\underline{h}^{-g}$ :

$$\underline{x}^{<est>} = \underline{h}^{-g} \cdot \underline{y}^{<meas>} \quad \text{αντίστροφο πρόβλημα} \quad (6.2)$$

Ο ψευδοαντίστροφος πίνακας  $\underline{h}^{-g}$  δεν είναι ο «κανονικός» αντίστροφος του πίνακα  $\underline{h}$  και τα γινόμενα  $\underline{h} \cdot \underline{h}^{-g}$  και  $\underline{h}^{-g} \cdot \underline{h}$  δεν είναι απαραίτητα ίσα με τον μοναδιαίο πίνακα  $\underline{I}$ . Οι τιμές του  $\underline{y}^{<just>}$  που θα μπορούσαν να δικαιολογηθούν αν οι παράμετροι εισόδου ήταν  $\underline{x}^{<est>}$ , είναι

$$\underline{y}^{<just>} = \underline{h} \cdot \underline{x}^{<est>} \quad (6.3)$$

και αντικαθιστώντας το  $\underline{x}^{<est>}$  με όρους του διανύσματος των μετρούμενων τιμών  $\underline{y}^{<meas>}$ ,

$$\underline{y}^{<just>} = \underline{h} \cdot \underline{h}^{-g} \cdot \underline{y}^{<meas>} \quad (6.4)$$

Ο πίνακας  $\underline{D} = \underline{h} \cdot \underline{h}^{-g}$  [ $M \times M$ ] ονομάζεται *πίνακας ανάλυσης δεδομένων (data resolution matrix)*. Το ίχνος του  $\underline{D}$  είναι το άθροισμα των διαγώνιων στοιχείων του και αποτελεί μια ένδειξη του αριθμού των αγνώστων στον οποίο μπορεί να αναλυθεί. Το μήκος του διανύσματος των υπολοίπων

$$|\underline{e}| = (\underline{y}^{<meas>} - \underline{h} \cdot \underline{x}^{<est>})^T \cdot (\underline{y}^{<meas>} - \underline{h} \cdot \underline{x}^{<est>})$$

είναι μηδέν όταν  $\underline{D} \equiv \underline{I}$  και αυξάνεται καθώς ο  $\underline{D}$  αποκλίνει από τον μοναδιαίο πίνακα  $\underline{I}$ .

Από την άλλη, οι μετρούμενες τιμές  $\underline{y}^{<meas>}$  αποκτήθηκαν από ένα πραγματικό γεγονός, οπότε,  $\underline{y}^{<meas>} = \underline{h} \cdot \underline{x}^{<true>}$  και η Εξίσωση 6.2 γίνεται

$$\underline{x}^{<est>} = \underline{h}^{-g} \cdot \underline{h} \cdot \underline{x}^{<true>} \quad (6.5)$$

Ο πίνακας  $\underline{G} = \underline{h}^{-g} \cdot \underline{h}$  [ $N \times N$ ] ονομάζεται *πίνακας ανάλυσης μοντέλου (model resolution matrix)*. Η Εξίσωση 6.5 δηλώνει ότι η εκτιμούμενη  $i$ -οστή παράμετρος  $x_i^{<est>}$  είναι ένας γραμμικός συνδυασμός των αληθινών παραμέτρων  $\underline{x}^{<true>}$ , όπως υπαγορεύεται από τα στοιχεία της  $i$ -οστής γραμμής του  $\underline{G}$ . Όταν  $\underline{G} = \underline{I}$ , οι εκτιμούμενες παράμετροι  $x_i^{<est>}$  ταυτίζονται με τις αληθινές παραμέτρους  $x_i^{<true>}$ .

## 6.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΩΝ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

Τα αντίστροφα προβλήματα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν αναλύοντας τη διαθέσιμη πληροφορία σε σχέση με τη ζητούμενη πληροφορία, καθώς και τη συμβατότητα (consistency) των δεδομένων.

### 6.2.1 Πληροφορία: Τάξη και Δείκτης κατάστασης

Η σύγκριση μεταξύ του αριθμού των μετρήσεων  $M$  και του αριθμού των αγνώστων  $N$  μας παρέχει μια πρώτη ένδειξη για τον τύπο του προβλήματος. Το πρόβλημα καλείται *υποκαθορισμένο* (*underdetermined*) αν ο αριθμός των αγνώστων  $N$  υπερβαίνει τον αριθμό των εξισώσεων  $M$ , δηλαδή  $N > M$ . Το αντίστροφο δεν είναι απαραίτητα αληθές: συσχετισμένες μετρήσεις δεν συνεισφέρουν στην αύξηση της διαθέσιμης πληροφορίας και προβλήματα που εμφανίζονται *ημικαθορισμένα* (*even-determined*), όπου  $M = N$ , ή *υπερκαθορισμένα* (*overdetermined*), όπου  $M > N$ , μπορεί στην ουσία να είναι υποκαθορισμένα.

Η τάξη (rank)  $r$  ενός πίνακα είναι ο αριθμός των γραμμικά ανεξάρτητων γραμμών ή στηλών του. Έτσι, η τάξη του πίνακα μετασχηματισμού  $r[\underline{h}]$  υποδεικνύει ότι ο αριθμός των ανεξάρτητων μετρήσεων είναι  $r[\underline{h}] \leq \min(M, N)$ .

Η ανάλυση ιδιοτιμών ή ανάλυση ιδιάζουσων τιμών (SVD) μας παρέχει έναν καλύτερο εναλλακτικό τρόπο ανάλυσης ενός πίνακα. Ο δείκτης κατάστασης (*condition number*)  $\kappa$  ορίζεται ως ο λόγος μεταξύ της μέγιστης και της ελάχιστης απόλυτης τιμής των ιδιοτιμών  $\lambda$ :

$$\kappa = \frac{\max |\underline{\lambda}|}{\min |\underline{\lambda}|} \quad \text{δείκτης κατάστασης} \quad (6.6)$$

Ο δείκτης κατάστασης εφαρμόζεται μόνο σε τετραγωνικούς πίνακες. Αυτό δεν αποτελεί περιορισμό καθώς ο υπολογισμός του ψευδοαντιστρόφου πίνακα γίνεται από τα γινόμενα  $\underline{h}^T \cdot \underline{h}$  ή  $\underline{h} \cdot \underline{h}^T$  που είναι τετραγωνικοί πίνακες. Αν ο πίνακας είναι θετικά ορισμένος, οι ιδιοτιμές είναι θετικές και δεν χρειάζεται να ληφθούν απόλυτες τιμές. Ο δείκτης κατάστασης καθορίζει τη δυνατότητα μετάβασης από αντιστρέψιμους σε μη αντιστρέψιμους πίνακες.

Ένας πίνακας είναι μη αντιστρέψιμος όταν  $\kappa = \infty$ . Γενικά, ένας πίνακας είναι *κακής κατάστασης* (*ill-conditioned*) όταν το  $\kappa$  είναι πολύ μεγάλο: σε αυτή την περίπτωση οι αριθμητικές ανακρίβειες γίνονται πολύ σημαντικές και τα σφάλματα των πειραματικών δεδομένων μεγεθύνονται κατά τη διάρκεια της αντιστροφής. Αν ο  $\kappa$  είναι μικρός, ο πίνακας λέμε ότι είναι *καλής κατάστασης* (*well conditioned*).

Η μεγέθυνση του αριθμητικού θορύβου (numerical noise) στους αλγόριθμους του υπολογιστή (computer algorithms) με διπλή ακρίβεια, λαμβάνει χώρα όταν  $k \rightarrow 10^{12}$ . Όμως, ο δείκτης κατάστασης που απαιτείται για να αποτρέψει τη μεγέθυνση του θορύβου των πειραματικών δεδομένων μπορεί να είναι σημαντικά μικρότερος και αυτό σχετίζεται με το επίπεδο θορύβου των δεδομένων. Ο αριθμός των ιδιοτιμών μεταξύ του  $\max |\underline{\lambda}|$  και του  $\min |\underline{\lambda}|$  είναι ένα μέτρο του ποσού της διαθέσιμης πληροφορίας.

## 6.2.2 Σφάλματα-Συμβατότητα

Η τάξη και ο δείκτης κατάστασης επιτρέπουν την εκτίμηση του πίνακα μετασχηματισμού  $\underline{h}$  ακόμα και πριν αποκτηθούν τα πειραματικά δεδομένα. Από τη στιγμή που τα δεδομένα θα είναι διαθέσιμα, το σύστημα των εξισώσεων μπορεί να ελεγχθεί ως προς τη συμβατότητα. Το σύστημα των εξισώσεων είναι *συμβατό* (*consistent*) αν υπάρχει μια λύση  $\underline{x}$  που ικανοποιεί την  $\underline{y} = \underline{h} \cdot \underline{x}$ . Συνεπώς, η τάξη θα είναι

$$r[\underline{h}] = r[\underline{h} | \underline{y}] \quad (6.7)$$

όπου ο ανεπτυγμένος ή επαυξημένος πίνακας  $\underline{h} | \underline{y}$  δημιουργείται προσθέτοντας το διάνυσμα των μετρήσεων  $\underline{y}^{<meas>}$  σαν τη N+1 στήλη του  $\underline{h}$ .

Τα σφάλματα των δεδομένων ή του μοντέλου καθιστούν το σύστημα των εξισώσεων *ασύμβατο* (*inconsistent*). Συνεπώς, δεν υπάρχει λύση  $\underline{x}$  που να μπορεί να ικανοποιεί όλα τα πειραματικά δεδομένα  $\underline{y}$  και τότε το διάνυσμα των υπολοίπων είναι μη μηδενικό:

$$\underline{e} = \underline{y}^{<meas>} - \underline{h} \cdot \underline{x}^{<est>} \neq \underline{0} \quad (6.8)$$

### 6.2.3 Κατηγοριοποίηση του προβλήματος

Η ποσότητα της πληροφορίας που είναι διαθέσιμη (για έναν αποδεκτό δείκτη κατάστασης) σχετικά με τον αριθμό των αγνώστων, χρησιμοποιείται για να κατηγοριοποιηθούν τα αντίστροφα προβλήματα σε: *υπερκαθορισμένα*, *ισοκαθορισμένα* και *υπερκαθορισμένα*.

Πολύ συχνά η ποσότητα της διαθέσιμης πληροφορίας δεν είναι η ίδια για τους διαφορετικούς αγνώστους και τότε το αντίστροφο πρόβλημα καλείται *μεικτά καθορισμένο* (*mixed-determined*). Σαν ένα παράδειγμα θεωρούμε μια περίπτωση ατμοσφαιρικών πειραματικών δεδομένων: είναι σχετικά εύκολο να συλλεχθούν πληροφορίες κοντά στην επιφάνεια της ατμόσφαιρας. Όμως, τα δεδομένα γίνονται βαθμιαία όλο και πιο αραιά σε μεγαλύτερα ύψη, έτσι που τα χαμηλότερα ατμοσφαιρικά στρώματα είναι υπερκαθορισμένα ενώ τα πιο απομακρυσμένα στρώματα παραμένουν υποκαθορισμένα. Τα μεικτά καθορισμένα αντίστροφα προβλήματα συναντώνται συχνά και τείνουν να προκαλέσουν ανομοιογενή δεδομένα καθώς και μεγέθυνση των σφαλμάτων του μοντέλου πάνω στις αντιστραμμένες παραμέτρους.

Τα αντίστροφα προβλήματα που χρησιμοποιούν πραγματικά δεδομένα είναι *εγγενώς ασύμβατα* (*inherently inconsistent*) που σημαίνει ότι  $r[\underline{h}] < r[\underline{h} | \underline{y}]$ . Συνεπώς, καμία λύση  $\underline{x}$  δεν μπορεί να ικανοποιήσει όλες τις εξισώσεις όταν υπάρχουν περισσότερες εξισώσεις από τον αριθμό των αγνώστων ( $M > N$ ). Σε αυτήν την περίπτωση, το αντίστροφο πρόβλημα λύνεται βρίσκοντας μια συμβιβαστική λύση  $\underline{x}^{<est>}$  που ελαχιστοποιεί μια

προεπιλεγμένη νόρμα σφάλματος όπως η νόρμα  $L_2$ . Αυτό οδηγεί στην οικογένεια λύσεων των ελαχίστων τατραγώνων.

### 6.3 Η ΛΥΣΗ ΤΩΝ ΕΛΑΧΙΣΤΩΝ ΤΕΤΡΑΓΩΝΩΝ (LSS)

Η λύση ελαχίστων τετραγώνων (Least Squares Solution, LSS) είναι ένα σύνολο τιμών  $\underline{x}$  που ελαχιστοποιεί τη νόρμα  $L_2 = \left( \sum_i |e_i|^2 \right)^{\frac{1}{2}} = \sqrt{\underline{e}^T \underline{e}}$ , δηλαδή την ποσότητα  $\underline{e}^T \cdot \underline{e}$ . Τα σφάλματα  $e_i = y_i^{<meas>} - y_i^{<just>}$  δημιουργούν το διάνυσμα των υπολοίπων  $\underline{e} = \underline{y}^{<meas>} - \underline{h} \cdot \underline{x}$ . Συνεπώς, η αντικειμενική συνάρτηση  $\Gamma$  που θα πρέπει να ελαχιστοποιηθεί είναι η

$$\begin{aligned} \Gamma &= \underline{e}^T \cdot \underline{e} \\ &= (\underline{y}^{<meas>} - \underline{h} \cdot \underline{x})^T \cdot (\underline{y}^{<meas>} - \underline{h} \cdot \underline{x}) \\ &= \underline{y}^{<meas>T} \cdot \underline{y}^{<meas>} - \underline{y}^{<meas>T} \cdot \underline{h} \cdot \underline{x} - \underline{x}^T \cdot \underline{h}^T \cdot \underline{y}^{<meas>} + \underline{x}^T \cdot \underline{h}^T \cdot \underline{h} \cdot \underline{x} \end{aligned} \quad (6.9)$$

Η λύση ελαχίστων τετραγώνων αντιστοιχεί στο ελάχιστο σημείο της επιφάνειας σφαλμάτων και βρίσκεται θέτοντας την παράγωγο της αντικειμενικής συνάρτησης  $\Gamma$  ως προς  $\underline{x}$  ίση με το μηδέν (Η παράγωγος υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τους κανόνες που παρουσιάζονται στο Παράρτημα Γ):

$$\frac{\partial \Gamma}{\partial \underline{x}} = \underline{0} = \underline{0} - \underline{h}^T \cdot \underline{y}^{<meas>} - \underline{h}^T \cdot \underline{y}^{<meas>} + 2 \cdot \underline{h}^T \cdot \underline{h} \cdot \underline{x} \quad (6.10)$$

Αν ο πίνακας  $\underline{h}^T \cdot \underline{h}$  είναι αντιστρέψιμος, η λύση ως προς  $\underline{x}$  δίνει την εκτίμηση  $\underline{x}^{<est>}$ :

|   |
|---|
| $\text{LSS} \quad \underline{x}^{<est>} = (\underline{h}^T \cdot \underline{h})^{-1} \cdot \underline{h}^T \cdot \underline{y}^{<meas>} \quad (6.11)$ |
|---|

Αυτή είναι η λύση ελαχίστων τετραγώνων. Ο πίνακας  $\underline{h}^T \cdot \underline{h}$  είναι τετραγωνικός  $[N \times N]$  και συμμετρικός. Επίσης, είναι αντιστρέψιμος όταν ο πίνακας  $\underline{h}$   $[M \times N]$  έχει γραμμικώς ανεξάρτητες στήλες έτσι που  $r[\underline{h}] = N$ .

Οι αντίστοιχοι γενικευμένοι αντίστροφοι πίνακες, ο πίνακας ανάλυσης δεδομένων  $\underline{D} = \underline{h} \cdot \underline{h}^{-g}$  και ο πίνακας ανάλυσης μοντέλου  $\underline{G} = \underline{h}^{-g} \cdot \underline{h}$ , παίρνουν τη μορφή:

$$\underline{\underline{D}} = \underline{\underline{h}} \cdot (\underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{h}})^{-1} \cdot \underline{\underline{h}}^T \quad (6.12)$$

$$\underline{\underline{G}} = (\underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{h}})^{-1} \cdot (\underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{h}}) = \underline{\underline{I}} \quad (6.13)$$

αφού ο ψευδοαντίστροφος πίνακας θα είναι ο

$$\underline{\underline{h}}^{-g} = (\underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{h}})^{-1} \cdot \underline{\underline{h}}^T \quad (6.14)$$

όπως επιτάσσει η Εξίσωση 6.11.

Όταν ο πίνακας ανάλυσης μοντέλου είναι ο μοναδιαίος πίνακας, η LSS μπορεί να αποφανθεί για το  $\underline{x}$ , αλλά όχι για τα δεδομένα  $\underline{y}$ . (Σημειώνεται ότι  $\underline{\underline{D}} \equiv \underline{\underline{I}}$  όταν το πρόβλημα είναι ισοκαθορισμένο).

#### 6.4 Η ΚΑΝΟΝΙΚΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΛΥΣΗ ΕΛΑΧΙΣΤΩΝ ΤΕΤΡΑΓΩΝΩΝ (RLSS)

Η λύση ελαχίστων τετραγώνων LSS εφαρμόζεται σε υπερκαθορισμένα προβλήματα. Όμως, πολλά αντίστροφα προβλήματα είναι μεικτά καθορισμένα. Στην περίπτωση αυτή, η αντιστροφή – εφόσον βέβαια είναι δυνατή – θα τείνει να μεγαθύνει άνισα τον θόρυβο στη λύση, ειδικά για τιμές του του  $x_k$  που είναι ελάχιστα καθορισμένες λόγω περιορισμένης πληροφορίας. Αυτό μπορεί να αποφευχθεί εισάγοντας γνωστές ιδιότητες στη λύση  $\underline{x}$ .

Είναι πιθανόν να εισάγουμε μια διαθέσιμη *a priori* πληροφορία σχετικά με την λύση  $\underline{x}$  κατά τη διάρκεια της αντιστροφής. Αυτή η πληροφορία περικλείεται στον πίνακα κανονικοποίησης  $\underline{\underline{R}}$  και προστίθεται έτσι ένα δεύτερο κριτήριο που θα πρέπει να ελαχιστοποιηθεί στην αντικειμενική συνάρτηση. Έτσι, η αντικειμενική συνάρτηση για την κανονικοποιημένη λύση ελαχίστων τετραγώνων (RLSS) εμπεριέχει: (1) το μήκος του διανύσματος του υπολοίπου  $\underline{e}^T \cdot \underline{e}$ , όπου  $\underline{e} = y^{<meas>} - y^{<just>}$ , και (2) το μήκος  $[(\underline{\underline{R}} \cdot \underline{x})^T \cdot (\underline{\underline{R}} \cdot \underline{x})]$  του κριτηρίου κανονικοποίησης που εφαρμόζεται στη λύση:

$$\begin{aligned} \Gamma &= (\underline{y}^{<meas>} - \underline{\underline{h}} \cdot \underline{x})^T \cdot (\underline{y}^{<meas>} - \underline{\underline{h}} \cdot \underline{x}) + \lambda [(\underline{\underline{R}} \cdot \underline{x})^T \cdot \underline{\underline{R}} \cdot \underline{x}] \\ &= \underline{y}^{<meas>T} \cdot \underline{y}^{<meas>} - \underline{y}^{<meas>T} \cdot \underline{\underline{h}} \cdot \underline{x} - \underline{x}^T \cdot \underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{y}^{<meas>} + \\ &\quad \underline{x}^T \cdot \underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{h}} \cdot \underline{x} + \lambda [\underline{x}^T \cdot \underline{\underline{R}}^T \cdot \underline{\underline{R}} \cdot \underline{x}] \end{aligned} \quad (6.15)$$

όπου  $\lambda$  είναι ο μη αρνητικός συντελεστής κανονικοποίησης που ρυθμίζει την ελαχιστοποίηση των δύο συναρτησιακών στην αντικειμενική συνάρτηση. (Σημειώνεται ότι εφόσον υποθέτουμε ότι ο  $R$  είναι αδιάστατος, οι μονάδες του  $\lambda$  θα είναι  $[\lambda] = [y^2 / x^2]$ .) Η μερική παράγωγος της αντικειμενικής συνάρτησης ως προς  $\underline{x}$  τίθεται ίση με το μηδέν:

$$\frac{\partial \Gamma}{\partial \underline{x}} = \underline{0} = \underline{0} - 2 \underline{h}^T \cdot \underline{y}^{<meas>} - 2 \underline{h}^T \cdot \underline{h} \cdot \underline{x} + 2\lambda \underline{R}^T \cdot \underline{R} \cdot \underline{x} \quad (6.16)$$

Η εκτίμηση του  $\underline{x}$  αποκτάται υποθέτοντας ότι ο πίνακας  $\underline{h}^T \cdot \underline{h} + \lambda \underline{R}^T \cdot \underline{R}$  είναι αντιστρέψιμος :

|  |
|--|
| $\text{RLSS} \quad \underline{x}^{<est>} = (\underline{h}^T \cdot \underline{h} + \lambda \underline{R}^T \cdot \underline{R})^{-1} \cdot \underline{h}^T \cdot \underline{y}^{<meas>} \quad (6.17)$ |
|--|

Ένας συμμετρικός, θετικά ορισμένος πίνακας είναι αντιστρέψιμος (βλ. Παράρτημα Α). Κατά συνέπεια, το αποτέλεσμα της κανονικοποίησης είναι να εξασφαλιστεί η αντιστρεψιμότητα του πίνακα  $\underline{h}^T \cdot \underline{h} + \lambda \underline{R}^T \cdot \underline{R}$  διορθώνοντας την κακή κατάσταση (ill-conditioning) του  $\underline{h}^T \cdot \underline{h}$  και αποκομίζοντας έτσι μια σταθερή λύση. Οι αντίστοιχοι γενικευμένοι αντίστροφοι πίνακες, ο πίνακας ανάλυσης δεδομένων  $\underline{D} = \underline{h} \cdot \underline{h}^{-g}$  και ο πίνακας ανάλυσης μοντέλου  $\underline{G} = \underline{h}^{-g} \cdot \underline{h}$ , θα είναι τότε:

$$\underline{h}^{-g} = (\underline{h}^T \cdot \underline{h} + \lambda \underline{R}^T \cdot \underline{R})^{-1} \cdot \underline{h}^T \quad (6.18)$$

$$\underline{D} = \underline{h} \cdot (\underline{h}^T \cdot \underline{h} + \lambda \underline{R}^T \cdot \underline{R})^{-1} \cdot \underline{h}^T \quad (6.19)$$

$$\underline{G} = (\underline{h}^T \cdot \underline{h} + \lambda \underline{R}^T \cdot \underline{R})^{-1} \cdot \underline{h}^T \cdot \underline{h} \quad (6.20)$$

Η «ευέλικτη» RLSS επίλυση μπορεί να παρέχει ικανοποιητικές εκτιμήσεις ακόμα και με την παρουσία σφαλμάτων μοντέλου και δεδομένων. Η RLSS είναι επίσης γνωστή και ως μέθοδος Phillips-Twomey ή κανονικοποίηση Tikhonov-Miller.

#### 6.4.1 Ειδικές περιπτώσεις

Η LSS προκύπτει από την RLSS όταν ο συντελεστής κανονικοποίησης τίθεται ίσος με το μηδέν:  $\lambda=0$ .



Αν ο πίνακας κανονικοποίησης  $\underline{R}$  επιλεγθεί να είναι ο μοναδιαίος πίνακας, η λύση είναι γνωστή ως *λύση ελαχίστων τετραγώνων με απόσβεση* (damped least squares solution, DLSS) και η Εξίσωση 6.16 γίνεται

|      |   |
|------|---|
| DLSS | $\underline{x}^{<est>} = (\underline{h}^T \cdot \underline{h} + \eta^2 \cdot \underline{I})^{-1} \cdot \underline{h}^T \cdot \underline{y}^{<meas>} \quad (6.21)$ |
|------|---|

Η επίδραση της απόσβεσης  $\eta^2$  στη δημιουργία ενός θετικά ορισμένου αντιστρόφου πίνακα φαίνεται εύκολα σε αυτήν την επίλυση, όπου η κύρια διαγώνιος του  $\underline{h}^T \cdot \underline{h}$  αυξάνεται κατά  $\eta^2$ . Εδώ πρέπει να παρατηρηθούν τα εξής:

1. Η τιμή του  $\eta^2$  είναι πάντοτε θετική.
2. Τυπικά, ένας πίνακας είναι θετικά ορισμένος όταν τα στοιχεία του κατά μήκος της κύριας διαγωνίου είναι από τη μία θετικά, και από την άλλη μεγάλα συγκρινόμενα με τα άλλα στοιχεία του πίνακα.
3. Ένας θετικά ορισμένος και συμμετρικός πίνακας είναι πάντοτε αντιστρέψιμος (Παράρτημα Α).

