

# Методи дослідження

УДК 611.73.018:[535.361+535.51]

О.Г. Ушенко\*, Т.М. Бойчук, О.Ю. Новаковська\*, П.М. Григоришин

## ЛАЗЕРНА ПОЛЯРИМЕТРИЧНА ОЦІНКА СТРУКТУРИ МЕРЕЖІ МІОЗИНОВИХ ФІБРИЛ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ

\*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, м. Чернівці  
Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Резюме.** Аналізуються розподіли поляризаційно-кореляційної структури зображення, просторово-орієнтаційні структури "поляризофот" еліптичності, включаючи сингулярні "поляризофоти", координатну структуру двовимірної автокореляційної функції для поляризаційної мапи еліптичності лазерного зображен-

ня, проведено статистичний аналіз мюллер-матричних зображень структури мережі міозинових фібрил м'язової тканини.

**Ключові слова:** лазерна поляриметрія, м'язова тканина.

**Вступ.** Поляризаційно-кореляційний підхід успішно використовують до аналізу просторово-координатних розподілів полів когерентного випромінювання, кореляційних взаємозв'язків між фазовими зсувами та поляризаційно-сингулярними станами різних точок лазерних зображень [1]. Існує можливість використання таких параметрів в описанні оптичної анізотропії двопротенезаломлюючих мереж біологічних тканин на основі кореляційного аналізу координатних розподілів елементів матриці Мюллера – мюллер-матричних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин різної морфологічної будови та фізіологічного стану [2, 3]. Разом з тим, поляризаційна корелометрія потребує подальшого розвитку. У першу чергу, для розширення функціональних можливостей діагностики оптичної анізотропії біологічних шарів потрібний синтез як статистичного (одноточкового), так і кореляційного (двоточкового) напрямків аналізу топографічної структури мюллер-матричних зображень і полів лазерного випромінювання, перетвореного мережами біологічних кристалітів [4-6].

**Матеріал і методи.** Об'єктами дослідження нами обрано мікропрепарати м'язової тканини в

нормі (16 зразків) і за патології (14 зразків) товщиною 15 мкм. Експериментальні зразки виготовлялися на заморожувальному мікротомі при азотних температурах. У роботі використовувалася мюллер-матрична поляриметрія (визначалися координатні розподіли параметрів вектора Стокса та елементів матриць Мюллера шарів біологічних тканин); сингулярного аналізу (визначалися координатні сітки характеристичних значень параметрів вектора Стокса і елементів матриці Мюллера), статистичного аналізу (визначалися статистичні моменти 1-4-го порядків, які характеризують розподіли кількості характеристичних значень); лазерна поляриметрія.

Оптична схема вимірювання координатного розподілу двоточкових кореляційних параметрів об'єктних полів і параметрів оптичної анізотропії полікристалітних мереж шару біологічної тканини зображено на рис. 1.

Опромінювання проводиться колімованим пучком (радіус  $r=10^4$  мкм) He-Ne лазера  $l = 0,6328$  мкм. За допомогою поляризаційного освітлювача (чвертьхвильові пластинки 3, 5 і поляризатор 4) формувалися відповідні стани поляризації освітлюючого пучка: 1 –  $0^0$ ; 2 –  $90^0$ ; 3 –  $45^0$ ;

