

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Wydział Fizyki

Rozprawa doktorska

**Metoda ilościowego określenia zmian w morfologii gruczołów  
Meiboma**

mgr Kamila Ciężar

Promotor: dr hab. Mikołaj Pochylski, prof. UAM



Poznań 2023

*Autorka wyraża wdzięczność wszystkim, którzy przyczynili się do powstania niniejszej pracy doktorskiej, a w szczególności:*

*Promotorowi pracy, prof. UAM dr hab. Mikołajowi Pochylskiemu, za opiekę merytoryczną, za cenne uwagi, sugestie i zaangażowanie.*

*Pracownikom Zakładu Biofizyki Molekularnej oraz Pracowni Fizyki Widzenia i Optometrii UAM, za umożliwienie realizacji pracy doktorskiej, okazaną życzliwość oraz cenne porady.*

*Przyjaciółom, za cierpliwość i nieustające wsparcie.*

## *Spis Treści*

Streszczenie	5
Abstract	6
Wstęp	7
1. Podstawowe informacje dotyczące gruczołów Meiboma	12
1.1 Anatomia i fizjologia	12
1.2 Mechanizm transportu wydzieliny	15
1.3 Skład wydzieliny gruczołów Meiboma	16
1.4 Dysfunkcja gruczołów Meiboma	17
1.5 Choroba suchego oka	21
1.6 Diagnostyka choroby suchego oka	23
1.7 Diagnostyka dysfunkcji gruczołów Meiboma	26
1.8 Meibografia	30
1.9 Metody analizy obrazów meibograficznych	32
1.9.1 Subiektywne metody oceny obrazów meibograficznych	32
1.9.2 Obiektywne metody oceny obrazów meibograficznych	37
1.9.3 Korelacje wyników morfologii gruczołów Meiboma z parametrami przedniego odcinka oka oraz filmu łzowego	42
2. Pomiar własne obrazów meibograficznych	48
2.1 Uczestnicy badania	48
2.2 Konstrukcja meibografu	48
2.3 Rejestracja obrazów gruczołów Meiboma	50
2.4 Wstępna obróbka pozyskanych obrazów meibograficznych	53
2.5 Subiektywna klasyfikacja obrazów gruczołów Meiboma	55
3. Numeryczne metody przetwarzania i analizy danych	57
3.1 Cyfrowa analiza sygnałów	57
3.1.1 Dyskretna transformata Fouriera	57
3.1.2 Uogólnienie dyskretnej transformaty Fouriera do analizy sygnałów dwuwymiarowych	59
3.1.3 Krótkoczasowa transformata Fouriera	62
3.1.4 Uogólnienie krótkoczasowej transformaty Fouriera do analizy niestacjonarnych sygnałów dwuwymiarowych	64
3.1.5 Probabilistyczne ujęcie widmowej gęstości mocy	64
3.1.6 Konsekwencje skończonego rozmiaru gaussowskiego okna analizy	66
4. Analiza statystyczna korelacji w wielowymiarowych zbiorach danych	72
4.1 Analiza składowych głównych (ang. Principal Component Analysis, PCA)	72
4.2 Liniowa analiza dyskryminacyjna (ang. Linear Discriminant Analysis, LDA)	74
4.3 Automatyczna klasyfikacja obrazów gruczołów Meiboma	75

5.	Metoda ilościowego określenia zmian w morfologii gruczołów Meiboma	80
5.1	Analiza globalnych zmian w morfologii gruczołów Meiboma	80
5.1.1	Opis metody	80
5.1.2	Analiza statystyczna uzyskanych wyników	85
5.1.3	Automatyczna klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma	87
5.2	Analiza lokalnych zmian w morfologii gruczołów Meiboma	92
5.2.1	Opis metody	92
5.2.2	Wyznaczenie parametrów opisujących lokalne zmiany morfologii gruczołów Meiboma	95
5.2.3	Mapy parametrów morfometrycznych	99
5.2.3.1	Mapa średniej częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma, $q_0$	99
5.2.3.2	Mapa szerokości rozkładu częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma, $\sigma_q$	100
5.2.3.3	Mapa kąta orientacji gruczołów Meiboma, $\theta_0$	101
5.2.3.4	Mapa szerokości rozkładu kąta orientacji gruczołów Meiboma, $\sigma_\theta$	102
5.2.3.5	Mapa gradientu częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma, $G_q$	102
5.2.3.6	Mapa niespójności kątowej gruczołów Meiboma, $C_\theta$	103
5.2.3.7	Maska obszaru gruczołów Meiboma	105
5.2.4	Wyniki analiz	106
5.2.5	Przykład wykorzystania map morfometrycznych do zdefiniowania miar deformacji gruczołów Meiboma	108
5.2.6	Automatyczna klasyfikacja obrazów gruczołów Meiboma	110
6.	Dyskusja	120
7.	Podsumowanie	127
8.	Bibliografia	130
9.	Spis rysunków	141
10.	Spis tabel	144

## *Streszczenie*

Meibografia zyskuje coraz większe znaczenie w diagnostyce dysfunkcji gruczołów Meiboma, będącej jedną z głównych przyczyn choroby suchego oka. Według aktualnych doniesień, badanie to dostarcza wiele istotnych klinicznie informacji ułatwiających postawienie właściwej diagnozy oraz pozwalających na rozwijanie standardów postępowania terapeutycznego.

Ostatnie badania prezentują ogromne zainteresowanie rozwojem metod umożliwiających ilościowy opis struktur gruczołów Meiboma, m.in. wykorzystujących zaawansowane techniki analizy obrazów. Bez wątpienia, istotnym klinicznie parametrem jest obszar ubytku gruczołów Meiboma. Jednak, jak dowodzą najnowsze prace, analiza bardziej subtelnych zmian morfologicznych może być dodatkową pomocą w procesie diagnostycznym dostarczając cennych informacji związanych z patofizjologią dysfunkcji gruczołów Meiboma.

W ramach niniejszej pracy zaprojektowano i skonstruowano układ meibograficzny, który wykorzystano do pozyskania obrazów gruczołów Meiboma o różnym stopniu zaawansowania zmian morfologicznych. Każdy zarejestrowany obraz poddano analizie wykorzystując nowatorską metodę opartą na dwuwymiarowej transformacji Fouriera. Dzięki temu uzyskano obiektywną ilościową ocenę poziomu deformacji struktur gruczołów Meiboma na poziomie globalnym oraz lokalnym. Wartości liczbowe pozyskanych parametrów morfometrycznych wykorzystano do automatycznej klasyfikacji obrazów meibograficznych do jednej z trzech kategorii subiektywnych.

Uzyskane wyniki mogą zostać wykorzystane w procesie diagnostycznym dysfunkcji gruczołów Meiboma, dostarczając nowych parametrów opisujących ich morfologię. Co więcej, w przyszłości dane te mogą pomóc w ustaleniu standardów w diagnozie dysfunkcji tych gruczołów oraz ocenie skuteczności postępowania terapeutycznego.

## ***Abstract***

Meibography is gaining more and more importance as an ophthalmological diagnosis tool of the Meibomian gland dysfunction, which is a main cause of the dry eye disease. According to recent studies this technique provides information that is essential to both improve the treatment protocol and facilitate the diagnosis.

Recently, a significant progress has been made in establishing a quantitative description of the Meibomian gland structures with the use of advanced image analysis methods. There is a strong evidence that the measure of the gland atrophy (the well-established drop-out area) carries useful clinical information. However, some recent studies highlight that the analysis of the gland's morphological changes may be an additional invaluable aid in the diagnostic process. Moreover, it can also provide precise information related to the pathophysiology of the Meibomian gland dysfunction.

The purpose of this study was to design and construct a new meibographic system, which was then used to obtain Meibomian glands images with various level of morphological changes. Each collected image was analysed using a 2D Fourier transform-based innovative method providing detailed information on global and local deformation of the Meibomian gland structure. Such extracted Meibomian gland features were used to perform automatic classification of Meibomian glands images into one of three subjective categories.

The obtained results can be used in the diagnostic process of the Meibomian gland dysfunction, providing new parameters describing their morphology. Moreover, in the future, these data may help to establish standards in diagnosis and to evaluate the effectiveness of the therapeutic treatment.

## ***Wstęp***

Dysfunkcja gruczołów Meiboma (*ang. Meibomian Gland Dysfunction, MGD*) to przewlekłe zablokowanie ujść gruczołów Meiboma, któremu towarzyszą ilościowe i/lub jakościowe zmiany produkowanej wydzieliny. Schorzenie to może prowadzić do zapalenia brzegów powiek oraz zaburzeń stanu powierzchni oka, a także filmu łzowego [1,2]. Według dostępnych danych, dysfunkcja gruczołów Meiboma stanowi główną przyczynę występowania choroby suchego oka z nadmiernym odparowywaniem filmu łzowego (*ang. Evaporative Dry Eye, EDE*). Stan ten związany jest z utratą homeostazy filmu łzowego, a tym samym zaburzeniami stanu powierzchni gałki ocznej oraz nieprawidłowościami neurosensorycznymi [3]. Choroba suchego oka jest jednym z najczęściej diagnozowanych schorzeń w praktyce okulistycznej, ze znaczącym wzrostem występowania w ostatnich latach. Badania pokazują, że umiarkowana oraz ciężka postać choroby suchego oka związana jest ze znacznym bólem, ograniczeniem codziennych aktywności, obniżeniem ogólnego stanu zdrowia, a nawet depresją wśród pacjentów [3-4]. Podstawowe informacje odnośnie anatomii i fizjologii gruczołów Meiboma, jak również ich funkcji i dysfunkcji prowadzących do choroby suchego oka, przedstawiono w części pierwszej pracy.

Powszechność występowania choroby suchego oka oraz dolegliwość z tym związana uzasadnia silną potrzebę precyzyjnego określania stanu klinicznego gruczołów Meiboma w celu opracowania skuteczniejszych metod terapii. Należy zaznaczyć, że z uwagi na złożoność choroby suchego oka, nie istnieje pojedynczy test kliniczny umożliwiający właściwą diagnozę oraz dobór odpowiedniego postępowania terapeutycznego. W ostatnich latach dużo wysiłku włożono w opracowanie i rozpowszechnienie użycia mniej inwazyjnych lub bezinwazyjnych metod badania filmu łzowego oraz powierzchni oka, a także wykorzystywanie technik dostarczających ilościowych i obiektywnych informacji odnośnie stanu powierzchni oka i filmu łzowego [5]. Ważną innowacją w badaniach dysfunkcji gruczołów Meiboma było opracowanie metod bezkontaktowej meibografii w podczerwieni. Technika ta wykorzystuje źródło światła podczerwonego, filtry podczerwieni oraz kamerę połączoną z oprogramowaniem do zapisu i analizy uzyskiwanych zdjęć. Urządzenie to może stanowić moduł lampy szczelinowej bądź osobny sprzęt diagnostyczny. Samo badanie jest w pełni nieinwazyjne, bezpieczne i bezbolesne dla pacjenta. Bez wątpienia, obrazowanie gruczołów Meiboma stało się integralną częścią diagnostyki i leczenia choroby suchego oka oraz dysfunkcji gruczołów Meiboma, umożliwiając tym samym obserwację oraz ocenę zmian morfologii gruczołów Meiboma [6]. Większość badań meibograficznych prowadzi

się zazwyczaj z wykorzystaniem komercyjnych (czyt. kosztownych) i dedykowanych do tego celu aparatów. Okazuje się jednak, że konstrukcja takiego urządzenia nie musi być szczególnie skomplikowana, ponieważ o wartości diagnostycznej decyduje algorytm analizy obrazu. W badaniach prowadzonych w ramach niniejszej pracy zaprojektowano i zbudowano własne oprzyrządowanie umożliwiające rejestrację obrazów meibograficznych. Postawiono sobie za cel, aby urządzenie stanowiło moduł montowany na konwencjonalnej lampie szczelinowej, a wykonanie procedury rejestracji obrazu było szybkie i bezkontaktowe. Taka forma systemu obrazującego pozwala na łatwość adaptacji do standardowego wyposażenia gabinetu optometrycznego/okulistycznego, a dzięki znacznej redukcji kosztów urządzenia, badanie meibograficzne mogłoby zostać włączone do standardowej procedury diagnostycznej w kierunku choroby suchego oka oraz dysfunkcji gruczołów Meiboma [7-12]. Informacje odnośnie opracowania projektu urządzenia, jego wykonania oraz praktycznego wykorzystania zawarto w drugim rozdziale pracy.

Wzrost zainteresowania technikami meibografii przyczynił się do gwałtownego rozwoju metod umożliwiających analizę oraz klasyfikację uzyskiwanych obrazów meibograficznych. Pierwsze dostępne prace zajmujące się tym zagadnieniem prezentują subiektywne metody oceny obrazów struktury gruczołów Meiboma [13-20]. W tym przypadku trafność oceny obrazów meibograficznych opiera się przede wszystkim na doświadczeniu osoby badającej. Biorąc pod uwagę, że badanie meibografii jest procedurą dość nową i dopiero co wdrażaną w gabinetach optometrycznych/okulistycznych, należy spodziewać się, że wyniki zgodności oceny pomiędzy obserwatorami mogą się znacząco różnić. Wraz z upowszechnianiem meibografii, subiektywne i opisowe metody analizy obrazów meibograficznych zaczęły powoli ustępować miejsca technikom automatycznym i obiektywnym [21-28]. Jak wynika z wcześniej prowadzonych badań, metody obiektywne cechują się wysoką powtarzalnością i wiarygodnością oraz, co ważne z punktu widzenia klinicystów, krótkim czasem pozyskiwania, przetwarzania i interpretacji danych [21-28]. Dlatego też dalsze prace powinny zmierzać do ustalenia standardów w pełni automatycznej i obiektywnej analizy obrazów meibograficznych. Jednak w dalszym ciągu nie ma konsensusu w kwestii tego, które ze zmian morfologii gruczołów Meiboma są klinicznie istotne i powinny zostać analizowane. Najbardziej rozpowszechnioną i najczęściej wykorzystywaną obiektywną miarą stanu fizjologicznego gruczołów Meiboma jest tzw. obszar ubytku gruczołów Meiboma (*ang. Drop-Out Area, DOA*). Parametr ten, łatwy do oszacowania w sposób subiektywny jak i z wykorzystaniem technik obiektywnych, pozwala na zgrubne oszacowanie stanu dysfunkcji gruczołów Meiboma. Może on również pomóc



w doborze odpowiedniej procedury terapeutycznej [13-15,21-23,26-28]. Choć użyteczność parametru DOA w diagnozowaniu dysfunkcji gruczołów Meiboma została wielokrotnie potwierdzona, to od niedawna wiele uwagi zwraca się również na morfologiczne cechy gruczołów, tj. ich długość, szerokość, nieregularność czy też krętość [14-15,20-23,27-28]. Potencjalną przydatność tych cech gruczołów w praktyce klinicznej sugerują korelacje z parametrami powierzchni oka oraz parametrami filmu łzowego [10,18-21,25]. Kilka z badań wykazało trafność diagnozy choroby suchego oka oraz dysfunkcji gruczołów Meiboma opierając się na analizie ich zniekształceń [29-31]. Zwrócono również uwagę, że zanik gruczołów poprzedzany jest zmianami w ich kształcie. Zatem występowanie zmian morfologicznych może wskazywać na początkowe etapy dysfunkcji gruczołów Meiboma [29-31]. Co ważne, większość dostępnych badań w tym zakresie przeprowadzono wykorzystując przede wszystkim subiektywną ocenę obrazów meibograficznych.

Głównym celem przedstawionej pracy było opracowanie i przetestowanie nowej metody cyfrowej analizy obrazów meibograficznych pozwalającej na obiektywną i automatyczną ocenę poziomu zniekształcenia gruczołów Meiboma. Zadanie to jest znacznie bardziej złożone niż wyznaczenie obszaru ubytku gruczołów Meiboma (DOA), czego dowodem może być trudność w odnalezieniu w literaturze przykładów takiego podejścia. Główna trudność w określeniu stanu morfologicznego gruczołów Meiboma polega na konieczności zdefiniowania konkretnej (ilościowej) cechy powiązanej ze zniekształceniem gruczołów, której wartość można by stosunkowo prosto oszacować w sposób automatyczny.

Opracowana w ramach prezentowanej pracy metoda obiektywnej oceny morfologii gruczołów Meiboma bazuje na prostej obserwacji, że gruczoły tworzą na powierzchni powieki wzór pasów. Taka periodyczność i kierunkowość gruczołów uzasadnia wykorzystanie metody cyfrowej transformacji Fouriera jako najważniejszego narzędzia numerycznego. Podstawowe informacje dotyczące wykorzystanych w pracy metod numerycznych zamieszczono w rozdziale trzecim.

Metodę oceny stanu morfologicznego gruczołów Meiboma prowadzono na dwóch poziomach: globalnym i lokalnym. Pierwsza część badań, opisana w rozdziale piątym, dotyczyła obiektywnej analizy obrazów na poziomie globalnym. Podejście to pozwala określić wielkość kolektywnego zniekształcenia wszystkich gruczołów Meiboma w obrębie obrazowanej powieki. Otrzymane wartości liczbowe zdefiniowanych w tym celu parametrów morfologicznych pozwalają określić zachowanie całościowej (globalnej) struktury gruczołów, mimo że analiza nie koncentruje się na zachowaniu pojedynczych gruczołów, ani nie uwzględnia któregoś miejsca powieki zniekształcenie dotyczy.

Jednak według niektórych badań, postępowanie to może być niewystarczające do postawienia pełnej diagnozy, a co więcej poznania patofizjologii dysfunkcji gruczołów Meiboma. Zmiany morfologii gruczołów na różnych etapach ich dysfunkcji mogą różnić się dla poszczególnych obszarów powieki, tj. nosowego, centralnego oraz skroniowego. Warto zwrócić również uwagę na zmiany zachodzące w częściach dystalnych, centralnych oraz tuż przy brzegach powiek [26,32]. Dlatego też drugi etap badań dotyczył opracowania metody analizy obrazów gruczołów Meiboma na poziomie lokalnym, czyli z uwzględnieniem przestrzennej pozycji zniekształcenia. Taka szczegółowa analiza lokalna dostarcza znacznie więcej informacji niż metoda globalna. Z jej użyciem pojedyncze zdjęcie gruczołów Meiboma rozłożono na sześć łatwo interpretowalnych map, każda prezentująca przestrzenny rozkład ściśle zdefiniowanego parametru morfometrycznego. Szczegóły dotyczące procedury pozwalającej na wykonanie lokalnej analizy gruczołów Meiboma zamieszczono w rozdziale piątym.

Powyższe metody ilościowego określenia zmian w morfologii gruczołów Meiboma pozwalają na pozyskanie dużej bazy wartości wprowadzonych parametrów morfometrycznych. Chociaż zwiększanie informacji o przedmiocie badań wydaje się być właściwą strategią, to paradoksalnie jej nadmiar może sprawiać trudności interpretacyjne. Ten powszechny i dobrze zdiagnozowany problem związany jest z trudnością w poruszaniu się w dużych zbiorach danych, często zawierających parametry o niejednakowej użyteczności opisowej. Chociaż poszukiwanie korelacji między wieloma mierzonymi parametrami może być wyzwaniem dla człowieka, nie stanowi jednak problemu dla opracowanych w tym celu metod numerycznych [162-167]. W rozdziale czwartym opisano wykorzystane w pracy metody pomocne w analizie statystycznych korelacji w wielowymiarowych zbiorach danych. Wykorzystanie tych metod pozwoliło na znalezienie takich kombinacji liniowych mierzonych parametrów morfologicznych, których użyteczność w opisie poziomu zniekształcenia gruczołów Meiboma jest największa.

Jak w przypadku każdej nowatorskiej metody, również w przypadku tej opracowanej w ramach niniejszej pracy, pojawić powinno się pytanie odnośnie klinicznej użyteczności tak pozyskanych wielkości. Aby takową przydatność wykazać konieczne byłoby poszukiwanie korelacji między nimi a wartościami innych klinicznie istotnych wielkości (np. wynik badania funkcji gruczołów Meiboma, czas przzerwania filmu łzowego, czy też stan powierzchni oka). Taki dedykowany program badań, choć niezwykle pożądanym, wykraczał poza zakres obecnej pracy. W zamian postanowiono sprawdzić czy obiektywnie pozyskane wartości morfometryczne wykorzystać można do automatycznej klasyfikacji

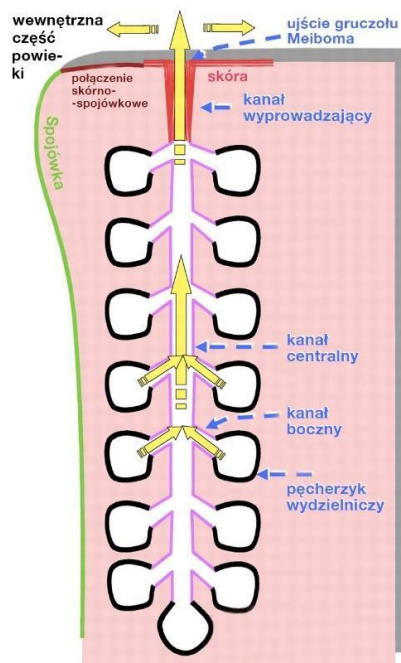
obrazów meibograficznych. Wykazanie efektywności takiego podejścia byłoby pośrednim potwierdzeniem klinicznej użyteczności opracowanej metody. Wskazywałoby bowiem, że obiektywnie i automatycznie oszacowane cechy morfometryczne korelują z decyzją podjętą przez wyspecjalizowanego optometrystę.

# 1. Podstawowe informacje dotyczące gruczołów Meiboma

## 1.1 Anatomia i fizjologia

Gruczoły Meiboma należą do grupy dużych gruczołów łojowych zlokalizowanych w tarczach powiek. Co ciekawe, w przeciwieństwie do większości gruczołów łojowych, nie posiadają połączenia z mieszkami włosowymi [1]. Około 1666 roku niemiecki fizjolog i anatom, Heinrich Meibom, jako jeden z pierwszych, dokonał szczegółowego opisu ich struktury anatomicznej [1,37]. Pierwsze wzmianki dotyczące gruczołów Meiboma pojawiły się w pracach jednego z najbardziej znanych rzymskich lekarzy, Galena, około 200 roku [1-38].

W budowie pojedynczego gruczołu Meiboma można wyróżnić skupiska pęcherzyków wydzielniczych, zawierających tzw. *meibocyty* (komórki wydzielające). Cechują się one charakterystycznym rozmieszczeniem wokół długiego kanałka centralnego. Wyżej wymienione struktury połączone są ze sobą za pomocą krótszych kanałków bocznych [39-41]. Rys. 1. przedstawia schemat gruczołu Meiboma.



Rys. 1. Schemat gruczołu Meiboma. [oscb-berlin.org](http://oscb-berlin.org), 14.03.22.

Grona wydzielnicze stanowią szczególny rodzaj gruczołów łojowych. Z uwagi na swoją budowę, podlegają holokrynowemu procesowi wydzielania. Schemat ten charakterystyczny jest dla gruczołów łojowych skóry. Polega on na produkcji wydzieliny wewnątrz komórek, ich rozpadzie oraz transporcie w kierunku światła przewodu. Co więcej,

pęcherzyki wydzielnicze cechują się charakterystycznym wydłużonym lub sferycznym kształtem o średnicy 150-200 $\mu\text{m}$  [42]. Każdy pęcherzyk wydzielniczy wypełniony jest komórkami wydzielającymi – *meibocytami*, rozmieszczonymi przede wszystkim w jego centralnej części. Meibocyty zlokalizowane w częściach peryferyjnych grona wydzielającego stanowią warstwę komórek odpowiedzialną za powstawanie nowych meibocytów. Charakteryzowane są one jako komórki prekursorowe, które pozwalają na ciągłe tworzenie nowych komórek [1, 42-43].

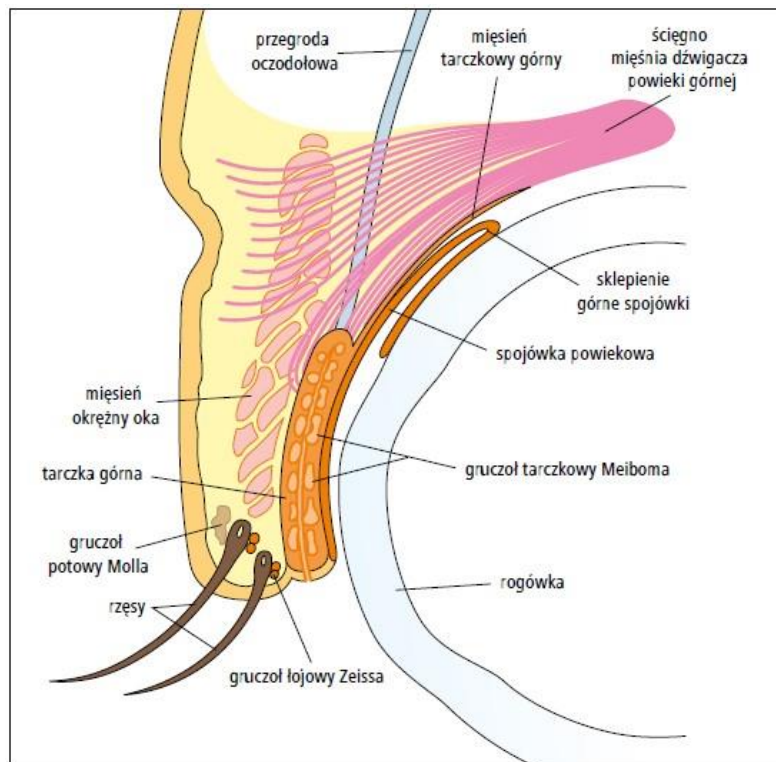
Budowa i ułożenie kanalika centralnego warunkuje jego funkcję polegającą na uwalnianiu zsyntetyzowanej wydzieliny na zewnątrz. Jedno z zakończeń kanalika jest trwale zamknięte oraz umieszczone w najbardziej wewnętrznych częściach tarczki powiek. Z kolei, drugie ma swoje ujście zlokalizowane w tylnym brzegu powieki, tuż przed połączeniem skórno-spojówkowym, co warunkuje dostarczanie wydzieliny w kierunku menisku łzowego. Warto dodać, że końcowa część kanalika centralnego, stanowiąca krótki kanał wydzielniczy, różni się w budowie od reszty przewodu. Wewnętrzne części jej przewodu wyłożone są naskórkiem, co umożliwia stworzenie ujścia przewodu, a następnie transport wydzieliny na zewnątrz [1, 44-45].

Kanalik centralny oraz kanaliki boczne wyłożone są wielowarstwowym nabłonkiem płaskim. Różnice stanowią długość przewodów oraz średnica światła naczyń. Kanaliki boczne osiągają długość około 150 $\mu\text{m}$ , zaś średnica światła wynosi w przybliżeniu od 30 do 50 $\mu\text{m}$  [1]. Zazwyczaj połączone są z jednym bądź większą ilością pęcherzyków wydzielniczych. Szacuje się, że średnica światła kanalika centralnego wynosi 100–150 $\mu\text{m}$ . Co więcej, kanalik centralny, przechodząc w końcową część wydzielniczą, ulega rozszerzeniu [40, 45-46].

Utrzymanie prawidłowego szkieletu powieki warunkowane jest przez tarczkę powieki. Tarczka powieki zlokalizowana jest zarówno w górnej jak i w dolnej powiece. Zbudowana jest z tkanki łącznej włóknistej o grubości około 1mm. Gruczoły Meiboma rozmieszczone są równolegle wzdłuż całej tarczki powieki górnej i dolnej. Co za tym idzie, obszar gruczołów odpowiada rozmiarowi powiek. Jak wiadomo, wielkość i kształt taczki powiek mogą być osobniczo zmienne. Różnice będą również obserwowane pomiędzy wielkością obszaru gruczołów Meiboma w powiece górnej i dolnej. Górna tarczka powieki przyjmuje charakterystyczny kształt półkola osiągając w najszerszej centralnej części wymiar około 1cm. Obserwuje się zawężenie obszaru tarczki w kierunku nosowym i skroniowym. W przypadku powieki dolnej nie odnotowuje się znaczących różnic pomiędzy wielkością

tarczki powieki w części centralnej, nosowej oraz skroniowej. Przyjmuje się średnią długość w całym obszarze wynoszącą około 0,5cm [1,40].

Doniesienia odnośnie liczby gruczołów zlokalizowanych w górnej powiece wskazują na zakres pomiędzy 25 a 41 [38, 45-46] ze średnią wartością wynoszącą 31 [46]. W przypadku powieki dolnej szacuje się mniejszą ich liczbę niż w przypadku powieki górnej, mianowicie zakres od 20 do 30 [38, 45] gruczołów, z uśrednioną wartością wynoszącą 26 [46]. Co ważne, obserwuje się, że gruczoły Meiboma w powiece dolnej są szersze niż te zlokalizowane w powiece górnej. Odnotowuje się również różnice w długości i objętości gruczołów Meiboma pomiędzy powieką górną i dolną. Gruczoły Meiboma zlokalizowane w centralnych częściach tarczki powiek osiągają długość około 5,5mm, z kolei w tarczach dolnej powieki około 2mm [38, 45-46]. Objętość gruczołów Meiboma w tarczce powieki górnej jest dwukrotnie większa niż w tarczce powieki dolnej. W literaturze najczęściej pojawiają się wartości wynoszące odpowiednio: powieka górna 26 $\mu$ l oraz powieka dolna 13 $\mu$ l [38, 45-46]. Kolejną cechą ilościową opisu gruczołów Meiboma jest liczba gron/pęcherzyków wydzielniczych występujących w pojedynczym gruczole. W przypadku powieki górnej wartość ta szacowana jest na 10-15 [38, 45]. Jak wiadomo, z uwagi na różnice w budowie anatomicznej liczba gron wydzielających w budowie pojedynczego gruczołu w dolnej powiece będzie niższa. Rys. 2. przedstawia lokalizację gruczołu Meiboma.



Rys. 2. Lokalizacja gruczołu Meiboma. *optometrist.com.au; 14.03.22.*

## ***1.2 Mechanizm transportu wydzieliny***

Mechanizm transportu wydzieliny stanowi wypadkową kilku procesów. Poprzez ciągłą produkcję *meibum* przez meibocyty zawarte w pęcherzykach wydzielniczych wytwarzane jest ciśnienie powodujące przesuwanie się wydzieliny poprzez kanalik boczny w kierunku kanałika centralnego. Kluczową rolę w transporcie odgrywa siła mięśniowa pochodząca z włókien mięśniowych mięśnia okrężnego oka oraz mięśnia Riolana. Mięsień okrężny oka, pokrywający od przodu tarczki powiek, bierze udział w transporcie poprzez wywieranie nacisku na wewnętrzne części gruczołów Meiboma. Proces ten indukowany jest mruganiem. Należy dodać, że nacisk wywierany jest przez tarczkę powieki, a włókna mięśniowe nie mają bezpośredniego kontaktu z gruczołami Meiboma [1, 47-48].

Włókna mięśniowe mięśnia Riolana zlokalizowane są wyłącznie wokół końcowej części kanałika centralnego – części wydzielniczej gruczołu Meiboma. Działanie mięśnia Riolana kontroluje wydzielanie *meibum* na zewnątrz poprzez zamykanie ujścia gruczołów Meiboma. Włókna mięśniowe mięśnia Riolana, w przeciwieństwie do włókien mięśniowych mięśnia okrężnego oka, zlokalizowane są jedynie wokół wydzielniczej części kanałika centralnego gruczołów Meiboma [1, 47-48].

Przypuszcza się, że oba mięśnie działają w sposób antagonistyczny, tzn. skurcz mięśnia okrężnego oka powstały w wyniku mrugnięcia powoduje nacisk tarczki powieki na gruczoły Meiboma, doprowadzając do przesuwania się wydzieliny. W tym czasie dochodzi do relaksacji mięśnia Riolana, który otwiera ujście gruczołów Meiboma, powodując dostarczenie wydzieliny do filmu łzowego. Z kolei w przypadku relaksacji mięśnia okrężnego oka, pomiędzy mrugnięciami, dochodzi do skurczu mięśnia Riolana, który blokuje wypływ wydzieliny. Dodatkowo może to stanowić mechanizm zabezpieczający przed nadmiernym, niekontrolowanym wydzielaniem *meibum*, np. podczas snu [1, 43, 47-48].

Badania wykazały, że podczas pojedynczego mrugnięcia uwolnienie treści łojowej nie następuje ze wszystkich gruczołów powieki dolnej i górnej w tym samym stopniu. Wydzielanie jest najintensywniejsze w części przynosowej, a najsłabsze w obszarze skroni. Na tej podstawie łatwo odnaleźć wyjaśnienie wyższej częstotliwości występowania zmian retencyjnych w zewnętrznych częściach szpary powiekowej [49-54].

Do głównych czynników regulujących funkcję gruczołów Meiboma zalicza się hormony (*androgeny, estrogeny, progesteron, kwas retinowy, czynniki wzrostu* oraz neuroprzekaźniki (*epinefryna, acetylocholina*) [1]. Androgeny regulują funkcję gruczołów

Meiboma poprzez stymulację ekspresji genów oraz pobudzenie produkcji lipidów. Zapobiegają również procesowi keratynizacji komórek nabłonka [55-58]. Działanie estrogeny wpływa z kolei na zahamowanie procesu wytwarzania i uwalniania treści łojowej [59-60]. Przyjmuje się, że progesteron wykazuje pozytywne działanie na regulację ekspresji i wydzielania meibum. Potrzeba dalszych badań nad procesami sterowanymi przez dany hormon oraz poprzez oddziaływanie kompleksu progesteron/estrogen [61-63]. Działanie kwasu retinowego związane jest z hamowaniem wzrostu i rozwoju komórek łojowych oraz ze zmniejszoną produkcją lipidów. W konsekwencji może prowadzić do zapalenia brzegów powiek oraz do zapalenia spojówek [64]. W komórkach łojowych dochodzi do przekształcenia kwasu retinowego w formę *13-cis* izotretynoinę. Forma ta odpowiedzialna jest za keratynizację przewodów wydzielniczych gruczołów Meiboma oraz hamowanie namnażania oraz zmniejszenie wielkości pęcherzyków wydzielniczych gruczołów Meiboma [1, 65-66]. Do innych czynników zalicza się również epinefrynę, przyczyniającą się do nadmiernego rogowacenia komórek nabłonka, a co za tym idzie do zaczopowania ujść gruczołów Meiboma oraz rozszerzenia struktur gruczołów Meiboma [67-68].

Gruczoły Meiboma, w przeciwieństwie do innych gruczołów łojowych, posiadają wyraźne unerwienie w postaci gęstej siatki niezmielinizowanych splotów nerwowych wokół pęcherzyków wydzielniczych oraz przewodów wyprowadzających. Dokładny mechanizm ich działania nie jest jednak poznany. Badania wskazują na obecność neurotransmitera acetylocholin, aktywnej w procesie uwalniania wydzieliny łojowej. To sugeruje, że proces ten regulowany jest przez podukład autonomicznego układu nerwowego – układ przywspółczulny [1, 45, 69-70].

### ***1.3 Skład wydzieliny gruczołów Meiboma***

Skład wydzieliny produkowanej przez gruczoły Meiboma to przede wszystkim, stanowiące 95% całkowitej zawartości, lipidy niepolarne. Zaliczamy do nich estry wosku, estry cholesterolu oraz niewielką ilość trójglicerydów. Pozostałe 5% stanowią lipidy polarne, tj. lipidy amfipatyczne oraz fosfolipidy [71-73].

Szczegółowa charakterystyka wskazuje, że lipidy niepolarne to w 30–50mol% estry wosku, 30–45 mol% estry cholesterolu oraz około 2% trójglicerydów [74-75]. Ludzkie meibum składa się również z niewielkich ilości wolnego cholesterolu <0,5mol% oraz fosfolipidów, które stanowią <0,01mol% [74, 76]. Zawartość lipidów amfipatycznych,



pośród których dominuje OAHFA (kwasy O-acylowe- $\omega$ -hydroksytłuszczowe), wynosi 4 mol%. Jest on uważany za główny surfaktant w warstwie lipidowej filmu łzowego [77].

Do niedawna sądzono, że gruczoły Meiboma odpowiedzialne są za produkcję wszystkich składowych warstwy lipidowej filmu łzowego w jednakowym stopniu. Jednak, jak donoszą badania porównujące zawartość poszczególnych komponentów w filmie łzowym oraz w meibum, wartości te są bardzo zbliżone dla wszystkich elementów, z wyjątkiem fosfolipidów. Większa ich zawartość w filmie łzowym sugeruje, że część z nich może pochodzić z warstwy wodno-mucynowej. Rola fosfolipidów w procesie tworzenia warstwy lipidowej jest aktualnie obiektem badań [71, 74, 76].

Ciekawym zagadnieniem jest zmienność profilu lipidowego meibum wraz z wiekiem oraz w przebiegu dysfunkcji gruczołów Meiboma, a także zaburzeń filmu łzowego związanego z chorobą suchego oka. U pacjentów z chorobą suchego oka obserwuje się spadek OAHFA, natomiast jego ilość wzrasta wraz z wiekiem [76, 78-79].

W wynikach widoczna jest jednak pewna tendencja, potwierdzająca złożoność choroby suchego oka. Mianowicie zauważa się różnice pomiędzy zawartością lipidów niepolarnych w zależności od stopnia zaawansowania choroby suchego oka. Różnica ta jest widoczna w fazie łagodnej i umiarkowanej, jednak już nie w fazie średniej i ciężkiej choroby suchego oka. Różnice w składzie lipidów polarnych odnotowuje się z kolei w fazie pośredniej i ciężkiej choroby [39, 41, 80-82].

Prawidłowe uwalnianie wydzieliny łojowej możliwe jest przy zachowaniu odpowiedniej temperatury topnienia tłuszczów pomiędzy 25 a 32°C [81-83]. Temperatura powieki wpływa nie tylko na stan skupienia wydzieliny, ale również na jej lepkość. Wydzielina łojowa należy do cieczy nienewtonowskich, co oznacza, że jej lepkość zmienia się w zależności od przyłożonej siły. Badania wykazały wartość lepkości dla meibum w zakresie 9,7–19,5Pa s. Mruganie powoduje spadek wartości lepkości, co przyczynia się do łatwiejszego uwalniania wydzieliny [84].

### ***1.4 Dysfunkcja gruczołów Meiboma***

Dysfunkcja gruczołów Meiboma (*ang. Meibomian Gland Dysfunction, MGD*) jest przewlekłym, rozlanym zaburzeniem gruczołów Meiboma. Zwykle charakteryzuje się zamknięciem ujść gruczołów Meiboma oraz zmianami jakościowymi i/lub ilościowymi w produkowanej z ich udziałem wydzielinie. Stan ten skutkuje zaburzeniami filmu łzowego,

objawami podrażnienia oka, widocznymi klinicznie stanami zapalnymi powierzchni oka i/lub brzegów powiek oraz chorobami powierzchni oka [85].

W opisie dysfunkcji gruczołów Meiboma zwraca się szczególną uwagę na przewlekły charakter tego zaburzenia. Z kolei określenie rozlany wskazuje, że zaburzenie w przeważającej ilości przypadków dotyczy większości gruczołów Meiboma. Obserwacja ta wskazuje, że analiza dysfunkcji gruczołów Meiboma, w szczególności analiza morfologii gruczołów Meiboma, powinna być prowadzona na poziomie globalnym, co pozwala na pozyskanie informacji o zmianach wszystkich gruczołów w obrębie analizowanej powieki. Następnie, diagnostyka mogłaby zostać rozszerzona o przestrzenną lokalizację obserwowanych zmian. Zmiany w obrębie gruczołów Meiboma, np. gradówka, nie stanowią czynników prowadzących do zaburzeń filmu łzowego lub powierzchni oka, dlatego nie powinny być rozpatrywane jako dysfunkcja gruczołów Meiboma. Niedrożność przewodów gruczołów łojowych wyprowadzających oraz obecność zmian ilościowych i/lub jakościowych wydzieliny stanowią najbardziej rozpoznawalne cechy dysfunkcji gruczołów Meiboma. Bez wątplenia, dysfunkcja gruczołów Meiboma jest jedną z najczęstszych przyczyn choroby suchego oka [3-4, 85-86].

Należy nadmienić, że w początkowym etapie, zaburzenie to może przebiegać bezobjawowo (stan subkliniczny, utajony), stopniowo przechodząc do zaawansowanej formy z nasileniem dolegliwości oraz widocznymi zmianami klinicznymi w obrębie brzegów powiek, powierzchni oka oraz jakościowymi i/lub ilościowymi zmianami uwalnianej wydzieliny [2, 73, 85-86].

Problemem dysfunkcji gruczołów Meiboma po raz pierwszy zajęto się w pracach Korba i Henriqueza [87-88]. Badacze zwrócili uwagę na wpływ dysfunkcji gruczołów Meiboma na zaburzenia filmu łzowego, a tym samym potrzebę klasyfikacji danego schorzenia. Przyjmuje się, że w początkowej fazie zaburzenie to przyjmuje charakter funkcjonalny, prowadząc do utrudnienia w uwalnianiu wydzieliny. Postać kliniczna obejmuje zmiany w obrębie gruczołów Meiboma, które mogą być nieodwracalne [73, 2, 85-88].

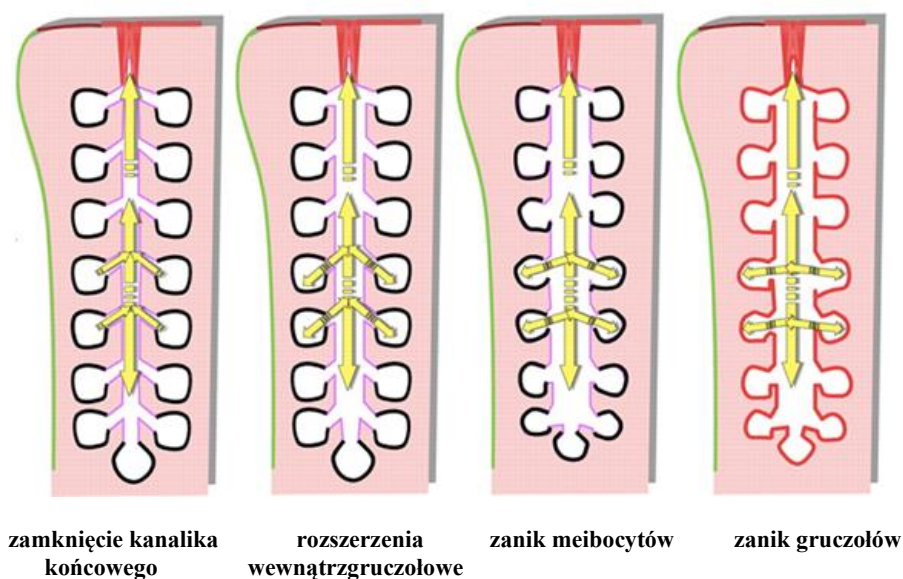
Wyróżnia się dwie postaci dysfunkcji gruczołów Meiboma. Pierwsza z nich, to stan nadmiernego wydzielania, dysfunkcja gruczołów Meiboma z hipersekrecją, związany z uwalnianiem nadmiernej ilości wydzieliny łojowej na brzegach powiek. Odnotowywany jest jednak bardzo rzadko, najczęściej jako zaburzenie współistniejące, u pacjentów z łojotokowym zapaleniem skóry lub z trądzikiem różowatym. Diagnoza opiera się na ocenie ilości oraz jakości wytwarzanego meibum w badaniu w lampie szczelinowej. Badanie

wykonuje się palpacyjnie, bądź przy użyciu odpowiednich przyrządów do ekspresji gruczołów Meiboma [1, 2, 85-86, 89].

Kolejna postać dysfunkcji gruczołów Meiboma związana jest z niedostatecznym wydzielaniem meibum. Wyróżnia się dwa stany związane z niedostateczną ilością wydzieliny łojowej na brzegach powiek, tj. bez widocznego zamknięcia ujść gruczołów, a także z zamknięciem przewodów wyprowadzających gruczołów Meiboma, tzw. forma obstrukcyjna. Spośród wszystkich typów dysfunkcji gruczołów Meiboma, najczęściej odnotowuje się obstrukcyjną formę dysfunkcji gruczołów Meiboma. Badania pokazują także, że zaburzenie to stanowi dominującą przyczynę choroby suchego oka związaną z nadmiernym odparowywaniem filmu łojowego [73, 90-92].

Obstrukcyjna forma dysfunkcji gruczołów Meiboma może przyjmować stan bliznowaciejący oraz niebliznowaciejący. W pierwszej z form dochodzi do przemieszczenia ujść wyprowadzających gruczołów Meiboma w kierunku połączenia skórno-spojówkowego, co w rezultacie zakłóca dostarczanie wydzieliny lipidowej do filmu łojowego [73, 90]. Jako przyczynę pierwotną formy bliznowaciejącej wymienia się zmiany w obrębie morfologii kanalika wydzielniczego: wydłużenie i zwężenie części wydzielniczej. Innych źródeł zaburzenia można dopatrywać się we współistniejących chorobach skóry, do których zaliczamy jaglicę, rumień wielopostaciowy oraz atopowe zapalenie skóry [90].

Forma niebliznowaciejąca związana jest z zaczopowaniem ujść gruczołów Meiboma, powstałym w procesie keratynizacji końcowej części przewodu wyprowadzającego gruczołu Meiboma, podczas gdy pozycja i rozmieszczenie ujść gruczołów Meiboma pozostają niezmiennie. Zablockowanie przewodów wyprowadzających może być dodatkowo nasilane poprzez wzrost lepkości treści łojowej, który jest rezultatem zmian składu lipidowego wydzieliny [73, 81, 90, 93]. W procesie niebliznowaciejącej formy dochodzi do zablokowania systemu kanałów wyprowadzających gruczołów Meiboma. W konsekwencji obserwuje się zmiany w morfologii gruczołów, między innymi poszerzenie czy też zniekształcenie struktur gruczołów, a w bardziej zaawansowanych etapach ich zanik (atrofię) [6, 43, 73, 94]. Rys. 3. przedstawia schemat tych zmian.



**Rys. 3. Schemat zmian morfologii gruczołów Meiboma w przebiegu dysfunkcji gruczołów Meiboma.** *oscb-berlin.org, 14.03.22.*

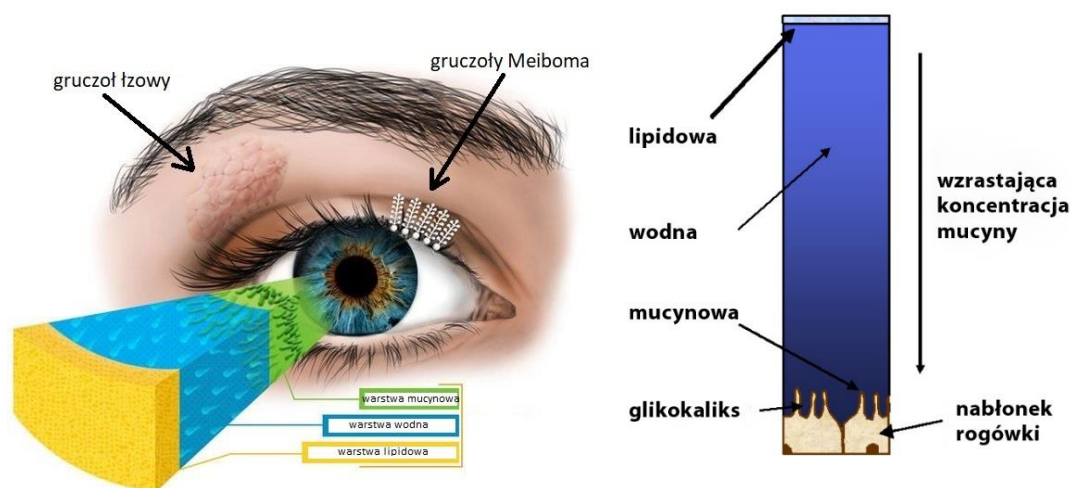
Ta forma dysfunkcji gruczołów Meiboma występuje wśród pacjentów ze zdiagnozowanymi chorobami skóry, takimi jak trądziki różowaty, łojotokowe lub atopowe zapalenie skóry oraz u pacjentów z zaburzeniami gospodarki hormonalnej. Kluczową rolę odgrywają tu zmiany zachodzące wraz z wiekiem. Zauważono również, że wybrane preparaty wykorzystywane w terapii jaskry mogą przyczyniać się do powstawania tej formy dysfunkcji gruczołów Meiboma [73].

Tak jak wspomniano już wcześniej, dysfunkcja gruczołów Meiboma stanowi główny czynnik ryzyka choroby suchego oka. Biorąc pod uwagę złożoność oraz powszechność występowania tej jednostki chorobowej, kolejne podrozdziały będą koncentrowały się na tym zagadnieniu. Omówiona zostanie również dokładna diagnostyka dysfunkcji gruczołów Meiboma. W pracy starano się podkreślić złożoność tego zagadnienia, dlatego omówione zostaną testy diagnostyczne dotyczące funkcji gruczołów Meiboma oraz możliwości rejestracji i analizy morfologii gruczołów Meiboma. O ile testy badające funkcję gruczołów Meiboma są w znacznej mierze ustandaryzowane, tak nadal brakuje standardów analizy i oceny zmian morfologicznych obserwowanych w przebiegu dysfunkcji gruczołów Meiboma.

## 1.5 Choroba suchego oka

Według dostępnych danych, choroba suchego oka (*ang. Dry Eye Disease, DED*) stanowi jedną z najczęstszych przyczyn wizyt pacjentów u specjalistów ochrony wzroku [3-4]. Schorzenie to opisywane jest jako wieloczynnikowa choroba powierzchni oka, charakteryzująca się utratą homeostazy filmu łzowego i objawami, w których etiologiczną rolę odgrywają niestabilność filmu łzowego, zwiększona osmolarność, stan zapalny powierzchni oka i nieprawidłowości neurosensoryczne [3-4].

Film łzowy opisywano jako strukturę składającą się z trzech warstw, tj. warstwa mucynowa, wodna oraz lipidowa [95]. Koncepcja ta została jednak uaktualniona i przedstawiona w 2017 w obszernym raporcie dotyczącym choroby suchego oka (*ang. Tear Film and Ocular Surface Society, TFOS*) [3]. Według najnowszych doniesień struktura filmu łzowego składa się z warstwy wodno-mucynowej, pokrytej cienką powierzchniową warstwą lipidową. Uznano, że granica między warstwą wodną i mucynową nie istnieje, i że tworzą one jedną warstwę, w której koncentracja mucyny wzrasta w kierunku nabłonka rogówki [3-4]. Warstwa wodno-mucynowa zawiera w swoim składzie przede wszystkim białka, między innymi lipokalinę, lizozym, laktoferynę. Dodatkowo, wyróżniono również cztery główne typy białka mucynowego (mucyny wolne oraz mucyny związane z nabłonkiem rogówki tworzące glikokaliks) oraz ponad 1500 innych białek i peptydów [3-4, 76]. Na rys. 4. zaprezentowano schemat warstwy filmu łzowego.



**Rys. 4. Budowa filmu łzowego.** [nei.nih.gov/health/dryeye/dryeye](http://nei.nih.gov/health/dryeye/dryeye), 14.03.22.

Szacuje się, że grubość warstwy lipidowej wynosi ok. 42nm [96], z kolei cała warstwa filmu łzowego to ok. 6-7 $\mu$ m [97-98]. W tabeli 1. zebrano fizykochemiczne właściwości

filmu łzowego. Główną rolą warstwy lipidowej jest obniżanie jego napięcia powierzchniowego. Badania koncentrują się również na roli warstwy lipidowej w zapobieganiu odparowywaniu filmu łzowego oraz wydłużaniu czasu przetrwania filmu łzowego. Najnowsze prace sugerują, że procesy te nie powinny być analizowane w wyodrębnionej warstwie lipidowej, a raczej opisywane w szerszej perspektywie uwzględniającej pozostałe składniki filmu łzowego i interakcję między nimi [3, 76, 99].

W klasyfikacji choroby suchego oka główną rolę odgrywa jej etiologia. Wyróżnia się chorobę suchego oka z niedostatecznym wydzielaniem łez (*ang. Aqueous Deficiency Dry Eye, ADDE*) oraz chorobę suchego oka z nadmiernym odparowywaniem filmu łzowego (*ang. Evaporative Dry Eye, EDE*) [3-4]. W pierwszym przypadku mówimy o zaburzeniach obserwowanych w przebiegu zespołu Sjögrena oraz innych dysfunkcjach gruczołów łzowych, np. brak odruchu wydzielania, zatkanie przewodów wyprowadzających, wpływ przyjmowanych leków na proces produkcji i wydzielania. Choroba suchego oka związana z nadmiernym odparowywaniem filmu łzowego można podzielić na powodowane czynnikami zewnętrznymi i wewnętrznymi. Czynniki zewnętrzne obejmują między innymi noszenie soczewek kontaktowych, alergie czy też czynniki środowiskowe. Natomiast do czynników wewnętrznych zalicza się anomalie powiek oraz dysfunkcję gruczołów Meiboma. Zaburzenia w obrębie warstwy lipidowej filmu łzowego, m.in. zmiany jej składu czy też jej ścięczenie, powodowane są przede wszystkim występowaniem dysfunkcji gruczołów Meiboma i to właśnie to schorzenie podaje się jako główny czynnik prowadzący do choroby suchego oka związanego z nadmiernym odparowywaniem filmu łzowego [3-4, 76].

