

*Петрук В.Г., Кватернюк С.М., Черноволик Г.О., Васильківський І.В.,
Павлов С.В., Іщенко В.А., Петрук Р.В.*

Розробка нових принципів діагностики стану нормальних і патологічних біотканин за спектрами дифузного відбивання (теоретичні і експериментальні дослідження)

Проект ДФФД : 10.01/003

Керівник проекту:

*Петрук Василь Григорович,
доктор технічних наук, професор,
Вінницький національний технічний
університет*

Вступ

Для біомедичних апаратів в процесі діагностики чи не найважливішими характеристиками на сучасному етапі розвитку науки, є безболісність, неруйнівність, неінвазійність вимірювань. Серед методів, що можуть це забезпечити, чільне місце займають оптичні, зокрема, спектрофотометричні. Оптичним методам притаманні і ряд інших переваг, а саме: індиферентність оптичного сигналу до електромагнітних завад, потенційна багатоканальність проміння і найбільша у природі швидкість передачі інформації. Вони дозволяють досить точно визначати кількісні і якісні показники дослідного зразка. Розробка нових принципів діагностики стану нормальних і патологічних біотканин за спектрами дифузного відбивання нових вимірювальних спектрофотометричних засобів служить справі подальшого розвитку науки і техніки, зокрема, в галузях криміналістики, біомедицини, оптичного приладобудування тощо.

Метою дослідження є теоретичне обґрунтування можливості створення нових методик діагностики стану нормальних і патологічних біотканин за спектрами дифузного відбивання, розробка основних принципів діагностики та експериментальна їх перевірка, розробка спеціальних експертних методик на основі нечіткої логіки та засобів неінвазійної діагностики приповерхневих станів біотканин, дослідження їх спектрів дифузного відбивання.

Актуальність роботи полягає у необхідності розроблення спектрофотометричних інформаційно-вимірювальних систем для безболісної, неінвазійної діагностики біотканин, які можна використовувати в судово-медичній експертизі, криміналістиці, медицині катастроф тощо. Тому провідною ідеєю цієї роботи є застосування інтегративної сфери, як унікального оптичного первинного перетворювача за способом Тейлора у складі інформаційно-вимірювальної системи (ІВС) для реалізації неінвазійних методик вимірювання біологічних об'єктів.

На сучасному етапі розвитку оптики світлорозсіяння можна констатувати, що загальна теорія розсіяння знаходиться зараз у задовільному, хоча і далеко незавершеному стані, але окремі

експериментальні методики, а особливо необхідна для їх реалізації вимірювальна техніка, розроблені ще досить слабо. І це також зумовлює відповідні наукові фундаментальні задачі, зокрема, ретельного врахування ефектів розсіяння в реальних об'єктах з допомогою математичних моделей, або в результаті безпосереднього вимірювання оптичних параметрів речовини за відомими принципами. Як наслідок, вирішуючи цю проблему, можна суттєво збільшити точність вимірювань та достовірність результатів контролю і діагностики біотканин.

1. Огляд спектрофотометричних біофізичних методів дослідження патологічних біотканин

Встановлено, що максимум поглинання гемоглобіну добре простежується на спектральних кривих відбиття шкіри в нормі, причому вони виражені більше, ніж максимум поглинання оксигемоглобіну [1-5]. Дослідження патологічних біотканин проводилось на прикладі синців. При виникненні синця в шкірі розвивається гостра місцева гіпоксія тканин, що призводить до різкого зростання перекисного окислення ліпідів, що стимулює автоокислення оксигемоглобіну і утворення метгемоглобіну. Інтенсивність спектру поглинання оксигемоглобіну при цьому поступово зменшується. Поряд з утворенням метгемоглобіну спостерігається підвищення рівня активних форм кисню і інших інтермедіаторів радикальної природи, які викликають наприкінці гемоліз еритроцитів [6-8].

Отже, якщо порівнювати стандартний розчин гемоглобіну і гемолізованої крові [9], то можна відмітити зниження світлопоглинаючої властивості останньої в оптичному діапазоні 530-570 нм більш, ніж на 50%, у порівнянні з стандартом, з паралельним зміщенням максимуму поглинання праворуч, тобто в більш довгохвильову частину спектру. Саме в цьому діапазоні проявляє свої оптичні властивості оксигемоглобін. В судовій медицині на дослідження процесу переходу гемоглобіну із окси- в метаформу, базуються методики встановлення давності утворення плям крові [14-20]. Метгемоглобін, як дериват гемоглобіну відрізняється від нього як валентністю заліза, яке переходить із двохвалентного в трьохвалентне, так і своїми оптичними властивостями. Найбільш виражена зона поглинання метгемоглобіну знаходиться в межах 632-634 нм [16,17].