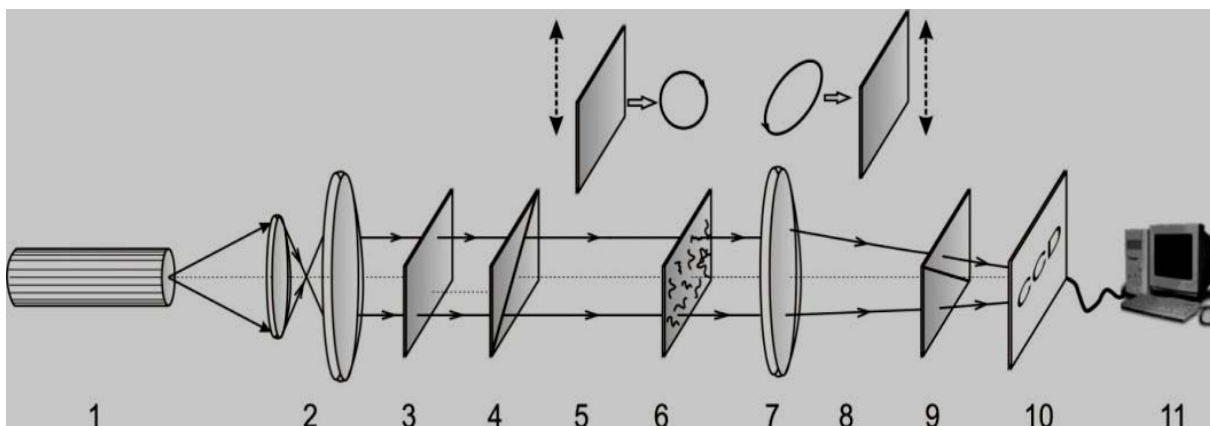


Рис. 1. Схема поляриметра: 1 – He-Ne лазер; 2 – коліматор; 3 – стаціонарна чвертьхвильова пластинка; 5, 8 – механічно рухомі чвертьхвильові пластинки; 4, 9 – поляризатор і аналізатор відповідно; 6 – об'єкт дослідження; 7 – мікрооб'єктив; 10 – CCD камера; 11 – персональний комп'ютер

4 – ⊗ (права циркуляція). Поляризаційні зображення гістологічного зрізу зразка формувались у площині світлочутливої площини (800x600) CCD камери 10 за допомогою мікрооб'єктива 7. Аналіз зображень гістологічних зрізів біологічних тканин проводився системою чвертьхвильовою пластинкою 8 – поляризатор 9.

Методика визначення координатного розподілу поляризаційних сингулярностей і комплексний ступінь взаємної поляризації зображення біологічної тканини полягала в такій послідовності дій.

1. За допомогою CCD-камери 10 (за відсутності аналізатора 9) вимірювався координатний розподіл інтенсивності лазерного зображення

$$I \begin{pmatrix} r_{11} & \dots & r_{1m} \\ \dots & \dots & \dots \\ r_{n1} & \dots & r_{nm} \end{pmatrix} \text{ біологічної тканини.}$$

2. Установлювався аналізатор 9, площина пропускання якого послідовно орієнтувалася під кутами  $\Theta = 0^0$  і  $\Theta = 90^0$  і вимірювалися масиви значень інтенсивності

$$I^{(0)} \begin{pmatrix} r_{11} & \dots & r_{1m} \\ \dots & \dots & \dots \\ r_{n1} & \dots & r_{nm} \end{pmatrix}; I^{(90)} \begin{pmatrix} r_{11} & \dots & r_{1m} \\ \dots & \dots & \dots \\ r_{n1} & \dots & r_{nm} \end{pmatrix}$$

3. Змінюючи положення площини пропускання аналізатора 9 у межах  $\Theta = 0 \Rightarrow \pi$  визначали значення мінімальних і максимальних рівнів інтенсивності зображення для кожного окремого пікселя  $(n \times m)$  CCD-камери

$$I \begin{pmatrix} r_{11} & \dots & r_{1m} \\ \dots & \dots & \dots \\ r_{n1} & \dots & r_{nm} \end{pmatrix}; I \begin{pmatrix} r_{11} & \dots & r_{1m} \\ \dots & \dots & \dots \\ r_{n1} & \dots & r_{nm} \end{pmatrix}$$

і відповідні їм кути повороту площини пропускання аналізатора.

4. Розраховували координатні розподіли станів поляризації світлових коливань зображення біологічної тканини.

5. Отримували карту однократно вироджених (лінійно-поляризованих) сингулярних точок

$$\beta \begin{pmatrix} r_{11} & \dots & r_{1m} \\ \dots & \dots & \dots \\ r_{n1} & \dots & r_{nm} \end{pmatrix} = 0.$$

6. Отримували карту дворазово вироджених (циркулярно поляризованих) сингулярних точок.

