

TASVIRLARNI YIG‘ISH VA QAYTA ISHLASHDA ISHLATILADIGAN APPARAT VA DASTURIY VOSITALAR.

¹ Kilichov Jasur Ruzikulovich

² Almardonov Asliddin Faxriddin o‘g‘li

¹ Muhammad al-Xorazmiy nomidagi TATU Samarqand filiali,
“Telekommunikatsiya injiniringi” kafedrasi professor-o‘qituvchisi.

² Muhammad al-Xorazmiy nomidagi TATU Samarqand filiali,
“Telekommunikatsiya texnologiyalari” yo‘nalishi talabalari

Annotatsiya: Hujayra darajasidagi biologik tahlillarni aniq va tezkor amalga oshirish zamonaviy biotibbiyotning eng dolzarb yo‘nalishlaridan biridir. Shu nuqtai nazardan, tasvirlovchi oqim sitometriya (IFC – Imaging Flow Cytometry) texnologiyasi hujayralarni oqim holatida mikroskopik aniqlikda kuzatish imkoniyatini yaratdi. U Time Delay Integration (TDI) va CCD texnologiyalarining kombinatsiyasiga asoslangan bo‘lib, flüoressent signalni kuchaytirish va yuqori sifatli tasvirlar olishni ta‘minladi. Ushbu maqolada tasvirlovchi oqim sitometriya texnologiyalarining asosiy tamoyillari, texnik yutuqlari va amaliy qo‘llanilishi tahlil qilinadi.

Kalit so‘zlar: v Tasvirlovchi oqim sitometriya (IFC), ImageStream, TDI-CCD texnologiyasi, Flüoressent tasvirlash, OTS (Optical Time-Stretch), FIRE (Frequency-multiplexed Imaging), Hujayra tasnifi, Dori skriningi, Real vaqtli tahlil, 3D tasvirlash va Biotibbiy diagnostika.

Birinchi tijorat tasvirlovchi oqim sitometri — ImageStream — 1990-yillarda ishlab chiqilgan bo‘lib, o‘n yildan ortiq vaqt davomida yagona tijorat tizimi sifatida ishlatilib kelindi [1].

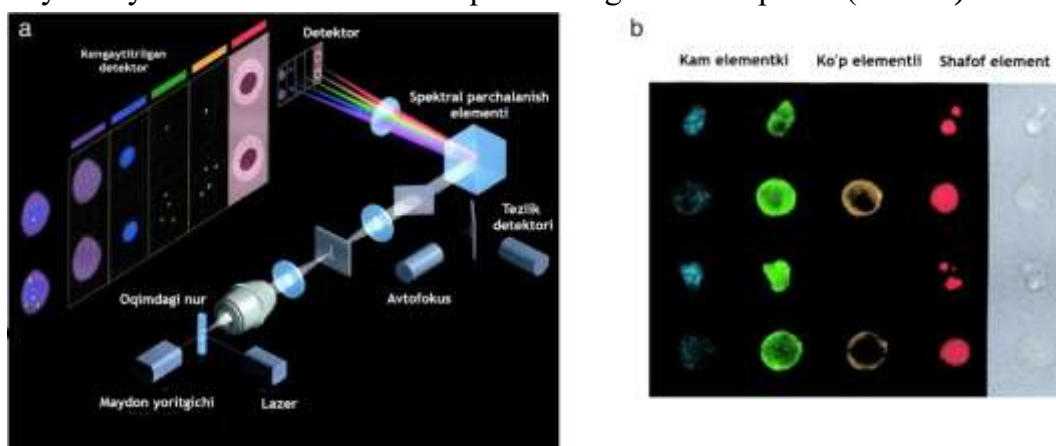
Ushbu tasvirlovchi oqim sitometriya (IFC – Imaging Flow Cytometry) texnologiyasining markazida Time Delay Integration (TDI) va Charge-Coupled Device (CCD) datchiklarining birikmasi — ya‘ni TDI-CCD texnologiyasi yotadi. Bu texnologiya intensivligi past bo‘lgan oqimdagi hujayralarni ham aniq tasvirlash imkonini yaratdi [2].