Ряд вчених [18-20] довели, що зростання світло-поглинаючої здатності біотканин в оптичному інтервалі 620-670 нм обумовлено як збільшенням концентрації метгемоглобіну, так і переходом оксигемоглобіну в гемоглобін.

Необхідно також відмітити, що в даній спектральній ділянці від 620 нм до 670 нм, на думку ряду авторів [21,22], проявляють свої оптичні властивості гематопорфірин та його похідні, які утворюються при розпаді гемоглобіну, як в різних типах ран, так і в злоякісних пухлинах.

Кінцевим продуктом розпаду гемоглобіну є білірубін, який проявляє свої оптичні властивості в інтервалі 450-460 нм та 500-600 нм [22,23]. Саме з ним пов'язують жовте забарвлення, що виникає в процесі розвитку синця. Але інші автори [24] на відміну від попередніх вважають, що жовте забарвлення обумовлене гемосидерином (залізовміщуючий білковий

комплекс). Однак, самі ж вказують на його незначну кількість і на його наявність в більшості випадків тільки в глибоких синцях, що підтверджує також Suzyki [25].

Дослідниками встановлено, що характерні спектри поглинання поряд із білірубіном в інтервалі 440-490 нм мають піридиннуклеотиди (НАД, НАДФ) і флавінові сполуки (ФАД, ФМН), які беруть участь в таких важливих клітинних процесах, як гліколіз, окислення жирних кислот, клітинне дихання. Визначено значне збільшення вмісту флавінів і піридиннуклеотидів в саднах, странгуляційних борознах та ранах, що виникли зажиттєво [26, 27].

В судовій медицині визначення кількісного складу гемоглобіну та його похідних досить широко використовується для встановлення зажиттєвості та давності виникнення синців [28-30].

Klein A., Schweitzer D. [31] для визначення давності виникнення синців у живих людей проводили спектрографічне дослідження травмованої шкіри в оптичному інтервалі 430-700 нм. Найбільш інформативним виявився проміжок 560-580 нм, при терміні існування синців, що перевищує дві доби.

Trujillo O. з співавторами [32] для діагностики синця рекомендує використовувати тривимірний колориметр, якій одночасно визначає колір та кольорову щільність травмованої шкіри. Вони довели відсутність впливу індивідуальних особливостей шкіри на цю діагностику.

При розробці проблеми встановлення зажиттєвості і давності виникнення пошкоджень спектральні методи широко використовуються як для якісного, так і для кількісного аналізу екстрагованих з різноманітних тканин речовин. Так, Туманова Н.А. [33] виявляла кількісний вміст нуклеїнових кислот і продуктів їх деградації в кислоторозчинній фракції м'язової тканини в діапазоні довжин хвиль 240-320 нм.

Деякі дослідники [34] вважають перспективним подальше вивчення кількісного і якісного складу біогенних амінів – вільних гістаміну та серотоніну. Вони, як на їх думку, можуть служити об'єктивними критеріями при судово-медичному встановленні зажиттєвості пошкоджень шкіряних покривів, а їх балансний рівень у тканинах – критеріями для визначення давності виникнення ушкоджень.

2. Структура та принцип функціонування комп'ютерно-вимірювальної системи діагностики стану нормальних і патологічних біотканин

Розроблена комп'ютерно-вимірювальна система (КВС) діагностики стану нормальних і патологічних біотканин за спектрами їх дифузного відбивання (рис.1.), що складається з монохроматора (МУМ-2), довжина хвилі якого змінюється кроковим двигуном ШД-0,25А від 300 до 1200 нм. Випромінювання з монохроматора через оптоволокно подається на два вимірювальні зонди (інтегровальні сфери покриті всередині речовиною з відомим рівномірним коефіцієнтом дифузного відбивання, наприклад, оксидом магнію). Один із зондів є вимірювальним зразковим засобом і закритий заглушкою, а інший має отвір, який доторкається до шкіри. У якості давачів застосовуються фотодіоди ФД-256 (спектральний діапазон 0,4–1,1

мкм), у разі необхідності досліджень в ультрафіолетовій області – ФД-288В (200-500 нм), у ближній інфрачервоній області 700-5200 нм фотодіоди на основі сульфиду свинцю. Вимірювальний підсилювач виконаний за схемою неінвертуючого підсилювача напруги на операційному підсилювачі LM324N. Далі сигнал надходить на вбудований 10 розрядний АЦП мікроконтролера AT90S4433 та через СОМ-порт і адаптер ADM232LJN у комп'ютер. Контролер керування кроковим двигуном, що змінює довжину хвилі випромінювання монохроматора реалізовано на мікроконтролері AT90S8515. Програмне забезпечення для мікроконтролерів написано на мові IAR C.