#### 6.4.2 Ο συντελεστής κανονικοποίησης $\lambda$

Η βέλτιστη τιμή του  $\lambda$  εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του εξεταζόμενου προβλήματος, την ποιότητα των δεδομένων  $\underline{y}$  και το βαθμό επάρκειας του θεωρούμενου μονέλου. Αμέσως μετά θα εξεταστεί η εξέλιξη του υπολοίπου και της λύσης  $\underline{x}^{<est>}$  για διαφορετικές τιμές του  $\lambda$ .

#### Η εξέλιξη του υπολοίπου (Χώρος Δεδομένων)

Μια χαμηλή κανονικοποίηση (μικρός συντελεστής  $\lambda$ ) επιτρέπει στη λύση  $\underline{x}^{<est>}$  να προσαρμοστεί στα μετρούμενα δεδομένα  $\underline{y}^{<meas>}$  και τότε τα υπόλοιπα  $\underline{e} = \underline{y}^{<meas>} - \underline{h} \cdot \underline{x}^{<est>}$  είναι μικρά. Αντίστροφα, μια αύξηση του συντελεστή κανονικοποίησης  $\lambda$  περιορίζει τη λύση και τα υπόλοιπα αυξάνονται. Το εύρος τιμών του  $\lambda$  για το οποίο η λύση παύει να δικαιολογεί τα δεδομένα σε αποδεκτό βαθμό, πρέπει να απορριφθεί. Για να διευκολυνθεί η απόφαση για το ποιές τιμές του  $\lambda$  πρέπει να απορριφθούν, σχεδιάζεται το μήκος  $\underline{e}^T \cdot \underline{e}$  του διανύσματος των υπολοίπων συναρτήσει του  $\lambda$ .

## Η εξέλιξη της λύσης $\underline{x}^{<est>}$ ( Χώρος Λύσης)

Η λύση  $\underline{x}^{<est>}$  παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία στα σφάλματα δεδομένων και μοντέλου όταν το  $\lambda$  είναι μικρό και το πρόβλημα καλείται *υποκανονικοποιημένο* (*underregularized*). Αντίθετα, όταν ο συντελεστής κανονικοποίησης  $\lambda$  είναι πολύ μεγάλος, η λύση  $\underline{x}^{<est>}$  είναι *υπερκανονικοποιημένη* (*overregularized*) και αποτυγχάνει να δικαιολογήσει τα δεδομένα  $\underline{y}^{<meas>}$ . Έτσι, απορρίπτονται τα εύρη τιμών του  $\lambda$  στα οποία η λύση είναι φυσικώς μη αποδεκτή ή μη κατατοπιστική. Μια εύρωστη προσέγγιση είναι να σχεδιαστούν γραφικά τα κεντρικά χαρακτηριστικά της λύσης συναρτήσει των αντίστοιχων τιμών του  $\lambda$ . Πρέπει να θεωρηθούν παράμετροι όπως:

- Το χαρακτηριστικό που θα ελαχιστοποιηθεί, το οποίο περικλείεται στον πίνακα κανονικοποίησης και συνοψίζεται στο μήκος  $[(\underline{R} \cdot \underline{x})^T \cdot (\underline{R} \cdot \underline{x})]$ .
- Οι ακραίες τιμές  $\min(\underline{x}^{<est>})$  και  $\max(\underline{x}^{<est>})$ , σε συνδυασμό με το φυσικώς αποδεκτό εύρος για τις παραμέτρους  $x$ .
- Οι στατιστικές παράμετροι για τις τιμές του διανύσματος  $\underline{x}$  όπως ο μέσος, η τυπική απόκλιση, ή ο συντελεστής διακύμανσης (τυπικής απόκλισης/ διασποράς).
- Το σχετικό μέγεθος των παραμέτρων (π.χ. η ομαλότητα της χωρικής διακύμανσης του  $\underline{x}^{<est>}$  μπορεί να είναι γνωστή a priori όπως για παράδειγμα σε μια περίπτωση που το  $\underline{x}$  σχετίζεται με μια κατανομή φωτεινής έντασης).
- Μια κυρίαρχη τάση της λύσης  $\underline{x}^{<est>}$  (π.χ. η θερμοκρασία του ωκεανού μειώνεται με το βάθος).

## Απόφαση

Σε αυτήν την παράγραφο επισημαίνεται η *εγγενής διασύνδεση* (*inherent trade off*) μεταξύ της σταθερότητας της λύσης (που βελτιώνεται σε υψηλή κανονικοποίηση) και της προβλεψιμότητας των δεδομένων (που είναι καλύτερη σε χαμηλή κανονικοποίηση). Το επιλεγόμενο επίπεδο κανονικοποίησης  $\lambda$  πρέπει (1) να επιστρέφει μια λύση με φυσική σημασία μέσα στο πλαίσιο του μελετούμενου προβλήματος και (2) να δικαιολογεί επαρκώς τα δεδομένα.

Αναμένεται ότι υψηλότερα επίπεδα σφαλμάτων δεδομένων ή μοντέλου, και μια ανομοιογενής κάλυψη των δεδομένων, θα απαιτήσουν υψηλότερο επίπεδο κανονικοποίησης  $\lambda$ . Λεπτομέρειες παρουσιάζονται στη Μεθοδολογική Διαδικασία (Παράρτημα Δ).

## 6.5 ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ

Η κανονικοποίηση επιτρέπει την προσθήκη γνωστής πληροφορίας σε ότι αφορά τη λύση  $\underline{x}$ . Μπορεί επίσης να είναι διαθέσιμη και μια επιπλέον πληροφορία για τα δεδομένα  $\underline{y}$  και το μοντέλο, ή ακόμα μια αρχική εικασία της λύσης,  $\underline{x}_0$ . Στις επόμενες παραγράφους θα περιγραφεί ο τρόπος με τον οποίο αυτή η πληροφορία μπορεί να ενσωματωθεί κατά την επίλυση του αντιστρόφου προβλήματος. Σε όλες τις περιπτώσεις, η ενσωμάτωση επιπλέον πληροφορίας μπορεί να οδηγήσει σε ένα καλύτερης κατάστασης αντίστροφο πρόβλημα, και σε λύσεις με περισσότερη φυσική σημασία.

### 6.5.1 Μετρήσεις με βάρος

Συχνά χρειάζεται να υπάρχει στη διάθεση του αναλυτή επιπλέον πληροφορία σχετικά με:

- Το μοντέλο που κατασκευάζει τον πίνακα  $\underline{h}$ , όπως για παράδειγμα, στην περίπτωση που ένα μοντέλο είναι ανεπαρκές για μετρήσεις που προκαλούν μη γραμμικά φαινόμενα.
- Την ποιότητα των δεδομένων  $\underline{y}$  που συλλέχθηκαν. Για παράδειγμα, σε μετρήσεις που αποκτήθηκαν με έναν χαμηλό λόγο σήματος προς θόρυβο, αποκτήθηκαν κάτω από δύσκολες συνθήκες, ή αποκτήθηκαν από έναν άπειρο ερευνητή.
- Η στατιστική της κάθε μέτρησης. Συγκεκριμένα, όλες οι μετρήσεις ενδέχεται να έχουν την ίδια σημασία στη λύση όταν χρησιμοποιείται το τυπικό σφάλμα.
- Η παρουσία περιθωρίων (outliers) στα δεδομένα. Αυτή μπορεί να εντοπιστεί a priori κατά τη διάρκεια της προεπεξεργασίας (preprocessing) των δεδομένων, ή ερευνώντας τα σφάλματα  $e_i$  από τη στιγμή που μια αρχική αντιστροφή έχει ολοκληρωθεί.

Αυτή η πληροφορία μπορεί να ενσωματωθεί με το να εφαρμοστούν διαφορετικά βάρη  $w_i$  σε κάθε μέτρηση ή εξίσωση:

$$\begin{aligned} w_1 (y_1 &= h_{1,1}x_1 + \dots + h_{1,N}x_N) \\ &\dots \\ w_i (y_i &= h_{i,1}x_1 + \dots + h_{i,N}x_N) \\ &\dots \\ w_M (y_M &= h_{M,1}x_1 + \dots + h_{M,N}x_N) \end{aligned} \tag{6.22}$$

Σε μορφή πίνακα

$$\underline{\underline{W}} \cdot \underline{y} = \underline{\underline{W}} \cdot \underline{\underline{h}} \cdot \underline{x} \quad (6.23)$$

όπου τα στοιχεία στον  $[M \times M]$  διαγώνιο πίνακα  $\underline{\underline{W}}$  είναι τα βάρη που εναποτίθενται σε κάθε εξίσωση  $W_{i,i} = w_i$ . Η Εξίσωση 6.22 είναι ισοδύναμη με το σύστημα των εξισώσεων  $\underline{y} = \underline{\underline{h}} \cdot \underline{x}$ , όταν γίνουν οι ακόλουθες αντικαταστάσεις:

$$\underline{y} \rightarrow \underline{\underline{W}} \cdot \underline{y} \quad \text{και} \quad \underline{\underline{h}} \rightarrow \underline{\underline{W}} \cdot \underline{\underline{h}}$$

Τότε, οι ψευδοαντίστροφες λύσεις LSS και RLSS γίνονται

$$\text{W - LSS} \quad \underline{x}^{<est>} = (\underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{W}}^T \cdot \underline{\underline{W}} \cdot \underline{\underline{h}})^{-1} \cdot \underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{W}}^T \cdot \underline{\underline{W}} \cdot \underline{y}^{<meas>} \quad (6.24)$$

$$\text{W - RLSS} \quad \underline{x}^{<est>} = (\underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{W}}^T \cdot \underline{\underline{W}} \cdot \underline{\underline{h}} + \lambda \underline{\underline{R}}^T \cdot \underline{\underline{R}})^{-1} \cdot \underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{W}}^T \cdot \underline{\underline{W}} \cdot \underline{y}^{<meas>} \quad (6.25)$$

### 6.5.2 Αρχική εικασία της λύσης

Η εκτίμηση  $\underline{x}^{<est>}$  μπορεί να υπολογιστεί ξεκινώντας από μια αρχική εικασία της λύσης,  $\underline{x}_0$ , και μεταβάλλοντας τη μη δικαιολογημένη συνιστώσα των μετρήσεων ( $\underline{y}^{<meas>} - \underline{\underline{h}} \cdot \underline{x}_0$ ), με βάση τις γενικευμένες αντίστροφες λύσεις που αποκτήθηκαν νωρίτερα. Το νέο σύνολο των ψευδοαντίστροφων λύσεων αποκτάται από το αρχικό σύνολο των λύσεων αντικαθιστώντας

$$\underline{y}^{<meas>} \rightarrow (\underline{y}^{<meas>} - \underline{\underline{h}} \cdot \underline{x}_0) \quad \text{και} \quad \underline{x}^{<est>} \rightarrow (\underline{x}^{<est>} - \underline{x}_0)$$

Άρα οι νέες λύσεις θα είναι:

$$\underline{x}_0 - \text{LSS} \quad \underline{x}^{<est>} = \underline{x}_0 + (\underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{h}})^{-1} \cdot \underline{\underline{h}}^T \cdot (\underline{y}^{<meas>} - \underline{\underline{h}} \cdot \underline{x}_0) \quad (6.26)$$

$$\underline{x}_0 - \text{RLSS} \quad \underline{x}^{<est>} = \underline{x}_0 + (\underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{h}} + \lambda \underline{\underline{R}}^T \cdot \underline{\underline{R}})^{-1} \cdot \underline{\underline{h}}^T \cdot (\underline{y}^{<meas>} - \underline{\underline{h}} \cdot \underline{x}_0) \quad (6.27)$$

Οι αντικαταστάσεις που έγιναν επηρεάζουν τις αντίστοιχες αντικειμενικές συναρτήσεις και οι λύσεις αποκτούν καινούριο νόημα. Παραδείγματος χάριν, η LSS γίνεται η λύση με τη μικρότερη απόσταση μεταξύ του  $\underline{x}^{<est>}$  και του  $\underline{x}_0$ . Ομοίως, το κριτήριο που εκφράζεται στον πίνακα κανονικοποίησης  $\underline{\underline{R}}$ , εφαρμόζεται τώρα στο  $(\underline{x}^{<est>} - \underline{x}_0)$ . Η αρχική εικασία  $\underline{x}_0$  μπορεί (1) να είναι η λύση ενός παρόμοιου αντιστρόφου προβλήματος

με δεδομένα που αποκτήθηκαν νωρίτερα σε μια χρονικά μεταβαλλόμενη διαδικασία, (2) μπορεί να αντανakλά μια προηγούμενη γνώση για τη λύση, ή (3) μπορεί να εκτιμηθεί κατά τη διάρκεια της προεπεξεργασίας των δεδομένων.

### 6.5.3 Απλό μοντέλο-Το κριτήριο του Occam

Η διαθέσιμη πληροφορία σχετικά με τις παραμέτρους του μοντέλου, μπορεί να επιτρέψει μια μείωση του αριθμού των αγνώστων, σε συμφωνία με το κριτήριο του Occam (Παρ. 5.4),

$$\underline{y} = \underline{h} \cdot \underline{x} = \underline{h} \cdot \underline{O} \cdot \underline{u} \quad (6.28)$$

Οι αντίστοιχες αντικαταστάσεις είναι

$$\underline{x}^{<est>} \rightarrow \underline{u}^{<est>} \quad \text{και} \quad \underline{h} \rightarrow \underline{h} \cdot \underline{O}$$

Έτσι, η λύση LSS που βασίζεται στο κριτήριο του Occam γίνεται

|         |   |        |
|---------|---|--------|
| O – LSS | $\underline{u}^{<est>} = (\underline{O}^T \cdot \underline{h}^T \cdot \underline{h} \cdot \underline{O})^{-1} \cdot \underline{O}^T \cdot \underline{h}^T \cdot \underline{y}^{<meas>}$ | (6.29) |
|---------|---|--------|

Η αντιστρεψιμότητα του  $(\underline{O}^T \cdot \underline{h}^T \cdot \underline{h} \cdot \underline{O})$  δεν είναι εγγυημένη, αλλά μπορεί να επιτευχθεί όταν ένας ικανοποιητικά μικρός αριθμός αγνώστων εμπεριέχεται στο  $\underline{u}$ . Όντως, ένα βασικό πλεονέκτημα στην επιλογή απλούστερων μοντέλων είναι η μείωση της κακής κατάστασης του αντιστρόφου προβλήματος.

### 6.5.4 Συνδυασμένη επίλυση

Οι προηγούμενες παράγραφοι αποκάλυψαν μεθόδους για την ενσωμάτωση της επιπλέον πληροφορίας: αρχική εικασία της λύσης  $\underline{x}_0$ , μετρήσεις ή εξισώσεις με διαφορετικά βάρη  $\underline{W}$ , κανονικοποίηση  $\underline{R}$ , και κριτήριο του Occam  $\underline{O}$ . Αυτές οι μέθοδοι μπορούν να συνδυαστούν ώστε να προκύψουν νέες λύσεις. Για παράδειγμα, μια «κανονικοποιημένη λύση ελαχίστων τετραγώνων με βάρος και με αρχική εικασία» είναι η

|   |        |
|---|--------|
| $\underline{x}^{<est>} = \underline{x}_0 + (\underline{h}^T \cdot \underline{W}^T \cdot \underline{W} \cdot \underline{h} + \lambda \underline{R}^T \cdot \underline{R})^{-1} \cdot \underline{h}^T \cdot \underline{W}^T \cdot \underline{W} \cdot (\underline{y}^{<meas>} - \underline{h} \cdot \underline{x}_0)$ | (6.30) |
|---|--------|

Η σημασία της λύσης γίνεται εμφανής όταν οι αντικαταστάσεις πραγματοποιηθούν στην αντικειμενική συνάρτηση που ελαχιστοποιείται.

## 6.6 ΛΥΣΗ ΒΑΣΙΣΜΕΝΗ ΣΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΙΔΙΑΖΟΥΣΩΝ ΤΙΜΩΝ (SVD)

Η Ανάλυση Ιδιάζουσων Τιμών (Singular Value Decomposition, SVD) είναι μια ισχυρή μέθοδος διάγνωσης αντιστρόφων προβλημάτων και ανάλυσης της διαθέσιμης πληροφορίας. Επιτρέπει επίσης και τον υπολογισμό του ψευδοαντιστρόφου ενός πίνακα  $\underline{\underline{h}} [M \times N]$ . Η λύση για τον ψευδοαντίστροφο προκύπτει αμέσως από την σχέση  $\underline{\underline{h}} = \underline{\underline{U}} \cdot \underline{\underline{\Lambda}} \cdot \underline{\underline{V}}^T$  και την ορθογωνιότητα των πινάκων, και είναι η:

$$\underline{\underline{h}}^{-g} = \underline{\underline{V}} \cdot \underline{\underline{\Lambda}}^{-1} \cdot \underline{\underline{U}}^T \quad (6.31)$$

όπου

τα στοιχεία του διαγώνιου πίνακα  $\underline{\underline{\Lambda}} [M \times N]$  είναι οι ιδιοτιμές  $\lambda_i$  του  $\underline{\underline{h}} \cdot \underline{\underline{h}}^T$  ή του  $\underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{h}}$  σε φθίνουσα σειρά ,  
 οι στήλες στον ορθογώνιο πίνακα  $\underline{\underline{U}} [M \times M]$  σχηματίζονται από τα ιδιοδιανύσματα  $\underline{u}$  του  $\underline{\underline{h}} \cdot \underline{\underline{h}}^T$  (ταξινομημένα σύμφωνα με τις ιδιοτιμές  $\lambda$  στον  $\underline{\underline{\Lambda}}$ ),  
 και οι στήλες του πίνακα  $\underline{\underline{V}} [N \times N]$  σχηματίζονται από τα ιδιοδιανύσματα  $\underline{v}$  του  $\underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{h}}$  (με την ίδια σειρά όπως οι ιδιοτιμές  $\lambda$  στον  $\underline{\underline{\Lambda}}$ ).

Σε πιο αναλυτική μορφή, η λύση  $\underline{x}^{<est>} = \underline{\underline{h}}^{-g} \cdot \underline{y}^{<meas>}$  γράφεται:

$$\underline{x}^{<est>} = \underline{\underline{h}}^{-g} \cdot \underline{y}^{<meas>} = \sum_{i=1}^p \frac{v_i \cdot u_i^T \cdot \underline{y}^{<meas>}}{\lambda_i} \quad (\text{τάξη } p) \quad (6.32)$$

Η εξίσωση αυτή υποδηλώνει ότι μικρές ιδιοτιμές  $\lambda_i$  σε κακής κατάστασης προβλήματα θα μεγεθύνουν τα σφάλματα μοντέλου στον  $\underline{\underline{h}}$  (που συγγρατούνται από τα  $u_i$  και  $v_i$ ) και τα σφάλματα δεδομένων στο  $\underline{y}$ . Η μεγέθυνση του σφάλματος ελέγχεται μεταβάλλοντας το όριο άθροισης «p» ώστε να ληφθούν υπόψη οι μεγαλύτερες ιδιοτιμές. Έτσι, ο γενικευμένος αντίστροφος του  $\underline{\underline{h}}$  που υπολογίζεται με βάση τις p πρώτες ιδιοτιμές και τα αντίστοιχα ιδιοδιανύσματα, είναι:

|              |  |
|--------------|--|
| SVSS         | $\underline{\underline{h}}^{-g} = \underline{\underline{V}}^{<p>} \cdot (\underline{\underline{\Lambda}}^{<p>})^{-1} \cdot (\underline{\underline{U}}^{<p>})^T \quad \text{τάξη } p$ |
| $N \times M$ | $N \times p \quad p \times p \quad p \times M$   |

(6.33)

Ο πίνακας ανάλυσης δεδομένων  $\underline{\underline{D}} = \underline{\underline{h}} \cdot \underline{\underline{h}}^{-g}$  και ο πίνακας ανάλυσης μοντέλου  $\underline{\underline{G}} = \underline{\underline{h}}^{-g} \cdot \underline{\underline{h}}$ , μπορούν να υπολογιστούν για διαφορετικές τιμές του  $p$  ώστε να χαρακτηρίσουν περαιτέρω τη φύση του αντιστρόφου προβλήματος, και να βελτιστοποιήσουν τον σχεδιασμό του.

### 6.6.1 Επιλέγοντας τον βέλτιστο αριθμό ιδιοτιμών $p$ που έχουν νόημα

Η επιλογή της βέλτιστης τιμής για το  $p$  αρχίζει ταξινομώντας τις ιδιοτιμές ώστε να εντοπιστούν ασυνέχειες (jumps). Εάν δεν υπάρχουν ασυνέχειες, επιλέγεται ένας δείκτης κατάστασης που εξασφαλίζει αριθμητική σταθερότητα. Αυτή είναι η προεπιλεγόμενη τάξη (order)  $p_0$ . Ακολουθείται μια παρόμοια μεθοδολογία με αυτήν που χρησιμοποιείται για την αναγνώριση του βέλτιστου επιπέδου της κανονικοποίησης (Παράρτημα Δ):

1. Υπολογισμός της λύσης  $\underline{x}^{<est>}$  για την προεπιλεγόμενη τάξη  $p_0$ .
2. Ανάλυση της φυσικής σημασίας της λύσης.
3. Ανάλυση της ικανότητας της λύσης να δικαιολογήσει τα δεδομένα.
4. Επανάληψη των παραπάνω για μεγαλύτερες και μικρότερες τιμές του  $p$  γύρω από το  $p_0$ .
5. Επιλογή της τιμής του  $p$  που παρέχει τον καλύτερο συμβιβασμό μεταξύ των δύο κριτηρίων.

Μεγαλύτερα σφάλματα δεδομένων και μοντέλου, οδηγούν σε μικρότερες βέλτιστες  $p$ -τιμές. Λεπτομέρειες παρουσιάζονται στη Μεθοδολογική Υλοποίηση (Παράρτημα Δ)

### 6.6.2 Η SVD και άλλες αντίστροφες επιλύσεις

Εάν τα μετρούμενα δεδομένα  $\underline{y}^{<meas>}$  μπορούν να εκφραστούν σαν ένας γραμμικός συνδυασμός των διανυσμάτων  $u_1 \dots u_r$ , τότε το  $\underline{y}^{<meas>}$  είναι μέσα στο εύρος του μετασχηματισμού, και η λύση του αντιστρόφου προβλήματος είναι ένα διάνυσμα στον χώρο του  $\underline{x}$  που περιλαμβάνει και τον κενό χώρο (βλ. Παράρτημα Β). Κατά συνέπεια, υπάρχουν άπειρες πιθανές λύσεις και χρειάζονται κάποια κριτήρια για να επιλεγεί μία από αυτές. Όμως, εάν τα μετρούμενα δεδομένα  $\underline{y}^{<meas>}$  δεν μπορούν να εκφραστούν σαν γραμμικός συνδυασμός των διανυσμάτων  $u_1 \dots u_r$ , τότε το  $\underline{y}^{<meas>}$  δεν είναι μέσα στο εύρος του μετασχηματισμού και έτσι δεν υπάρχει λύση  $\underline{x}$ . Παρ'όλα αυτά, υπάρχει ακόμα

η δυνατότητα να εντοπιστεί μια λύση που ικανοποιεί κάποιο κριτήριο, όπως το κριτήριο ελαχίστων τετραγώνων.

Όταν η τάξη του  $\underline{\underline{h}}$  είναι  $r$ , και το όριο άθροισης « $r$ » στην Εξίσωση 6.32 είναι ίσο με το  $r$ , η εκτίμηση  $\underline{x}^{<est>}$  που υπολογίζεται, αντιστοιχεί στην LSS:

$$\underline{\underline{h}}^{-g} = (\underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{h}})^{-1} \cdot \underline{\underline{h}}^T = \underline{\underline{V}}^{<r>} \cdot (\underline{\underline{\Lambda}}^{<r>})^{-1} \cdot (\underline{\underline{U}}^{<r>})^T \quad (6.34)$$

Η RLSS και η DLSS μετατρέπουν τον πίνακα  $\underline{\underline{h}}^T \cdot \underline{\underline{h}}$  [N×N] σε έναν θετικά ορισμένο, αντιστρέψιμο πίνακα. Όταν αυτές οι μέθοδοι αντιστροφής αναλυθούν χρησιμοποιώντας την SVD, φαίνεται αμέσως ότι η κανονικοποίηση και η απόσβεση αυξάνουν το μέγεθος των ιδιοτιμών, ελέγχουν την κακή κατάσταση του αντιστρόφου προβλήματος, και «αποσβένουν» τη μεγέθυνση των σφαλμάτων από τις μετρήσεις  $\underline{y}$  και το μοντέλο  $\underline{\underline{h}}$ , στη λύση  $\underline{x}$  (Εξίσωση 6.32).

## 6.7 ΠΑΡΑΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ

Στην παράγραφο αυτή θα περιγραφεί η μέθοδος επίλυσης αντιστρόφων προβλημάτων μέσω παραμετρικής αναπαράστασης, με τη βοήθεια ενός παραδείγματος.

