

УДК 616-073.086.2

О. П. Антонюк  
Т. М. Бойчук  
О. Г. Ушенко<sup>1</sup>  
О. В. Дуболазов<sup>1</sup>

## ВИКОРИСТАННЯ ЛАЗЕРНОЇ ПОЛЯРИМЕТРІЇ ДЛЯ АНАЛІЗУ СТРУКТУРИ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН

Буковинський державний медичний  
університет, м. Чернівці  
<sup>1</sup> - Чернівецький національний  
університет імені Юрія Федьковича,  
м. Чернівці

**Ключеві слова:** лазерна поляриметрія, стравохід, новонароджені.

**Резюме.** Робота спрямована на дослідження можливостей Мюллер-матричної діагностики лазерної анізотропії двопробневозаломлюючих мереж біологічних тканин людини. Визначено взаємозв'язки між статистичними моментами 1-4-го порядків і фрактальними розмірностями, які характеризують координатні розподіли елементів матриці Мюллера тканин у нормі і при атрезії стравоходу новонароджених.

### Вступ

Серед різнопланових напрямків оптичної діагностики структури фазово-неоднорідних шарів значний розвиток отримала Мюллер-матрична поляриметрія лазерної анізотропії біологічних тканин людини [1-3]. Векторний підхід до досліджень морфологічної структури та фізіологічного стану створив фундамент, зокрема, для розвитку модельних уявлень про будови біологічних тканин. Біологічна тканина розглядається як двох компонентна аморфно-кристалічна структура-матриця. Аморфна компонента – жири, ліпіди, неструктуровані білки, тощо є поляризаційно-ізотропна (оптично неактивна). Кристалічна компонента – колагенові білки, міозин, тощо – є просторово зорієнтованими дапроменезаломлюючими протеїновими фібрилами. Метод поляризаційної візуалізації архітектонічної структури біологічної тканини різного морфологічного типу дозволяє впровадити статистичний аналіз координатних розподілів поляризаційних параметрів полів розсіяного лазерного випромінювання [4-6].

### Мета дослідження

Розробка методу Мюллер-матричної діагностики оптико-анізотропної структури тканин організму людини і визначення статистичних і фрактальних критеріїв трансформації, обумовленої патологічними змінами, а саме атрезією стравоходу в новонароджених.

### Матеріал і методи

За допомогою заморожуючи мікротомом МЗ-2, за класичною методикою, виготовлялися гістологічні препарати товщиною  $20 \pm 2$  мкм для по-

дальшої верифікації діагнозу. Для аналізу лазерних поляриметричних зображень обрані зразки в нормі і при атрезії стравоходу трупів новонароджених. Кількість препаратів 37.

В основу диференціювання оптичних властивостей тканин у нормі та за атрезії стравоходу покладена модель, що характеризується статистичним та фрактальним аналізом Мюллер-матричних зображень.

Класифікація координатних розподілів проводилася відповідно до наступних критеріїв:

-  $Z_{i,k}(x,y)$  – фрактальні або самоподібні, за умови  $z = \text{const}$  (кути нахилу) в межах двох-трьох декад зміни геометричних розмірів  $d$ ;

-  $Z_{i,k}(x,y)$  – мультифрактальні, за умови наявності декількох постійних кутів нахилу  $\eta = \text{const}$ ;

-  $Z_{i,k}(x,y)$  – статистичні або випадкові, за умови  $\eta \neq \text{const}$  у всьому інтервалі зміни  $d$ .

Фрактальний аналіз розподілів здійснюється шляхом знаходження логарифмічних залежностей  $\log J(Z_{i,k}) - \log d^{-1}$  – спектрів потужності  $J(Z_{i,k})$ :

$$J(Z_{i,k}) = \int_{-\infty}^{+\infty} Z_{i,k} \cos 2\pi\nu \cdot d\nu$$

Залежності  $\log J(Z_{i,k}) - \log d^{-1}$  апроксимувались методом найменших квадратів в кривій  $\Phi(\eta)$  для прямих ділянок, яких визначалися кути нахилу і відповідна їм фрактальна розмірність  $D=3 - \text{tg } \eta$ .