TDI-CCD — bu CCD (zaryadga bog‘langan qurilma) texnologiyasining takomillashtirilgan turi bo‘lib, harakatlanayotgan obyektlar, xususan hujayralarni yuqori aniqlikda tasvirga olish uchun mo‘ljallangan. TDI texnologiyasi orqali tasvir piksellar bo‘ylab elektron tarzda siljiriladi, bu esa hujayra harakatda bo‘lsa ham aniq va tiniq tasvir olish imkonini beradi. Hujayra CCD matritsasi orqali harakatlanayotganda flüoressent

signallar bir nechta piksellardan yig‘ilib, birlashtiriladi — natijada signal kuchayadi va tasvir sifati oshadi.

Bundan tashqari, dixroik-filtrli stek yordamida har bir CCD bir vaqtning o‘zida bir nechta rang kanallarini yozib olish imkoniyatiga ega bo‘ladi. Bu texnologiya ImageStream tizimiga bir hujayrani 12 tagacha alohida tasvir kanali orqali tahlil qilish imkoniyatini beradi [3].

Shu bilan birga, “IFC” so‘zining yana bir talqini — Industry Foundation Classes — bu qurilish va arxitektura sohalarida keng qo‘llaniladigan BIM (Building Information Modeling) ma’lumot almashinuviga mo‘ljallangan ochiq standart formatdir. Ushbu format ISO 16739 standarti asosida ishlaydi va Autodesk Revit, ArchiCAD, Tekla kabi dasturlar o‘rtasida loyihaviy ma’lumotlarni muvofiqlashtirishga xizmat qiladi. (1-rasm).



1-rasm. Rasmlar oqimi. (a) Optik sxema. (b) ImageStream yordamida olingan yacheykalarining namunaviy rasmlari.

Bu tijoriy mavjud tizim uning imkoniyatlarini o‘rganish uchun turli xil ilovalar uchun sinovdan o‘tkazildi. Hujayraning biologik tahlili sifatida hujayra sikli davomida hujayra shaklining o‘zgarishi o‘rganildi. Bu mashinali o‘rganish yordamida hujayra tasvirlarini tahlil qilishning dastlabki urinishlaridan birini o‘z ichiga oladi chuqur o‘rganish tasvirlarni tasniflashda kuchli ekanligini isbotlaganidan ko‘p o‘tmay Amaliy jihatdan yanada kengroq qo‘llash uchun qon hujayralariga IFK qo‘llash orqali tibbiy diagnostika keng o‘rganilgan, jumladan leykotsitlar differentsiatsiyasi, leykemiya diagnostikasi va qon sifatini baholash. IFC dori skriningida ham sinovdan o‘tkazildi, bunda hujayra ichidagi fluoressensiya holatining o‘zgarishini kuzatish orqali parazit uchun dori nomzodlarining samaradorligi tahlil qilindi [4].

ImageStream tizimi uzoq yillardan beri Imaging Flow Cytometry (IFC) texnologiyasining rivojlanishida muhim o‘rin tutib kelgan bo‘lsa-da, uning texnik cheklovlari yangi avlod IFC platformalarini yaratishga turtki bo‘ldi. Ushbu cheklovlarning

birinchisi — o'tkazuvchanlik darajasining nisbatan pastligi bo'lib, tizim maksimal 5000 hujayra/sekund tezlikda tasvir olish imkonini beradi. Bu esa klinik va yuqori unumdorlik talab qilinadigan tadqiqotlar uchun yetarli emas. Bunga asosiy sabab — ImageStream tizimi CCD (Charge-Coupled Device) asosidagi detektordan foydalanadi, u oqimli sitometriyada keng qo'llaniladigan PMT (Photomultiplier Tube) detektorlariga nisbatan sekinroq ma'lumot olish tezligiga ega [5].