Υποθέτουμε ότι βρισκόμαστε σε ένα σκοτεινό δωμάτιο διαστάσεων 10m×10m×4m και προσπαθούμε να εντοπίσουμε μια μικρή συσκευή παραγωγής ήχου (buzzer). Περπατώντας κατά μήκος των τοίχων, μαζεύουμε M=100 μετρήσεις του πλάτους της έντασης του ήχου που πηγάζει από τη συσκευή. Σκοπός μας είναι να εντοπίσουμε τη θέση της συσκευής προσπαθώντας να αντιστρέψουμε τα πειραματικά δεδομένα. Σύμφωνα με τις μεθόδους αντιστροφής που περιγράφηκαν στις προηγούμενες παραγράφους, σκεφτόμαστε να ενεργήσουμε ως εξής: χωρίζουμε το χώρο που περικλείεται στο δωμάτιο σε μικρά voxel (ογκοστοιχεία) διαστάσεων 0.1m×0.1m×0.1m και αντιστρέφουμε τις συνοριακές μετρήσεις  $y_i$  στους τοίχους, ώστε να καθορίσουμε το επίπεδο του ήχου  $x_k$  σε κάθε voxel. Πιο ξεκάθαρα, το αντιστραμμένο  $\underline{x}^{<est>}$  θα πρέπει να δικαιολογεί τις μετρήσεις  $\underline{y}$  δεδομένου ενός λογικού φυσικού μοντέλου από όπου συνάγεται ο  $\underline{\underline{h}}$ . Παρ' όλα αυτά, υπάρχουν μόνο M=100 μετρήσεις και N=400.000 άγνωστοι (όγκος δωματίου÷όγκος voxel). Αν και ένα μεγαλύτερο όγκο voxel θα μείωνε τον αριθμό των αγνώστων, θα προκαλούσε μείωση της ανάλυσης. Από την άλλη, η κανονικοποίηση και μεν θα μείωνε την κακή κατάσταση, αλλά θα αλλοίωνε την πηγή. Σίγουρα λοιπόν, μια αναπαράσταση του χώρου της λύσης βασισμένη σε voxels θα ήταν ακατάλληλη στην προκειμένη περίπτωση.

Εναλλακτικά, το πρόβλημα μπορεί να εξισωθεί με μια εύρεση της χωρικής θέσης  $p_{buz}$ ,  $q_{buz}$  και  $r_{buz}$  μιας μοναδικής πηγής. Υπάρχουν μόνο τρεις άγνωστοι σε αυτήν την



αναπαράσταση. (Σημείωση: άγνωστη παράμετρος είναι και η ένταση του ήχου του buzzer αλλά το πρόβλημα μπορεί να αναπαρασταθεί σε όρους κανονικοποιημένων πλατών.) Η επίλυση ακολουθεί την εξής διαδικασία: κάνουμε την υπόθεση ότι η θέση του buzzer είναι η  $(p_{buz}, q_{buz}, r_{buz})^{<0>}$ , προβλέπουμε τα πλάτη έντασης ήχου κατά μήκος του τοίχου  $y^{<pred>}$  μέσω του μοντέλου που έχουμε αποδεχθεί, τα συγκρίνουμε με τα μετρούμενα πλάτη  $y^{<meas>}$  και τροποποιούμε την εκτίμηση της θέσης του buzzer μέχρι τα μετρούμενα και τα προβλεπόμενα πλάτη να ελαχιστοποιήσουν κάποια νόρμα σφάλματος (οποιαδήποτε νόρμα μπορεί να επιλεγεί).

# 7

## ΤΟ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΣΤΟΝ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟ ΦΘΟΡΟΦΟΡΩΝ

Λόγω της ισχυρής σκέδασης που όπως αναφέρθηκε πραγματοποιείται στους περισσότερους ιστούς, η ακριβής εκτίμηση των θέσεων των σωμάτων φθορισμού απαιτεί να ληφθεί υπόψη η διασπορά των τροχιών των φωτονίων σε ένα πολλαπλά σκεδάζον μέσο. Είναι αναγκαία η ύπαρξη μιας φυσικής θεωρίας κατάλληλης να αντιμετωπίσει τέτοια μέσα η οποία και να αποτελεί τη βάση για χρήσιμους αλγορίθμους εντοπισμού θέσης. Αρκετά μαθηματικά μοντέλα έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί: αυτά εκτείνονται από προσεγγίσεις που βασίζονται στη θεωρία Kubelka-Munk (η οποία απαιτεί για πειραματικά δεδομένα, μετρήσεις σταθερής κατάστασης μιας ομοιόμορφης κατανομής από φθοροφόρα), μέχρι περισσότερο λεπτομερείς αναλύσεις που βασίζονται σε προσεγγιστικές αριθμητικές επιλύσεις που αντλούνται από τη θεωρία διάχυσης. Παρ'όλα αυτά, η εκτέλεση οποιασδήποτε από αυτές τις τεχνικές, απαιτεί ογκώδεις αριθμητικούς υπολογισμούς για ορισμένες παραμέτρους, που μπορούν να αποδειχθούν εμπόδια στην κατασκευή αποτελεσματικών αλγορίθμων αντιστρόφων προβλημάτων που σχετίζονται με ανακατασκευή εικόνας και εντοπισμό θέσης.

Οι Patterson και Rogue πραγματοποίησαν μια θεωρητική έρευνα βασιζόμενοι σε ένα μοντέλο διάχυσης, που υποθέτει ότι τα φωτόνια διαδίδονται από το σημείο έγχυσής τους μέχρι το φθοροφόρο και μετά από το φθοροφόρο μέχρι την επιφάνεια του ιστού. Το αποτέλεσμα της ανάλυσής τους μπορεί να εκφραστεί σε όρους ενός γινομένου δύο συναρτήσεων Green, οι οποίες είναι λύσεις εξισώσεων διάχυσης, πολλαπλασιασμένες με τον συντελεστή απορρόφησης και την κβαντική απόδοση του φθοροφόρου. Η μία συνάρτηση Green περιγράφει την κίνηση ενός προσπίπτοντος φωτονίου στο φθοροφόρο, ενώ η άλλη περιγράφει την κίνηση ενός φωτονίου (που προέρχεται από τον φθορισμό του φθοροφόρου) από το σημείο του φθοροφόρου μέχρι τον ανιχνευτή. Με βάση αυτήν την περιγραφή, το ποσό του φωτός που εκπέμπεται από το σημείο του φθοροφόρου είναι ευθέως ανάλογο με το συνολικό ποσό του φωτός που προσκρούει στο φθοροφόρο, χωρίς να ληφθεί υπόψη το γεγονός ότι τα φωτόνια μπορούν να επισκεφτούν επανειλημμένα το φθοροφόρο πριν αυτό διεγερθεί σε μια ανώτερη ενεργειακή στάθμη.

Για την μελέτη του αντιστρόφου προβλήματος που εξετάζεται στην παρούσα εργασία, θα χρησιμοποιηθεί μια εναλλακτική προσέγγιση φθορισμού με βάση το μοντέλο που παρουσίασαν οι Gandjbakhche και οι συνεργάτες του, το οποίο βασίζεται σε μια θεωρία τυχαίου περιπάτου (Random Walk Theory, RWT) σε πλέγμα. Τα πλεονεκτήματα της διατύπωσης του φυσικού προβλήματος σε όρους μιας θεωρίας τυχαίου περιπάτου αντί ενός μοντέλου διάχυσης, μπορούν να συνοψιστούν στην εύκολη εύρεση λύσεων με χρήση παραγώγων συναρτήσεων και στην αποφυγή πολύπλοκων συναρτήσεων

διάχυσης και προβλημάτων συνοριακών τιμών. Πιο συγκεκριμένα, βρίσκονται εύκολα λύσεις στο πεδίο συχνότητας όπως θα φανεί και στη συνέχεια. Αυτές οι λύσεις μπορούν μετέπειτα να αξιοποιηθούν ώστε να παραχθούν χρήσιμες προσεγγίσεις για τον διαδότη (propagator) στο πεδίο του χρόνου.

Βέβαια, οι ιδιότητες της θεωρίας τυχαίου περιπάτου πλέγματος συσχετίζονται με εκείνες της θεωρίας διάχυσης. Για παράδειγμα, η λύση της εξίσωσης διάχυσης είναι ανάλογη με τη λύση του προβλήματος τυχαίου περιπάτου σε πλέγμα. Ένας τυχαίος περίπατος είναι απλά ένα σύνολο από τυχαίες μεταβλητές κάθε μία από τις οποίες αντιπροσωπεύει το μέγεθος και την κατεύθυνση ενός ενιαίου βήματος και λύνει πολλά προβλήματα μετανάστευσης φωτονίων. Παρ'όλο που θα εφαρμοστεί η θεωρία των τυχαίων περιπάτων σε ένα μοντέλο φασματοσκοπίας φθορισμού σε ένα ημιάπειρο μέσο που περιέχει ένα μοναδικό και συμπαγές φθοροφόρο σώμα, η επέκταση για περισσότερα σώματα μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση περισσότερης και ελαφρώς πιο πολύπλοκης άλγεβρας.

## 7.1 Η ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΟΣ

Το πρόβλημα με το οποίο ασχολείται η παρούσα διπλωματική, είναι ο εντοπισμός ενός φθοροφόρου εγκλείσματος μέσα σε έναν ιστό και συγκεκριμένα η εύρεση του βάθους του  $z_f$  (αντίστροφο πρόβλημα) με βάση τη γεωμετρία ανάκλασης (Εικόνα 7.1). Τα φωτόνια εισέρχονται στη μια πλευρά της επιφάνειας του ιστού και προσπίπτουν στο φθοροφόρο, το οποίο εκπέμπει φωτόνια λόγω φθορισμού. Τα φωτόνια αυτά εξέρχονται από την άλλη πλευρά της επιφάνειας του ιστού, όπου και ανιχνεύονται. Και τα προσπίπτοντα και τα εκπεμπόμενα φωτόνια υπόκεινται σε πολλαπλές σκεδάσεις και η τροχιά τους είναι περίπλοκη. Όπως είδαμε, τα αντίστροφα προβλήματα απαιτούν την εύρεση κατάλληλων φυσικών μοντέλων. Είναι χρήσιμο λοιπόν να βρεθεί ένα επαρκές φυσικό μοντέλο για το πρόβλημα. Το μοντέλο αυτό θα υπολογίζει τη χωρική κατανομή της έντασης φθορισμού. Συνεπώς, τα δεδομένα που θα χρησιμοποιηθούν για την αντιστροφή του προβλήματος, προέρχονται από το φθορισμό του φθοροφόρου και αποκτώνται από τη χωρική κατανομή της έντασης φθορισμού.

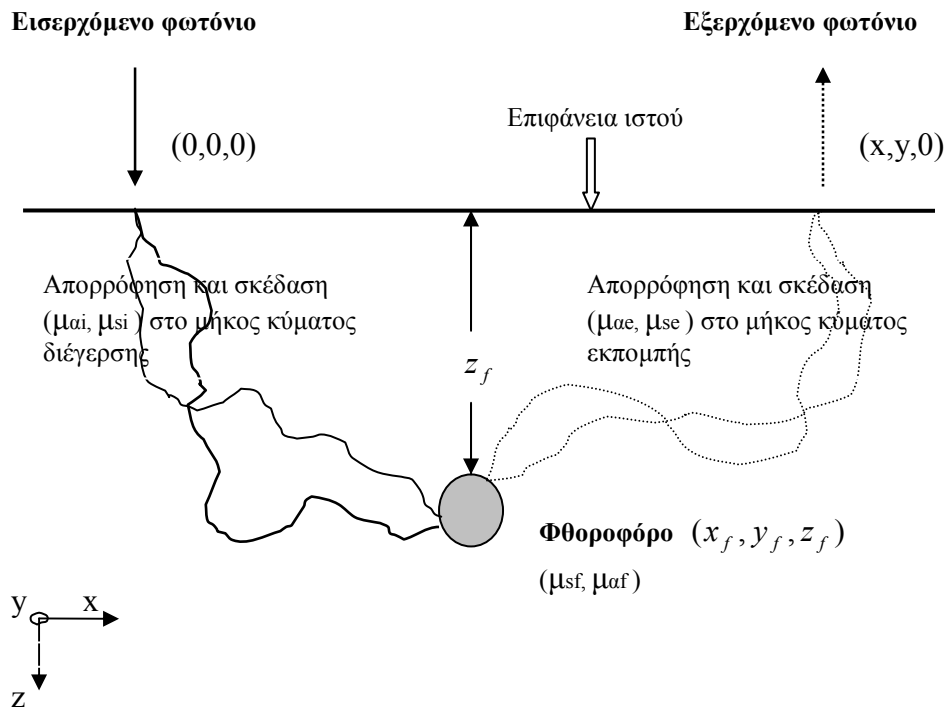
### 7.1.1 Μονελοποίηση του ιστού

Για την υλοποίηση του φυσικού μοντέλου, πρέπει να πληρούνται ορισμένες παραδοχές σε ότι αφορά τον ιστό που αποτελεί το μέσο διάδοσης των φωτονίων. Κατ'αρχήν, ο ιστός θεωρείται ως ένα απλό κυβικό πλέγμα. Ο τύπος του πλέγματος δεν έχει σημασία καθώς δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα της ανάλυσης του μοντέλου. Ένα αυθαίρετο σημείο του πλέγματος αναπαριστάται από τις συντεταγμένες  $\mathbf{r} = (x,y,z)$  όπου τα  $x, y, z$  είναι αδιάστατοι ακέραιοι αριθμοί και παίρνουν τιμές από τα σύνολα  $-\infty < x, y < +\infty$  και  $0 \leq z < +\infty$ . Το μέσο διάδοσης θεωρείται ομογενές (εκτός από το σημείο που βρίσκεται η φθοροφόρος μάζα) και ημιάπειρο, με τη διαχωριστική επιφάνεια ιστού-αέρα (συνοριακό

επίπεδο), να θεωρείται το επίπεδο  $z=0$  όπου υποθέτουμε ότι είναι πλήρως απορροφητικό. Τα σημεία εντός του ιστού είναι τέτοια ώστε  $z > 0$ . Για απλότητα, θεωρείται επίσης ότι η φθοροφόρος μάζα είναι εντοπισμένη σε ένα πλεγματικό σημείο που σημαίνει ότι η μέση ακτίνα της είναι μικρότερη από τη μέση τετραγωνική ρίζα του μήκους σκέδασης του περιβάλλοντος μέσου.

### 7.3.1 Μοντελοποίηση της διάδοσης των φωτονίων στον ιστό

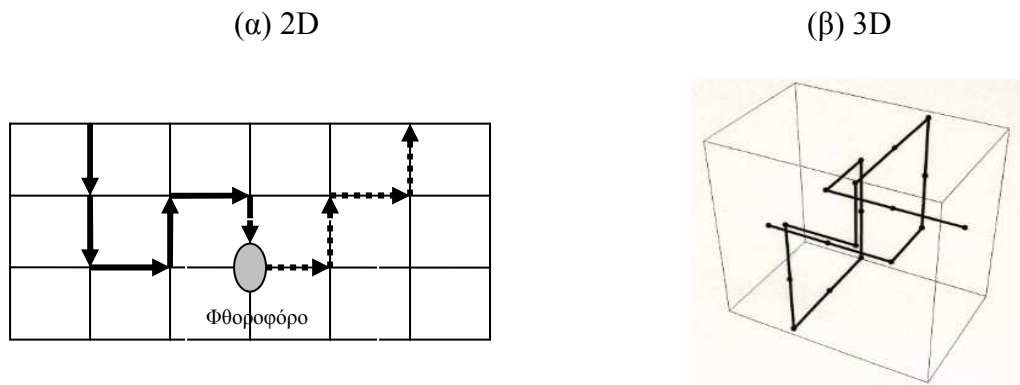
Το φως του laser προσπίπτει στον υπό εξέταση ιστό στο σημείο  $(0,0,0)$ , η φθοροφόρος μάζα βρίσκεται στο σημείο  $(x_f, y_f, z_f)$  και το σήμα φθορισμού καταγράφεται στη διαχωριστική επιφάνεια ιστού-αέρα, στο επίπεδο  $z=0$ , από ανιχνευτές συζευγμένου φορτίου (CCD). Τα φωτόνια που εισέρχονται στον ιστό υπόκεινται ένα μεγάλο αριθμό σκεδάσεων και ένα ποσοστό από αυτά φτάνει στο σημείο όπου βρίσκεται η φθοροφόρος



**Εικόνα 7.1.** Τα εισερχόμενα φωτόνια στο σημείο  $(0,0,0)$  προσπίπτουν στο φθοροφόρο στη θέση  $(x_f, y_f, z_f)$  και τα εκπεμπόμενα λόγω φθορισμού φωτόνια εξέρχονται στη θέση  $(x, y, 0)$  στην επιφάνεια του ιστού όπου και ανιχνεύονται.

μάζα. Στη συνέχεια, η φθοροφόρος μάζα διεγείρεται σε μια ανώτερη ενεργειακή στάθμη και μετά από μία χρονική καθυστέρηση μεταπίπτει στην βασική της κατάσταση εκπέμποντας ένα φωτόνιο (φθορισμός), το οποίο υπόκειται ξανά σε σκεδάσεις από το μέσο του ιστού μέχρι να φτάσει στο σημείο ανίχνευσης. Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 7.2, τα φωτόνια κινούνται σύμφωνα με τη θεωρία των τυχαίων περιπάτων μεταξύ των γειτονικών πλεγματικών σημείων απόστασης  $l_o = \sqrt{2}(\mu_s')^{-1}$ , όπου  $\mu_s' = \mu_s(1-g)$  ο διορθωμένος (μειωμένος) συντελεστής σκέδασης και  $g$  ο παράγοντας ανισοτροπίας σκέδασης.

Σημειώνεται ότι και η RWT και οι θεωρίες διάχυσης αναμένεται να είναι ακριβείς όταν το σημείο του φθοροφόρου είναι τουλάχιστον ένα ή δύο μήκη σκέδασης μακριά από την επιφάνεια του ιστού.



**Εικόνα 7.2.** Ο τυχαίος περίπατος του φωτονίου μέσα στον ιστό που αναπαρίσταται με πλέγμα, όπως φαίνεται (α) στις δύο διαστάσεις (2D) και (β) στις τρεις διαστάσεις (3D)

Η θεωρία των τυχαίων περιπάτων είναι μια μαθηματική μέθοδος που περιγράφει στοχαστικές διαδικασίες, όπως η διάδοση των φωτονίων μέσα σε ένα τυρβοειδές μέσο όπως ο ιστός και, για την εφαρμογή της στο συγκεκριμένο πρόβλημα, τρεις παράμετροι έχουν πρωτεύοντα ρόλο:

1. Η απόσταση  $l_o$  μεταξύ των πλεγματικών σημείων.

2. Ο συντελεστής σκέδασης  $\mu_s$  του μέσου.
3. Ο συντελεστής απορρόφησης  $\mu_a$  του μέσου.

Οι αδιάστατες ακέραιες συντεταγμένες  $(x,y,z)$  του πλέγματος μπορούν να μετατραπούν σε φυσικές συντεταγμένες αν πολλαπλασιαστούν με την απόσταση  $l_0 : (xl_0, yl_0, zl_0)$ . Στο μοντέλο, ο τυχαίος περίπατος λαμβάνει χώρα σε διακριτό χρόνο  $n$  (δηλ.τα φωτόνια κάνουν βήματα μήκους  $l_0$  σε χρόνους  $n=1,2,3\dots$  και κάθε βήμα από ένα πλεγματοκό σημείο στο επόμενο γειτονικό αντιστοιχεί σε μια χρονική μονάδα) και τερματίζεται είτε όταν το φωτόνιο απορροφάται μέσα στον ιστό, είτε όταν το εκπεμπόμενο φωτόνιο φτάνει στην απορροφητική επιφάνεια  $z=0$ . Στο βήμα  $n=0$  το φωτόνιο βρίσκεται στο σημείο  $(0,0,1)$ . Ο αριθμός βήματος  $n$ , μπορεί να συσχετισθεί με τον φυσικό χρόνο  $t$ :  $n = c_T t / l_0 = l / l_0$  όπου  $c_T$  η ταχύτητα του φωτός στον ιστό και  $l$  το μήκος δρόμου. Υποθέτουμε ότι το φωτόνιο ταξιδεύει με σταθερή ταχύτητα, δηλαδή ο δείκτης διάθλασης δεν αλλάζει σημαντικά μέσα στον ιστό.

Στο μοντέλο αυτό, προβλέπεται και η μεταβλητότητα του αριθμού των επισκέψεων των φωτονίων στη θέση της φθοροφόρου μάζας, καθιστώντας το έτσι περισσότερο αληθοφανές.

Η απορρόφηση στο εσωτερικό του ιστού θεωρείται ότι ακολουθεί το νόμο του Beer και έτσι η πιθανότητα ο τυχαίος περίπατος να κάνει ένα μόνο βήμα χωρίς να απορροφηθεί ισούται με  $\exp(-\nu)$  όπου  $\nu = \mu_a \mu_s^{-1}$ . Οι τυπικές τιμές του  $\nu$  σε ανθρώπινο ιστό για κοντινό υπέρυθρο (NIR) μήκος κύματος ακτινοβολίας είναι γενικά αρκετά μικρές, της τάξης του 0.01.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, ένα προσπίπτον φωτόνιο απορροφάται μετά από ένα μόνο βήμα με πιθανότητα  $\{1 - \exp(-\nu_i)\}$ , όπου  $\nu_i = \mu_{ai} \mu_s^{-1}$ . Το  $\mu_s^{-1}$  είναι το μέσο μήκος ελεύθερης διαδρομής ή μέσο μήκος σκέδασης.

Μια παρόμοια υπόθεση μπορούμε να κάνουμε και για την απορρόφηση των εκπεμπόμενων από τη φθοροφόρο μάζα φωτονίων, μόνο που εδώ θα έχουμε  $\nu_e = \mu_{ae} \mu_s^{-1}$  αντί για  $\nu_i$  στον ορισμό της αντίστοιχης πιθανότητας.

Η πιθανότητα ένα προσπίπτον φωτόνιο να διαδοθεί για  $n$  βήματα χωρίς να συναντήσει τη φθοροφόρο μάζα και χωρίς να απορροφηθεί κατά τη διάρκεια της κίνησής του, είναι  $\exp(-n \nu_i)$ . Η αντίστοιχη πιθανότητα για το εκπεμπόμενο φωτόνιο είναι  $\exp(-n \nu_e)$ .

Ένα φωτόνιο εισάγεται στο μέσο τη χρονική στιγμή  $n=0$  στο σημείο  $r_0 = (0, 0, 1)$ . Η φθοροφόρος μάζα θεωρείται μερικώς απορροφητική και έτσι όταν το φωτόνιο φτάσει στο σημείο  $s = (x_f, y_f, z_f)$  έχει μια πιθανότητα να απορροφηθεί από τη φθοροφόρο μάζα, ίση με  $\eta = \{1 - \exp(-n \nu_f)\} \leq 1$  με  $\nu_f = \mu_{af} \mu_{sf}^{-1}$ .

Αν το φωτόνιο δεν απορροφηθεί από τη φθοροφόρο μάζα είναι ελεύθερο να διαδοθεί περαιτέρω και αργότερα να επιστρέψει στη φθοροφόρο μάζα. Η διάδοση του εκπεμπόμενου φωτονίου περιγράφεται επίσης σαν ένας ισοτροπικός τυχαίος περίπατος όπου το φωτόνιο ανιχνεύεται στην επιφάνεια, εκτός εάν απορροφηθεί νωρίτερα κατά την

πορεία του μέσα στον ιστό. Η διεγερμένη κατάσταση της φθοροφόρου μάζας έχει έναν πεπερασμένο χρόνο ζωής, δηλαδή υπάρχει μια χρονική καθυστέρηση μεταξύ της χρονικής στιγμής που το φωτόνιο που εισέρχεται στον ιστό και φτάνει στην φθοροφόρο μάζα, και της χρονικής στιγμής που ένα φωτόνιο εκπέμπεται ως αποτέλεσμα του φθορισμού. Έτσι έχουμε *τρία στάδια* που μεσολαβούν από την είσοδο του φωτονίου στον ιστό στην άφιξή του στον ανιχνευτή:

1. Το φωτόνιο κινείται από την πηγή  $r_0 = (0,0,1)$  στο φθοροφόρο και ακολουθεί αντίδραση διέγερσης (διέγερση φθοροφόρου). Το στάδιο αυτό διαρκεί  $n_1$  βήματα. Όταν  $\eta < 1$ , το φωτόνιο μπορεί να φτάσει στο σημείο του φθοροφόρου αρκετές φορές (τυχαίος αριθμός) πριν συμβεί μια αντίδραση διέγερσης.
2. Το φωτόνιο θεωρείται ότι καθυστερεί για  $n_2$  βήματα παραμένοντας στο σημείο του φθοροφόρου. Με αυτόν τον τρόπο, γίνεται η μοντελοποίηση του πεπερασμένου χρόνου ζωής της διεγερμένης κατάστασης του φθοροφόρου κατά τη διάρκεια μιας αντίδρασης διέγερσης.
3. Το εκπεμπόμενο λόγω φθορισμού φωτόνιο κινείται από το πλεγματοειδές σημείο όπου βρίσκεται το φθοροφόρο, σε ένα πλεγματοειδές σημείο που βρίσκεται μια μονάδα πλέγματος κάτω από την επιφάνεια του ιστού όπου γίνεται η ανίχνευση. Αυτή η κίνηση διαρκεί  $n_3$  βήματα.