Перед початком роботи з КВС вимірювання спектрів відбивання біотканин необхідно виконати нормування її характеристик. КВС вмикається і прогрівається біля 15 хв. Далі при вимкненому джерелі випромінювання здійснюється вимірювання сигналів з АЦП, які створюються темновими струмами фотодіодів. Отримані значення записуються у файл і далі використовуються для корекції результатів усіх вимірів. Далі на первинні оптичні вимірювальні перетворювачі обох каналів встановлюються заслінки покриті речовиною з відомою нормованою спектральною характеристикою коефіцієнту дифузного відбивання, наприклад, оксидом магнію. Здійснюється повний цикл вимірювань відповідно. Отримана залежність характеризує відношення коефіцієнтів передачі кожного з каналів та дозволяє врахувати це при подальших вимірюваннях спектрів коефіцієнтів дифузного відбивання біотканин.



Рис.1. Комп'ютерно-вимірювальна система діагностики стану нормальних і патологічних біотканин

Отримана нормувальна характеристика апроксимується у MathCAD з використанням кубічних сплайнів. За рахунок використання апроксимації є можливість використовувати нормувальну характеристику для корекції спектральних характеристик виміряних з іншим кроком. Оскільки нормувальна характеристика не має різких екстремумів, то доцільно знімати

її з кроком 50нм, а основні вимірювання спектрів дифузного відбивання біотканин з кроком 5-10 нм.

Установка дозволяє проводити вимірювання методом Тейлора двома способами:

- один первинний оптичний вимірювальний перетворювач щільно притискається до ділянки шкіри пацієнта, а інший закритий заслінкою, що покрита з речовиною з відомою нормованою спектральною характеристикою коефіцієнту дифузного відбивання;
- другий первинний оптичний вимірювальний перетворювач притискається до здорової ділянки шкіри пацієнта, а інший до патологічної ділянки.

Виміряні спектри дифузного відбивання біотканин заносяться у банк даних із зазначенням дати проведення вимірювань, прізвища, віку та типу захворювання пацієнта, ряду додаткових медичних характеристик отриманих у ході інших аналізів для співставлення їх з спектральними даними. На кожній довжині хвилі проводиться 1000 вимірів та їх усереднення, що дозволяє суттєво зменшити рівень шумів фотодіода. Програмне забезпечення для попередньої обробки даних та керування спектрофотометричною системою складене на Delphi 5.0 для роботи під Windows 98. Планується продовження досліджень з використанням поляриметричної приставки, що дозволить вимірювати матриці Стокса для зразків біотканин та проб гуморальних рідин. Для однотипних вимірів здійснюється діагностика за допомогою нейромережі у аналітичній платформі Deductor Studio 4.0. Нейромережа спочатку навчається за допомогою підібраних наборів даних для визначених діагностичних рішень та взяті для групи умовно здорових реципієнтів.

Обробка результатів вимірювань проводиться у програмі MathCAD таким чином. Безпосередні дані вимірювань корегуються за допомогою нормувальної характеристики $R_{norm}(\lambda)$, що враховує відмінності спектральних характеристик двох каналів:

$$R_1(\lambda) = \frac{R_X(\lambda)}{R_{norm}(\lambda)}, \quad (1)$$

де $R_{norm}(\lambda)$ – нормувальна характеристика, що враховує відмінності між спектральними характеристиками каналів;

$R_X(\lambda)$ – безпосередні дані вимірювань спектрів;

$R_1(\lambda)$ – нормований спектр.

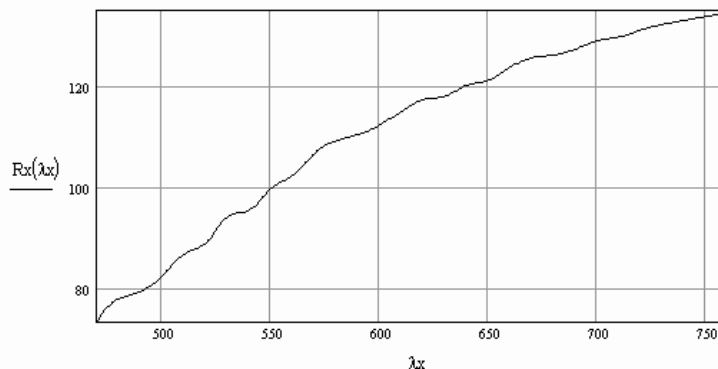


Рис. 2. Нормувальна характеристика отримана в результаті кубічної сплайн-апроксимації

Для зменшення випадкових похибок та впливу шумів у результатах експерименту використовують згладжування на основі розподілу Гауса (рис.1.), що дозволяє суттєво зменшити вплив шумів фотодіода:

$$R_2(\lambda) = ksmooth(\lambda, R_1(\lambda), \Delta\lambda), \quad (2)$$

де $ksmooth()$ – функція згладжування на основі розподілу Гауса;

$R_1(\lambda)$ – нормований спектр.