Статистичні моменти 1-4-го порядків, які характеризують розподіли, розраховується зі співвідношень [3, 5]:

$$M_1 = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m |Z_{i,k}|, \quad M_2 = \sqrt{\frac{1}{m} \sum_{i=1}^m Z_{i,k}^2}, \quad M_3 = \frac{1}{M_2^3} \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m Z_{i,k}^3, \quad M_4 = \frac{1}{M_2^4} \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m Z_{i,k}^4.$$

На рис. 1 наведена оптична схема поляриметра для вимірювання координатних розподілів елементів матриці Мюллера або Мюллер-матричних зображень.

Освітлення зразків тканин стравоходу проводилося паралельним ( $r = 2 \times 103$  мкм) слабоінтенсивним ( $W = 5$  мВт) пучком He-Ne лазера ( $\lambda = 0,6328$  мкм). Поляризаційний освітлювач складається з чвертьхвильових пластинок 5 і 8 і поляризатора 4, що забезпечує формування лазерного пучка з довільним азимутом і еліптичності поляризації.

Досліджуваний зразок тканини стравоходу послідовно зондується лазерним пучком із наступними типами поляризації: лінійна з азимутами  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $+45^\circ$ , ліва і права циркуляції. Поляризаційні зображення за допомогою мікрооб'єктив проєктувалися в площину світлочутливої площадки (пікселів) CCD-камери 10. Аналіз поляризаційних зображень здійснюється за допомогою поляризатора 4 і чвертьхвильової пластинки 8, які фіксуються в комп'ютері 11.

Розрахунок елементів матриці Мюллера досліджуваних зразків проводиться відповідно з наступним алгоритмом:

$$J(Z_{ik}) = \int_{-\infty}^{+\infty} Z_{ik} \cos 2\pi v \cdot dv$$

$$M_1 = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m |Z_{ik}|, \quad M_2 = \sqrt{\frac{1}{m} \sum_{i=1}^m Z_{ik}^2}, \quad M_3 = \frac{1}{M_2^3} \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m Z_{ik}^3, \quad M_4 = \frac{1}{M_2^4} \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m Z_{ik}^4.$$

Позначення:

$I_0$  – інтенсивність лазерного випромінювання, яке пройшло крізь співвісні аналізатор та поляризатор ( $0^\circ$ );

$I_{90}$  – інтенсивність лазерного випромінювання, яке пройшло крізь схрещені аналізатор та поляризатор ( $90^\circ$ );

$I_{45}$  – інтенсивність лазерного випромінювання, яке пройшло крізь аналізатор та поляризатор, які повернуті на кут  $45^\circ$  один відносно одного;

$I_{135}$  – інтенсивність лазерного випромінювання, яке пройшло крізь аналізатор та поляризатор, які повернуті на кут  $135^\circ$  один відносно одного;

$I_{\odot}$  – інтенсивність лазерного випромінювання з правою циркуляцією;

$I_{\oplus}$  – інтенсивність лазерного випромінювання з лівою циркуляцією;

$S_1$ ;  $S_2$ ;  $S_3$ ;  $S_4$  - 1-й, 2-й, 3-й та 4-й параметри вектора Стокса;

$Z_{i,k}$  – елементи матриці Мюллера.

Предметом статистичного та фрактального аналізу були три типи Мюллер-матричних зображень  $Z_{i,k}$  ( $m \times n$ ) тканин стравоходу людини різного фізіологічного стану.