Οι τιμές  $\{n_i\} = \{n_1, n_2, n_3\}$  είναι ακέραιες αφού αντιπροσωπεύουν αριθμό βημάτων στο πλέγμα. Ο αριθμός των συνολικών βημάτων που απαιτούνται από την είσοδο του φωτονίου μέχρι την καταγραφή του, είναι  $n = n_1 + n_2 + n_3 + 1$ . Η μονάδα εισάγεται για να ενσωματώσουμε και το τελευταίο βήμα από το εσωτερικό του ιστού σε ένα σημείο της επιφάνειάς του.

Τα παραπάνω στάδια μπορούν να περιγραφούν μαθηματικά με βάση τις παρακάτω τρεις πιθανότητες :

1.  $f_{n_1}^{(k)}(s | r_0)$  είναι η πιθανότητα το *προσπίπτον* φωτόνιο στο σημείο  $r_0$  να φτάσει στο σημείο  $s$  όπου βρίσκεται η φθοροφόρος μάζα για  $k$ -οστή φορά μετά από  $n_1$  βήματα (δηλαδή για  $k=1$  η παραπάνω πιθανότητα αντιστοιχεί στην πιθανότητα το φωτόνιο να βρεθεί στο σημείο της φθοροφόρου μάζας για πρώτη φορά, μετά από χρόνο  $n_1$ ).
2.  $\psi_{n_2}$  είναι η πιθανότητα κατά τη διάρκεια μιας διέγερσης να υπάρχει μια *καθυστέρηση* για ακριβώς  $n_2$  βήματα που αντιστοιχεί στο χρόνο ζωής της φθοροφόρου μάζας, στη διάρκεια δηλαδή της διεγερμένης κατάστασης. Με μικρή απώλεια της γενικότητας, επιλέγουμε τη γεωμετρική κατανομή για αυτήν την πιθανότητα. Άρα θα έχουμε  $\psi_{n_2} = (1-\theta)\theta^{n_2-1}$ ,  $\theta \leq 1$ ,  $n_2 = 1,2,3,\dots$ , όπου  $\theta$  είναι ένας

αριθμός μεταξύ του 0 και του 1. Η μέση διάρκεια της διεγερμένης κατάστασης θα είναι λοιπόν  $\langle n_2 \rangle = (1 - \theta)^{-1}$ . Μετατρέποντας το  $\langle n_2 \rangle$  σε φυσικές μονάδες, μπορούμε να βρούμε τον μέσο χρόνο ζωής του φθοροφόρου.

3.  $p_{n_3}(r|s)$  είναι η πιθανότητα ένα εκπεμπόμενο φωτόνιο από το σημείο  $s$  να καταλήξει στο σημείο  $r$  έπειτα από  $n_3$  βήματα. Αυτή η συνάρτηση είναι το διακριτό ανάλογο της συνεχούς συνάρτησης Green που προκύπτει από την προσέγγιση διάχυσης. Θα δούμε ότι εάν η γεννήτρια συνάρτηση (generating function) της  $p_{n_3}(r|s)$  είναι γνωστή, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τον σχηματισμό μιας έκφρασης για τις γεννήτριες συναρτήσεις της  $f_{n_1}^{(k)}(s|r_0)$ .

### Ο διαδότης (propagator) σε διακριτό χρόνο

Ορίζουμε  $g_n(r|r_0)$  να είναι η πιθανότητα ένα φωτόνιο που εισέρχεται στο  $r_0$  σε  $n=0$ , να παράγει ένα εκπεμπόμενο φωτόνιο που τελικά φτάνει στην επιφάνεια στο  $r = (x, y, 0)$  στο βήμα  $n$  και ανιχνεύεται. Η συνάρτηση  $g_n(r|r_0)$  μπορεί να εκφραστεί σε όρους των πιθανοτήτων  $f_{n_1}^{(k)}(s|r_0)$ ,  $\psi_{n_2}$  και  $p_{n_3}(r|s)$ , σύμφωνα με τη σχέση:

$$g_n(r|r_0) = \frac{\Phi \eta}{6} \sum_{k=1}^{\infty} \sum_{n_1, n_2, n_3} (1 - \eta)^{k-1} f_{n_1}^{(k)}(s|r_0) \psi_{n_2} p_{n_3}(x, y, 1|s) \quad (7.1)$$

όπου οι τιμές  $\{n_i\} = n_1, n_2, n_3$  ικανοποιούν, όπως επισημάνθηκε και προηγουμένως, τη συνθήκη  $n_1 + n_2 + n_3 = n - 1$ . Η παράμετρος  $\Phi$ , όπως είδαμε και στην Παράγραφο 3.2, είναι η πιθανότητα ένα διεγερμένο φθοροφόρο να εκπέμψει ένα φωτόνιο ή αλλιώς η κβαντική απόδοση (για φθορισμό από βιολογικά δείγματα το  $\Phi$  είναι γενικά πολύ μικρότερο από τη μονάδα). Η Εξίσωση 7.1 αφορά φωτόνια που φτάνουν στο φθοροφόρο για  $k$ -οστή φορά μετά από  $n_1$  βήματα με τις πρώτες  $k - 1$  αντιδράσεις να είναι ανίκανες για διέγερση (από όπου προκύπτει ο παράγοντας  $(1 - \eta)^{k-1}$ ) και στην  $k$ -οστή να εκπέμπεται ένα φωτόνιο (από όπου προκύπτει ο παράγοντας  $\eta$ ). Η καθυστέρηση κατά τη διάρκεια μιας διέγερσης διαρκεί  $n_2$  βήματα και το εκπεμπόμενο φωτόνιο φτάνει στο  $(x, y, 1)$  στο βήμα  $n_3$ . Τέλος, στο  $n$ -οστό βήμα, το φωτόνιο εξέρχεται, με πιθανότητα  $1/6$ , στην επιφάνεια  $z=0$ . Αυτό γιατί κάθε βήμα μπορεί να πραγματοποιηθεί σε μια συγκεκριμένη πλευρά από τις έξι του τρισδιάστατου κυβικού πλέγματος.

Η Εξίσωση 7.1 μπορεί να απλοποιηθεί ως ένα βαθμό, με τη βοήθεια γεννητριών συναρτήσεων των συναρτήσεων που εμφανίζονται μέσα σε αυτήν. Μια γεννήτρια συνάρτηση μπορεί να θεωρηθεί ως το διακριτό ανάλογο ενός μετασχηματισμού Laplace.



Ορίζουμε το μετασχηματισμό Laplace της γεννήτριας συνάρτησης μιας ακολουθίας  $\{h_n\}$ :

$$\hat{h}_\xi = \sum_{n=0}^{\infty} h_n \exp(-\xi n) \quad (7.2)$$

και ο οποίος εφαρμόζεται σε όλες της συναρτήσεις της Εξίσωσης 7.1. Έτσι, έχουμε τους παρακάτω μετασχηματισμούς:

$$\begin{aligned} f_{n_1}^{(k)}(s | r_0) &\rightarrow \hat{f}_\xi^{(k-1)}(s | r_0) \\ \psi_{n_2} &\rightarrow \hat{\psi}_\xi \\ p_{n_3}(x, y, 1 | s) &\rightarrow \hat{p}_\xi(x, y, 1 | s) \end{aligned}$$

και η Εξίσωση 7.1 τελικά παίρνει τη μορφή:

$$\hat{g}_\xi(r | r_0) = \frac{\Phi \eta}{6} \exp(-\xi) \hat{\psi}_\xi \hat{p}_\xi(x, y, 1 | s) \sum_{k=1}^{\infty} (1-\eta)^{k-1} \hat{f}_\xi^{(k-1)}(s | r_0). \quad (7.3)$$

Εφαρμόζοντας το μετασχηματισμό Laplace στην  $\psi_{n_2} = (1-\theta)\theta^{n_2-1}$  θα είναι  $\hat{\psi}_\xi = \sum_{n_2=0}^{\infty} \psi_{n_2} \exp(-\xi n_2) = \sum_{n_2=1}^{\infty} (1-\theta)\theta^{n_2-1} \exp(-\xi n_2) = \frac{1-\theta}{e^\xi - \theta}$  γιατί η  $\psi_{n_2}$  ακολουθεί τη γεωμετρική κατανομή. Για την περίπτωση όπου το  $\langle n_2 \rangle$  είναι μεγάλο, το αντίστοιχο  $\xi$  του μετασχηματισμού Laplace θα είναι μικρό, και τότε το  $\hat{\psi}_\xi$  γίνεται προσεγγιστικά  $\frac{1}{1 + \xi \langle n_2 \rangle}$ . Αργότερα, όταν όλες οι διακριτές συναρτήσεις μετασχηματιστούν σε φυσικές μονάδες έτσι που η παράμετρος  $\xi$  αντικατασταθεί με το ισοδύναμό της σε όρους της συχνότητας  $\omega$ , θα έχουμε την αντικατάσταση

$$\hat{\psi}_\xi \rightarrow \hat{\Psi}_\omega \equiv 1/1(-i\omega\tau). \quad (7.4)$$

Ο μετασχηματισμός Laplace για την  $f_n^{(k)}(s | r_0)$  θα δώσει τη γεννήτρια συνάρτηση  $\hat{f}_\xi^{(k-1)}(s | r_0)$  όπου

$$\hat{f}_\xi^{(k)}(s | r_0) = \left( 1 - \frac{1}{\hat{p}_\xi(s | s)} \right)^{k-1} \frac{\hat{p}_\xi(s | r_0)}{\hat{p}_\xi(s | s)}. \quad (7.5)$$

Η μορφή του  $\hat{f}_\xi^{(k)}(s|r_0)$  μας επιτρέπει να γράψουμε τη σειρά που εμφανίζεται στην Εξίσωση 7.2 σε κλειστή μορφή και οδηγεί στην παρακάτω μορφή της γεννήτριας συνάρτησης του διαδότη:

$$\hat{g}_\xi(r|r_0) = \frac{\Phi \eta \exp(-\xi - \nu_e) \hat{\psi}_\xi \hat{p}_{\xi+\nu_i}(s|r_0) \hat{p}_{\xi+\nu_e}(x, y, 1|s)}{6[1 - \eta + \eta \hat{p}_{\xi+\nu_i}(s|s)]}. \quad (7.6)$$

Οι συναρτήσεις  $\hat{p}$  εμφανίζονται με δείκτες  $\xi + \nu_i$  ή  $\xi + \nu_e$  που σημαίνει ότι συνεισφέρουν σε πιθανή εσωτερική απορρόφηση και για τα προσπίπτοντα και για τα εκπεμπόμενα φωτόνια. Μπορούμε τώρα να προσεγγίσουμε τη συνάρτηση  $\hat{p}_\xi(s|s)$  που εμφανίζεται στον παρονομαστή της Εξίσωσης 7.5 ως εξής [5]

$$\hat{p}_\xi(s|s) \approx 1 + \frac{1}{8} \left( \frac{3}{\pi} \right)^{3/2} \sum_{m=1}^{\infty} \frac{\exp(-2m\xi)}{m^{3/2}}. \quad (7.7)$$

Παρ' όλο που υπάρχουν όροι ανώτερης τάξης στην ακριβή αναπαράσταση της  $\hat{p}_\xi(s|s)$ , δε θα χρησιμοποιηθούν στην ανάλυση που ακολουθεί.

### Μετασχηματισμός στις φυσικές μεταβλητές

Παρ' όλο που η χρησιμοποίηση διακριτών μεταβλητών απλοποιεί μεγάλο μέρος της ανάλυσης, θα ήταν προφανώς επιθυμητό να μετατραπούν τα τελικά αποτελέσματα σε όρους περισσότερο οικείων φυσικών μεταβλητών. Έτσι εκτελούμε τις παρακάτω αντικαταστάσεις:

$$\nu \rightarrow \frac{\mu_\alpha}{\mu'_s}, \quad \xi \rightarrow -\frac{i\omega}{\mu'_s c}, \quad x \rightarrow \frac{\bar{x}\mu'_s}{\sqrt{2}}, \quad \nu_f \rightarrow \frac{\mu_{af}}{\mu'_{sf}}, \quad (7.8)$$

όπου

$\mu_\alpha$  και  $\mu'_s$ , αντίστοιχα, ο συντελεστής απορρόφησης και ο μειωμένος συντελεστής σκέδασης του μέσου (των σημείων του πλέγματος εκτός από αυτό που περιέχει το φθοροφόρο),

$\omega$  η συχνότητα διαμόρφωσης (modulation frequency),

$c$  η ταχύτητα του φωτός,

$\bar{x}, \bar{y}, \bar{z}$  αποστάσεις εκφρασμένες σε φυσικές μονάδες και

$\mu_{af}, \mu'_{sf}$ , αντίστοιχα, ο συντελεστής απορρόφησης και ο μειωμένος συντελεστής σκέδασης στο σημείο του φθοροφόρου.

Από τη στιγμή που θεωρούμε εδώ ότι το μέγεθος της φθοροφόρου μάζας είναι μικρότερο από  $\left(\frac{\sqrt{2}}{\mu'_{sf}}\right)^3$ , σε μια πρώτη προσέγγιση, τα  $\mu_{af}$  και  $\mu'_{sf}$  θα είναι:

$$\mu_{af} = \nu \left(\frac{\mu'_{si}}{\sqrt{2}}\right)^3 \mu_{af}^0 + [1 - \nu \left(\frac{\mu'_{si}}{\sqrt{2}}\right)^3] \mu_{ai},$$

$$\mu'_{sf} = \nu \left(\frac{\mu'_{si}}{\sqrt{2}}\right)^3 (\mu_{sf}^0)' \mu_{af}^0 + [1 - \nu \left(\frac{\mu'_{si}}{\sqrt{2}}\right)^3] \mu'_{si},$$

όπου  $\mu_{af}^0$  και  $(\mu_{sf}^0)'$  οι συντελεστές για το ομογενές συμπαγές φθοροφόρο και  $\nu$  ο όγκος που καταλαμβάνεται από την πραγματική φθοροφόρο μάζα.

Βασιζόμενοι στη μέθοδο των εικόνων μπορούμε να παράγουμε ακριβείς εκφράσεις για τις δύο γεννήτριες συναρτήσεις  $\hat{p}_\xi(s|r_0)$  και  $\hat{p}_\xi(x,y,1|s)$  για την περίπτωση μιας μοναδικής συνοριακής επιφάνειας. Αποδεικνύεται ότι

$$\hat{p}_\xi(s|r_0) = F(a_1, \xi + \nu_i) - F(a_2, \xi + \nu_i), \quad (7.9)$$

όπου

$$F(a,b) = \frac{3}{2\pi\sqrt{a}} \exp[-6\sqrt{ab}] \quad (7.10)$$

και

$$a_{1,2} = |s \pm r_0|^2. \quad (7.11)$$

Για να βρεθεί η έκφραση για το  $\hat{p}_\xi(x,y,1|s)$ , αντικαθιστούμε στην Εξίσωση 7.9 το  $r_0$  με το διάνυσμα  $(x,y,1)$ .

Η χρησιμοποίηση των παραπάνω, μαζί με την προσέγγιση που περιγράφει η Εξίσωση 7.7, μας επιτρέπουν να βρούμε μια έκφραση για την γεννήτρια συνάρτηση  $\hat{g}_\xi(r|r_0)$ . Η ισοδύναμη συνάρτηση γραμμένη με όρους των φυσικών μεταβλητών,  $\Gamma(\omega, \bar{r})$ , έχει την παρακάτω έκφραση:

$$\Gamma(\omega, \bar{r}) = \frac{\Phi \eta [H(\alpha_-, \beta_-) - H(\alpha_-, \beta_+) - H(\alpha_+, \beta_-) + H(\alpha_+, \beta_+)] \exp\left[\frac{i\omega}{\mu'_{s} c} - \left(\frac{\mu_{ae}}{\mu'_{se}}\right)\right]}{(1 - i\omega\tau)(1 - \eta + \eta \left\{ 1 + \frac{1}{8} \left(\frac{3}{\pi}\right)^{\frac{3}{2}} \sum_{m=1}^{\infty} \frac{1}{m^{\frac{3}{2}}} \exp\left[-2m \left(\frac{\mu_{ai}}{\mu'_{si}} - i \frac{\omega}{\mu'_{si} c}\right)\right]\right\})} \quad (7.12)$$

όπου

$$H(\alpha, \beta) = \frac{1}{\sqrt{\alpha\beta}} \exp\left\{-2 \left[ \sqrt{\alpha \frac{\mu_{ai}}{\mu'_{si}} - i \frac{\omega}{\mu'_{si} c}} + \sqrt{\beta \frac{\mu_{ae}}{\mu'_{se}} - i \frac{\omega}{\mu'_{se} c}} \right]\right\} \quad (7.13)$$

στην οποία,

$$\alpha_{\pm} = \frac{3}{4} [(\bar{x}_f + \bar{y}_f + (\bar{z}_f \pm \bar{z}_0)^2) \mu'_{si}]^2$$

$$\beta_{\pm} = \frac{3}{4} [(\bar{x}_f - \bar{x}_0)^2 + (\bar{y}_f - \bar{y}_0)^2 + (\bar{z}_f + \bar{z}_0 \pm \bar{z}_0)] \mu'^2_{se} \quad (7.14)$$

με το  $\bar{z}_0$  να είναι το μήκος που ισοδυναμεί με μία πλεγματική απόσταση, δηλ.  $\bar{z}_0 = l_0 = \sqrt{2} \mu'^{-1}_s$ .

Από τη στιγμή που το  $\Gamma(\omega, \bar{r})$  είναι μιγαδική ποσότητα, η έκφραση που δίνεται από την Εξίσωση 7.12, παρέχει δύο μετρήσιμες ποσότητες: το μέτρο του διαμορφωμένου φωτός,  $A(\omega, \bar{r})$ , και την αντίστοιχη μετατόπιση φάσης  $\theta(\omega, \bar{r})$ :

$$A(\omega, \bar{r}) = \left[ \text{Re}\{\Gamma(\omega, \bar{r})\}^2 + \text{Im}\{\Gamma(\omega, \bar{r})\}^2 \right]^{1/2}$$

$$\theta(\omega, \bar{r}) = \tan^{-1} \left[ \frac{\text{Im}\Gamma(\omega, \bar{r})}{\text{Re}\Gamma(\omega, \bar{r})} \right]. \quad (7.15)$$

Η εξίσωση που περιγράφει την πιθανότητα η φθοροφόρος μάζα να απορροφήσει το προσπίπτον φωτόνιο και να αποδιεγερθεί εκπέμποντας ένα φωτόνιο που τελικά φτάνει στον ανιχνευτή, περιγράφεται τελικά από την παρακάτω σχέση (αγνοήθηκαν οι παύλες στις φυσικές συντεταγμένες):

:

$$\Gamma(r, s) = \frac{\Phi \frac{\mu_{af}}{\mu'_{sf}} [H(\alpha_-, \beta_-) - H(\alpha_-, \beta_+) - H(\alpha_+, \beta_-) + H(\alpha_+, \beta_+)] \exp\left(-\frac{\mu_{ae}}{\mu'_{se}}\right)}{\left\{ 1 - \frac{\mu_{af}}{\mu'_{sf}} + \frac{\mu_{af}}{\mu'_{sf}} \left[ 1 + \frac{1}{8} \left(\frac{3}{\pi}\right)^{\frac{3}{2}} \sum_{m=1}^{\infty} \frac{1}{m^{\frac{3}{2}}} \exp\left(-2m \frac{\mu_{ai}}{\mu'_{si}}\right) \right] \right\}} \quad (7.16)$$

όπου,

$$H(a, \beta) = \frac{1}{\sqrt{\alpha\beta}} \exp\{-2[\sqrt{\alpha} \frac{\mu_{ai}}{\mu'_{si}} + \sqrt{\beta} \frac{\mu_{ae}}{\mu'_{se}}]\} \quad (7.17)$$

με

$$\alpha_{\pm} = \frac{3}{4} [(x_f^2 + y_f^2 + (z_f^2 \pm \frac{\sqrt{2}}{\mu'_{si}})^2) \mu'_{si}{}^2]$$

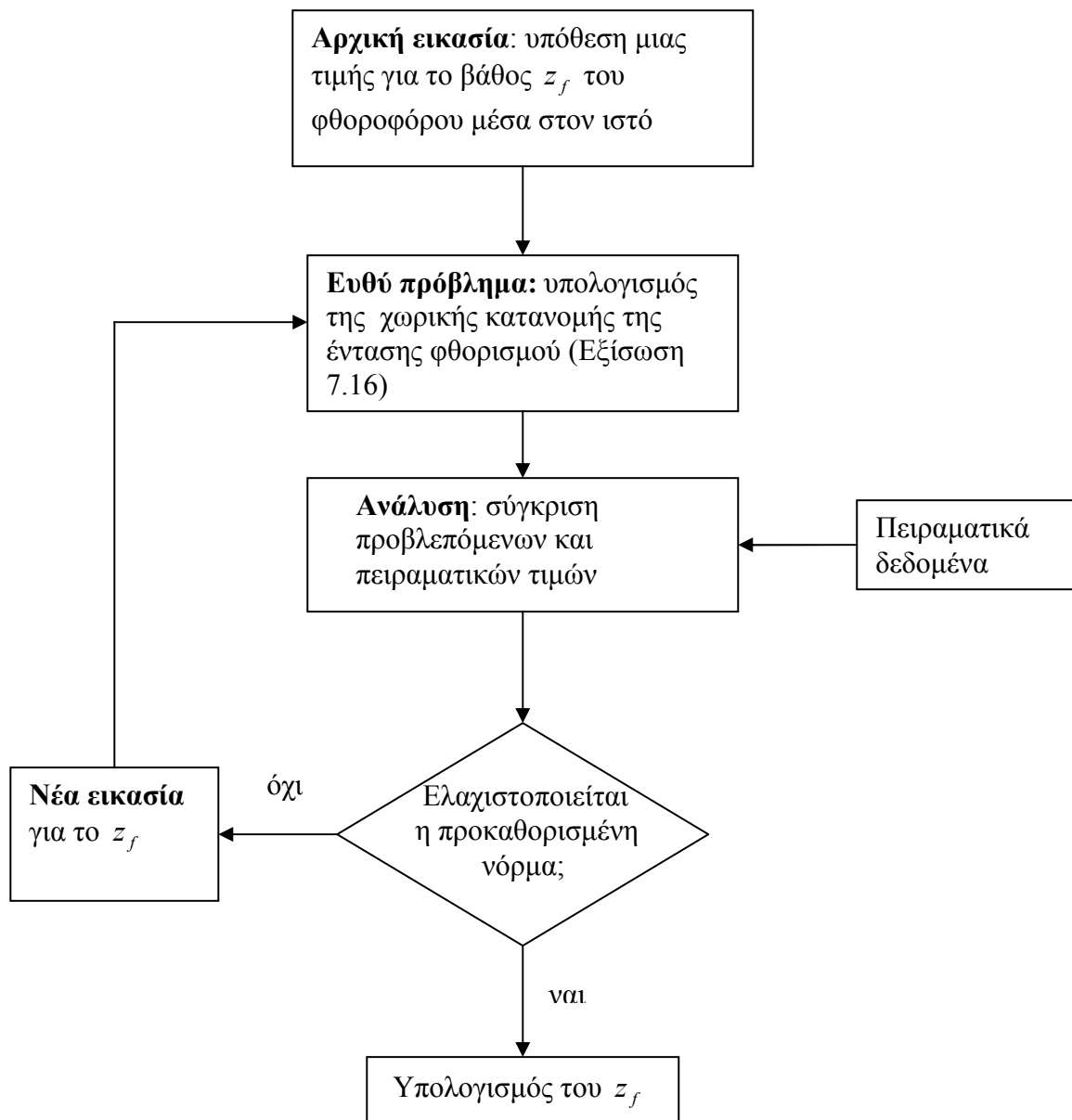
$$\beta_{\pm} = \frac{3}{4} [(x_f - x)^2 + (y_f - y)^2 + (z_f^2 + \frac{\sqrt{2}}{\mu'_{se}} \pm \frac{\sqrt{2}}{\mu'_{se}})^2] \mu'_{se}{}^2 \quad (7.18)$$

Οι παράμετροι της Εξίσωσης 7.16 είναι:

- Οι συντεταγμένες του φθοροφόρου:  $(x_f, y_f, z_f)$
- Οι οπτικές παράμετροι του μέσου:  $\mu_{ai}, \mu_{ae}, \mu'_{se}, \mu'_{si}$
- Οι οπτικές παράμετροι του φθοροφόρου:  $\mu_{af}, \mu_{sf}$
- Η κβαντική απόδοση του φθοροφόρου:  $\Phi$

Η επίλυση του αντιστρόφου προβλήματος, τώρα μπορεί να γίνει μέσω της μεθόδου της παραμετρικής αναπαράστασης που εξηγήθηκε με τη βοήθεια του παραδείγματος της ηχητικής συσκευής, στην Παράγραφο 6.7. Η εύρεση της Εξίσωσης 7.16 (ευθύ πρόβλημα) μας δίνει τιμές της χωρικής κατανομής της έντασης φθορισμού οι οποίες αποτελούν τις προβλεπόμενες τιμές  $y_i^{<pred>}$ . Αν είναι άγνωστη μία ή περισσότερες παράμετροι της εξίσωσης, αυτή μπορεί να βρεθεί ξεκινώντας από μια αρχική εικάσια για την τιμή της παραμέτρου. Συγκρίνοντας τις τιμές  $y^{<pred>}$  με τις πειραματικές τιμές για την ένταση φθορισμού  $y^{<meas>}$ , τροποποιούμε κάθε φορά την εκτίμηση ώσπου οι μετρούμενες και προβλεπόμενες τιμές να ελαχιστοποιήσουν κάποια νόρμα σφάλματος (αντίστροφο πρόβλημα). Με άλλα λόγια, το πρόβλημα είναι η εύρεση των κατάλληλων παραμέτρων που θα οδηγήσουν στη βέλτιστη προσαρμογή της θεωρητικής καμπύλης με τα πειραματικά δεδομένα.