$\Delta\lambda$ – ширина вікна згладжування.

Результати обробки показано на рис.3-5.

Дослідження спектрів дифузного відбивання нормальних біотканин проводились на групі здорових реципієнтів – студентах-екологах ВНТУ у ході практичних робіт з дисципліни “Основи науково-дослідної роботи”, студентах ВНМУ ім.М.Пирогова у ході їх практики у Інституті реабілітації інвалідів [40-46]. Дослідження спектрів дифузного відбивання патологічних біотканин проводились на групі хворих системним червоним вовчаком, хворих з ампутованими кінцівками, хворих з травмами та гематомами різного роду. Досліджено особливості спектрофотометричних характеристик патологічних біотканин на прикладах кінетику деструкції гемоглобіну, онкопатології, поверхневих ушкоджень шкіри, давності нанесення травм, “Краш”-синдрому.

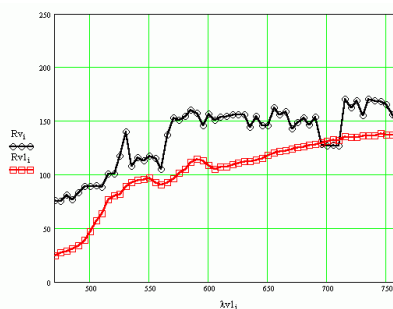


Рис. 3. Безпосередні дані вимірювань коефіцієнта дифузного відбивання шкіри руки (●●● – без пошкоджень, ■■■ – механічні пошкодження)

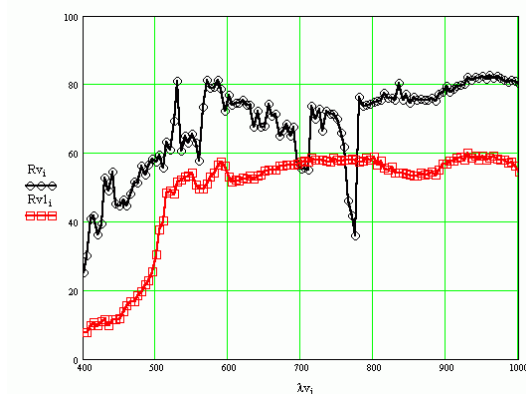


Рис. 4. Результати вимірювання, скоректовані згідно нормувальної характеристики, що враховує відмінності у спектральних характеристиках вимірювальних каналів

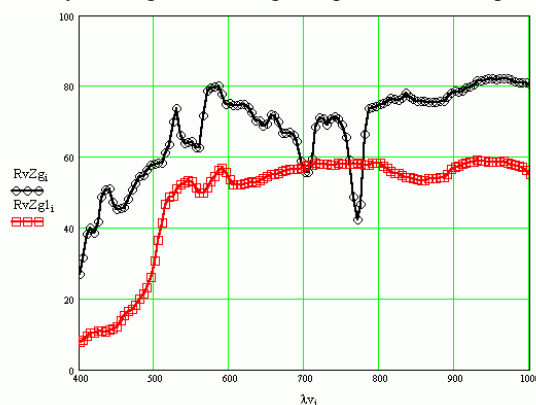


Рис. 5. Згладжений графік вимірювань

3. Розробка моделей спектрофотометричної діагностики біотканин на основі апарату нечіткої логіки

Надзвичайно важливою проблемою сучасної травматології є вивчення наслідків ампутації нижніх кінцівок при травмах, судинних захворюваннях, опіках, відмороженнях, цукровому діабеті. Основною проблемою є діагностування больового синдрому, що виникає в ампутуваних кінцівках, для подальшого проведення профілактики або лікування [36]. Одним із методів проведення безболісної неінвазивної діагностики є дослідження спектрофотометричних характеристик ділянок шкіри кукси ампутованої кінцівки. При цьому за допомогою пристрою [37] проводять вимірювання коефіцієнту дифузного відбивання на певних довжинах хвиль та порівняння отриманих результатів із відповідними значеннями, що прийняті за норму (проведення вимірювального контролю). В даній роботі пропонується експертна система, яка приймає діагностичне рішення на основі аналізу показників стану хворого (у тому числі й спектрофотометричних характеристик патологічних ділянок шкіри). Математична модель системи базується на теорії нечітких множин [35, 38].