Bundan tashqari, ImageStream hujayralarni saralash imkoniyatiga ega emas, ya'ni tasvir asosida tahlil o'tkazilganidan so'ng, maqsadli yoki qiziqarli hujayralarni fizik ravishda ajratib olish imkoni mavjud emas. Bu esa maxsus hujayralar ustida keyingi molekulyar yoki genetik tahlillarni o'tkazish imkoniyatlarini cheklaydi.

Yana bir cheklov — faqat 2D (ikki o'lchamli) tasvir olish imkoniyati mavjudligidir. Ba'zi biologik holatlarda, ayniqsa subhujayraviiy strukturani yoki organoidlarni chuqur o'rganish zarur bo'lganda, 3D tasvirlash imkoniyati talab qilinadi. ImageStream bu borada imkoniyat bermaydi (Kormann et al., 2019).

ImageStreamni IFC tizimida amalga oshirishning eng oddiy usullaridan biri — yuqori sezgirlik va tezlikka ega bo'lgan piksel massivli sensorlardan foydalanishdir. Biroq, bu kabi kameralar (masalan, sCMOS yoki EMCCD) juda yuqori narxga ega bo'lib, ayniqsa bir vaqtning o'zida bir nechta fluoressent kanalni tasvirlash zarur bo'lganda, har bir kanal uchun alohida kamera talab qilinadi. Bu esa tizimning umumiy narxini oshirib yuboradi. Shuningdek, olingan ma'lumot hajmining katta bo'lishi ularni real vaqt rejimida uzatish va qayta ishlashni murakkablashtiradi, ayniqsa hujayra saralash tizimlariga integratsiya qilishda muammolar yuzaga keladi.

Shu sababli, bitta piksel asosida tasvirlash texnologiyasi rivojlantirildi. Bu usulda kameralar yoki sensor massivlari ishlatilmaydi; uning o'rniga, vaqt bo'yicha o'qilgan signal yordamida tasvir xuddi kamera ishlatilgandek qayta tiklanadi. Lazer-skanerlash mikroskopiyasi bunga yaqqol misol bo'lib, unda tasvirdagi har bir piksel ketma-ket olinadi. Biroq bu texnologiyaning asosiy cheklovi — mexanik skanerlash tezligining pastligi bo'lib, eng tez rezonansli skanerlar hatto 20 kHz dan yuqoriga chiqa olmaydi. Agar har bir hujayra bir nechta skanerni talab qilsa, bu holatda tasvirlash unumdorligi sekundiga 1000 hujayraga ham yetmasligi mumkin, bu esa ImageStream dan ham sekin hisoblanadi.

Shu boisdan, mexanik skanerlashdan voz kechgan holda, bitta piksel asosidagi tezkor tasvirlash usullari ishlab chiqilgan. Bu texnologiyalar nafaqat yuqori o'tkazuvchanlikni ta'minlaydi, balki real vaqtli tahlil va saralash tizimlariga integratsiyalash imkonini ham beradi [6].

OTS (Optical Tracking System) — optik kuzatuv tizimi bo‘lib, obyektlarning harakatini aniqlash, pozitsiyasini kuzatish va aniq koordinatalarni belgilash uchun ishlatiladi. Bu tizim odatda infraqizil nurlar, kameralar yoki lazer texnologiyalaridan foydalanadi.

OTS (optik vaqtli strek tasvirlash) texnologiyasining eng asosiy ustunligi — bu juda yuqori tasvirlash tezligidir. U chiziqli tasvirlash uchun odatda 40 MGts atrofida ishlaydi, bu esa an’anaviy mexanik skanerlash usullaridan taxminan uch barobar tezdir. Shu sababli, OTS yordamida 10 m/s tezlikda oqib o‘tayotgan hujayralarning tiniq, xiralashmagan tasvirlarini olish mumkin. Bu texnologiyada cheklov omili — bu tasvirlash texnologiyasining o‘zi emas, balki hujayralarning fizik oqish tezligi hisoblanadi.