На основі отриманих даних обчислювали координатні розподіли значень азимута  $a(m'n)$  і еліптичності  $b(m'n)$  поляризації, а також двовимірні розподіли фазових зсувів  $j(m'n)$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.**

Дані експериментального дослідження координатного розподілу еліптичності поляризації точок зображення гістологічного зрізу м'язової тканини наведені на рис. 2.

Координатний розподіл  $b(x,y)$  містить систему просторово зорієнтованих уздовж певного геометричного напрямку “поляризофот” еліптичності. З морфологічного погляду така тканина являє собою сукупність упорядкованих уздовж певного просторового напрямку міозинових фібрил. З оптичного погляду, фібрили, маючи коаксіальну циліндричну форму, володіють властивостями оптично одноосних двоприменезаломлюючих кристалітів. Напрямок оптичних осей такої полікристалітної мережі визначається напрямками укладання міозинових фібрил у площині гістологічного зрізу. Наявність певного розкиду кутових орієнтацій таких “поляризофот” (рис. 2 – ліва частина) можна пов'язати з відсутністю строго визначеного напрямку укладання двоприменезаломлюючих міозинових фібрил у зразку реальної м'язової тканини.

Просторово-орієнтаційну структуру “поляризофот” еліптичності, включаючи сингулярні поляризофоти, ілюструє рис. 3.

З одержаних даних видно, що практично всі сингулярні “поляризофоти” являють собою лінії, близькі до прямих, орієнтація яких збігається з напрямками укладання циліндричних міозинових фібрил.

Координатна неоднорідність розподілу величини еліптичності поляризації зображення гістологічного зрізу м'язової тканини виявляється і в побудові відповідної двовимірної автокореляційної функції, яка наведена на рис. 4.

Кореляційний аналіз поляризаційної мапи еліптичності зображення гістологічного зрізу м'язової тканини виявив швидке спадання відно-

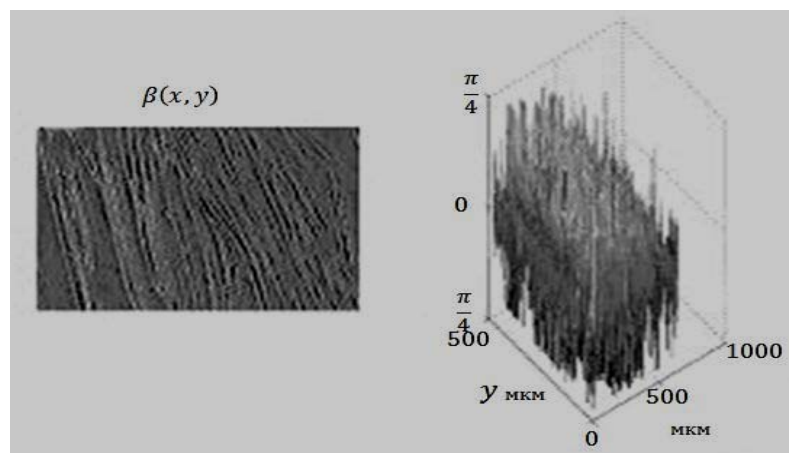


Рис. 2. Координатна (ліва частина) та кількісна (права частина) структура поляризаційної мапи еліптичності зображення гістологічного зрізу м'язової тканини для плоскополяризованого зондуючого пучка з азимутом  $\alpha=45^\circ$