Należy zaznaczyć, że choroba suchego związana z niedostatecznym wydzielaniem łez oraz stan związany z nadmiernym odparowywaniem filmu łzowego mogą występować równocześnie. Wskazuje to na potrzebę precyzyjnej diagnostyki, która wskaże najbardziej prawdopodobną przyczynę, umożliwiając tym samym wdrożenie najskuteczniejszej terapii [3-4]. Procedury diagnostyczne omówione zostały w kolejnym podrozdziale.

**Tab. 1. Fizykochemiczne właściwości filmu łzowego.**

<b>Parametr</b>	<b>Wartość</b>
<b>pH</b>	7,45
<b>Osmolarność</b>	295-309 mOsmol/l
<b>Objętość</b>	7 $\mu$ l
<b>Współczynnik załamania światła</b>	1,336

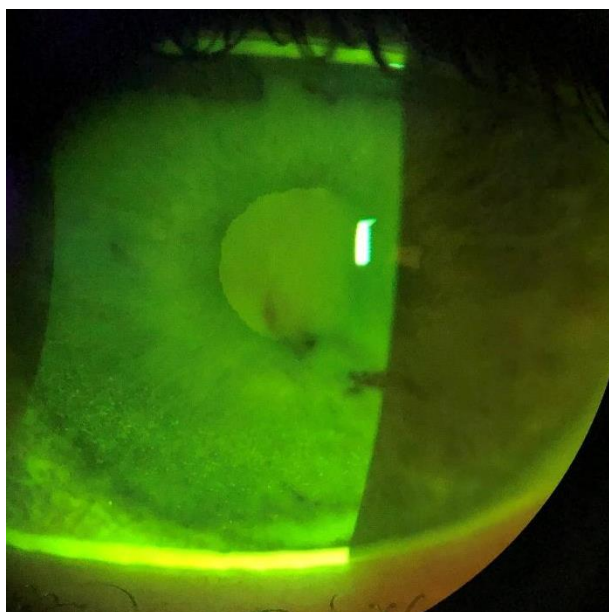
### ***1.6 Diagnostyka choroby suchego oka***

Diagnostyka suchego oka staje się nieodłącznym elementem codziennej praktyki okulistycznej/optometrycznej. Biorąc pod uwagę złożony charakter tego zaburzenia, wykonanie jednego testu nie jest wystarczające do właściwego rozpoznania. Doskonalszych jest wiele badań diagnostycznych oraz pojawiają się liczne nowoczesne techniki obrazowania przedniego odcinka oka oraz badania filmu łzowego. Nieodłącznym elementem diagnostyki choroby suchego oka powinien być również obszerny wywiad z pacjentem uwzględniający czynniki ryzyka i charakter dolegliwości [100].

Wywiad z pacjentem powinien zostać rozszerzony o specjalnie zaprojektowane kwestionariusze ewaluacyjne. Jednym z najpopularniejszych i zarazem najbardziej złożonym jest Wskaźnik Schorzeń Powierzchni Oka (*ang. Ocular Surface Disease Index, OSDI*) [100]. Nieco uproszczona wersja to Kwestionariusz Suchego Oka (*ang. Dry Eye Questionnaire, DEQ-5*) [101]. Kwestionariusz ewaluacyjny pozwala na szybką oraz ilościową (każdej odpowiedzi udzielanej przez pacjenta przypisuje się odpowiednie wartości) ocenę objawów subiektywnych. Warto podkreślić, że same kwestionariusze nie zastąpią obszernego wywiadu z pacjentem i zwrócenia uwagi na czynniki ryzyka choroby suchego oka obejmujące między innymi choroby ogólnoustrojowe, czynniki demograficzne czy też środowisko pracy pacjenta [102].

Kolejnym etapem jest ocena jakości oraz ilości filmu łzowego, badanie stanu powierzchni oka oraz powiek. Jakość filmu łzowego określana jest poprzez jego stabilność na powierzchni oka, charakteryzowana poprzez czas przzerwania filmu łzowego (*ang. Tear Film Break-Up Time, TBUT*). Dysponuje się metodami pozwalającymi wyznaczyć ten parametr zarówno w sposób inwazyjny jak i nieinwazyjny. Badanie nieinwazyjne

przeprowadza się z użyciem dedykowanych do tego urządzeń, np. Tearscope czy Oculus Keratograph 5M, lub z wykorzystaniem innych urządzeń okulistycznych pozwalających na rzutowanie oraz obserwację obrazów (najczęściej krążków Placido) na powierzchnię oka, np. w badaniu z wykorzystaniem autorefraktometru [102-104]. Badanie inwazyjne polega na podaniu do worka spojówkowego roztworu fluoresceiny, a następnie na obserwacji filmu łzowego w lampie szczelinowej oraz zmierzenie czasu utrzymywania się stabilnej, wybarwionej warstwy filmu łzowego na powierzchni oka. Rys. 5. przedstawia obraz po wybawieniu powierzchni oka fluoresceiną i pomiarem inwazyjnym czasu przzerwania filmu łzowego. Rekomendowane jest wykorzystywanie nieinwazyjnych technik pomiaru czasu przzerwania filmu łzowego [105].



**Rys. 5. Inwazyjny pomiar czasu przzerwania filmu łzowego.**

Pomiar ilości filmu łzowego wykonuje się z wykorzystaniem testu Schirmera, rys. 6. Należy jednak zaznaczyć, że technika ta obarczona jest dużym błędem pomiarowym wynikającym z dużej inwazyjności badania. Procedura polega na aplikacji cienkiego paska filtracyjnego (szerokość 5mm, długość 35mm) w załamek powieki dolnej w części skroniowej. Po wyznaczonym 5min. czasie pomiaru odczytuje się poziom zwilżenia, wskazujący na ilość filmu łzowego. Przyjmuje się, że w badaniu bez wcześniejszego znieczulenia oka, wynik poniżej 10mm jest nieprawidłowy. Znieczulenie ma na celu wyeliminowania odruchowego wydzielenia łez [105].

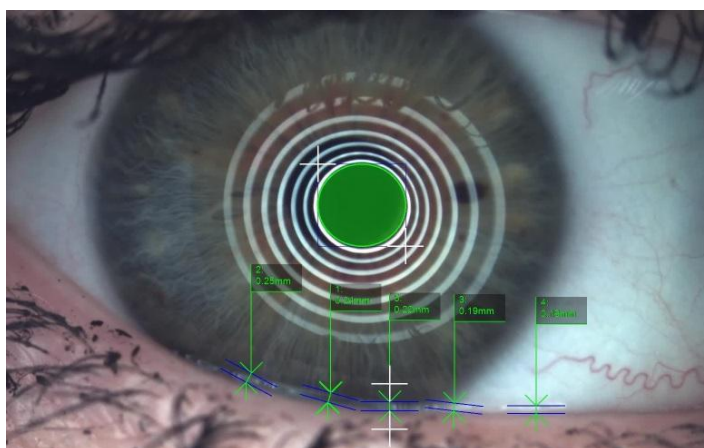




**Rys. 6. Procedura wykonywania testu Schirmera.**

[www.mp.pl/pacjent/badania\\_zabiegi/68601,test-schirmera](http://www.mp.pl/pacjent/badania_zabiegi/68601,test-schirmera), 14.03.2022

Badanie objętości łez można przeprowadzić także z wykorzystaniem lampy szczelinowej. W tym celu wykonuje się pomiary wysokości dolnego i górnego menisku łzowego. Badanie pokazały, że największą wartość diagnostyczną ma pomiar wysokości dolnego menisku łzowego w części centralnej powieki, rys. 7. Oczekiwane wartości wynoszą ok. 0,2mm. Dodatkowo należy zwrócić uwagę na profil menisku łzowego. W przypadku pacjentów z suchym okiem charakterystyczne są nieregularności oraz pofałdowania [106]. Do oszacowanie objętości filmu łzowego coraz częściej wykorzystuje się badanie z wykorzystaniem optycznej tomografii koherencyjnej (*ang. Optical Coherence Tomography, OCT*) [107].



**Rys. 7. Obserwacja dolnego menisku łzowego.**

Kolejne badania diagnostyczne powinny obejmować ocenę przedniego odcinka oka według dostępnych skal stopniujących, między innymi skali Efrona lub skali Oxford (*ang. Skala Oxford, National Eye Institute*) [108-110]. W diagnostyce choroby suchego oka należy przede wszystkim zwrócić uwagę występowanie tzw. fałdów spojówkowych,

zlokalizowanych przy brzegu dolnej powieki (*ang. Lipid Parallel Conjunctival Folds, LIPCOF*) [111].

Zaleca się stosowanie barwników diagnostycznych: fluoresceiny (w szczególności do obserwacji rogówki) oraz zieleni lizaminowej (do obserwacji spojówki gałkowej oraz powiekowej oraz brzegów powiek). Dystrybucja barwienia świadczy o etiologii uszkodzenia powierzchni oka. W chorobie suchego oka najczęściej obserwowane obszary barwienia będą znajdowały się w dolnych obszarach podpowiekowych rogówki oraz spojówki. Intensywność będzie zmieniała się od pojedynczych rozrzuconych punktów do zlewających się obszarów barwienia [112]. Intensywność barwienia powinna być oceniana według dostępnych skal stopniujących [108-110].

Badanie osmolarności filmu łzowego uważa się, że jedną z najbardziej istotnych procedur diagnostycznych choroby suchego oka. Charakterystyczny dla choroby suchego oka jest znaczący wzrost wartości osmolarności płynu łzowego, dodatkowo bardzo często obserwuje się również różnice pomiędzy wartościami uzyskanymi dla obojga oczu. Wartości oczekiwane osmolarności to 308mOsm/l, a różnica odczytów pomiędzy obojgiem oczu nie powinna przekraczać 8mOsm/l. Badanie osmolarności łez polega na pobraniu próbki łez z dolnego menisku łzowego (szacuje się, że ok. nanolitrowej próbki łez), a następnie analizę w dedykowanym urządzeniu [113].

Kolejne testy diagnostyczne powinny obejmować ocenę powiek, rzęs oraz warstwy lipidowej filmu łzowego [110]. Zaburzenia w obrębie tych struktur mogą wskazywać na występowanie dysfunkcji gruczołów Meiboma, która stanowi główną przyczynę choroby suchego oka związanej z nadmiernym odparowywaniem filmu łzowego. Szacuje się, że dysfunkcja gruczołów Meiboma stanowi jedno z najczęściej obserwowanych schorzeń okulistycznych [2-3]. Badanie diagnostyczne choroby suchego oka przy podejrzeniu występowania dysfunkcji gruczołów Meiboma powinno zostać rozszerzone o dodatkowy zestaw testów diagnostycznych. Z uwagi na złożoność tego zagadnienia, dokładna diagnostyka dysfunkcji gruczołów Meiboma omówiona zostanie w kolejnym podrozdziale.

### ***1.7 Diagnostyka dysfunkcji gruczołów Meiboma***

Należy zaznaczyć, że w przypadku diagnostyki dysfunkcji gruczołów Meiboma nie istnieje pojedynczy test kliniczny, umożliwiający właściwe rozpoznanie, a następnie dobranie na jego podstawie odpowiedniego postępowania terapeutycznego. Diagnostyka dysfunkcji gruczołów Meiboma powinna obejmować zatem pomiary funkcji oraz morfologii

gruczołów Meiboma. Pozwala ta na dokładną diagnostykę różnicową, określenie stopnia zaawansowania, a tym samym dobór odpowiedniej terapii [73].

Podczas badania w lampie szczelinowej należy zwrócić uwagę na brzegi powiek poniżej linii rzęs, linię szarą, tj. mięsień Riolana, a następnie na ujścia gruczołów Meiboma oraz połączenie skórno-spojówkowe, tzw. linię Marxa [86].

Dysfunkcja gruczołów Meiboma związana jest z występowaniem pogrubionego brzegu powiek. Dochodzi również do zmian w obrębie brzegów powiek, tj. przekrwienie brzegów powiek i przekrwienie spojówki powiekowej oraz do zmian w architekturze brzegów powiek obejmujących nakłucia, zaokrąglenie i nieregularności. Nieprawidłowości brzegów powiek mogą z kolei wpływać na większą częstotliwość występowania nieprawidłowego wzrostu rzęs, tzw. trichiazy rzęs [117].

Jednym z prostych i wiarygodnych testów diagnostycznych jest ocena połączenia skórno-spojówkowego, czyli tzw. linii Marxa [118]. Badanie to wykonuje się z wykorzystaniem barwników diagnostycznych, tj. fluoresceiny oraz zieleni lizaminowej. Po aplikacji barwnika do worka spojówkowego, wzdłuż wewnętrznej, spojówkowej części powieki powinna ukazać się cienka, prosta linia barwienia wskazująca na linię Marxa, rys. 8. Jej prawidłowa lokalizacja to obszar spojówkowy, nieprzekraczający ujść gruczołów Meiboma. Linia Marxa może ulec przesunięciu oraz być zlokalizowana częściowo lub w pełni po stronie skórnej, przekraczając ujścia gruczołów Meiboma. Według dostępnej literatury, częściej obserwuje się przesunięcie linii Marxa w części skroniowej oraz nosowej niż w części centralnej brzegu powiek. Oceny należy zatem dokonywać osobno dla każdego obszaru brzegu powieki z wykorzystaniem dostępnej skali [118].

Kolejnym istotnym parametrem diagnostycznym, silnie skorelowanym z występowaniem fałdów spojówkowych, jest zapalenie błony naczyniowej powieki, tj. epiteliopatia brzegu powiek (*ang. Lid Wiper Epitheliopathy, LWE*), rys. 8. Dokonuje się oceny szerokości i wysokości barwienia brzegów powiek według skali stopniującej Korba. Kliniczne istotne zmiany w obrębie wewnętrznego brzegu powieki związane są ze zwiększoną siłą tarcia powieki o powierzchnię oka [119].



**Rys. 8. Ocena epiteliopatii brzegu powieki oraz linii Marxa.**

[https://www.jnjvisioncare.de/sites/default/files/public/de/documents/Informationscenter/Broschuere n/jjvc\\_aha-newsletter-0113\\_dryness.pdf](https://www.jnjvisioncare.de/sites/default/files/public/de/documents/Informationscenter/Broschuere%20n/jjvc_aha-newsletter-0113_dryness.pdf) 14.03.2022.

Wokół ujść gruczołów Meiboma powinna znajdować się charakterystyczna przezroczysta obrączka, rys. 9. Wraz z postępem dysfunkcji gruczołów Meiboma dochodzi do jej zaniku. Obserwuje się również zmiany w składzie i konsystencji uwalnianej wydzieliny. Poprzez nacisk na brzeg powieki dokonuje się prostej subiektywnej oceny uwalnianej wydzieliny pod kątem łatwości ekspresji oraz jej ilości i jakości. Zaobserwowano, że w wyniku dysfunkcji gruczołów Meiboma przezroczyste i łatwe w ekspresji meibum przybiera żółtawy, a w bardziej zaawansowanych stadiach biały kolor, rys. 9. Wzrost lepkości prowadzi do wydzieliny o konsystencji zbliżonej do pasty do zębów [120-121].



**Rys. 9. Obserwacja ujść gruczołów Meiboma.**

[https://www.reviewofophthalmology.com/article/treating-dysfunctional-meibomian-glands,](https://www.reviewofophthalmology.com/article/treating-dysfunctional-meibomian-glands) 14.03.2022

Jako, że gruczoły Meiboma odpowiedzialne są za syntezę i uwalnianie składników warstwy lipidowej filmu łzowego, niezmiernie ważną rolę w diagnostyce ich dysfunkcji odgrywa ocena warstwy lipidowej filmu łzowego. Badanie to można przeprowadzić w wykorzystaniu lampy szczelinowej, jednak coraz większą popularnością cieszą się instrumenty służące do oszacowywania grubości warstwy lipidowej filmu łzowego (*LipiView, TearScope, DR-1*). Urządzenia te bazują na interferometrii światła białego. Ocena

grubości i jakości filmu łzowego odbywa się na podstawie uzyskanego wzoru lipidowego [122-123].

W badaniach klinicznych zwraca się również uwagę na badanie aktywności wydzielania gruczołów (*ang. meibomian glands activity*). Badania przeprowadzane są z wykorzystaniem dedykowanych urządzeń pozwalających na ucisk brzegów powiek ze stałym naciskiem o wartości ok. 1,25 g/mm<sup>2</sup>, co odpowiada naciskowi na gałkę oczną powstałą podczas mrugania. Zespół Korba i wsp. zaproponował wprowadzenie współczynnika informującego o aktywności gruczołów Meiboma w badanym obszarze powieki (*ang. Meibomian Glands Yielding Liquid Secretion, MGYLS*). Co ciekawe, ich rezultaty wykazały, że aktywność gruczołów zmienia się w zależności od lokalizacji, tj. największa aktywność wydzielnicza obserwowana jest w części nosowej i maleje w kierunku skroni. Wyniki są zgodne z danymi opublikowanymi wcześniej, wskazującymi, że gruczoły Meiboma zlokalizowane w częściach nosowych utrzymują najwyższą aktywność wydzielniczą podczas całego dnia, tj. 70% aktywnych gruczołów w części nosowej, 30% w części centralnej oraz 20% w części skroniowej [49, 73].

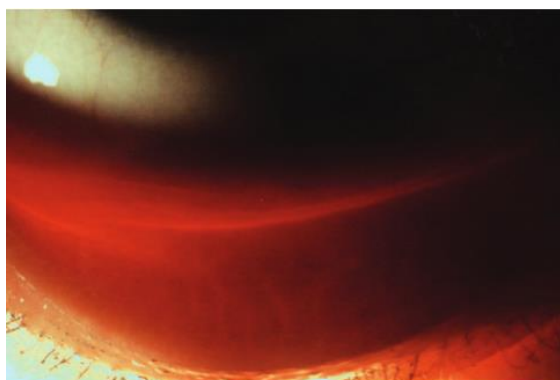
Co więcej, w badaniach klinicznych wykorzystuje się również zaawansowaną technikę obrazowania - *technikę mikroskopii konfokalnej*, umożliwiającą obrazowanie o dużej rozdzielczości morfologii gruczołów Meiboma. Badanie z wykorzystaniem tej techniki dostarcza informacji odnośnie zagęszczenia oraz średnicy meibocytów. Dodatkowo wskazuje na możliwy stan zapalny komórek wydzielających oraz obecność *Demodex* [114-116].

W badaniach diagnostycznych dąży się do opracowanie i rozpowszechnienie mniej inwazyjnych lub bezinwazyjnych metod badania, a także wykorzystywania technik, dostarczających ilościowych i obiektywnych informacji analizowanych struktur. Omówione wcześniej procedury diagnostyki dysfunkcji gruczołów Meiboma stosowane w praktyce klinicznej obejmują w znacznej mierze testy subiektywne oraz dotyczą badania funkcji gruczołów Meiboma. Coraz większe uznanie zyskuje technika meibografii, stanowiąca bezinwazyjną metodę badania i umożliwiającą obrazowanie i ocenę (w sposób ilościowy i obiektywny) morfologii gruczołów Meiboma. Przedstawiona praca doktorska koncentruje się na analizie obrazów meibograficznych, dlatego też szczegółowy opis tej metody znajduje się w kolejnym podrozdziale. W pracy jednak opisano cały proces diagnostyczny dysfunkcji gruczołów Meiboma oraz choroby suchego oka, zwracając tym samym uwagę na złożoność danych zagadnień.

## 1.8 Meibografia

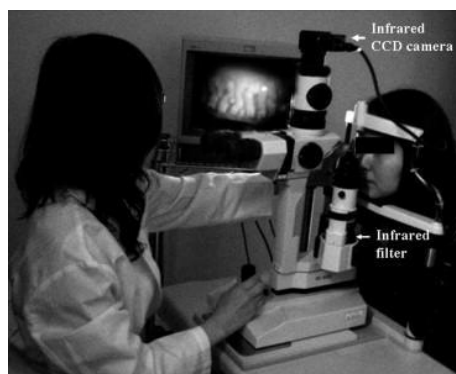
Meibografia stanowi bezpośrednią metodę obserwacji i oceny morfologii gruczołów Meiboma. Należy zaznaczyć, że w warunkach standardowej obserwacji, tj. z wykorzystaniem światła białego lampy szczelinowej, obserwacja ta jest bardzo ograniczona bądź niemożliwa z uwagi na umiejscowienie gruczołów Meiboma wewnątrz powiek [124-125].

Jedną z pierwszych zaproponowanych technik obserwacji morfologii gruczołów Meiboma była transiluminacja powiekowa, po raz pierwszy opisana w 1977 roku w pracach Tapiego [126-127]. W najbardziej podstawowej wersji procedura ta polega na wykorzystaniu silnej wiązki światła białego (przy użyciu specjalnie zaprojektowanego iluminatora), do oświetlenia od wewnątrz wywiniętej powieki dolnej bądź górnej, umożliwiając tym samym obserwację struktur gruczołów Meiboma, rys. 10. Należy zaznaczyć, że w tym przypadku uzyskuje się jedynie niewielki obraz części powieki pozostającej w bezpośrednim kontakcie z iluminatorem. Co więcej, procedura ta należy do technik inwazyjnych z uwagi na bezpośredni kontakt sondy ze skórą powiek oraz na wydzielane przez sondę ciepło. Technika ta jest coraz rzadziej stosowana, a zastąpiona została technikami bezkontaktowej meibografii. Podejmowano również próby obrazowania z wykorzystaniem wiązki światła czerwonego bądź ultrafioletu [126], a także bardzo liczne próby z użyciem światła podczerwonego [124-126, 128-129]. Podobnie jak w rozwiązaniu Tapiego [126], źródło światła podczerwonego znajdowało się w bezpośrednim kontakcie ze skórą powiek, co uniemożliwiało rejestrację całego obszaru powieki. Z uwagi na wysoką inwazyjność badania, nie stanowiło ono łatwo adaptowalnego narzędzia diagnostycznego.



**Rys. 10. Meibografia z wykorzystaniem wiązki światła białego – transiluminacja powiekowa.** Pult, H. &. (2012). A review of meibography. *Optometry and Vision Science*, 89(5). 30.05.22.

Jednak użycie światła podczerwonego do obrazowania gruczołów Meiboma stanowiło pierwszy krok do przełomu, którym było wprowadzenie metody bezkontaktowej meibografii w podczerwieni zaprezentowanej przez zespół Arity i wsp. [6]. Oprzyrządowanie do rejestracji obrazów meibograficznych stanowiło część lampy szczelinowej, rys. 11. Wykorzystano źródło światła podczerwonego, filtry podczerwieni oraz kamerę połączoną z oprogramowaniem do zapisu i analiz uzyskiwanych zdjęć. Co ważne, w metodach bezkontaktowej meibografii nie ma potrzeby, aby iluminator podczerwieni znajdował się w bezpośrednim kontakcie ze skórą powiek, przez co badanie to jest w pełni bezpieczne i komfortowe dla osoby badanej. Urządzenie jest łatwe w obsłudze, procedura badania jest krótka, dzięki czemu badanie to może być wykonywane rutynowo w procesie diagnostycznym choroby suchego oka oraz dysfunkcji gruczołów Meiboma [6, 120-121, 124-125, 130-131].



**Rys. 11. Badanie morfologii gruczołów Meiboma z wykorzystaniem bezkontaktowej metody meibografii w podczerwieni.** Arity, R. I. (2008). *Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population. Ophthalmology, 115(5). 30.05.22.*

Obecnie na rynku znaleźć można wiele urządzeń dedykowanych do obrazowania gruczołów Meiboma, między innymi *LipiView* [7-8], *LipiScan* [9], *Oculus Keratograph 5M* [10-11], *ME-Check*, *I.C.P MGD*, *IDRA*, rys. 12, [12]. Możliwe jest również bezkontaktowe obrazowanie gruczołów Meiboma w trójwymiarze z wykorzystaniem optycznej tomografii koherencyjnej, OCT [132-133]. Rys. 13 przedstawia przykładowe obrazy uzyskane z wykorzystaniem sprzętu IDRA.

Rejestracja obrazów meibograficznych, oprócz posiadania ogromnego potencjału diagnostycznego, pozwala również na rozszerzenie dokumentacji medycznej. Co więcej, prezentacja takich zdjęć pacjentowi ułatwia komunikację i zaznajomienie z problemem.



Rys. 12. Głowica obrazująca meibografu IDRA, Afidera GmbH, Berlin. [12].



Rys. 13. Przykładowe zdjęcia gruczołów Meiboma uzyskane za pomocą urządzenia IDRA.

## ***1.9 Metody analizy obrazów meibograficznych***

### ***1.9.1 Subiektywne metody oceny obrazów meibograficznych***

Wraz z rozpowszechnieniem technik bezkontaktowej meibografii w podczerwieni, rozpoczęto prace nad możliwymi sposobami analizy i oceny obrazów meibograficznych. W początkowych etapach badań dominowały subiektywne metody analiz, które wraz z postępem prac zostają zastępowane technikami automatycznej i obiektywnej analizy. Zastanawiano się również, które z cech obrazów meibograficznych są klinicznie istotne i które z nich powinny zostać analizowane. W kolejnym podrozdziale szczegółowo



omówiono dostępne subiektywne oraz obiektywne metody analizy obrazów meibograficznych oraz korelacje analizowanych parametrów morfologii gruczołów Meiboma z parametrami przedniego odcinka oka oraz filmu łzowego.

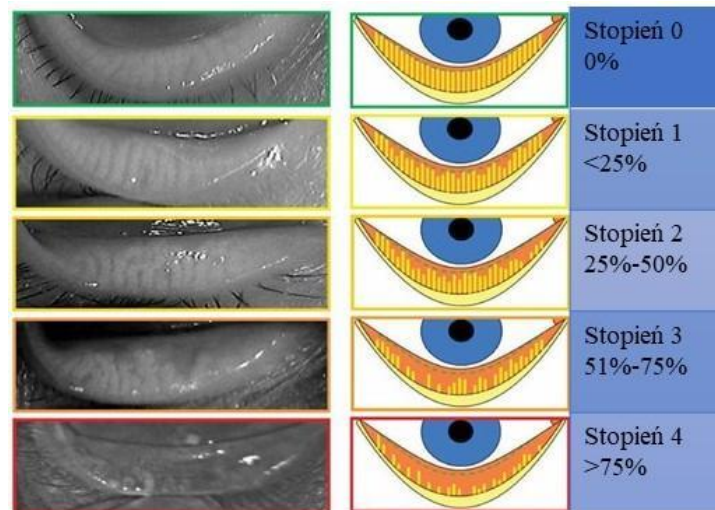
Większość metod subiektywnej oceny obrazów gruczołów Meiboma koncentruje się na oszacowaniu obszaru ubytku gruczołów w odniesieniu do obszaru całej powieki. Zaproponowane skale stopniujące opierają się w dużej mierze na subiektywnej ocenie dokonywanej przez specjalistę, bazując na wcześniej zdobytym doświadczeniu [6,124].

W badaniu Arity i wsp. wykorzystano skalę stopniującą dotyczącą obszaru ubytku gruczołów Meiboma (*ang. Drop-Out Area, DOA*). Należy zaznaczyć, że jest to jedna z pierwszych zaproponowanych skal stopniujących. Wprowadza ona 4 - stopniowy podział, tj. **Stopień 0** (brak ubytku gruczołów Meiboma), **Stopień 1** (obszar ubytku gruczołów Meiboma wynosi mniej niż 1/3 obszaru całej powieki), **Stopień 2** (obszar ubytku obszarów gruczołów Meiboma wynosi pomiędzy 1/3 a 2/3 obszaru całej powieki) oraz **Stopień 3** (obszar ubytku gruczołów Meiboma wynosi powyżej 2/3 obszaru całej powieki) [6]. W badaniu uwzględniono zarówno powiekę dolną jak i górną. W następnym kroku sumowano wyniki uzyskane dla obu powiek w celu wyznaczenia stopnia ubytku gruczołów Meiboma dla każdego z oczu [6]. Procedura ta jest w pełni subiektywna, nie podano również wyników oceny powtarzalności dla tego samego obserwatora oraz pomiędzy obserwatorami.

W celu oszacowania obszaru ubytku gruczołów Meiboma wprowadzono również 4 – stopniową procentową skalę stopniującą. Zaproponowano kolejne stopnie, jednak jedynie do oceny powieki górnej. **Stopień 0** (brak ubytku gruczołów Meiboma), **Stopień 1** (obszar ubytku gruczołów Meiboma wynosi ok. 33% obszaru całej powieki), **Stopień 2** (obszar ubytku obszarów gruczołów Meiboma wynosi pomiędzy 34%–66% obszaru całej powieki), oraz **Stopień 3** (obszar ubytku gruczołów Meiboma powyżej 66% obszaru całej powieki) [13].

W kolejnych badaniach, w celu bardziej szczegółowego opisu obszaru ubytku gruczołów Meiboma, wprowadzono 5 – stopniową procentową skalę stopniującą obszar ubytku gruczołów Meiboma z następującymi kategoriami: **Stopień 1** (brak ubytku gruczołów Meiboma), **Stopień 2** (obszar ubytku gruczołów Meiboma stanowi mniej niż 25% obszaru całej powieki), **Stopień 3** (obszar ubytku gruczołów Meiboma stanowi pomiędzy 25% a 50% obszaru całej powieki), **Stopień 4** (obszar ubytku gruczołów Meiboma stanowi pomiędzy 51% a 75% obszaru całej powieki), **Stopień 5** (obszar ubytku gruczołów Meiboma stanowi powyżej 75% obszaru całej powieki) [14-15]. Skala zaprezentowana została na rys. 14. Bez wątplenia, w przypadku tej skali widoczne są mniejsze przyrosty pomiędzy

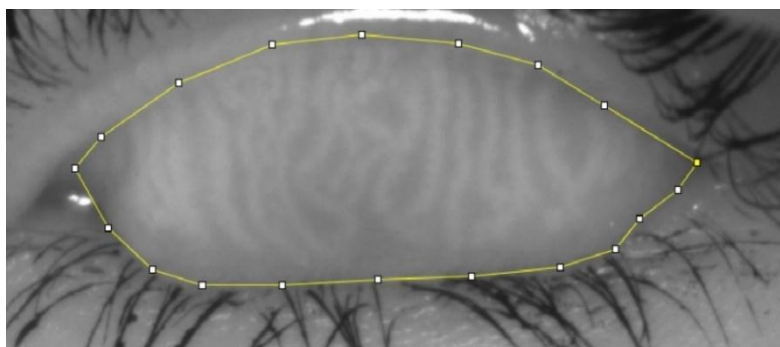
poszczególnymi stopniami, co umożliwia zapis danych w postaci liniowej, ułatwiając tym samym porównywanie wyników z innymi skalami stopniującymi. Co więcej, metoda ta jest bardziej czuła na mniejsze zmiany w morfologii, co jest istotne w odnalezieniu wartości granicznych dla klasyfikacji danych zmian. Tak jak zakładano, osiągnięto również wyższą ocenę powtarzalności dla tego samego obserwatora i między obserwatorami w porównaniu do wcześniej zaproponowanych 4 – stopniowych skal [14-15].



**Rys. 14. Pięciostopniowa skala oceniająca stopień ubytku gruczołów Meiboma.**

Pult, H., & Riede-Pult, B. (2013). Comparison of subjective grading and objective assessment in meibography. *Contact Lens and Anterior Eye*, 36(1), 22-27. 30.05.22.

Podjęto również próby wyznaczania obszaru ubytku gruczołów Meiboma w sposób częściowo skomputeryzowany z wykorzystaniem oprogramowania *ImageJ* (Wayne Rasband, *National Institutes of Health, Bethesda, MD*), rys. 15. Dostępne funkcje urządzenia pozwoliły na procentowe oszacowanie obszaru ubytku gruczołów Meiboma w odniesieniu do całego obszaru powieki. Należy jednak zaznaczyć, że to specjalista decyduje o wielkości analizowanych obszarów, co stanowi dość czasochłonną procedurę dla osoby badającej. Wyniki powtarzalności dla tego samego obserwatora i między obserwatorami okazały się zdecydowanie lepsze niż w przypadku subiektywnych skal stopniujących [10, 14]. Wykorzystanie oprogramowania *ImageJ* stanowiło pierwszy krok w rozwijaniu algorytmów do obiektywnej i automatycznej oceny zmian morfologii gruczołów Meiboma.



Rys. 15. Oszacowanie obszaru ubytku gruczołów Meiboma z wykorzystaniem oprogramowania *ImageJ*.

Wprowadzono rozróżnienie na gruczoły kompletne oraz częściowe [16]. Według definicji, gruczoły kompletne wyróżniają się regularną strukturą (strukturą pasków) przechodzącą przez cały obszar powieki. Natomiast w przypadku widocznych zmian w morfologii gruczołów w postaci ich skrócenia czy też zniekształceń, mówimy o gruczołach częściowych [16]. Na podstawie danych obserwacji zaproponowano skalę oceny gruczołów Meiboma oszacowując procentowo obszar powieki zawierający gruczoły częściowe (*ang. the gestalt grading scale*). Wprowadzono kolejne stopnie: **Stopień 1** (brak gruczołów częściowych), **Stopień 2** (mniej niż 25% obszaru powieki zawiera gruczoły częściowe), **Stopień 3** (gruczoły częściowe występują na obszarze pomiędzy 25% a 75% całego obszaru powieki), **Stopień 4** (więcej niż 75% obszaru powieki zawiera gruczoły częściowe) [16].

Kolejna z zaproponowanych metod polegała na liczeniu gruczołów kompletnych [16]. Co ciekawe, w kolejnym kroku porównano obie z zaproponowanych skal poprzez wyznaczenie oceny powtarzalności dla tego samego obserwatora oraz pomiędzy obserwatorami. Wyniki okazały się lepsze w przypadku pierwszej z zaproponowanych skal, tj. *the gestalt grading scale*. Warto jednak zwrócić uwagę na znaczące różnice pomiędzy przeprowadzonymi testami dla obu metod. Mianowicie, wyniki powtarzalności pomiędzy obserwatorami okazały się znacząco niższe niż rezultaty oceny powtarzalności tego samego obserwatora. Wskazuje to na potrzebę opracowania obiektywnych metod oceny, mających szczególne znaczenie w przypadku badań klinicznych, gdzie analiza przeprowadzana jest niejednokrotnie przez wielu specjalistów niezależnie [16].

Stopień ubytku gruczołów Meiboma jest z pewnością jednym z ważniejszych parametrów, umożliwiającym szybką i względnie prostą metodę oceny stopnia zaawansowania dysfunkcji gruczołów Meiboma i jednocześnie informujący o globalnym charakterze zmian. Zwrócono jednak uwagę, że nie może być on jedyną cechą uwzględnianą

w opisie zmian spowodowanych dysfunkcją gruczołów Meiboma. Wiele badań poświęcono również ocenie zniekształceń gruczołów Meiboma. W tym przypadku analizowano pojedyncze gruczoły, wyznaczając szereg kolejnych parametrów morfometrycznych. W dalszej części pracy omówione zostaną sposoby analiz i zaproponowane miary oceny zmian w morfologii gruczołów Meiboma [14-15,20-23,27-28].

W badaniu Arity i wsp., w którym zajęto się opisem zniekształceń gruczołów Meiboma, przyjęto, że zmiana kierunku o więcej niż 45 stopni co najmniej jednego gruczołu w obrębie górnej lub dolnej powieki stanowi o występowaniu zniekształceń struktur gruczołów Meiboma. Dwustopniowa skala informuje o występowaniu lub braku zniekształceń w analizowanych obrazach, jednak nie zawiera opisu ich rozmiaru [17].

Również w przypadku opisu zmian struktur gruczołów Meiboma wykorzystano oprogramowanie ImageJ. W badaniu Pulta i wsp. [18] wyznaczono grubość gruczołów Meiboma oraz stopień ich skrętu. Jednak podobnie jak we wcześniej opisanym badaniu, w dalszych analizach posłużono się pewnym uproszczeniem, analizując jedynie jeden z gruczołów o najbardziej zaburzonych parametrach jako reprezentacyjny dla całej powieki [18].

W kolejnym badaniu skupiono się na wyznaczaniu długości gruczołów Meiboma powieki górnej i dolnej. Warto jednak zaznaczyć, że wartości te oszacowano na podstawie analizy jedynie pięciu wybranych gruczołów z centralnego obszaru obu powiek [19].

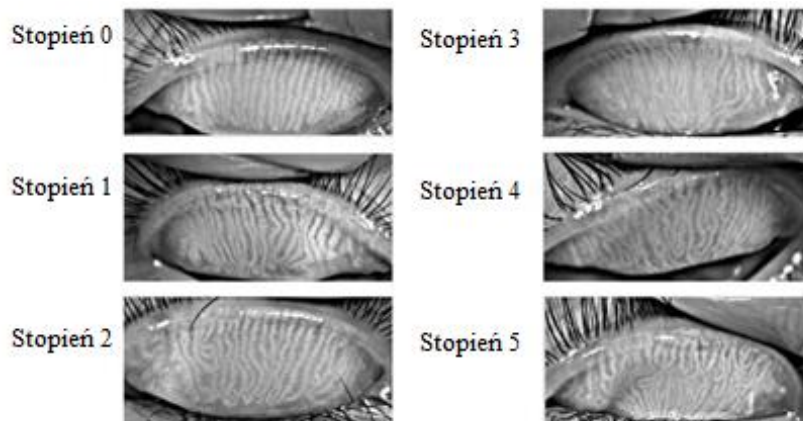
Opierając się na obserwacji, że obraz „zdrowych” gruczołów Meiboma tworzy strukturę regularnych pasków na całej długości powieki, próbowano analizować krętość gruczołów, czy też zaburzenia równoległej struktury gruczołów. Nie wprowadzono jednak ilościowego opisu wielkości obu tych zmian [10].

Podobnie jak w poprzednich pracach, w badaniu Xiao i wsp. przyjęto, że zmiana kierunku gruczołów o więcej niż 45 stopni świadczy o występowaniu ich zniekształceń. Badanie to rozszerzono jednak o podanie liczby zniekształconych gruczołów. Następnie analizując wyniki oceny powierzchni przedniego odcinka oka oraz parametrów filmu łzowego stwierdzono, że obecność 6 zniekształconych gruczołów Meiboma pozwalała na czułą i specyficzną diagnostykę dysfunkcji gruczołów Meiboma [20].

Co ciekawe, jedno z dostępnych badań morfologii gruczołów Meiboma przeprowadzono wśród dzieci. Wyróżniono 6 – stopniowy opis zniekształceń gruczołów: **Stopień 0** (brak zniekształceń), **Stopień 1** (zniekształcenie powyżej 90° na obszarze mniejszym niż 1/3 obszaru całej powieki), **Stopień 2** (zniekształcenie powyżej 90° na obszarze pomiędzy 1/3 a 2/3 obszaru całej powieki oraz zniekształcenie 45°-90° na obszarze

mniejszym niż 1/3 obszaru całej powieki), **Stopień 3** (zniekształcenie powyżej 90° na obszarze większym niż 2/3 obszaru całej powieki oraz zniekształcenie 45°-90° na obszarze pomiędzy 1/3 a 2/3 obszaru całej powieki), **Stopień 4** (zniekształcenie 45°-90° na obszarze większym niż 2/3 obszaru całej powieki oraz zniekształcenie 45° na obszarze mniejszym niż 50% całego obszaru powieki), **Stopień 5** (zniekształcenie 45° na obszarze większym niż 50% całego obszaru powieki), rys. 16 [21].

Dodatkowo zwrócono również uwagę na charakterystyczne zmiany w analizowanych obrazach gruczołów Meiboma, między innymi równoległe ułożenie gruczołów Meiboma, skręt gruczołów o określony kąt, przecinanie się gruczołów, wygięcie gruczołów w obszarach dystalnych w postaci łuku bądź zmiany w kształcie litery „U”. Badanie to przeprowadzono na grupie dzieci poniżej 14 roku, a jak do tej pory brakuje badań odnośnie możliwości zastosowania takich skal dla populacji osób starszych [21].



**Rys. 16. Opis zniekształceń gruczołów Meiboma.**

Zhao, Y. C. (2018). The significance of meibomian gland changes in asymptomatic children. *The ocular surface*, 16(3). 30.05.22.

### ***1.9.2 Obiektywne metody oceny obrazów meibograficznych***

Jak zaznaczono w poprzednim rozdziale, znaczna część literatury opiera swoje badania na subiektywnej analizie obrazów meibograficznych, jednak w celu uzyskania wiarygodnej i powtarzalnej interpretacji morfologii gruczołów Meiboma wymagane jest wykorzystanie obiektywnej i zautomatyzowanej oceny.

Na wstępie warto zwrócić uwagę z jakimi trudnościami należy mierzyć się podejmując próby tworzenia algorytmu do automatycznego przetwarzania obrazów meibograficznych. Nierzadko otrzymywane obrazy charakteryzują się niskim kontrastem czy też nierównomiernym oświetleniem całego obszaru. Należy również wymienić trudności

podczas pozyskiwania zdjęć, czyli różną podatność powiek na wywinięcie oraz problemy z utrzymaniem stabilnej pozycji przez pacjenta. Zaburzenia ilości i jakości filmu łożowego również mogą powodować występowanie artefaktów, często widocznych na obrazach w postaci odbicia lustrzanego od filmu łożowego [22-23].

Pierwsza automatyczna analiza gruczołów Meiboma zaproponowana została w badaniu Koha i wsp. W pracy przedstawiono algorytm wyznaczający linie przechodzące wzdłuż środków gruczołów Meiboma oraz wzdłuż obszarów pomiędzy gruczołami. Dodatkowo wyznaczono również szerokość gruczołów [22]. Analiza polegała na znalezieniu maksymalnej i minimalnej intensywności we wstępnie przetworzonym obrazie. Linie przebiegające wzdłuż znalezionych maksimów wyznaczały linie przechodzące przez środek gruczołów, z kolei linie zlokalizowane na minimach stanowiły obszary pomiędzy gruczołami. W celu oszacowania różnic pomiędzy rozkładami obrazów „zdrowych” i „chorych” gruczołów Meiboma wykorzystano funkcję Entropii Shannona (*ang. Shannon Entropy*). W celu wyznaczenia szerokości gruczołów posłużono się algorytmem skaloniezmienniczego przekształcenia cech (*ang. Scale Invariant Feature Transform*) umożliwiającego wykrywanie lokalnych cech w obrazie. Pozyskane w ten sposób parametry posłużyły do próby automatycznej klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma. Z wykorzystaniem klasyfikatora, tj. maszyny wektorów nośnych (*ang. Support Vector Machine*) dokonano podziału na dwie kategorii „zdrowy” i „chory”, uzyskując wysoką skuteczność klasyfikacji, mianowicie specyficzność na poziomie 96% oraz czułość rzędu 98%. Należy jednak zwrócić uwagę, że klasyfikacja okazała się niemożliwa po wprowadzeniu dodatkowej klasy - „pośredni”.

Wartości uzyskane dla grupy pośredniej znajdują się w obrębie wyników uzyskanych dla dwóch pozostałych klas, stąd niemożliwość ich rozróżnienia i poprawnego podziału. Wydaje się, że wprowadzenie dodatkowych parametrów opisu gruczołów Meiboma mogłoby poprawić uzyskane wyniki. Zaproponowana metoda stanowi analizę pół-objektywną, ponieważ obszar powieki wyznaczono manualnie [22].

Do poprawy jakości obrazu, wzmocnienia kontrastu, przed przystąpieniem do analiz wymagane było wstępne przetworzenie obrazu. Autorzy wskazują również na możliwe rozwiązania, ułatwiające automatyczne określenie obszaru powieki, odnoszące się do sposobu pozyskiwania zdjęć. Mianowicie, chodzi o zmianę powiększenia uzyskiwanych obrazów w celu uzyskania wyraźnego obrazu brzegów powiek [22]. W pracach zaprezentowanych w kolejnych częściach rozdziału dokonano automatyzacji tego kroku.

W kolejnym badaniu dokonano automatycznej analizy gruczołów Meiboma opartej na algorytmie filtru Gabora (*ang. Gabor filter*) [24]. Na tej podstawie wyznaczono długości oraz szerokości gruczołów, co więcej również długości oraz szerokości obszarów pomiędzy gruczołami. W ten sposób wyznaczono cztery parametry opisujące każdy z analizowanych obrazów gruczołów Meiboma. Warto dodać, że w zaproponowanym badaniu dokonano klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma na trzy klasy, wprowadzając grupę „pośrednią”. Następnie przeprowadzono automatyczną klasyfikację, z wykorzystaniem maszyny wektorów nośnych (*ang. Support Vector Machine*), w wyniku której uzyskano 100% skuteczność klasyfikacji w przypadku dwóch klas, tj. „zdrowy” i „chory”, w wyniku wprowadzenia kategorii „pośredni” efektywność klasyfikacji wynosiła 88%. Warto jednak zwrócić uwagę, że w badaniu wykorzystano jedynie 65 obrazów gruczołów Meiboma [24].

Jednym z nielicznych badań, wskazujących na korelacje wyników automatycznej analizy gruczołów Meiboma z parametrami powierzchni oka oraz filmu łzowego jest praca Llorens-Quintany i wsp. [23,25]. Zaproponowany algorytm pozwala na automatyczne wyznaczenie obszaru tarczki powiek zawierającej gruczoły Meiboma. W kolejnym kroku wyznaczono szereg parametrów, opisujących każdy gruczoł Meiboma, wcześniej wyizolowany z głównego obrazu. Podobnie jak w poprzednich pracach wzięto pod uwagę obszar ubytku gruczołów Meiboma, szerokość oraz długość gruczołów, ilość gruczołów. Dodatkowo zaproponowano miarę nieregularności gruczołów.

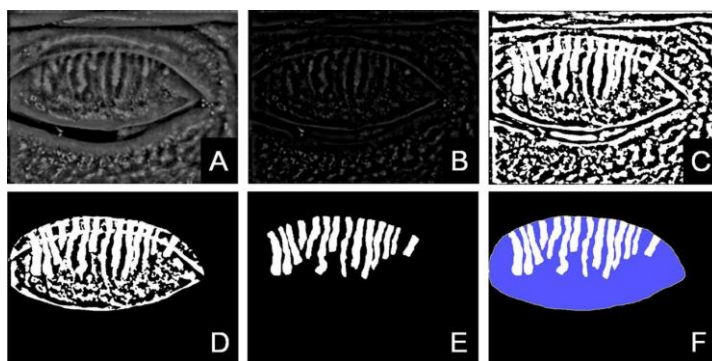
Procedura wyznaczenia długości i szerokości gruczołów zakładała, że gruczoł Meiboma odpowiada dwuwymiarowemu obiektowi, do którego dopasować elipsę o odpowiednio dopasowanym momencie centralnym. Następnie wyznaczono długość i szerokość gruczołu jako wartości szerokości i długości dopasowanej elipsy. Do dalszych analiz wyznaczono średnią wartość długości i szerokości gruczołów otrzymaną po uśrednieniu wszystkich wyników dla danej powieki. [23,25].

Co ciekawe, po raz pierwszy zaproponowano pomiar nieregularności gruczołów. Nieregularność gruczołu zdefiniowano jako różnicę powierzchni między gruczołem standardowym a badanym, po nałożeniu kształtu każdego wykrytego gruczołu na kształt gruczołu standardowego. Parametr ten, wyrażony w procentach, może być zdefiniowany jako powierzchnia gruczołu, który nie ma regularnego kształtu. Podobnie jak w przypadku pozostałych parametrów, w dalszych analizach posłużono się uśrednioną wartością dla wszystkich gruczołów danej powieki. Po raz kolejny zwrócono uwagę na trudności w automatycznym wyznaczaniu obszaru powieki. Zaproponowano również nowy podział

obrazów gruczołów Meiboma oparty na obszarze ubytku gruczołów, wprowadzający większe zróżnicowanie oraz mniejsze nakładanie się poszczególnych klas [23,25].

W badanie Arity i wsp. zaproponowano automatyczny opis obszaru ubytku gruczołów Meiboma [26]. Przed przystąpieniem do głównej procedury analiz, każdy z uzyskanych obrazów wymagał zastosowania filtrów poprawiających kontrast, tj. filtr Wallisa oraz redukujących szumy, tj. filtr Gaussa. Następnie algorytm wyznaczał granice powiek, a w kolejnych etapach gruczoły Meiboma oraz obszary pomiędzy nimi, rys. 17.

Przeprowadzenie automatycznej analizy okazało się jednak niemożliwe w przypadku obrazów o znaczącym obszarze ubytków gruczołów Meiboma oraz obrazów z widocznym odbiciem lustrzanym od filmu łzowego, klasyfikowanym błędnie jako obszar gruczołów Meiboma [26].



**Rys. 17. Schemat procedury automatycznego wyznaczenia obszaru powieki, gruczołów Meiboma oraz obszarów pomiędzy nimi.**

Arita, R. (2014). Objective image analysis of the meibomian gland area. *British Journal of Ophthalmology*, 98(6), 746-755. 30.05.22.

W badaniach zaproponowanych przez Kaprowskiego i wsp. w sposób automatyczny wyznaczono oraz porównano obszar powieki oraz obszar zawierający wyłącznie gruczoły Meiboma. Procedurę przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania MatLAB, wykorzystując między innymi metodę Otzu, analizę kształtu oraz krzywą Bezierra. Obrazy zakwalifikowano następnie do trzech klas, tj. „zdrowy”, „zagrożony” oraz „chory”. Uzyskane wyniki klasyfikacji wykazywały wysoką korelację z wynikami uzyskanymi przez specjalistów, mianowicie czułość oraz specyficzność na poziomie 0,993 oraz 0,975. Natomiast w drugim badaniu czułość oraz specyficzność na poziomie 1,0 oraz 0,98. Warto jednak zwrócić uwagę, że w badaniu nie podano kryteriów oceny obrazów gruczołów Meiboma dokonanej przez specjalistów [27-28].

Coraz większym zainteresowaniem w obrazowaniu medycznym cieszy się wykorzystanie uczenia maszynowego, a w szczególności jednej z jego podkategorii, tj. *deep*



*learning*, czyli tworzenia sztucznych sieci neuronowych w celu analizy i klasyfikacji uzyskiwanych obrazów [134-135].

Deep learning to jedna z metod należących do szerokiej klasy algorytmów sztucznej inteligencji, która imituje działanie ludzkiego mózgu podczas przetwarzania danych i tworzenia wzorców do wykorzystania w podejmowaniu decyzji. Te zaawansowane metody są w stanie przewidzieć cechy bezpośrednio z dużego zbioru danych, bez wyraźnego określania reguł lub cech. Wykorzystanie sztucznej inteligencji z powodzeniem znalazło swoje zastosowanie w okulistyce, w zakresie analizy i diagnostyki chorób oczu, między innymi retinopatii cukrzycowej, zwyrodnienia plamki żółtej związanej z wiekiem, retinopatii wcześniaczej oraz stożka rogówki [136-140].

Jak dotąd większość procedur wykorzystywanych w celu diagnozy, w szczególności w przypadku diagnozy choroby suchego oka, w dużej mierze opierała się na doświadczeniu osoby badającej. Narzędzia sztucznej inteligencji pozwalają na automatyczną i obiektywną interpretację uzyskanych obrazów, a przy tym nie wymagają dużego nakładu czasu oraz zapewniają spójność w diagnozie. Nie dziwi więc, że zaczynają one zyskiwać coraz większe uznanie w diagnostyce choroby suchego oka, koncentrując się również na analizie obrazów meibograficznych [141-143].

W kilku badaniach wykorzystano techniki konwolucyjnych sieci neuronowych (*ang. Convolutional Neural Network, CNN*) do wyznaczenia obszaru powieki oraz procentowego obszaru ubytku gruczołów Meiboma. Zaproponowano zmianę dotychczasowej 4 bądź 5 stopniowej skali stopniującej stopień ubytku gruczołów Meiboma na zapis numeryczny, pozwalając na dokładniejszy opis i klasyfikację obrazów uzyskujących wyniki będące na granicy dwóch kategorii. Metoda cechuje się wysoką powtarzalnością, niskim nakładem czasowym, uzyskano wyniki dokładności wyznaczenie obszarów na poziomie 97,6% oraz 95,4% [33].

W kolejnym badaniu wykorzystano technikę niewymagającą wcześniejszego przypisania obrazów do poszczególnych klas (*ang. Nonparametric Instance Discrimination, NPID*). Za pomocą danego algorytmu wyznaczono obszar ubytku gruczołów Meiboma. Otrzymane rezultaty porównano z wynikami dostarczonymi przez specjalistów uzyskując zgodność na poziomie 80,9%. Co ciekawe, zaproponowany algorytm wskazuje również na zależności pomiędzy poszczególnymi obrazami na podstawie podobieństw widocznych w obrazach [34].