OTS yondashuvi yordamida yuqori samarali tasniflash ishlari amalga oshirilgan bo‘lib, juda past soxta ijobiy aniqlikda 10 million qon hujayrasi ichidan saraton hujayralarini aniqlash mumkin bo‘lgan. Bu jarayonda tasvirlash tezligi 100 000 hujayra/s gacha yetgan. Bunday samaradorlikka yuqori tezlikda va kogerent yorug‘lik asosida ishlovchi tizim orqali erishilgan. OTS texnologiyasi nafaqat yorqin maydon tasvirlarini, balki hujayralar ichidagi sindirish ko‘rsatkichining taqsimlanishini ko‘rsatadigan fazaviy kontrast va miqdoriy fazaviy tasvirlarni ham olish imkonini beradi [7].

Bu jarayon quyidagicha ishlaydi: avval femtosekundli yorug‘lik impulsi uzun optik tola orqali o‘tkazilib, vaqt bo‘yicha cho‘ziladi. So‘ngra lazer spektrining har bir tarkibiy qismi oqim kanalining har xil fazoviy nuqtalariga proyeksiya qilinadi. Har bir joyda yorug‘likning so‘rilish darajasi spektrda aks etadi. Yakunda tezkor detektor bu signallarni yig‘ib, fazaviy ma’lumotga mos keluvchi impuls shaklini qayd etadi. Bu chiziqli va real vaqtli tasvirlash imkonini yaratadi.

Biroq, OTS texnologiyasining muhim cheklovlaridan biri — bu usulni fluorescent tasvirlash uchun to‘g‘ridan-to‘g‘ri qo‘llab bo‘lmasligidir. Buning sababi shundaki, OTS impulsli lazer spektrining tarkibiy qismlariga asoslanadi, fluorescent yorug‘lik esa lazerning spektral tuzilmasiga bog‘liq bo‘lmaydi, ya’ni bu bog‘liqlik fluoressensiyada yo‘qoladi. Shunga qaramay, ba’zida bu texnologiya fluorescent signal o‘lchovi bilan birlashtiriladi va biomarkerlarga asoslangan analizlar uchun foydalaniladi. Ammo, ko‘plab muhim ma’lumotlar hujayra ichidagi subhujayraviy tuzilmalarni ko‘rsatadigan fluorescent tasvirlar orqali olinadi, bu esa yanada murakkab texnikani talab qiladi.

Shunday holatlar uchun yuqori tezlikda fluorescent tasvirlash imkonini beruvchi ilg‘or yondashuvlardan biri bu Radiochastotali Nishonlangan Emissiya (FIRE) texnologiyasidir. FIRE — bu yagona piksellli yondashuv bo‘lib, fazaviy ma’lumotni yorug‘lik signalining chastota spektriga kodlaydi. Qo‘zg‘atish nurlari bir nechta yo‘nalishlarga bo‘linib, har biri turli radiochastota modulyatsiyasiga ega bo‘ladi va hujayralar oqayotgan kanal bo‘ylab har

xil fazaviy nuqtalarga yo‘naltiriladi. Ushbu modulyatsiyalar fluoressensiya signaliga uzatiladi va keyinchalik vaqt sohasidagi signalni Furre almashtirish orqali fazaviy tasvirga aylantirish mumkin bo‘ladi.

Bu texnologiyada ishlatiladigan chastotalar o‘nlab MGts gacha yetadi, bu esa yuzlab kGs chastotada chiziqli skanerlashni ta‘minlaydi. Natijada, 1 m/s tezlikda oqayotgan hujayralarning tiniq fluorescent tasvirlarini olish imkoni tug‘iladi.