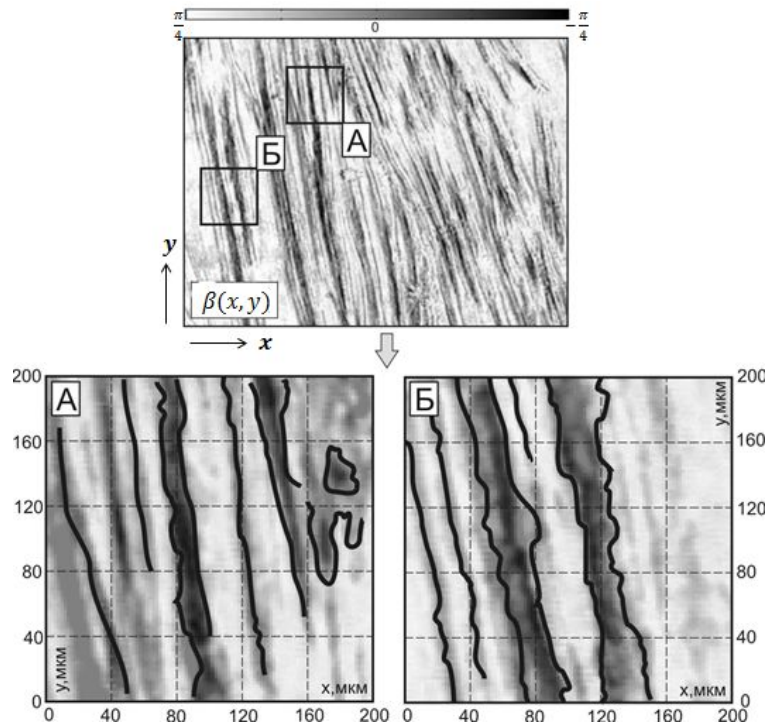


Рис. 3. Поляризофотії еліптичності зображення міозинової фібрилярної мережі

А і Б – масштабовані фрагменти структури сингулярних “поляризофот”

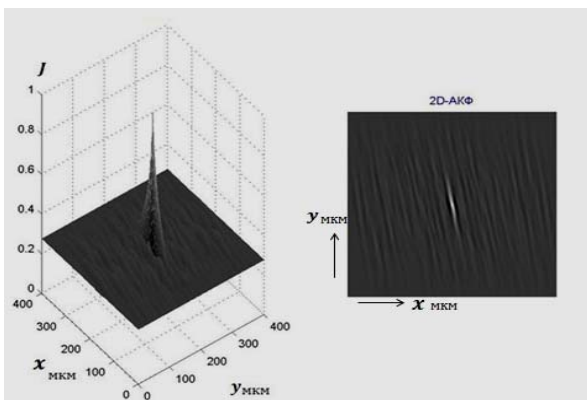


Рис. 4. Двовимірною автокореляційною функцією (АКФ) (ліва частина) її відносних значень, одержаних для поляризаційної мапи еліптичності зображення гістологічного зрізу м’язової тканини

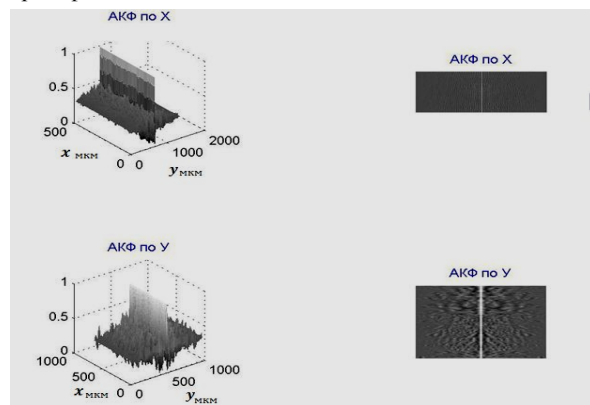


Рис. 5. Ортогональні автокореляційні функції (ліва колонка) та координатні розподіли їхніх відносних значень (права колонка) визначені для поляризованої мапи еліптичності зображення полікристалітної мережі впорядкованих міозинових фібрил

**Таблиця**

**Статистичні моменти 1-4-го порядків муллер-матричних зображень  $m_{44}(x,y)$  міозинових фібрил м’язової тканини у нормі та патології**