Warto zwrócić szczególną uwagę na jedno z niewielu badań, które również wykorzystuje techniki konwolucyjnych sieci neuronowych (*ang. Convolutional Neural*

*Network (CNN)*, ale dodatkowo uwzględnia obrazy zgromadzone w dwóch niezależnych ośrodkach badawczych z wykorzystaniem różnych przyrządów umożliwiających wykonanie meibografii. W badaniu wyznaczono obszar ubytku gruczołów Meiboma, długość oraz szerokość gruczołów, ilość gruczołów oraz ich krętość. Wykazano, że zmiany każdego z wyznaczonych parametrów związane są z dysfunkcją gruczołów Meiboma. A zmiany w krętości, długości oraz liczbie gruczołów są zmianami występującymi na początku procesu. Co ważne, nie odnotowano różnic w skuteczności działania danego algorytmu na obrazach zgromadzonych posługując się różnymi metodami meibografii [35].

W badaniu Khan i wsp. wyznaczono obszar powieki oraz kontury każdego z gruczołów Meiboma, wskazując na lokalne i nieznaczące zmiany morfologii gruczołów Meiboma (*ang. Generative Adversarial Networks, GAN*). Uzyskane wyniki obszaru ubytku gruczołów Meiboma wykazały wysoką korelację z wartościami uzyskanymi przez specjalistów [36].

Bez wątpienia, przedstawione wyniki badań wskazują, że połączenie metod sztucznej inteligencji z doświadczeniem specjalistów stanowi przyszłość w diagnostyce medycznej dysfunkcji gruczołów Meiboma oraz choroby suchego oka.

Przegląd literatury zwraca uwagę na dość dużą ilość wyznaczonych parametrów morfologicznych. Łatwo zauważyć, że w większości prac, zarówno w sposób subiektywny jak i obiektywny, wyznaczano obszar ubytku gruczołów Meiboma. Parametr ten jest stosunkowo łatwy do wyznaczenia oraz można by zdefiniować go jako informację o zmianach morfologii gruczołów Meiboma w skali globalnej. Widzimy jednak, że kolejne prace postawiły sobie za cel bardziej szczegółową analizę i śledzenie zmian pojedynczych gruczołów. Wskazuje to na kierunek dalszych prac, mianowicie pełen opis morfologii gruczołów Meiboma w wymiarze globalnym oraz lokalnym.

Kolejną istotną kwestią jest trudność porównywania wyników przeprowadzonych badań i wyznaczanych parametrów, z uwagi na brak przyjętych definicji analizowanych zmian. Należałoby również ustandaryzować metody wyznaczania kolejnych cech morfologicznych w celu dalszych badań klinicznych nad dysfunkcją gruczołów Meiboma.

### ***1.9.3 Korelacje wyników morfologii gruczołów Meiboma z parametrami przedniego odcinka oka oraz filmu łzowego***

Tak jak zaprezentowano w powyższych sekcjach większość prezentowanych metod analiz obrazów meibograficznych skupia się na oszacowaniu obszaru ubytku gruczołów

Meiboma. Badanie dowodzą jednak, że parametr ten nie musi stanowić jedyne kryterium diagnostycznego. Coraz więcej prezentowanych prac skupia się na analizie kolejnych cech morfologii gruczołów Meiboma, które mogłyby posłużyć w diagnostyce stopnia zaawansowania dysfunkcji gruczołów Meiboma, czy też w określaniu stanów przedklinicznych. Należy zwrócić uwagę, że istotność jednego parametru nie wyklucza istnienia innego, który mógłby pokazać większe spektrum danego zjawiska. Stąd potrzeba dalszych badań nad znalezieniem klinicznie istotnych zmian w morfologii gruczołów Meiboma. Dodatkowo, należy zmierzać do opracowania procedur w pełni automatycznych, wykluczając błędy oraz niepewności powodowane subiektywną oceną osób badających [20].

Bez wątpienia, znalezienie korelacji pomiędzy parametrami określającymi zmiany w morfologii gruczołów Meiboma a parametrami powierzchni oka czy też filmu łzowego może pozwolić na potwierdzenie istotności diagnostycznej danej cechy. W dalszej części sekcji przedstawiono krótki przegląd badań odnoszących się do tego zagadnienia.

Badania wykazały pozytywną korelację pomiędzy stopniem zaniku gruczołów Meiboma a zmianami w obszarze brzegów powiek, inwazyjnym czasem przerwania filmu łzowego oraz ekspresją gruczołów Meiboma [29-31]. W przypadku badań wykorzystujących półautomatyczne techniki oszacowywania obszaru ubytku gruczołów Meiboma wykazano korelację pomiędzy nieinwazyjnym czasem przerwania filmu łzowego oraz wynikiem kwestionariusza diagnostycznego – Wskaźnika Choroby Powierzchni Oka, OSDI [18]. Z kolei, w pełni obiektywna analiza znalazła pozytywną korelację pomiędzy obszarem ubytku gruczołów a poziomem barwienia powierzchni oka oraz zaczerwienieniem spojówki gałkowej [25].

Mała ilość dostępnych badań oraz znaczące różnice w przeprowadzanej analizie uzyskanych danych (różny stopień subiektywności procedur) czy też w liczbie zgromadzonych obrazów meibograficznych (poziom zróżnicowania obrazów, odpowiednio duża grupa obrazów dla każdej z kategorii) nie pozwalają na wyciągnięcie jednoznacznych wniosków z uzyskanych badań oraz porównywanie uzyskanych wyników.

Kilka prac zwróciło uwagę na ocenę deformacji gruczołów Meiboma. W większości prac wykorzystano jednak subiektywne metody opisu danej zmiany.

W badaniu Bana i wsp. wykazano korelację pomiędzy długością gruczołów a ekspresją gruczołów Meiboma [19]. Natomiast w badaniu Pulta i wsp. odnotowano korelację pomiędzy długością gruczołów a wynikiem kwestionariusza diagnostycznego –

Wskaźnikiem Choroby Powierzchni Oka, OSDI oraz nieinwazyjnym czasem przzerwania filmu łzowego. Warto zaznaczyć, że badanie to było półautomatyczne [18].

Jak wynika z opublikowanych badań, poziom zniekształceń gruczołów Meiboma wpływa na jakość i ilość produkowanej wydzieliny [20, 25, 29]. Potrzebne są jednak dalsze badania nad tym zagadnieniem. Badanie wykorzystujące obiektywne metody analiz zniekształceń wykazało dla grupy obrazów o wysokim stopniu zniekształceń korelację z testem Schirmera oraz stopniem barwienia przedniego odcinka oka barwnikiem diagnostycznym fluoresceiną [25].

Badania nad deformacją gruczołów Meiboma dowodzą, że parametr ten pozwala na rozróżnienie pomiędzy pacjentami z dysfunkcją gruczołów oraz zdrowymi pacjentami. Co więcej, zwrócono uwagę, że parametr ten może być interpretowany jako początkowe zmiany w dysfunkcji gruczołów Meiboma, prowadzące do bardziej zaawansowanych stanów związanych z zanikiem gruczołów [20, 30-31].

Co ciekawe, badania nad stopniem zaawansowania dysfunkcji gruczołów Meiboma, uwzględniające stopień deformacji gruczołów, wykazały wysoką czułość i specyficzność. Należy jednak nadmienić, że w badaniu, jako parametr odcięcia, zdefiniowano występowanie 6 zdeformowanych gruczołów (o deformacji większej niż 45 stopni) w obrębie tarczki powieki. Pomiarów dokonano wykorzystując oprogramowanie ImageJ. Bez wątplenia, uzyskane wyniki są bardzo obiecujące, jednak opierają się na pewnego rodzaju uproszczeniu w opisie parametrów. W celu potwierdzenia danych oraz znalezienia szczegółowych parametrów deformacji, należałoby podjąć próby bardziej obiektywnego i specyficznego opisu deformacji [20].

Mimo, że szczegółowy mechanizm zniekształceń gruczołów Meiboma pozostaje nieznany oraz nie dysponujemy danymi prezentującymi stopień deformacji gruczołów Meiboma w populacji osób zdrowych, wyniki badań wskazują na korelację tego parametru ze stanem powierzchni oka czy też parametrami filmu łzowego. Zaobserwowano, że ekspresyjność gruczołów Meiboma maleje wraz ze wzrostem liczby zdeformowanych gruczołów. Co więcej, zaobserwowano, że wśród pacjentów z największym stopniem ubytku gruczołów oraz z ich znacząco obniżoną ekspresyjnością, stopień zniekształceń jest najniższy, co sugeruje, że zmiana ta występuje tylko na początku procesu chorobowego i zanika wraz z postępem zaburzenia. Odnotowanie w badaniu spadku liczby zdeformowanych gruczołów wraz ze wzrostem obszaru zaniku gruczołów Meiboma wskazuje na postępowanie dysfunkcji [20, 145].

Zaobserwowano również negatywną korelację deformacji gruczołów Meiboma z grubością warstwy lipidowej filmu łzowego. Wyniki sugerują, że krętość gruczołów może zaburzać mechanizm wydzielniczy gruczołów Meiboma, prowadząc do ściężenia warstwy lipidowej filmu łzowego, skutkującego niestabilnością filmu łzowego. Wykazano również korelację między testem Schirmera oraz barwieniem powierzchni oka fluoresceiną [21].

Co ciekawe, kolejne badania pokazały korelację deformacji z inwazyjnym czasem przerwania filmu łzowego oraz barwieniem powierzchni oka. W przeciwieństwie do wcześniejszych badań wykazano, że wzrost zniekształceń gruczołów skutkuje mniejszymi nieprawidłowościami badanych parametrów. Należy jednak zwrócić uwagę, że w badaniu nie wprowadzono rozróżnienia na analizę w poszczególnych stadiach ubytków gruczołów Meiboma, tak jak sugerowano to w poprzednich pracach [146].

Nie bez znaczenia jest również fakt, że każda z prac wykorzystuje inny system pomiaru i opisu zniekształceń, co może stanowić jedną z przyczyn niespójności uzyskiwanych wyników. Jak już wspomniano wcześniej, dane dotyczące poziomu zniekształceń gruczołów w ogólnej populacji nie są dostępne. Badania pokazały jednak wyraźne różnice pomiędzy poziomem krętości gruczołów pomiędzy osobnikami rasy kaukaskiej oraz rasy azjatyckiej, z wyższą częstością występowania w przypadku tej pierwszej. Obserwuje się również wyraźny wzrost tego parametru w przypadku płci męskiej. Należy zaznaczyć jednak, że dane te zebrano na populacji osób w wieku 5-18 lat, co nie powinno być traktowane jako ogólny obraz całej populacji. Konieczne są dalsze badania w tym zakresie [147-148].

Kolejnym zagadnieniem wymagającym wyjaśnienia jest wpływ użytkowania soczewek kontaktowych na gruczoły Meiboma. Również w tym przypadku, w większości badań wnioski wyciągano na podstawie pomiarów obszaru ubytków oraz funkcji gruczołów Meiboma [149-153]. Nieliczne prace podjęły próbę znalezienia korelacji pomiędzy poziomem deformacji gruczołów a wpływem stosowania soczewek kontaktowych [154]. Jak do tej pory stwierdzono wyższy poziom zniekształceń u pacjentów z alergicznym zapaleniem spojówek związanym z noszeniem soczewek kontaktowych niż w grupie użytkowników soczewek kontaktowych bez dolegliwości [155]. Również badania przeprowadzone w grupie osób nieużywających soczewek kontaktowych wykazały korelację pomiędzy alergicznym zapaleniem spojówek a zmianami morfologii gruczołów [155-156]. Przypuszcza się, że to nie samo użytkowanie soczewek kontaktowych, lecz stany zapalne indukowane przez soczewki kontaktowe, prowadzą do zniekształceń gruczołów.

Mechanizm zmian pozostaje jednak niejasny [154, 157-158]. Sugeruje się, że stany zapalne spojówki mogą prowadzić do zwiększonego ciśnienia w obrębie gruczołów Meiboma. Co więcej, zniekształcenia gruczołów były odnotowane przede wszystkim w górnej powiece. Wy tłumaczeniem tego zjawiska może być większa częstotliwość występowania olbrzymiobrodawkowego zapalenia spojówek (*ang. Giant Papillare Conjunctivitis – GPC*) górnej spojówki powiekowej w porównaniu z dolną. Sama anatomia gruczołów, tj. długość gruczołów górnej powieki, może skutkować wyższą częstotliwością pojawiających się zmian [155-156].

Niezwykle istotnym zagadnieniem jest podjęcie prób analizy morfologii gruczołów Meiboma z uwzględnieniem podziału na poszczególne strefy powieki, tj. części skroniowej, centralnej oraz nosowej. Badania pokazały znaczące różnice pomiędzy oceną globalną danej powieki a stanem jej poszczególnych obszarów. Ocena globalna obszaru ubytku gruczołów Meiboma była znacząco różna od oceny w obszarach nosowych i centralnych. Natomiast w przypadku krętości gruczołów analiza dla każdego obszaru powieki była różna od oceny globalnej. Dalsze prace nad tym zagadnieniem mogą dać pełniejsze zrozumienie patofizjologii dysfunkcji gruczołów Meiboma oraz pozwolić na wyznaczenie kryteriów diagnostycznych jej poszczególnych stadiów zaawansowania [32].

Kolejnym celem prowadzonych badań powinna być ocena morfologii gruczołów Meiboma w obszarach dystalnych, środkowych oraz tuż przy obszarze brzegu powieki. Obserwuje się spadek jakości uzyskiwanych obrazów, przede wszystkim w częściach dystalnych powiek, powodowany nie problemami technicznymi, a zmianami w obrębie gruczołów zachodzącymi wraz z wiekiem oraz zmiennym składem lipidowym filmu łzowego. Istotnym aspektem analizy części dystalnych powiek jest sposób, czy też efektywność wywinięcia górnej powieki. W celu analizy części dystalnych powiek należałoby zwracać uwagę, czy analizą objęty zostanie jedynie obszar występowania gruczołów Meiboma czy również części dystalne powiek niezawierające gruczołów Meiboma. Istotne byłoby także określenie, na ile możliwe jest rozróżnienie pomiędzy obszarem niezawierającym gruczołów Meiboma a obszarem ubytku czy też skrócenia gruczołów Meiboma [26].

Podsumowując, nie tylko stopień ubytku gruczołów Meiboma oraz zmiany jakościowe gruczołów Meiboma, lecz również strukturalne zmiany gruczołów Meiboma mogą mieć wysoką zdolność diagnostyczną dysfunkcji gruczołów Meiboma. Wszystkie wymienione parametry powinny zostać uwzględnione w celu oceny zaawansowania dysfunkcji gruczołów Meiboma.

Jak zaprezentowano w powyższej części pracy, nie tylko stopień ubytku gruczołów Meiboma, ale również zmiany ich kształtu korelują ze zmianami w obrębie powierzchni oka oraz filmu łzowego charakterystycznymi dla dysfunkcji gruczołów Meiboma oraz choroby suchego oka. Doniesienia te wskazują na potrzebę uwzględniania zmian morfologii gruczołów w opisie klinicznym tego schorzenia. Jak do tej pory, liczba analizowanych parametrów morfometrycznych jest mocno ograniczona, należałoby zatem tworzyć i testować nowe parametry, przy czym sposoby ich wyznaczania powinny być w jak największym stopniu zautomatyzowane. W zależności od stopnia zaawansowania dysfunkcji gruczołów Meiboma zmiany morfologiczne mogą dotyczyć całej struktury lub tylko pojedynczych gruczołów w konkretnych miejscach analizowanej powieki. Dlatego też, niezwykle przydatna byłaby analiza i parametry morfometryczne opisujące zmiany morfologii na poziomie globalnym oraz lokalnym. Sprostanie tak postawionym wymaganiom nie jest procesem trywialnym, dlatego też procedura analizy obrazów meibograficznych nie została jeszcze ustandaryzowana. Celem przedstawionej pracy jest stworzenie autorskiej metody, która zostanie przetestowana na obrazach gruczołów Meiboma pozyskanych z wykorzystaniem własnego meibografu.

## ***2. Pomiary własne obrazów meibograficznych***

### ***2.1 Uczestnicy badania***

W badaniu wzięły udział 73 zdrowe osoby, w tym 58 kobiet oraz 15 mężczyzn, w wieku 18-35 lat. Większość uczestników badania stanowili studenci Wydziału Fizyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Uczestnikami badania były osoby zdrowe, podczas wywiadu medycznego wykluczono choroby ogólne, które mogą mieć wpływ na układ wzrokowy i powierzchnię oka. Następnie przeprowadzono badanie przedniego oraz tylnego odcinka oka w lampie szczelinowej. W przypadku występowania zmian patologicznych w obrębie tych struktur, badany został poinformowany o konieczności konsultacji okulistycznej oraz nie uczestniczył w dalszej części projektu. O wykluczeniu z udziału w badaniu decydowały również wcześniej przebyte operacje oczu oraz powiek, alergie manifestujące się zmianami w przednim odcinku oka, przebyte infekcje oczu w obrębie ostatnich 6 miesięcy. Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza na przeprowadzenie badań.

W badaniu wzięło udział 55 użytkowników miękkich soczewek kontaktowych. W badaniu nie brały udziału osoby noszące sztywne bądź specjalistyczne soczewki kontaktowe. Korzystanie z soczewek kontaktowych jako formy korekcji wady wzroku nie stanowiło dyskwalifikacji z udziału w badaniach. Poinstruowano uczestników o potrzebie zaprzestania noszenia soczewek kontaktowych na 24h przed udziałem w badaniu. Miało to na celu uzyskanie jak najlepszej jakości obrazów gruczołów Meiboma.

### ***2.2 Konstrukcja meibografu***

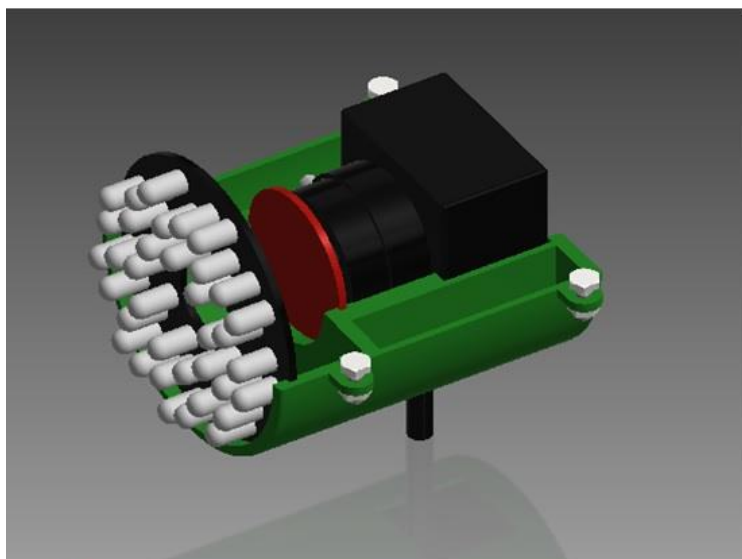
Meibografia staje się w ostatnich latach rutynową metodą diagnostyczną. Na rynku pojawia się coraz więcej komercyjnych rozwiązań. Pracownia Fizyki Widzenia i Optometrii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu dysponuje Keratografem 5M umożliwiającym pozyskanie obrazów meibograficznych. Jednak z uwagi na trudności w przeprowadzaniu badania wynikające z konstrukcji urządzenia (zaprojektowanego przede wszystkim do wykonywania badania topografii rogówki), badania prowadzone w ramach pracy doktorskiej postanowiono przeprowadzić posługując się własnym urządzeniem. Konstrukcja takiego sprzętu jest stosunkowo prosta, dlatego postanowiono zaprojektować, wykonać i wykorzystać własny układ do obrazowania gruczołów Meiboma.



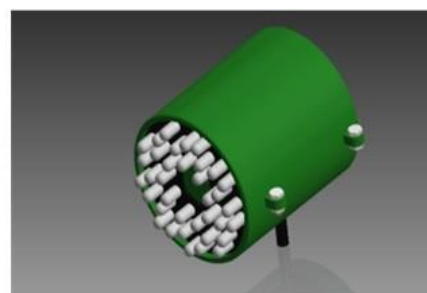
Opracowany system obrazujący składa się ze źródła światła podczerwonego (840nm) w postaci pierścienia diód podczerwonych, dolnoprzepustowego filtra światła podczerwonego (720nm) oraz kamery CCD (*Camera ImagingSource DMK72AUC02*) z obiektywem (16mm, 1:1.6 1/2.5"). Powyższe elementy składowe umieszczono w obudowie, której projekt zakładał możliwość wykorzystywania urządzenia jako przystawki do lampy szczelinowej podczas rutynowego badania optometrycznego/okulistycznego. Obudowa układu pomiarowego oraz część elementów struktury urządzenia zaprojektowano w programie *Autodesk Inventor Professional 2015*, a następnie wydrukowano na drukarce 3D *3D Zortrax M200*, pozostającej na wyposażeniu Pracowni Fizyki Widzenia i Optometrii Wydziału Fizyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Gotowy układ pozwalał na rejestrację obrazów gruczołów Meiboma w rozdzielczości 20 pikseli/mm z 8-bitowym zakresem dynamicznym.

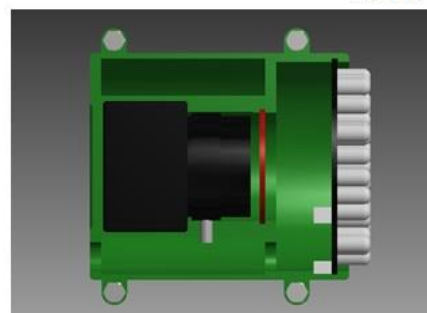
Rys. 18-20 przedstawiają projekty urządzenia pochodzące z oprogramowania *Autodesk InventorProfessional 2015*. Rys. 21 przedstawia skonstruowany meibograf wykorzystany w badaniu.



Rys. 18.



Rys. 19.



Rys. 20.

**Rys. 18-20. Wizualizacja meibografu uzyskana dzięki oprogramowaniu Autodesk InventorProfessional 2015. Źródło światła podczerwonego stanowią diody rozmieszczone na pierścieniu, następnie filtr światła podczerwonego (czerwona nakładka) oraz kamera CCD wraz z obiektywem.**



**Rys. 21. Meibograf na statywie skonstruowany na potrzeby badania.**

### ***2.3 Rejestracja obrazów gruczołów Meiboma***

Opisany w rozdziale 2.2. meibograf wykorzystano do rejestracji obrazów gruczołów Meiboma, które następnie posłużyły do testowania nowoopracowanej metody analizy zmian morfologicznych.

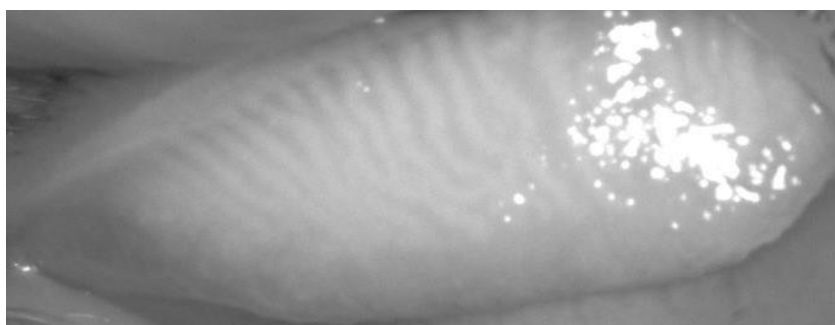
Pomiary optometryczne wykonane zostały w Pracowni Fizyki Widzenia i Optometrii na Wydziale Fizyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu oraz w Laboratorium Neuronauki i Fizyki Widzenia w Międzyuczelnianym Centrum NanoBioMedycznym (CNBM) przy Wydziale Fizyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Aparatura niezbędna do wykonania badań pozostaje na wyposażeniu tych jednostek.

Do obrazowania gruczołów Meiboma wykorzystano zaprojektowany meibograf w połączeniu z lampą szczelinową. Oprzyrządowanie mocowane jest na ramieniu lampy szczelinowej, następnie górna powieka osoby badanej jest wywijana i oświetlana układem diod, co pozwala na obserwację gruczołów oraz zapisanie obrazu w formie cyfrowej. Zdjęcie wykonywane jest z wykorzystaniem dedykowanego oprogramowania kamery. Procedura wywinięcia górnej powieki umożliwia dokładne badanie spojówki powiekowej, obserwację brzegów powiek oraz uwidocznienie gruczołów Meiboma w podczerwieni. Górna powieka została wywinięta z wykorzystaniem patyczka kosmetycznego. Uczestnik badania pozostaje w niezmienionej pozycji, jak podczas standardowego badania w lampie szczelinowej, opierając brodę i czoło na podpórkach, utrzymujących stabilne ułożenie głowy. Pacjent proszony jest o patrzenie w dół, bez zamykania oczu. Patyczek zostaje delikatnie położony na fałdzie powiekowej, następnie chwytając rzęsy i ciągnąc powiekę w górę i do przodu,

uzyskuje się wywiniecie górnej powieki. Procedura ta jest w pełni bezpieczna, nieinwazyjna i bezbolesna oraz stanowi standard badania okulistycznego i optometrycznego. Podczas procedury wywinęcia górnej powieki może wystąpić chwilowe uczucie dyskomfortu, łzawienie oczu. Dolegliwości te mają jednak jedynie charakter przejściowy.

Podczas rejestracji obrazów zaobserwowano, że wraz ze zmniejszoną stabilnością filmu łzowego uzyskuje się obrazy gruczołów o jakości niewystarczającej do przeprowadzenia dalszych zaawansowanych analiz. Charakterystyczne były prześwielone obrazy, tj. odbicia lustrzane od filmu łzowego, uniemożliwiające poprawną wizualizację struktur gruczołów Meiboma.

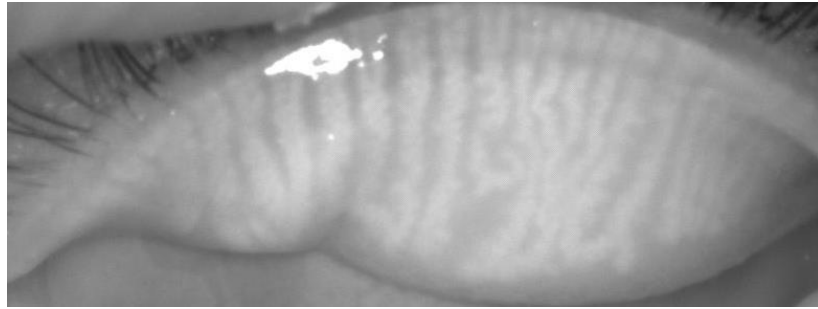
Należy zwrócić również uwagę, że fotografowana powierzchnia nie jest płaszczyzną płaską, co utrudnia uzyskanie ostrego obrazu całej powierzchni tarczki powiek. Fałdowanie powiek w trakcie jej wywinęcia, niezbędnego do rejestracji obrazu gruczołów, również może prowadzić do nieostrości w uzyskanych obrazach. Cechy anatomiczne powiek i/lub brak odpowiedniego doświadczenia osoby badającej może skutkować niepełnym wywinieniem powieki. W rezultacie obrazowany jest obszar w centrum powieki, pomijając obszary nosowe i skroniowe, w których mogą zachodzić znaczące zmiany w przebiegu dysfunkcji gruczołów Meiboma. Kolejne rys. 22-24 stanowią przykłady opisywanych artefaktów.



**Rys. 22.** Odbicie lustrzane od filmu łzowego w nosowej części tarczki powieki. Nieostra skroniowa część gruczołów Meiboma.



**Rys. 23.** Odbicie lustrzane od filmu łzowego w nosowej części tarczki powieki. Nieostra skroniowa część gruczołów Meiboma.

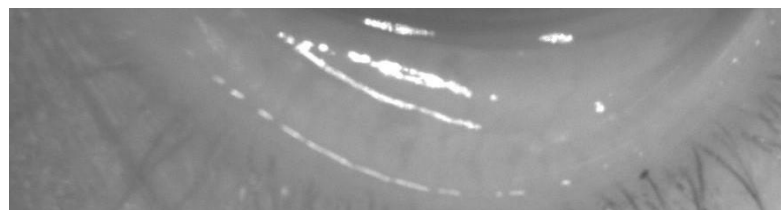


**Rys. 24. Lekkie odbicie lustrzane od filmu łzowego w górnej części tarczki powieki. Nieostra skroniowa część gruczołów Meiboma. Nieostrości obrazu w części nosowej wynikające z pofałdowania powieki na skutek jej wywinięcia.**

Do dalszych analizach wykorzystano 146 zdjęć gruczołów Meiboma (prawa i lewa powieka górna każdego z pacjentów). Zdecydowano się tylko na zdjęcia górnych powiek gruczołów Meiboma ponieważ te, w przeciwieństwie do zdjęć powiek dolnych, wyróżniały się wyższym kontrastem, jednolitym oświetleniem całej tarczki powiek oraz większą ostrością obrazu, szczególnie w częściach nosowych i skroniowych powiek. W badaniu wykorzystano zestaw zdjęć o najwyższej jakości w celu przetestowania skuteczności nowego algorytmu do analizy obrazów meibograficznych. Testowanie nowoopracowanego algorytmu jedynie na obrazach powiek górnych stanowi pewne ograniczenie prezentowanej pracy. Jednak dalsze badania będą skupiały się na testowaniu proponowanych metod analiz również w celu oceny morfologii gruczołów zlokalizowanych w powiece dolnej. Tak jak widzimy na przykładach poniżej, zarejestrowany obszar tarczki powieki dolnej wydaje się być wystarczający do analizy wybranych parametrów morfometrycznych. Na rys. 25-27 widzimy przykładowe obrazy gruczołów Meiboma zlokalizowanych w powiece dolnej.



**Rys. 25. Lekkie odbicie lustrzane od filmu łzowego w nosowej części tarczki powieki. Ostry obszar gruczołów Meiboma jedynie w centrum tarczki powiek.**



**Rys. 26. Odbicia lustrzane od filmu łzowego w obrazie gruczołów Meiboma w części górnej. Niejednolite oświetlenie, niski kontrast uzyskanego obrazu.**



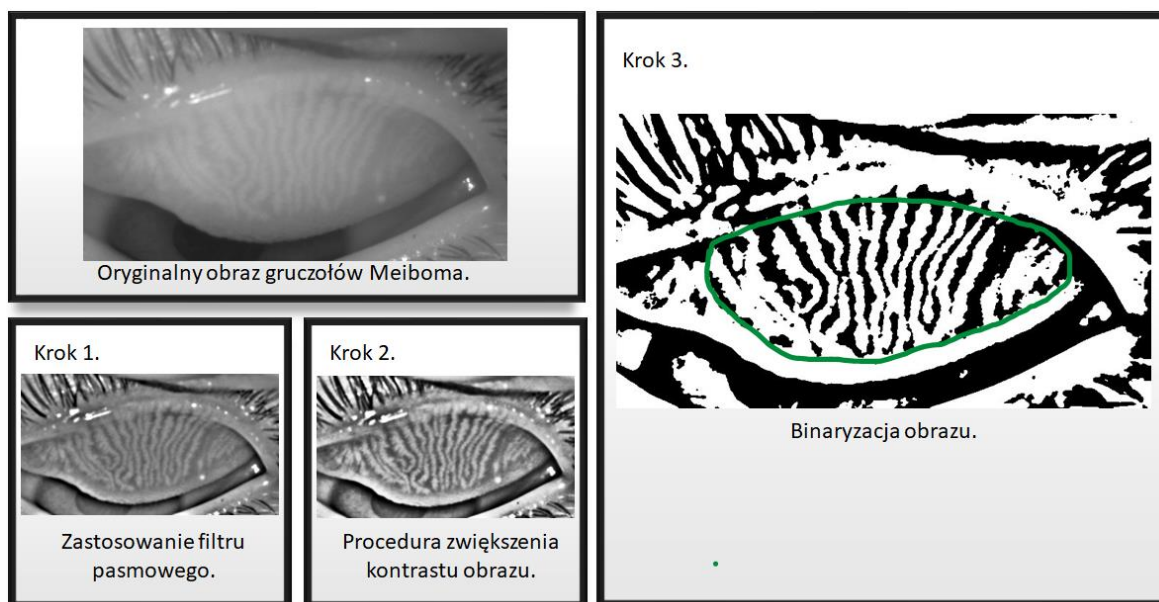
**Rys. 27.** Lekkie odbicia lustrzane od filmu łzowego w górnej oraz nosowej części tarczki powieki. Niejednolite oświetlenie powieki, ostry obszar gruczołów Meiboma jedynie w centrum tarczki powiek. Niewidoczne struktury gruczołów w części skroniowej z powodu trudności w wywinięciu całej tarczki powieki.

#### ***2.4 Wstępna obróbka pozyskanych obrazów meibograficznych***

Jak wspomniano wcześniej, jakość rejestrowanego obrazu gruczołów silnie zależy od sposobu jego rejestracji. Duży wpływ ma ustawienie powieki względem obiektywu kamery w trakcie wykonywania zdjęcia, co nie jest czynnością powtarzalną. W badaniach wykorzystano kamerę o stosunkowo niewielkim, 8-bitowym, zakresie dynamicznym, z czym wiązał się niski kontrast uzyskiwanego obrazu. W rezultacie obserwowano niewielkie różnice w jasności pikseli w obszarze gruczołu i w obszarach pomiędzy gruczołami. Ponieważ założeniem pracy było określenie zmian kształtu gruczołów Meiboma, dlatego korzystne byłoby, aby w analizowanych obrazach widoczne były jedynie te struktury. W tym celu przed przystąpieniem do szczegółowej analizy pozyskane obrazy postanowiono ustandaryzować, doprowadzając do postaci binarnej, gdzie wartość piksela należącego do obszaru gruczołu wynosi 1, natomiast wartość piksela należącego do obszaru pomiędzy gruczołami to 0. Proces binaryzacji obrazów przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania ImageJ (*Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD*). Kolejne kroki wstępnej obróbki obrazów gruczołów Meiboma przedstawiono na rys. 28.

Procedura polegała na wykorzystaniu sekwencji filtrów cyfrowych do redukcji szumów oraz poprawy kontrastu w obrazie. Następnie zaznaczano manualnie obszar powieki górnej (zielona linia na rys. 28). Ostatecznie uzyskano binarny obraz gruczołów Meiboma o rozmiarze 800x800 pikseli.

W celu sprawdzenia powtarzalności oszacowań obszaru powieki, procedurę powtórzono następnego dnia przez tego samego specjalistę. W przypadku niezgodności w ocenie dokonano powtórnej analizy z uwzględnieniem wyżej wymienionych kryteriów.



**Rys. 28. Przykład procedury obróbki wstępnej rejestrowanych obrazów meibograficznych.**

Na rys. 29 zaprezentowano przykłady binarnych obrazów gruczołów Meiboma. Jak wynika z rys. 28 i 29, zastosowana procedura standaryzacji rejestrowanych zdjęć znacząco poprawia kontrast uzyskanych obrazów, na których wyraźnie zaznaczone są obszary gruczołów Meiboma. Kolejna obserwacja dotyczy kształtu obrazowanych struktur. Jak widać na rys. 29 gruczoły Meiboma mogą przyjmować strukturę jednokierunkowych pasków, przebiegających wzdłuż całej długości powieki. Dochodzić może jednak do ich zawężenia bądź poszerzenia oraz zniekształceń w wybranych obszarach powieki bądź na całym jej obszarze. Opierając się na tych obserwacjach można zatem dokonać podziału obrazów meibograficznych na zdefiniowane kategorie subiektywne. Na rys. 29 widzimy przykładowe obrazy gruczołów Meiboma, którym przypisano następujące kategorie: „zdrowy”, „pośredni”, „chory”. W kolejnym podrozdziale omówiona zostanie procedura wstępnej klasyfikacji uzyskanych obrazów.

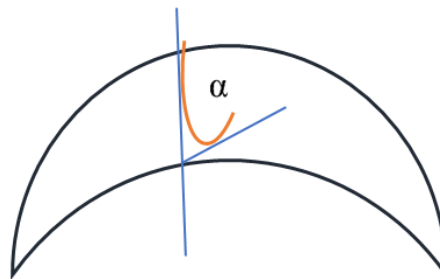


**Rys. 29 Przykłady binarnych obrazów gruczołów Meiboma należących odpowiednio do kategorii: a) „zdrowy”, b) „pośredni”, c) „chory”.**

## 2.5 Subiektywna klasyfikacja obrazów gruczołów Meiboma

Uzyskane obrazy gruczołów Meiboma zostały poddane ocenie przez optometrystę. Celem oceny było przypisanie każdego zarejestrowanego obrazu do jednej z trzech subiektywnych kategorii, tj. „zdrowy”, „pośredni” oraz „chory”.

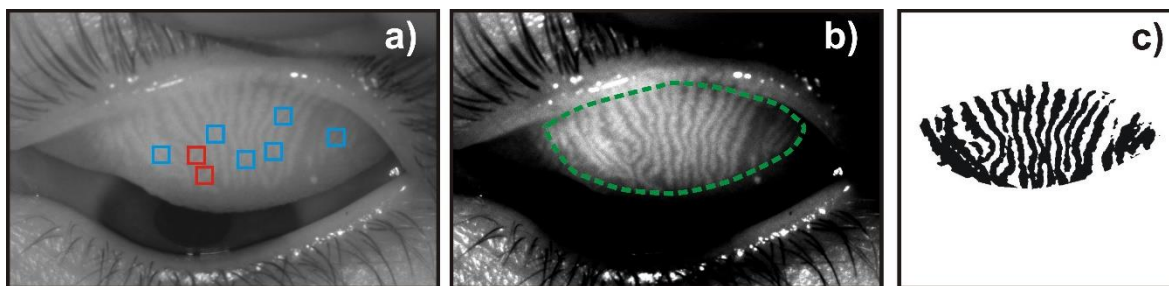
Aby dokonać klasyfikacji obrazów posłużono się kilkoma kryteriami. Jak wspomniano podczas opisu dostępnych metod opisu obrazów gruczołów Meiboma zmiana odchylenia gruczołów uznawana jest za jeden z bardziej istotnych parametrów wykorzystywany do diagnostyki oraz oceny stopnia zaawansowania dysfunkcji gruczołów Meiboma. Opierając się na danych literaturowych, poziom zniekształcenia gruczołów oceniano na podstawie kąta odchylenia nieprawidłowego gruczołu od pozycji prawidłowej (niezdeformowanej). Za istotne uznano zmiany odchylenia powyżej 45 stopni [14-15]. Rys. 30 przedstawia ocenę kąta odchylenia (zniekształcenia),  $\alpha$ , części gruczołu Meiboma (pomarańczowa linia) od pozycji prawidłowej (szara linia) przebiegającej wzdłuż całego obszaru powieki (czarny półksiężyc).



**Rys. 30. Ocena zniekształcenia gruczołów Meiboma.** Kąt odchylenia,  $\alpha$ , części gruczołu Meiboma (pomarańczowa linia) od pozycji prawidłowej (niebieska linia) przebiegającej wzdłuż obszaru całej powieki (czarny półksiężyc) powyżej 45 stopni uznano za nieprawidłowy.

Za gruczoły „zdrowe” uznano te, które nie wykazywały zniekształceń. Do grupy „pośredniej” klasyfikowano obrazy, gdzie od 1 do 4 gruczołów uległo istotnemu skręceniu. Natomiast do grupy gruczołów „chorych” klasyfikowano zdjęcia na których powyżej 4 gruczołów wykazywało założony poziom skręcenia. Zwracano również uwagę na obecność innych cech morfologicznych, tj. poszerzenie, nachodzenie na siebie (które powoduje przerwanie gruczołu znajdującego się pod spodem), zwężenie bądź zakończenie gruczołu typu hakowatego oraz zakończenie gruczołów typu "U" (złączenie końców dwóch lub więcej gruczołów) [20-21, 26, 155-156]. Klasyfikację obrazów powtórzono następnego dnia przez tego samego specjalistę. Korelacja pomiędzy wynikami ewaluacji wynosiła  $p < 0,05$  oraz  $r = 0,794$ .

Rys. 31 przedstawia przykładowy obraz meibograficzny (wersja oryginalna a) z zaznaczonymi obszarami o istotnych zmianach odchylenia gruczołów (niebieskie kwadraty) oraz rejony występowania zawężonych gruczołów (czerwone kwadraty). Część środkowa b) przedstawia obraz po zastosowaniu sekwencji filtrów cyfrowych z wyznaczonym obszarem powieki zawierającym gruczoły Meiboma. Z kolei część c) stanowi uzyskaną binarną wersję obrazu oryginalnego.



**Rys. 31.** Oryginalny obraz gruczołów Meiboma z zaznaczonymi obszarami deformacji gruczołów (niebieskie kwadraty) oraz zawężeniami gruczołów (czerwone kwadraty) (część a)). W części b) obraz meibograficzny po zastosowaniu sekwencji filtrów cyfrowych z wyznaczonym obszarem powieki zawierającym gruczoły Meiboma. W części c) obraz binarny oryginalnego obrazu – część a).

Powyżej opisany sposób oceny obrazów meibograficznych, oparty na bezpośredniej obserwacji specjalisty, pozwolił na dokonanie podstawowej klasyfikacji (*ang. Ground-Truth Classification*). W jej rezultacie każdemu obrazowi przypisana została jedna z trzech kategorii („zdrowy”, „pośredni” oraz „chory”). Informacja ta zostanie wykorzystana w dalszym etapie badań do ewaluacji metody automatycznej klasyfikacji obrazów.



### ***3. Numeryczne metody przetwarzania i analizy danych***

#### ***3.1 Cyfrowa analiza sygnałów***

Rozwijana w ramach niniejszej pracy metoda obiektywnej oceny stanu morfologicznego gruczołów Meiboma wymaga rejestracji oraz analizy zdigitalizowanych obrazów gruczołów. Jak wynika z wcześniejszego opisu anatomii oraz prezentowanych zdjęć (rys. 13), struktura gruczołów Meiboma jest bardzo charakterystyczna. „Zdrowe” gruczoły mają określony kierunek (wzdłuż osi powieki), nie różnią się nadto grubością i odstępem do sąsiada. W konsekwencji, obraz gruczołów ma strukturę pasów. Ta silna kierunkowość i periodyczność w cyfrowych obrazach gruczołów Meiboma uzasadnia wybór dwuwymiarowej dyskretnej transformaty Fouriera jako podstawowej metody analizy obrazów. Skrócony opis tej metody zaprezentowano poniżej.

##### ***3.1.1 Dyskretna transformata Fouriera***

Transformacja Fouriera jest podstawowym narzędziem analizy harmoniczej, teorii analizy i przetwarzania sygnału [159-160]. Metoda ta zakłada, że dowolną funkcję  $f(x)$  można zaprezentować jako sumę elementarnych funkcji *sinus* różniących się częstotliwością, amplitudą i fazą. Efektem działania transformacji Fouriera na funkcji  $f(x)$  jest nowa zespolona funkcja w dziedzinie częstotliwości  $F(q)$ , której część rzeczywista jest widmem amplitudowym analizowanej funkcji, a część urojona stanowi jej widmo fazowe. Dyskusja tak uzyskanych widm umożliwia nowe spojrzenie na wyjściową funkcję,  $f(x)$ , często ułatwiając prowadzenie obliczeń oraz pozwalając wydobyć z niej wiele dodatkowych informacji.

Historycznie transformacja Fouriera była narzędziem analizy matematycznej operującej na abstrakcyjnych funkcjach o ciągłych przedziałach argumentów,  $x$ . W zastosowaniach fizycznych argumentem funkcji najczęściej był czas lub pozycja w przestrzeni. Chcąc zastosować transformację Fouriera do analizy funkcji, których wartości pozyskiwane są eksperymentalnie (czyli do analizy rzeczywistych sygnałów), należy dokonać pomiaru wartości interesującej wielkości (np. ciśnienia akustycznego, natężenia światła, itp.) w funkcji interesującego argumentu (np. czasu lub pozycji w przestrzeni). Większość z obecnie stosowanych technik pomiarowych wykorzystuje cyfrowe przetworniki sygnału, które rejestrują interesującą wielkość fizyczną (wartość funkcji  $f$ ) w pewnych określonych, dyskretnych, odstępach argumentu (np. czasu). Proces

ten nazywa się „próbkowaniem” a przekształcenie sygnału składającego się ze skończonego ciągu próbek dokonuje się za pomocą *dyskretnej* transformaty Fouriera.

Dyskretne przekształcenie Fouriera sygnału  $f(x)$  składającego się z  $N$  próbek można wyrazić równaniem:

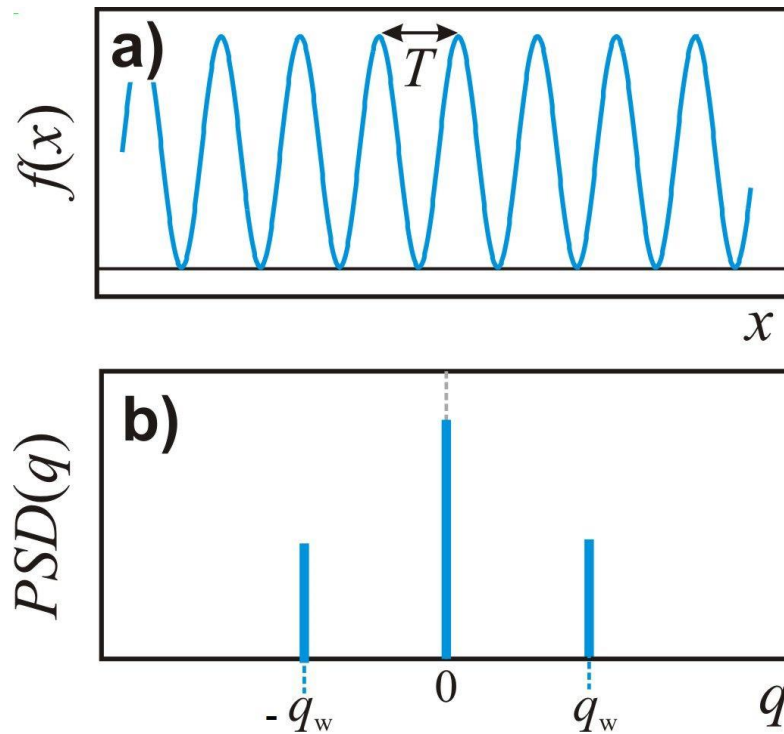
$$F(q) = \frac{1}{N} \sum_{x=0}^{N-1} f(x) e^{-i \frac{2\pi}{N} q \cdot x}, \quad (1)$$

gdzie:  $q$  jest częstotliwością a  $i$  jest jednostką urojoną.

Jak wspomniano wcześniej oraz jak wynika z równania (1), funkcja  $F(q)$  jest zespolona. W wielu przypadkach dokładna wiedza o częstotliwościowej zależności amplitudy (części rzeczywistej) i fazy (części urojonej) nie jest niezbędna. Często wystarczającą ilość informacji dostarcza analiza tzw. „widmowej gęstości mocy” (*ang. Power Spectral Density, PSD*), która zdefiniowana jest jako kwadrat modułu równania (1)

$$PSD(q) = |F(q)|^2. \quad (2)$$

Wykresy zależności  $PSD(q)$  są łatwo interpretowalne jako wskazujące udział w analizowanym sygnale  $f(x)$  składowej sinusoidalnej o danej częstotliwości,  $q$ . Wykres prostego stacjonarnego sygnału sinusoidalnego o pewnym okresie  $T$  (częstotliwości  $q = 1/T$ ) wraz z przebiegiem  $PSD(q)$  przedstawiono, odpowiednio, na rys. 32a i b. Jak widać, zależność  $PSD(q)$  przedstawia dwa symetryczne piki, informujące, że analizowany sygnał to idealna funkcja sinus (lub cosinus). Pozycja pików pozwala określić częstotliwość analizowanego sygnału. Pik centralny (dla  $q = 0$ ) odpowiada składowej stałej (wartości średniej) analizowanego sygnału. Należy zwrócić uwagę, że dla sygnału stacjonarnego, szerokość pików w zależności  $PSD(q)$  dąży do zera.



**Rys. 32.** Wynik działania dyskretnej transformaty Fouriera na stacjonarnym sygnale sinusoidalnym o okresie  $T$ . Panel a) przedstawia funkcję  $f(x)=\sin(2\pi x/T)$ . W panelu b) przedstawiono widmową gęstość mocy (PSD) z charakterystycznymi pikami, których pozycja odpowiada częstotliwości sygnału wejściowego,  $q_w=1/T$ .

Warto zaznaczyć, że choć równanie (1) jest formalnie poprawne, to w praktycznych zastosowaniach powszechnie stosuje się algorytm tzw. szybkiej transformaty Fouriera (*ang. Fast Fourier Transform, FFT*). Przy spełnieniu odpowiednich warunków dla sygnału wejściowego, algorytm ten jest znacznie efektywniejszy z uwagi na mniejszą złożoność obliczeniową [159].

### ***3.1.2 Uogólnienie dyskretnej transformaty Fouriera do analizy sygnałów dwuwymiarowych***

Głównym celem niniejszej pracy jest jakościowa i ilościowa analiza obrazów meibograficznych. W obecnych czasach obrazy powszechnie rejestrowane są wykorzystując matryce elementów światłoczułych. Każdy z takich elementów jest niezależnym czujnikiem natężenia światła, którego wartość rejestrowana jest w postaci cyfrowej. Ponieważ elementy światłoczułe mają skończony rozmiar i tworzą matrycę, pomiar natężenia światła odbywa się jedynie w określonych miejscach przestrzeni. Zatem z formalnego punktu widzenia, rejestrowane kamerą cyfrową obrazy to cyfrowe dwuwymiarowe sygnały dyskretne. Sygnały tego typu można również poddać przekształceniu Fouriera. Transformata Fouriera

dla dwuwymiarowego ciągu próbek  $f(x,y)$  jest dyskretna dwuwymiarowa transformata Fouriera (ang. *Two-Dimensional Discrete Fourier Transform, 2DFT*) zdefiniowana jako:

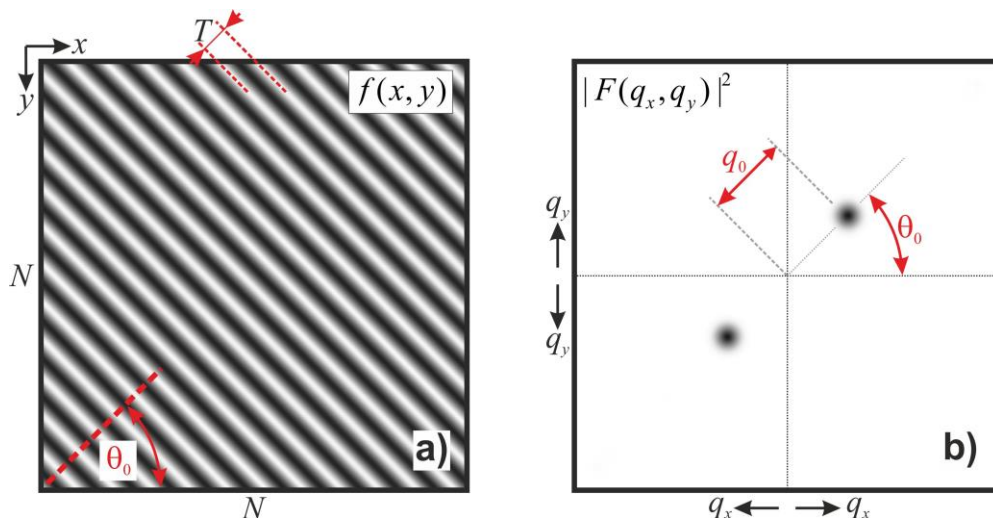
$$F(q_x, q_y) = \frac{1}{N^2} \sum_{x=0}^{N-1} \sum_{y=0}^{N-1} f(x, y) e^{-i \frac{2\pi}{N} (q_x x + q_y y)}, \quad (3)$$

gdzie:  $N$  to liczba próbek (rozmiar obrazu w pikselach) w kierunku osi  $x$  oraz osi  $y$ , natomiast  $q_x$  i  $q_y$  to wartości częstotliwości modulacji funkcji  $f(x,y)$  odpowiednio w kierunku osi  $x$  oraz osi  $y$ .