Ko‘pgina 2D asosli usullar morfologik tahlil va saralashda samarali bo‘lsa-da, ba‘zida chuqurlik bo‘yicha ma‘lumotlarning yo‘qligi sezilarli ta‘sir ko‘rsatadi. Masalan, ayrim hujayra osti tuzilmalari 3D shaklda tashkil topgan bo‘ladi va ularni to‘liq anglash faqat uch o‘lchovli tasvirlash bilan mumkin. Ayniqsa, hujayra ichidagi koloklizatsiya hodisalarini aniq aniqlash, obyektlar ustma-ust tushganmi yoki yo‘qligini farqlash, va xususiyatlar okklyuziyasini oldini olishda 3D yondashuv muhimdir. Asosiy maqsad — yolg‘on-ijobiy va yolg‘on-salbiy ko‘rsatkichlarni kamaytirish bo‘lsa, bu kabi holatlar uchun 3D tasvirlash zaruriy bo‘ladi.

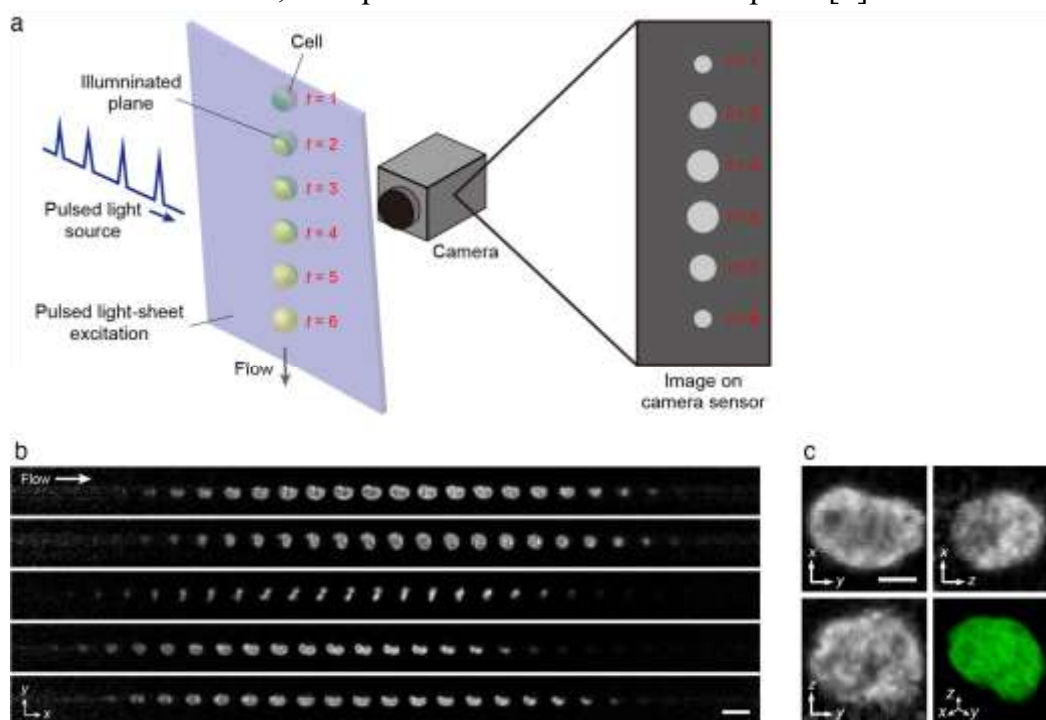
Ammo oqim holatidagi hujayralarning 3D tasvirini olish texnik jihatdan yanada murakkab. Aylanma diskli konfokal mikroskopiya yoki yorug‘lik varaqli mikroskopiya kabi usullar yordamida bu borada urinishlar bo‘lgan, biroq ularning o‘tkazuvchanligi 10 hujayra/sekunddan kam bo‘lib, amaliy skrining uchun yetarli emas. Bundan tashqari, bunday tizimlar yuqori aniqlikka ega bo‘lmas ekan, 2D asosli tizimlar bilan solishtirganda foydasi cheklangan bo‘ladi.