Перший тип – координатні розподіли діагональних елементів матриці Мюллера  $Z_{22,33}$  ( $m \times$

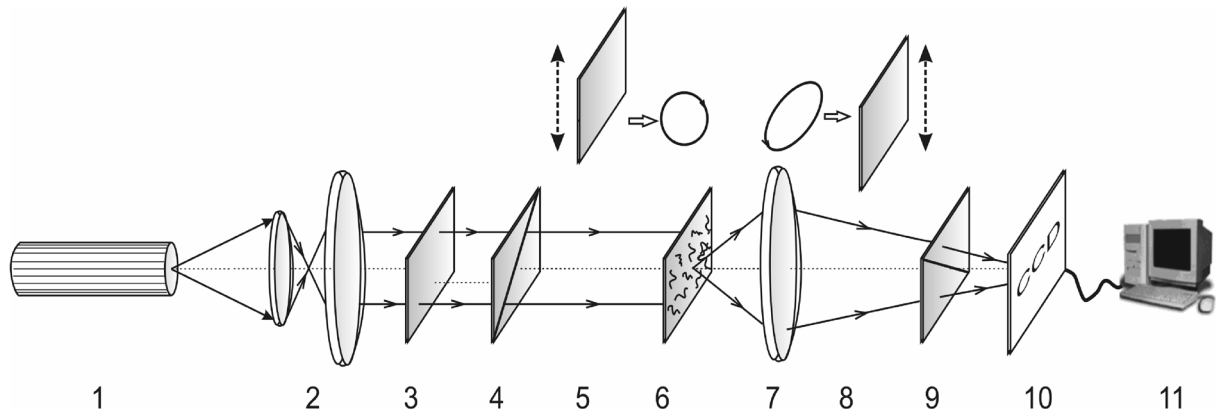
$n$ ), що характеризують ступінь перетворення азимута поляризації лазерного хвилі колагеновими волокнами тканин, оптичні вісі яких орієнтовані в двох взаємно перпендикулярних відповідно. У цьому сенсі такі матричні елементи називаємо “орієнтаційними”.

Другий тип – координатні розподіли діагонального матричного елемента  $Z_{44}$  ( $m \times n$ ), величина якого визначається фазовими зрушеннями між ортогональними компонентами амплітуди лазерного хвилі, що виникають за рахунок двопроменезаломлення колагенових волокон тканин. У цьому сенсі даний елемент матриці Мюллера будемо називати “фазовим”.

Третій тип – координатні розподіли недіагональних елементів матриці Мюллера  $Z_{22,33}$  ( $m \times n$ ), що характеризують механізми взаємних перетворень лінійної поляризації в еліптичну, і навпаки. Такі матричні елементи називаємо “орієнтаційно-фазовими”.

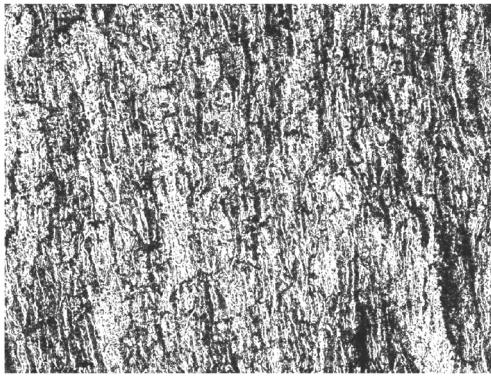
### Обговорення результатів дослідження

Дослідження будови стінок стравоходу виконували в ділянці атрезії, преатретичного (проксимального) та постатретичного (дистального) сегментів. Зміни анатомічної будови стінки стравоходу при атрезії локалізуються не тільки в ділянці атрезії, але й охоплюють суміжні сегменти стравоходу преатретичному (проксимальному) (рис. 2). Ступінь змін будови стравоходу залежить також від ділянки, де локалізована атрезія. У преатретичному сегменті стравоходу виявляються множинні ознаки декомпенсації пристосувальних механізмів: значна гіпертрофія м'язової оболонки стравоходу, особливо її циркулярного шару, витончення слизової оболонки з десквамацією її епітелію. Дистрофічні зміни будови найбільше виражені в ділянці преатретичного сегменту і атрезії стравоходу. Для атрезії стравоходу притаманний краніокаудальний градієнт ступеня анатомічних змін, тобто, чим вище рівень ураження стравоходу, тим більш істотні зміни анатомічної будови його. У ділянці атрезії спостерігаються такі дистрофічні зміни: множинні вогнища фіброзу та некрозу, розшарування оболонок стравоходу, десквамація епітелію слизової оболонки, розширення судин підслизової основи з множинними екстравазатами, вторинні явища запального характеру. М'язова оболонка стравоходу зазнала повного фібр-розного переродження. У коловому м'язовому шарі спостерігається значна кількість фібробластів, лімфоцитарна та поліморфноклітинна інфільтрація. Кровоносні судини кишки різко розширені, спостерігається адгезія еритроцитів, повне виснаження компенсаторних механізмів. По-