Jak wynika z równania (3), rezultatem transformacji Fouriera obrazu cyfrowego,  $f(x,y)$  jest kwadratowa tabela wartości  $F(q_x, q_y)$ , będącymi liczbami zespolonymi. Podobnie jak w poprzednio opisanym przypadku sygnałów jednowymiarowych, również tutaj wygodniej posługiwać się widmową gęstością mocy sygnału, PSD, zdefiniowaną jako:

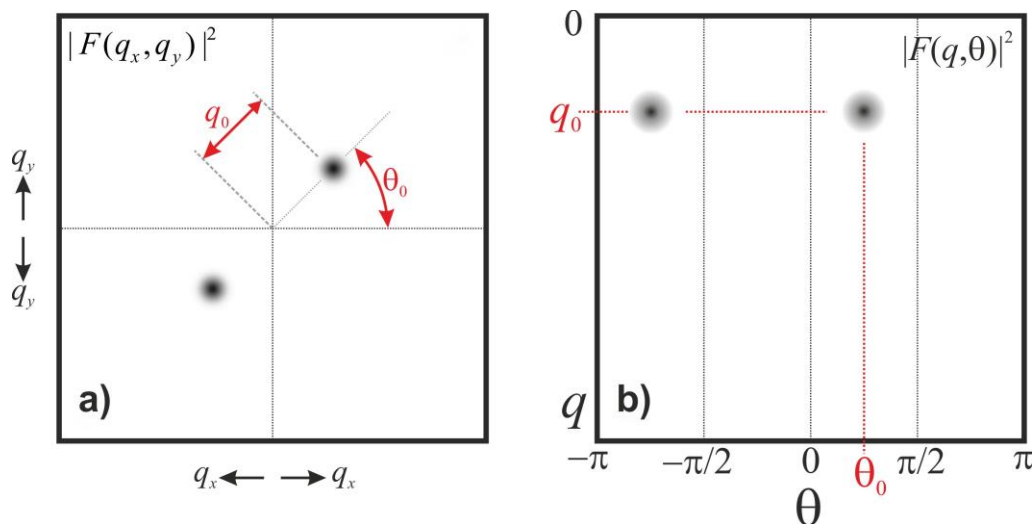
$$PSD(q_x, q_y) = |F(q_x, q_y)|^2 \quad (4)$$

Wykres  $PSD(q_x, q_y)$  jest obrazem w skali szarości, w którym jasność piksela  $(q_x, q_y)$  wyraża wartość funkcji PSD w tym punkcie. Wykres PSD dla prostego dwuwymiarowego stacjonarnego sygnału sinusoidalnego o pewnym okresie  $T$  (częstotliwości  $q_0 = 1/T$ ) i jednokierunkowej modulacji określonej kątem  $\theta_0$  (rys. 33a) przedstawia rys. 33b.



**Rys. 33. Widmowa gęstość mocy (PSD) funkcji  $f(x,y)$ .** Schemat przedstawia wynik transformaty Fouriera idealnego jednokierunkowego sinusoidalnego sygnału o danym okresie  $T$  oraz orientacji  $\theta_0$ . Panel a) przedstawia dwuwymiarowy obraz  $f(x,y)$ . Panel b) zawiera obraz widmowej gęstości mocy, PSD, we współrzędnych kartezjańskich. Odległość pików od centrum PSD odpowiada częstotliwości sygnału wejściowego,  $q_0 = 1/T$ . Z kolei wartość kąta  $\theta_0$ , pod którym widoczne są piki w sygnale wyjściowym, pozwalają określić kierunek oryginalnego rozkładu sinusoidalnego.

Rys. 34 przedstawia widmową gęstość mocy, PSD, funkcji  $f(x,y)$ . Jest on również dobrą ilustracją uzasadniającą użycie transformacji Fouriera jako podstawowego narzędzia numerycznego do ilościowej oceny stanu morfologicznego gruczołów Meiboma. Widać bowiem, że obraz idealnego sygnału sinusoidalnego przypomina strukturę nieznieskształconych gruczołów Meiboma. Jak wynika z rys. 34, obraz PSD idealnie periodycznej (sinusoidalnej) i jednokierunkowej struktury będzie składał się jedynie z dwóch składowych spektralnych w postaci wąskich pików zlokalizowanych w pozycjach  $(q_x, q_y)$ . Dyskusja uzyskanych obrazów PSD jest jednak bardziej naturalna gdy zamiast współrzędnych kartezjańskich  $(q_x, q_y)$  stosuje się współrzędne biegunowe  $(q, \theta)$ . W tym ujęciu współrzędna  $q$ , która oznacza odległość obserwowanej składowej spektralnej (pików) od centrum obrazu PSD, pozwala oszacować częstotliwość analizowanego sygnału, z kolei współrzędna  $\theta$ , czyli kąt pod jakim obserwowane są piki, odpowiada kierunkowi oryginalnej struktury sinusoidalnej. Jeżeli poddawany analizie obrazem  $f(x,y)$  byłoby zdjęcie gruczołów Meiboma, wówczas określona w ten sposób wartość częstotliwości,  $q_0$ , związana byłaby ze średnią szerokością gruczołów lub ze średnią odległością między nimi. Wartość  $\theta_0$  pozwoliłaby natomiast określić średni kąt pod jakim zorientowane są gruczoły. Podejście takie będzie podstawą globalnej analizy zmian morfologicznych gruczołów Meiboma.



**Rys. 34. Widmowa gęstość mocy, PSD, we współrzędnych kartezjańskich (panel a) oraz we współrzędnych biegunowych (panel b).**

### 3.1.3 Krótkoczasowa transformata Fouriera

Powyżej opisana metoda analizy fourierowskiej daje jednoznaczne wyniki dla sygnałów stacjonarnych, czyli gdy transformowana funkcja  $f(x)$  opisana jest stałymi wartościami parametrów (niezmiennymi w czasie lub przestrzeni). Niestety warunek ten rzadko kiedy spełniony jest w przypadku rzeczywistych sygnałów. Sygnały takie bardzo często charakteryzują się zmienną w czasie (lub przestrzeni) amplitudą i częstotliwością. W takich przypadkach wymagana jest analiza uwzględniająca łączne czasowo-częstotliwościowe reprezentacje sygnałów. W tym celu zastosować można tzw. krótkoczasową transformatę Fouriera (ang. *Short-time Fourier Transform, STFT*). Metoda ta pozwala na śledzenie zmian widma sygnału w czasie (lub przestrzeni) z jednoczesną obserwacją jego właściwości w dziedzinie częstotliwości. Praktyczna realizacja tej metody sprowadza się do podziału analizowanego sygnału na odpowiednie segmenty, a następnie analizę widmową, opisaną w rozdziale 3.1.1, przeprowadza się na każdym segmencie z osobna [159]. Wybór segmentu odbywa się poprzez nałożenie na analizowany sygnał pewnego „okna”, którego kształt opisany jest odpowiednią funkcją,  $w$ . Okno to przesuwane jest w trakcie analizy wzdłuż osi czasu (lub przestrzeni).

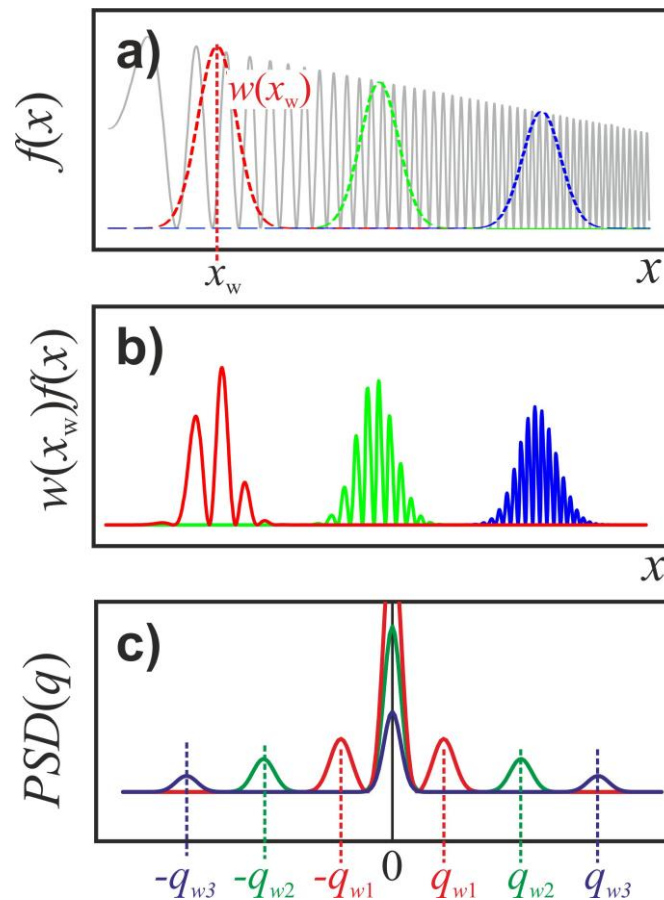
Krótkoczasowa transformata Fouriera  $F(x_w, q)$  dyskretnego sygnału  $f(x)$  ograniczonego oknem o kształcie danym funkcją  $w$ , zlokalizowanym na pozycji  $x_w$ , dana jest równaniem:

$$F(x_w, q) = \frac{1}{N} \sum_{x=0}^{N-1} w(x-x_w) f(x) e^{-i\frac{2\pi}{N}qx} \quad (5)$$

gdzie  $x_w$  to pozycja okna  $w$ .

Na rys. 35 zilustrowano wynik działania krótkoczasowej transformaty Fouriera sygnału niestacjonarnego, którego częstotliwości i amplituda zmienia się w sposób ciągły (szara linia na rys.35a). Trzy wybrane pozycje okna analiz pokazano przerywanymi kolorowymi liniami na rys. 35a. Po ograniczeniu przez okno analiz (rys. 35b) sygnał  $f(x)$  poddawany jest przekształceniu Fouriera, po czym obliczana jest widmowa gęstość mocy, PSD (rys.35c). Rezultat w każdym oknie jest podobny do opisanego wcześniej przypadku jednowymiarowego sygnału stacjonarnego (rys.32). Zależność otrzymana dla każdej pozycji okna analiz przedstawia dwa symetryczne piki, których pozycje  $q_w$  odpowiadają

częstotliwości analizowanego sygnału w obrębie okna. Jak widać, im większa częstotliwość sygnału w obrębie okna (rys.35b), tym większa separacja pików PSD (rys.35c).



**Rys. 35. Schemat działania krótkoczasowej transformaty Fouriera funkcji sinus o zmiennej częstotliwości i amplitudzie.** Panel a) przedstawia funkcję  $f(x)$  będącą funkcją sinus o zmiennej częstotliwości i amplitudzie (linia szara). Kolorowymi przerywanymi liniami zilustrowano okno analizy,  $w$ , w trzech wybranych pozycjach  $x_w$ . Panel b) przedstawia sygnał  $f(x)$  ograniczony oknem analiz. Panel c) przedstawia widmową gęstość mocy (PSD) ograniczonego sygnału. Widoczne są symetryczne piki, których pozycje  $q_w$  odpowiadają częstotliwości sygnału w obrębie okna, natomiast wysokość związana jest z amplitudą ograniczonego sygnału. Pik centralny (dla  $q = 0$ ) odpowiada składowej stałej (wartości średniej) ograniczonego sygnału.

Jak wynika z rys. 35, zmieniając pozycję okna możliwe jest przeprowadzenie analizy na wybranym przez nie fragmencie sygnału. Ceną za możliwość prowadzenia zlokalizowanej (ograniczonej w czasie lub przestrzeni) analizy sygnału jest utrata „rozdzielczości” w domenie częstotliwości. Wyrazem tego zjawiska jest wyraźne poszerzenie pików w zależnościach PSD (rys.32b i rys35c), co interpretować można jako wzrost niepewności w oszacowaniu częstotliwości sygnału. Ponieważ kwestia ta jest istotna dla poprawnego oszacowania wartości niektórych z wyznaczanych parametrów morfometrycznych, dlatego poświęcono jej osobny rozdział. Kwestia ta omówiona zostanie dokładniej w rozdziale 3.1.6 „Konsekwencje skończonego rozmiaru gaussowskiego okna analizy”.

### ***3.1.4 Uogólnienie krótkoczasowej transformaty Fouriera do analizy niestacjonarnych sygnałów dwuwymiarowych***

Jak wynika z rys. 13 oraz rys. 29, rzeczywiste obrazy gruczołów Meiboma, chociaż wykazują strukturę periodyczną, to nigdy nie przypominają stacjonarnego sygnału przedstawionego na rys.33. Odległość między gruczołami oraz kąt nachylenia gruczołów ulega przestrzennym zmianom, przyjmując różne wartości w różnych pozycjach powieki. W takim przypadku należy przeprowadzić lokalną analizę widmową w konkretnym miejscu obrazu. Do tego celu wykorzystać można uogólnioną wersję krótkoczasowej transformaty Fouriera opisaną w poprzednim rozdziale. W sposób analogiczny do przypadku jednego wymiaru, dwuwymiarowa krótkoczasowa transformata Fouriera (*ang. 2D Short-time Fourier Transform, 2DSTFT*) polega na obliczeniu transformaty Fouriera dla konkretnego obszaru obrazu  $f(x,y)$  wskazanego dwu-wymiarowym oknem  $w$  zlokalizowanym w konkretnej pozycji  $(x_w, y_w)$

$$F_w(q_x, q_y) = \frac{1}{N^2} \sum_{x=0}^{N-1} \sum_{y=0}^{N-1} w(x-x_w, y-y_w) f(x, y) e^{-i\frac{2\pi}{N}(q_x x + q_y y)}. \quad (6)$$

Również w tym przypadku analizę widmową wygodniej prowadzić w oparciu o widmową gęstość mocy, PSD, którą obliczyć można wykorzystując równanie (2).

Metoda dwuwymiarowej krótkoczasowej transformacji Fouriera umożliwia określenie lokalnej częstotliwości przestrzennej i kąta orientacji gruczołów Meiboma dla dowolnej pozycji w obszarze powieki. Podejście to będzie podstawą lokalnej analizy zmian morfologicznych gruczołów Meiboma.

### ***3.1.5 Probabilistyczne ujęcie widmowej gęstości mocy***

Widmowa gęstość mocy, PSD, rozpatrywanego sygnału dwuwymiarowego (obrazu) (rys. 34) pozwala określić rozkład „energii” w dostępnym zakresie częstotliwości i orientacji. Jeżeli sygnał jest stacjonarny, wówczas cała jego energia skupiona jest w jednej wartości częstotliwości i orientacji. Jeżeli sygnał nie jest stacjonarny, wówczas spodziewać należy się pewnego rozkładu wartości częstotliwości i orientacji. W takim przypadku określenie konkretnych wartości tych wielkości nie jest jednoznaczne i wymaga podejścia probabilistycznego.



Funkcję rozkładu prawdopodobieństwa  $p(q, \theta)$  opisującą prawdopodobieństwo znalezienia w analizowanym obrazie składowej sinusoidalnej o pewnej częstotliwości  $q$  i pewnej orientacji  $\theta$ , zdefiniować można poprzez unormowaną funkcję widmowej gęstości mocy [161].

$$p(q, \theta) = \frac{|F(q, \theta)|^2}{\int_q \int_\theta |F(q, \theta)|^2 dq d\theta} \quad (7)$$

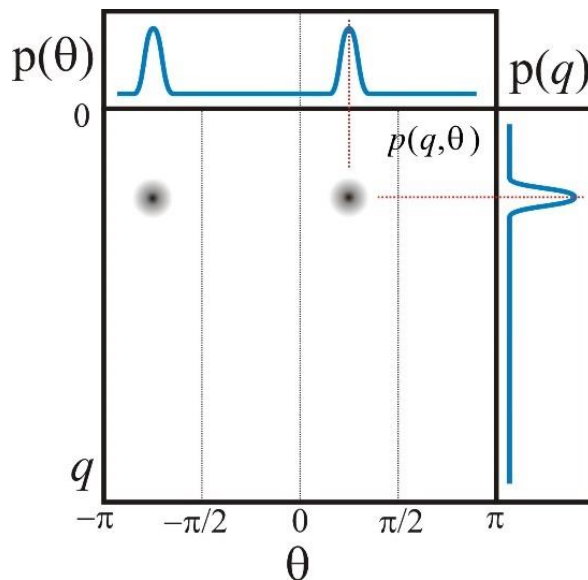
Zdefiniować można również graniczne gęstości prawdopodobieństwa poszczególnych zmiennych  $\theta$  oraz  $q$  odpowiednio jako:

$$p(\theta) = \int p(q, \theta) dq \quad (8)$$

oraz

$$p(q) = \int p(q, \theta) d\theta \quad (9)$$

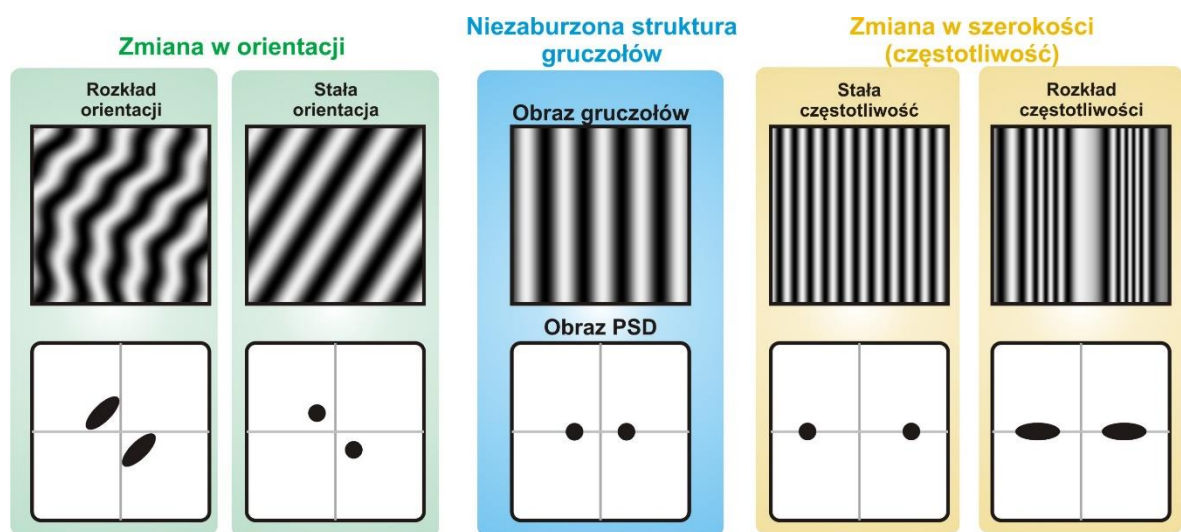
Wyznaczenie rozkładów  $p(\theta)$  i  $p(q)$  polega zatem na zrzutowaniu dwuwymiarowej funkcji  $p(q, \theta)$  odpowiednio na kierunek  $\theta$  i  $q$ . Rys. 36 przedstawia graficzną interpretację operacji wyrażonych równaniami 8 i 9.



**Rys. 36.** Wyznaczenie funkcji rozkładu prawdopodobieństwa  $p(\theta)$  i  $p(q)$  jako brzegowych rozkładów funkcji  $p(q, \theta)$ .

Konsekwencje płynące z powyższych definicji są niezwykle istotne. Jak wynika z równań (7 – 9) oraz z rys. 36, przeprowadzenie transformacji Fouriera obrazu meibograficznego pozwala eksperymentalnie określić jaki jest rozkład prawdopodobieństwa

tego, że zobrazowana struktura gruczołów odpowiada idealnie periodycznej strukturze o pewnej częstotliwości przestrzennej,  $q$ , i pewnej orientacji  $\theta$ . Dzięki dopasowaniu odpowiedniego modelu statystycznego do wyznaczonych doświadczalnie rozkładów  $p(\theta)$  i  $p(q)$  (rys. 36) możliwy jest pomiar średniej częstotliwości i orientacji gruczołów (odpowiadający położeniu maksimum rozkładu), jak również określenie wyższych momentów rozkładu. W szczególności, szerokości rozkładów (ich wariancje) mogą być wykorzystane jako wartościowe parametry morfometryczne. Są one bowiem miarą niepewności w wyznaczeniu średnich wartości  $q$  i  $\theta$ , na co wpływ ma zakres zmienności częstotliwości lub kąta gruczołów w analizowanym obszarze obrazu. Gruczoły „zdrowe” charakteryzują się dobrze określonymi (słabo zmiennymi) wartościami  $q$  i  $\theta$ , którym powinny odpowiadać wąskie rozkłady  $p(\theta)$  i  $p(q)$ . Natomiast poszerzenie rozkładów spodziewane jest dla struktur, w których występuje duża zmienność szerokości lub orientacji gruczołów Meiboma. Wpływ zniekształcenia struktury gruczołów na otrzymywane obrazy PSD przedstawiono schematycznie na rys. 37.



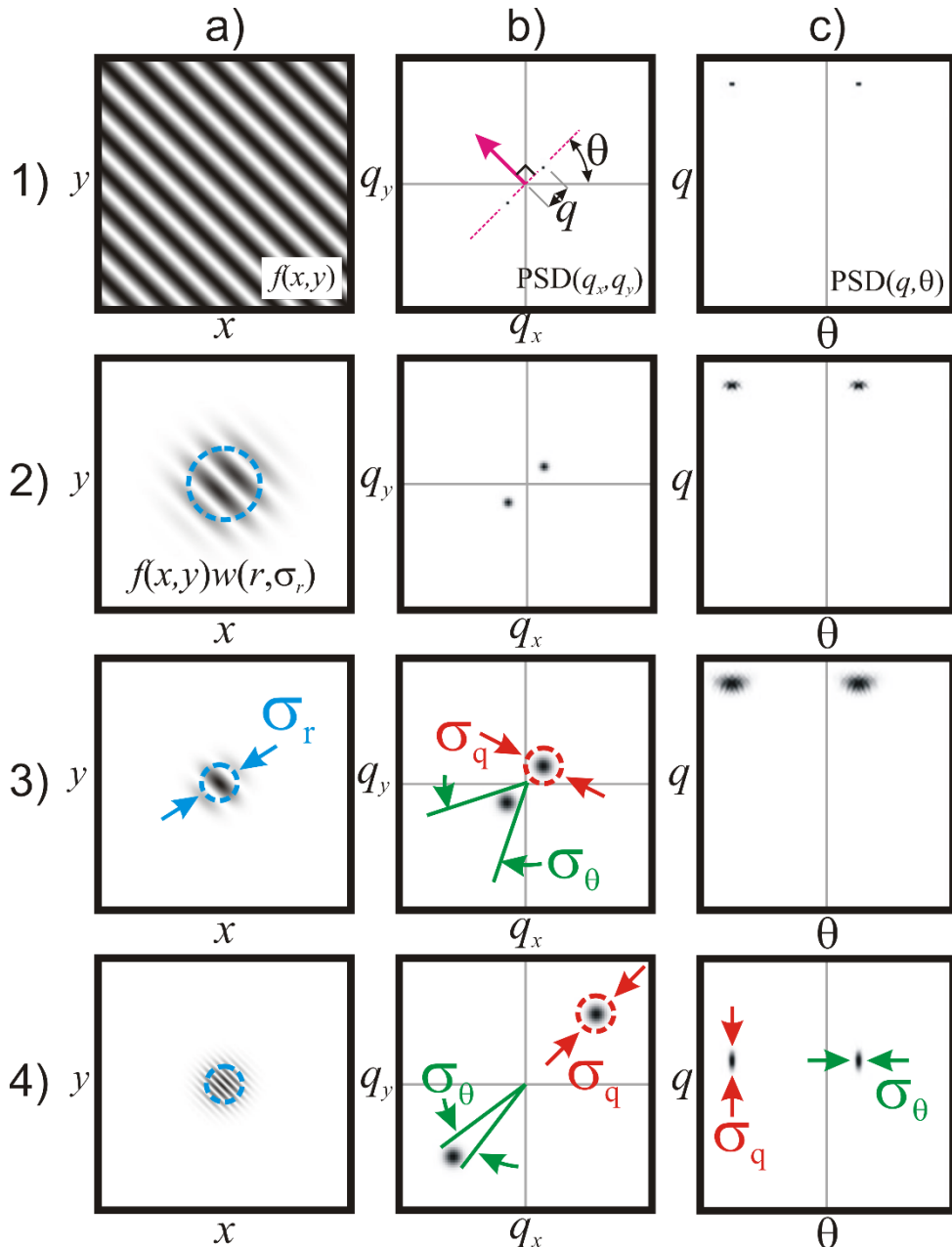
Rys. 37. Wpływ zmienności częstotliwości  $q$  i orientacji  $\theta$  struktury gruczołów Meiboma na rozkłady gęstości widmowej, PSD, otrzymywane na drodze transformacji Fouriera obrazów meibograficznych.

### 3.1.6 Konsekwencje skończonego rozmiaru gaussowskiego okna analizy

Jak wspomniano w poprzednim rozdziale, „zmienności” częstotliwości i kąta orientacji gruczołów uznane mogą być za wartościowe parametry morfometryczne. Aby oszacować wartości liczbowe tych parametrów określić należy szerokość funkcji rozkładów

prawdopodobieństwa  $p(\theta)$  i  $p(q)$ . Gruczołom, których częstotliwość lub kąt ulegają istotnym zmianom, odpowiadać powinny szerokie funkcje  $p(\theta)$  i  $p(q)$ .

Jednak zmienność częstotliwości lub kąta orientacji gruczołów nie jest jedynym czynnikiem mogącym poszerzyć rozkłady  $p(\theta)$  i  $p(q)$ . Czynnikiem jaki należy również uwzględnić jest rozmiar analizowanego obszaru obrazu. Wpływ zawężenia obszaru analizy na otrzymywane obrazy PSD zilustrowano na rys. 38. gdzie idealną strukturę gruczołów Meiboma zamodelowano funkcją sinus o stałych wartościach  $q$  i  $\theta$ .



**Rys. 38. Konsekwencja skończonej wariancji gaussowskiego okna analizy (nałożonego na obraz idealnego wzoru sinusoidalnego) na obraz widmowej gęstości mocy (PSD) przedstawionej we współrzędnych kartezjańskich i biegunowych.**

Wiersz 1) obraz nieograniczonej sinusoidy o stałej niskiej częstotliwości zorientowanej pod kątem 45°; wiersz 2) obraz sinusoidy o niskiej częstotliwości ograniczonej przez szerokie okno Gaussa

(duża wartość  $\sigma_r$ ); wiersz 3) obraz sinusoidy o niskiej częstotliwości ograniczonej wąskim oknem Gaussa (mała wartość  $\sigma_r$ ); wiersz 4) obraz sinusoidy o wysokiej częstotliwości ograniczonej wąskim oknem Gaussa; Kolumna a) obraz poddawany transformacji; kolumna b) obraz PSD we współrzędnych kartezjańskich; kolumna c) obraz PSD we współrzędnych biegunowych. Dla nieograniczonego sygnału (wiersz 1) w obrazach PSD widoczne są wyjątkowo wąskie piki. Gdy sygnał jest ograniczony przez okno Gaussa (wiersze 2–4), wówczas szerokość rozkładów PSD staje się skończona i zależy od wariancji okna Gaussa (im szersze okno, tym węższy pik PSD). Dla obrazów PSD w układzie kartezjańskim (kolumna b) kształt piku jest symetryczny i opisany taką samą wariancją w kierunkach  $q_x$  i  $q_y$ , równą  $\sigma_q$ . We współrzędnych biegunowych kształt rozkładu PSD jest generalnie niesymetryczny z wariancją w kierunku  $q$  i  $\theta$  równą odpowiednio  $\sigma_q$  and  $\sigma_\theta$ . Im wyższa częstotliwość sygnału (im dalej pik znajduje się od początku kartezjańskiego układu współrzędnych), tym węższy jest on we współrzędnych biegunowych (panele 3c i 4c).

W przypadku analizy nieograniczonych sygnałów stacjonarnych, wynikiem analizy Fouriera jest widmowa gęstość mocy w postaci funkcji delty Diraca (nieskończenie wąski pik). W obrazie PSD widoczne są wówczas jedynie wąskie maksima, które opisane są pojedynczą wartością częstotliwości oraz orientacji (rzęd a) na rys. 38). Dane te umożliwiają jednoznaczne określenie wartości częstotliwości oraz kierunku struktury gruczołów.

W celu przeprowadzenia analizy lokalnych zmian morfologicznych gruczołów Meiboma, konieczne jest ograniczenie całego obrazu meibograficznego do konkretnej pozycji w obszarze powieki. W metodzie dwuwymiarowej krótkoczasowej transformacji Fouriera, 2DSTFT, dokonuje się tego za pomocą „okna” analizy  $w$  (równanie 6). W opracowanej metodzie wykorzystano okno analizy,  $w$ , w postaci funkcji Gaussa o szerokości (wariancji)  $\sigma_r$  i pozycji maksimum  $x_w, y_w$ :

$$w(x - x_w, y - y_w) = \exp\left(-\frac{r(x - x_w, y - y_w)^2}{2\sigma_r^2}\right) \quad (10)$$

gdzie  $r$  to współrzędna radialna maksimum funkcji Gaussa

$$r(x - x_w, y - y_w) = \sqrt{(x - x_w)^2 + (y - y_w)^2} \quad (11)$$

Wprowadzenie okna o skończonym rozmiarze ma jednak swoje konsekwencje w postaci zniekształcenia struktur widmowych w obrazach PSD. Forma tego zniekształcenia zależy od postaci analitycznej funkcji  $w$  opisującej okno. Jedną z częściej stosowanych funkcji okna jest funkcja Gaussa. Zastosowanie takiej postaci funkcji skutkuje gaussowskim poszerzeniem funkcji gęstości prawdopodobieństwa  $p(\theta)$  i  $p(q)$ . Wynika to z charakterystycznej cechy funkcji Gaussa, której transformata Fouriera również przyjmuje postać funkcji Gaussa. Ilustracja wpływu ograniczenia stacjonarnego sygnału sinusoidalnego oknem gaussowskim o różnej szerokości zaprezentowano w rzędach 2 - 4 na rys. 38. Jak widać, w wyniku ograniczenia analizowanego sygnału, struktury widmowe

w obrazie PSD nie są pojedynczymi punktami (jak w przypadku sygnału nieograniczonego), ale cechami o zauważalnej szerokości, odwrotnie proporcjonalnej do szerokości okna Gaussa. Zawężenie okna analizy (zmniejszenie wariancji funkcji Gaussa  $\sigma_r$ ) powoduje poszerzenie rozkładu spektralnego, i co istotne, nie ma wpływu na pozycję pików w obrazie PSD. Zmiany pozycji pików dokonać można poprzez zmianę orientacji struktury lub zmianę jej częstotliwości. Efekt zmiany częstotliwości gruczołów przedstawiono w rzędzie 4 na rys. 38.

Warto zauważyć, że konsekwencją poszerzenia rozkładów spektralnych przedstawionych na rys. 38 jest zwiększenie niepewności w oszacowaniu wartości częstotliwości,  $q$ , i kąta orientacji,  $\theta$ , analizowanej struktury. Dzieje się tak pomimo tego, że analizowany sygnał pozostaje stacjonarny, czyli opisany jest dobrze zdefiniowanymi wartościami  $q$  i  $\theta$ . Oczywiście jest, że tak wywołane poszerzenie nie może być bezpośrednią miarą zniekształcenia gruczołów Meiboma i jest artefaktem zastosowanej metody numerycznej. Wielkość poszerzenia rozkładów  $p(\theta)$  i  $p(q)$  można jednak oszacować.

W przypadku obrazu PSD we współrzędnych kartezyjskich (rys. 38, kolumna b), niezależnie od orientacji i częstotliwości gruczołów Meiboma kształt struktur widmowych przyjmuje postać funkcji Gaussa o wariancji (kwadrat szerokości) odwrotnie proporcjonalnie do wariancji funkcji Gaussa zastosowanej jako okno analiz. Jednak, jak wspomniano we wcześniejszym rozdziale, do pomiaru funkcji rozkładu prawdopodobieństwa  $p(\theta)$  i  $p(q)$  wykorzystuje się obraz widmowej gęstości mocy, PSD, przedstawiony we współrzędnych biegunowych (rys. 38). W tej reprezentacji kształt struktur widmowych silnie zależy od częstotliwości sygnału. Wyjaśnienie tego efektu zawarte jest na rys. 38 (wiersz c i d). Jak widać, szerokość (również wariancja),  $\sigma_q$ , pików w obrazie PSD w kierunku radialnym,  $q$ , pozostaje stała i zależy jedynie od szerokości (również wariancji),  $\sigma_r$ , okna analizy. Szerokość ta (wskazana czerwonymi strzałkami na rys. 38) nie ulega zmianie niezależnie od tego jak daleko od środka obrazu PSD znajduje się omawiany pik. Zatem, jeżeli analizowanym sygnałem jest idealna struktura sinusoidalna (o stałej częstotliwości i stałym kącie), ograniczona oknem gaussowskim o wariancji  $\sigma_r$ , wówczas wyznaczony z obrazu PSD rozkład prawdopodobieństwa  $p(q)$  będzie również posiadał kształt funkcji Gaussa o stałej (niezależnej od kąta i częstotliwości) szerokości,  $\sigma_{q,id}$ . Dla tego idealnego przypadku, wartość szerokości,  $\sigma_{q,id}$ , znaleźć można z właściwości transformaty Fouriera funkcji Gaussa

$$\sigma_{q,id} = \frac{\sqrt{2}}{4\pi\sigma_r} \quad (12)$$

Sytuacja wygląda inaczej dla przypadku kąтового rozkład prawdopodobieństwa  $p(\theta)$ . W tym przypadku uwzględnić należy efekt „paralaksy”. Jak zaznaczono na rys. 38 (zielone strzałki), gdy struktura widmowa znajduje się blisko środka kartezjańskiego układu współrzędnych (centrum obrazu PSD), wówczas jej rozmiar kątowy jest znaczny. Szerokość kątowa będzie maleć wraz z oddalaniem się piksu od centrum obrazu (wraz ze wzrostem częstotliwości sygnału,  $q$ ). Zatem, dla tego idealnego przypadku opisanego powyżej, wyznaczany z obrazu PSD kątowy rozkład prawdopodobieństwa  $p(\theta)$  będzie ponownie posiadał kształt funkcji Gaussa, jednak jej szerokość zależna będzie od wartości częstotliwości,  $q$  (od odległości od centrum obrazu). Dla tego idealnego przypadku, wartość szerokości rozkładu  $p(\theta)$ ,  $\sigma_{\theta,id}$ , wyrazić można jako

$$\sigma_{\theta,id} = \text{atan} \left( \frac{\sigma_{q,id}}{q_0} \right) \quad (13)$$

gdzie  $q_0$  stanowi średnią wartość rozkładu  $p(q)$  a  $\sigma_{q,id}$  dane jest równaniem (12).

Jak wynika z równania 12, w celu określenia wartości wariancji rozkładu  $p(q)$ ,  $\sigma_{q,id}$ , konieczna jest znajomość szerokości gaussowskiego okna analiz,  $\sigma_r$ . Okno analizy powinno być dostatecznie wąskie aby zapewnić precyzyjny wybór obszaru obrazu meibograficznego, jednak dostatecznie szerokie aby w obszarze tym widoczna była struktura gruczołów. Uznano, że optymalna wartość szerokości  $\sigma_r$  okna powinna być nieznacznie większa od średniej odległości między gruczołami. W przypadku zaprojektowanego systemu obrazującego wielkość ta wynosiła ok. 30 pikseli. Na tej podstawie uznano, że optymalny rozmiar gaussowskiego okna analizy wynosić powinien  $2\sigma_r = 40$  pikseli.

Powyższe informacje odnośnie spodziewanego poszerzenia funkcji rozkładu  $p(\theta)$  i  $p(q)$  wykorzystane zostaną podczas lokalnej analizy rzeczywistych obrazów meibograficznych. Obrazy takie traktować należy jako sygnały ograniczone i jednocześnie niestacjonarne. W takim przypadku, na szerokość rejestrowanych eksperymentalnie rozkładów prawdopodobieństwa  $p(\theta)$  i  $p(q)$  wpływ będą miały dwa czynniki: 1) „idealny” wynikający ze skończonej szerokości okna analizy i 2) „właściwy” związany ze zmiennością częstotliwości (szerokości) oraz kąta orientacji gruczołów w obrębie okna. Ponieważ pierwszy z czynników jest artefaktem metody, poprawne zdefiniowanie miary

zniekształcenia gruczołów Meiboma polegać będzie na odjęciu „idealnych” wariacji (zdefiniowanych równaniami 12 i 13) od wariacji mierzonych eksperymentalnie.

W przypadku analizy globalnej, obszar transformacji obejmować będzie cały obraz meibograficzny. Ponieważ sygnał nie będzie ograniczany, to pomijalny będzie również efekt skończonej szerokości okna analizy. W tym przypadku bezpośrednio rejestrowana szerokość rozkładów  $p(\theta)$  i  $p(q)$  stanowić może dobrą miarę średniego zniekształcenia gruczołów Meiboma.

#### ***4. Analiza statystyczna korelacji w wielowymiarowych zbiorach danych***

Opracowana w ramach przedstawionej pracy metoda analizy obrazów meibograficznych dostarcza szeregu parametrów liczbowych opisujących poziom zniekształcenia struktury gruczołów Meiboma na poziomie globalnym oraz lokalnym. Wyzwaniem może być przeszukiwanie takiego obszernego zestawu danych pod kątem opisowej użyteczności konkretnego parametru lub korelacji między poszczególnymi parametrami. Należałoby zatem zastanowić się nad sposobem analizy statystycznej pozyskiwanych danych. Z uwagi na wielowymiarowość (wieloparametrowość) tych danych oraz potrzebę klasyfikacji obrazów meibograficznych, wykorzystano liniową analizę dyskryminacyjną (ang. *Linear Discriminant Analysis, LDA*) oraz algorytm analizy głównych składowych (ang. *Principal Component Analysis, PCA*). Obie te metody stanowią dwie najczęściej wykorzystywane techniki redukcji wymiarowości uzyskanych danych. Algorytmy te bazują na wykrywaniu liniowych zależności pomiędzy wszystkimi analizowanymi parametrami, a następnie na takim obrocie układu współrzędnych, aby uzyskać największą zmienność danych wejściowych (PCA) lub największą separację między kategoriami danych (LDA). Techniki te posłużą do interpretacji istotności poszczególnych cech oraz przeprowadzenia automatycznej klasyfikacji obrazów meibograficznych.

##### ***4.1 Analiza składowych głównych (ang. *Principal Component Analysis, PCA*)***

Analiza głównych składowych jest techniką polegającą na ortogonalnej transformacji zestawu analizowanych zmiennych w zbiór nowych (nieobserwowalnych) zmiennych będących kombinacją liniową zmiennych wejściowych dobraną tak, by zmiany wartości tych nowych zmiennych maksymalnie skutecznie odzwierciedlały zróżnicowanie danych [162-167]. Tak otrzymane nowe zmienne określane są jako „składowe główne”. Liczba wyznaczanych składowych głównych odpowiada liczbie zmiennych pierwotnych. Co istotne, składowe główne uporządkowane są w ten sposób, aby ich wariancje były coraz mniejsze. Dodatkowo, suma wariancji składowych głównych odpowiada sumie wariancji parametrów pierwotnych. Oznacza to, że analiza PCA zachowuje informację zawartą w analizowanym zbiorze danych.



Ponieważ składowe główne uszeregowane są zgodnie z malejącą wariancją, dlatego już kilka pierwszych składowych głównych zawiera zdecydowaną większość informacji o całym zbiorze danych. Zazwyczaj kilka pierwszych składowych głównych stanowi dobrą reprezentacją całego zbioru danych. Jest to cecha analizy PCA powszechnie wykorzystywana do istotnego zmniejszenia liczby parametrów (liczby wymiarów) opisujących pewien zbiór danych, bez znaczącej utraty zawartej w nim informacji.

Metoda PCA jest algorytmem opartym o rachunek macierzowy [162-167]. Dane wejściowe zebrane są postaci macierzy  $X$ . W przypadku metody analizy obrazów morfometrycznych, każdy taki obraz opisany zostanie zestawem wartości parametrów morfometrycznych. Wartości te utworzą pojedynczy wektor wierszowy macierzy  $X$ . Liczba tych wektorów (wierszy macierzy) równa będzie liczbie analizowanych zdjęć.

Celem analizy PCA jest znalezienie macierzy współczynników  $W$  umożliwiającej rzutowanie wektorów macierzy  $X$  na wektory o kierunkach składowych głównych. W rezultacie powstaje druga macierz,  $Y$ , której wektory wierszowe zawierają wartości składowych głównych. Operację transformacji macierzy można wyrazić jako:

$$Y = XW \quad (14)$$

Macierz  $W$  to macierz wektorów bazowych składowych głównych, które z kolei są wektorami własnymi macierzy kowariancji  $S$ :

$$S = \frac{1}{(N-1)} \sum_{i=1}^N (X - \bar{x}) \cdot (X - \bar{x})^T \quad (15)$$

gdzie  $\bar{x}$  to wektor średnich wartości parametrów morfometrycznych.

Wartości własne  $\lambda_i$  macierzy kowariancji  $S$  interpretować można jako wariancje składowych głównych. Wyznaczenie wektorów własnych  $w_i$  i wartości własnych  $\lambda_i$  macierzy kowariancji sprowadza się do rozwiązania równania własnego:

$$Sw_i = \lambda_i w_i \quad (16)$$

Wartości własne porządkuje się od wartości największych do najmniejszych, a odpowiadające im wektory własne zapisuje się w postaci macierzy  $W$ . Pierwsze z kolumn w tak powstałej macierzy (te o największych wariancjach) definiowane są jako kierunki (osie) w przestrzeni składowych głównych najbardziej różnicującej dane.

Kolumny macierzy  $W$  pomnożone przez pierwiastek kwadratowy odpowiednich wartości własnych, czyli wektory bazowe PCA przeskalowane przez wariancje, nazywane

są ładunkami PCA (ang. *loads*). Wektor ten wyznaczyć można dla każdej zmiennej wejściowej (dla każdego parametru morfometrycznego) i w ten sposób określić jej wkład w wyznaczone wartości składowych głównych.

W prezentowanej pracy analizy danych metodą PCA dokonano w języku programowania *Python* wykorzystując bibliotekę funkcji uczenia maszynowego *scikit-learn* [168].

## 4.2 Liniowa analiza dyskryminacyjna (ang. *Linear Discriminant Analysis, LDA*)

Jak wspomniano w rozdziale 2.5, pozyskane w ramach pracy obrazy meibograficzne zostały wstępnie skalsyfikowane i każdemu obrazowi przypisano jedną z trzech etykiet: „zdrowy”, „pośredni”, „chory”. Metoda LDA wykorzystuje tę dodatkową informację o przynależności do pewnej kategorii (klasy) w celu znalezienia nowego zestawu parametrów, które przedstawić można jako kombinację liniową pierwotnych parametrów. Efekt działania algorytmu LDA jest więc podobny do wyniku metody PCA. Jednak podczas gdy PCA znajduje kierunki (tzw. składowe główne), które maksymalizują wariancję w zbiorze danych, metoda LDA oblicza kierunki (tzw. liniowe dyskryminatory) reprezentujące osie, które maksymalizują separację między klasami i minimalizują separację wewnątrzklasową [162-167].

Z formalnego punktu widzenia liniowa analiza dyskryminacyjna jest algorytmem zbliżonym do analizy składowych głównych. W procesie obliczeniowym definiuje się jednak nie jedną macierz kowariancji, lecz dwie macierze, definiujące odpowiednio zmienność wewnątrzgrupową  $S_w$  i międzygrupową  $S_b$ :

$$S_w = \sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^{N_i} (x_{ij} - \bar{x}_i) \cdot (x_{ij} - \bar{x}_i)^T, \quad \bar{x}_i = \frac{1}{N_i} \sum_{i=1}^g x_i \quad (17)$$

$$S_b = \sum_{i=1}^g N_i (\bar{x}_i - \bar{x}) \cdot (\bar{x}_i - \bar{x})^T, \quad \bar{x} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^{N_i} x_{ij} \quad (18)$$

gdzie:  $x_{i,j}$  jest wektorem  $j$ -tej danej pochodzącej z grupy  $i$ , a  $N_i$  jest liczbą danych w tej grupie.

Algorytm zmierza do znalezienia takiego kierunku w przestrzeni nowych współrzędnych, który maksymalizuje zmienność międzygrupową, jednocześnie minimalizując zmienność wewnątrzgrupową. Znalezienie najlepiej różnicujących kierunków sprowadza się do rozwiązania zagadnienia własnego:

$$S_w^{-1}S_b w_i = \lambda_i w_i \quad (19)$$

gdzie  $w_i$  i  $\lambda_i$  to, odpowiednio, wektory i wartości własne macierzy  $S_w^{-1}S_b$ .

Podobnie jak w metodzie PCA, wartości własne zapisuje się w postaci macierzy  $W$  po uporządkowaniu zgodnie z malejącymi wartościami własnymi. Rzutowanie danych wejściowych na nowe kierunki odbywa się poprzez wymnożenie danych macierzy wejściowej  $X$  przez znaną macierz  $W$  (równanie 14).

Podsumowując, główna różnica między metodami PCA i LDA polega na tym, że podczas gdy algorytm PCA określa kierunki największego rozproszenia danych (kierunki o maksymalnej wariancji), algorytm LDA opierając się na przynależności klasowej, odnajduje kierunki minimalizujące rozproszenie wewnątrzklasowe z jednoczesną maksymalizacją odstępów między klasami. Podobnie jak w przypadku PCA, metodę LDA wykorzystuje się do zmniejszenia wymiaru danych poprzez rzutowanie przestrzeni cech (zestawu danych) na mniejszą podprzestrzeń, przy jednoczesnym zachowaniu informacji dyskryminujących klasy.

Numeryczną analizę metodą LDA przeprowadzono w języku programowania *Python* wykorzystując bibliotekę funkcji uczenia maszynowego *scikit-learn* [168].

### ***4.3 Automatyczna klasyfikacja obrazów gruczołów Meiboma***

Głównym celem niniejszej pracy jest opracowanie metody pozwalającej na obiektywną charakteryzację stanu morfologicznego struktury gruczołów Meiboma. Wynikiem takiej analizy ma być pewien parametr (lub szereg parametrów), którego wartość liczbowa powiązana jest ze zniekształceniem wzoru gruczołów. Zatem, w zasadzie, parametr taki może być wykorzystany do automatycznej klasyfikacji obrazów gruczołów. Omówienie automatycznej klasyfikacji obrazów meibograficznych ma na celu zwrócenie uwagi na kilka ogólnych kwestii związanych z obiektywną i subiektywną parametryzacją obrazów gruczołów Meiboma.

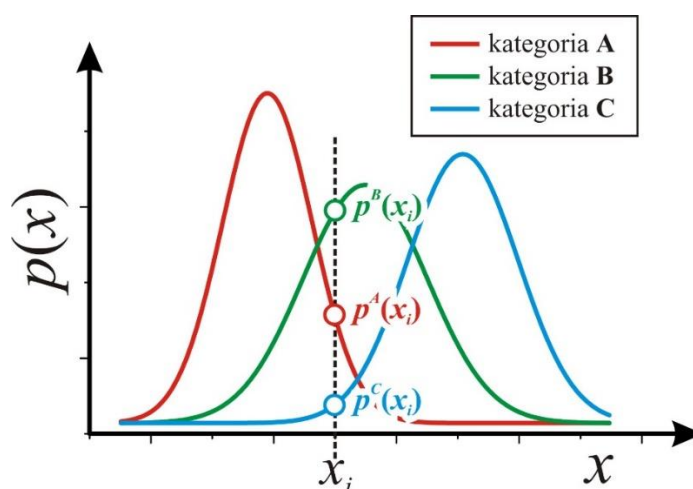
Procedura klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma składa się z kilku etapów. Jak opisano w rozdziale 2.5, każdy zarejestrowany obraz gruczołów Meiboma został wstępnie przyporządkowany przez optometrystę do jednej z trzech subiektywnych kategorii: „zdrowy”, „pośredni”, „chory”. Zauważyć należy, że liczba kategorii na jakie postanowiono podzielić obrazy, jest skończona (i równa trzy), podczas gdy zmiany morfologiczne, odzwierciedlające postęp dysfunkcji, zachodzą płynnie. W związku z powyższym, proces

przypisania konkretnego obrazu do jednej z trzech kategorii musi być obarczony pewną niepewnością. Szczególnie wyraźny jest tu przykład obrazów z pogranicza sąsiadujących kategorii, które przypisane mogą być zarówno do jednej jak i drugiej kategorii.

W wyniku opracowanych metod analizy obrazów gruczołów Meiboma, dla każdego analizowanego obrazu określona zostanie wartość liczbową pewnego parametru morfometrycznego  $x$ , która skorelowana jest z postępem zniekształcenia gruczołów. Wartość ta również wyznaczana jest z pewną niepewnością. Wpływa na nią jakość instrumentu użytego do obrazowania, procedura segmentacji (binaryzacji) zarejestrowanych obrazów oraz możliwe artefakty numeryczne w algorytmie analizy obrazu.

W rezultacie, każdej z trzech kategorii subiektywnych będzie odpowiadał pewien przedział wartości obiektywnego parametru  $x$ . Co więcej, przedziały wartości  $x$ , odpowiadające różnym kategoriom, będą się przekrywać. Zatem przypisanie konkretnego obrazu do konkretnej kategorii, bazując na wartościach obiektywnego parametru  $x$ , nigdy nie będzie jednoznaczne i będzie wiązać się z pewnym prawdopodobieństwem.

Stosowana w pracy metoda klasyfikacji zakłada, że znane są gęstości prawdopodobieństwa  $p^K(x)$  tego, że obraz opisany wartością parametru  $x$  należy do danej kategorii  $K$ . Sposób działania klasyfikatora zilustrowano schematycznie na rys.39, gdzie ciągłymi liniami pokazano hipotetyczne przebiegi gęstości prawdopodobieństwa dla trzech kategorii o symbolach: A, B i C. Pozycje maksimów funkcji rozkładu wskazują najbardziej prawdopodobne wartości parametru  $x$  dla danej kategorii. Widać również, że krzywe mają pewną szerokość skutkującą przekrywaniem się zakresów parametru  $x$  dla różnych kategorii.



**Rys. 39. Schemat klasyfikacji na podstawie funkcji gęstości prawdopodobieństwa parametru  $x$  dla kategorii A, B i C.** Linie ciągłe prezentują hipotetyczne przebiegi gęstości prawdopodobieństwa  $p(x)$  dla trzech kategorii o symbolach: A, B i C. Pozycje maksimów funkcji rozkładu wskazują najbardziej prawdopodobne wartości parametru  $x$  dla danej kategorii.

Widać zatem, że przypisanie danego obrazu gruczołów Meiboma do jednej z trzech kategorii odbywa się zawsze z pewnym prawdopodobieństwem. Miarą tego prawdopodobieństwa jest wartość odpowiedniej funkcji gęstości. Na rys.39 zilustrowano procedurę klasyfikacji pewnego  $i$ -tego obrazu gruczołów, dla którego wyznaczono obiektywną wartość parametru morfometrycznego  $x_i$ . Dla tej wartości, funkcje gęstości prawdopodobieństwa dla każdej kategorii przyjmują odpowiednie wartości:  $p^A(x_i)$ ,  $p^B(x_i)$  oraz  $p^C(x_i)$ . Z kolei prawdopodobieństwa przypisania danego obrazu do danej kategorii  $P^A$ ,  $P^B$  i  $P^C$  obliczyć można z unormowanych gęstości prawdopodobieństw:

$$\begin{aligned}
 P^A(x_i) &= \frac{p^A(x_i)}{p^A(x_i) + p^B(x_i) + p^C(x_i)} \\
 P^B(x_i) &= \frac{p^B(x_i)}{p^A(x_i) + p^B(x_i) + p^C(x_i)} \\
 P^C(x_i) &= \frac{p^C(x_i)}{p^A(x_i) + p^B(x_i) + p^C(x_i)}
 \end{aligned}
 \tag{20}$$

Obraz gruczołów przypisywany jest do tej kategorii, dla której znaleziono największą wartość odpowiedniego prawdopodobieństwa,  $P$ . Dla przykładu przedstawionego na rys. 39 jest to kategoria „B”.

Powyższa procedura klasyfikacji obrazów zostanie przeprowadzona w oparciu o wyniki analizy globalnych zmian morfologicznych (Rozdział 5.1.3), wykorzystując jako parametr  $x$  wartości wyznaczanych parametrów morfometrycznych oraz pierwszą składową główną PCA.

Analogiczną metodę klasyfikacji można przeprowadzić na podstawie większej liczby parametrów morfometrycznych, jeżeli dla każdego z nich znane są gęstości prawdopodobieństwa dla wszystkich kategorii (analogiczne do tych przedstawionych na rys. 39.). Wówczas wartość prawdopodobieństwa tego, że dany obraz przynależy do danej kategorii, obliczyć można z iloczynu odpowiednich gęstości prawdopodobieństw. W przypadku gdy do opisu poziomu zniekształcenia gruczołów Meiboma wykorzystano dwa parametry morfometryczne, o symbolach  $x$  i  $y$ , prawdopodobieństwa warunkowe przynależności do kategorii A, B lub C obliczyć można jako:

$$\begin{aligned}
P^A(x_i, y_i) &= \frac{p^A(x_i)p^A(y_i)}{p^A(x_i)p^A(y_i) + p^B(x_i)p^B(y_i) + p^C(x_i)p^C(y_i)} \\
P^B(x_i, y_i) &= \frac{p^B(x_i)p^B(y_i)}{p^A(x_i)p^A(y_i) + p^B(x_i)p^B(y_i) + p^C(x_i)p^C(y_i)} \\
P^C(x_i, y_i) &= \frac{p^C(x_i)p^C(y_i)}{p^A(x_i)p^A(y_i) + p^B(x_i)p^B(y_i) + p^C(x_i)p^C(y_i)}
\end{aligned} \tag{21}$$

Jak poprzednio, obraz gruczołów przypisywany jest do tej kategorii, dla której znaleziono największą wartość odpowiedniego prawdopodobieństwa,  $P$ .

Powyższa procedura klasyfikacji zostanie przeprowadzona na podstawie wyników analizy lokalnych zmian morfologicznych (Rozdział 5.2.2), wykorzystując jako parametry  $x$  i  $y$  dwie pierwsze składowe główne PCA oraz dwa pierwsze dyskryminatory LDA (rozdział 4.1.; 4.2.).