$Z_{i=1,2,3,4}$	$N^{(1)}(x)=(N^{(1)},N^{(2)}, \dots, N^{(m)})$		$N^{(0)}(x)=(N^{(1)},N^{(2)}, \dots, N^{(m)})$	
	Норма (16 зразків)	Пухлина (14 зразків)	Норма (16 зразків)	Пухлина (14 зразків)
$Z_1$	0,73±0,11	0,09±0,01	0,075±0,0088	0,31±0,047
$Z_2$	0,12±0,019	0,23±0,033	0,37±0,054	0,19±0,028
$Z_3$	0,16±0,017	0,29±0,044	0,098±0,011	0,58±0,077
$Z_4$	0,24±0,031	0,68±0,098	0,17±0,025	0,89±0,14

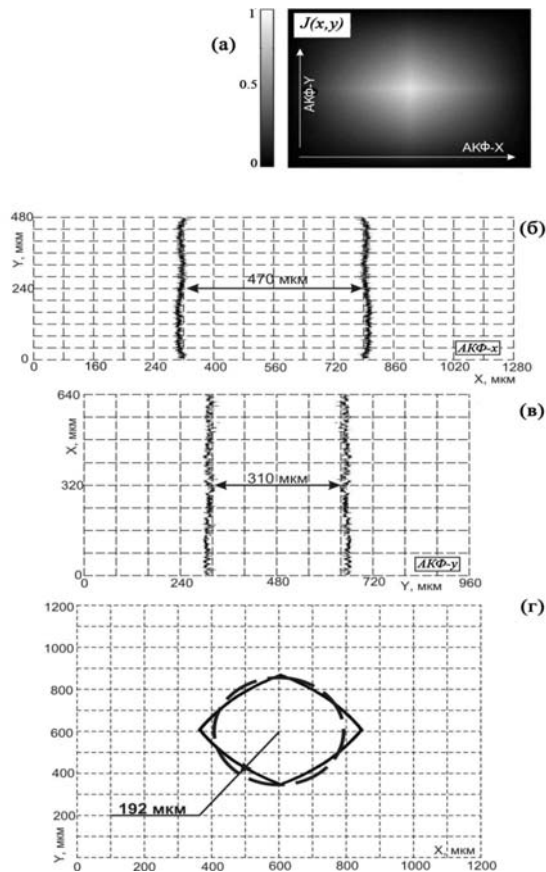


Рис. 6. Координатна структура двовимірної автокореляційної функції (а); лінії півширини ортогональних автокореляційних функцій (б), (в); кореляційний топографічний контур (г)

сних значень відповідної автокореляційної залежності зі збільшенням координати зсуву.

Даний факт указує на більш виразний вплив статистичної компоненти поляризаційного розподілу значень еліптичності, який формується за рахунок низки фізичних факторів:

- дисперсії орієнтації оптичних осей міозинових фібрил, яка призводить до розширення та швидшої координатної зміни величини еліптичності поляризації в площині зображення;
- дисперсії поперечних геометричних розмірів двопронезаломлюючих міозинових фібрил, яка формує складнішу двопронезаломлюючу частотно-фазову модуляцію порівняно з модельними розрахунками;
- актив багатократної взаємодії лазерного випромінювання із парціальними фібрилами, що призводить до усереднення локальних величин еліптичності точок зображення.

Складна координатна та кореляційна структури поляризаційних мап еліптичності зображення реальної полікристалітної мережі впорядкованих фібрил ілюструють ортогональні автокореляційні функції, визначені у двох взаємно перпендикулярних напрямках поляризаційної мапи еліптичності зображення експериментального зразка (рис. 5).

Можливості визначення поляризаційно-топографічного контура мапи еліптичності зображення гістологічного зрізу м'язової тканини ілюструють дані кореляційного аналізу (рис. 6).

З одержаних даних можна констатувати, що складним поляризаційним проявам топографічної побудови мережі двопронезаломлюючих міозинових фібрил можна поставити у відповідність достатньо простий поляризаційно-кореляційний контур, параметри якого можуть бути використані як у діагностиці, так і в диференціації анізотропії мереж біологічних кристалітів інших типів, зокрема сформованих криволінійними фібрилами.