Ο αλγόριθμος εύρεσης του βάθους  $z_f$  παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.3. Ο αλγόριθμος μπορεί να γενικευτεί βέβαια και για πάνω από μία παραμέτρους της εξίσωσης.



**Εικόνα 7.3.** Ο αλγόριθμος για το αντίστροφο πρόβλημα εύρεσης του βάθους  $z_f$  του φοροφόρου.

## 7.2. ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΟΥ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΟΣ

Στο κεφάλαιο αυτό θα παρουσιαστεί η υπολογιστική αντιμετώπιση του αντιστρόφου προβλήματος με αριθμητικά αποτελέσματα. Το πρόβλημα δε θα διακριτοποιηθεί ώστε να γραφεί με μορφή πινάκων και να επιλυθεί με τις αναλυτικές μεθόδους που περιγράφηκαν στο Κεφ.6. Είδαμε ότι η δυσκολία έγκειται στη φύση του ιστού (τυρβοειδές μέσο) και στη φύση της εκπομπής φθορισμού που οδηγούν σε πιθανοκρατικές πορείες των φωτονίων με αποτέλεσμα την πολύπλοκη Εξίσωση 7.16.

Η υπολογιστική αντιμετώπιση του αντιστρόφου προβλήματος θα γίνει με το πρόγραμμα Mathematica. Το Mathematica είναι ένα λογισμικό πακέτο για υψηλής απόδοσης αριθμητικούς υπολογισμούς (numerical computations). Παρέχει στο χρήστη ένα διαδραστικό περιβάλλον με χιλιάδες ενσωματωμένες συναρτήσεις (functions), κατάλληλες για την υλοποίηση απαιτητικών υπολογιστικών αναλύσεων και γραφημάτων. Επίσης, ο χρήστης έχει τη δυνατότητα να αναπτύξει τις δικές του συναρτήσεις και να τις χρησιμοποιήσει σε αλγορίθμους.

### 7.2.1 Βασικά χαρακτηριστικά της θεωρητικής εξίσωσης του μοντέλου

Χρησιμοποιώντας το Mathematica θα απεικονιστούν γραφικά τα προφίλ της έντασης φθορισμού που προβλέπει η Εξίσωση 7.16, ώστε να κατανοηθούν ορισμένα βασικά χαρακτηριστικά της. Μέσα σε πλαίσια παρουσιάζονται οι αντίστοιχες εντολές που εκτελέσαμε στο Mathematica.

#### *Το μέγιστο της Εξίσωσης 7.16*

Στις Εικόνες 7.4 και 7.5 φαίνεται η δισδιάστατη απεικόνιση της Εξίσωσης 7.16 για  $z = 0$ , και με τυχαίες (αλλά φυσικώς αποδεκτές) τιμές για τις οπτικές παραμέτρους και για τις συντεταγμένες της φθοροφόρου μάζας. Θεωρήσαμε ότι  $\mu_{ai} = 0.01 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu_{ae} = 0.005 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{si} = 3 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{se} = 1.5 \text{ mm}^{-1}$  και ότι η φθοροφόρος μάζα βρίσκεται σε βάθος  $z_f = 2 \text{ mm}$ . Στην Εικόνα 7.4 η θέση του φθοροφόρου στο επίπεδο  $xy$  είναι  $(x_f, y_f) = (2, 0) \text{ mm}$  ενώ στην Εικόνα 7.5  $(x_f, y_f) = (1, 1) \text{ mm}$ .

Είναι αμέσως φανερό η μορφή «καμπάνας» που παρουσιάζει η χωρική κατανομή της έντασης φθορισμού. Σε κάθε περίπτωση, η Εξίσωση 7.16 προβλέπει ότι το μέγιστο της έντασης της κατανομής βρίσκεται στο σημείο του επιπέδου  $xy$  (στην επιφάνεια του μέσου) όπου βρίσκεται η φθοροφόρος μάζα  $(x_f, y_f)$ . Το σημείο λοιπόν που ανιχνεύεται η μέγιστη ένταση φθορισμού, πάντα βρίσκεται ακριβώς πάνω από το σημείο όπου βρίσκεται η φθοροφόρος μάζα.

Αυτό το συμπέρασμα είναι αναμενόμενο: η απόσταση μεταξύ του φθοροφόρου και ενός ανιχνευτή στην επιφάνεια, θα είναι η ελάχιστη όταν ο ανιχνευτής βρίσκεται ακριβώς πάνω από το φθοροφόρο και ως αποτέλεσμα η πιθανότητα απορρόφησης ενός φωτονίου θα είναι η μικρότερη δυνατή.

Ορίζουμε τη συνάρτηση στο Mathematica:

```
g[xf_, yf_, zf_, x_, y_, z_, mse_, mae_, mai_, msi_] :=
(h[a2[xf, yf, zf, msi], b2[xf, yf, zf, x, y, mse], mse, mae, mai, msi] -
h[a2[xf, yf, zf, msi], b1[xf, yf, zf, x, y, mse], mse, mae, mai, msi] -
h[a1[xf, yf, zf, msi], b2[xf, yf, zf, x, y, mse], mse, mae, mai, msi] +
h[a1[xf, yf, zf, msi], b1[xf, yf, zf, x, y, mse], mse, mae, mai, msi]) *
Exp[-(mae/mse)] / Sum[(1/m^(3/2)) * Exp[-2*m*mai/msi], {m, 1, Infinity}]

a1[xf_, yf_, zf_, msi_] := (3/4) * (xf^2 + yf^2 + (zf + (2^(1/2))/msi)^2) * (msi^2)
a2[xf_, yf_, zf_, msi_] := (3/4) * (xf^2 + yf^2 + (zf - (2^(1/2))/msi)^2) * (msi^2)

b1[xf_, yf_, zf_, x_, y_, mse_] :=
(3/4) * ((xf-x)^2 + (yf-y)^2 + (zf + 2*(2^(1/2))/mse)^2) * (mse^2)
b2[xf_, yf_, zf_, x_, y_, mse_] :=
(3/4) * ((xf-x)^2 + (yf-y)^2 + (zf)^2) * (mse^2)

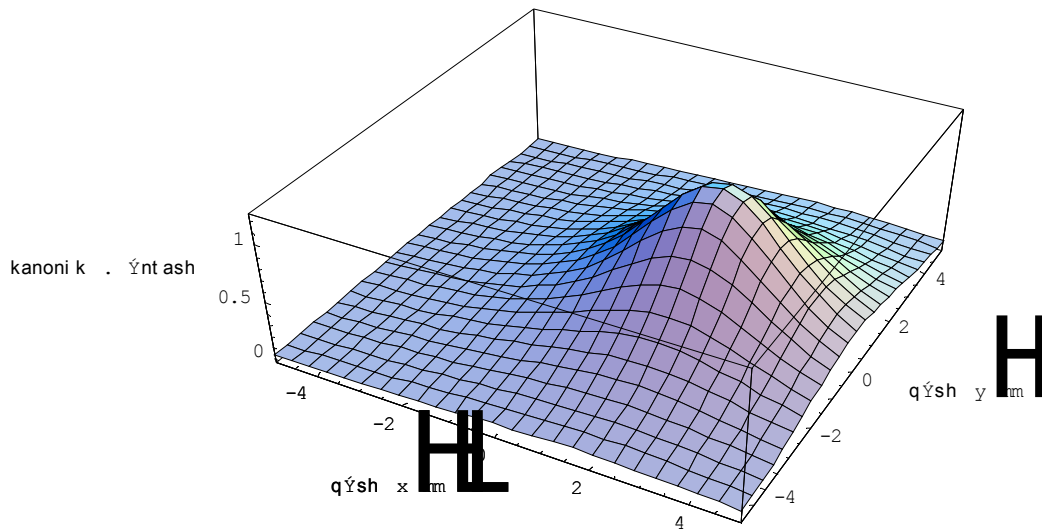
h[a_, b_, mse_, mae_, mai_, msi_] :=
((a*b)^(-1/2)) * Exp[-2*((a*mai/msi)^(1/2) + (b*mae/mse)^(1/2))]

g[xf_, yf_, zf_, x_, y_, z_, mse_, mae_, mai_, msi_] :=
(h[a2[xf, yf, zf, msi], b2[xf, yf, zf, x, y, mse], mse, mae, mai, msi] -
h[a2[xf, yf, zf, msi], b1[xf, yf, zf, x, y, mse], mse, mae, mai, msi] -
h[a1[xf, yf, zf, msi], b2[xf, yf, zf, x, y, mse], mse, mae, mai, msi] +
h[a1[xf, yf, zf, msi], b1[xf, yf, zf, x, y, mse], mse, mae, mai, msi]) *
Exp[-(mae/mse)] / Sum[(1/m^(3/2)) * Exp[-2*m*mai/msi], {m, 1, Infinity}]
```

Εκτελούμε τις αντίστοιχες γραφικές παραστάσεις της συνάρτησης αφού τις κανονικοποιήσουμε:

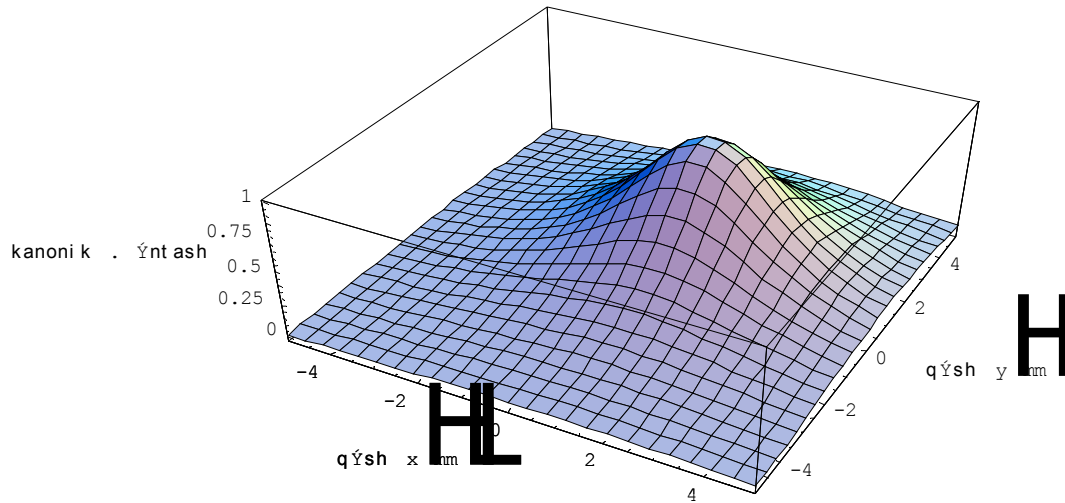
```
Plot3D[g[xf=2, yf=0, zf=2, x, y, z=0, mse=1.5, mae=0.005, mai=0.001, msi=3] / g[xf=
2, yf=0, zf=2, 2, 0, z=0, mse=1.5, mae=0.005, mai=0.001, msi=3], {x, -5, 5}, {y, -
5, 5}, AxesLabel -> {"θ•ση x (mm)", "θ•ση y (mm)", "κανονικ. •νταση"}]
```





**Εικόνα 7.4.** Γραφική απεικόνιση της κανονικοποιημένης έντασης φθορισμού. Το φθοροφόρο βρίσκεται στο σημείο  $(x_f, y_f) = (2, 0)$  mm του επιπέδου xy και σε βάθος  $z_f = 2$  mm. Θεωρήθηκε  $\mu_{ai} = 0.01 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu_{ae} = 0.005 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{si} = 3 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{se} = 1.5 \text{ mm}^{-1}$

```
Plot3D[g[xf=1,yf=1,zf=2,x,y,z=0,mse=1.5,mae=0.005,mai=0.001,msi=3]/g[xf=1,yf=1,zf=2,1,1,z=0,mse=1.5,mae=0.005,mai=0.001,msi=3],{x,-5,5},{y,-5,5},AxesLabel->{"θ•ση x (mm)","θ•ση y (mm)","κανονικ. ένταση"}]
```



**Εικόνα 7.5.** Γραφική απεικόνιση της κανονικοποιημένης έντασης φθορισμού. Εδώ το φθοροφόρο βρίσκεται στο σημείο  $(x_f, y_f) = (1,1)$  mm και σε βάθος  $z_f = 2$  mm. Θεωρήθηκε  $\mu_{ai} = 0.01 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu_{ae} = 0.005 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{si} = 3 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{se} = 1.5 \text{ mm}^{-1}$ .

Για καλύτερη οπτικοποίηση του προβλήματος, από εδώ και στο εξής θα χρησιμοποιούμε διατομές της κατανομής που περνάνε από το μέγιστο. Θα εξεταστεί η περίπτωση ανίχνευσης μόνο κατά τον άξονα  $x$ . Η ανίχνευση κατά τον  $y$ , λόγω συμμετρίας, δεν παρουσιάζει διαφορές. Για ανίχνευση λοιπόν πάνω στον άξονα  $x$ , το μέγιστο της κατανομής της έντασης, όπως είδαμε, θα βρίσκεται πάντα στο  $(x, y) = (x_f, y_f)$ . Θα θεωρείται επίσης ότι  $y = y_f = 0$ , δηλαδή η ανίχνευση γίνεται πάνω στην ευθεία  $(x, 0, 0)$  της διαχωριστικής επιφάνειας.

### ***Εξάρτηση της μορφής της κατανομής έντασης φθορισμού από το βάθος του φθοροφόρου και τις οπτικές παραμέτρους***

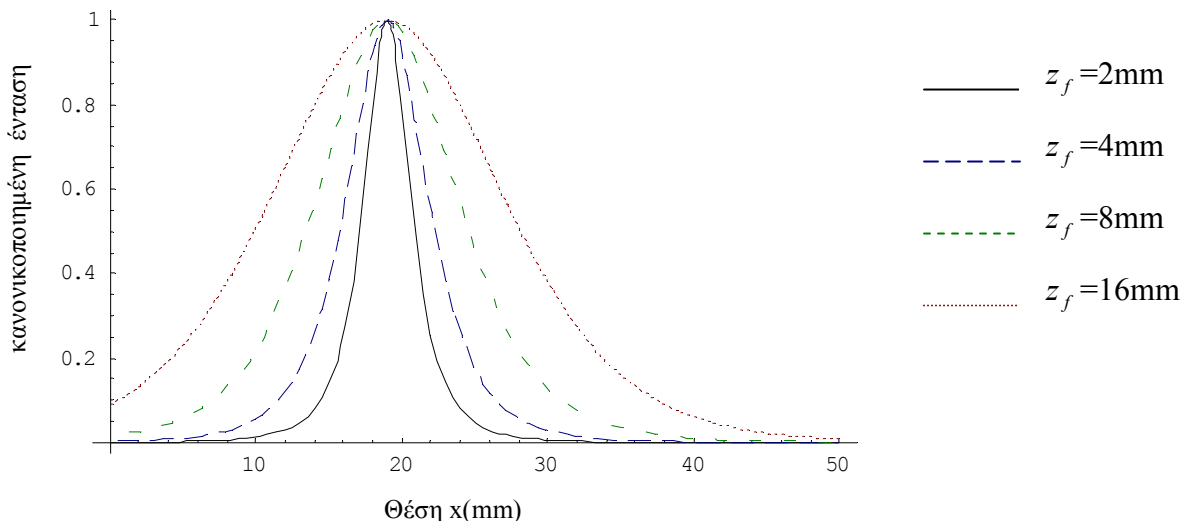
Θα δούμε ότι η μορφή της κατανομής της εκπεμπόμενης έντασης φθορισμού, εξαρτάται σημαντικά από το βάθος της φθοροφόρου μάζας σε αντίθεση με τη μικρότερη εξάρτηση

που παρουσιάζει από τις οπτικές παραμέτρους (συντελεστές σκέδασης και απορρόφησης) του μέσου.

Στην Εικόνα 7.6 μπορούμε να διαπιστώσουμε την εξάρτηση του χωρικού εύρους της κατανομής που προβλέπει η Εξίσωση 7.16 από το βάθος ( $z_f = 2, 4, 8, 16$  mm), θεωρώντας αρχικές τιμές για τις οπτικές παραμέτρους του ιστού τις εξής:  $\mu_{ai} = 0.001 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu_{ae} = 0.005 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{si} = 3.0 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{se} = 2.0 \text{ mm}^{-1}$ . Θεωρούμε επίσης τις συντεταγμένες του σημείου όπου βρίσκεται η φθοροφόρος μάζα να είναι  $(x_f, y_f) = (19, 0)$  mm.

Εκτελούμε στο Mathematica τις γραφικές παραστάσεις των συναρτήσεων αφού τις κανονικοποιήσουμε:

```
Plot[{
g[xf=19, yf=0, zf=2, x, y=0, z=0, mse=2, mae=0.005, mai=0.001, msi=3]/
g[xf=19, yf=0, zf=2, 19, y=0, z=0, mse=2, mae=0.005, mai=0.001, msi=3],
g[xf=19, yf=0, zf=4, x, y=0, z=0, mse=2, mae=0.005, mai=0.001, msi=3]/
g[xf=19, yf=0, zf=4, 19, y=0, z=0, mse=2, mae=0.005, mai=0.001, msi=3],
g[xf=19, yf=0, zf=8, x, y=0, z=0, mse=2, mae=0.005, mai=0.001, msi=3]/
g[xf=19, yf=0, zf=8, 19, y=0, z=0, mse=2, mae=0.005, mai=0.001, msi=3],
g[xf=19, yf=0, zf=16, x, y=0, z=0, mse=2, mae=0.005, mai=0.001, msi=3]/
g[xf=19, yf=0, zf=16, 19, y=0, z=0, mse=2, mae=0.005, mai=0.001, msi=3]},
{x, 0, 50},
PlotStyle->{{RGBColor[0, 0, 0]},
{RGBColor[0, 0, 0.5], AbsoluteDashing[{10, 5]}],
{RGBColor[0, 0.5, 0], AbsoluteDashing[{5, 10]}],
{RGBColor[0.5, 0, 0], AbsoluteDashing[{1, 2]}}}]
```



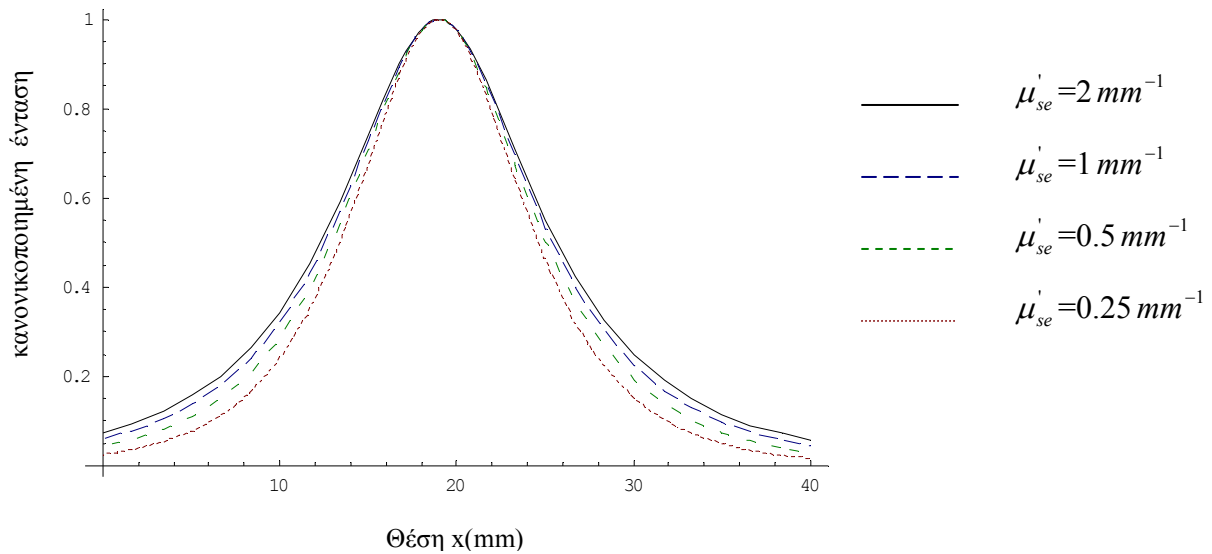
**Εικόνα 7.6.** Χωρική κατανομή της έντασης φθορισμού σαν συνάρτηση του βάθους του φθοροφόρου, όπως προβλέπει το θεωρητικό μοντέλο.

Παρατηρούμε ότι όταν το φθοροφόρο βρίσκεται ολοένα και πιο βαθιά στον ιστό, δηλ. καθώς το  $z$  αυξάνεται, το χωρικό εύρος της καμπύλης της κατανομής μεγεθύνεται σημαντικά.

Στην Εικόνα 7.7 παρουσιάζεται η εξάρτηση της κατανομής της έντασης φθορισμού από τα φαινόμενα σκέδασης. Θεωρώντας ότι η φθοροφόρος μάζα βρίσκεται στο σημείο  $(x_f, y_f, z_f) = (19, 0, 6) \text{ mm}$  και παίρνοντας αρχικές τιμές για τις οπτικές παραμέτρους τις  $\mu_{ai} = 0.001 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu_{ae} = 0.005 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{si} = 3.0 \text{ mm}^{-1}$ , μεταβάλλουμε την οπτική παράμετρο  $\mu'_{se}$ . Διαπιστώνουμε ότι η εξάρτηση του χωρικού εύρους της κατανομής για μια μεταβολή (eight fold range) του συντελεστή σκέδασης του μέσου,  $\mu'_{se} = 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 \text{ mm}^{-1}$ , είναι λιγότερο ευαίσθητη από την αντίστοιχη μεταβολή (eight fold range) της κατανομής με το βάθος.

*Εκτελούμε τις γραφικές παραστάσεις των συναρτήσεων αφού τις κανονικοποιήσουμε:*

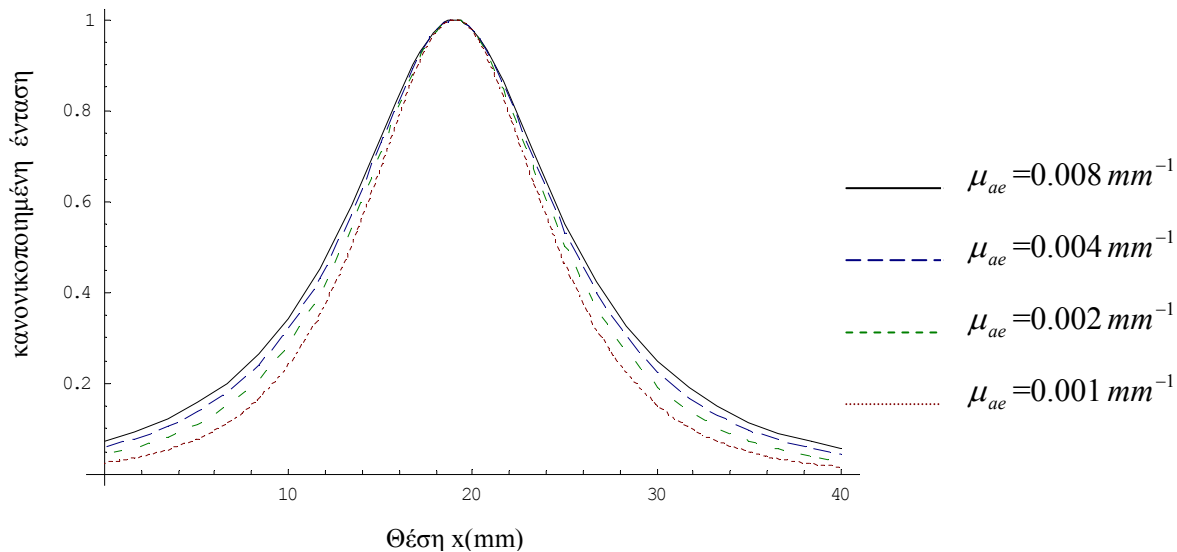
```
Plot[{
g[xf=19,yf=0,zf=6,x,y=0,z=0,mse=0.25,mae=0.005,mai=0.001,msi=3]/
g[xf=19,yf=0,zf=6,19,y=0,z=0,mse=0.25,mae=0.005,mai=0.001,msi=3],
g[xf=19,yf=0,zf=6,x,y=0,z=0,mse=0.5,mae=0.005,mai=0.001,msi=3]/
g[xf=19,yf=0,zf=6,19,y=0,z=0,mse=0.5,mae=0.005,mai=0.001,msi=3],
g[xf=19,yf=0,zf=6,x,y=0,z=0,mse=1.0,mae=0.005,mai=0.001,msi=3]/
g[xf=19,yf=0,zf=6,19,y=0,z=0,mse=1.0,mae=0.005,mai=0.001,msi=3],
g[xf=19,yf=0,zf=6,x,y=0,z=0,mse=2.0,mae=0.005,mai=0.001,msi=3]/
g[xf=19,yf=0,zf=6,19,y=0,z=0,mse=2.0,mae=0.005,mai=0.001,msi=3]},
{x,0,40},
PlotStyle->{{RGBColor[0,0,0]},
{RGBColor[0,0,0.5],AbsoluteDashing[{10,5]}},
{RGBColor[0,0.5,0],AbsoluteDashing[{5,10]}},
{RGBColor[0.5,0,0],AbsoluteDashing[{1,2]}}}]
```



**Εικόνα 7.7.** Χωρική κατανομή της έντασης φθορισμού σαν συνάρτηση του συντελεστή σκέδασης του μέσου για το εκπεμπόμενο μήκος κύματος, όπως προβλέπει το θεωρητικό μοντέλο.