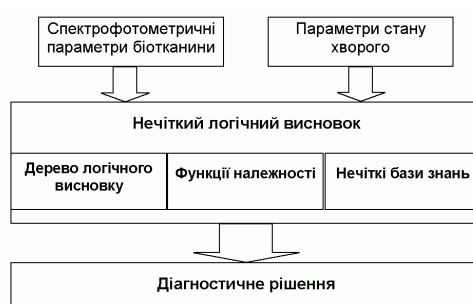
Така система може бути використана для інтелектуальної підтримки лікаря-травматолога при встановленні типу больового синдрому. Структура моделі прийняття діагностичного рішення експертною системою наведена на рис. 6 у вигляді дерева нечіткого логічного висновку.

Корінь дерева відповідає встановленому діагнозу і може приймати такі значення:

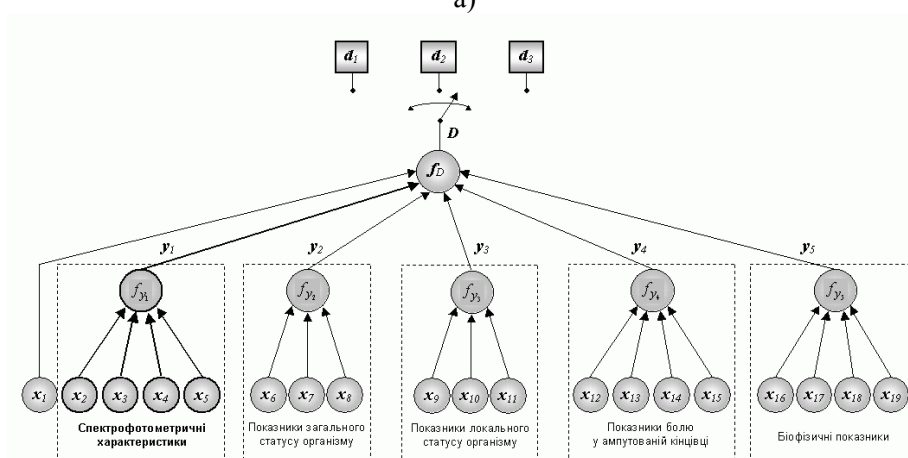
d_1 – хронічний компартмент синдром;

d_2 – міодистрофічний синдром ампутаційної кукки;

d_3 – ішемічний больовий синдром, обумовлений прогресуванням судинної патології.



а)



б)

Рис.6. Структура моделі прийняття діагностичного рішення експертною системою, де а) – модель прийняття діагностичного рішення, б) – дерева нечіткого логічного висновку.

Термінальними вершинами є показники стану об'єкту дослідження, на основі яких лікар приймає одне з можливих рішень $d_1 - d_3$. Показники стану розглядаються як лінгвістичні змінні $x_1 - x_{20}$ і є входними параметрами експертної системи. Вони приймають значення, що належать відповідним універсальним множинам, та оцінюються нечіткими термами. Вхідні

Таким чином, для того, щоб прийняти рішення про тип болювого синдрому, необхідно:

1. Задати значення вхідних параметрів системи (показників стану хворого);
2. Знайти функції належності нечітких термів для заданих значень вхідних параметрів;
3. Користуючись системою нечітких логічних рівнянь (9), знайти функції належності параметрів $y_1 - y_5$ та діагнозів $d_1 - d_3$, при цьому операція “ \vee ” відповідає знаходженню max, а операція “ \wedge ” min функцій належності.

У якості діагнозу обрати терм із множини $\{d_1, d_2, d_3\}$ з максимальним значенням функції належності.

Експертна система реалізована у пакеті Fuzzy Logic Toolbox системи MATLAB 5 [40]. Елементи системи на основі нечіткої логіки (визначення коефіцієнту спектрофотометричних показників, рівня загального статусу хворого, рівня локального статусу хворого, коефіцієнту показників болю, коефіцієнту біофізичних показників, загального діагностичного рішення) реалізовані окремими FIS-файлами.

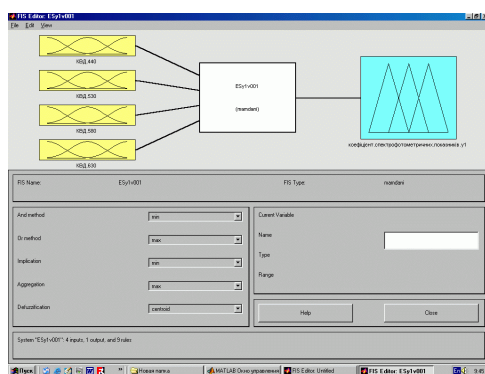


Рис.7. Елемент експертної системи на основі нечіткої логіки (спектрофотометричні характеристики)