Для міозинових фібрил м'язової тканини у нормі та патології виявлені статистичні моменти 1-4-го порядків, які характеризують розподіли значень  $N^{(0)}(x) = (N^{(1)}, N^{(2)}, \dots, N^{(m)})$  і  $N^{(1)}(x) = (N^{(1)}, N^{(2)}, \dots, N^{(m)})$  мюллер-матричних зображень  $m_{44}(x, y)$  (табл.)

Отже, найбільш інформативні для діагностики є статистичні моменти 3-4-го порядків.

### Висновки

1. Виявлено умови формування “поляризофот” поляризаційно-сингулярних станів у зображенні оптично-анізотропних мереж і виявлено взаємозв'язок між топографічними розподілами станів та орієнтаційно-фазовими параметрами полікристалітних структур.

2. Запропоновано метод крос-кореляційного аналізу поляризаційних мап оптично-анізотропних мереж і уведено новий параметр – кореляційний контур – для характеристики координатних розподілів параметрів поляризації.

**Перспективи подальших досліджень.** Використання сингулярно-параметричного підходу до аналізу мюллер-матричних зображень м'язової тканини сфінктерів травної системи для диференціації їхніх поляризаційних властивостей.

### Література

1. Тучин В.В. Лазеры и волоконная техника в биомедицинских исследованиях / В.В. Тучин. – Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1998. – 384 с.
2. Fercher A.F. Optical coherence tomography / A.F. Fercher. // J. Biomed. Opt. – 1996. – Vol. 1. – P. 157-173.
3. Polarization effects in optical coherence tomography of various biological tissues / J.F. de Boer, S.M. Srinivas, B.H. Park [et al.] // IEEE J. Select. Top. Quant. Electr. – 1999. – Vol. 5. – P. 1200-1204.
4. Лазерна поляриметрична діагностика в біології та медицині / [В.П. Пішак, О.Г. Ушенко, О.В. Ангельський, С.Б. Єрмоленко та ін.]; за ред. В.П. Пішака та О.Г. Ушенка. – Чернівці: Медакадемія, 2000. – 305 с.
5. Лазерна поляризаційна морфологія біологічних тканин: статистичний і фрактальний підходи / [О.Г. Ушенко, В.П. Пішак, О.В. Ангельський, Ю.О. Ушенко]. – Чернівці: Колір-Друк, 2007. – 314 с.
6. Novakovska O.Yu. Polarization correlometry of characteristic states of Müller-matrix images of phase-inhomogeneous biological layers / O.Yu. Novakovska // Semicond. Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics. – 2012. – Vol. 3, № 3. – P. 248-258.

**ЛАЗЕРНАЯ ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СТРУКТУРЫ СЕТИ МИОЗИНОВЫХ  
ФИБРИЛЛ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ***А.Г. Ушенко, Т.Н. Бойчук, О.Ю. Новаковская, П.М. Григоришин*

**Резюме.** Анализируются распределения поляризационно-корреляционной структуры изображения, пространственно-ориентационные структуры "поляризофот" эллиптичности, включая сингулярные "поляризофоты", координатную структуру двумерной автокорреляционной функции для поляризационной карты эллиптичности лазерного изображения, проведен статистический анализ мюллер-матричных изображений структуры сети миозиновых фибрилл мышечной ткани.

**Ключевые слова:** лазерная поляриметрия, мышечная ткань.

**LASER POLARIMETRIC ASSESSMENT OF THE NETWORK STRUCTURE  
OF THE MUSCULAR TISSUE MYOSIN FIBRILS***A.G. Ushenko, T.M. Boichuk, O.Yu. Novakovska, P.M. Grygoryshyn*

**Abstract.** The authors analyze the distributions of the polarization-correlation structure of the image, the spatial-orientating structures of "polarizophot" ellipticity, including singular "polarizophots", the coordinate grid of the two-dimensional autocorrelation function for the polarization of the laser ellipticity card image, a statistical analysis of the Müller-matrix images of the network structure of the muscular tissue myosin fibrils has been carried out.

**Key words:** laser polarimetry, muscular tissue.

Yurii Fed'kovych National University (Chernivtsi)  
Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. М.В. Шаплавський

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 214-218

Надійшла до редакції 16.07.2013 року