Παρόμοια κατάσταση με το αποτέλεσμα της μεταβολής της σκέδασης στα προφίλ της έντασης, παρατηρείται και για μεταβολή του συντελεστή απορρόφησης του μέσου: μεταβάλλουμε το  $\mu_{ae}$  δίνοντας στις άλλες οπτικές παραμέτρους τις τιμές  $\mu_{ai}=0.001\text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{si}=3.0\text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{se}=0.25\text{ mm}^{-1}$  και βλέπουμε ότι η εξάρτηση της κατανομής της έντασης φθορισμού για  $\mu_{ae}=0.001, 0.002, 0.004, 0.008\text{ mm}^{-1}$  είναι η παρακάτω (Εικόνα 7.8):

```
Plot[{
g[xf=19,yf=0,zf=6,x,y=0,z=0,mse=0.25,mae=0.001,mai=0.001,msi=3]/
g[xf=19,yf=0,zf=6,19,y=0,z=0,mse=0.25,mae=0.001,mai=0.001,msi=3],
g[xf=19,yf=0,zf=6,x,y=0,z=0,mse=0.25,mae=0.002,mai=0.001,msi=3]/
g[xf=19,yf=0,zf=6,19,y=0,z=0,mse=0.25,mae=0.002,mai=0.001,msi=3],
g[xf=19,yf=0,zf=6,x,y=0,z=0,mse=0.25,mae=0.004,mai=0.001,msi=3]/
g[xf=19,yf=0,zf=6,19,y=0,z=0,mse=0.25,mae=0.004,mai=0.001,msi=3],
g[xf=19,yf=0,zf=6,x,y=0,z=0,mse=0.25,mae=0.008,mai=0.001,msi=3]/
g[xf=19,yf=0,zf=6,19,y=0,z=0,mse=0.25,mae=0.008,mai=0.001,msi=3]},
{x,0,40},
PlotStyle->{{RGBColor[0,0,0]},
{RGBColor[0,0,0.5],AbsoluteDashing[{10,5]}},
{RGBColor[0,0.5,0],AbsoluteDashing[{5,10]}},
{RGBColor[0.5,0,0],AbsoluteDashing[{1,2]}}}]
```



**Εικόνα 7.8.** Χωρική κατανομή της έντασης φθορισμού σαν συνάρτηση του συντελεστή απορρόφησης του μέσου για το εκπεμπόμενο μήκος κύματος, όπως προβλέπει το θεωρητικό μοντέλο.

Παρατηρούμε και εδώ, μικρές αλλαγές στις κατανομές συγκρινόμενες με τις σημαντικές αλλαγές που προκύπτουν από μια αντίστοιχου εύρους μεταβολή του βάθους του φθοροφόρου.

Πρέπει να τονιστεί ότι οι συντελεστές σκέδασης και απορρόφησης ( $\mu'_{si}, \mu_{ai}$ ) αφορούν τα προσπίπτοντα φωτόνια και έτσι δεν επηρεάζουν τη μορφή της κανονικοποιημένης κατανομής έντασης φθορισμού. Τα προσπίπτοντα φωτόνια, είναι το αίτιο της διέγερσης του φθοροφόρου. Έτσι, οι συντελεστές αυτοί επηρεάζουν μόνο την πιθανότητα διέγερσης του φθοροφόρου και συνεπώς το πλάτος της έντασης φθορισμού. Όμως, λόγω κανονικοποίησης, καμία εξάρτηση της κατανομής από τα  $\mu'_{si}, \mu_{ai}$  δεν αναμένεται, γεγονός που επιβεβαιώθηκε με το Mathematica. Η κανονικοποίηση επίσης μας απαλλάσσει από οποιαδήποτε εξάρτηση της καμπύλης από τις οπτικές παραμέτρους του φθοροφόρου και την κβαντική απόδοση φθορισμού ( $\Phi$ ).

### 7.2.2 Εντοπισμός φθοροφόρου: το αντίστροφο πρόβλημα

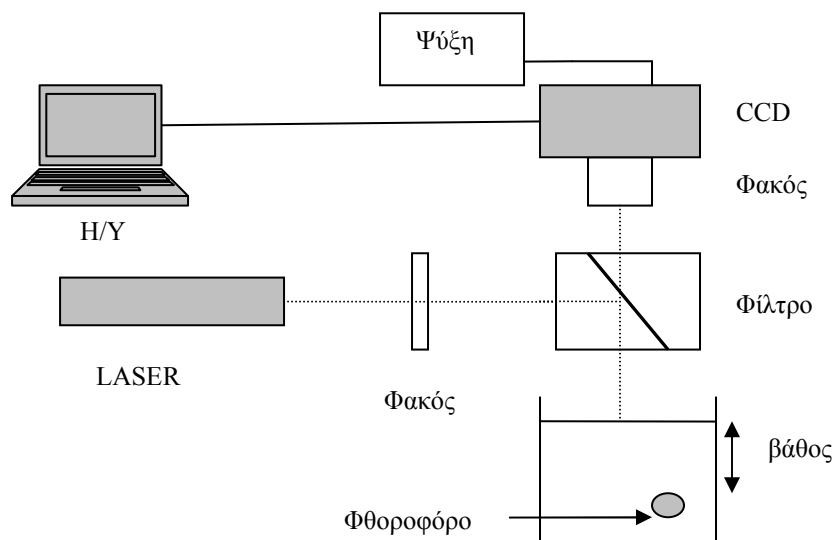
Έχοντας στη διάθεσή μας την εξίσωση που προβλέπει το θεωρητικό μοντέλο, θα προσπαθήσουμε να εντοπίσουμε το βάθος του φθοροφόρου (αντίστροφο πρόβλημα). Η εφαρμογή του αντιστρόφου προβλήματος θα βασιστεί στα πειραματικά αποτελέσματα της δημοσίευσης των A.Eidsath και των συνεργατών του [7]. Χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Mathematica μπορούμε βρούμε το ζητούμενο βάθος, το οποίο είναι αυτό που

θα δώσει τη βέλτιστη προσαρμογή της θεωρητικής καμπύλης φθορισμού με τα πειραματικά σημεία.

### Πειραματική διαδικασία

Οι A.Eidsath *et al.* απέκτησαν αποτελέσματα για ομοιώματα (phantoms) ιστών και ex vivo πλάκες ιστών χρησιμοποιώντας ένα σύστημα υπέρυθρης απεικόνισης φθορίζοντων μαζών. Η πειραματική διάταξη παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.9. Αποτελείται από ένα laser δίοδου (690 nm 40mW), φίλτρα, και μία CCD κάμερα (512×512 pixels). Η διάταξη δουλεύει σε λειτουργία CW για να παράγει μια δισδιάστατη εικόνα φθορισμού, η οποία διαμέσου ενός φακού Nikon  $f = 1.2$  δίνει μια περιοχή παρατήρησης 50×50 mm. Η δέσμη του laser ευθυγραμμίστηκε χρησιμοποιώντας έναν ασφαιρικό φακό και η δέσμη εστιάστηκε σε μια κηλίδα περίπου 100  $\mu\text{m}$  χρησιμοποιώντας ένα φακό σύγκλισης.

Το ομοίωμα μήκους περίπου 0.6 mm, με φθορίζουσα χρωστική, τοποθετήθηκε μέσα σε έναν τριχοειδή σωλήνα. Κατά τη διάρκεια των μετρήσεων, η κάμερα και το laser παρέμεναν εστιασμένα στην επιφάνεια του τυρβοειδούς μέσου. Σε αυτήν τη μελέτη, μόνο ένας φθοροφόρος στόχος τοποθετήθηκε μέσα στο τυρβοειδές μέσο.



Εικόνα 7.9. Πειραματική διάταξη για μετρήσεις δισδιάστατων κατανομών έντασης φθορισμού [7].

## Ανακατασκευή βάθους

Αν τα βάθη της φθοροφόρου μάζας είναι άγνωστα, υπάρχει η δυνατότητα εύρεσής τους μέσω της βέλτιστης προσαρμογής της θεωρητικής καμπύλης έντασης φθορισμού που προβλέπεται από την Εξίσωση 7.16 με τα πειραματικά σημεία. Η ιδέα είναι ανάλογη του παραδείγματος που περιγράφηκε στην Παράγραφο 6.7.

Οι προσαρμόσιμες παράμετροι μπορούν να ανακατασκευαστούν με τη μέθοδο των ελαχίστων τατραγώνων, ελαχιστοποιώντας μια κατάλληλη νόρμα. Το πρόγραμμα Mathematica όμως, παρέχει μια άμεση μέθοδο ανακατασκευής παραμέτρων με βάση τη βέλτιστη προσαρμογή μιας καμπύλης στα πειραματικά δεδομένα, μέσω της εντολής **FindFit**. Η εντολή FindFit ελαχιστοποιεί μια κατάλληλη νόρμα. Μόνη της η εντολή αυτή, ελαχιστοποιεί τη νόρμα  $L_2$ . Οι νόρμες  $L_1$  και  $L_\infty$  μπορούν επίσης να ελαχιστοποιηθούν εισάγοντας τις εντολές **NormFunction**→(**Norm**[#,1]&) και **NormFunction**→(**Norm**[#,1]&), αντίστοιχα, μέσα στο FindFit.

Για την περίπτωση ενός εμφυτευμένου φθοροφόρου, οι προσαρμόσιμες παράμετροι (fitting parameters) είναι οι συντεταγμένες του φθοροφόρου εγκλείσματος ( $x_f, y_f, z_f$ ) και οι οπτικές παράμετροι του μέσου:  $\mu_{ai}, \mu_{ae}, \mu'_{si}, \mu'_{se}$ . Όπως έχει επισημανθεί, οι οπτικές παράμετροι του φθοροφόρου και η κβαντική απόδοση φθορισμού, απαλείφονται λόγω κανονικοποίησης.

Για να ξεκινήσει η ανακατασκευή του βάθους  $z_f$ , επιλέγονται αρχικές (a priori) τιμές για τις οπτικές παραμέτρους του μέσου και τις συντεταγμένες  $x_f, y_f$  του μέσου. Οι τιμές των οπτικών παραμέτρων μπορούν να βρεθούν μέσα από βιβλιογραφία και να εξακριβωθούν με βαθμονόμηση χρησιμοποιώντας τη μέθοδο των σφαιρών ολοκλήρωσης (Παρ. 2.5). Στη δημοσίευση της εργασίας των A.Eidsath et al. δεν παρουσιάζονται οι τιμές των οπτικών παραμέτρων της Εξίσωσης 7.16 και έτσι η διαθέσιμη πληροφορία περιορίζεται και η αντιστροφή δυσκολεύει. Κάνοντας όμως αρχικές εικασίες για αυτές τις παραμέτρους, φροντίζοντας να βρίσκονται σε ένα εύρος τιμών συμβατό με τη φυσική του προβλήματος (Παρ.2.4), μπορούμε να πάρουμε καλά αποτελέσματα σε ότι αφορά το βάθος  $z_f$  του φθοροφόρου εγκλείσματος στον ιστό. Όπως διαπιστώθηκε, διαφορετικές τιμές των οπτικών παραμέτρων (μέσα σε ένα φυσικώς αποδεκτό εύρος) δεν επηρεάζουν έντονα τη μορφή της χωρικής καμπύλης έντασης φθορισμού, σε αντίθεση με τις διαφορετικές τιμές του βάθους. Έτσι, οι εκτιμώμενες τιμές για τα βάθη του φθοροφόρου σε κάθε πείραμα, όπως θα διαπιστώσουμε, βρίσκονται κοντά στις πραγματικές τιμές τους, παίρνοντας τυχαίες αλλά λογικές τιμές των οπτικών παραμέτρων του μέσου. Συνεπώς, η ισχυρή αυτή εξάρτηση του βάθους από τις κατανομές έντασης, συνεισφέρει στην ευρωστία (robustness) του αλγορίθμου επίλυσης του αντιστρόφου προβλήματος.

Για τους οπτικούς συντελεστές του μέσου για το προσπίπτον και το εκπεμπόμενο λόγω φθορισμού φως αντίστοιχα, κάθε φορά προσπαθήσαμε να βρούμε τιμές που δίνουν καλά αποτελέσματα (βάθη κοντά στις πραγματικές τιμές) μέσω της μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων (ελαχιστοποίηση της νόρμας  $L_2$ ).



Αρχικά θα ορίσουμε τη συνάρτηση του μοντέλου με τις κατάλληλες οπτικές παραμέτρους για κάθε πειραματική διαδικασία, έχοντας ως άγνωστη παράμετρο το  $z_f$ . Έπειτα, θα χρησιμοποιήσουμε την εντολή FindFit με τα κατάλληλα ορίσματα, ώστε να ελαχιστοποιηθούν όλες οι νόρμες ( $L_1$ ,  $L_2$  και  $L_\infty$ ) και να προκύψει η βέλτιστη τιμή με την κάθε ελαχιστοποίηση. Βέβαια, λόγω σφαλμάτων του μοντέλου (οι τιμές των οπτικών παραμέτρων δεν είναι οι πραγματικές), δεν θα μπορέσουμε να αποφανθούμε για το ποια νόρμα δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα, αλλά θα διαπιστώσουμε ότι και οι τρεις νόρμες δίνουν γενικά κοντινές μεταξύ τους τιμές (ιδίως οι νόρμες  $L_1$ ,  $L_2$ ).

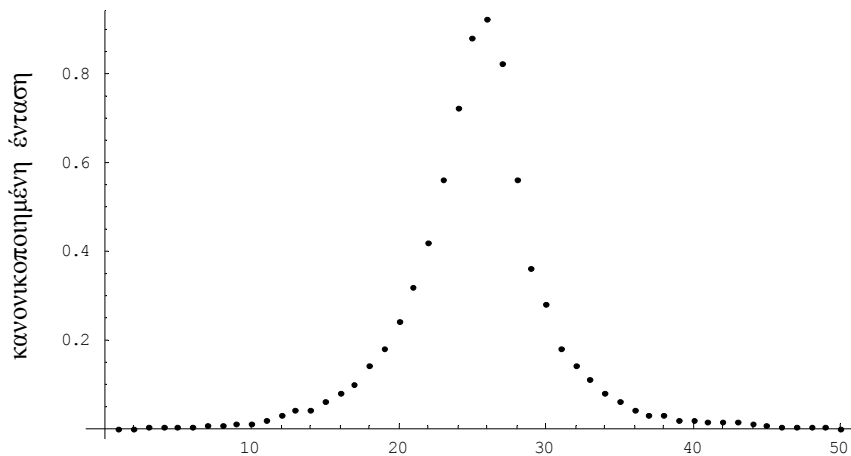
### 7.2.3 Αριθμητικά αποτελέσματα

#### 1<sup>η</sup> σειρά πειραμάτων

Στην πρώτη σειρά πειραμάτων που πραγματοποιήσαν οι A.Eidsath και οι συνεργάτες του, χρησιμοποιήθηκε ένας υποδοχέας γεμάτος με διάλυμα Intralipid για να εξομοιώσει τον ιστό. Στις Εικόνες 7.10 και 7.11 παρουσιάζονται τα πειραματικά σημεία της διατομής της έντασης φθορισμού (η οποία κανονικοποιείται στη μονάδα) για βάθη της φθοροφόρου μάζας  $z_f = 3.0$  mm και 12.0 mm αντίστοιχα.

*Γραφικές παραστάσεις των πειραματικών σημείων:*

```
points={{1, 0.00}, {2, 0.00}, {3, 0.0025}, {4, 0.0025}, {5, 0.005}, {6, 0.005}, {7, 0.0075}, {8, 0.0075}, {9, 0.01}, {10, 0.01}, {11, 0.02}, {12, 0.03}, {13, 0.04}, {14, 0.04}, {15, 0.06}, {16, 0.08}, {17, 0.1}, {18, 0.14}, {19, 0.18}, {20, 0.24}, {21, 0.32}, {22, 0.42}, {23, 0.56}, {24, 0.72}, {25, 0.88}, {26, 0.92}, {27, 0.82}, {28, 0.56}, {29, 0.36}, {30, 0.28}, {31, 0.18}, {32, 0.14}, {33, 0.11}, {34, 0.08}, {35, 0.06}, {36, 0.04}, {37, 0.03}, {38, 0.03}, {39, 0.02}, {40, 0.02}, {41, 0.015}, {42, 0.015}, {43, 0.015}, {44, 0.01}, {45, 0.0075}, {46, 0.005}, {47, 0.005}, {48, 0.0025}, {49, 0.0025}, {50, 0.00}};
datagraph=ListPlot[points]
```

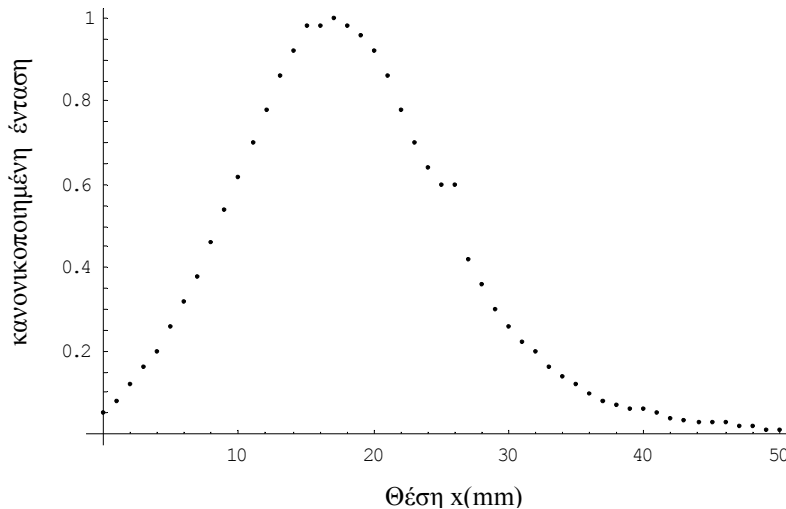


Θέση x(mm)

**Εικόνα 7.10.** Πειραματικά σημεία εκπεμπόμενης έντασης με ένα φθοροφόρο εγκλεισμένο σε βάθος  $z_f=3\text{ mm}$  μέσα στον ιστό.

```
points={{0,0.05},{1,0.08},{2,0.12},{3,0.16},{4,0.2},{5,0.26},{6,0.32},{7,0.38},{8,0.46},{9,0.54},{10,0.62},{11,0.7},{12,0.78},{13,0.86},{14,0.92},{15,0.98},{16,0.98},{17,1},{18,0.98},{19,0.96},{20,0.92},{21,0.86},{22,0.78},{23,0.70},{24,0.64},{25,0.6},{26,0.6},{27,0.42},{28,0.36},{29,0.3},{30,0.26},{31,0.22},{32,0.2},{33,0.16},{34,0.14},{35,0.12},{36,0.10},{37,0.08},{38,0.07},{39,0.06},{40,0.06},{41,0.05},{42,0.04},{43,0.035},{44,0.03},{45,0.03},{46,0.03},{47,0.02},{48,0.02},{49,0.01},{50,0.01}};
```

```
datagraph=ListPlot[points]
```



**Εικόνα 7.11.** Πειραματικά σημεία εκπεμπόμενης έντασης με ένα φθοροφόρο εγκλεισμένο σε βάθος  $z_f=12\text{ mm}$  μέσα στον ιστό.

Παρακάτω ορίζουμε τη συνάρτηση και εκτελούμε τις εντολές FindFit του Mathematica. Θεωρήθηκαν οι τιμές:  $\mu_{ai}=0.008\text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{si}=2.0\text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu_{ae}=0.004\text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{se}=1.0\text{ mm}^{-1}$ . Επίσης, το φθοροφόρο είναι στη θέση  $x_f=25.5\text{ mm}$  για την περίπτωση όπου είναι εμφυτευμένο σε βάθος  $z_f=3.0\text{ mm}$ , ενώ  $x_f=17.0\text{ mm}$  για την περίπτωση όπου  $z_f=12.0\text{ mm}$  (το  $x_f$  αντιστοιχεί πάντα στο μέγιστο της πειραματικής καμπύλης). Τέλος, υπενθυμίζουμε ότι η ανίχνευση γίνεται πάνω στην ευθεία  $(x,0,0)$  στο τερματικό επίπεδο του μέσου.

*Εύρεση βάθους φθοροφόρου με βάση τα πειραματικά σημεία της Εικόνας 7.10*

```

a1[xf_,yf_,zf_,msi_] := (3/4) * (xf^2+yf^2+(zf+(2^(1/2))/msi)^2) *msi^2
a2[xf_,yf_,zf_,msi_] := (3/4) * (xf^2+yf^2+(zf-(2^(1/2))/msi)^2) *msi^2

b1[xf_,yf_,zf_,x_,y_,z_,mse_] :=
(3/4) * ((xf-x)^2+(yf-y)^2+(zf+2*(2^(1/2))/mse)^2) *mse^2
b2[xf_,yf_,zf_,x_,y_,z_,mse_] :=
(3/4) * ((xf-x)^2+(yf-y)^2+(zf)^2) *mse^2

h[a_,b_,mse_,mae_,mai_,msi_] :=
((a*b)^(-1/2)) *Exp[-2*((a*mai/msi)^(1/2)+(b*mae/mse)^(1/2))]

g[xf_,yf_,zf_,x_,y_,z_,mse_,mae_,mai_,msi_] :=
(h[a2[xf,yf,zf,msi],b2[xf,yf,zf,x,y,z,mse],mse,mae,mai,msi]-
h[a2[xf,yf,zf,msi],b1[xf,yf,zf,x,y,z,mse],mse,mae,mai,msi]-
h[a1[xf,yf,zf,msi],b2[xf,yf,zf,x,y,z,mse],mse,mae,mai,msi]+
h[a1[xf,yf,zf,msi],b1[xf,yf,zf,x,y,z,mse],mse,mae,mai,msi]) *
Exp[-(mae/mse)]/Sum[(1/m^(3/2)) *Exp[-2*m*mai/msi],{m,1,Infinity}]

rg[xf_,yf_,zf_,x_,y_,z_,mse_,mae_,mai_,msi_] :=
g[xf,yf,zf,x,y,z,mse,mae,mai,msi]/g[xf,yf,zf,25.5,y,z,mse,mae,mai,msi]

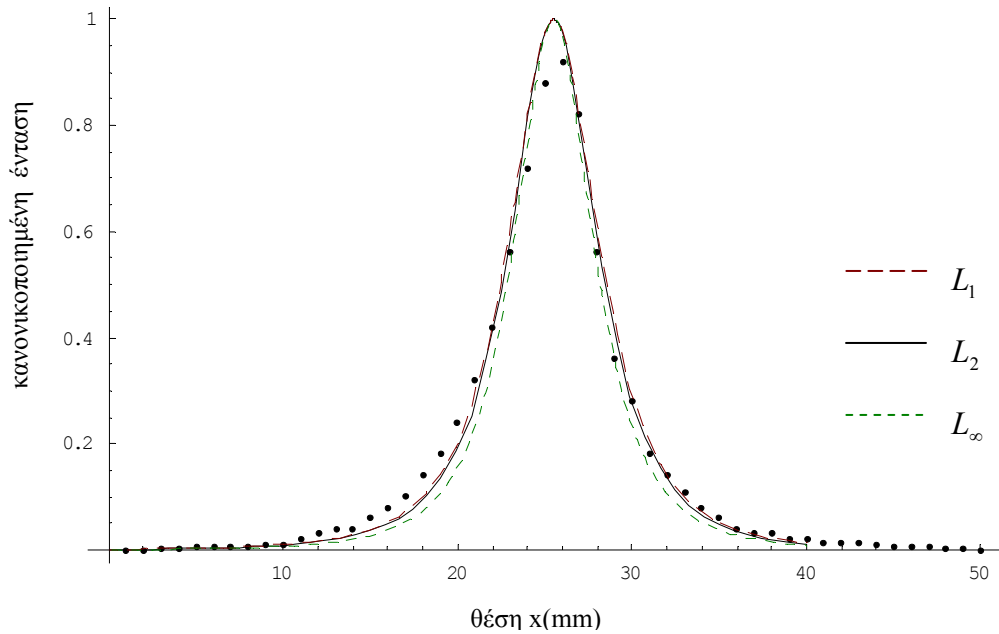
model[zf_,x_] :=rg[xf=25.5,yf=0,zf,x,y=0,z=0,1,0.004,0.008,2]

f1=FindFit[points,model[zf,x],{zf},x]
{zf→2.99393}
f2=FindFit[points,model[zf,x],{zf},x,NormFunction→(Norm[#,1]&)]
{zf→3.10891}
f3=FindFit[points,model[zf,x],{zf},x,NormFunction→(Norm[#,Infinity]&)]
{zf→2.6057}

modelgraph1:=Plot[model[zf,x]/.f1,{x,0,40},PlotStyle→
RGBColor[0,0,0]]
modelgraph2:=Plot[model[zf,x]/.f2,{x,0,40},PlotStyle→{
RGBColor[0.5,0,0],AbsoluteDashing[{10,5}]]]
modelgraph3:=Plot[model[zf,x]/.f3,{x,0,40},PlotStyle→{
RGBColor[0,0.5,0]},AbsoluteDashing[{5,5}]]

Show[{datagraph,modelgraph1,modelgraph2,modelgraph3}]

```



**Εικόνα 7.12.** Προσαρμογή των πειραματικών σημείων της Εικόνας 7.10 με τις προβλεπόμενες καμπύλες, με τις βέλτιστες τιμές  $z_f$  να προκύπτουν ελαχιστοποιώντας τις νόρμες  $L_2$ ,  $L_1$  και  $L_\infty$ . Το φθοροφόρο βρίσκεται σε βάθος 3.0 mm.