Yuqori tezlik va yetarli fazoviy aniqlikka ega bo‘lgan tizimlarga talab ortib borayotgan bir paytda, bu ehtiyojlarga javob beruvchi texnologiyalar paydo bo‘ldi. Ana shunday muvaffaqiyatli yondashuvlardan biri Han va Lo tomonidan ishlab chiqilgan fazoviy-vaqtli o‘zgartirish asosidagi 3D kengaytma bo‘ldi. Bu kamerasiz tizim 2D holatdagi fazoviy filtdan ilhomlangan bo‘lib, qo‘zg‘atish nurini chuqurlik yo‘nalishida skanerlaydi.

Parallel 3D tasvirlashning eng muhim ustunliklaridan biri — bu tasvirlash maydonidan o‘tayotgan barcha hujayralarni okklyuziyasiz, aniq ajratib olish imkoniyatidir. Oqim kanali optimal loyihalangan taqdirda, bu texnologiya har qanday konsentratsiyadagi hujayralarni tahlil qilish imkonini beradi. Ayniqsa, bu holat real qon namunalarida ko‘pincha uchraydigan hujayra klasterlarini aniqlashda foydalidir. Bunday klasterlar ikki o‘lchamli tasvirlash yondashuvlarida ko‘rinmas bo‘lib qolishi mumkin.

Shu bilan birga, parallel 3D tasvirlashning jiddiy cheklovlaridan biri shundaki, hujayralar oqim kanalida bir vaqtda harakatlanar ekan, ularni samarali ravishda ajratib olish yoki saralash imkoniyati keskin kamayadi. Sababi, bu kabi yondashuvlar real vaqtli qayta ishlashni talab etadi, bu esa murakkab muhandislik yechimlarini taqozo etadi.

Ushbu cheklovni yengish maqsadida, "fazoviy ma'lumotlarni o'zgartirish orqali optoflyuid yorug'lik varaqli tasvirlash" (FLITS) deb ataladigan yondashuv ishlab chiqilgan. Bu texnologiya yuqori tezlikda oqib o'tayotgan yakka hujayralarni 3D formatda tasvirlash imkonini beradi. FLITS texnikasida stroboskopik yorug'lik varaqi kanal oqimi yo'nalishiga nisbatan burchak ostida joylashtiriladi. Har bir yorug'lik impulsi oqayotgan hujayraning turli ko'ndalang kesimlarini yoritadi va kameraning yagona ekspozitsiyasi ushbu kesimlarni birlashtirib, to'liq uch o'lchamli tasvir hosil qiladi [8].



2-rasm. FLITS bilan yuqori tezlikdagi 3D IFC. a -Optik sxema. c,b - dagi yuqori tasvirdan katakning 3D qayta tiklangan tasviridan ko'ndalang kesim va izometrik ko'rinishi.

Kameralar uchun ishlab chiqarilagan yana bir 3D tasvirlash texnologiyasi yorug'lik maydoni oqim sitometriyasi hisoblanadi (2-rasm). Bu texnologiya Fure yorug'lik maydoni mikroskopi (Light Field Microscopy, LFM) deb ataladigan tasvirlash usulidan foydalanadi, u kamerada yorug'likning fazoviy-burchakli ma'lumotlarini yig'ib, 3D tasvirni qayta tiklash imkonini beradi. Bu usulda lyuminessent tasvir, epiflyuorescent mikroskopiya o'xshash sozlama bilan olinadi, faqat tasvir tekisligi naycha linzasi orqali boshqa linzadan o'tkaziladi va bu linzaning fokusida (Fure tekisligi deb ataladi) tasvirni kameraga fokuslaydigan mikrolinzalar to'plami joylashtiriladi. Fure yorug'lik maydoni mikroskopi hujayraning 3D tasvirini olish uchun faqat bitta ekspozitsiyani talab qilgani

sababli, yuqori oqim tezligi va o'tkazuvchanliklarida bu texnologiyani ishlatish imkoniyatini yaratadi [9].