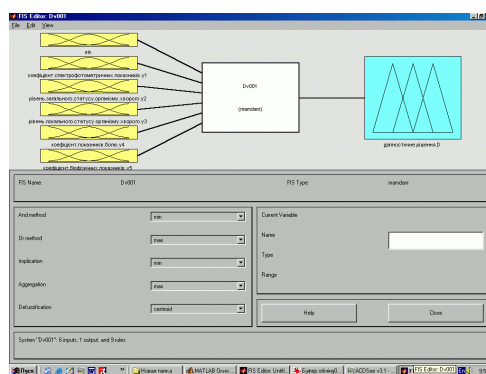


Рис.8. Об'єднана експертна системи на основі нечіткої логіки

Фазифікація вхідних даних здійснюється симетричними гаусівськими функціями належності (gaussmf), що описуються аналітичною формулою:

$$\mu(x) = e^{-\frac{(x-b)^2}{2c^2}}, \quad (10)$$

де b – параметр, який визначає зміщення вершини функції,
 c – параметр, який визначає ширину функції належності.

Використання цієї функції має такі переваги – функція у всій області визначення гладка і має ненульові значення. Дефазифікація для системи типу Мамдамі здійснена методом центру ваги. База даних спектрів дифузного відбивання біотканин та додаткових біомедичних показників підключається до експертної системи за допомогою інтерфейсної програми на Delphi, що перетворює табличні дані з бази даних до формату файлів *.mat. Введення та виведення даних, об'єднання різних блоків нечіткої логіки здійснено у пакеті

Simulink. Синтез нечітких правил та настройка вагових коефіцієнтів здійснюється за допомогою неймереж у програмі Deductor Studio 4.2.

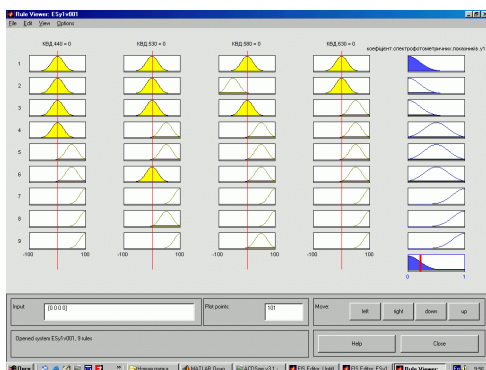


Рис.9. Вигляд системи нечітких правил експертної системи у Matlab

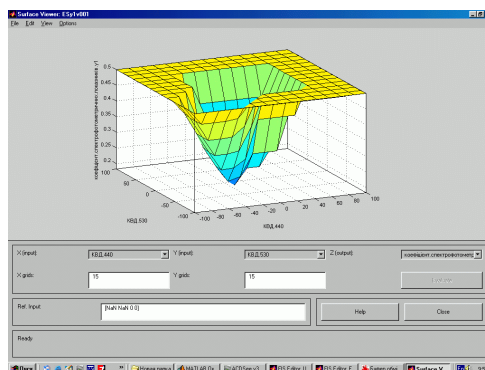


Рис.10. Поверхня залежності вихідних змінних від вхідних

Висновки

1. Проведено комплекс експериментальних досліджень спектрів дифузного відбивання нормальних та патологічних біотканин, а також синтез методик контролю основних оптичних параметрів та діагностики їх стану.
2. Досліджено особливості спектрофотометричних характеристик патологічних біотканин на прикладах кінетику деструкції гемоглобіну, онкопатології, поверхневих ушкоджень шкіри, давності нанесення травм, "Краш"-синдрому.
3. На основі експериментальних досліджень та розроблених методик здійснено діагностику нормальних та патологічних біотканин на основі апарату нечіткої логіки, що дозволило підвищити достовірність неінвазійної діагностики біотканин.
4. Розроблена методика спектрофотометричної неінвазійної діагностики нормальних та патологічних біотканин є основою для нових принципів діагностики стану біотканин, що дасть можливість їх застосовувати у відповідних галузях сучасної медицини.

Список використаних джерел

1. Ильина А.А. Спектры отражения кожи человека. – М.: ДАН СССР, 1947. – 49 с.
2. Терсков И.А., Сидько Ф.Я. Связь спектров отражения от тела человека со спектрами поглощения и отражения взвеси эритроцитов // Вопр. биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. – Красноярск. - 1960. – С. 47-49.
3. Buck C.B. Froelich H.C. Color characteristics of human complexions - // Illum Engng. 1948 Vol. 53.
4. Edwards E.A., Duntley S.Q. The pigments and color of living human skin // Amer J. Anat., 1939, Vol. 65, №1. - p. 1-33.