Η ελαχιστοποίηση της νόρμας  $L_2$  δίνει  $z_f = 2.99$  mm η οποία είναι πολύ κοντά στην πραγματική τιμή  $z_f = 3.0$  mm. Εξίσου καλή τιμή προκύπτει και με την ελαχιστοποίηση της νόρμας  $L_1$ :  $z_f = 3.11$  mm. Η ελαχιστοποίηση της νόρμας  $L_\infty$  δίνει την τιμή  $z_f = 2.61$  mm.

**Εύρεση βάθους φθοροφόρου με βάση τα πειραματικά σημεία της εικόνας 7.11**

```

rg[xf_, yf_, zf_, x_, y_, z_, mse_, mae_, mai_, msi_] :=
  g[xf, yf, zf, x, y, z, mse, mae, mai, msi] / g[xf, yf, zf, 17, y, z, mse, mae, mai, msi]

model[zf_, x_] := rg[xf=17, yf=0, zf, x, y=0, z=0, 1, 0.004, 0.008, 2]

```

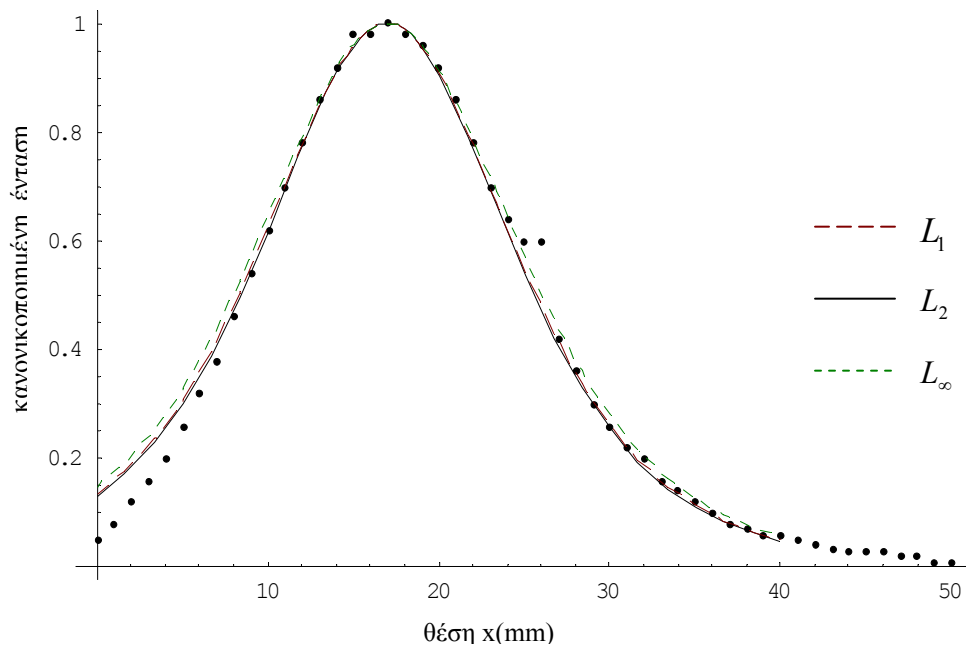
```

f1=FindFit[points,model[zf,x],{zf},x]
{zf→12.0633}
f2=FindFit[points,model[zf,x],{zf},x,NormFunction→(Norm[#,1]&)]
{zf→12.2588}
f3=FindFit[points,model[zf,x],{zf},x,NormFunction→(Norm[#,Infinity]&)]
{zf→12.9174}

modelgraph1:=Plot[model[zf,x]/.f1,{x,0,40},PlotStyle→
RGBColor[0,0,0]]
modelgraph2:=Plot[model[zf,x]/.f2,{x,0,40},PlotStyle→{
RGBColor[0.5,0,0],AbsoluteDashing[{10,5}]]}
modelgraph3:=Plot[model[zf,x]/.f3,{x,0,40},PlotStyle→{
RGBColor[0,0.5,0],AbsoluteDashing[{5,5}]]}

Show[{datagraph,modelgraph1,modelgraph2,modelgraph3}]

```



**Εικόνα 7.13.** Προσαρμογή των πειραματικών σημείων της Εικόνας 7.11 με τις προβλεπόμενες καμπύλες, με τις βέλτιστες τιμές  $z_f$  να προκύπτουν ελαχιστοποιώντας τις νόρμες  $L_2$ ,  $L_1$  και  $L_\infty$ . Το φθοροφόρο βρίσκεται σε βάθος 12.0 mm.

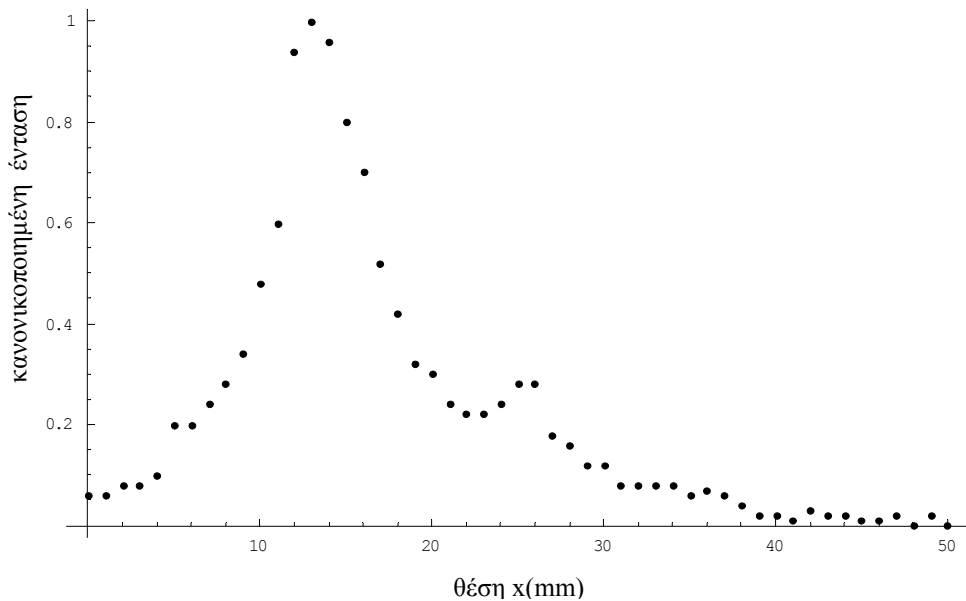
Ελαχιστοποιώντας την νόρμα  $L_2$  βρίσκουμε  $z_f = 12.06$  mm, ελαχιστοποιώντας τη νόρμα  $L_1$  βρίσκουμε  $z_f = 12.26$  mm και με τη νόρμα  $L_\infty$  προκύπτει  $z_f = 12.92$  mm. Και σε αυτήν την περίπτωση οι βέλτιστες τιμές είναι κοντά στην πραγματική τιμή  $z_f = 12$  mm.

## 2<sup>η</sup> σειρά πειραμάτων

Στη δεύτερη σειρά πειραμάτων των A.Eidsath *et al.*, χρησιμοποιήθηκε ένας ex vivo ιστός χοίρου. Στις Εικόνες 7.14 και 7.15 παρουσιάζονται τα πειραματικά σημεία της διατομής της έντασης φθορισμού (κανονικοποιημένη στην μονάδα) για πραγματικά βάθη της φθοροφόρου μάζας  $z_f = 5.28$  και 11.50 mm αντίστοιχα.

```
points = {{0, 0.06},
{1, 0.06}, {2, 0.08}, {3, 0.08}, {4, 0.1}, {5, 0.2}, {6, 0.2}, {7, 0.24}, {8, 0.28}, {9,
0.34}, {10, 0.48}, {11, 0.6}, {12, 0.94}, {13, 1}, {14, 0.96}, {15, 0.8}, {16, 0.7}, {17,
0.52}, {18, 0.42}, {19, 0.32}, {20, 0.3}, {21, 0.24}, {22, 0.22}, {23, 0.22}, {24, 0.24},
{25, 0.28}, {26, 0.28}, {27, 0.18}, {28, 0.16}, {29, 0.12}, {30, 0.12}, {31, 0.08},
{32, 0.08}, {33, 0.08}, {34, 0.08}, {35, 0.06}, {36, 0.07}, {37, 0.06}, {38, 0.04},
{39, 0.02}, {40, 0.02}, {41, 0.01}, {42, 0.03}, {43, 0.02}, {44, 0.02}, {45, 0.01}, {46,
0.01}, {47, 0.02}, {48, 0.00}, {49, 0.02}, {50, 0.00}};

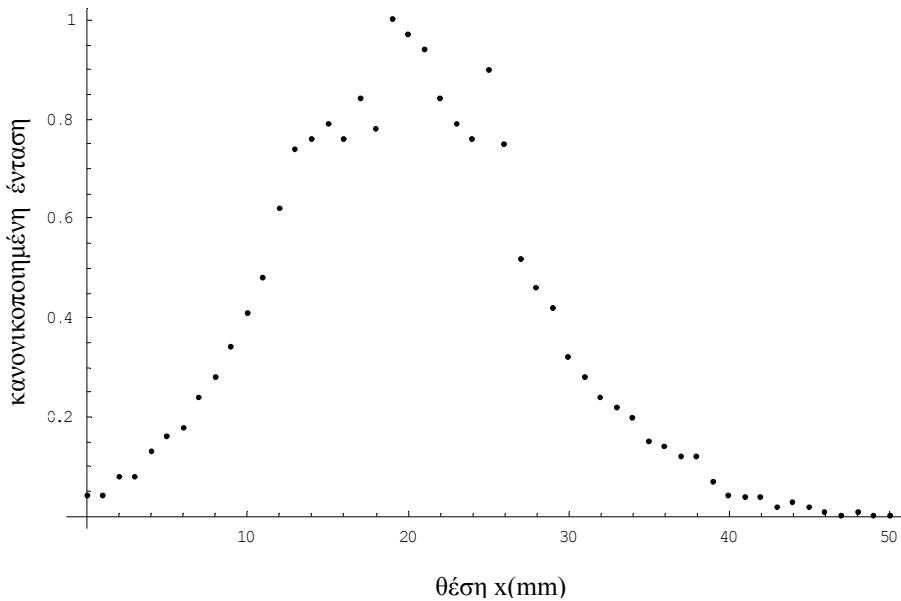
datagraph=ListPlot[points]
```



**Εικόνα 7.14.** Πειραματικά σημεία εκπεμπόμενης έντασης με ένα φθοροφόρο εγκλεισμένο σε βάθος  $z_f=5.28 \text{ mm}$  μέσα σε ex vivo ιστό χοίρου.

```
points= {{0,0.041},{1,0.042},{2,0.081},{3,0.08},{4,0.13},
{5,0.16},{6,0.18},{7,0.24},{8,0.28},{9,0.34},{10,0.41},{11,0.48},{12,0.62},
{13,0.74},{14,0.76},{15,0.79},{16,0.76},{17,0.84},{18,0.78},{19,1},{20,0.97},
{21,0.94},{22,0.84},{23,0.79},{24,0.76},{25,0.9},{26,0.75},{27,0.52},
{28,0.46},{29,0.42},{30,0.32},{31,0.28},{32,0.24},{33,0.22},{34,0.2},
{35,0.15},{36,0.14},{37,0.12},{38,0.12},{39,0.07},{40,0.041},{41,0.04},
{42,0.04},{43,0.02},{44,0.03},{45,0.02},{46,0.01},{47,0},{48,0.01},{49,0},
{50,0}};

datagraph=ListPlot[points]
```



**Εικόνα 7.15.** Πειραματικά σημεία εκπεμπόμενης έντασης με ένα φθοροφόρο εγκλεισμένο σε βάθος  $z_f=11.50 \text{ mm}$  μέσα σε ex vivo ιστό χοίρου

Οι οπτικοί συντελεστές του μέσου για το προσπίπτον φως και το εκπεμπόμενο λόγω φθορισμού φως, θεωρήσαμε αυτή τη φορά ότι έχουν τις εξής τιμές:  $\mu_{ai} = 0.008 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu_{ae} = 0.002 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{si} = 2.0 \text{ mm}^{-1}$ ,  $\mu'_{se} = 2.5 \text{ mm}^{-1}$ . Επίσης,  $y=0$  και  $z=0$  (ανίχνευση

πάνω στην επιφάνεια του μέσου). Τέλος, για το 1<sup>ο</sup> πείραμα είναι  $(x_f, y_f) = (13, 0)$  mm, ενώ για το 2<sup>ο</sup> πείραμα είναι  $(x_f, y_f) = (19, 0)$  mm.

**Εύρεση βάθους φθοροφόρου με βάση τα πειραματικά σημεία της Εικόνας 7.14**

```

rg[xf_, yf_, zf_, x_, y_, z_, mse_, mae_, mai_, msi_] :=
g[xf, yf, zf, x, y, z, mse, mae, mai, msi] / g[xf, yf, zf, 13, y, z, mse, mae, mai, msi]

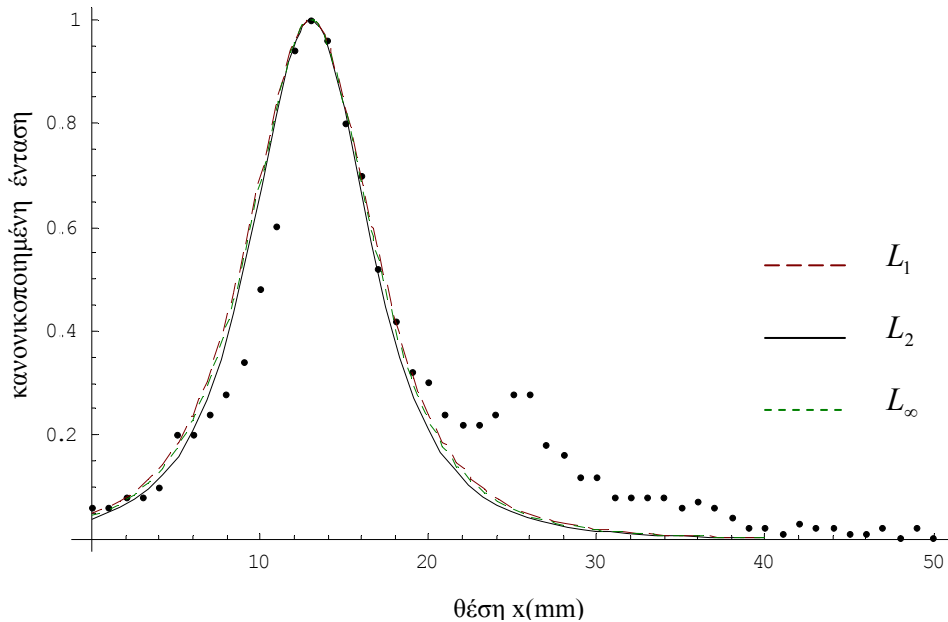
model[zf_, x_] := rg[xf=13, yf=0, zf, x, y=0, z=0, 2.5, 0.002, 0.008, 2]

f1=FindFit[points, model[zf, x], {zf}, x]
{zf→4.96694}
f2=FindFit[points, model[zf, x], {zf}, x, NormFunction→(Norm[#, 1] &)]
{zf→5.40942}
f3=FindFit[points, model[zf, x], {zf}, x, NormFunction→(Norm[#, Infinity] &)]
{zf→5.2555}

modelgraph1:=Plot[model[zf, x] /. f1, {x, 0, 40}, PlotStyle→
RGBColor[0, 0, 0]]
modelgraph2:=Plot[model[zf, x] /. f2, {x, 0, 40}, PlotStyle→{
RGBColor[0.5, 0, 0], AbsoluteDashing[{10, 5}]}]
modelgraph3:=Plot[model[zf, x] /. f3, {x, 0, 40}, PlotStyle→{
RGBColor[0, 0.5, 0], AbsoluteDashing[{5, 5}]}]

Show[{datagraph, modelgraph1, modelgraph2, modelgraph3}]

```





**Εικόνα 7.16.** Προσαρμογή των πειραματικών σημείων της Εικόνας 7.14 με τις προβλεπόμενες καμπύλες. Τα  $z_f$  προκύπτουν ελαχιστοποιώντας τις νόρμες  $L_2$ ,  $L_1$  και  $L_\infty$ . Το φθοροφόρο βρίσκεται σε βάθος 5.28 mm.

Η ελαχιστοποίηση της νόρμας  $L_2$  δίνει  $z_f=4.97$  mm, η ελαχιστοποίηση της νόρμας  $L_1$  δίνει  $z_f=5.41$  mm και η ελαχιστοποίηση της νόρμας  $L_\infty$  δίνει την τιμή  $z_f=5.26$  mm. Οι τιμές είναι σε καλή συμφωνία με την πραγματική τιμή (5.28 mm).

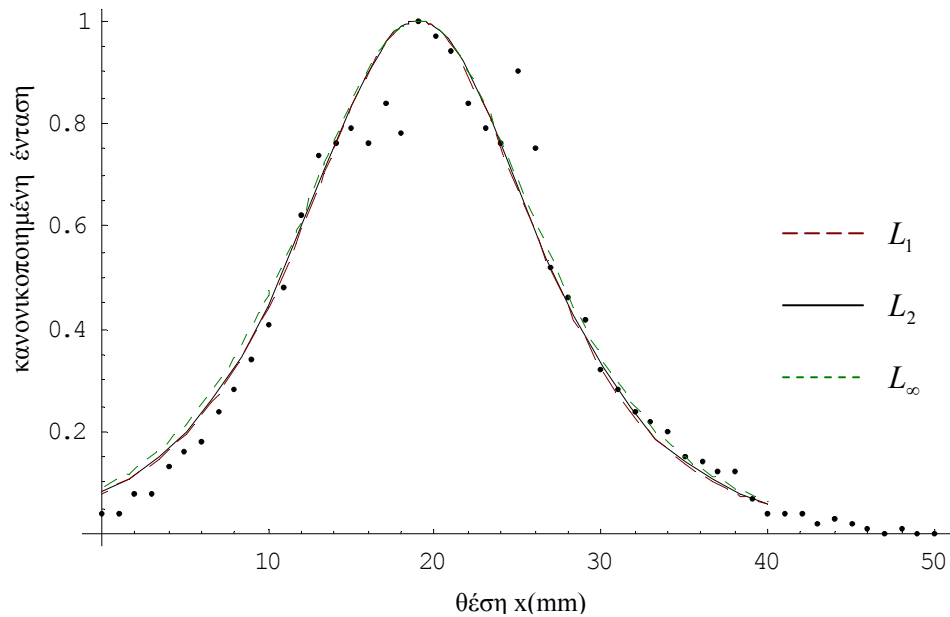
*Ανακατασκευή βάθους φθοροφόρου με βάση τα πειραματικά σημεία της Εικόνας 7.15*

```
rg[xf_, yf_, zf_, x_, y_, z_, mse_, mae_, mai_, msi_] :=
  g[xf, yf, zf, x, y, z, mse, mae, mai, msi] / g[xf, yf, zf, 19, y, z, mse, mae, mai, msi]

model[zf_, x_] := rg[xf=19, yf=0, zf, x, y=0, z=0, 2, 0.002, 0.008, 2]
f1=FindFit[points, model[zf, x], {zf}, x]
  {zf→12.015}
f2=FindFit[points, model[zf, x], {zf}, x, NormFunction→(Norm[#, 1] &)]
  {zf→11.8541}
f3=FindFit[points, model[zf, x], {zf}, x, NormFunction→(Norm[#, Infinity] &)]
  {zf→12.4937}

modelgraph1:=Plot[model[zf, x] /. f1, {x, 0, 40}, PlotStyle→
  RGBColor[0, 0, 0]]
modelgraph2:=Plot[model[zf, x] /. f2, {x, 0, 40}, PlotStyle→{
  RGBColor[0.5, 0, 0], AbsoluteDashing[{10, 5]}]}]
modelgraph3:=Plot[model[zf, x] /. f3, {x, 0, 40}, PlotStyle→{
  RGBColor[0, 0.5, 0], AbsoluteDashing[{5, 5]}]}]

Show[{datagraph, modelgraph1, modelgraph2, modelgraph3}]
```



**Εικόνα 7.17.** Προσαρμογή των πειραματικών σημείων της Εικόνας 7.15 με τις προβλεπόμενες καμπύλες. Τα  $z_f$  προκύπτουν ελαχιστοποιώντας τις νόρμες  $L_2$ ,  $L_1$  και  $L_\infty$ . Το φθοροφόρο βρίσκεται σε βάθος 11.5 mm.

Η ελαχιστοποίηση της νόρμας  $L_2$  δίνει  $z_f=12.02$ , η ελαχιστοποίηση της νόρμας  $L_1$  δίνει  $z_f=11.86$  και η ελαχιστοποίηση της νόρμας  $L_\infty$  δίνει  $z_f=12.49$ . Και εδώ οι τιμές είναι καλές (πραγματική τιμή: 11.5 mm).

Συμπερασματικά, οι ελαχιστοποιήσεις χρησιμοποιώντας τις νόρμες  $L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_\infty$  δίνουν καλές τιμές για τα βάθη αν και είναι άγνωστες οι πραγματικές τιμές για τις οπτικές παραμέτρους. Σε αυτό βοηθάει το γεγονός ότι η εξάρτηση των καμπυλών έντασης φθορισμού από τις οπτικές παραμέτρους, είναι ασθενέστερη από την αντίστοιχη εξάρτηση από το βάθος. Οι τιμές για τις οπτικές παραμέτρους επιλέχθηκαν έτσι ώστε να δίνουν καλά αποτελέσματα σύμφωνα με την ελαχιστοποίηση της νόρμας  $L_2$ . Η απουσία ακριβούς γνώσης για τις οπτικές παραμέτρους που οδηγεί σε σφάλματα μοντέλου, δεν μας επιτρέπει να αποφασίσουμε ποια νόρμα δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα. Τέλος, μπορούμε να διαπιστώσουμε ότι οι ελαχιστοποιήσεις με τις νόρμες  $L_1$  και  $L_2$  είναι αυτές που δίνουν τις περισσότερο παραπλήσιες τιμές για τα βάθη. Γενικά πάντως οι τιμές που αποκτώνται με κάθε νόρμα βρίσκονται κοντά, γεγονός που φαίνεται και στα γραφήματα μέσω των μικρών διαφορών των προσαρμοζόμενων καμπύλων στα πειραματικά σημεία.

➤ **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ**

# A

## ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΘΕΩΡΙΑΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

### Άλγεβρα Πινάκων

Ένας πίνακας είναι μια διάταξη αριθμών σε στήλες και γραμμές. Θεωρούμε τον πίνακα

$$\underline{\underline{a}} = \begin{bmatrix} a_{1,1} & \dots & a_{1,N} \\ \dots & a_{i,k} & \dots \\ a_{M,1} & \dots & a_{M,N} \end{bmatrix} \quad (\text{A.1})$$

όπου ο δείκτης  $i$  αναφέρεται στις γραμμές και κυμαίνεται από 1 μέχρι  $M$ , και το  $k$  αναφέρεται στις στήλες και κυμαίνεται από 1 μέχρι  $N$ , όπου  $M, N$  ακέραιοι.