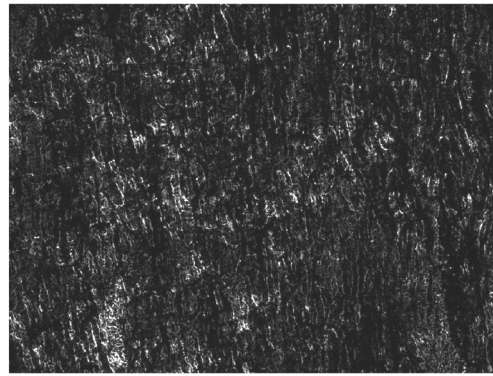


**Рис. 1.** Оптична схема поляриметра

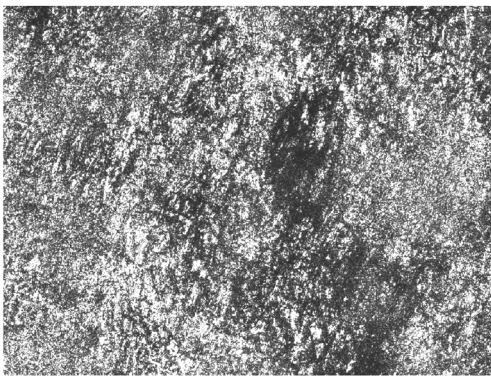
1 – He-Ne – лазер, 2 – коліматор, 3 – стаціонарна чверть хвильова пластинка 4 – поляризатор, 5 і 8 – механічно рухомі чвертьхвильові пластинки, 6 – об’єкт дослідження, 7 – мікрооб’єктив, 9 – аналізатор, 10 – CCD-камера, 11 – персональний комп’ютер



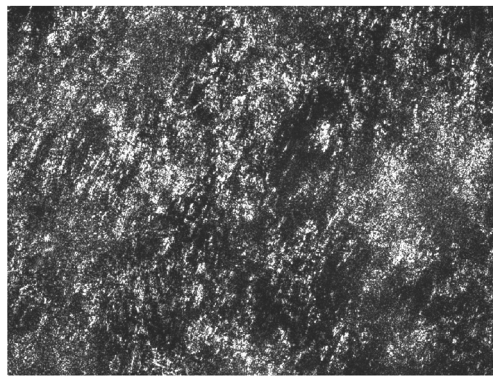
а)



б)



в)



г)

**Рис. 2.** Поляризаційні зображення тканин: а - нормальна частина стравоходу; б - преатретичний сегмент; в, г – атрезія

статретичний сегмент стравоходу характеризується множинними дистрофічними змінами в усіх оболонках: слизова оболонка в стані набряку, у деяких ділянках відшарована, м’язова оболонка потоншена, спостерігається зменшення розмірів міоцитів при їх збільшенні кількості.

Результати досліджень координатної ( $Z_{i,k}$  ( $m \times n$ ) – ліва колонка), статистичної (гістограми  $h Z_{i,k}$

( $m \times n$ ) – центральна колонка) і фрактальної (логіарифмічні залежності  $\log J(Z_{i,k}) - \log d^{-1}$  – права колонка) структури Мюллер-матричних зображень нормальної ділянки стравоходу наведені на рис. 3, а ділянки стравоходу на рис. 4.