Procedurę automatycznej kategoryzacji przeprowadzić można dla wszystkich zarejestrowanych obrazów gruczołów Meiboma. Wówczas wydajność metody klasyfikacji zdefiniować można jako względną liczbę prawidłowo przypisanych obrazów, zdefiniowaną jako stosunek liczby obrazów przypisanych automatycznie do liczby obrazów przypisanych przez optometrystę (rozdział 2.5).

Jako miarę niepewności, w przypisaniu do danej kategorii, przyjęto odchylenie standardowe (SD) wartości odpowiedniego prawdopodobieństwa  $P$  obliczonego z równania (20) lub (21).

Zakładając 95% przedział ufności, marginesy błędów klasyfikacji obliczono z:

$$\begin{aligned}
\Delta A &= 1.96 \frac{SD_A}{\sqrt{N_A}} \\
\Delta B &= 1.96 \frac{SD_B}{\sqrt{N_B}} \\
\Delta C &= 1.96 \frac{SD_C}{\sqrt{N_C}}
\end{aligned} \tag{22}$$

gdzie  $N_A$ ,  $N_B$  i  $N_C$  to liczby obrazów gruczołów w danej kategorii.

Jak wspomniano wcześniej, opisana metoda klasyfikacji zakłada, że znane są funkcje gęstości prawdopodobieństwa  $p(x)$ . Funkcje te można oszacować z danych eksperymentalnych wyznaczając rozkład (histogram) wartości  $x$  zmierzonej dla wszystkich obrazów przypisanych przez optometrystę do każdej z trzech kategorii. Następnie, do

zmierzonego histogramu dopasować należy ciągłą funkcją gęstości prawdopodobieństwa. Wybór właściwej funkcji powinien odpowiadać prawdziwej statystyce wartości rozpatrywanego parametru  $x$ , której poznanie jest utrudnione ze względu na stosunkowo małą liczbę próbek (obrazów meibograficznych). W związku z tym wybór funkcji modelującej rozkłady prawdopodobieństwa dokonać należy arbitralnie, starając się znaleźć taką funkcję, która najlepiej odpowiada kształtowi wyznaczonych histogramów.

## **5. *Metoda ilościowego określenia zmian w morfologii gruczołów Meiboma***

Nieustannie trwają prace nad wdrożeniem standardów opisu zmian w morfologii gruczołów Meiboma. Mimo, że lista opisywanych parametrów staje się coraz dłuższa, nadal trudno o wskazanie parametru wykazującego najwyższą skuteczność w diagnozie oraz monitorowaniu zmian dysfunkcji gruczołów Meiboma. Znaczna część parametrów stanowi zbiór oczywistych zmian, tj. długość czy kierunek, w przypadku innych wymagane byłoby jednak wcześniejsze zdefiniowanie opisywanej zmiany,  $p$ , parametru krętości gruczołów. Jednak problematyczne jest nie tylko zdefiniowanie parametrów, ale również znalezienie metody automatycznego określenia liczbowej wartości związanej z zdefiniowanym parametrem opisującym kształt.

Tak jak zaprezentowano w części teoretycznej pracy, dobrym modelem obrazu niezaburzonej struktury gruczołów jest dwuwymiarowy sygnał sinusoidalny o pewnej częstotliwości i orientacji. Obserwacja ta uzasadnia wykorzystanie fourierowskiej analizy obrazów jako podstawowego narzędzia numerycznego. Parametry opisujące zmiany w morfologii gruczołów Meiboma będą powiązane z kształtem struktur widmowych obserwowanych w wyznaczanych obrazach widmowej gęstości mocy (PSD).

Opracowana metoda obiektywnej parametryzacji zmian w morfologii gruczołów Meiboma podzielona została na dwa etapy, w których kolejno przeprowadzono analizę obrazów meibograficznych na poziomie globalnym oraz lokalnym.

### **5.1 *Analiza globalnych zmian w morfologii gruczołów Meiboma***

#### **5.1.1 *Opis metody***

Analizując binarne obrazy gruczołów Meiboma, zaprezentowane na rys. 29, łatwo zauważyć, że wraz z postępem dysfunkcji gruczołów Meiboma zaburzeniu ulega ich regularne, jednokierunkowe ułożenie (struktura pasków). Zatem początkowa silna anizotropia w obrazie zdrowych gruczołów Meiboma stopniowo zanika. Co więcej, widzimy również, że częstotliwość struktury gruczołów w obszarze powieki (średnia liczba gruczołów w danym obszarze) zdaje się być większa dla grupy obrazów sklasyfikowanych jako „zdrowe”. Zmiana tego ostatniego parametru w procesie dysfunkcji gruczołów

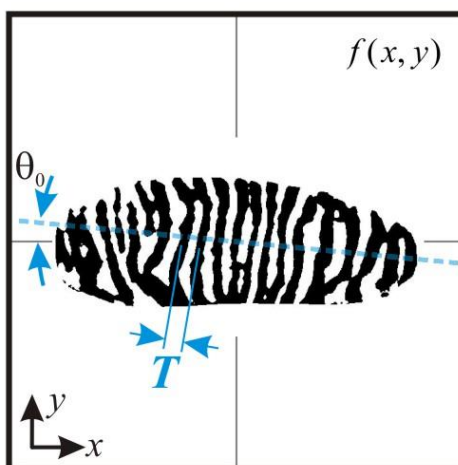


Meiboma może wskazywać na poszerzenie struktur gruczołów Meiboma prowadzący do ich zaniku, obserwowanego w zaawansowanych stadiach schorzenia.

Opierając się na powyższych obserwacjach założono, że globalny stan morfologiczny struktury gruczołów opisać można za pomocą dwóch parametrów: **anizotropia kierunku gruczołów Meiboma** ( $\kappa^{-1}$ ) oraz **średnia częstotliwość gruczołów Meiboma** ( $\bar{q}$ ). Wartość liczbowa pierwszego z parametrów ( $\kappa^{-1}$ ) wiąże się zanikiem silnie kierunkowej struktury gruczołów, natomiast drugi parametr ( $\bar{q}$ ) odpowiada średniej szerokości gruczołów (lub odległości między nimi).

W celu ilościowej analizy zmian w morfologii gruczołów Meiboma, wykorzystano dyskretną, dwuwymiarową transformatę Fouriera. Analizę przeprowadzono w środowisku *NI LabVIEW*<sup>®</sup> wykorzystując moduł analizy obrazu *NI Vision*.

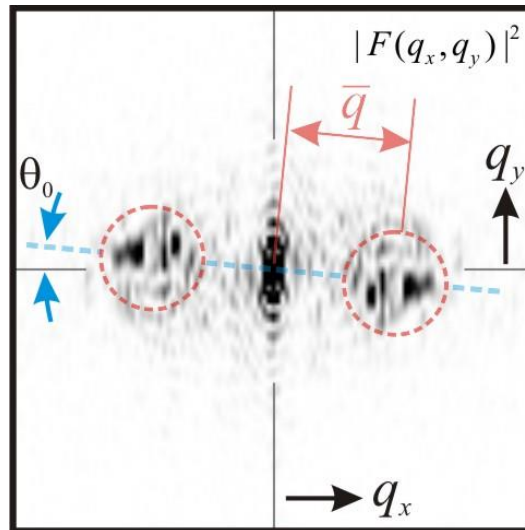
Na rys. 40-43 przedstawiono kolejne kroki analizy, w celu wyznaczenia średniej częstotliwości gruczołów Meiboma oraz anizotropii kierunku gruczołów Meiboma  $\kappa^{-1}$ . Na rys. 40 zaprezentowano oryginalny binarny obraz gruczołów Meiboma będący punktem wyjścia dla kolejnych kroków analizy. Na rysunku symbolem „*T*” zaznaczono „okres” struktury gruczołów, który odpowiada odległości między wybranymi gruczołami. Odwrotność tego parametru pozwala zdefiniować charakterystyczną częstotliwość przestrzenną dla tej pary gruczołów  $q = 1/T$ . Widać również, że obraz gruczołów jest nieco obrócony o kąt  $\theta_0$  i zorientowany w kierunku zaznaczonym przerywaną niebieską linią.



**Rys. 40. Oryginalny binarny obraz gruczołów Meiboma.** Symbol *T* wskazuje na odległość pomiędzy wybranymi kolejnymi gruczołami zorientowanymi w osi wyznaczonej przez główny kierunek gruczołów  $\theta_0$ .

Obraz zaprezentowany na rys. 40 poddany został dwuwymiarowej dyskretniej transformacji Fouriera. Otrzymany w ten sposób obraz widmowej gęstości mocy (PSD)

we współrzędnych kartezjańskich ( $|F(q_x, q_y)|^2$ ) przedstawiono na rys. 41. Jak widać, w obrazie PSD pojawiają się charakterystyczne symetryczne struktury widmowe (zaznaczone czerwonymi przerywanymi okręgami), czyli cechy opisane w rozdziale 3.1 i spodziewane dla kierunkowej periodycznej struktury gruczołów. Cechy te zorientowane są pod kątem, który odpowiada wspomnianemu powyżej średniemu kierunkowi,  $\theta_0$ , struktury gruczołów.

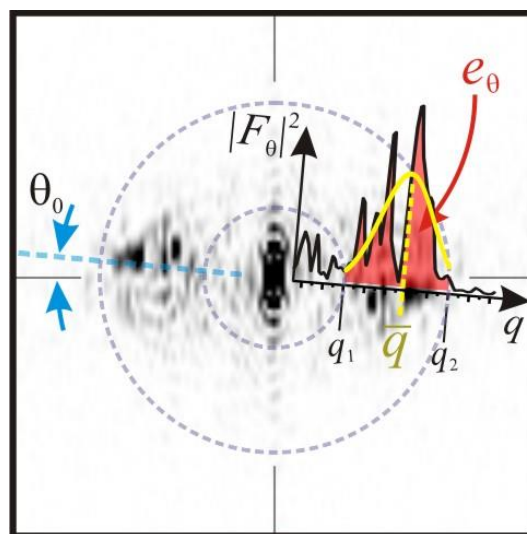


**Rys. 41.** Widmo gęstości mocy (PSD) wyznaczone dla oryginalnego binarnego obrazu gruczołów Meiboma zaprezentowanego na rys. 40. Czerwonymi okręgami zaznaczono charakterystyki spektralne widma okresowej, jednokierunkowej struktury. Ich odległość od środka układu związana jest ze średnią częstotliwością gruczołów Meiboma  $\bar{q}$ .

Warto zauważyć, że struktury widmowe widoczne na rys. 41 nie są dobrze zlokalizowanymi wąskimi pikami, lecz zajmują pewną przestrzeń w obszarze PSD. Zgodnie z treścią rozdziału 3.1.5 (rys.37) jest to konsekwencją zmienności w orientacji i częstotliwości gruczołów Meiboma. Zadaniem prowadzonej globalnej analizy obrazów gruczołów Meiboma będzie takie sparametryzowanie kształtu struktur widmowych PSD, które umożliwi zdefiniowanie i określenie wartości liczbowych parametrów opisujących te zmiany.

W tym celu odnotować należy, że wartości gęstości mocy PSD wyznaczone w kierunku radialnym (czyli w funkcji częstotliwości przestrzennych) silnie zależą od współrzędnej kątowej  $\theta$ . Obserwacja ta wskazuje, że dalszą analizę wygodniej przeprowadzić, gdy zależności PSD wyrazi się we współrzędnych biegunowych ( $q, \theta$ ). W tym celu zdefiniowano funkcję  $|F_\theta(q)|^2$ , która opisuje zmianę wartości gęstości mocy w funkcji częstotliwości przestrzennej  $q$  dla danego kąta  $\theta$ . Innymi słowy, funkcja ta jest „cięciem” przez obraz PSD pod pewnym określonym kątem. Przebieg funkcji  $|F_\theta(q)|^2$  dla

wybranego kąta ( $\theta = \theta_0$ ) zaprezentowano na rys. 42. Jak widać, dla tego charakterystycznego kąta „cięcie” przebiega w poprzek struktur spektralnych. W rezultacie przebieg funkcji  $|F_\theta(q)|^2$  wykazuje maksimum, którego pozycja odpowiada średniej wartości częstotliwości struktur gruczołów Meiboma,  $\bar{q}$ . W celu oszacowania wartości tego parametru, zależność  $|F_\theta(q)|^2$  została dopasowana funkcją Gaussa (żółta linia rys. 42). Poszukiwana wartość  $\bar{q}$  odpowiada położeniu maksimum dopasowanej funkcji. Warto zaznaczyć, że w przypadku obrazów „zdrowych” gruczołów Meiboma (charakteryzujących się cienkimi strukturami gruczołów lub mniejszymi odległościami pomiędzy gruczołami) spodziewane są wyższe wartości parametru  $\bar{q}$ .



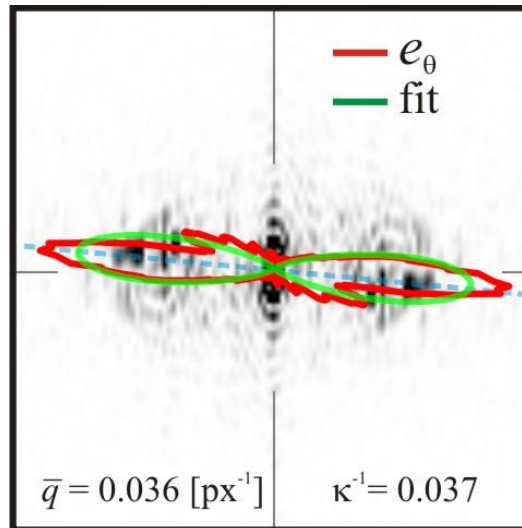
**Rys. 42.** Widmo gęstości mocy (PSD) z wyznaczonym rozkładem energii  $|F_\theta|^2$  jako funkcji częstotliwości  $q$  dla kierunku  $\theta_0$ . Wartość  $e_\theta$  stanowi miarę energii oryginalnego obrazu w danym kierunku  $\theta$ , definiowaną jako obszar pod wykresem widma  $|F_\theta(q)|^2$ . Średnia wartość częstotliwości gruczołów Meiboma  $\bar{q}$  wyznaczana jest jako maksimum funkcji Gaussa (żółta linia), dopasowanej do rozkładu  $|F_\theta(q)|^2$  dla kierunku  $\theta_0$ .

Dla określenia wartości anizotropii kierunku gruczołów Meiboma ( $\kappa^{-1}$ ) konieczne jest wyznaczenie kątowej zależności „energii” w obrazie gruczołów Meiboma,  $e_\theta$ . Wielkość tę zdefiniowano jako

$$e_\theta = \int_{q_1}^{q_2} |F_\theta(q)|^2 dq \quad (23)$$

Jak wynika z rys. 42, wartość  $e_\theta$  odpowiada polu pod wykresem funkcji  $|F_\theta(q)|^2$  (obszar zaznaczony kolorem czerwonym). Całkę daną równaniem (23) obliczano w pewnym zakresie częstotliwości przestrzennych danym granicami  $q_1$  i  $q_2$ . Procedura ta,

odpowiadająca filtrowaniu przestrzennemu, pozwala na uwzględnienie w obliczanej wartości energii  $e_\theta$  jedynie obecności struktur o częstotliwościach spodziewanych dla gruczołów Meiboma.



**Rys. 43. Widmo gęstości mocy (PSD) z wyznaczonym kątowym rozkładem energii  $e_\theta$  w postaci wykresu biegunowego (czerwona linia). Zielona linia to dopasowanie rozkładem von Mises (równanie 24) umożliwiające znalezienie wartości opisującej anizotropię kierunku gruczołów Meiboma.**

Otrzymane wartości energii  $e_\theta$  oryginalnego obrazu, wykreślone w funkcji kąta, zaprezentowano na rys. 43 (czerwona linia). Wąskie rozkłady  $e_\theta$  będą wskazywały na wysoką anizotropowość (silną jednokierunkowość) rozkładu  $|F_\theta(q)|^2$ , oczekiwaną dla „zdrowych” obrazów gruczołów Meiboma. Zatem poszukiwaną miarą anizotropii kierunku gruczołów Meiboma jest szerokość eksperymentalnie wyznaczonej zależności  $e_\theta$ . Wielkość tę wyznaczono poprzez dopasowanie funkcji rozkładu von Mises, stanowiącej odpowiednik rozkładu normalnego w statystyce kątowej [159], do kątowych zależności energii  $e_\theta$  wyznaczanych eksperymentalnie.

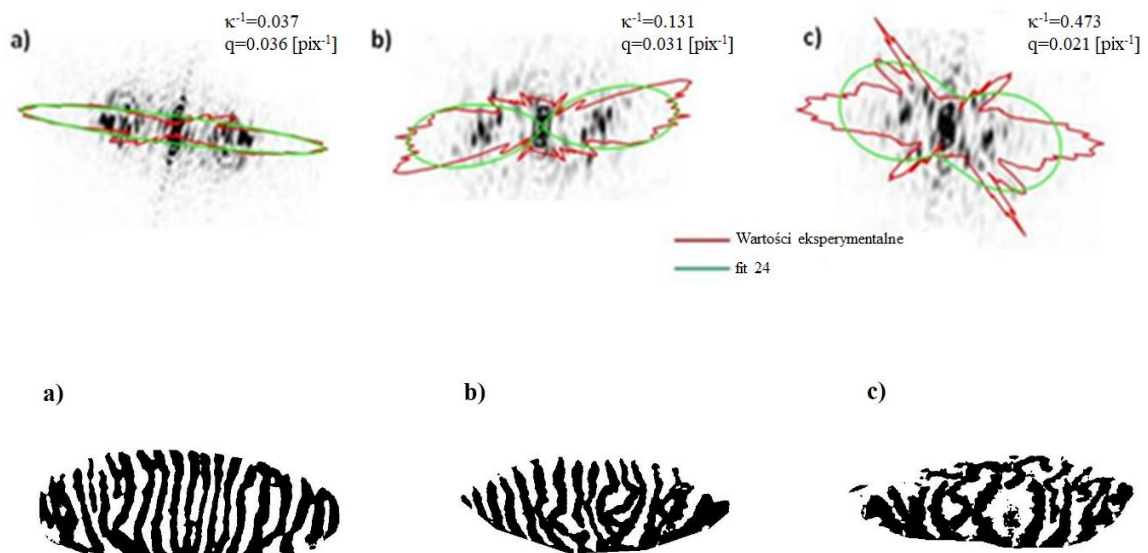
Funkcja von Miss opisana jest wzorem:

$$e(\theta) = \frac{e^{\kappa \cos(\theta - \theta_0)}}{2\pi I_0(\kappa)} \quad (24)$$

gdzie:  $I_0(\kappa)$  to zmodyfikowana funkcja Bessela rzędu 0,  $\kappa^{-1}$  stanowi miarę szerokości rozkładu i odpowiada *wariancji* ( $\sigma^2$ ) w rozkładzie normalnym. Wartości  $\kappa^{-1}$  występują w przedziale  $[0,1]$ , gdzie wartość 1 charakterystyczna jest dla układu izotropowego. Parametr  $\theta_0$  (będący odpowiednikiem *średniej* w rozkładzie normalnym) wskazuje pozycję

maksimum rozkładu i odpowiada średniemu kątowi struktury gruczołów (niebieska przerywana linia na rys. 40 – 43). Wynik dopasowania funkcji von Mises do rozkładu  $e_\theta$  zaprezentowano na rys. 43 (zielona linia).

Rozkłady  $e(\theta)$  oraz odpowiadające im wartości  $\kappa^{-1}$  dla obrazów gruczołów przyporządkowanych do poszczególnych kategorii wraz z ich oryginalnymi binarnymi obrazami zaprezentowano na rys. 44. Dodatkowo podano również średnie wartości częstotliwości gruczołów Meiboma  $\bar{q}$ . Łatwo zauważyć, że wartość  $\kappa^{-1}$  opisująca szerokość rozkładu  $e_\theta$  może dostarczyć informacji odnośnie kształtu struktur gruczołów Meiboma, wskazując na ich zniekształcenia i deformacje. Widzimy, że wraz z pojawieniem się zniekształceń struktur gruczołów Meiboma rozkłady  $e_\theta$  będą ulegały poszerzeniu, a wartości  $\kappa^{-1}$  będą rosły.



**Rys. 44.** Widmo gęstości mocy wyznaczone dla przykładowych obrazów gruczołów Meiboma z kategorii odpowiednio: a) zdrowy, b) pośredni i c) chory [176]. Rozkład energii kątowej  $e(\theta)$  (czerwona linia) wraz z dopasowanym rozkładem funkcji von Mises (zielona linia). Poniżej oryginalne binarne wersje analizowanych obrazów.

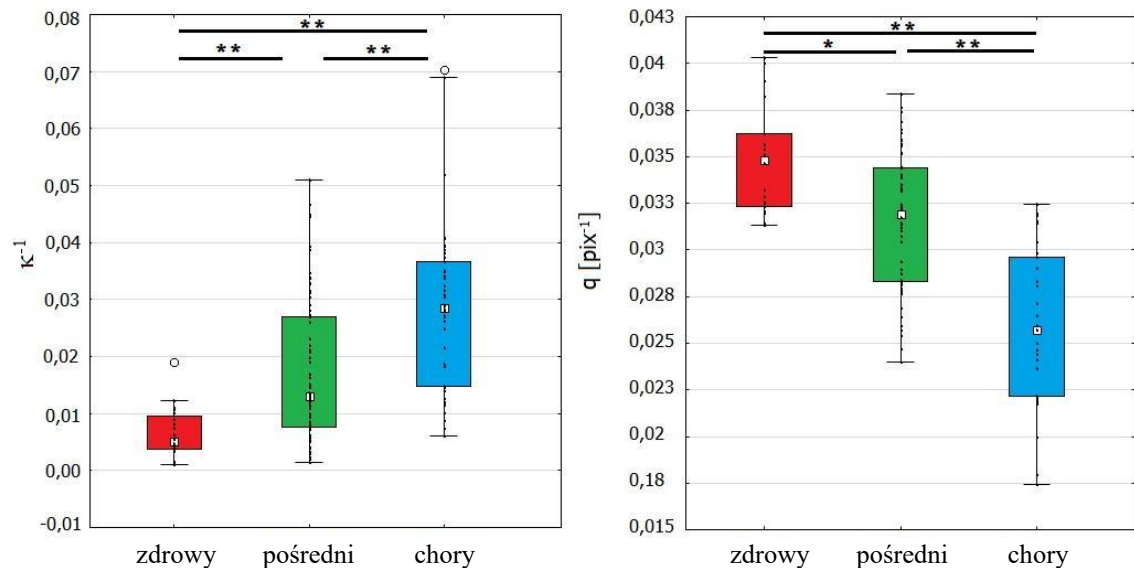
### 5.1.2 Analiza statystyczna uzyskanych wyników

W poprzednim rozdziale zwrócono uwagę, że w przypadku „zdrowych” obrazów gruczołów Meiboma odnotowuje się niskie wartościami  $\kappa^{-1}$ , co wskazuje na niski poziom zniekształceń oraz mniej zaburzoną jednokierunkowość gruczołów Meiboma. Prawidłowe struktury gruczołów Meiboma charakteryzują się regularnym rozłożeniem oraz małymi

odstępami co będzie wiązało się z wyższymi wartościami średniej częstotliwości układu  $\bar{q}$ . Wraz z postępem dysfunkcji gruczołów Meiboma, pojawiające się zmiany w morfologii gruczołów Meiboma, między innymi ich poszerzenie, skrócenie czy też deformacje, będą przyczyniały się to wzrostu wartości  $\kappa^{-1}$  oraz spadku średniej wartości częstotliwości gruczołów  $\bar{q}$ .

Można zatem przypuszczać, że wartości liczbowe obu parametrów morfometrycznych niosą informację odnośnie stopnia zniekształcenia i mogą być wykorzystane do automatycznej klasyfikacji pozyskiwanych obrazów meibograficznych. Założenie to, potwierdzono z wykorzystaniem testów statystycznych wykonanych za pomocą programu *Statistica* [169].

Uzyskano statystycznie istotne różnice pomiędzy trzema kategoriami obrazów dla każdego z zaproponowanych parametrów ilościowego opisu obrazów, tj.  $\kappa^{-1}$ ,  $\bar{q}$ , ( $p < 0.05$ ) z wykorzystaniem testu Kruskala-Wallisa. Co więcej, z pomocą testu U-Mann-Whitney wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy każdą z par, spośród zaproponowanych kategorii. Wyniki zaprezentowano na rys. 45.



**Rys. 45. Rozkład wartości  $\kappa^{-1}$  oraz  $\bar{q}$  dla kategorii zdrowy, pośredni oraz chory [176].** Wykres skrzynkowy przedstawia rozstęp międzykwartyłowy (IQR) z kwadratem wskazującym medianę. Wąsy wskazują na najmniejszą i największą wartość danej zmiennej w obrębie przedziału 1,5 IQR odpowiedniego kwartyła. Wartości poza wykresem skrzynkowym oznaczono jako  $\Delta$ . Natomiast wartości poza wąsami oznaczono koła. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$

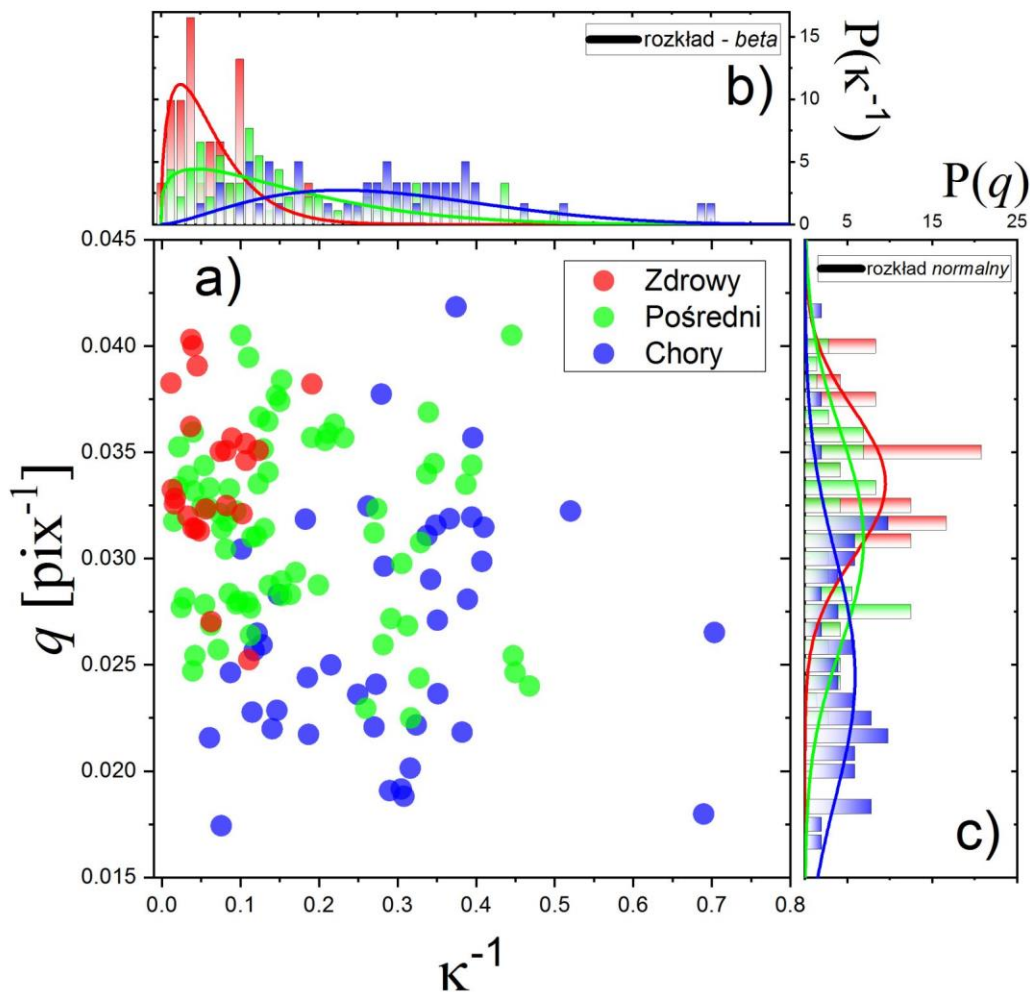
### 5.1.3 Automatyczna klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma

Testy statystyczne potwierdziły, że otrzymane parametry ilościowego opisu morfologii gruczołów Meiboma pozwalają na rozróżnienie pomiędzy zaproponowanymi subiektywnymi kategoriami. Zatem w kolejnym kroku pracy podjęto próbę automatycznej klasyfikacji obrazów, bazując na uzyskanych wartościach średniej częstotliwości gruczołów Meiboma  $\bar{q}$  i anizotropii kierunku gruczołów Meiboma,  $\kappa^{-1}$ , oraz kombinacji obu parametrów uzyskanych z analizy metodą składowych głównych (PCA) oraz metodą dyskryminatorów liniowych (LDA).

W tym celu wyznaczono wykres korelacji pomiędzy wartościami  $\kappa^{-1}$  i  $\bar{q}$  wraz z rozkładami brzegowymi (histogramami) tych parametrów dla każdej kategorii obrazów (rys. 46). Jak wynika z rys. 46, kategorii „zdrowy” przypisane są niskie wartości parametru  $\kappa^{-1}$ , o stosunkowo wąskim rozkładzie  $P(\kappa^{-1})$ . Wraz ze wzrostem poziomu zniekształceń w obrębie gruczołów Meiboma widzimy przesunięcie w stronę wyższych wartości  $\kappa^{-1}$ , podczas gdy rozkład  $P(\kappa^{-1})$  ulega rozszerzeniu.

Jednocześnie, „zdrowe” gruczoły Meiboma opisywane są wysokimi wartościami częstotliwości  $\bar{q}$ , a wraz z postępem ich dysfunkcji rozkład  $P(\bar{q})$  osiąga swoje maksimum przy niższych wartościach  $\bar{q}$ .

Rozkłady brzegowe  $P(\kappa^{-1})$  oraz  $P(\bar{q})$  wyznaczono bazując na prezentujących rozkład danych dla każdej kategorii histogramach, które dopasowano ciągłymi funkcjami gęstości prawdopodobieństwa. Wybór właściwej funkcji powinien odpowiadać właściwym statystykom wartości  $\kappa^{-1}$  oraz  $\bar{q}$ , których poznanie jest utrudnione ze względu na stosunkowo małą liczbę próbek (obrazów meibograficznych). W związku z tym, wyboru funkcji modelującej rozkłady prawdopodobieństwa  $P(\kappa^{-1})$  oraz  $P(\bar{q})$  dokonano arbitralnie starając się znaleźć takie funkcje, które najlepiej odpowiadają kształtom wyznaczonych histogramów. W przypadku parametru  $\kappa^{-1}$  wykorzystano rozkład *beta*, odpowiedni dla parametrów przyjmujących wartości z zakresu [0,1]. Z kolei w przypadku parametru  $\bar{q}$  wykorzystano rozkład normalny.

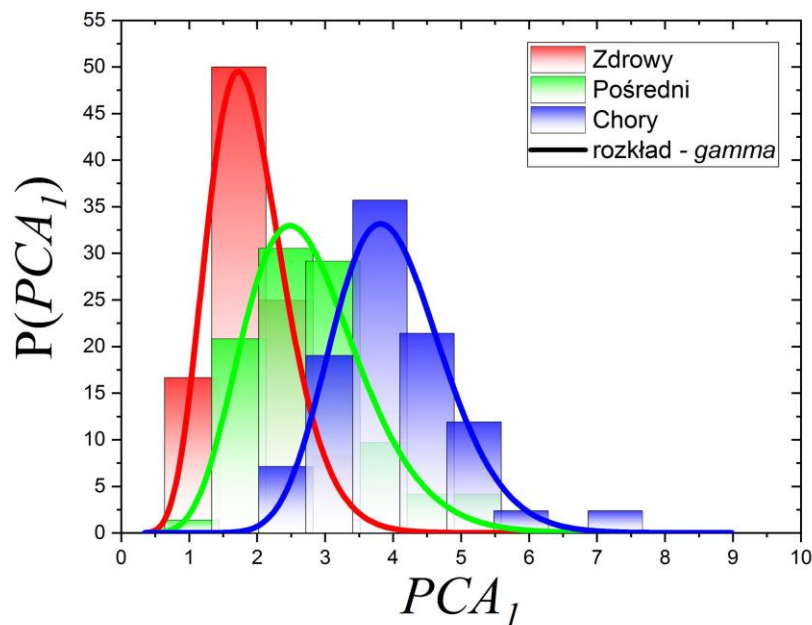


**Rys. 46.** Wykres korelacji uzyskany pomiędzy anizotropią kierunku  $\kappa^{-1}$  a średnią wartością częstotliwości  $\bar{q}$  dla obrazów gruczołów Meiboma z kategorii „zdrowy”, „pośredni” i „chory” wraz z wyznaczoną niepewnością w szacowaniu wartości parametrów (część a)[176]. Część b) rozkład brzegowy  $P(\kappa^{-1})$ . Część c) rozkład brzegowy  $P(\bar{q})$ .

Znając rozkłady gęstości prawdopodobieństwa każdego z parametrów ( $\kappa^{-1}$  lub  $\bar{q}$ ) dla każdej z kategorii, zaproponowano prosty klasyfikator progowy opisany w rozdziale 4.3. Każdy z obrazów Meiboma opisany został parą wartości ( $\kappa^{-1}$ ,  $\bar{q}$ ). Wykorzystując rozkłady  $P(\kappa^{-1})$  i  $P(\bar{q})$  obliczono dla każdej kategorii wartość gęstości prawdopodobieństwa tego, że dany obraz należy do danej kategorii. Obraz Meiboma został przypisany do danej kategorii określonej najwyższą wartością funkcji gęstości prawdopodobieństwa. Następnie policzono liczbę obrazów przypisanych automatycznie do każdej z trzech kategorii (zdrowy”, „pośredni”, „chory”). Wydajność klasyfikacji określono jako stosunek liczby obrazów przypisanych automatycznie do liczby obrazów przypisanych przez optometrystę (rozdział 2.5). Procentową skuteczność klasyfikacji zaprezentowano w tabeli 2.



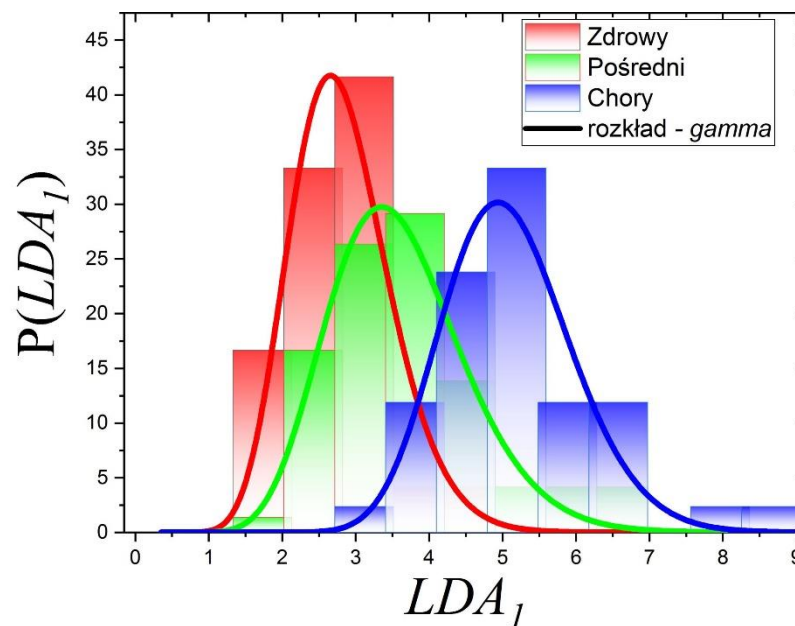
Istnienie korelacji pomiędzy uzyskanymi parametrami  $\kappa^{-1}$  oraz  $\bar{q}$  wskazuje, że należałoby spodziewać się wyższej skuteczności klasyfikacji w przypadku klasyfikatora łączącego oba parametry. W tym celu wykorzystano algorytm analizy głównych składowych (PCA). W efekcie każdemu obrazowi Meiboma przypisano nowe współrzędne (składowe główne)  $PCA_1$  oraz  $PCA_2$ , reprezentujące liniową kombinację pomiędzy parametrami  $\kappa^{-1}$  oraz  $\bar{q}$ . Okazało się, że pierwsza składowa główna ( $PCA_1$ ) zawiera 62% całkowitej wariancji danych, dlatego dalszą analizę prowadzono jedynie w oparciu o składową  $PCA_1$ . Podobnie jak w przypadku klasyfikacji opartej na pojedynczych parametrach  $\kappa^{-1}$  lub  $\bar{q}$ , wyznaczono histogramy wartości  $PCA_1$  dla każdej z kategorii, tj. „zdrowy”, „pośredni”, „chory”, a następnie dopasowano do nich ciągłe funkcje gęstości prawdopodobieństwa. Z uwagi na niesymetryczny kształt uzyskanych histogramów wartości  $PCA_1$ , dokonano subiektywnego wyboru funkcji *gamma* jako modelu rzeczywistego rozkładu prawdopodobieństwa  $P(PCA_1)$ , rys. 47. Następnie, wyznaczony rozkład gęstości prawdopodobieństwa  $P(PCA_1)$  posłużył jako klasyfikator, działający jak wcześniej opisane klasyfikatory oparte na rozkładach gęstości prawdopodobieństwa  $P(\kappa^{-1})$  oraz  $P(\bar{q})$ . Skuteczność automatycznej kategoryzacji wszystkich zaproponowanych klasyfikatorów zestawiono w tabeli 2.



**Rys. 47.** Rozkład gęstości prawdopodobieństwa  $P(PCA_1)$  w postaci histogramów uzyskany dla obrazów z kategorii zdrowy, pośredni, chory oraz dopasowany do każdej z kategorii rozkład *gamma*[176].

W następnym kroku postanowiono sprawdzić czy uda się poprawić skuteczność automatycznej klasyfikacji obrazów meibograficznych poprzez uwzględnienie informacji odnośnie przynależności rejestrowanych obrazów do subiektywnych klas (które przypisane zostały do każdego obrazu gruczołów poprzez optometrystę – rozdział 2.5). W tym celu wykorzystano metodę LDA opisaną szczegółowo w rozdziale 4.2. Podobnie jak w przypadku analizy PCA, algorytm LDA umożliwia znalezienia nowych współrzędnych, które wykorzystać można jako cechy opisowe obrazu meibograficznego.

Procedurę klasyfikacji prowadzono w sposób analogiczny do wcześniej opisanego przypadku klasyfikacji opartej o algorytm PCA. Wyznaczono histogramy wartości  $LDA_1$  dla każdej z kategorii, oraz dopasowano do nich ciągłe funkcje gęstości prawdopodobieństwa. Jako modelu rzeczywistego rozkładu prawdopodobieństwa  $P(LDA_1)$  użyto ponownie funkcji *gamma*. Wynik dopasowania przedstawiono na rys. 48. Tak wyznaczony rozkład gęstości prawdopodobieństwa  $P(LDA_1)$  posłużył jako klasyfikator, działający podobnie jak klasyfikator oparty na rozkładzie gęstości prawdopodobieństwa  $P(PCA_1)$ . Wydajność kategoryzacji z użyciem klasyfikatora  $LDA_1$  zestawiono w tabeli 2.



Rys. 48. Rozkład gęstości prawdopodobieństwa  $p(LDA_1)$  w postaci histogramów uzyskany dla obrazów z kategorii zdrowy, pośredni, chory oraz dopasowany do każdej z kategorii rozkład *gamma*[176].

**Tab. 2. Skuteczność klasyfikacji zaproponowanych klasyfikatorów dla kategorii zdrowy, pośredni, chory. W tabeli podano procent poprawnych klasyfikacji. Podane niepewności przy założeniu 95% przedziału ufności.**

Klasyfikator	Zdrowy [%]	Pośredni [%]	Chory [%]
Anizotropia kierunku, $\kappa^{-1}$	79±11	29±2	75±8
Średnia częstotliwość, $\bar{q}$	83±9	26±2	61±8
PCA <sub>1</sub>	88±11	46±3	83±10
LDA <sub>1</sub>	88±11	40±3	83±10

Dane zawarte w tabeli 2 wyraźnie pokazują, że klasyfikatory oparte na niezależnych parametrach  $\kappa^{-1}$  oraz  $\bar{q}$  uzyskują najwyższą skuteczność w kategoryzacji obrazów zdrowych. Najsłabsze wyniki uzyskano w kategoryzacji obrazów pośrednich, zarówno w przypadku klasyfikatorów opartych na niezależnych parametrach jak i klasyfikatorów uwzględniających oba parametry jednocześnie. Wyniki te były jednak przewidywalne z uwagi na silne przykrywanie rozkładów  $P(\kappa^{-1})$  i  $P(q)$  kategorii pośredniej przez rozkłady sąsiednie. Co więcej, jak wynika z porównania rys. 47 oraz 48, oraz z danych zebranych w tabeli 2, kształty rozkładów  $P(PCA_1)$  oraz  $P(LDA_1)$  są dość zbliżone, co przekłada się na podobne wyniki wydajności klasyfikacji z użyciem odpowiadających klasyfikatorów. Widać zatem, że w przypadku analizy globalnej obrazów gruczołów Meiboma, zmiana metody redukcji wymiaru zestawu parametrów opisowych nie przełożyła się na znaczącą zmianę rezultatów klasyfikacji. Pamiętać należy, że globalny stan morfologiczny gruczołów został pierwotnie opisany za pomocą jedynie dwóch parametrów ( $\kappa^{-1}$  lub  $\bar{q}$ ). Wymiar danych może być więc zredukowany maksymalnie o jeden, co znacząco ogranicza możliwości metod PCA i LDA. Nie powinno więc dziwić, że uwzględnienie informacji o wstępnym sklasyfikowaniu obrazów (w algorytmie LDA) nie wpływa na poprawę skuteczności klasyfikacji, przynajmniej nie dla tak ograniczonego zestawu cech opisowych (dwóch).

Interesujące jest czy, i jak, sytuacja ta uległaby zmianie gdyby znacznie zwiększyć liczbę opisowych parametrów morfometrycznych. Kwestia ta zostanie poruszona w dalszej części dotyczącej klasyfikacji obrazów meibograficznych w oparciu o wyniki lokalnej analizy zmian morfologicznych gruczołów Meiboma.

## ***5.2 Analiza lokalnych zmian w morfologii gruczołów Meiboma***

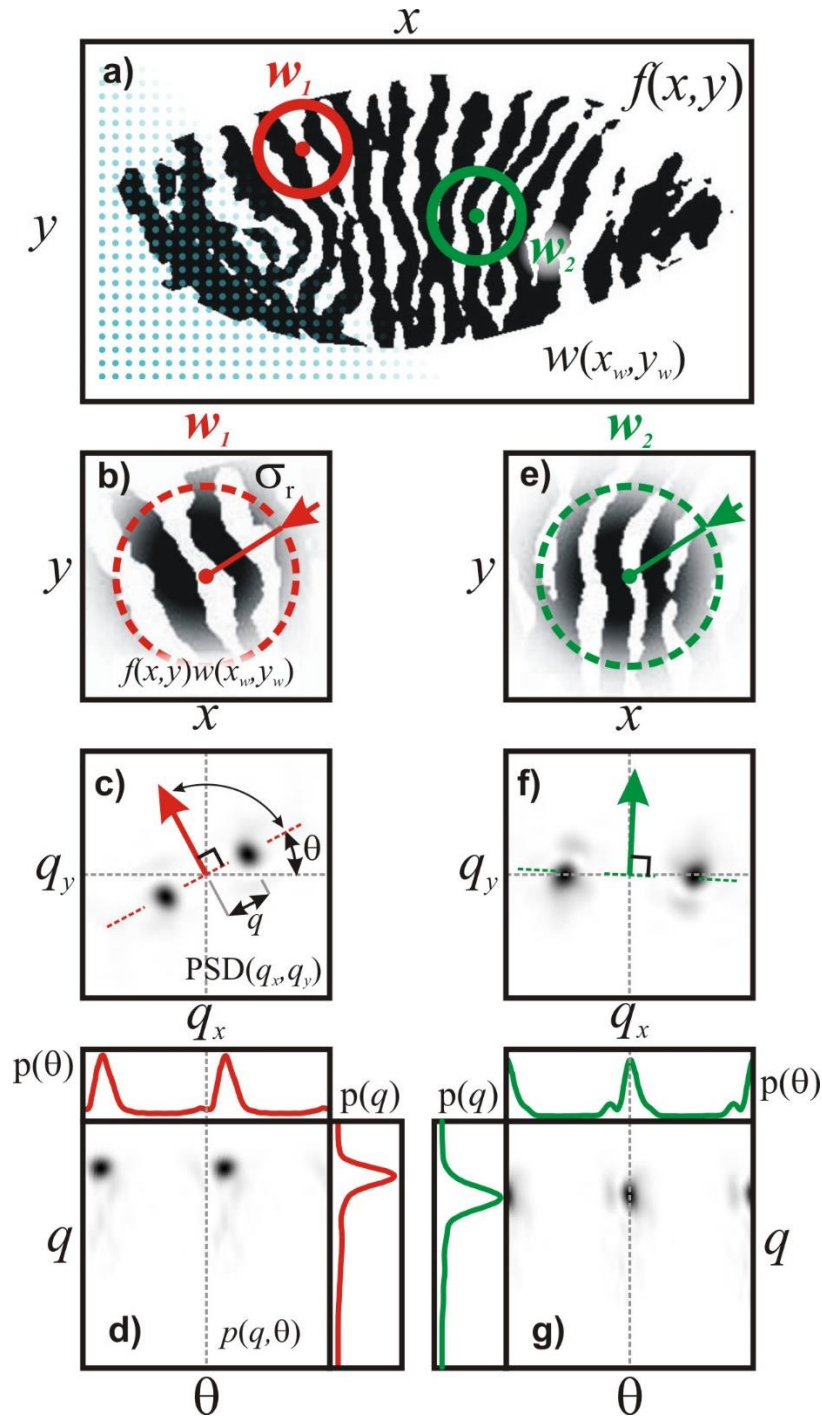
### ***5.2.1 Opis metody***

Opierając się na wcześniej opisanych założeniach, tj. że wraz z postępującą dysfunkcją gruczołów Meiboma zaburzeniu ulega ich jednokierunkowa struktura oraz mając na uwadze, że zmiany morfologiczne mogą być różne dla poszczególnych obszarów powieki, w drugiej części opracowanej metody postawiono sobie za cel śledzenie lokalnych zmian w morfologii gruczołów Meiboma.

Zaproponowane podejście opiera się na krótkoczasowej dwuwymiarowej transformacji Fouriera (*ang. 2D Short Time Fourier Transform, 2D STFT*), opisanej dokładniej w rozdziale 3.1.3. W przeciwieństwie do omówionej w poprzednim rozdziale analizy globalnej, gdzie analizowano całą powierzchnię powieki, w tym przypadku obraz gruczołów Meiboma podzielony został na mniejsze rejony, a następnie dokonano osobnej analizy dla każdego z tak wydzielonych obszarów. Analizę obrazu, jak poprzednio, przeprowadzono z wykorzystaniem środowiska *NI LabVIEW®*.

Na rys. 49a-d zaprezentowano kolejne kroki wymagane w celu przeprowadzenia *2D STFT* obrazu gruczołów Meiboma. Rys. 49a przedstawia przykładowy zbinaryzowany obraz gruczołów, który poddawany jest takiej analizie. Obraz ten traktować można jako dwuwymiarową funkcję  $f(x,y)$ . Na obraz ten nakładano okno w postaci funkcji Gaussa o określonej pozycji  $(x_w, y_w)$ . Okno również traktować należy jako dwuwymiarową funkcję  $w(x_w, y_w)$ . O rozmiarze okna analiz zdecydowano oceniając wyniki uzyskane podczas analizy globalnej morfologii gruczołów Meiboma. Zaobserwowano, że dla stosowanego systemu obrazującego średnia odległość pomiędzy kolejnymi gruczołami wynosiła ok. 30 pikseli, zatem w zaproponowanym algorytmie wykorzystano okno analiz w postaci funkcji Gaussa o szerokości  $2\sigma_r = 40$  pikseli. W przeprowadzonej analizie pozycje okna ustawiano na co dziesiąty piksel oryginalnego obrazu gruczołów Meiboma. Kolejne pozycje okna widoczne są na rys. 49 jako niebieskie kropki. Dla ilustracji, na rys. 49a pokazano dwie wybrane pozycje okna  $w_1$  (czerwone koło) i  $w_2$  (zielone koło). Obszar obrazu gruczołów Meiboma, ograniczony oknem ustawionym w pozycji  $w_1$  i  $w_2$  przedstawiono w drugim rzędzie rys. 49 (panele b i e). Na rysunkach tych przerywanymi liniami zaznaczono również rozmiar okna. Warto zauważyć, że struktura gruczołów w obszarze wybranym przez każde okno jest nieco inna. W szczególności szerokość gruczołów w oknie

$w_1$  jest większa niż ta w oknie  $w_2$ . Podobnie kąt orientacji struktury gruczołów jest inny w każdym z okien.



**Rys. 49. Wykorzystanie krótkoczasowej dwuwymiarowej transformaty Fouriera w celu wyznaczenia funkcji rozkładu prawdopodobieństwa częstotliwości przestrzennej i kąta orientacji gruczołów Meiboma [177].**

**Część a)** przedstawia oryginalny binarny obraz gruczołów Meiboma  $f(x,y)$ . Analizy dokonuje się na kolejnych obszarach obrazu, wyznaczonych za pomocą odpowiedniego okna, w tym przypadku wykorzystano okno analiz w postaci funkcję Gaussa. Kolejne pozycje okna, definiowane jako  $(x_w, y_w)$  zaprezentowano jako siatkę składającą się z niebieskich punktów. Jako  $w_1$  oraz  $w_2$  przedstawiono dwie przykładowe pozycje okna analiz.

**Część b) oraz e)** przedstawia obszary gruczołów Meiboma ograniczone poprzez zastosowane okna analiz  $w_1$  oraz  $w_2$ . Promień okna analizy reprezentuje szerokość – wariancję funkcji Gaussa  $\sigma_r$ . Warto zwrócić uwagę na różnice w morfologii gruczołów analizowanych przez okno  $w_1$  oraz  $w_2$ . W pierwszym przypadku widzimy znacznie bardziej poszerzone oraz pochylone struktury gruczołów niż te analizowane w kolejnym oknie.

**Część c) oraz f)** widmowa gęstość mocy zaprezentowana w kartezjańskim układzie współrzędnych obliczona dla obszaru ograniczonego poprzez okno  $w_1$  oraz  $w_2$ . Odległość maksimum od centrum,  $q$ , wskazuje na częstotliwość przestrzenną analizowanych struktur, z kolei kąt  $\theta$  odpowiada kierunkowi periodiczności struktury. Czerwona oraz zielona strzałka, wskazująca kierunek  $\theta+90^\circ$ , wyznacza kierunek gruczołów. Warto zwrócić uwagę na zgodność uzyskanych danych z kierunkiem struktur na obrazach rzeczywistych - część b) oraz e).

**Część d) oraz g)** widmowa gęstość mocy zaprezentowana w biegunowym układzie współrzędnych obliczona dla obszaru ograniczonego poprzez, odpowiednio, okna  $w_1$  oraz  $w_2$ . Taka reprezentacja pozwala określić prawdopodobieństwo występowania struktury gruczołów o określonej częstotliwości przestrzennej i danym kierunku. Zależności  $p(q)$  i  $p(\theta)$  odpowiadają rozkładowi brzegowym obrazu PSD i przedstawiają niezależne funkcje gęstości prawdopodobieństwa, dla każdego z okien, odpowiednio dla częstotliwości przestrzennej i kierunku gruczołów.