Ο πίνακας  $\underline{\underline{a}}$  είναι

- τετραγωνικός όταν  $M=N$ .
- πραγματικός όταν τα στοιχεία του είναι πραγματικοί αριθμοί.
- μιγαδικός όταν τουλάχιστον ένα στοιχείο του είναι μιγαδικός αριθμός.
- μη αρνητικός όταν όλα τα στοιχεία του είναι μεγαλύτερα ή ίσα με το μηδέν.
- θετικός όταν όλα τα στοιχεία του είναι θετικοί αριθμοί.

*Τχνος (trace)* ενός τετραγωνικού πίνακα ορίζεται το άθροισμα των στοιχείων της κύριας διαγωνίου του,  $a_{i,i}$ . Ο μοναδιαίος πίνακας  $\underline{\underline{I}}$  είναι ένας τετραγωνικός πίνακας όπου όλα τα στοιχεία του, εκτός από τα στοιχεία της κύριας διαγωνίου του, είναι ίσα με τη μονάδα:  $I_{i,k} = 1$  εάν  $i = k$  και  $I_{i,k} = 0$  αλλού.

*Ανάστροφος (transpose)*  $\underline{\underline{a}}^T$  ενός πίνακα  $\underline{\underline{a}}$  καλείται ο πίνακας που προκύπτει από τον  $\underline{\underline{a}}$  αλλάζοντας τις στήλες με τις γραμμές του ώστε:

$$\text{Τα } a_{k,i} \text{ του } \underline{\underline{a}} \text{ είναι ίσα με τα } a_{i,k} \text{ του } \underline{\underline{a}}^T \quad (\text{A.2})$$

Ένας τετραγωνικός πίνακας είναι συμμετρικός εάν είναι ταυτόσημος με τον ανάστροφό του:  $\underline{\underline{a}}^T = \underline{\underline{a}}$  ή  $a_{i,k} = a_{k,i}$ . Οι πίνακες  $(\underline{\underline{a}}^T \cdot \underline{\underline{a}})$  και  $(\underline{\underline{a}} \cdot \underline{\underline{a}}^T)$  είναι τετραγωνικοί και συμμετρικοί για κάθε πίνακα  $\underline{\underline{a}}$ .

Ο Ερμιτιανός συζυγής (Hermitian adjoint)  $\underline{a}^H$  ενός πίνακα είναι ο ανάστροφος των συζυγών μιγαδικών των στοιχείων του. Ένας τετραγωνικός πίνακας είναι ερμιτιανός εάν είναι ταυτόσημος με τον ερμιτιανό συζυγή του.

Ο πίνακας  $\underline{a}^{-1}$  ονομάζεται *αντίστροφος* του τετραγωνικού πίνακα  $\underline{a}$  αν και μόνο αν

$$\underline{a}^{-1} \cdot \underline{a} = \underline{a} \cdot \underline{a}^{-1} = \underline{I} \quad (\text{A.3})$$

Ένας πίνακας είναι ορθογώνιος εάν  $\underline{a}^T = \underline{a}^{-1}$  και τότε θα είναι

$$\underline{a}^T \cdot \underline{a} = \underline{I} \quad (\text{A.4})$$

Τέλος, ένας πίνακας ονομάζεται μοναδιαίος εάν ο ερμιτιανός συζυγής του είναι ίσος με τον αντίστροφο:  $\underline{a}^H = \underline{a}^{-1}$ .

Ισχύουν οι ακόλουθες σχέσεις:

$$(\underline{a} \cdot \underline{b})^{-1} = \underline{b}^{-1} \cdot \underline{a}^{-1} \quad (\text{A.5})$$

$$(\underline{a} \cdot \underline{b})^T = \underline{b}^T \cdot \underline{a}^T \quad (\text{A.6})$$

$$(\underline{a} \cdot \underline{b})^H = \underline{b}^H \cdot \underline{a}^H \quad (\text{A.7})$$

$$(\underline{a}^{-1})^T = (\underline{a}^T)^{-1} \quad (\text{A.8})$$

### Πίνακες ως μετασχηματισμοί

Θεωρούμε τον πίνακα  $\underline{a}$  σαν έναν τελεστή που μετασχηματίζει ένα διάνυσμα εισόδου  $\underline{x}$  σε ένα διάνυσμα εξόδου  $\underline{y}$ :

$$\underline{y} = \underline{a} \cdot \underline{x} \quad (\text{A.9})$$

Τότε, ο μετασχηματισμός  $\underline{y} = \underline{a} \cdot \underline{x}$  είναι ένας γραμμικός συνδυασμός των στηλών του  $\underline{a}$  σύμφωνα με τα στοιχεία του  $\underline{x}$ .

Αν ένας πίνακας  $\underline{\underline{a}} [N \times N]$  είναι μη αντιστρέψιμος, θα υπάρχουν διανύσματα  $\underline{x}$  κάθετα ως προς στις στήλες του  $\underline{\underline{a}}$  που δίνουν  $\underline{y} = \underline{\underline{a}} \cdot \underline{x} = 0$ . Αυτά τα διανύσματα είναι ένας υπόχωρος του  $\underline{x}$  που καλείται *κενός χώρος (null space)*. Γενικά δεν προσεγγίζεται όλος ο χώρος του  $\underline{y}$  από τα  $\underline{x}$ . Το *εύρος (range)* του  $\underline{\underline{a}}$  είναι το υποσύνολο του χώρου του  $\underline{y}$  που προσεγγίζει ο μετασχηματισμός της Εξίσωσης A.9. Το γεγονός ότι ο  $\underline{\underline{a}}$  είναι μη αντιστρέψιμος, σημαίνει ότι μερικές από τις στήλες του  $\underline{\underline{a}}$  είναι γραμμικά εξαρτημένες, και δεν συνεισφέρουν στη διάσταση του εύρους. Έτσι, η διάσταση του εύρους,  $\dim(\text{range})$ , είναι η τάξη  $r[\underline{\underline{a}}]$ :

$$\dim(\text{range}) = r[\underline{\underline{a}}] \quad (\text{A.10})$$

Έπεται από αυτούς τους ορισμούς, ότι το άθροισμα των διαστάσεων του κενού χώρου και του εύρους, είναι ίσο με  $N$ :

$$\dim(\text{null space}) + \dim(\text{range}) = N \quad (\text{A.11})$$

Αν ο  $\underline{\underline{a}}$  είναι αντιστρέψιμος,  $\underline{y} = \underline{\underline{a}} \cdot \underline{x} = \underline{0}$  μόνο αν  $\underline{x} = \underline{0}$ , και η διάσταση του κενού χώρου είναι μηδέν.

Ο πίνακας μετασχηματισμού  $\underline{\underline{a}}$  καλείται *θετικά ορισμένος (positive definite)* αν

$$\underline{x}^T \cdot \underline{\underline{a}} \cdot \underline{x} > 0 \quad (\text{A.12})$$

για μη μηδενικά διανύσματα  $\underline{x}$ . Εάν  $\underline{x}^T \cdot \underline{\underline{a}} \cdot \underline{x} \geq 0$  τότε ο  $\underline{\underline{a}}$  είναι θετικά ημιορισμένος (positive semidefinite). Τυπικά, ο πίνακας  $\underline{\underline{a}}$  είναι θετικά ορισμένος όταν τα στοιχεία του  $\underline{\underline{a}}$  κατά μήκος της κύριας διαγωνίου του είναι θετικά και επίσης είναι τα μεγαλύτερα στοιχεία μέσα στον πίνακα.

## B

### ΑΝΑΛΥΣΗ ΙΔΙΑΖΟΥΣΩΝ ΤΙΜΩΝ (SVD)

#### Ιδιοτιμές και ιδιοδιανύσματα

Εάν ο  $\underline{\underline{a}}$  είναι ένας τετραγωνικός πίνακας και το διάνυσμα  $\underline{y}$  τέτοιο ώστε

$$\underline{y} = \underline{a} \cdot \underline{x} = \lambda \cdot \underline{x}, \quad (\text{B.1})$$

τότε το  $\underline{x}$  καλείται ιδιοδιάνυσμα του  $\underline{a}$  και το  $\lambda$  είναι η αντίστοιχη ιδιοτιμή του. Οι ιδιοτιμές του  $\underline{a}$  αποκτώνται επιλύοντας το πολυώνυμο

$$|\underline{a} - \lambda \cdot \underline{I}| = 0 \quad (\text{B.2})$$

όπου  $\underline{I}$  είναι ο μοναδιαίος πίνακας. Για κάθε ιδιοτιμή  $\lambda_p$ , το αντίστοιχο ιδιοδιάνυσμα  $\underline{x}_p$  υπολογίζεται αντικαθιστώντας το  $\lambda_p$  στην Εξίσωση B.2,

$$(\underline{a} - \lambda_p \cdot \underline{I}) \cdot \underline{x}_p = \underline{0} \quad (\text{B.3})$$

όπου το  $\underline{0}$  είναι ο μηδενικός πίνακας. Τα ιδιοδιανύσματα που αντιστοιχούν στις διακριτές ιδιοτιμές ενός Ερμιτιανού ή συμμετρικού πίνακα είναι ορθογώνια διανύσματα που σημαίνει ότι το εσωτερικό τους γινόμενο ισούται με μηδέν. Οι ιδιοτιμές ενός ερμιτιανού ή συμμετρικού πίνακα είναι πραγματικές. Οι ιδιοτιμές ενός συμμετρικού, θετικά-ορισμένου πίνακα είναι πραγματικές και θετικές, και ο πίνακας είναι αντιστρέψιμος. Τέλος, για οποιονδήποτε δοσμένο πίνακα  $\underline{a} [M \times N]$ , οι ιδιοτιμές του  $(\underline{a}^T \cdot \underline{a})$  και του  $(\underline{a} \cdot \underline{a}^T)$  είναι μη αρνητικές, μη μηδενικές και ίσες.

### Ανάλυση ιδιαζουσών τιμών (SVD)

Κάθε πραγματικός πίνακας  $\underline{a} [M \times N]$  με  $M \geq N$  και τάξη  $r \leq N$ , μπορεί να εκφραστεί ως

$$\underline{a} = \underline{U} \cdot \underline{\Lambda} \cdot \underline{V}^T \quad (\text{B.4})$$

όπου

$\underline{\Lambda} [M \times N]$  διαγώνιος πίνακας με  $\Lambda_{i,k} = 0$  για  $i \neq k$ . Οι τιμές  $\Lambda_{i,i} = \lambda_i$  είναι οι ιδιοτιμές σε φθίνουσα σειρά όπου τα  $\lambda_i$  είναι οι μη αρνητικές τετραγωνικές ρίζες των ιδιοτιμών του  $\underline{a} \cdot \underline{a}^T$  ή του  $\underline{a}^T \cdot \underline{a}$ . Ισχύει για τις ιδιοτιμές:  $\lambda_1 > \lambda_2 > \dots > \lambda_r$  και  $\lambda_{r+1} = \lambda_{r+2} = \dots = \lambda_N = 0$

$\underline{\underline{U}}$   $[M \times M]$  ορθογώνιος πίνακας με τις στήλες του να είναι ιδιοδιανύσματα του πίνακα  $\underline{\underline{a}} \cdot \underline{\underline{a}}^T$  (με σειρά όπως οι ιδιοτιμές στον  $\underline{\underline{\Lambda}}$ ) και τα διανύσματα  $u_1 \dots u_r$  παράγουν το εύρος του  $\underline{\underline{a}}$ .

$\underline{\underline{V}}$   $[N \times N]$  ορθογώνιος πίνακας με τις στήλες του να είναι τα ιδιοδιανύσματα του  $\underline{\underline{a}}^T \cdot \underline{\underline{a}}$  (με σειρά όπως οι ιδιοτιμές στον  $\underline{\underline{\Lambda}}$ ). Ο κενός χώρος του  $\underline{\underline{a}}$  παράγεται από τα διανύσματα  $v_{r+1} \dots v_N$ .

Για  $\underline{\underline{a}}$  πραγματικό, οι τρεις πίνακες που προκύπτουν είναι επίσης πραγματικοί. Η SVD γενικεύεται και σε μιγαδικούς πίνακες χρησιμοποιώντας τον Ερμιτιανό αντί για τον ανάστροφο. Αυτή η μέθοδος είναι εξίσου εφαρμόσιμη και όταν  $M < N$ , με κατάλληλες αλλαγές στους δείκτες.

## **Γ**

### **ΠΑΡΑΓΩΓΟΙ – ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥΣ**



Μια γραμμική συνάρτηση πολλών μεταβλητών  $f = a_1x_1 + a_2x_2 + \dots$  μπορεί να εκφραστεί σε μορφή πίνακα ως

$$f = a_1x_1 + a_2x_2 + \dots = [a_1 a_2 \dots] \cdot \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{bmatrix} = \underline{a}^T \cdot \underline{x}^T \quad (\Gamma.1)$$

Ομοίως, οι μερικές παράγωγοι γράφονται με μορφή πίνακα ως εξής:

$$\frac{\partial f}{\partial \underline{x}} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f}{\partial x_1} \\ \frac{\partial f}{\partial x_2} \\ \dots \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \\ \dots \end{bmatrix} = \underline{a} \quad (\Gamma.2)$$

Το ακόλουθο σύνολο εξισώσεων χρησιμοποιείται στην επίλυση των προβλημάτων βελτιστοποίησης που παρίστανται με μορφή πίνακα (Κεφάλαιο 6):

$$f = \underline{a}^T \cdot \underline{x} \quad \frac{\partial f}{\partial \underline{x}} = \underline{a} \quad (\text{όπως είδαμε και πριν}) \quad (\Gamma.3)$$

$$f = \underline{x}^T \cdot \underline{a} \quad \frac{\partial f}{\partial \underline{x}} = \underline{a} \quad (\Gamma.4)$$

$$f = \underline{x}^T \cdot \underline{x} \quad \frac{\partial f}{\partial \underline{x}} = 2\underline{x} \quad (\Gamma.5)$$

$$f = \underline{x}^T \cdot \underline{\underline{a}} \cdot \underline{x} \quad \frac{\partial f}{\partial \underline{x}} = 2\underline{\underline{a}} \cdot \underline{x} \quad \text{για } \underline{\underline{a}} \text{ συμμετρικό} \quad (\Gamma.6)$$

Σε κάθε περίπτωση, η συνάρτηση γράφεται σε αναλυτική μορφή, οι μερικές παράγωγοι υπολογίζονται, και το αποτέλεσμα εκφράζεται πάλι σε μορφή πίνακα.

Δεδομένων M-μετρήσεων που εξαρτώνται από N-παραμέτρους, η μερική παράγωγος περιγράφει την ευαισθησία της i-οστής μέτρησης από την k-οστή παράμετρο. Ο Ιακωβιανός πίνακας είναι η διάταξη των M×N μερικών παραγώγων σε μορφή πίνακα. Ο Ιακωβιανός πίνακας είναι χρήσιμος για την αναγνώριση ακροτάτων και για την καθοδήγηση αλγορίθμων βελτιστοποίησης.

Ένα ακρότατο μιας συνάρτησης ελέγχεται για το αν είναι μέγιστο ή ελάχιστο, μέσω του Εσιανού πίνακα Hes ο οποίος κατασκευάζεται με τις δευτερες παραγωγους της  $f(\underline{x})$ :

$$Hes_{i,k} = \frac{\partial^2 f}{\partial x_i \partial x_k} \quad (\Gamma.7)$$

Η συνάρτηση έχει ελάχιστο εάν ο Hes είναι θετικά ορισμένος.

Το ακρότατο μιας συνάρτησης με N μεταβλητές  $f(x_1, \dots, x_N)$  που υπόκειται σε V-περιορισμούς  $\phi(x_1, \dots, x_N) = 0$ , μπορεί να αποκτηθεί χρησιμοποιώντας πολλαπλασιαστές Lagrange ( $\lambda$ ). Δημιουργείται έτσι μια αντικειμενική συνάρτηση  $\Gamma$ :

$$\Gamma(x_1, \dots, x_N) = f(x_1, \dots, x_N) + \lambda_1 \phi_1(x_1, \dots, x_N) + \dots + \lambda_V \phi_V(x_1, \dots, x_N) \quad (\Gamma.8)$$

που εμπεριέχει N+V αγνώστους  $(x_1, \dots, x_N, \lambda_1, \dots, \lambda_V)$ . Αυτοί οι άγνωστοι βρίσκονται επιλύοντας το ακόλουθο σύστημα των N+V εξισώσεων:

$$\frac{\partial \Gamma}{\partial x_i} = 0 = \frac{\partial f}{\partial x_i} + \lambda_1 \frac{\partial \phi_1}{\partial x_i} + \dots + \lambda_V \frac{\partial \phi_V}{\partial x_i} \quad \text{N-εξισώσεις} \quad (\Gamma.9)$$

$$0 = \phi_1(x_1, \dots, x_N) \quad \text{V-εξισώσεις} \quad (\Gamma.10)$$



## ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### Βέλτιστος συντελεστής κανονικοποίησης $\lambda$ και βέλτιστος αριθμός ιδιοτιμών $p$ .

1. Επίλυση του αντιστρόφου προβλήματος για διαφορετικές τιμές του  $\lambda$  (RLSS) ή του  $p$  (SVD).
2. Υπολογισμός και γραφική παράσταση, για κάθε λύση  $\underline{x}^{<est>}$ , των παρακάτω παραμέτρων συναρτήσει του  $\lambda$  ή του  $p$ :
  - του κριτηρίου κανονικοποίησης  $[(\underline{R} \cdot \underline{x})^T \cdot (\underline{R} \cdot \underline{x})]$ .
  - των ακραίων τιμών  $\min(\underline{x}^{<est>})$  και  $\max(\underline{x}^{<est>})$  με συνεκτίμηση του φυσικώς αποδεκτού εύρους για τις παραμέτρους  $x$ .
  - της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης του  $\underline{x}^{<est>}$ .
  - της ίδιας της λύσης  $\underline{x}^{<est>}$  όποτε κρίνεται απαραίτητο.
3. Απόρριψη του εύρους του  $\lambda$  ή του  $p$  όπου η λύση είναι φυσικώς μη αποδεκτή.
4. Ανάλυση των υπολοίπων  $\underline{e} = \underline{y}^{<meas>} - \underline{h} \cdot \underline{x}^{<est>}$  για κάθε λύση  $\underline{x}^{<est>}$ . Υπολογισμός και γραφική αναπαράσταση των παρακάτω παραμέτρων συναρτήσει του  $\lambda$  ή του  $p$ :
  - της νόρμας  $L_2 = \underline{e}^T \cdot \underline{e}$ .
  - της νόρμας  $L_\infty = \max(\underline{e})$ .
  - των υπολοίπων  $e_i$  (τα οποία σχεδιάζονται και ως συνάρτηση της  $i$ -οστής μέτρησης. Θα προκύψει τελικά μια 3D γραφική παράσταση).
5. Απόρριψη του εύρους των  $\lambda$  ή  $p$  όπου η λύση δεν δικαιολογεί πια τα δεδομένα σε ικανοποιητικό βαθμό.
6. Γραφική αναπαράσταση του ίχνους του πίνακα ανάλυσης δεδομένων  $tr(\underline{D}) = tr(\underline{h} \cdot \underline{h}^{-g})$  συναρτήσει του  $\lambda$  ή του  $p$ .
7. Απόρριψη του εύρους του  $\lambda$  ή του  $p$  που οδηγεί σε τιμές του ίχνους πολύ μικρότερες από τον αριθμό των εξισώσεων  $M$ .
8. Επιλογή τιμής για το  $\lambda$  ή το  $p$  που να επιστρέφει μια λύση με φυσική σημασία και που να δικαιολογεί επαρκώς τα δεδομένα.

➤ **ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

- [1]. Paras N. Prasad, **Introduction to Biophotonics** (John Wiley & Sons, 2003).
- [2]. Wang, Lihong V., Wu, Hsin-I, **Biomedical Optics: Principles and Applications** ().

- [3]. M.H. Niemz, **Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications** (Springer Science Business, 2007).
- [4]. E. Hecht, A. Zajac, **Optics** (Addison-Wesley, Reading, 2002).
- [5]. Amir H. Gandjbakhche, Robert F. Bonner, Ralph Nossal, and George H. Weiss, **Effects of multiple-passage probabilities on fluorescent signals from biological media** (Appl. Opt. **36**, 4613-4619, 1997).
- [6]. Israel Gannot, Avital Garashi, Gallya Gannot, Victor Chernomordik, and Amir Gandjbakhche, **In-vivo Quantitative 3-D Localization of Tumor Labeled with Exogenous Specific Fluorescence Markers** [Appl. Opt., **42**(16), 3073-3080, 2003].
- [7]. A. Eidsath, V. Chernomordik, A. Gandjbakhche, P. Smith and A. Russo, **Three-dimensional localization of fluorescent masses deeply embedded in tissue** (*Phys. Med. Biol.* **47** 4079-40, 2002).
- [8]. Victor Chernomordik, David Hattery, and Amir H. Gandjbakhche, **Inverse Method of 3D Reconstruction of Localized in-vivo Fluorescence. Application to Sjogren Syndrome**, [IEEE Journal of Selected topics in Quantum Electronics, v. **5**(4), 930-935, 1999].
- [9]. J. Paul Robinson, **Light and Fluorescence** <http://tinyurl.com/2wkpp> (Purdue University 2008, Παρουσίαση ppt)
- [10]. Joseph R. Lakowicz, **Principles of Fluorescence Spectroscopy** Third Edition (Springer Science Business, 2006).
- [11]. Albert Tarantola, **Inverse Problem Theory and Methods for Model Parameter Estimation** (Society for Industrial and Applied Mathematics, 2005).
- [12]. S.M. Tan and Colin Fox, **Physics 707 Inverse Problems** (The University of Auckland Course Material in Electronic Form).
- [13]. Γ.Σ. Παπαγεωργίου, Χ.Γ. Τσίτουρας, **Αριθμητική Ανάλυση με εφαρμογές σε Matlab και Mathematica** (Εκδόσεις Συμμεών Δεύτερη έκδοση ΑΘΗΝΑ, 2000).
- [14]. Θεόδωρος Αναγνωστόπουλος, **Διάχυση Οπτικών Φωτονίων σε Βιολογικούς Στόχους**. (Διπλωματική εργασία Ε.Μ.Π, Παρουσίαση ppt).
- [15]. Jun Wu, **Photon Migration in Turbid Media** (Thesis Massachusetts Institute of Technology, 1992).

- [16]. Cosimo D'Andrea, Daniela Comelli, Antonio Pifferi, Alessandro Torricelli, Gianluca Valentini and Rinaldo Cubeddu, **Time-resolved optical imaging through turbid media using a fast data acquisition system based on a gated CCD camera** (*INFN-Dipartimento di Fisica and INFN-CNR, Politecnico di Milano Piazza Leonardo da Vinci Milan, Italy, 2005*).
- [17]. Μυρσίνη Μακροπούλου-Αλέξανδρος Παπαγιάννης, **Συμπληρωματικές σημειώσεις: Εφαρμογές των laser στη Βιοιατρική και το Περιβάλλον** (Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, ΑΘΗΝΑ, 2005).
- [18]. William E. Boyce, Richard C. DiPrima, **Στοιχειώδεις διαφορικές εξισώσεις και Προβλήματα συνοριακών τιμών** (Παναπιστημιακές Εκδόσεις Ε.Μ.Π, ΑΘΗΝΑ, 1999).
- [19]. Ν.Καδιανάκης, Σ.Καρανάσιος, **Γραμμική Άλγεβρα Αναλυτική Γεωμετρία και Εφαρμογές**, Έκδοση 1<sup>η</sup> ΑΘΗΝΑ 2001
- [20]. J.C Santamarina, D.Fratta **Discrete Signals and Inverse Problems** John Wiley & Sons, Ltd 2005
- [21]. Στέφανος Τραχανάς, **Mathematica και Εφαρμογές για μαθηματικούς, φυσικούς και μηχανικούς** (Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, ΗΡΑΚΛΕΙΟ, 2001).
- [22]. Kai Thomenius & Badri Roysam, **ECSE-4963 Introduction to Subsurface Sensing and Imaging Systems** (Center for Sub-Surface Imaging & Sensing, Παρουσίαση ppt).
- [23]. Γιώργος Ασημέλλης, **Μαθήματα Οπτικής** (Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 2005).
- [24]. <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/HFrame.html>, **The Eukaryotic cell** (Ιστοσελίδα στο διαδίκτυο).
- [25]. [http://www6.gelifesciences.com/applic/upp00738.nsf/vLookupDoc/224673459-B500/\\$file/63003528.pdf](http://www6.gelifesciences.com/applic/upp00738.nsf/vLookupDoc/224673459-B500/$file/63003528.pdf) **Fluorescence Imaging** (Amersham Biosciences, Ιστοσελίδα στο διαδίκτυο).
- [26]. Chance B., **Photon Migration in Tissues** (Kluwer Academic Publishers Group, 1990).
- [27]. <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/HFrame.html>, **Michelson Interferometer** (Ιστοσελίδα στο διαδίκτυο).

[28]. Patterson M. S. and Pogue B. W., **Mathematical-model for time-resolved and frequency-domain fluorescence spectroscopy in biological tissue** (Appl.Opt.33 1963-1974, 1994).