5. Goldzieher J.W., Roberts J.S., Rawis W.B. «Chemical» analysis of the intact skin by reflectance spectrophotometry // Arch. Dermat. Syph., 1951., Vol 64. - p. 533-548.
6. Андреюк Г.М., Кисилев П.А. Иницирование перекисного окисления липидов в результате превращения гемоглобина в гемохром под действие свободных жирных кислот // Биохимия. – 1988. - Т. 53, №6. – С. 1017-1024.
7. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перспективное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Медицина, 1972. – 217 с.
8. Филев Л.В., Емохин С.Ф., Захаров И.И. и др. Цитоспектрофотометрическое исследование гемоглобина в эритроцитах человека // Цитология. - 1989. – Т. 31, № 4. – С. 465-468.
9. Файн М.А. Морфологические особенности прижизненных и посмертных повреждений кожи // Сб. IX расширенной конф. Ленинградского отд. ВНОСНИК. - Л. - 1955. – С. 105-107.
10. Логвиненко А.Г., Туребаев О.Н. Исследование пятен крови методом колориметрии // Труды I Всесоюзного съезда судебных медиков. – К. - 1976. – С. 485-486.
11. Логвиненко А.Г. Спектры поглощения дериватов гемоглобина пятен крови // Суд.-мед. экспертиза. – 1986. – № 4. – С. 35-38.
12. Логвиненко А.Г., Логвиненко С.И. Спектрофотометрический метод определения оксигемоглобина в крови / Лаб. дело. – 1990. – № 3. – С. 42-43.
13. Туманов А.К., Гуров Ф.И. К возможности применения спектроотражения для решения вопроса о давности следов крови // Суд.-мед. Экспертиза. - 1973. – № 4. – С. 25-29.
14. Туребаев О.И. К установлению давности образования пятен крови // Суд.-мед. экспертиза. – 1985. – № 4. – С. 29-30.
15. Туребаев О.И. Определение давности образования пятен крови по спектрам поглощения метгемоглобина. // Суд.-мед. Экспертиза. - 1986. – № 4. – С. 44-45.
16. Chisolm J.J. Defects in hem pigment metabolism // Nelson textbooh of pediatrics 14 th ed New Jork, 1992. - p. 384 - 900.
17. Trbojeric - Cepe M., Vogrinc Z., Brinam. V., Diagnostic significance of metphaemoglobin determination in colories cerebrospinal fluid // Clinical Chemistry Vol. 38 (8 pt 1) - 1992. - p. 1404-1408.
18. Королевич А.Н., Олейник Т.В., Севковский Я.И. Особенности спектров диффузного отражения и пропускания нормальных и опухолевых тканей. // Журнал прикладной спектроскопии. – 1993. - Т.18, №5(6). – С. 555-559.
19. Науменко Е.И. Выбор длин волн для устойчивого определения концентраций производных гемоглобина по спектрам поглощения эритроцитов // Журнал прикладной спектроскопии. – 1996. – Т.63, № 1. – С. 60-66.
20. Хайруллина А.Я. Оптические и биофизические параметры биотканей в норме и патологии, методы их определения в видимой и ближней ИК-

- областях спектра, основанные на миократном рассеянии // Инж.-физ. Журнал. - 1996. – Т.69, № 3. – С. 390-398.
21. Гладков А.А. Люминисцентный анализ в медицине. – Кишинев, 1958. – 302 с.
 22. Черницкий Е.А., Слобожанина Е.И. Спектральный люминесцентный анализ в медицине. – Минск: Наука и техника, 1989. – 142 с.
 23. Мещлер Д. Биохимия: Химические реакции в живой клетке. - Т.3 – М.: Мир, 1980.
 24. Громов А.П., Науменко В.Г. Судебно-медицинская травматология. – М.: «Медицина», 1977. – 368 с.
 25. Suzuki T. Application of Microspectrophotometric method for Estimating the Survival Time After Receiving injury to Medicolegove Practice. // J. exp. Med., Tohoku 1973, III, 2. - p. 201-202.
 26. Моканюк А.И., Козлова С.А. Установление прижизненности странгуляционной борозды методом абсорбционной спектрофотометрии // Актуальные вопросы теории и практики судебной медицины. – К. - 1991. – С. 58-59.
 27. Моканюк А.И., Козлова С.А., Смолинский Е.С. Диагностика прижизненности возникновения ран по оптическим характеристикам травмированной кожи // Криминалистика и судебная экспертиза. – К. – 1990. - Вып. 42 – С. 120-123.
 28. Ломовцева Л.М. Диагностика прижизненности повреждений мягких тканей методом ИК-спектроскопии // Вопросы суд.-мед. экспертизы и практики. – Чебоксары - Горький. - 1980. – С. 79-80.
 29. Назаров Г.П. О диагностике прижизненных и посмертных кровоподтеков методом ИК-спектроскопии // Сб. трудов науч. общества судебных медиков Литовской ССР. – Каунас. - 1973. – №3. – С. 184-186.
 30. Barsley R.E., West M.H., Fair J.A. Forensic photography. Ultraviolet imaging of wounds on skin.// Am. J. Forensic Med. Pathol. 1990 Dec; 11(4): p. 300-308.
 31. Klein A., Schweitzer D., Schotte J., wol. f. c. Spektrometrie zur Hamotomaltersbestimmung beim Lebenden // Beitrage rw Gerichtlichen Medizin, Vol. 50, 1992. - p. 235-240.
 32. Trujillo O., Vanezis P., Cermignani M. Photometric assessment of skin colour and lightness using a tristimulus colorimeter: reliability of inter and intra-investigator observations in healthy adult volunteers.// Forensic Sci. Int. 1996 Jul. 31;81(1): p.1-10.
 33. Туманова Н.А. Диагностика прижизненности травматизации меченых тканей при экспертизе гнилостно измененного трупа. Автореф. дис... канд. мед. наук. – М., 1983. – 24 с.
 34. Концевич И.А., Михайличенко Б.А. Перспективы дальнейшей разработки проблемы диагностики прижизненности травмы по физиологически активным веществам // Актуальные вопросы теории и практики судебной медицины. – Киев. – 1991. – С. 19-20.
 35. Ротштейн А.П. Медицинская диагностика на нечеткой логике.–Винница: Континент–ПРИМ, 1996.–132 с.