Shunga qaramay, Fure yorug'lik maydoni mikroskopi turli chuqurliklarda notekis fazoviy ajrata olish qobiliyatidan aziyat chekadi. Rekonstruksiya qilingan tekislik fokus tekisligidan qanchalik uzoqlikda bo'lsa, ajrata olish qobiliyati shunchalik pasayadi. Bu, ayniqsa, yuqori NA (numerik aperture) qiymatlarida sezilarli bo'ladi, chunki fokusdagi ajrata olish qobiliyati bir necha yuz nanometrga yetishi mumkin, ammo fokusdan bir necha mikrometr uzoqlikda ajrata olish qobiliyati tez pasayadi. Shuning uchun diametri 10 mkm dan katta bo'lgan hujaykalarni ko'rsatilgan sharoitda yetarli darajada chuqurlik bo'yicha tasvirlash mumkinligi noma'lum. Shunga qaramay, agar konfiguratsiya vaziyatga qarab to'g'ri sozlangan bo'lsa, yorug'lik maydonidagi oqim sitometriyasi 3D tasvirlash uchun foydali usul bo'lishi mumkin.

Har bir hujayra uchun olingan ma'lumotlar miqdori va hujayra o'tkazuvchanligi o'rtasida doimo muvozanat mavjud. Boshqacha aytganda, 3D tasvirlar 2D tasvirlarga qaraganda pastroq o'tkazuvchanlikka ega bo'ladi, va yuqori aniqlikdagi tasvirlar past aniqlikdagi tasvirlarga qaraganda pastroq o'tkazuvchanlikka ega bo'ladi. Hatto bir xil usul doirasida ham ajratish qobiliyati va o'tkazish qobiliyati qiziqish tahlili asosida moslashtirilishi mumkin. Ya'ni, hujayraning nozikroq xususiyatlarini olishni talab qiladigan tahlil uchun ajratish qobiliyatini yo'qotish orqali o'shish mumkin, va bunday ajratishni talab qilmaydigan tahlil uchun ajratish qobiliyatini yuqori o'tkazish qobiliyatiga almashtirish mumkin [10].

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR VA RESUSLAR RO'YXATI:

1. Rattani, A., & Saxena, N. (2012). Biometric systems and their applications in health care. International Journal of Computer Science and Information Technology, 3(1), 45-51.
2. Woodward, J. D., Orlans, N. M., & Higgins, P. T. (2003). Biometrics: Identity Assurance in the Information Age. McGraw-Hill.
3. Belhumeur, P. N., Hespanha, J. P., & Kriegman, D. J. (1997). Eigenfaces vs. Fisherfaces: Recognition Using Class Specific Linear Projection
4. Zhao, W., Chellappa, R., Phillips, P. J., & Rosenfeld, A. (2003). Face Recognition: A Literature Survey
5. Face Recognition Using Machine Learning Algorithm Based on Raspberry Pi 4b. Abdul Fadlila, Denis Prayogib, 2022.

6. Viola, P., & Jones, M. (2001). Rapid Object Detection using a Boosted Cascade of Simple Features. 2001
7. Turk, M., & Pentland, A. (1991). Eigenfaces for Recognition. Journal of Cognitive Neuroscience, 3(1), 71-86.
8. Belhumeur, P. N., Hespanha, J. P., & Kriegman, D. J. (1997). Eigenfaces vs. Fisherfaces: Recognition using Class Specific Linear Projection. 19(7), 711-720.
9. Digital Image Processing- Rafeal C. Gonzalez, Richard E. Woods, 3rd Edition, Pearson, 2008
10. Digital Image Processing and analysis-human and computer vision application with using CVIP Tools – CRC Press, 2011.