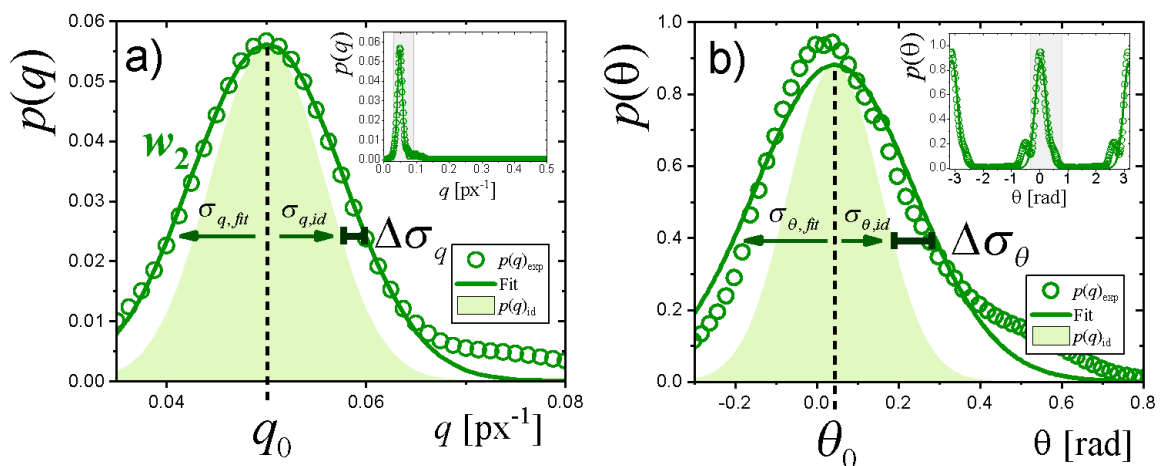
W następnym kroku obszar ograniczony oknem ustawionym w określonej pozycji, poddano dwuwymiarowej transformacji Fouriera. W rezultacie dla każdej pozycji okna otrzymano obraz widmowej gęstości mocy (PSD) reprezentującej przestrzenny rozkład częstotliwości przestrzennej obrazu wejściowego. Obrazy PSD we współrzędnych kartezjańskich ( $q_x$ ,  $q_y$ ) dla wybranych pozycji okna ( $w_1$  i  $w_2$ ) przedstawiono w trzecim rzędzie rys. 49 (panele c i f). Jak widać, w obrazie PSD zauważalne są struktury widmowe charakterystyczne dla periodycznego i kierunkowego wzoru gruczołów Meiboma. Jak wspomniano wcześniej, odległość maksimum struktur widmowych od środka obrazu (zaznaczona na rys. 49c jako  $q$ ) interpretuje się jako częstotliwość przestrzenną analizowanego układu gruczołów (związaną z szerokością gruczołów Meiboma lub z odległością między nimi). Z kolei kierunek wzoru gruczołów Meiboma odpowiada kątowi pod jakim obserwujemy maksima w obrazie widmowej gęstości mocy (zaznaczony na rys. 49c jako  $\theta$ ). Porównując obrazy w drugim i trzecim rzędzie rys. 49, zauważyć można, że zależności PSD zawierają informacje odnośnie stanu morfologicznego gruczołów Meiboma. W szczególności kąt orientacji maksimów w obrazach PSD (zaznaczony grubymi strzałkami na panelach c i f rys. 49) jest wyraźnie zbieżny z rzeczywistym kierunkiem struktury gruczołów. Podobnie dystans między pikami w obrazie PSD jest zauważalnie mniejszy dla szerszego wzoru gruczołów.

Aby wyznaczyć wartości liczbowe parametrów  $q$  i  $\theta$  korzystnie jest dokonać zamiany układu współrzędnych obrazów PSD do układu biegunowego ( $q$ ,  $\theta$ ). Zgodnie

z informacjami zawartymi w rozdziale 3.1.5 zaletą reprezentacji biegunowej jest możliwość probabilistycznej interpretacji obrazów PSD. Obrazy PSD we współrzędnych biegunowych, dla dwóch przykładowych pozycji okna analizy, umieszczono w czwartym rzędzie rys. 49 (panele d i g). Na obrazach tych pokazano również rozkłady brzegowe  $p(q)$  i  $p(\theta)$  będące rzutami rozkładu PSD( $q, \theta$ ) na kierunki odpowiednich współrzędnych. Tak wyznaczone rozkłady brzegowe odpowiadają gęstościom prawdopodobieństwa występowania (w obszarze obrazu gruczołów Meiboma) wzorów o określonej częstotliwości przestrzennej  $q$  oraz orientacji danej kątem  $\theta$ . Analiza kształtu zależności  $p(q)$  i  $p(\theta)$ , wyznaczonych dla różnych pozycji okna analizy, będzie podstawą obiektywnego oszacowania lokalnych zmian w morfologii gruczołów Meiboma.

### 5.2.2 Wyznaczenie parametrów opisujących lokalne zmiany morfologii gruczołów Meiboma

Na poniższym rys. 50, zaprezentowano bardziej szczegółowo rozkłady brzegowe  $p(\theta)$  oraz  $p(q)$ , zmierzone dla wybranej pozycji okna analizy (okno  $w_2$ ), przedstawione wcześniej na rys. 49g. Wstawki na panelach *a* i *b* rys. 50 pokazują rozkłady w pełnym zakresie odpowiednio częstotliwości przestrzennej  $q$  oraz kątów orientacji  $\theta$  struktury gruczołów. W obu przypadkach widoczne są wyraźne maksima informujące, że w obszarze okna analizy występuje periodyczna struktura gruczołów. Zakres występowania maksimum powiększono i zaprezentowano na głównych panelach rys. 50.



Rys. 50. Sposób parametryzacji eksperymentalnych rozkładów brzegowych  $p(q)$  i  $p(\theta)$  zmierzonych w wybranym oknie analiz ( $w_2$  na rys. 49g) [177].

**Część a) Rozkład gęstości prawdopodobieństwa  $p(q)$**  dla danych eksperymentalnych (kółka) oraz dopasowany do niego rozkład normalny (ciągła linia, równanie 25) w celu wyznaczenia średniej wartości częstotliwości  $q_0$  oraz szerokości rozkładu  $\sigma_{q,fit}$ . Wartość  $q_0$  wskazuje na średnią wartość częstotliwości w danym oknie pomiarów. Zacieniony obszar wskazuje na rozkład gęstości prawdopodobieństwa o szerokości  $\sigma_{q,id}$  dla obrazu idealnych „zdrowych” gruczołów Meiboma. Poszerzenie rozkładu eksperymentalnego względem idealnego informuje o niejednorodności częstotliwości gruczołów Meiboma  $\sigma_q$ . Górny wykres pokazuje rozkład  $p(q)$  dla pełnego zakresu wartości  $q$ .

**Część b) Rozkład gęstości prawdopodobieństwa  $p(\theta)$**  dla danych eksperymentalnych (kółka) oraz dopasowany do niego rozkład von Mises (ciągła linia, równanie 26) w celu wyznaczenia średniej wartości kierunku  $\theta$  oraz wariancji rozkładu  $\sigma_{\theta,fit}$ . Wartość  $\theta_0$  wskazuje na średnią wartość kierunku w danym oknie pomiarów. Zacieniony obszar wskazuje na rozkład gęstości prawdopodobieństwa o szerokości  $\sigma_{\theta,id}$  dla obrazu idealnych „zdrowych” gruczołów Meiboma. Poszerzenie rozkładu eksperymentalnego względem idealnego informuje o niejednorodności kierunku gruczołów Meiboma  $\sigma_\theta$ . Górny wykres pokazuje rozkład  $p(\theta)$  w pełnym zakresie wartości  $\theta$ .

Eksperymentalne krzywe przedstawione na rys. 50 mogą zostać scharakteryzowane poprzez pozycję maksimum oraz poprzez szerokość rozkładu. Wartości liczbowe tych parametrów określić można poprzez dopasowanie, do eksperymentalnie uzyskanych zależności  $p(q)$  i  $p(\theta)$ , odpowiednich modelowych funkcji gęstości prawdopodobieństwa.

Zależność  $p(q)$  dopasowano rozkładem normalnym danym równaniem:

$$p(q) = \frac{1}{\sigma_{q,fit} \sqrt{2\pi}} \exp\left(\frac{-(q - q_0)^2}{2\sigma_{q,fit}^2}\right), \quad (25)$$

gdzie  $q_0$  jest średnią wartością rozkładu (pozycją maksimum rozkładu), a  $\sigma_{q,fit}^2$  stanowi jego wariancję. Wynik dopasowania równania (25) przedstawiono na rys. 50a za pomocą linii ciągłej.

Wyznaczoną doświadczalnie zależność  $p(\theta)$  porównano z rozkładem gęstości prawdopodobieństwa von Mises, stanowiącym odpowiednik rozkładu normalnego w statystyce kierunkowej:

$$p(\theta) = \frac{\exp(\kappa \cos(\theta - \theta_0))}{2\pi I_0(\kappa)}, \quad (26)$$

gdzie  $\theta_0$  wskazuje pozycję maksimum rozkładu (wartość średnią),  $I_0(\kappa)$  jest zmodyfikowaną funkcją Bessela rzędu 0, natomiast  $\kappa^{-1}$  stanowi odpowiednik wariancji  $\sigma^2$  w rozkładzie normalnym. Wynik dopasowania równania (26) przedstawiono na rys. 50b za pomocą linii ciągłej.



W rezultacie zastosowania procedury dopasowania określono wartości liczbowe pozycji maksimum  $q_0$  i  $\theta_0$  zmierzonych rozkładów  $p(q)$  i  $p(\theta)$ , jak również szerokości (wariancje) tychże rozkładów,  $\sigma_{q,fit}$  oraz  $\sigma_{\theta,fit}$ . Wielkości  $q_0$  i  $\theta_0$  interpretować można odpowiednio jako średnie wartości częstotliwości przestrzennej oraz kąta orientacji struktury gruczołów w obszarze okna analizy. Parametry  $\sigma_{q,fit}$  oraz  $\sigma_{\theta,fit}$  niosą informację odnośnie niepewności w oszacowaniu średnich wartości częstotliwości  $q_0$  i kierunku gruczołów Meiboma  $\theta_0$  wynikającą z niejednorodności przestrzennych tych parametrów. Zgodnie ze szczegółowym opisem zawartym w rozdziale 3.1.6, w przypadku analizy sygnałów na poziomie lokalnym, rozkłady  $p(\theta)$  oraz  $p(q)$  będą ulegały dodatkowemu poszerzeniu, które związane jest z zastosowaniem okna analiz o skończonym rozmiarze. W rezultacie, wyznaczone w procedurze dopasowania wartości  $\sigma_{q,fit}$  oraz  $\sigma_{\theta,fit}$  są sztucznie poszerzone. W celu znalezienia prawdziwej wartości niepewności dla analizowanego obrazu określono rozkłady  $p(\theta)$  oraz  $p(q)$  dla „idealnego” ograniczonego obrazu gruczołów Meiboma (o stałej częstotliwości i kierunku). Zależności te widoczne są na rys. 50 jako zacieniowany obszar o szerokości „idealnej”, tj.  $\sigma_{q,id}$  i  $\sigma_{\theta,id}$ . Rejestracja rozkładów o szerokości większej niż  $\sigma_{q,id}$  lub  $\sigma_{\theta,id}$  informuje o „nieidealności” wzoru gruczołów Meiboma wywołanej zniekształceniem ich struktury. Za prawdziwą miarę zniekształcenia (niepewności w wyznaczeniu parametrów  $q_0$  i  $\theta_0$ ) przyjęto różnicę pomiędzy szerokością rozkładu eksperymentalnego a szerokością odpowiedniego rozkładu idealnego  $\Delta\sigma$ .

Zgodnie z powyższą dyskusją, prawdziwą wartość szerokości częstotliwości przestrzennej,  $\Delta\sigma_q$ , zdefiniowano jako:

$$\Delta\sigma_q = \sigma_q^{fit} - \sigma_q^{id} \quad (27)$$

Aby posługiwać się wielkością niemianowaną, postanowiono unormować szerokość  $\Delta\sigma_q$ . Przyjęto, że prezentowana w pracy wartość szerokości rozkładu częstotliwości gruczołów Meiboma będzie wyrażona jako stosunek wartości  $\Delta\sigma_q$  do szerokości spodziewanej dla układu idealnego  $\sigma_{q,id}$ :

$$\sigma_q = \frac{\Delta\sigma_q}{\sigma_q^{id}} \quad (28)$$

Tak otrzymana wielkość informuje o względnym poszerzeniu rozkładu  $p(q)$ .

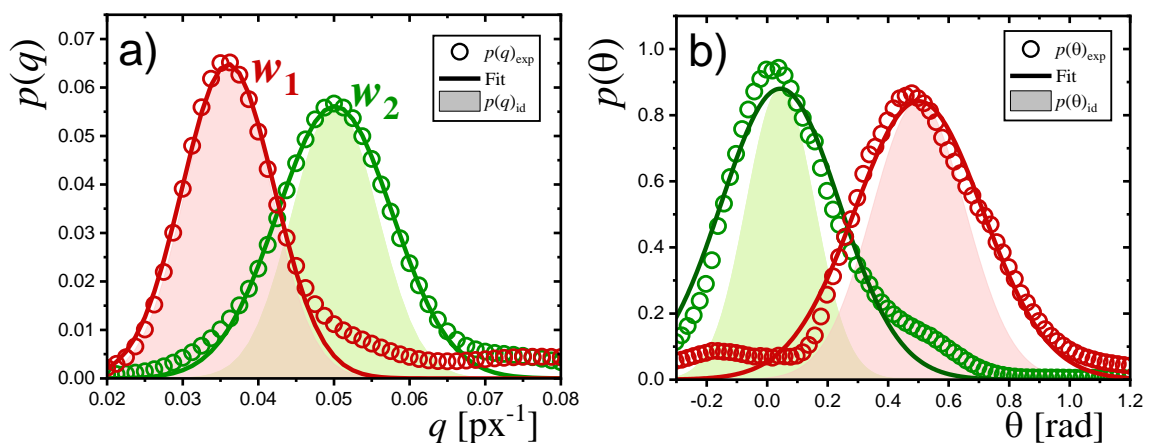
Podobnie jak w przypadku szerokości  $\Delta\sigma_q$ , prawdziwą wartość szerokości rozkładu kąta orientacji gruczołów,  $\Delta\sigma_\theta$ , wyznaczono jako różnicę pomiędzy wartością uzyskaną dla obrazu eksperymentalnego,  $\sigma_{\theta,fit}$ , a wartością spodziewaną dla rozkładu idealnego,  $\sigma_{\theta,id}$

$$\Delta\sigma_\theta = \sigma_{\theta,fit} - \sigma_{\theta,id} \quad (29)$$

Również w tym przypadku postanowiono posługiwać się względnym poszerzeniem rozkładu  $p(\theta)$ . Przyjęto zatem, że wartość szerokości rozkładu kąta orientacji gruczołów Meiboma będzie wyrażona jako stosunek uzyskanej wartości  $\Delta\sigma_\theta$  do wartości spodziewanej dla idealnego układu gruczołów:

$$\sigma_\theta = \frac{\Delta\sigma_\theta}{\sigma_{\theta,id}} \quad (30)$$

Przyglądając się rzeczywistym obrazom gruczołów Meiboma, jasne jest, że wzór gruczołów ulega ciągłym zmianom na obszarze powieki. Zatem, w zależności od stopnia zaawansowania zmian w morfologii gruczołów Meiboma oraz lokalizacji tych zmian, funkcje gęstości prawdopodobieństwa  $p(\theta)$  oraz  $p(q)$  będą zmienne i charakterystyczne dla wybranych obszarów powieki. Rys. 51 przedstawia porównanie funkcji rozkładów prawdopodobieństwa  $p(\theta)$  oraz  $p(q)$  zmierzonych w dwóch wybranych oknach analiz  $w_1$  oraz  $w_2$  zaznaczonych na rys. 49a. Przykład ten ilustruje jak kształt funkcji rozkładu prawdopodobieństwa może zmieniać się w zależności od pozycji okna analiz.



**Rys. 51. Porównanie rozkładów gęstości prawdopodobieństwa  $p(q)$  (panel a) oraz  $p(\theta)$  (panel b) dla dwóch wybranych pozycji okna analizy  $w_1$  oraz  $w_2$  przedstawionych na rys.49 [177]. Symbolami (kółkami) przedstawiono rozkłady eksperymentalne, linie ciągłe przedstawiają dopasowany rozkład teoretyczny, z kolei zacienione obszary prezentują rozkład spodziewany dla „idealnie zdrowej” struktury gruczołów Meiboma.**

Podsumowując, w opisanej metodzie analizowano wybrane obszary obrazu meibograficznego, określone za pomocą wielkości i pozycji okna analiz, wyznaczając dla każdego z nich eksperymentalne funkcje rozkładu prawdopodobieństwa częstotliwości przestrzennej  $p(q)$  i kąta orientacji  $p(\theta)$  gruczołów. Następnie, poprzez dopasowania odpowiednich funkcji modelowych, wyznaczono 4 wielkości parametryzujące dane rozkłady pozwalające na obiektywną ocenę morfologii gruczołów Meiboma, tj. **średnią częstotliwość gruczołów  $q_0$ , niepewność oszacowania średniej wartości częstotliwości  $\Delta\sigma_q$ , średnią wartość kierunku gruczołów  $\theta_0$ , oraz niepewność oszacowania średniej wartości kierunku  $\Delta\sigma_\theta$**

### 5.2.3 Mapy parametrów morfometrycznych

Wartości omówionych w poprzedniej części parametrów morfometrycznych ( $q_0$ ,  $\Delta\sigma_q$ ,  $\theta_0$ ,  $\Delta\sigma_\theta$ ) wyznaczyć można dla wielu pozycji okna analizy (niebieskie kropki na rys. 49a). Tak pozyskane dane pozwalają na uzyskanie map przedstawiających przestrzenną zmienność danego parametru morfometrycznego w obrębie całej powieki.

Na poniższym rys. 52 przedstawiono przykładowy obraz gruczołów Meiboma, dla którego wyznaczono mapy morfometryczne. Każda z otrzymanych map zostanie szczegółowo omówiona w kolejnych podrozdziałach.

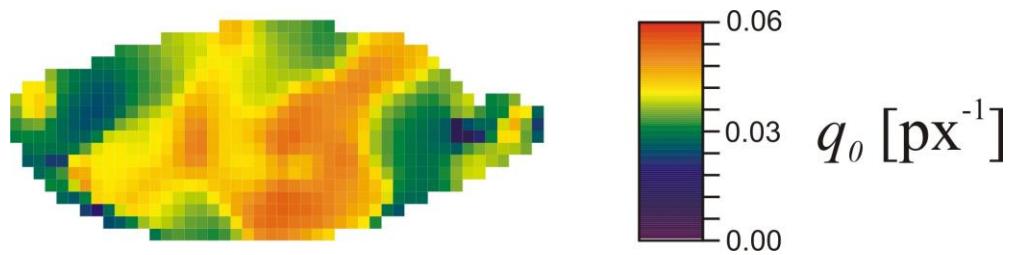


**Rys. 52.** Przykładowy zbinaryzowany obraz gruczołów Meiboma poddawany lokalnej analizie morfologicznej.

#### 5.2.3.1 Mapa średniej częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma, $q_0$

Mapa średniej częstotliwości przestrzennej,  $q_0(x_w, y_w)$ , obrazu gruczołów Meiboma przedstawionego na rys. 52 powstała po wykreśleniu wartości  $q_0$ , uzyskanych dla kolejnych pozycji okna analizy  $(x_w, y_w)$  – rys. 53. Wartości częstotliwości  $q_0$  dla poszczególnych lokalizacji okna analizy wyznaczono poprzez dopasowanie do eksperymentalnie uzyskanej

zależności  $p(q)$  (równanie 8) modelowej funkcji gęstości prawdopodobieństwa (równanie 25).

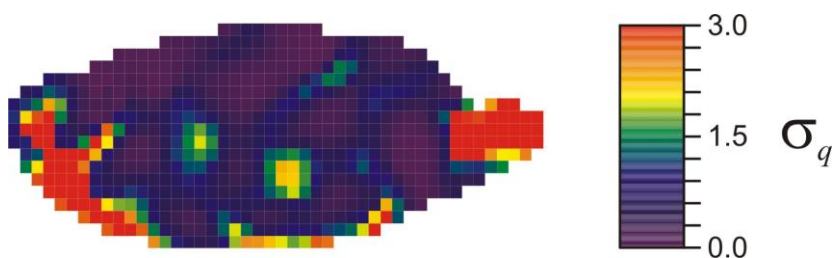


Rys. 53. Mapa średniej częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma,  $q_0$  [177].

Powyższy obraz częstotliwości przestrzennej gruczołów informuje o częstotliwości gruczołów, czyli o zmianach w szerokości gruczołów Meiboma czy też o odstępach pomiędzy kolejnymi gruczołami. Regiony o niskich wartościach częstotliwości wskazują na poszerzenie gruczołów bądź zwiększenie odstępów pomiędzy gruczołami, które może również wynikać z zaniku części gruczołów.

### 5.2.3.2 Mapa szerokości rozkładu częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma, $\sigma_q$

Tak jak omówiono w rozdziale 5.2.2 uwagi na użyte w analizach 2D STFT okno analiz w postaci funkcji Gaussa, szerokości rozkładu częstotliwości,  $\sigma_q$ , wyznaczono w kilku etapach. Użyte okno analiz o zdefiniowanej szerokości będzie powodowało, że nawet dla idealnie periodycznej struktury uzyskuje się niezerowe wartości szerokości rozkładu  $p(q)$ ,  $\sigma_{q,id}$  (równanie 12). Rzeczywistą wartość tej szerokości wyznaczono zatem poprzez znalezienie różnicy,  $\Delta\sigma_q$ , pomiędzy uzyskaną wartością eksperymentalną  $\sigma_{q,fit}$ , a wartością spodziewaną dla użytego okna analiz  $\sigma_{q,id}$  (równanie 27). Przyjęto, że szerokość rozkładu częstotliwości przedstawiona zostanie jako stosunek wartości  $\Delta\sigma_q$  do szerokości spodziewanej dla układu idealnego  $\sigma_{q,id}$  (równanie 28).

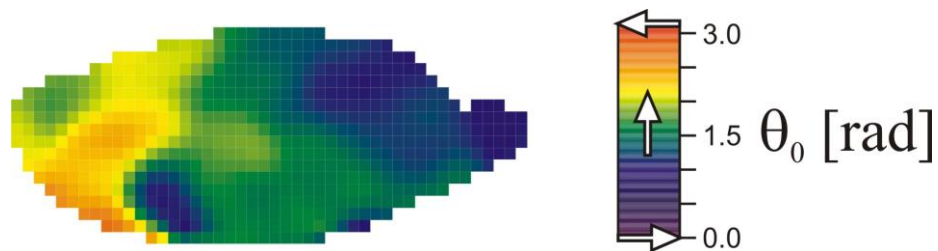


Rys. 54. Mapa szerokości rozkładu częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma,  $\sigma_q$  [177].

Wartości  $\sigma_q$  uzyskane dla kolejnych pozycji okien  $(x_w, y_w)$  pozwalają na sporządzenie mapy szerokości rozkładu częstotliwości analizowanego obrazu  $\sigma_q(x_w, y_w)$ . Obraz ten, rys. 54, informuje o niepewności przy szacowaniu średniej wartości częstotliwości  $q_0$ . (poszerzeniu rozkładu  $p(q)$ ). Obszary o niskiej wartości  $\sigma_q$  reprezentują obszary o dobrze zdefiniowanych wartościach częstotliwości (rejonny z dobrze zdefiniowanymi wartościami szerokości gruczołów czy też odległościami pomiędzy poszczególnymi gruczołami).

### 5.2.3.3 Mapa kąta orientacji gruczołów Meiboma, $\theta_0$

Mapa kąta orientacji gruczołów Meiboma (rys. 55),  $\theta_0(x_w, y_w)$ , oryginalnego obrazu gruczołów Meiboma przedstawionego na rys. 52, powstała po wykreśleniu wartości  $\theta_0$ , uzyskanych dla kolejnych pozycji okna analizy  $(x_w, y_w)$ . Wartości częstotliwości  $\theta_0$  dla poszczególnych lokalizacji okna analizy wyznaczono poprzez dopasowanie do eksperymentalnie uzyskanej zależności  $p(\theta)$  (równanie 9) modelowej funkcji gęstości prawdopodobieństwa von Mises (równanie 26).



**Rys. 55. Mapa kąta orientacji gruczołów Meiboma,  $\theta_0$  [177].**

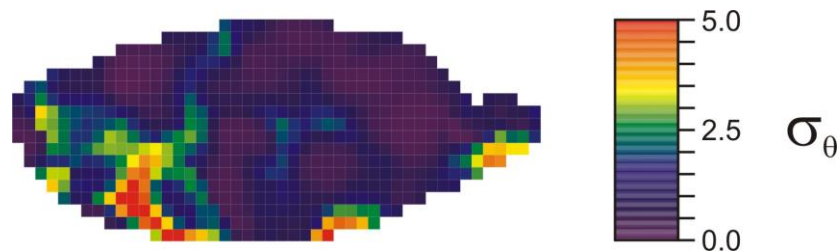
Następnie, wartości  $\theta_0$  uzyskane dla kolejnych pozycji okien  $(x_w, y_w)$  pozwalają na sporządzenie mapy kierunku analizowanego obrazu  $\theta_0(x_w, y_w)$ .

W przypadku trudności w wyznaczeniu kierunku gruczołów Meiboma, w częściach obrazów o niskiej jakości, wykorzystano filtr wygładzania Gaussowskiego (rozmiar kernela 3x3) w celu wyznaczenia średniego kierunku gruczołów w danym oknie analizy na podstawie kierunku gruczołów w sąsiadujących oknach analizy.

Obraz kierunku gruczołów  $\theta_0$ , rys. 55, prezentuje kierunek gruczołów na analizowanym obszarze powieki. Inaczej niż w przypadku oceny subiektywnej polegającej na podaniu liczby gruczołów zdeformowanych o pewien założony kąt (najczęściej przyjmuje się kąt 45 stopni), wyznaczona mapa kierunku gruczołów wskazuje dokładną wartość kąta gruczołów dla każdej pozycji powieki.

#### 5.2.3.4 Mapa szerokości rozkładu kąta orientacji gruczołów Meiboma, $\sigma_\theta$

Tak jak omówiono to w rozdziale 5.2.2, z uwagi na użyte w analizach 2D STFT okno analiz w postaci funkcji Gaussa, szerokość rozkładu kąta orientacji,  $\sigma_\theta$ , wyznaczono w kilku etapach, analogicznie do przypadku szerokości rozkładu częstotliwości,  $\sigma_q$ , opisanego powyżej. Użyte okno analiz o zdefiniowanej szerokości będzie powodowało, że nawet dla idealnie periodycznej struktury uzyskuje się niezerowe wartości szerokości rozkładu  $p(\theta)$ ,  $\sigma_{\theta,id}$  (równanie 13). Rzeczywistą wartość szerokości wyznaczono zatem poprzez znalezienie różnicy,  $\Delta\sigma_\theta$ , pomiędzy uzyskaną eksperymentalną wartością  $\sigma_{\theta,fit}$ , a wartością spodziewaną dla użytego okna analiz,  $\sigma_{\theta,id}$  (równanie 29). Przyjęto, że szerokość rozkładu kąta orientacji gruczołów Meiboma przedstawiona zostanie jako stosunek wartości  $\Delta\sigma_\theta$  do wartości spodziewanej dla układu idealnego  $\sigma_{\theta,id}$  (równanie 30).



Rys. 56. Mapa szerokości rozkładu kąta orientacji gruczołów Meiboma,  $\sigma_\theta$  [177].

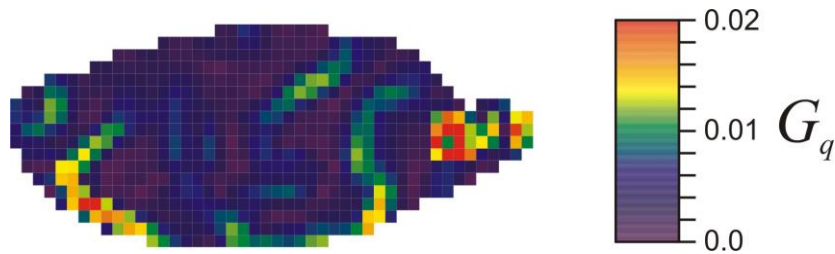
Wartości  $\sigma_\theta$  znalezione dla kolejnych pozycji okna analizy ( $x_w$ ,  $y_w$ ) pozwalają na sporządzenie mapy szerokości rozkładu kierunku struktury gruczołów  $\sigma_\theta(x_w, y_w)$ .

Obraz ten (rys. 56) przedstawia niepewność w szacowaniu średniej wartości kierunku  $\theta_0$ . Podobnie jak w przypadku obrazu szerokości rozkładu częstotliwości  $\sigma_q$ , obszary o niskich wartościach będą wskazywały na rejony o jasno zdefiniowanych wartościach kąta  $\theta_0$ . Interpretujemy je jako obszary jednokierunkowe, bez widocznym zmian morfologicznych w postaci deformacji czy też skrętu gruczołów. Warto zaznaczyć, że średnia wartość tego parametru (dla całej powierzchni powieki) odpowiadać powinna parametrowi anizotropii kierunku gruczołów,  $\kappa^{-1}$ , czyli wcześniej zdefiniowanej wielkości użytej do oceny stanu morfologicznego wymiarze globalnym.

#### 5.2.3.5 Mapa gradientu częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma, $G_q$

Wykorzystując omówioną w podrozdziale 5.2.3.1 mapę częstotliwości przestrzennych gruczołów Meiboma,  $q_0(x_w, y_w)$ , sporządzono dodatkowy obraz przedstawiający gradient częstotliwości przestrzennych,  $G_q$ . Mapa ta wyznaczana była przy

użyciu filtra Sobela [170] zastosowanego do mapy średniej częstotliwości gruczołów  $q_0(x_w, y_w)$ . Dodatkowo, w celu ograniczenia artefaktów powstałych na brzegach obrazu powieki, krawędzie obrazu  $G_q$  usunięto wykorzystując, opisaną w ostatniej sekcji tego rozdziału, maskę obszaru gruczołów Meiboma.



**Rys. 57. Mapa gradientu częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma,  $G_q$  [177].**

Obraz gradientu częstotliwości  $G_q$ , rys. 57, prezentuje tempo zmian średniej wartości częstotliwości w analizowanym obrazie. W przypadku braku zmian w morfologii gruczołów Meiboma obraz ten będzie charakteryzował się niskimi wartościami  $G_q$ , podobnie jak obraz wariacji częstotliwości  $\sigma_q$ . Oba te obrazy dostarczają informacji o przestrzennych zmianach w częstotliwości gruczołów Meiboma w analizowanym obrazie.

### 5.2.3.6 Mapa niespójności kątowej gruczołów Meiboma, $C_\theta$

Wykorzystując omówioną w podrozdziale 5.2.3.3 mapę kątów orientacji gruczołów Meiboma,  $\theta_0$ , wyznaczono mapę niespójności kątowej,  $C_\theta$ , umożliwiającą obserwację zmian w lokalnym kierunku orientacji gruczołów Meiboma. W tym celu dla każdej pozycji w obrazie  $\theta_0$ , wyodrębniono niewielki region najbliższych sąsiednich pikseli w postaci bloku pikseli o rozmiarze  $3 \times 3$  pix. ( $B \times B$ ;  $B=3$ ).

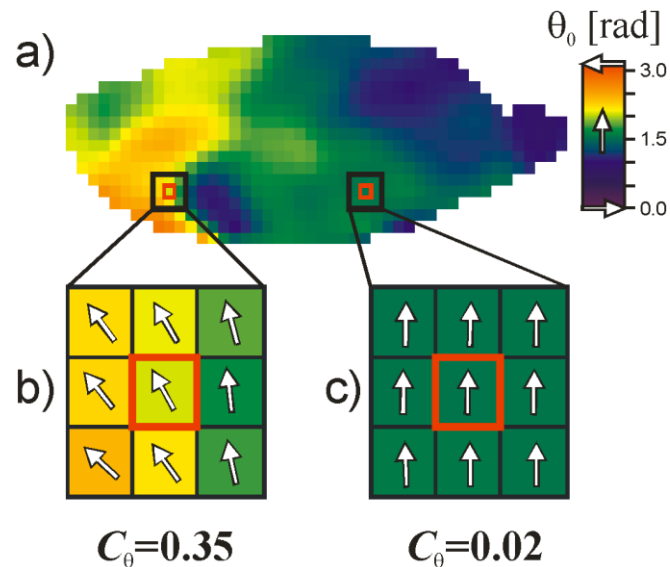
Wartość niespójności kątowej  $C_\theta$ , dla każdego z bloków zdefiniowano jako:

$$C_\theta = \frac{\sum_{(i,j) \in B} |\sin(\theta_0(x_0, y_0) - \theta_0(x_i, y_i))|}{B \times B} \quad (31)$$

gdzie  $\theta_0(x_0, y_0)$  to wartości kąta orientacji w centralnym pikselu analizowanego bloku. Jak wynika z powyższego równania, w przypadku gdy kąt orientacji w pikselu centralnym jest zbliżony do kąta w sąsiednich pikselach w obrębie bloku, wartość  $C_\theta$  będzie bliska 0. Wskazuje to na wysoką spójność kątowa analizowanego obszaru. Mapę niespójności

kątowej,  $C_{\theta}(x_w, y_w)$ , wyznaczono obliczając wartość niespójności kątowej  $C_{\theta}$  dla każdego piksela w obrazie  $\theta_{\theta}(x_w, y_w)$ .

Rys. 58 przedstawia sposób obliczania niespójności kątowej w wybranej lokalizacji dla bloków pikseli (3x3) w dwóch przykładowych pozycjach.



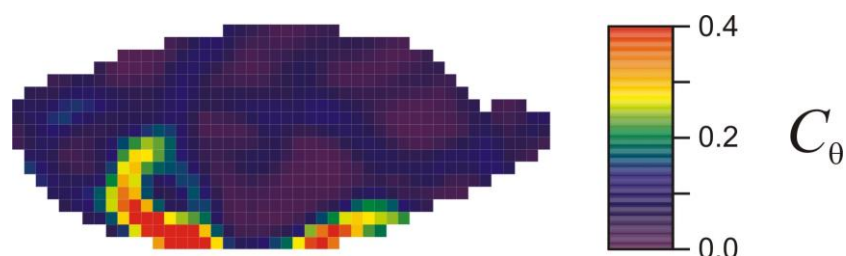
**Rys. 58. Metoda wyznaczenie niespójności kątowej  $C_{\theta}$  [177].** Wartość niespójności kątowej wyznaczana jest na podstawie równania (31) dla centralnego bloku, oznaczonego kwadratem w kolorze czerwonym. Mapa niespójności kątowej powstaje po wyliczeniu niespójności kątowej  $C_{\theta}$  dla każdego piksela w obrazie.

**Część a)** Obraz o danym kierunku  $\theta_0$  z zaznaczonymi dwoma przykładowymi blokami o rozmiarze 3x3 pix. do wyznaczenia ich niespójności kątowej.

**Część b)** Blok o wysokiej niespójności kątowej. Widoczna jest znaczna różnica kierunków w pikselach bloku.

**Część c)** Blok o niskiej niespójności kątowej. Kierunki we wszystkich pikselach bloku są zbliżone.

Mapę niespójności kątowej,  $C_{\theta}(x_w, y_w)$ , przykładowego obrazu Meiboma (rys. 52) przedstawiono na rys. 59.



**Rys. 59. Mapa niespójności kątowej gruczołów Meiboma,  $C_{\theta}$  [177].**



Obraz niespójności kątowej  $C_\theta$  interpretujemy jako przestrzenną reprezentację zmian kierunku gruczołów Meiboma. Regiony o niskich wartościach  $C_\theta$  wskazują na obszary gruczołów o podobnym kierunku, czy też braku zniekształceń w analizowanym obrazie. Obszary o nagłych zmianach kierunku z kolei będą opisywane wysokimi wartościami  $C_\theta$ .

### 5.2.3.7 Maska obszaru gruczołów Meiboma

W celu odróżnienia obszarów obrazu zawierających gruczoły Meiboma od tła obrazu wyznaczono maskę obszaru gruczołów. Jest to binarny obraz o wartościach „1” w obrębie gruczołów i wartościach „0” w obszarze tła. Aby wyznaczyć maskę posłużono się faktem, że obecność periodycznej i kierunkowej struktury w analizowanym obrazie wyraźnie zwiększa wartość „energii” zdefiniowanej jako całka z widmowej gęstości mocy (równanie 32). W związku z powyższym, dla każdej pozycji okna analiz  $(x_w, y_w)$  wyznaczono wartość energii, jako:

$$e = \log \left\{ \int_q \int_\theta |F(q, \theta)|^2 \right\} \quad (32)$$

W celu otrzymania obrazu binarnego, wartości zmapowanych energii obrazu porównano z pewną wartością progową. Otrzymana w ten sposób maska obszaru gruczołów Meiboma przedstawiona jest na rys. 60.

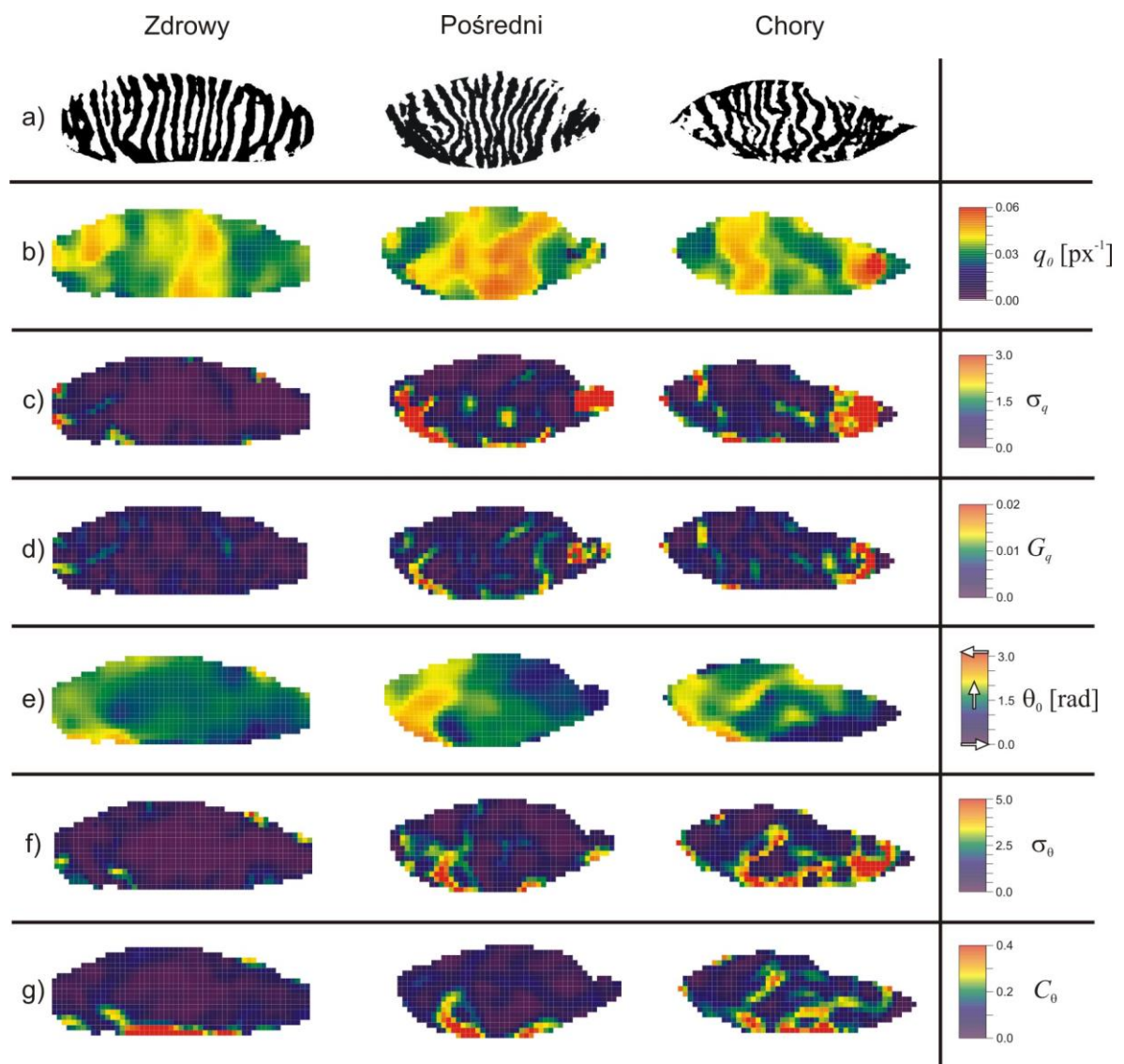


**Rys. 60. Maska obszaru gruczołów Meiboma,  $e$  [177].**

Mapę tę wykorzystywano do ograniczenia wpływu artefaktów powstałych na krawędziach wyznaczanych map morfometrycznych oraz do oszacowania pola powierzchni powieki objętej strukturą gruczołów.

### 5.2.4 Wyniki analiz

Omówione w poprzednich rozdziałach metody numeryczne pozwoliły na wygenerowanie, dla każdego obrazu meibograficznego, sześciu map informujących o lokalnych zmianach w morfologii gruczołów Meiboma. Na poniższym rys. 61 porównano otrzymane mapy morfometryczne dla trzech przykładowych obrazów gruczołów Meiboma, po jednym z każdej zaproponowanej kategorii subiektywnej, tj., „zdrowy”, „pośredni”, „chory”.



**Rys. 61.** Obrazy prezentujące przestrzenne rozkłady parametrów opisujących lokalne zmiany w morfologii gruczołów Meiboma klasyfikowanych jako „zdrowy”, „pośredni” oraz „chory” [177].

Kolejne rzędy przedstawiają: a) oryginalny binarny obraz gruczołów Meiboma, b) obraz średniej częstotliwości gruczołów  $q_0$ , c) obraz szerokości rozkładu częstotliwości gruczołów  $\sigma_q$ , d) obraz gradientu częstotliwości  $G_q$ , e) obraz kierunku gruczołów  $\theta_0$ , f) mapa szerokości rozkładu kierunku gruczołów  $\sigma_\theta$ , g) obraz niespójności kątowej  $C_\theta$ .

Rys. 61 przedstawia uzyskane mapy parametrów morfometrycznych dla wybranych obrazów meibograficznych sklasyfikowanych jako „zdrowy”, „pośredni” i „chory”, zaprezentowanych w rzędzie a). Obrazy średniej częstotliwości przestrzennej gruczołów  $q_0$ , widoczne w rzędzie b), informują o zmianach w szerokości poszczególnych gruczołów, czy też odstępach pomiędzy kolejnymi gruczołami. Jak wynika z rys. 61b, niezależnie od kategorii obrazu obserwuje się przestrzenne niejednorodności parametru  $q_0$ . Wynika to z faktu, że w każdym przypadku szerokość gruczołów ulega pewnym zmianom w obszarze powieki. Wydaje się jednak, że zakres tych zmian jest najmniejszy dla obrazu sklasyfikowanego jako „zdrowy”. Innymi słowy, mapa częstotliwości przestrzennych  $q_0$  dla obrazu „zdrowego” jest najbardziej jednorodna. Wyniki analizy globalnej sugerują, że średnia (dla całej powieki) wartość tego parametru, odpowiadająca parametrowi  $\bar{q}$ , powinna maleć wraz z postępem dysfunkcji.

Na rys. 61c przedstawiono obrazy szerokości rozkładu częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma,  $\sigma_q$ . W tym przypadku mapy znalezione dla różnych kategorii obrazów wyraźnie się różnią. Jak widać, obrazowi sklasyfikowanemu jako „zdrowy” odpowiada jednorodny przestrzenny rozkład szerokości rozkładu wartości częstotliwości z niskimi wartościami parametru  $\sigma_q$ . Wraz z postępem dysfunkcji, wartości  $\sigma_q$  wzrastają w niektórych obszarach powieki prowadząc do wyraźnej niejednorodności obrazów  $\sigma_q$ .

Mapa gradientu częstotliwości gruczołów  $G_q$  pokazana na rys. 61d informuje o tempie zmian w częstotliwości gruczołów Meiboma. Jak widać, w przypadku braku istotnych zmian morfologicznych mapy  $G_q$  pozostają jednorodne z niskimi wartościami gradientu częstotliwości. Wzrost wartości oraz niejednorodność map odnotowuje się w obszarach objętymi zmianami morfologicznymi. Sytuacja ta jest jakościowo zbliżona do przypadku map parametru  $\sigma_q$ .

Jak wspomniano wcześniej, niezaburzony obraz gruczołów Meiboma porównywalny jest to jednokierunkowej struktury pasków. Jednak wraz z postępem dysfunkcji gruczołów kierunek ten ulegać będzie miejscowym zmianom. Mapę kierunku gruczołów  $\theta_0$  przedstawiono na rys. 61e. Jednorodny rozkład wartości kątów, obserwowany dla obrazu sklasyfikowanego jak „zdrowy”, uzasadnia przypisanie obrazu gruczołów do właściwej kategorii. Mapy odpowiadające obrazom z pozostałych kategorii charakteryzują się wyraźnym wzrostem niejednorodności kąta orientacji.

Uzupełnieniem mapy kierunku gruczołów stanowią mapy szerokości rozkładu kierunku  $\sigma_\theta$  (rys. 61f) oraz mapa niespójności kątowej  $C_\theta$  (rys. 61g). Jak widać, mapy

pierwszego z tych parametrów pozostają jednorodne dla obrazów gruczołów zdrowych. Niskie wartości parametru  $\sigma_\theta$  wskazują na rejony o jasno zdefiniowanych wartościach kierunku  $\theta_0$ . W tym przypadku większość powierzchni powieki to obszar o jednokierunkowym ustawieniu gruczołów, bez widocznym zmian morfologicznych w postaci deformacji czy też skrętu gruczołów. W przypadku gruczołów pośrednich i chorych zauważa się wzrost wartości tego parametru w pewnych obszarach powieki skutkujący wyraźną niejednorodnością uzyskanych map.

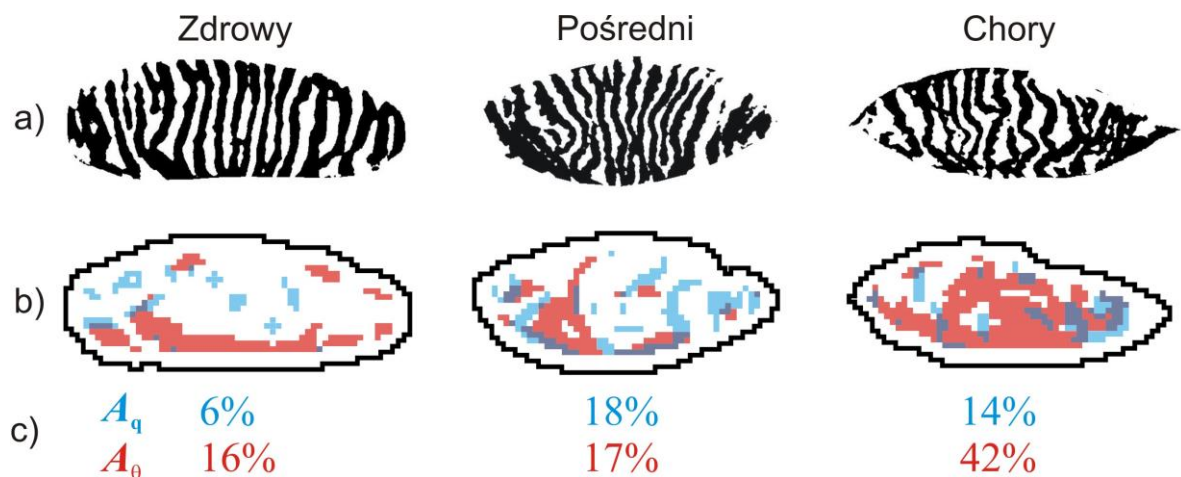
Podobną interpretację zastosować można do obrazów niespójności kątowej  $C_\theta$  prezentującej lokalną korelację kątów orientacji gruczołów. Niskie wartości parametru  $C_\theta$  wskazują na brak zniekształceń kątowych w obrazie gruczołów, a zaburzenia idealnej periodycznej struktury gruczołów skutkują wzrostem wartości  $C_\theta$  w pewnych obszarach powieki.

Przedstawione powyżej mapy parametrów morfologicznych zawierają ogromną ilość obiektywnych informacji, ułatwiając tym samym jakościową analizę obrazów. Bez wątpienia, obrazy te mogą być wykorzystywane w praktyce klinicznej w celach diagnostycznych. Umożliwiają bowiem łatwe zlokalizowanie zmian morfologicznych w dowolnym obszarze powieki oraz oszacowanie wartości liczbowych odpowiadających tym zmianom. Jednak warto zwrócić uwagę, że możliwa jest również bardziej zaawansowana analiza uzyskanych map parametrów morfologicznych, nieograniczająca się jedynie do generacji i jakościowej dyskusji danych map.

### ***5.2.5 Przykład wykorzystania map morfometrycznych do zdefiniowania miar deformacji gruczołów Meiboma***

Oprócz jakościowej dyskusji pozyskanych map morfometrycznych, możliwa jest również ich bardziej szczegółowa analiza. Mapy te posłużyć mogą do generowania kolejnych obrazów pochodnych oraz do definiowania obiektywnych miar deformacji (*ang. Meibo-Score*). Najbardziej znaną taką miarą jest tzw. *obszar ubytku gruczołów Meiboma* (*ang. Drop-Out Area, DOA*), zdefiniowany jako stosunek powierzchni ubytku gruczołów Meiboma do obszaru całej powieki. Wykorzystując pozyskane mapy morfometryczne oraz analogiczną do DOA definicję, możliwe jest zdefiniowanie *obszaru zniekształcenia gruczołów Meiboma*. Miarę taką wyznaczyć można porównując pole powierzchni zajmowane przez zdeformowane gruczoły z obszarem całej analizowanej powieki.

Przykład opisanej powyżej procedurę przedstawiono na rys. 62. Wykorzystując mapę niespójności kątowej  $C_\theta$  oraz mapę gradientu częstotliwości  $G_q$ , porównano wartości pikseli w tych mapach z wartościami progowymi odróżniającymi stan zdeformowany od prawidłowego (niezaburzony). Jako wartość progową przyjęto średnią (z obszaru całej powieki) wartość odpowiedniego parametru ( $C_\theta$  lub  $G_q$ ) znaną dla obrazu „zdrowych” gruczołów. Piksele przekraczając wartości progowe pokazano na rys. 62b. Następnie obliczono stosunek liczby pikseli przekraczających wartość progową do całkowitej liczby pikseli w obszarze gruczołów Meiboma (wykorzystując maskę obszaru gruczołów,  $e$  – rozdział 5.2.3.7). W ten sposób wyznaczono miary deformacji określające procent powierzchni powieki zajętej przez obszary, w których występują istotne zmiany odpowiednio, szerokości gruczołów  $A_q$  oraz kierunku gruczołów  $A_\theta$ . Wartości uzyskany miar przedstawiono na rys. 62c.



**Rys. 62. Propozycja ilościowego określenia stopnia deformacji gruczołów Meiboma z wykorzystaniem map parametrów morfologicznych [177].** Rząd a) przykładowe binarne wersje analizowanych obrazów gruczołów Meiboma dla każdej z kategorii obrazów, tj. zdrowy, pośredni oraz chory. Rząd b) pozycje pikseli które przekroczyły wartość progową gradientu częstotliwości (niebieski) oraz niespójności kątowej. (czerwony) Rząd c) Wartości parametrów  $A_q$  i  $A_\theta$  opisujących, odpowiednio, procent powierzchni objętej istotną zmianą szerokości gruczołów oraz procent powierzchni objętej zmianą w kierunku gruczołów. .

Jak łatwo zauważyć (rys. 62b), w przypadku obrazów meibograficznych należących do kategorii „chory” zmiany morfologii występują na znacznej powierzchni obszaru powieki, podczas gdy jedynie niewielki procent powierzchni obrazów klasyfikowanych jako „zdrowe” przejawia istotne zaburzenia. Warto jednak zauważyć, że wartości zdefiniowanych miar (rys. 62c) mogą być podobne dla różnych klas obrazów (parametr  $A_q$

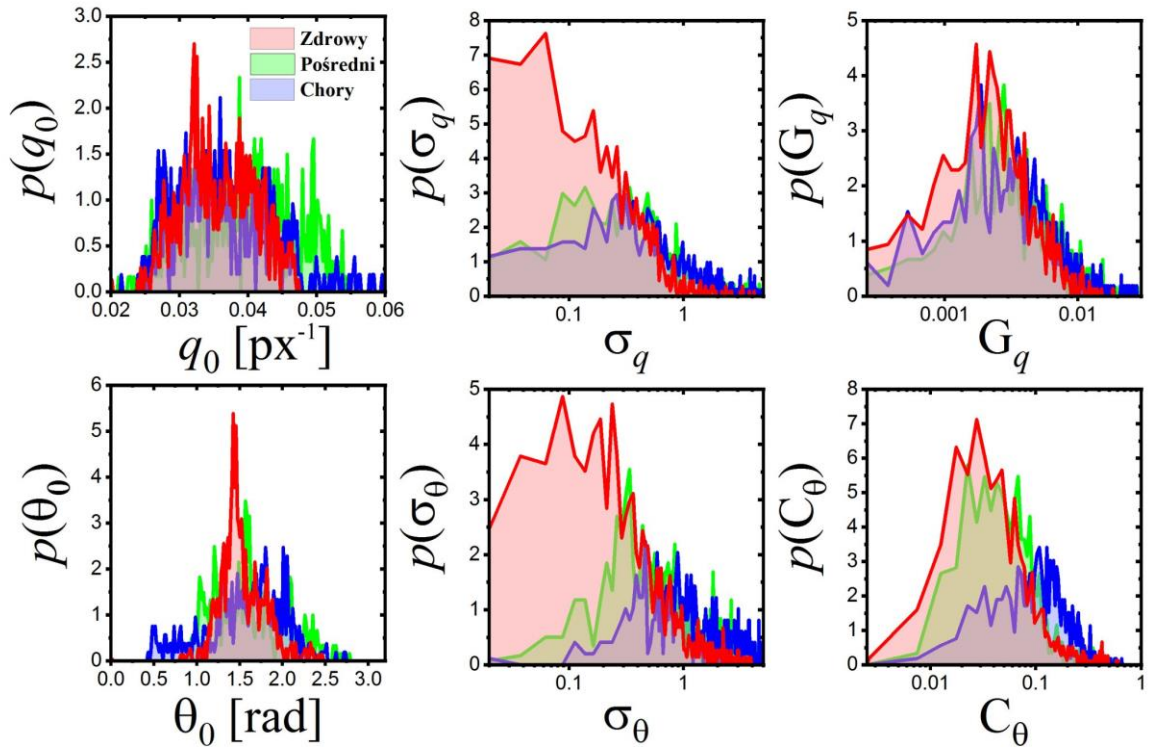
dla kategorii „pośredni” i „chory”; parametr  $A_\theta$  dla kategorii „zdrowy” i „pośredni”). Pokazuje to, że ocena stanu morfologicznego w oparciu o ograniczoną liczbę parametrów może prowadzić do niejednoznacznych wyników. Konieczna jest zatem zdefiniowanie i wykorzystanie większej liczby parametrów w celu wiarygodnego opisu stanu morfologii gruczołów Meiboma. Oszacowane wartości miar deformacji  $A_q$  oraz  $A_\theta$  stanowią jedynie przykład możliwości jakie daje prezentowana metoda dla prostego zdefiniowania nowych parametrów meibograficznych (*ang. Meibo-Scores*). Na podstawie przedstawionych map morfometrycznych można próbować zdefiniować szereg innych parametrów odnoszących się do miar deformacji gruczołów Meiboma.