36. Бенсман В.М., Галенко-Ярошевский П.А., Мехта С.К., Триандафилов К.В. Предотвращение ампутации конечностей у больных с осложнением диабетической стопы // Хирургия, 1999. - №10. – С. 49 – 52.
37. Патент України №46340А. Пристрій для неінвазивної оптичної діагностики матеріалів біомедичного походження/ Петрук В. Г., Черноволик Г. О., Васильківський І. В., Томчук М., А. // Бюл. Держпатенту України. – 2002 р.
38. Кофман А. Введение в теорию нечётких множеств. – М.: Радио и связь. – 1982. – 432с.
39. Ротштейн О.П., Черноволик Г.О., Ларюшкин Є.П. Метод побудови функцій належності нечітких множин // Вісник ВПІ. – 1996. - №3. – С.30-37.
40. Петрук В., Иванов А., Барун В., Кватернюк С., Черноволик Г. Комп'ютерно-вимірjuвальна система діагностики стану нормальних і патологічних біотканин за спектрами їх дифузного відбивання. ІНТЕРНЕТ-ОСВІТА-НАУКА-2006, п'ята міжнародна конференція ІОН-2006, 10-14 жовтня, 2006. Збірник матеріалів конференції. Том 1. – Вінниця: УНІВЕРСУМ-Вінниця, 2006. – С. 118-120.
41. Петрук В.Г., Кватернюк С.М., Черноволик Г.О., Иванов А.П., Барун В.В. Модернізація інтерактивних оптичних засобів для діагностики фізіологічного стану людини на основі спектрофотометрії та лазерної поляриметрії // Збірник матеріалів МНПК “І-й Всеукраїнський з'їзд екологів”, 4-7 жовтня 2006 р. – С.181.
42. Петрук В.Г., Кватернюк С.М., Черноволик Г.О. Методика нормування експериментальних результатів вимірювань спектрів дифузного відбивання // Збірник матеріалів XIII міжнародної конференції з автоматичного управління, 25-28 вересня 2006 р.– С.177.
43. Петрук В.Г., Кватернюк С.М., Черноволик Г.О., Иванов А.П., Барун В.В. Розробка нових принципів діагностики стану нормальних і патологічних біотканин за спектрами їх дифузного відбивання. // Збірник матеріалів XIII міжнародної конференції з автоматичного управління, 25-28 вересня 2006 р. – С.178.
44. Петрук В.Г., Барун В.В., Иванов А.П., Кватернюк С.М. Разработка портативного измерителя коэффициента диффузного отражения света биологическими тканями // Альманах клинической медицины. 2006. Т.ХІІ. С.27.
45. Петрук В. Г., Черноволик Г. О., Кватернюк С. М., Иванов А. П., Барун В. В. Контрольно-вимірjuвальна система для дослідження оптичних параметрів біотканин // Вісник ВПІ, №5, 2006.
46. Петрук В., Кватернюк С., Черноволик Г., Иванов А., Барун В. Розробка нових принципів діагностики стану нормальних і патологічних біотканин за спектрами їх дифузного відбивання // Вісник ВПІ, №6, 2006.