Podsumowując, przedstawiona metoda pozwala na szczegółową analizę obrazów meibograficznych na poziomie lokalnym, tj. na poszczególnych obszarach całej analizowanej powieki. Postępowanie to pozwala na dokładną lokalizację zaburzeń morfologii gruczołów Meiboma (zmiany w szerokości oraz orientacji gruczołów) oraz ilościowy opis danych zmian. Opisana metoda mogłaby znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej do oceny postępowania zmian w morfologii gruczołów Meiboma. Co więcej, badanie mogłoby ułatwić proces diagnostyczny dysfunkcji gruczołów Meiboma, w szczególności w jej początkowych stadiach, charakteryzujących się subtelnymi zmianami morfologicznymi, poprzedzającymi zanik gruczołów Meiboma. Bez wątpienia, na dalszym etapie badań należałoby skupić się na wykazaniu użyteczności klinicznej danych parametrów. W tym celu przyszłe prace powinny prowadzić do znalezienia korelacji między wyznaczanymi parametrami morfometrycznymi i parametrami przedniego odcinka oka oraz filmu łzowego.

### ***5.2.6 Automatyczna klasyfikacja obrazów gruczołów Meiboma***

Oprócz opisanej powyżej szczegółowej analizy uzyskanych map morfometrycznych postanowiono również sprawdzić czy zaproponowane parametry można wykorzystać do automatycznej klasyfikacji obrazów meibograficznych. Analizując mapy na rys. 61 zauważyć można, że w przypadku obrazów prezentujących niezaburzone „zdrowe” struktury gruczołów Meiboma, zaproponowane parametry ilościowego opisu zmian morfologicznych będą przyjmowały niskie wartości, a ich przestrzenne reprezentacje będą jednorodne. Wraz z pojawieniem się zniekształceń, wartości tych parametrów będą się zwiększały w obszarach powieki objętych zmianami morfologicznymi.

Na podstawie tych obserwacji wnioskować można, że rozkład wartości pikseli na poszczególnych mapach morfometrycznych będzie różny dla każdej z zaproponowanych kategorii, tj. „zdrowy”, „pośredni”, „chory”. Rozkłady wartości pikseli przykładowych map morfometrycznych (przedstawionych na rys. 61) został zaprezentowany poniżej na rys. 63.



**Rys. 63.** Rozkład wartości pikseli dla każdej z sześciu map morfometrycznych (Rys. 61), prezentujących lokalne zmiany w morfologii gruczołów Meiboma, dla każdej z zaproponowanych kategorii, tj. „zdrowy”, „pośredni” oraz „chory” [177].

Jak wynika z powyższego rysunku, kształt rozkładów wartości wyznaczanych parametrów morfometrycznych zależy od subiektywnej kategorii obrazów gruczołów Meiboma, korelując ze stopniem zaawansowania zmian w morfologii gruczołów Meiboma. Efekt ten jest szczególnie widoczny dla parametrów czułych na lokalne niejednorodności częstotliwości przestrzennej lub kąta orientacji gruczołów ( $\sigma_q$ ,  $G_q$ ,  $\sigma_\theta$  oraz  $C_\theta$ ). Dla dalszej analizy, zmiany w kształcie rozkładów przedstawionych na rys. 63 należy zobiektywizować przypisując im konkretne wartości liczbowe. W tym celu rozkład wartości każdego zmapowanego parametru morfometrycznego opisano pięcioma miarami, którymi były odpowiednio: entropia Shannona (E) oraz cztery momenty centralne rozkładu, tj. średnia (M), wariancja (Var), współczynnik skośności (Skw) oraz kurtoza (Krt).

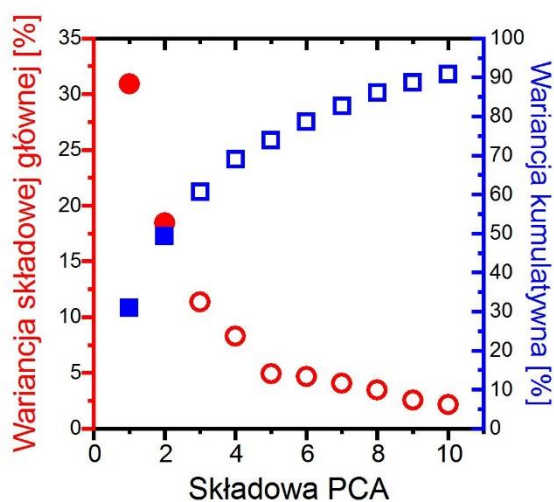
Podsumowując, dla każdego obrazu meibograficznego wyznaczono sześć map morfometrycznych ( $q_0$ ,  $\theta$ ,  $\sigma_q$ ,  $G_q$ ,  $\sigma_\theta$  oraz  $C_\theta$ ), a rozkłady wartości prezentowanych na każdej mapie opisano pięcioma miarami (E, M, Var, Skw, Krt). Zatem każdy rejestrowany obraz

gruczołów Meiboma opisano kolekcją (wektorem) 30 wartości liczbowych. W kolejnym kroku podjęto próbę automatycznej klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma w oparciu o tak otrzymane cechy ilościowe.

Z uwagi na dużą liczbę cech każdego obrazu meibograficznego, ponownie wykorzystano dwa algorytmy pozwalające na zmniejszające wymiarowość zbioru wejściowego, tj. analizę składowych głównych (PCA) oraz liniową analizę dyskryminacyjną (LDA).

Dla przypomnienia, działanie algorytmu PCA polega na prezentacji otrzymanego zbioru danych, w naszym przypadku 30-to parametrowego wektora opisującego stan morfologiczny gruczołów Meiboma, w nowym układzie współrzędnych (tzw. składowych głównych), maksymalizujących wariancję danych wejściowych. Najczęściej to jedynie kilka z pierwszych głównych składowych PCA zawiera większość informacji o zmienności analizowanych cech. Metody ta pozwala więc ograniczyć analizę danych do pierwszych kilku składowych PCA, co znacznie zmniejsza wymiar danych wejściowych ułatwiając przeprowadzenie procedury klasyfikacji.

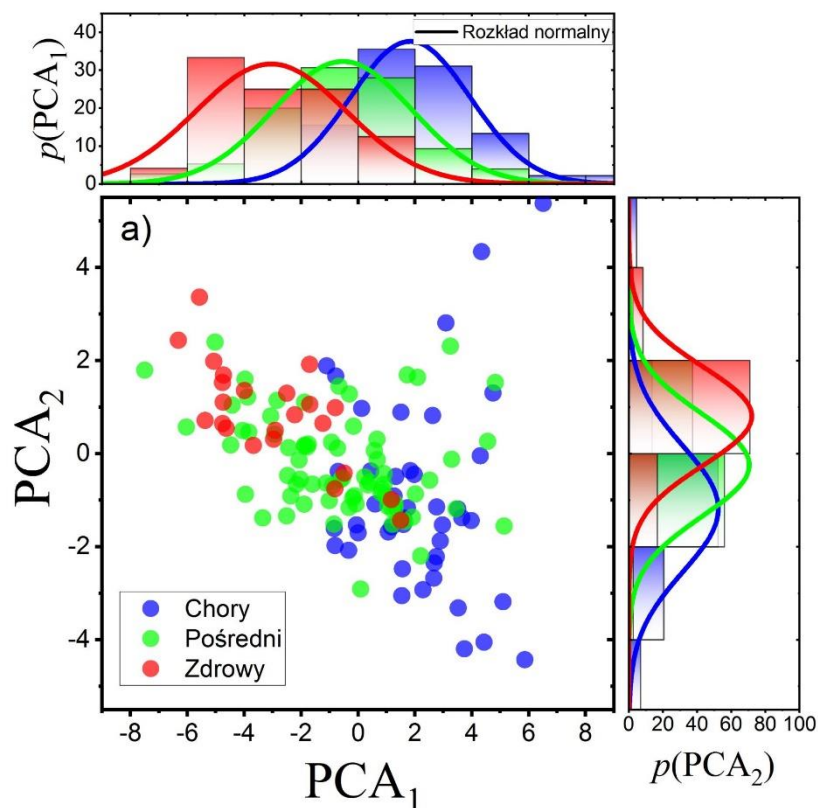
Procedurę klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma z wykorzystaniem algorytmu PCA, rozpoczęto od sprawdzenia pojemności informacyjnej kolejnych składowych głównych. W tym celu wykreślono zależności wariancji pojedynczych składowych PCA, jak również ich wariancji skumulowanych. Uzyskane wyniki przedstawiono na rys. 64. Jak łatwo zauważyć, już dwie z pierwszych współrzędnych PCA zawierają blisko 50% zmienności całego 30-sto wymiarowego zbioru danych. Obserwacja ta uzasadnia ograniczenie procedury klasyfikacji do pierwszych dwóch składowych głównych PCA.



Rys. 64. Wariancje 10 pierwszych składowych głównych PCA (czerwone kółka) oraz wariancje kumulatywne poszczególnych komponentów PCA (niebieskie kwadraty) [177].



Następnie wartości pierwszych dwóch składowych głównych ( $PCA_1/PCA_2$ ), znalezione dla każdego obrazu gruczołów Meiboma, skorelowano na wspólnym wykresie przedstawionym na rys. 65. Jak widać, dane uzyskane dla obrazów gruczołów Meiboma, przypisane subiektywnie przez optometrystę do kategorii: „zdrowy”, „pośredni” i „chory”, wyraźnie grupują się i zajmują określone (choć przekrywające się) obszary na płaszczyźnie  $PCA_1/PCA_2$ . Warto przypomnieć, że wynik ten otrzymano pomimo tego iż algorytm PCA nie wykorzystuje informacji o istnieniu kategorii.



**Rys. 65.** Korelacja pomiędzy dwiema głównymi składowymi  $PCA_1$  oraz  $PCA_2$  wykorzystanymi w automatycznej klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma [177]. Wykresy brzegowe przedstawiają oszacowane funkcje rozkładu prawdopodobieństwa  $p(PCA_1)$  oraz  $p(PCA_2)$  dla każdej z trzech subiektywnych kategorii „zdrowy”, „pośredni”, „chory”.

Dane zaprezentowane na rys. 65 wykorzystać można do przeprowadzenia automatycznej klasyfikacji obrazów Meiboma. W tym celu, podobnie jak w przypadku analizy globalnej (rozdział 5.1.3 – klasyfikacja globalna), posłużono się prostym klasyfikatorem progowym. Wymaga on wiedzy na temat gęstości prawdopodobieństwa tego, że obraz meibograficzny opisany wartością  $PCA_1$  (lub  $PCA_2$ ) należy do jednej z trzech kategorii. Szukane funkcje rozkładu prawdopodobieństwa  $p(PCA_1)$  oraz  $p(PCA_2)$  oszacowano znajdując rozkłady brzegowe (histogramy) wartości komponentów PCA dla

każdej z trzech kategorii, a następnie dopasowując do nich funkcję rozkładu normalnego. Otrzymane histogramy wartości  $PCA_1$  i  $PCA_2$ , wraz z wynikiem dopasowania, przedstawiono na rys. 65.

W celu dokonania klasyfikacji posłużono się tym samym podejściem, które wykorzystano wcześniej podczas analiz globalnej obrazów gruczołów Meiboma. Każdy z obrazów Meiboma opisany został parą wartości  $PCA_1$  i  $PCA_2$ . Wykorzystując znajomość rozkładów  $p(PCA_1)$  oraz  $p(PCA_2)$  obliczono, dla każdej kategorii, wartość gęstości prawdopodobieństwa tego, że dany obraz należy do danej kategorii. Analizowany obraz gruczołów Meiboma został przypisany do tej kategorii, dla której wartość funkcji gęstości prawdopodobieństwa była największa. Wydajność klasyfikacji, dla każdej kategorii, określono jako stosunek liczby obrazów przypisanych automatycznie do liczby obrazów skategoryzowanych subiektywnie przez optometrystę (rozdział 2.5.). Skuteczność opisanej powyżej procedury automatycznej klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma, w oparciu o pojedyncze parametry  $PCA_1$  oraz  $PCA_2$ , zaprezentowano w tabeli 3.

**Tab. 3. Porównanie skuteczności procedury automatycznej klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma przy wykorzystaniu różnych klasyfikatorów. Podane niepewności przy założeniu 95% przedziału ufności.**

Klasyfikator	Zdrowy [%]	Pośredni [%]	Chory [%]
Analiza lokalna			
$PCA_1$	63±9	36±2	78±8
$PCA_2$	79±11	44±3	61±7
$PCA_{1,2}$	83±12	48±4	83±9
$LDA_1$	88±14	76±8	85±12
$LDA_2$	67±7	72±7	33±4
$LDA_{1,2}$	88±14	79±9	91±12
Analiza globalna			
$PCA_1$	88±11	46±3	83±10
$LDA_1$	88±11	40±3	83±10

Jak widać, przeprowadzenie klasyfikacji w oparciu o pojedynczy parametr  $PCA_1$  oraz o pojedynczy parametr  $PCA_2$  pozwoliło na uzyskanie przyzwoitej wydajności klasyfikacji dla kategorii skrajnych („zdrowy” i „chory”). W przypadku klasyfikatora  $PCA_1$  lepszą skuteczność uzyskuje się dla kategorii „chory”, podczas gdy klasyfikator  $PCA_2$  daje lepsze rezultaty dla kategorii „zdrowy”. Oba klasyfikatory nie dają zadowalających efektów w segregacji obrazów przypisanych do kategorii „pośredni”, chociaż klasyfikator  $PCA_2$

radzi sobie z tym zadaniem nieco lepiej. Ten ostatni wynik nie jest zaskoczeniem i wynika, z widocznego na rys. 65, wyraźnego przekrywania się funkcji gęstości prawdopodobieństwa  $p(\text{PCA}_1)$  oraz  $p(\text{PCA}_2)$ .

Analiza wyników zamieszczonych w tabeli 3 sugeruje, że lepsze rezultaty można by osiągnąć gdyby klasyfikację oprzeć jednocześnie o obie współrzędne PCA. Sporządzono zatem klasyfikator, który dokonuje segregacji nie na podstawie pojedynczych funkcji prawdopodobieństwa  $p(\text{PCA}_1)$  (lub  $p(\text{PCA}_2)$ ), lecz na podstawie iloczynu gęstości odpowiednich prawdopodobieństw  $p(\text{PCA}_1)p(\text{PCA}_2)$ . Wydajność tak zdefiniowanego klasyfikatora (o symbolu  $\text{PCA}_{1,2}$ ) przedstawiono w tabeli 3. Jak widać, jednoczesne uwzględnienie obu składowych PCA, łączy pożądane cechy dwóch klasyfikatorów opartych o niezależne komponenty PCA.

Warto odnotować, że wydajność opisanej powyżej metody klasyfikacji nie jest lepsza od tej uzyskanej podczas globalnej analizy obrazów meibograficznych (Tabela 3). Dzieje się tak pomimo, iż obecnie dyskutowana analiza lokalna prowadzona jest w oparciu o 30-sto parametrowy zbiór danych, podczas gdy analiza globalna wykorzystywała jedynie dwie cechy obrazu. Widać zatem, że zwiększenie liczby cech opisowych nie jest równoznaczne z polepszeniem wydajności metody klasyfikacji wykorzystującej algorytm PCA. Pewnym wyjaśnieniem tego stanu rzeczy może być fakt, że nie każdy z 30-stu wyznaczonych parametrów lokalnych wnosi jednakowy wkład w tworzenie pierwszych składowych głównych PCA, na których opiera się działanie użytego klasyfikatora. Innymi słowy zdolność opisowa (zdolność do segregacji danych) niektórych wyznaczanych cech jest większa od innych. W przypadku algorytmu PCA dobór niewielkiej liczby cech o istotnej zdolności opisowej może dać lepszy rezultat niż bazowanie na pełnym zbiorze danych. Dla ilustracji, w tabeli 4 zebrano 10 lokalnych cech opisowych o największym wkładzie w składową główną  $\text{PCA}_1$  (tzw. *ang. loadings*).

**Tab. 4. Zestawienie 10 cech opisowych o największym wkładzie (*ang. PCA loading*) w tworzeniu składowej głównej PCA<sub>1</sub>.** Czerwonym kolorem wskazano lokalną cechę wariacji kąta orientacji gruczołów Meiboma ( $\text{Var}(\theta_0)$ ), która odpowiada globalnemu parametrowi anizotropii kierunku gruczołów Meiboma ( $\kappa^{-1}$ ) omówionemu w rozdziale 5.1.

Parametr	Wkład w składową główną PCA <sub>1</sub>
M( $\sigma_q$ )	0.270
E( $\sigma_q$ )	0.260
<b>Var(<math>\theta_0</math>) <math>\leftrightarrow</math> <math>\kappa^{-1}</math></b>	0.258
E( $\sigma_\theta$ )	0.256
E( $C_\theta$ )	0.253
E( $\theta_0$ )	0.252
M( $\sigma_\theta$ )	0.246
M( $C_\theta$ )	0.243
Var( $\sigma_q$ )	0.239
M( $G_q$ )	0.230

Jak widać wysoki wkład w tworzenie pierwszej składowej PCA<sub>1</sub> posiada parametr wariacji kąta orientacji gruczołów Meiboma ( $\text{Var}(\theta_0)$ ) opisujący szerokość rozkładu wartości kątów gruczołów, czyli dokładnie tę samą właściwość którą parametryzuje globalna cecha anizotropii kierunku gruczołów Meiboma ( $\kappa^{-1}$ ). Jest to pośrednim potwierdzeniem tego, że parametr  $\kappa^{-1}$  (jak i  $\text{Var}(\theta_0)$ ) jest dobrym wskaźnikiem pozwalającym rozróżnić poszczególne obrazy gruczołów Meiboma.

Warto również zwrócić uwagę, że w przypadku dwuparametrowej analizy globalnej, wariancja pierwszego komponentu PCA<sub>1</sub> to ok. 68% całkowitej wariacji danych, podczas gdy w przypadku 30-wymiarowego zbioru cech lokalnych to zaledwie nieco ponad 30% (rys.64). Widać zatem, że w przypadku klasyfikatorów opartych o algorytm PCA, ograniczenie liczby parametrów do cech o dużej zdolności opisowej, może być czasami korzystniejsze niż bazowanie na całym zestawie danych.

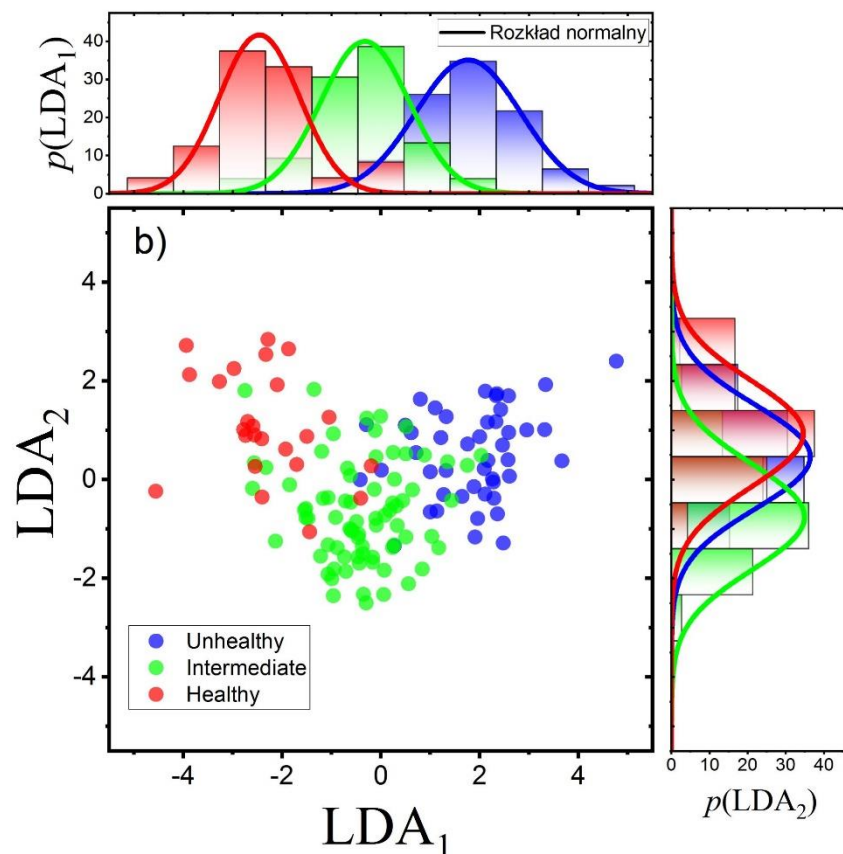
Podsumowując, dla stosowanego prostego klasyfikatora progowego, w połączeniu z algorytmem PCA w celu redukcji wymiarów danych, zwiększenie cech opisowych obrazów meibograficznych nie zwiększa wydajności klasyfikacji. Najwyraźniej osiągnięto limit wydajność klasyfikacji wykorzystującej pierwsze składowe główne PCA. Aby zwiększyć skuteczność automatycznej kategoryzacji obrazów należy zatem użyć innego klasyfikatora, bądź innej metody redukcji wymiarów danych.

Istnieje wiele algorytmów dedykowanych automatycznej klasyfikacji danych (np. maszyna wektorów nośnych (SVM) [171] lub sztuczne sieci neuronowe (ANN) [172],

których wydajność można by poddać próbie. W pracy tej postanowiono poprzestać na prostym klasyfikatorze progowym i skupić się jedynie na przetestowaniu zmiany sposobu redukcji wymiarów z metody PCA na metodę LDA.

Algorytm LDA (opisany szczegółowo w rozdziale 4.2) działa na podobnej zasadzie jak metoda PCA. Wykorzystuje on jednak dodatkową informację o wstępnym przypisaniu obrazów do subiektywnych kategorii („zdrowy”, „pośredni”, „chory”). Kryterium wyboru nowych współrzędnych (zwanymi liniowymi dyskryminatorami) uwzględnia jednocześnie maksymalizację separacji danych między kategoriami oraz minimalizację separacji w obrębie kategorii. Podobnie jak w przypadku PCA, analizę danych ograniczyć można do pierwszych kilku składowych LDA, co ułatwia przeprowadzenie procedury klasyfikacji.

Procedurę klasyfikacji prowadzono w sposób analogiczny do wcześniej opisanego przypadku klasyfikacji opartej o algorytm PCA. Rozpoczęto od wyznaczenia dwóch pierwszych komponentów LDA, a następnie skorelowano je na jednym wykresie. Wynik korelacji przedstawiono na rys. 66.)



**Rys. 66. Korelacja pomiędzy dwoma dyskryminatorami liniowymi  $LDA_1$  oraz  $LDA_2$  wykorzystanymi w automatycznej klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma [177]. Wykresy brzegowe przedstawiają oszacowane funkcje rozkładu prawdopodobieństwa  $p(LDA_1)$  oraz  $p(LDA_2)$  dla każdej z trzech subiektywnych kategorii „zdrowy”, „pośredni”, „chory”.**

W porównaniu z analogicznym obrazem przedstawionym na rys. 65 (dla metody opartej o PCA), wykorzystanie algorytmu LDA pozwala otrzymać znacznie lepsze grupowanie na płaszczyźnie  $LDA_1/LDA_2$  danych zebranych dla różnych kategorii obrazów. Jest to odzwierciedlone w węższych i lepiej odseparowanych funkcjach gęstości prawdopodobieństwa  $p(LDA_1)$  oraz  $p(LDA_2)$  widocznych na krawędziach rys. 66.

Również w tym przypadku wyznaczono wydajność automatycznej kategoryzacji klasyfikatorów wykorzystujących pojedyncze wartości  $LDA_1$  i  $LDA_2$  oraz klasyfikatora umożliwiającego jednoczesne uwzględnienie obu składowych LDA (opartego o iloczyn gęstości odpowiednich prawdopodobieństw  $p(LDA_1)p(LDA_2)$ ). Wyniki skuteczności wszystkich trzech klasyfikatorów zamieszczono w tabeli 3.

Jak wynika z danych przedstawionych w tabeli 3, w przypadku klasyfikatora LDA uzyskano wyższą efektywność klasyfikacji w porównaniu z klasyfikatorem PCA. Wynik ten otrzymuje się już przy uwzględnieniu jedynie pierwszej składowe  $LDA_1$ . Wprowadzenie drugiego komponentu ( $LDA_2$ ) w klasyfikatorze  $LDA_{1,2}$  pozwala dodatkowo nieznacznie zwiększyć skuteczność klasyfikacji. Należy zwrócić szczególną uwagę, na znacznie wyższą skuteczność klasyfikatora LDA w przypadku kategorii „pośredni”. Analizując wykresy gęstości prawdopodobieństwa dla poszczególnych klas, rys. 66, widzimy, że w przypadku klasyfikatora LDA nakładanie się wykresu kategorii „pośredni” na wykresy pozostałych klas jest znacznie mniejsze niż w przypadku klasyfikatora PCA, co pozwala na znacznie precyzyjniejsze rozróżnienie pomiędzy poszczególnymi klasami. Warto również zwrócić uwagę na rozkłady gęstości prawdopodobieństwa  $p(LDA_1)$  dla skrajnych kategorii „zdrowy” oraz „chory”. Widzimy, że są ich nakładanie się jest minimalne, co oznacza, że opierając się jedynie na klasyfikatorze  $p(LDA_1)$ , w zasadzie uzyskuje się 100% skuteczność klasyfikacji pomiędzy skrajnymi kategoriami.

Porównując wyniki wydajności klasyfikacji otrzymane w wyniku globalnej (dwie cechy opisowe) oraz lokalnej (30 parametrów opisowych) analizy stanu morfologicznego gruczołów Meiboma, widać iż w przypadku metody PCA zwiększenie liczby cech opisujących struktury gruczoły Meiboma nie wpływa na poprawę wydajności klasyfikatora. Znaczną poprawę odnotowano dopiero przy użyciu „nadzorowanej” metody klasyfikacji LDA, czyli po uwzględnieniu informacji odnośnie wcześniejszej klasyfikacji subiektywnej. Wskazuje to, że zadanie klasyfikacji w oparciu o cechy opisowe może nie być trywialne, a powyższe obserwacje należałoby wziąć po uwagę w celu ewentualnej dalszej poprawy efektywności klasyfikacji.

Osiągnięcie możliwie wysokiej skuteczności w klasyfikacji obrazów na trzy subiektywne klasy, nie było głównym celem prowadzonych badań. Sam fakt automatycznego przypisania konkretnego obrazu do właściwej kategorii nie ma bowiem większej użyteczności klinicznej. Jednak osiągnięcie przyzwoitego rezultatu automatycznej klasyfikacji pozwala pośrednio potwierdzić potencjalną przydatność opracowanej metody w praktyce klinicznej. Wskazuje bowiem, że wartości wyznaczanych parametrów morfometrycznych są skorelowane ze zmianami struktury gruczołów, na które zwraca uwagę klinicysta podczas opisu obrazów meibograficznych. Zatem przypuszczać można, że parametry te skorelowane będą również z innymi cechami fizjologicznymi, czynnościowymi lub funkcjonalnymi związanymi z dysfunkcją gruczołów Meiboma.

## 6. Dyskusja

W przeciwieństwie do znanych z literatury metod określania zniekształcenia gruczołów Meiboma [22, 24, 26], które skupiają się na opisie cech indywidualnych gruczołów, zaproponowana w pracy globalna analiza obrazów meibograficznych charakteryzuje całościowe zachowanie struktury gruczołów w pełnym obszarze analizowanej powieki. Bazując na tym podejściu, wyznaczono dwa parametry, tj. **średnią częstotliwość gruczołów Meiboma  $\bar{q}$  oraz anizotropię kierunku gruczołów Meiboma  $\kappa^{-1}$** , opisujące istotne zmiany morfologii gruczołów Meiboma, charakterystyczne dla przebiegu dysfunkcji gruczołów Meiboma [22, 24].

Drugim etapem opracowanej metody było śledzenie lokalnych zmian w morfologii gruczołów Meiboma oraz wyznaczenie dodatkowych parametrów opisujących ich własności morfologiczne, tj. **częstotliwość gruczołów  $q_0$ , szerokość rozkładu częstotliwości gruczołów  $\sigma_q$ , gradient częstotliwości  $G_q$ , kierunek gruczołów  $\theta_0$ , szerokość rozkładu kierunku gruczołów  $\sigma_\theta$ , niespójność kątowna  $C_\theta$** .

Analiza lokalna dostarcza więcej informacji, jednak wymaga dłuższego czasu analizy. Co więcej, analiza lokalna, bardziej ogólna, zawiera w sobie również informacje globalne, tj. wartości niektórych z parametrów lokalnych, ale uśrednione po całej powierzchni powieki. W przeciwieństwie do parametrów prezentowanych w większości doniesień literaturowych [22-24, 26-28], uzyskane w ramach opracowanej analizy lokalnej wyniki nie są uśrednione dla wszystkich gruczołów objętych analizą. Stosując zaproponowaną metodę możliwa jest dokładna ilościowa analiza wybranych obszarów powieki.

Postanowiono sprawdzić czy istnieje korelacja pomiędzy parametrami wyznaczonymi podczas analizy globalnej i lokalnej. W tym celu wyznaczono współczynniki korelacji liniowej Pearsona [173] pomiędzy każdym z dwóch parametrów globalnych a każdym parametrem lokalnym. Wyniki zestawiono w tabeli 5. Jak widać, globalny parametr anizotropii kierunku gruczołów,  $\kappa^{-1}$  uzyskuje najwyższą wartość korelacji z lokalnym parametrem wariancji kierunku,  $\text{Var}(\theta_0)$ . Nie powinno to dziwić, z uwagi, że pierwszy z parametrów wskazuje na szerokość kątownego rozkładu energii całego obrazu meibograficznego, a więc opisuje zmienność w kierunku gruczołów Meiboma. Drugi z parametrów związany jest z wariancją rozkładu wszystkich lokalnych kierunków gruczołów Meiboma. Oba parametry odpowiadają więc dokładnie tej samej cesze. Nie jest również zaskoczeniem, że globalny parametr średniej wartości częstotliwości gruczołów



Meiboma,  $\bar{q}$ , osiąga najwyższą wartość korelacji z lokalnym parametrem średniej rozkładu częstotliwości gruczołów Meiboma,  $M(q_0)$  (analiza lokalna).

Zgodność powyższych korelacji z przewidywaniem potwierdza poprawność wykonania procedur numerycznych. Wskazuje również, że analizę globalną traktować można jako szczególny przypadek analizy lokalnej.

**Tab.5. Wartości korelacji liniowej Pearsona pomiędzy dwoma parametrami globalnymi (anizotropia kierunku gruczołów i średnia częstotliwość) a każdym z parametrów lokalnych. Przedstawiono 10 lokalnych cech opisowych o największym współczynniku korelacji.**

Anizotropia kierunku gruczołów, $\kappa^{-1}$		Średnia częstotliwość, $\bar{q}$	
<b>Var(<math>\theta_0</math>)</b>	<b>0.455</b>	<b>M(<math>q_0</math>)</b>	<b>0.601</b>
M( $\sigma_\theta$ )	0.430	E( $q_0$ )	0.483
Krt( $\theta_0$ )	0.362	Skw( $C_\theta$ )	0.433
M( $C_\theta$ )	0.336	E( $C_\theta$ )	0.421
Skw( $\theta_0$ )	0.282	E( $\theta_0$ )	0.393
M( $\sigma_q$ )	0.273	E( $\sigma_q$ )	0.383
E( $\theta_0$ )	0.258	M( $\theta_0$ )	0.378
Var( $\sigma_\theta$ )	0.243	E( $\sigma_\theta$ )	0.376
E( $\sigma_\theta$ )	0.199	Krt( $\theta_0$ )	0.364
E( $\sigma_q$ )	0.198	Krt( $C_\theta$ )	0.330

Następnie opracowano klasyfikatory progowe bazujące na rozkładzie prawdopodobieństwa każdego z zaproponowanych parametrów morfometrycznych. Trudno o porównywanie uzyskanych wyników skuteczności klasyfikacji z innymi pracami, gdyż wykorzystują one inne parametry opisujące gruczoły Meiboma oraz różną ich liczbę, a co więcej opierają się na innych metodach klasyfikacji [22, 24].

Mimo uzyskanej wysokiej skuteczności klasyfikacji grupy „zdrowy” i „chory”, wyniki dla kategorii „pośredni” pozostawiają więcej do życzenia. W przypadku analizy globalnej wyniosły zaledwie 46% (Tab.2), zdecydowanie wyższe wyniki uzyskano w analizie lokalnej na poziomie 80% (Tab. 3), lecz również odbiegające od tych, uzyskanych dla pozostałych klas. Należy jednak rozważyć na ile w ogóle możliwe jest uzyskanie pełnej skuteczności klasyfikacji w tym przypadku. Spodziewane jest, że rozkłady gęstości prawdopodobieństwa dla każdej z kategorii będą nakładały się na siebie, co szczególnie dotyczy będzie kategorii „pośredniej” (Rys. 47, 48, 65 i 66). Ponieważ to zakres przekroczenia stanowi miarę niepewności całej procedury, dlatego zwiększenie skuteczności klasyfikacji uzyskać można

poprzez zmniejszenie szerokości rozkładów gęstości prawdopodobieństwa (przy zachowaniu odstępów między nimi) dla wszystkich kategorii. Dokonać tego można poprzez opracowanie właściwej techniki pozyskiwania obrazów (oprzyrządowanie, procedura wywinięcia powieki) w celu uzyskania obrazów jak najwyższej jakości. Oprócz wyeliminowania możliwych artefaktów w uzyskiwanych obrazach należałoby również zadbać o dobór właściwych filtrów graficznych użytych do wstępnej obróbki obrazów. Niezwykle istotny jest również w tym przypadku poprawny podział obrazów na subiektywne kategorie, przeprowadzany przez specjalistów (doświadczenie, powtarzalność oceny tego samego obserwatora).

Tak jak wspomniano powyżej, w przypadku analizy lokalnej, wykorzystanie nadzorowanej metody redukcji wymiarów (metoda LDA) pozwoliło na znaczne zawężenie rozkładów prawdopodobieństwa (Rys. 66), a tym samym na zwiększenie skuteczności klasyfikacji do blisko 80% (Tab. 3), wszystko za sprawą wykorzystania obszernego zestawu parametrów analizy lokalnej.

Mimo zadowalających rezultatów, należy zastanowić się nad ogólną kliniczną użytecznością podziału obrazów na zaledwie 3 kategorie. Ograniczenie kategoryzacji jedynie do trzech klas jest przejawem ludzkiej niezdolności do oceny niewielkich zmian w obrazach meibograficznych, co nie pozwala na ich złożony opis oraz monitorowanie subtelnych progresji morfologicznych. Przedstawiona w pracy obiektywna metoda numeryczna oceny stanu morfologicznego pozbawiona jest tego ograniczenia. Z jej pomocą możliwe jest wprowadzenie skal postępu dysfunkcji z większą ilością klas, bądź użycie skali ciągłej opartej bezpośrednio o wartości liczbowe zdefiniowanych parametrów morfometrycznych. Jednak nawet wówczas, sam fakt dokonania klasyfikacji nie zwiększa wiedzy na temat przyczyn dysfunkcji ani nie sugeruje strategii leczenia. Tę wiedzę pozyskać można jedynie poprzez obiektywną analizę zmian morfologicznych w kontekście szczegółowych badań fizjologicznych i funkcjonalnych gruczołów. Badania nakierowane na poszukiwanie korelacji między tymi cechami powinny w przyszłości ułatwić diagnozę dysfunkcji gruczołów Meiboma prowadząc do nowych i skuteczniejszych metod leczenia zespołu suchego oka. Takich korelacji, choć bardzo pożądaných, trudno odnaleźć w aktualnej literaturze. Po części wiąże się to z niewielką liczbą dostępnych metod obiektywnej parametryzacji stanu morfologicznego gruczołów Meiboma. Główną motywacją powstania niniejszej pracy była zmiana tego stanu rzeczy. W przedstawionej pracy skupiono się głównie na stworzeniu i przetestowaniu nowego algorytmu do obiektywnej analizy obrazów meibograficznych. Z tego względu, oraz z uwagi na

niejednorodną grupę badawczą, nie wykonywano dodatkowych pomiarów stanu przedniego odcinka oka oraz filmu łzowego. Bezpośrednie potwierdzenie klinicznej użyteczności opracowanej metody pozostaje zagadaniem na przyszły dedykowany program badań. W niniejszej pracy przeprowadzona procedura klasyfikacji umożliwiła jedynie pośrednie potwierdzenie użyteczności klinicznej wyznaczanych parametrów morfometrycznych. Uzyskanie znaczącej skuteczności klasyfikacji wskazuje, że wartości zdefiniowanych parametrów morfometrycznych są skorelowane ze zmianami struktury gruczołów, które uwzględnia klinicysta podczas opisu obrazów meibograficznych. Zatem przypuszczać można, że parametry te skorelowane będą również z innymi cechami fizjologicznymi, czynnościowymi lub funkcjonalnymi związanymi z dysfunkcją gruczołów Meiboma.

Badania nad morfologią gruczołów Meiboma cieszą się coraz większym zainteresowaniem, a tym samym zwiększa się również ilość dostępnych urządzeń meibograficznych [6-8, 10-12, 124-125, 131]. Mimo, że wcześniejsze badania pokazały wysoką specyficzną i czułość diagnostyczną w oparciu o wyniki meibografii [29], nadal brakuje standardów oceny uzyskiwanych obrazów meibograficznych. W dotychczas opublikowanych pracach opracowano metody analizy długości, szerokości czy też nieregularności gruczołów [14, 18-19, 21-24, 29, 156]. Niestety nadal brakuje badań potwierdzających uniwersalność danych algorytmów i możliwość skutecznej analizy obrazów gruczołów Meiboma, pozyskiwanych z wykorzystaniem różnych dostępnych urządzeń do meibografii. W celu dokonania dalszych analiz i sprawdzenia, które parametry opisujące morfologię gruczołów Meiboma mają największą wartość diagnostyczną, w pierwszym kroku należałoby opracować uniwersalne algorytmy, cechujące się wysoką powtarzalnością i skutecznością, niezależnie od rodzaju użytego meibografu. W tym kontekście warto również rozważyć stworzenie ogólnodostępnej bazy obrazów meibograficznych pochodzących z możliwie jak największej liczby dostępnych na rynku meibografów i rozszerzonej o dodatkowe parametry powierzchni oka. Pomogłoby to w pełni obiektywnie porównywać skuteczność proponowanych w literaturze algorytmów analizy obrazów oraz wskazać właściwą metodologię badań.

Ponieważ uzyskiwane wyniki mogą mocno zależeć od jakości rejestrowanych obrazów, dlatego w celu poprawy możliwości danej metody analiz należałoby zadbać o opracowanie standardów rejestracji obrazów meibograficznych. Ogromne znaczenie ma również prawidłowe przygotowanie powieki (jej wywiniecie) dla celów obrazowania. W tym przypadku niezwykle istotne jest doświadczenie osoby badającej oraz współpraca osoby badanej.

Własne doświadczenie, nabyte w trakcie projektowania i wykorzystania autorskiego systemu meibograficznego, pozwala stwierdzić, że pozyskanie obrazów gruczołów Meiboma dokonać można relatywnie niskim nakładem pracy i kosztów. Aby zwiększyć ogólną jakość rejestrowanych obrazów meibograficznych należałoby rozważyć użycie lepszej klasy obiektywu, kamery o większej rozdzielczości i większym zakresie dynamicznym oraz zmianę sposobu oświetlenia gruczołów. Zmiany te zapewniłyby rejestrację jednorodnego i odpowiednio szczegółowego obrazu o dużym kontraście (różnicy jasności między obszarami z gruczołami a obszarami między gruczołami). Ta ostatnia cecha jest kluczowa dla poprawnego przeprowadzenia automatycznej segmentacji obrazów (binaryzacji), czyli punktu wyjścia do prowadzenia przedstawionych w pracy analizy obrazów meibograficznych. W celu dalszego zwiększenia kontrastu rejestrowanego obrazu można przeprowadzić badania spektroskopowe obszaru gruczołów (pomiar widm absorpcji) w celu doboru optymalnego zakresu długości fal oświetlenia i detekcji [174]. Dodatkowo, wykorzystanie wielokierunkowego oświetlenia pozwoliłoby zredukować efekt odbicia lustrzanego od wypukłej powierzchni powieki zapewniając jednorodne pole widzenia bez zbędnych artefaktów.

Opisana w pracy metoda opisu stanu morfologicznego gruczołów Meiboma bazuje na obrazach zawierających jedynie interesujący obszar powieki. W niniejszej pracy wskazanie odpowiedniego obszaru powieki odbywało się ręcznie (subiektywnie), wykorzystując w tym celu oprogramowanie *ImageJ*, powszechnie stosowane we wcześniejszych półobiektywnych metodach analiz morfologii gruczołów Meiboma [20, 14, 22]. Z pewnością prezentowana metoda powinna zostać ulepszona o możliwość obiektywnego wyznaczenia obszaru powieki. Kilka opublikowanych do tej pory prac przedstawia możliwe sposoby automatyzacji tego kroku [24-26]. Uzupełnienie stworzonej w pracy metody o taką możliwość nie tylko w sposób znaczący skróciłoby czas analizy obrazów, ale eliminując wkład osoby badającej uczyniłaby całą procedurę w pełni obiektywną i automatyczną. Należy również zwrócić uwagę, że w przeprowadzonych analizach skoncentrowano się jedynie na analizie gruczołów Meiboma zlokalizowanych w powiece górnej. Badania sugerują jednak, że właściwa ocena stanu morfologicznego powinna uwzględniać badanie obu powiek [18, 20, 49, 73, 157, 175]. Tak więc, kolejne badania powinny sprawdzić skuteczność opracowanej metody w analizie gruczołów Meiboma zlokalizowanych w powiece dolnej.

Opracowana w ramach prezentowanej pracy metoda analizy obrazów meibograficznych umożliwiła przestrzenną lokalizację zmian w morfologii gruczołów.

Pożądanym rozwinięciem tej metody byłoby dodatkowe umożliwienie monitorowania czasowych zmian morfologii gruczołów Meiboma. Informacja taka mogłaby być wykorzystana w celu oceny progresji dysfunkcji gruczołów Meiboma oraz skuteczności wybranej procedury terapeutycznej. Podejście takie było do tej pory skutecznie ograniczone poprzez brak wydajnych metod ilościowego i automatycznego szacowania zmian morfologicznych gruczołów Meiboma. Przystosowanie opracowanej w pracy metody do wykonywania czasowo-przestrzennych badań morfologicznych wymagać będzie rozwiązania kilku dodatkowych problemów. Aby zapewnić możliwie wysoką wiarygodność uzyskiwanych wyników, zadbać należy aby w obrazach rejestrowanych w różnych odstępach czasu analizować dokładnie taki sam obszar powieki. Ważna jest tutaj powtarzalność procedury wywinięcia powiek (uwarunkowane w dużej mierze doświadczeniem specjalisty) oraz powtarzalność procedury obrazowania (stosowanie takich samych warunków oświetlenia powieki i ekspozycji obrazu). Wyzwaniem będzie sytuacja gdy pacjent wykonuje badania w różnych gabinetach: przez różnych specjalistów obsługujących różne układy meibograficzne. Należałoby zatem stworzyć system automatycznie rozpoznający i normalizujący obrazy pozyskane z różnych sesji pomiarowych.

Pomocne w rozwiązaniu wyżej omówionych problemów może być wykorzystanie metod sztucznej inteligencji, zyskujących coraz większe znaczenie w diagnostyce okulistycznej [134-141]. W badaniach tych stosuje się przede wszystkim narzędzie jednego z obszarów sztucznej inteligencji, mianowicie tzw. głębokiego uczenia maszynowego (*ang. deep-learning*). Najnowsze badania skupiają się na zastosowaniu tych metod w diagnostyce choroby suchego oka, a coraz więcej prac dotyczy samej meibografii [33-36, 141-143]. Bez wątpienia, wyniki wstępnych badań w tym obszarze są bardzo obiecujące. Również tutaj wymagane jest opracowanie uniwersalnych schematów metodologii i standaryzacji procedur. Przykładowo, część badań wykorzystuje wcześniej przetworzone obrazy, podczas gdy w pozostałej części dostępnych prac posłużono się bezpośrednio uzyskanymi danymi. Również w tym przypadku należałoby zwrócić uwagę na dobór odpowiedniej ilości zgromadzonych danych meibograficznych oraz testować wybrane algorytmy na ogólnie dostępnych obrazach pochodzących z różnych urzędzeń, czy też z różnych ośrodków badawczych. Nie ulega jednak wątpliwości, że zastosowanie procedur uczenia maszynowego w diagnostyce choroby suchego oka oraz dysfunkcji gruczołów Meiboma stanowi obiecujące rozwiązanie na przyszłość. Połączenie automatycznej i obiektywnej

analizy morfologii gruczołów Meiboma z parametrami klinicznymi wydaje się być jedynym kierunkiem prowadzącym do stworzenia wiarygodnego narzędzia diagnostycznego.

Podsumowując, obserwowany dynamiczny wzrost obecności metod numerycznych w wielu zagadnieniach diagnostyki medycznej pokazuje, że działania prowadzone w ramach niniejszej pracy wpisują się w aktualny nurt badań. Zaawansowane narzędzia numeryczne czy też metody tzw. sztucznej inteligencji wydają się być już stałym „wyposażeniem” specjalistycznych gabinetów diagnostycznych. Należy jednak pamiętać, że nowoczesne narzędzia komputerowe wciąż są tylko wsparciem dla klinicysty, którego doświadczenia w bezpośrednim kontakcie z pacjentem nie zastąpi żaden algorytm komputerowy.

## ***7. Podsumowanie***

Wraz z zyskującym coraz większe znaczenie diagnostycznym badaniem meibograficznym, pojawia się potrzeba ustalenia standardów analizy pozyskiwanych obrazów. Stąd też, w ostatnich latach obserwuje się znaczący rozwój metod umożliwiających ilościowy opis morfologii gruczołów Meiboma. Również w niniejszej pracy doktorskiej postanowiono zająć się tym problemem, wykorzystując w tym celu nowatorską metodę pozwalającą na obiektywną ilościową ocenę poziomu deformacji struktur gruczołów Meiboma na poziomie globalnym oraz lokalnym. Najważniejsze wyniki pracy zestawiono poniżej.

### **• Budowa meibografu**

W ramach przedstawionej pracy zaprojektowano, zbudowano i wykorzystano własne oprzyrządowanie umożliwiające rejestrację obrazów meibograficznych. Urządzenie składające się ze źródła światła podczerwonego, filtra podczerwieni oraz kamery połączonej z oprogramowaniem do zapisu i analiz uzyskiwanych zdjęć stanowiło moduł montowany na konwencjonalnej lampie szczelinowej. Wykonanie procedury rejestracji obrazu było szybkie i bezkontaktowe. Uzyskane obrazy meibograficzne cechowały się dobrą jakością, umożliwiającą przeprowadzenie dalszych zaawansowanych analiz.

Poprzez łatwość adaptacji użytego systemu obrazowania do standardowego wyposażenia gabinetu optometrycznego/okulistycznego oraz dzięki znacznej redukcji kosztów urządzenia, badanie meibograficzne mogłoby zostać włączone do standardowej procedury diagnostycznej w kierunku choroby suchego oka oraz dysfunkcji gruczołów Meiboma.

### **• Analiza gruczołów Meiboma na poziomie globalnym**

Bazując na obserwacji, że wraz z postępem dysfunkcji gruczołów Meiboma zaburzeniu ulega ich regularne, jednokierunkowe ułożenie (struktura pasków) oraz że częstotliwość pojawiania się gruczołów na danym obszarze (ilość gruczołów na danym obszarze) jest największa dla grupy obrazów klasyfikowanych jako „zdrowe”, do analizy obrazów meibograficznych wykorzystano dyskretną dwuwymiarową transformatę Fouriera.

Prowadzona analiza nie koncentrowała się na zachowaniu pojedynczych gruczołów, ani nie uwzględniała któregoś miejsca powieki zniekształcenie dotyczy. Przeciwnie, z wykorzystaniem tej techniki sparametryzowano wielkość zniekształcenia wszystkich

gruczołów Meiboma w obrębie analizowanej powieki. Zaproponowano dwa parametry opisujące morfologię gruczołów Meiboma, tj.: **średnią częstotliwość gruczołów Meiboma  $\bar{q}$  oraz anizotropię kierunku gruczołów Meiboma  $\kappa^{-1}$** . Otrzymane wartości liczbowe zdefiniowanych parametrów morfologicznych pozwoliły określić zachowanie całościowej (globalnej) struktury gruczołów. Wartość parametru  $\bar{q}$  powiązana jest ze średnią szerokością struktury gruczołów Meiboma. Z kolei parametr  $\kappa^{-1}$  informuje o zaburzeniu jednokierunkowego ułożenia gruczołów Meiboma, wskazując na występowanie ich zniekształceń i krętości.

Analiza statystyczna wykazała statystycznie istotne różnice dla obu parametrów pomiędzy trzema subiektywnymi kategoriami obrazów meibograficznych, tj.: „zdrowy”, „pośredni”, „chory”.

Należy zwrócić uwagę, że uzyskane w pracy parametry informują o zmianach w morfologii gruczołów Meiboma na poziomie globalnym, tj. wszystkich gruczołów na obszarze analizowanej powieki.

#### ● **Analiza gruczołów Meiboma na poziomie lokalnym**

Biorąc pod uwagę fakt, że zmiany morfologii gruczołów na różnych etapach ich dysfunkcji mogą różnić się dla poszczególnych obszarów powieki, tj. nosowym, centralnym oraz skroniowym oraz częściach dystalnych, centralnych oraz tuż przy brzegach powiek, drugi etap badań dotyczył opracowania metody analizy obrazów gruczołów Meiboma na poziomie lokalnym, czyli z uwzględnieniem przestrzennej pozycji zniekształcenia. W tym celu jako podstawowe narzędzie numeryczne wykorzystano dwuwymiarową krótkoczasową transformatę Fouriera. Z jej użyciem dla każdego pojedynczego obrazu meibograficznego wyznaczono sześć map prezentujących przestrzenny rozkład ściśle zdefiniowanego parametru morfometrycznego, tj. **obraz średniej częstotliwości gruczołów  $q_0$ , obraz szerokości rozkładu częstotliwości  $\sigma_q$ , obraz gradientu częstotliwości  $G_q$ , obraz kierunku gruczołów  $\theta_0$ , obraz szerokości rozkładu kierunku  $\sigma_\theta$ , obraz niespójności kątowej  $C_\theta$** . Nie ulega wątpliwości, że postępowanie to dostarcza zdecydowanie więcej informacji w porównaniu z analizą globalną.

Zauważono, że w przypadku obrazów prezentujących niezaburzone „zdrowe” struktury gruczołów Meiboma, zaproponowane parametry ilościowego opisu przyjmują niskie wartości, a ich przestrzenne reprezentacje pozostają jednorodne. Wraz z postępem dysfunkcji gruczołów Meiboma wartości poszczególnych parametrów będą wzrastały, a ich



mapy będą stawały się mniej jednorodne. Wyznaczając rozkłady wartości pikseli dla każdej z map i dla każdej z kategorii obrazów, a następnie charakteryzując każdy z rozkładów poprzez *Entropię, Średnią, Wariancję, Skośność oraz Kurtozę*, wyznaczono łącznie 30 parametrów opisujących każdy z obrazów gruczołów Meiboma.

Na dalszych etapach prac możliwa była szczegółowa analiza każdej z zaproponowanych map parametrów morfologicznych poprzez generowanie kolejnych oraz wyznaczanie obiektywnych parametrów opisujących dane mapy. Analiza obrazów meibograficznych nie powinna opierać się na analizie jedynie jednego pojedynczego parametru, należałoby znaleźć zestaw takich parametrów oraz wykazać ich użyteczność kliniczną.

### ● **Automatyczna klasyfikacja uzyskanych obrazów**

Analiza użyteczności klinicznej wyznaczonych parametrów poprzez znalezienie korelacji opisanych cech morfologicznych z parametrami powierzchni oka oraz filmu łzowego nie stanowiła zagadnienia prezentowanej pracy. Jednak postanowiono sprawdzić czy uzyskane parametry mogłyby być wykorzystane w automatycznej klasyfikacji uzyskanych obrazów meibograficznych.

Wykorzystując parametry opisujące globalne zmiany w morfologii gruczołów Meiboma przeprowadzono automatyczną klasyfikację danych na trzy subiektywne kategorie, tj. „zdrowy”, „pośredni”, „chory” z wykorzystaniem analizy głównych składowych, PCA. Efektywność klasyfikacji dla obrazów „zdrowych” wynosiła 88%, w przypadku klasy „chory” uzyskano skuteczność na poziomie 83%, natomiast dla kategorii „pośredniej” skuteczność klasyfikacji wyniosła 46%.

Automatyczna klasyfikacja danych na trzy subiektywne kategorie, tj. „zdrowy”, „pośredni”, „chory” wykorzystująca parametry opisujące lokalne zmiany w morfologii gruczołów Meiboma z wykorzystaniem analizy głównych składowych, PCA oraz liniowej analizy dyskryminacyjnej, LDA osiągnęła wysoką efektywność klasyfikacji oraz poprawę w klasyfikacji dla grupy „pośredniej”. Zauważono, że zwiększając liczbę parametrów wejściowych uzyskuje się wyższą skuteczność klasyfikacji dla algorytmu LDA, szczególnie dla klasyfikacji klasy „pośredniej”. Nie odnotowano podobnej zależności dla algorytmu PCA. Można twierdzić, że uzyskane wyniki efektywności klasyfikacji potwierdzają w sposób pośredni kliniczną użyteczność opracowanych metod. Wykazano bowiem, że obiektywnie i automatycznie oszacowane cechy morfometryczne korelują z decyzją podjętą przez wyspecjalizowanego optometrystę.

## 8. Bibliografia

- [1] Knop, E., Knop, N., Millar, T., Obata, H., & Sullivan, D. A. (2011). The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(4).
- [2] Nelson, J. D., Shimazaki, J., Benitez-del-Castillo, J. M., Craig, J. P., McCulley, J. P., Den, S., & Foulks, G. N. (2011). The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the definition and classification subcommittee. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(4).
- [3] Craig, J.P., Nichols, K. K., Akpek, E. K., Caffery, B., Dua, H. S., Joo, C. K., ... & Stapleton, F. (2017). TFOS DEWS II definition and classification report. *The Ocular Surface*, 15(4).
- [4] Craig, J. P., Nelson, J. D., Azar, D. T., Belmonte, C., Bron, A. J., Chauhan, S. K., ... & Sullivan, D. A. (2017). TFOS DEWS II report executive summary. *The Ocular Surface*, 15(4).
- [5] Wolffsohn, J. S., Arita, R., Chalmers, R., Djalilian, A., Dogru, M., Dumbleton, K., ... & Craig, J. P. (2017). TFOS DEWS II diagnostic methodology report. *The Ocular Surface*, 15(3).
- [6] Arita, R., Itoh, K., Inoue, K., & Amano, S. (2008). Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population. *Ophthalmology*, 115(5).
- [7] Park, J., Kim, J., & Baek, S. (2019). Clinical features and treatment outcomes of patients with tearing after chemotherapy. *Eye*, 33(5).
- [8] Park, J., Kim, J., Lee, H., Park, M., & Baek, S. (2018). Functional and structural evaluation of the meibomian gland using a LipiView interferometer in thyroid eye disease. *Canadian Journal of Ophthalmology*, 53(4).
- [9] Elder, M., & Srinivasan, S. (2018). Meibography: an overview. *Optician*, 2018(1).
- [10] Srinivasan, S., Menzies, K., Sorbara, L., & Jones, L. (2012). Infrared imaging of meibomian gland structure using a novel keratograph. *Optometry and Vision Science*, 89(5).
- [11] Wong, S., Srinivasan, S., Murphy, P. J., & Jones, L. (2019). Comparison of meibomian gland dropout using two infrared imaging devices. *Contact Lens and Anterior Eye*, 42(3).
- [12] Vigo, L., Taroni, L., Bernabei, F., Pellegrini, M., Sebastiani, S., Mercanti, A., ... & Giannaccare, G. (2019). Ocular Surface Workup in Patients with Meibomian Gland Dysfunction Treated with Intense Regulated Pulsed Light. *Diagnostics*, 9(4).
- [13] Pflugfelder, S.C., Tseng, S. C., Sanabria, O., Kell, H., Garcia, C. G., Felix, C., ... & Reis, B. L. (1998). Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea*, 17, 8–56.
- [14] Pult, H., & Riede-Pult, B. (2013). Comparison of subjective grading and objective assessment in meibography. *Contact Lens and Anterior Eye*, 36(1), 22-27.
- [15] Pult, H. (2018). Relationships between Meibomian gland loss and age, sex, and dry eye. *Eye & contact lens*, 44.
- [16] Nichols, J.J., Berntsen, D. A., Mitchell, G. L., & Nichols, K. K. (2005) An assessment of grading scales for meibography images. *Cornea* 24, 382–8.
- [17] Arita, R., Fukuoka, S., & Morishige, N. (2017). Meibomian gland dysfunction and contact lens discomfort. *Eye & Contact Lens*, 43(1), 17-22.

- [18] Pult, H., & Riede-Pult B.H. (2012). Relation between upper and lower lids' meibomian gland morphology, tear film, and dry eye. *Optometry and Vision Science*, 89: 310–315.
- [19] Ban, Y., Shimazaki-Den, S., Tsubota, K., & Shimazaki, J. (2013). Morphological evaluation of meibomian glands using noncontact infrared meibography. *The Ocular Surface*, 11(1), 47-53.
- [20] Xiao, J., Adil, M. Y., Olafsson, J., Chen, X., Utheim, Ø. A., Ræder, S., ... & Utheim, T. P. (2019). Diagnostic test efficacy of meibomian gland morphology and function, *Scientific Reports* 9(1),1-8.
- [21] Zhao, Y., Chen, S., Wang, S., Chen, Y., Li, J., Fu, Y., ... & Zhao, Y. (2018). The significance of meibomian gland changes in asymptomatic children. *The Ocular Surface*, 16(3).
- [22] Koh, Y. W., Celik, T., Lee, H. K., Petznick, A., & Tong, L. H. (2012). Detection of meibomian glands and classification of meibography images. *Journal of Biomedical Optics*, 17(8), 086008.
- [23] Llorens-Quintana, C., Rico-del-Viejo, L., Syga, P., Madrid-Costa, D., & Iskander, D. R. (2019). A novel automated approach for infrared-based assessment of meibomian gland morphology. *Translational Vision Science & Technology*, 8(4), 17.
- [24] Celik, T., Lee, H. K., Petznick, A., & Tong, L. (2013). Bioimage informatics approach to automated meibomian gland analysis in infrared images of meibography. *Journal of Optometry*, 6(4), 194-204.
- [25] Llorens-Quintana, C., Rico-del-Viejo, L., Syga, P., Madrid-Costa, D., & Iskander, D. R. (2019). Meibomian gland morphology: the influence of structural variations on gland function and ocular surface parameters. *Cornea*, 38(12), 1506-1512.
- [26] Arita, R., Suehiro, J., Haraguchi, T., Shirakawa, R., Tokoro, H., & Amano, S. (2014). Objective image analysis of the meibomian gland area. *British Journal of Ophthalmology*, 98(6), 746-755.
- [27] Koprowski, R., Tian, L., & Olczyk, P. (2017). A clinical utility assessment of the automatic measurement method of the quality of Meibomian glands. *Biomedical engineering online*, 16(1), 1-13.
- [28] Koprowski, R., Wilczyński, S., Olczyk, P., Nowińska, A., Węglarz, B., & Wylęgała, E. (2016). A quantitative method for assessing the quality of meibomian glands. *Computers in biology and medicine*, 75, 130-138.
- [29] Adil, M. Y., Xiao, J., Olafsson, J., Chen, X., Lagali, N. S., Ræder, S., ... & Utheim, T. P. (2019). Meibomian gland morphology is a sensitive early indicator of meibomian gland dysfunction. *American Journal of Ophthalmology*, 200, 16-25.
- [30] Lin, X., Fu, Y., Li, L., Chen, C., Chen, X., Mao, Y., ... & Dai, Q. (2020). A novel quantitative index of meibomian gland dysfunction, the meibomian gland tortuosity. *Translational Vision Science & Technology*, 9(9).
- [31] Villani, E., Marelli, L., Dellavalle, A., Serafino, M., & Nucci, P. (2020). Latest evidences on meibomian gland dysfunction diagnosis and management. *The Ocular Surface*, 18(4), 871-892.
- [32] Andrews, J. D., O'Dell, L., Halleran, C., Schwartz, S., & Hom, M. M. (2020). Evaluation of meibography images should consider regional assessment to meibomian gland structural characteristics as well as global grading scales. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 61(7), 2633.

- [33] Maruoka, S., Tabuchi, H., Nagasato, D., Masumoto, H., Chikama, T., Kawai, A., & Katakami, C. (2020). Deep neural network-based method for detecting obstructive meibomian gland dysfunction with in vivo laser confocal microscopy. *Cornea*, 39(6), 720-725.
- [34] Yeh, C. H., Stella, X. Y., & Lin, M. C. (2021). Meibography phenotyping and classification from unsupervised discriminative feature learning. *Translational Vision Science & Technology*, 10(2), 4.
- [35] Prabhu, S. M., Chakiat, A., Shashank, S., Vunnava, K. P., & Shetty, R. (2020). Deep learning segmentation and quantification of Meibomian glands. *Biomedical signal processing and control*, 57, 101776.
- [36] Khan, Z. K., Umar, A. I., Shirazi, S. H., Rasheed, A., Qadir, A., & Gul, S. (2021). Image based analysis of meibomian gland dysfunction using conditional generative adversarial neural network. *BMJ open ophthalmology*, 6(1), e000436.
- [37] Meibom, H. (1992). *De Vasis Palpebrarum Novis Epistolae Helmestadi: Typis & Sumptibus. Helmstadt, Germany: Henningi Mulleri, 1666.*
- [38] Duke-Elder, S. (1961). The anatomy of the visual system. *A System of Ophthalmology*, 2.
- [39] Knop, E., Knop, N., & Tiffany, J. M. (2000). Anatomical and developmental background of the meibomian gland. *Proceedings of the Meibom. Workshop, Boca Raton, Fl, The Meibomian Glands and their Secretion.*
- [40] Knop, N., & Knop, E. (2009). Meibomian glands. Part I: anatomy, embryology and histology of the Meibomian glands. *Der Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 106(10).
- [41] Foulks, G. N., & Bron, A. J. (2003). Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *The Ocular Surface*, 1(3).
- [42] Nicolaidis, N., Kaitaranta, J. K., Rawdah, T. N., Macy, J. I., Boswell, F. M., & Smith, R. E. (1981). Meibomian gland studies: comparison of steer and human lipids. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 20(4).
- [43] Olami, Y., Zajicek, G., Cogan, M., Gnessin, H., & Pe'er, J. (2001). Turnover and migration of meibomian gland cells in rats' eyelids. *Ophthalmic Research*, 33(3).
- [44] Kozak, I., Bron, A. J., Kucharova, K., Kluchova, D., Marsala, M., Heichel, C. W., & Tiffany, J. M. (2007). Morphologic and volumetric studies of the meibomian glands in elderly human eyelids. *Cornea*, 26(5).
- [45] Bron, A. J. (1997). *Wolff's Anatomy of the Eye and Orbit*. London: Chapman & Hall Medical.
- [46] Greiner, J. V., Glonek, T., Korb, D. R., Whalen, A. C., Hebert, E., Hearn, S. L., ... & Leahy, C. D. (1998). Volume of the human and rabbit meibomian gland system. *In Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes 2. Springer, Boston, MA.*
- [47] Knop, E., Knop, N., & Schirra, F. (2009). Meibomian glands. Part II: physiology, characteristics, distribution and function of meibomian oil. *Der Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 106(10).
- [48] Linton, R. G., Curnow, D. H., & Riley, W. J. (1961). The meibomian glands: an investigation into the secretion and some aspects of the physiology. *The British Journal of Ophthalmology*, 45(11).
- [49] Korb, D. R., & Blackie, C. A. (2008). Meibomian gland diagnostic expressibility: correlation with dry eye symptoms and gland location. *Cornea*, 27(10).

- [51] Korb, D. R., Blackie, C. A., Paul, L. E., & Solomon, J. D. (2008). Distribution of Meibomian Glands Yielding Liquid Secretion by Section of the Lower Lid. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 49(13).
- [52] Norn, M. (1985). Meibomian orifices and Marx's line studied by triple vital staining. *Acta Ophthalmologica*, 63(6).
- [53] Blackie, C. A., & Korb, D. R. (2009). Recovery time of an optimally secreting meibomian gland. *Cornea*, 28(3).
- [54] Blackie, C. A., & Korb, D. R. (2010). The diurnal secretory characteristics of individual meibomian glands. *Cornea*, 29(1).
- [55] Schirra, F., Suzuki, T., Richards, S. M., Jensen, R. V., Liu, M., Lombardi, M. J., ... & Sullivan, D. A. (2005). Androgen control of gene expression in the mouse meibomian gland. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 46(10).
- [56] Yamagami, H., Schirra, F., Liu, M., Richards, S. M., Sullivan, B. D., & Sullivan, D. A. (2002). Androgen influence on gene expression in the meibomian gland. In *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes 3*. Springer, Boston, MA., 477-481.
- [57] Schirra, F., Richards, S. M., & Sullivan, D. A. (2007). Androgen influence on cholesterologenic enzyme mRNA levels in the mouse meibomian gland. *Current Eye Research*, 32(5).
- [58] Sullivan, D. A., Jensen, R. V., Suzuki, T., & Richards, S. M. (2009). Do sex steroids exert sex-specific and/or opposite effects on gene expression in lacrimal and meibomian glands? *Molecular vision*, 15.
- [59] Azzi, L., El-Alfy, M., & Labrie, F. (2006). Gender differences and effects of sex steroids and dehydroepiandrosterone on androgen and oestrogen  $\alpha$  receptors in mouse sebaceous glands. *British Journal of Dermatology*, 154(1).
- [60] Schaumberg, D. A., Buring, J. E., Sullivan, D. A., & Dana, M. R. (2011). Hormone replacement therapy and dry eye syndrome. *Jama*, 286(17).
- [61] Suzuki, T., Schirra, F., Richards, S. M., Jensen, R. V., & Sullivan, D. A. (2008). Estrogen and progesterone control of gene expression in the mouse meibomian gland. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 49(5).
- [62] Wickham, L. A., Gao, J., Toda, I., Rocha, E. M., Ono, M., & Sullivan, D. A. (2010). Identification of androgen, estrogen and progesterone receptor mRNAs in the eye. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 78(2).
- [63] Sullivan, D. A., Rocha, E. M., Aragona, P., Clayton, J. A., Ding, J., Golebiowski, B., ... & Willcox, M. D. (2017). TFOS DEWS II sex, gender, and hormones report. *The Ocular Surface*, 15(3).
- [64] Samarawickrama, C., Chew, S., & Watson, S. (2015). Retinoic acid and the ocular surface. *Survey of ophthalmology*, 60(3).
- [65] Ding, J., Kam, W. R., Dieckow, J., & Sullivan, D. A. (2013). The influence of 13-cis retinoic acid on human meibomian gland epithelial cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 54(6).
- [66] Ubels, J. L., Veenstra, E., Ditlev, J., & Ingersoll, K. (2003). Interactions of testosterone and all-trans retinoic acid in regulation of androgen receptor expression in rat lacrimal gland. *Experimental Eye Research*, 77(6).
- [67] Jester, J. V., Parfitt, G. J., & Brown, D. J. (2015). Meibomian gland dysfunction: hyperkeratinization or atrophy? In *BMC ophthalmology (Vol. 15, No. 1)* BioMed Central.

- [68] Jester, J. V., Nicolaides, N., Kiss-Palvolgyi, I., & Smith, R. E. (1989). Meibomian gland dysfunction. II. The role of keratinization in a rabbit model of MGD. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 30(5).
- [69] Perra, M. T., Serra, A., Sirigu, P., & Turno, F. (1996). Histochemical demonstration of acetylcholinesterase activity in human Meibomian glands. *European Journal of Histochemistry: EJH*, 40(1).
- [70] Seifert, P., & Spitznas, M. (1996). Immunocytochemical and ultrastructural evaluation of the distribution of nervous tissue and neuropeptides in the meibomian gland. *Graefe's archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 234(10).
- [71] Brown, S. H., Kunnen, C. M., Papas, E. B., de la Jara, P. L., Willcox, M. D., Blanksby, S. J., & Mitchell, T. W. (2016). Intersubject and interday variability in human tear and meibum lipidomes: a pilot study. *The Ocular Surface*, 14(1).
- [72] Butovich, I. A. (2009). Lipidomic Analysis of Human Meibum Using HPLC–MS n. *Lipidomics Humana Press, Totowa, NJ*.
- [73] Bron, A. J., de Paiva, C. S., Chauhan, S. K., Bonini, S., Gabison, E. E., Jain, S., ... & Sullivan, D. A. (2017). TFOS DEWS II pathophysiology report. *The Ocular Surface*, 15(3).
- [74] Brown, S. H., Kunnen, C. M., Duchoslav, E., Dolla, N. K., Kelso, M. J., Papas, E. B., ... & Mitchell, T. W. (2013). A comparison of patient matched meibum and tear lipidomes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 54(12).
- [75] Butovich, I. A. (2013). Tear film lipids. *Experimental Eye Research*, 117.
- [76] Willcox, M. D., Argüeso, P., Georgiev, G. A., Holopainen, J. M., Laurie, G. W., Millar, T. J., ... & Jones, L. (2017). TFOS DEWS II tear film report. *The Ocular Surface* 15(3).
- [77] Schuett, B. S., & Millar, T. J. (2013). An investigation of the likely role of (O-acyl) ω-hydroxy fatty acids in meibomian lipid films using (O-oleyl) ω-hydroxy palmitic acid as a model. *Experimental Eye Research*, 115.
- [78] Lam, S. M., Tong, L., Reux, B., Duan, X., Petznick, A., Yong, S. S., ... & Shui, G. (2014). Lipidomic analysis of human tear fluid reveals structure-specific lipid alterations in dry eye syndrome. *Journal of Lipid Research*, 55(2).
- [79] Lam, S. M., Tong, L., Yong, S. S., Li, B., Chaurasia, S. S., Shui, G., & Wenk, M. R. (2011). Meibum lipid composition in Asians with dry eye disease. *PLoS one*, 6(10).
- [80] Borchman, D., Yappert, M. C., & Foulks, G. N. (2010). Changes in human meibum lipid with meibomian gland dysfunction using principal component analysis. *Experimental Eye Research*, 91(2).
- [81] Borchman, D., Foulks, G. N., Yappert, M. C., Bell, J., Wells, E., Neravetla, S., & Greenstone, V. (2011). Human meibum lipid conformation and thermodynamic changes with meibomian-gland dysfunction. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(6).
- [82] Borchman, D., Foulks, G. N., Yappert, M. C., & Ho, D. V. (2007). Temperature-induced conformational changes in human tearlipids hydrocarbon chains. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 87(2-3).
- [83] Tiffany, J. M. (1981). Normal and abnormal functions of meibomian gland secretions. *In Royal Society of Medicine International Congress and Symposium Series (Vol. 40)*.
- [84] Leiske, D. L., Raju, S. R., Ketelson, H. A., Millar, T. J., & Fuller, G. G. (2010). The interfacial viscoelastic properties and structures of human and animal Meibomian lipids. *Experimental Eye Research*, 90(5).

- [85] Nichols, K. K., Foulks, G. N., Bron, A. J., Glasgow, B. J., Dogru, M., Tsubota, K., ... & Sullivan, D. A. (2011). The international workshop on meibomian gland dysfunction: executive summary. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(4).
- [86] Mikita, A. (2017). Dysfunkcja gruczołów Meiboma–wyzwania diagnostyczne i terapeutyczne. *OphthaTherapy*, 4(1).
- [87] Korb, D. R., & Henriquez, A. S. (1980). Meibomian gland dysfunction and contact lens intolerance. *Journal of the American Optometric Association*, 51(3).
- [88] Henriquez, A. S., & Korb, D. R. (1981). Meibomian glands and contact lens wear. *British Journal of Ophthalmology*, 65(2).
- [89] Jung, J. W., Park, S. Y., Kim, J. S., Kim, E. K., & Seo, K. Y. (2016). Analysis of factors associated with the tear film lipid layer thickness in normal eyes and patients with dry eye syndrome. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 57(10).
- [90] Foulks, G. N., & Bron, A. J. (2003). Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *The Ocular Surface*, 1(3).
- [91] Bron, A. J., Tiffany, J. M., Gouveia, S. M., Yokoi, N., & Voon, L. W. (2004). Functional aspects of the tear film lipid layer. *Experimental Eye Research*, 78(3).
- [92] Bron, A. J., & Tiffany, J. M. (2004). The contribution of meibomian disease to dry eye. *The Ocular Surface*, 2(2).
- [93] Butovich, I. A., Lu, H., McMahon, A., Ketelson, H., Senchyna, M., Meadows, D., ... & Linsenbardt, E. (2014). Biophysical and morphological evaluation of human normal and dry eye meibum using hot stage polarized light microscopy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 55(1).
- [94] Robin, J. B., Jester, J. V., Nobe, J., Nicolaidis, N., & Smith, R. E. (1985). In vivo transillumination biomicroscopy and photography of meibomian gland dysfunction: a clinical study. *Ophthalmology*, 92(10).
- [95] Lemp, M. A., & Foulks, G. N. (2007). The definition and classification of dry eye disease. *The Ocular Surface*, 5(2).
- [96] King-Smith, P. E., Hinel, E. A., & Nichols, J. J. (2010). Application of a novel interferometric method to investigate the relation between lipid layer thickness and tear film thinning. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 51(5).
- [97] King-Smith, E, Fink, B., Hill, R., & Tiffany, J. (2004). The thickness of the tear film. *Current Eye Research*. 29(4-5).
- [98] Chen, Q., Wang, J., Tao, A., Shen, M., Jiao, S., & Lu, F. (2010). Ultrahigh-resolution measurement by optical coherence tomography of dynamic tear film changes on contact lenses. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 51(4).
- [99] Coullerez, G., Gorodyska, G., Reimhult, E., Textor, M., Grandin, H. M., Knoll, W., & Advincula, R. C. (2011). Self-assembled multifunctional polymers for biointerfaces. *Functional Polymer Films*.
- [100] Schiffman, R. M., Christianson, M. D., Jacobsen, G., Hirsch, J. D., & Reis, B. L. (2010). Reliability and validity of the ocular surface disease index. *Archives of Ophthalmology*, 118(5).
- [101] Chalmers, R. L., Begley, C. G., & Caffery, B. (2010). Validation of the 5-Item Dry Eye Questionnaire (DEQ-5): Discrimination across self-assessed severity and aqueous tear deficient dry eye diagnoses. *Contact Lens and Anterior Eye*, 33(2).

- [102] Stapleton, F., Alves, M., Bunya, V. Y., Jalbert, I., Lekhanont, K., Malet, F., ... & Jones, L. (2017). TFOS DEWS II epidemiology report. *The Ocular Surface*, 15(3).
- [103] Mengher, L. S., Bron, A. J., Tonge, S. R., & Gilbert, D. J. (1985). A non-invasive instrument for clinical assessment of the pre-corneal tear film stability. *Current eye research*, 4(1).
- [104] Hong, J., Sun, X., Wei, A., Cui, X., Li, Y., Qian, T., ... & Xu, J. (2013). Assessment of tear film stability in dry eye with a newly developed keratograph. *Cornea*, 32(5), 716-721.
- [105] Craig, J. P., & Downie, L. E. (2019). Tears and Contact Lenses. *Contact Lenses*, 97-116.
- [106] Fodor, E., Hagyo, K., Resch, M., Somodi, D., & Németh, J. (2010). Comparison of Tearscope-plus versus slit lamp measurements of inferior tear meniscus height in normal individuals. *European Journal of Ophthalmology*, 20(5).
- [107] Ibrahim, O. M., Dogru, M., Takano, Y., Satake, Y., Wakamatsu, T. H., Fukagawa, K., ... & Fujishima, H. (2010). Application of visante optical coherence tomography tear meniscus height measurement in the diagnosis of dry eye disease. *Ophthalmology*, 117(10).
- [108] Chun, Y. S., & Park, I. K. (2014). Reliability of 4 clinical grading systems for corneal staining. *American Journal of Ophthalmology*, 157(5).
- [109] Dundas, M., Walker, A., & Woods, R. L. (2001). Clinical grading of corneal staining of non-contact lens wearers. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 21(1).
- [110] Efron, N. (2010). Efron grading scales for contact lens complications. *Contact Lens Practice*, 2nd ed. Oxford, Butterworth-Heinemann-Elsevier.
- [111] Németh, J., Fodor, E., Lang, Z., Kosina-Hagyó, K., Berta, A., Komár, T., ... & Hlavackova, K. (2012). Lid-parallel conjunctival folds (LIPCOF) and dry eye: a multicentre study. *British Journal of Ophthalmology*, 96(11).
- [112] Witcher, J. P., Shiboski, C. H., Shiboski, S. C., Heidenreich, A. M., Kitagawa, K., Zhang, S., ... & Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance Research Groups. (2010). A simplified quantitative method for assessing keratoconjunctivitis sicca from the Sjögren's Syndrome International Registry. *American Journal of Ophthalmology*, 149(3).
- [113] Lemp, M., Bron, A. J., Baudouin, C., Del Castillo, J. M. B., Geffen, D., Tauber, J., ... & Sullivan, B. D. (2011). Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *American Journal of Ophthalmology*, 151(5).
- [114] Ibrahim, O. M., Matsumoto, Y., Dogru, M., Adan, E. S., Wakamatsu, T. H., Goto, T., ... & Tsubota, K. (2010). The efficacy, sensitivity, and specificity of in vivo laser confocal microscopy in the diagnosis of meibomian gland dysfunction. *Ophthalmology*, 117(4).
- [115] Villani, E., Beretta, S., De Capitani, M., Galimberti, D., Viola, F., & Ratiglia, R. (2011). In vivo confocal microscopy of meibomian glands in Sjögren's syndrome. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(2).
- [116] Matsumoto, Y., Shigeno, Y., Sato, E. A., Ibrahim, O., Saiki, M., Negishi, K., ... & Tsubota, K. (2009). The evaluation of the treatment response in obstructive meibomian gland disease by in vivo laser confocal microscopy. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 247(6).
- [117] Arita, R., Minoura, I., Morishige, N., Shirakawa, R., Fukuoka, S., Asai, K., ... & Nakamura, M. (2016). Development of definitive and reliable grading scales for meibomian gland dysfunction. *American Journal of Ophthalmology*, 169.
- [118] Yamaguchi, M., Yamaguchi, M., Kutsuna, M., Uno, T., Zheng, X., Kodama, T., & Ohashi, Y. (2006). Marx line: fluorescein staining line on the inner lid as indicator of meibomian gland function. *American Journal of Ophthalmology*, 141(4).



- [119] Korb, D. R., Herman, J. P., Greiner, J. V., Scaffidi, R. C., Finnemore, V. M., Exford, J. M., ... & Douglass, T. (2005). Lid wiper epitheliopathy and dry eye symptoms. *Eye & Contact Lens*, 31(1).
- [120] Arita, R., Itoh, K., Maeda, S., Maeda, K., Tomidokoro, A., & Amano, S. (2010). Efficacy of diagnostic criteria for the differential diagnosis between obstructive meibomian gland dysfunction and aqueous deficiency dry eye. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 54(5).
- [121] Tomlinson, A., Bron, A. J., Korb, D. R., Amano, S., Paugh, J. R., Pearce, E. I., ... & Dogru, M. (2011). The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the diagnosis subcommittee. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(4), 2006-2049.
- [122] Finis, D., Pischel, N., Schrader, S., & Geerling, G. (2013). Evaluation of lipid layer thickness measurement of the tear film as a diagnostic tool for Meibomian gland dysfunction. *Cornea*, 32(12).
- [123] Kim, J. S., Lee, H., Choi, S., Kim, E. K., Seo, K. Y., & Kim, T. I. (2018). Assessment of the tear film lipid layer thickness after cataract surgery. *In Seminars in ophthalmology*. Taylor & Francis.
- [124] Pult, H., & Nichols, J. J. (2012). A review of meibography. *Optometry and Vision Science*, 89(5).
- [125] Ngo, W., Srinivasan, S., & Jones, L. (2013). Historical overview of imaging the meibomian glands. *Journal of Optometry*, 6(1).
- [126] Tapie, R. (1977). Biomicroscopic study of the glands of meibomius. *Ann Ocul*, 210.
- [127] Jester, J. V., Rife, L., Nii, D., Luttrull, J. K., Wilson, L., & Smith, R. E. (1982). In vivo biomicroscopy and photography of meibomian glands in a rabbit model of meibomian gland dysfunction. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 22(5).
- [128] Mathers, W. D., Daley, T., & Verdick, R. (1994). Video imaging of the meibomian gland. *Archives of Ophthalmology*, 112(4).
- [129] Yokoi, N., Komuro, A., Yamada, H., Maruyama, K., & Kinoshita, S. (2007). A newly developed video-meibography system featuring a newly designed probe. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 51(1).
- [130] Arita, R., Itoh, K., Inoue, K., Kuchiba, A., Yamaguchi, T., & Amano, S. (2009). Contact lens wear is associated with decrease of meibomian glands. *Ophthalmology*, 116(3).
- [131] Pult, H., & Riede-Pult, B. H. (2012). Non-contact meibography: keep it simple but effective. *Contact Lens and Anterior Eye*, 35(2).
- [132] Hwang, H. S., Shin, J. G., Lee, B. H., Eom, T. J., & Joo, C. K. (2013). In vivo 3D meibography of the human eyelid using real time imaging Fourier-domain OCT. *PLoS one*, 8(6).
- [133] Yoo, Y. S., Na, K. S., Kim, D. Y., Yang, S. W., & Joo, C. K. (2017). Morphological evaluation for diagnosis of dry eye related to meibomian gland dysfunction. *Experimental Eye Research*, 163.
- [134] Ting, D. S. W., Cheung, C. Y. L., Lim, G., Tan, G. S. W., Quang, N. D., Gan, A., ... & Wong, T. Y. (2017). Development and validation of a deep learning system for diabetic retinopathy and related eye diseases using retinal images from multiethnic populations with diabetes. *Jama*, 318(22), 2211-2223.
- [135] Nayak, J., Bhat, P. S., Acharya, U., Lim, C. M., & Kagathi, M. (2008). Automated identification of diabetic retinopathy stages using digital fundus images. *Journal of Medical Systems*, 32(2), 107-115.
- [136] Nielsen, K. B., Lautrup, M. L., Andersen, J. K., Savarimuthu, T. R., & Grauslund, J. (2019). Deep learning-based algorithms in screening of diabetic retinopathy: a systematic review of diagnostic performance. *Ophthalmology Retina*, 3(4), 294-304.

- [137] Pead, E., Megaw, R., Cameron, J., Fleming, A., Dhillon, B., Trucco, E., & MacGillivray, T. (2019). Automated detection of age-related macular degeneration in color fundus photography: a systematic review. *Survey of Ophthalmology*, 64(4), 498-511.
- [138] Gensure, R. H., Chiang, M. F., & Campbell, J. P. (2020). Artificial intelligence for retinopathy of prematurity. *Current Opinion in Ophthalmology*, 31(5), 312.
- [139] Gulshan, V., Peng, L., Coram, M., Stumpe, M. C., Wu, D., Narayanaswamy, A., ... & Webster, D. R. (2016). Development and validation of a deep learning algorithm for detection of diabetic retinopathy in retinal fundus photographs. *Jama*, 316(22), 2402-2410.
- [140] Yousefi, S., Takahashi, H., Hayashi, T., Tampo, H., Inoda, S., Arai, Y., ... & Asbell, P. (2020). Predicting the likelihood of need for future keratoplasty intervention using artificial intelligence. *The Ocular Surface*, 18(2), 320-325.
- [141] Storås, A. M., Strümke, I., Riegler, M. A., Grauslund, J., Hammer, H. L., Yazidi, A., ... & Jackson, C. J. (2022). Artificial intelligence in dry eye disease. *The Ocular Surface*, 23, 74-86.
- [142] Wang, J., Yeh, T. N., Chakraborty, R., Stella, X. Y., & Lin, M. C. (2020). Meibomian Gland Morphology and Ghost Prediction with Deep Learning. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 61(7), 2634-2634.
- [143] Wang, J., Yeh, T. N., Chakraborty, R., Stella, X. Y., & Lin, M. C. (2019). A deep learning approach for meibomian gland atrophy evaluation in meibography images. *Translational Vision Science & Technology*, 8(6), 37.
- [144] Arita, R., Itoh, K., Maeda, S., Maeda, K., Furuta, A., Fukuoka, S., ... & Amano, S. (2009). Proposed diagnostic criteria for obstructive meibomian gland dysfunction. *Ophthalmology*, 116(11), 2058-2063.
- [145] Brooks, C. C., & Gupta, P. K. (2021). Meibomian Gland Morphology Among Patients Presenting for Refractive Surgery Evaluation. *Clinical Ophthalmology (Auckland, NZ)*, 15, 315.
- [146] Daniel, E., Pistilli, M., Ying, G. S., Bunya, V. Y., Massaro-Giordano, M., Asbell, P. A., & Maguire, M. G. (2020). Association of meibomian gland morphology with symptoms and signs of dry eye disease in the Dry Eye Assessment and Management (DREAM) study. *The Ocular Surface*, 18(4), 761-769.
- [147] Kim, J. S., Wang, M. T., & Craig, J. P. (2019). Exploring the Asian ethnic predisposition to dry eye disease in a pediatric population. *The Ocular Surface*, 17(1), 70-77.
- [148] Gupta, P. K., Stevens, M. N., Kashyap, N., & Priestley, Y. (2018). Prevalence of meibomian gland atrophy in a pediatric population. *Cornea*, 37(4), 426.
- [149] Arita, R., Itoh, K., Inoue, K., Kuchiba, A., Yamaguchi, T., & Amano, S. (2009). Contact lens wear is associated with decrease of meibomian glands. *Ophthalmology*, 116(3), 379-384.
- [150] Alghamdi, W. M., Markoulli, M., Holden, B. A., & Papas, E. B. (2016). Impact of duration of contact lens wear on the structure and function of the meibomian glands. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 36(2), 120-131.
- [151] Villani, E., Ceresara, G., Beretta, S., Magnani, F., Viola, F., & Ratiglia, R. (2011). In vivo confocal microscopy of meibomian glands in contact lens wearers. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(8), 5215-5219.

- [152] Na, K. S., Yoo, Y. S., Hwang, H. S., Mok, J. W., Kim, H. S., & Joo, C. K. (2016). The influence of overnight orthokeratology on ocular surface and meibomian glands in children and adolescents. *Eye & Contact Lens*, 42(1), 68-73.
- [153] Ong, B. L., Larke, J. R. (1990). Meibomian gland dysfunction: some clinical, biochemical and physical observations. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 10(2), 144-148.
- [154] Morgan, P. B., Murphy, P. J., Gifford, K. L., Gifford, P., Golebiowski, B., Johnson, L., ... & Willcox, M. (2021). CLEAR-Effect of contact lens materials and designs on the anatomy and physiology of the eye. *Contact Lens and Anterior Eye*, 44(2), 192-219.
- [155] Arita, R., Itoh, K., Maeda, S., Maeda, K., Tomidokoro, A., & Amano, S. (2012). Association of contact lens-related allergic conjunctivitis with changes in the morphology of meibomian glands. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 56(1), 14-19.
- [156] Arita, R., Itoh, K., Maeda, S., Maeda, K., Furuta, A., Tomidokoro, A., & Amano, S. (2010). Meibomian gland duct distortion in patients with perennial allergic conjunctivitis. *Cornea*, 29(8), 858-860.
- [157] Machalinska, A., Zakrzewska, A., Adamek, B., Safranow, K., Wiszniewska, B., Parafiniuk, M., & Machalinski, B. (2015). Comparison of morphological and functional meibomian gland characteristics between daily contact lens wearers and nonwearers. *Cornea*, 34(9), 1098-1104.
- [158] Pucker, A. D., Jones-Jordan, L. A., Li, W., Kwan, J. T., Lin, M. C., Sickenberger, W., ... & Jones, L. W. (2015). Associations with meibomian gland atrophy in daily contact lens wearers. *Optometry and Vision Science*, 92(9), 206-213.
- [159] Haykin, S., & Veen, B. V. (1999). Signals and Systems, *John Willey & Sons. Inc. New York*.
- [160] Karwowski, W. (2019), Zrozumieć Kompresję Obrazu. *Poznań, ISBN: 9788395342004*.
- [161] Chikkerur, S., Cartwright, A. N., & Govindaraju, V. (2007). Fingerprint enhancement using stft analysis. *Pattern Recognition*, 40(1), 198-211.
- [162] Leśkiewicz, M. (2016). Porównanie liniowych metod PCA (Principal Component Analysis) i LDA (Linear Discriminant Analysis) zastosowanych do klasyfikacji macierz wzbudzeniowo-emisyjnych wybranych grup substancji biologicznych. *Biuletyn Wojskowej Akademii Technicznej*, 65(1).
- [163] Xanthopoulos, P., Pardalos, P. M., & Trafalis, T. B. (2012). Robust data mining. *Springer Science & Business Media*.
- [163] Jolliffe, I.T. (2002). Principal Component Analysis. *2nd ed. New York: Springer-Verlag*.
- [164] Bishop, C. M., & Nasrabadi, N. M. (2006). Pattern recognition and machine learning, *New York: Springer-Verlag*, 4(4), 738.
- [165] Härdle, W. K., & Simar, L. (2019). Applied multivariate statistical analysis. *Springer Nature*.
- [167] Hastie, T., Tibshirani, R., Friedman, J. H., & Friedman, J. H. (2009). The elements of statistical learning: data mining, inference, and prediction, *New York: Springer-Verlag*, 2, 1-758.
- [168] <https://scikit-learn.org/stable/>.
- [169] <https://www.statista.com/>.
- [170] Vincent, O. R., & Folorunso, O. (2009). A descriptive algorithm for sobel image edge detection. *In Proceedings of Informing Science & IT education conference*, 40, 97-107.

- [171] Noble, W. S. (2006). What is a support vector machine? *Nature Biotechnology*, 24(12), 1565-1567.
- [172] Kukreja, H., Bharath, N., Siddesh, C. S., & Kuldeep, S. (2016). An introduction to artificial neural network. *International Journal of Advance Research and Innovative Ideas in Education*, 1, 27-30.
- [173] Bishara, A. J., & Hittner, J. B. (2012). Testing the significance of a correlation with nonnormal data: comparison of Pearson, Spearman, transformation, and resampling approaches. *Psychological methods*, 17(3), 399.
- [174] Peral, A., Alonso, J., & Gomez-Pedrero, J. A. (2018). Effect of illuminating wavelength on the contrast of meibography images. *OSA Continuum*, 1(3), 1041-1054.
- [175] Crespo-Treviño, R. R., Salinas-Sánchez, A. K., Amparo, F., & Garza-Leon, M. (2021). Comparative of meibomian gland morphology in patients with evaporative dry eye disease versus non-dry eye disease. *Scientific Reports*, 11(1), 1-8.
- [176] Cieżar, K., & Pochylski, M. (2020). 2D fourier transform for global analysis and classification of meibomian gland images. *The Ocular Surface*, 18(4), 865-870.
- [177] Cieżar, K., & Pochylski, M. (2022). 2D Short-Time Fourier Transform for local morphological analysis of meibomian gland images. *Plos one*, 17(6), e0270473.

## 9. Spis rysunków

Rys. 1.	Schemat gruczołu Meiboma.	12
Rys. 2.	Lokalizacja gruczołu Meiboma.	14
Rys. 3.	Schemat zmian morfologii gruczołów Meiboma w przebiegu dysfunkcji gruczołów Meiboma.	20
Rys. 4.	Budowa filmu łzowego.	21
Rys. 5.	Inwazyjny pomiar czasu przzerwiania filmu łzowego.	24
Rys. 6.	Procedura wykonywania testu Schirmera.	25
Rys. 7.	Obserwacja dolnego menisku łzowego.	25
Rys. 8.	Ocena epiteliopatii brzegu powieki oraz linii Marxa.	28
Rys. 9.	Obserwacja ujść gruczołów Meiboma.	28
Rys. 10.	Meibografia z wykorzystaniem wiązki światła białego – transiluminacja powiekowa.	30
Rys. 11.	Badanie morfologii gruczołów Meiboma z wykorzystaniem bezkontaktowej metody meibografii w podczerwieni.	31
Rys. 12.	Głowica obrazująca meibografu <i>IDRA, Afidera GmbH, Berlin</i> .	32
Rys. 13.	Przykładowe zdjęcia gruczołów Meiboma uzyskane za pomocą urządzenia <i>IDRA</i> .	32
Rys. 14.	Pięciostopniowa skala oceniająca stopień ubytku gruczołów Meiboma.	34
Rys. 15.	Oszacowanie obszaru ubytku gruczołów Meiboma z wykorzystaniem oprogramowania <i>ImageJ</i> .	35
Rys. 16.	Opis zniekształceń gruczołów Meiboma.	37
Rys. 17.	Schemat procedury automatycznego wyznaczania obszaru powieki, gruczołów Meiboma oraz obszarów pomiędzy nimi.	40
Rys. 18-20.	Wizualizacja meibografu uzyskana dzięki oprogramowaniu <i>Autodesk Inventor Professional 2015</i> . Źródło światła podczerwonego stanowią diody rozmieszczone na pierścieniu, następnie filtr światła podczerwonego (czerwona nakładka) oraz kamera <i>CCD</i> wraz z obiektywem.	49
Rys. 21.	Meibograf na statywie skonstruowany na potrzeby badania.	50
Rys. 22.	Odbicie lustrzane od filmu łzowego w nosowej części tarczki powieki. Niostra skroniowa część gruczołów Meiboma.	51
Rys. 23.	Odbicie lustrzane od filmu łzowego w nosowej części tarczki powieki. Niostra skroniowa część gruczołów Meiboma.	51

Rys. 24.	<b>Lekkie odbicie lustrzane od filmu łzowego w górnej części tarczki powieki. Nieostra skroniowa część gruczołów Meiboma. Nieostrości obrazu w części nosowej wynikające z pofałdowania powieki na skutek jej wywinięcia.</b>	52
Rys. 25.	<b>Lekkie odbicie lustrzane od filmu łzowego w nosowej części tarczki powieki. Ostry obszar gruczołów Meiboma jedynie w centrum tarczki powiek.</b>	52
Rys. 26.	<b>Odbicia lustrzane od filmu łzowego w obrazie gruczołów Meiboma w części górnej. Niejednolite oświetlenie, niski contrast uzyskanego obrazu.</b>	52
Rys. 27.	<b>Lekkie odbicia lustrzane od filmu łzowego w górnej oraz nosowej części tarczki powieki. Niejednolite oświetlenie powieki, ostry obszar gruczołów Meiboma jedynie w centrum tarczki powiek. Niewidoczne struktury gruczołów w części skroniowej z powodu trudności w wywinięciu całej tarczki powieki.</b>	53
Rys. 28.	<b>Przykład procedury obróbki wstępnej rejestrowanych obrazów meibograficznych.</b>	54
Rys. 29.	<b>Przykłady binarnych obrazów gruczołów Meiboma należących odpowiednio do kategorii: a) „zdrowy”, b) „pośredni”, c) „chory”.</b>	54
Rys. 30.	<b>Ocena zniekształcenia gruczołów Meiboma.</b>	55
Rys. 31.	<b>Oryginalny obraz gruczołów Meiboma z zaznaczonymi obszarami deformacji gruczołów (niebieskie kwadraty) oraz zawężeniami gruczołów (czerwone kwadraty) (część a)). W części b) obraz meibograficzny po zastosowaniu sekwencji filtrów cyfrowych z wyznaczonym obszarem powieki zawierającym gruczoły Meiboma. W części c) obraz binarny oryginalnego obrazu – część a).</b>	56
Rys.32 .	<b>Wynik działania dyskretnej transformaty Fouriera na stacjonarnym sygnale sinusoidalnym o okresie T.</b>	59
Rys. 33.	<b>Widmowa gęstość mocy (PSD) funkcji <math>f(x,y)</math>.</b>	60
Rys. 34.	<b>Widmowa gęstości mocy, PSD, we współrzędnych kartezjańskich (panel a) oraz we współrzędnych biegunowych (panel b).</b>	61
Rys. 35.	<b>Schemat działania krótkoczasowej transformaty Fouriera funkcji sinus o zmiennej częstotliwości i amplitudzie.</b>	63
Rys. 36.	<b>Wyznaczenie funkcji rozkładu prawdopodobieństwa <math>p(\theta)</math> i <math>p(q)</math> jako brzegowych rozkładów funkcji <math>p(q,\theta)</math>.</b>	65
Rys. 37.	<b>Wpływ zmienności częstotliwości <math>q</math> i orientacji <math>\theta</math> struktury gruczołów Meiboma na rozkłady gęstości widmowej, PSD, otrzymywane na drodze transformacji Fouriera obrazów meibograficznych.</b>	66
Rys. 38.	<b>Konsekwencja skończonej wariacji gaussowskiego okna analizy (nałożonego na obraz idealnego wzoru sinusoidalnego) na obraz widmowej gęstości mocy (PSD) przedstawionej we współrzędnych kartezjańskich i biegunowych.</b>	67

Rys. 39.	Schemat klasyfikacji na podstawie funkcji gęstości prawdopodobieństwa parametru $x$ dla kategorii A, B i C.	76
Rys. 40.	Oryginalny binarny obraz gruczołów Meiboma.	81
Rys. 41.	Widmo gęstości mocy (PSD) wyznaczone dla oryginalnego binarnego obrazu gruczołów Meiboma zaprezentowanego na rys. 40.	82
Rys. 42.	Widmo gęstości mocy (PSD) z wyznaczonym rozkładem energii $ F_{\theta} ^2$ jako funkcji częstotliwości $q$ dla kierunku $\theta_0$ .	83
Rys. 43.	Widmo gęstości mocy (PSD) z wyznaczonym kątowym rozkładem energii $e_{\theta}$ w postaci wykresu biegunowego (czerwona linia).	84
Rys. 44.	Widmo gęstości mocy wyznaczone dla przykładowych obrazów gruczołów Meiboma z kategorii odpowiednio: a) zdrowy, b) pośredni i c) chory [176].	85
Rys. 45.	Rozkład wartości $\kappa^{-1}$ oraz $\bar{q}$ dla kategorii zdrowy, pośredni oraz chory [176].	86
Rys. 46.	Wykres korelacji uzyskany pomiędzy anizotropią kierunku $\kappa^{-1}$ a średnią wartością częstotliwości $\bar{q}$ dla obrazów gruczołów Meiboma z kategorii „zdrowy”, „pośredni” i „chory” wraz z wyznaczoną niepewnością w szacowaniu wartości parametrów (część a)[176]. Część b) rozkład brzegowy $P(\kappa^{-1})$ . Część c) rozkład brzegowy $P(\bar{q})$ .	88
Rys. 47.	Rozkład gęstości prawdopodobieństwa $P(PCA_1)$ w postaci histogramów uzyskany dla obrazów z kategorii zdrowy, pośredni, chory oraz dopasowany do każdej z kategorii rozkład gamma[176].	89
Rys. 48.	Rozkład gęstości prawdopodobieństwa $p(LDA_1)$ w postaci histogramów uzyskany dla obrazów z kategorii zdrowy, pośredni, chory oraz dopasowany do każdej z kategorii rozkład gamma[176].	90
Rys. 49.	Wykorzystanie krótkoczasowej dwuwymiarowej transformaty Fouriera w celu wyznaczenia funkcji rozkładu prawdopodobieństwa częstotliwości przestrzennej i kąta orientacji gruczołów Meiboma [177].	93
Rys. 50.	Sposób parametryzacji eksperymentalnych rozkładów brzegowych $p(q)$ i $p(\theta)$ zmierzonych w wybranym oknie analiz ( $w_2$ na rys. 49g) [177].	95
Rys. 51.	Porównanie rozkładów gęstości prawdopodobieństwa $p(q)$ (panel a) oraz $p(\theta)$ (panel b) dla dwóch wybranych pozycji okna analizy $w_1$ oraz $w_2$ przedstawionych na rys.49 [177].	98
Rys. 52.	Przykładowy zbinaryzowany obraz gruczołów Meiboma poddawany lokalnej analizie morfologicznej [177].	99
Rys. 53.	Mapa średniej częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma, $q_0$ [177].	100
Rys. 54.	Mapa szerokości rozkładu częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma, $\sigma_q$ [177].	100
Rys. 55.	Mapa kąta orientacji gruczołów Meiboma, $\theta_0$ [177].	101

Rys. 56.	Mapa szerokości rozkładu kąta orientacji gruczołów Meiboma, $\sigma_\theta$ [177].	102
Rys. 57.	Mapa gradientu częstotliwości przestrzennej gruczołów Meiboma, $G_q$ [177].	103
Rys. 58.	Metoda wyznaczenie niespójności kątowej $C_\theta$ [177].	104
Rys. 59.	Mapa niespójności kątowej gruczołów Meiboma, $C_\theta$ [177]	104
Rys. 60.	Maska obszaru gruczołów Meiboma, $e$ [177].	105
Rys. 61.	Obrazy prezentujące przestrzenne rozkłady parametrów opisujących lokalne zmiany w morfologii gruczołów Meiboma klasyfikowanych jako „zdrowy”, „pośredni” oraz „chory” [177].	106
Rys. 62.	Propozycja ilościowego określenia stopnia deformacji gruczołów Meiboma z wykorzystaniem map parametrów morfologicznych [177].	109
Rys. 63.	Rozkład wartości pikseli dla każdej z sześciu map morfometrycznych (Rys. 61), prezentujących lokalne zmiany w morfologii gruczołów Meiboma, dla każdej z zaproponowanych kategorii, tj. „zdrowy”, „pośredni” oraz „chory” [177].	111
Rys. 64.	Wariancje 10 pierwszych składowych głównych PCA (czerwone kółka) oraz wariancje kumulatywne poszczególnych komponentów PCA (niebieskie kwadraty) [177].	112
Rys. 65.	Korelacja pomiędzy dwoma głównymi składowymi $PCA_1$ oraz $PCA_2$ wykorzystanymi w automatycznej klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma [177].	113
Rys. 66.	Korelacja pomiędzy dwoma dyskryminatorami liniowymi $LDA_1$ oraz $LDA_2$ wykorzystanymi w automatycznej klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma [177].	117

## 10. Spis tabel

Tab. 1.	Fizykochemiczne właściwości filmu lżowego.	23
Tab. 2.	Skuteczność klasyfikacji zaproponowanych klasyfikatorów dla kategorii zdrowy, pośredni, chory. W tabeli podano procent poprawnych klasyfikacji. Podane niepewności przy założeniu 95% przedziału ufności.	91
Tab. 3.	Porównanie skuteczności procedury automatycznej klasyfikacji obrazów gruczołów Meiboma przy wykorzystaniu różnych klasyfikatorów. Podane niepewności przy założeniu 95% przedziału ufności.	114
Tab. 4.	Zestawienie 10 cech opisowych o największym wkładzie (ang. PCA loading) w tworzeniu składowej głównej $PCA_1$ .	116
Tab. 5.	Wartości korelacji liniowej Pearsona pomiędzy dwoma parametrami globalnymi (anizotropia kierunku gruczołów i średnia częstotliwość) a każdym z parametrów lokalnych.	121



Poznań, 11.01.2023  
(data)

## OŚWIADCZENIE

Ja, niżej podpisany/a Kamila Cieżan  
student/ka Wydziału Fizyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu oświadczam, że przedkładaną pracę doktorską napisałem/napisałam samodzielnie. Oznacza to, że przy pisaniu pracy, poza niezbędnymi konsultacjami, nie korzystałem/am z pomocy innych osób, a w szczególności nie zlecałem/am opracowania rozprawy lub jej części innym osobom, ani nie odpisywałem/am tej rozprawy lub jej części od innych osób.

Oświadczam również, że egzemplarz pracy dyplomowej w wersji drukowanej jest całkowicie zgodny z egzemplarzem pracy dyplomowej w wersji elektronicznej.

Jednocześnie przyjmuję do wiadomości, że przypisanie sobie, w pracy dyplomowej, autorstwa istotnego fragmentu lub innych elementów cudzego utworu lub ustalenia naukowego stanowi podstawę stwierdzenia nieważności postępowania w sprawie nadania tytułu zawodowego.

Kamila Cieżan  
czytelny podpis studenta