У таблиці наведені статистичні дані елементів матриці Мюллера стінок стравоходу в новонароджених.

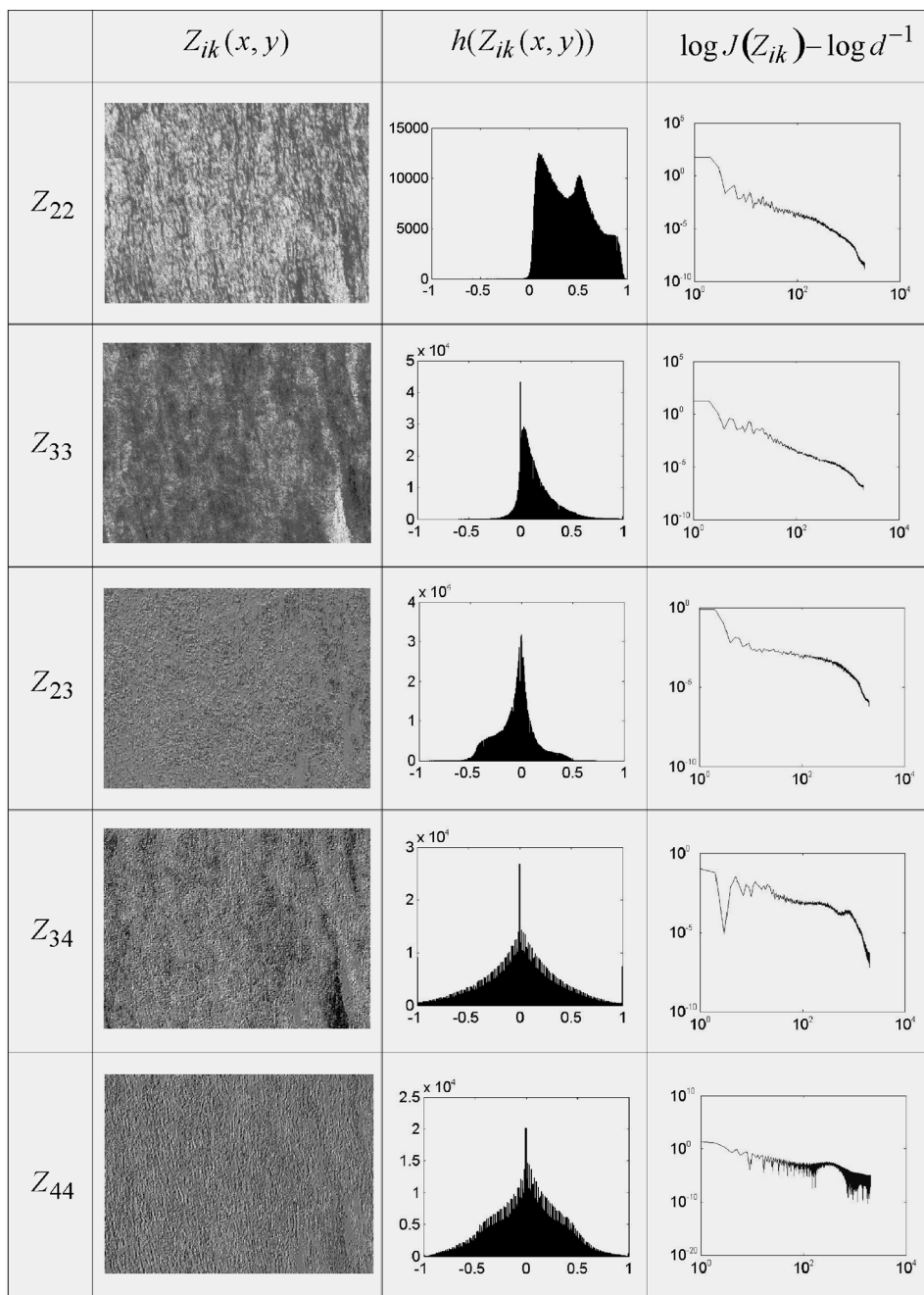
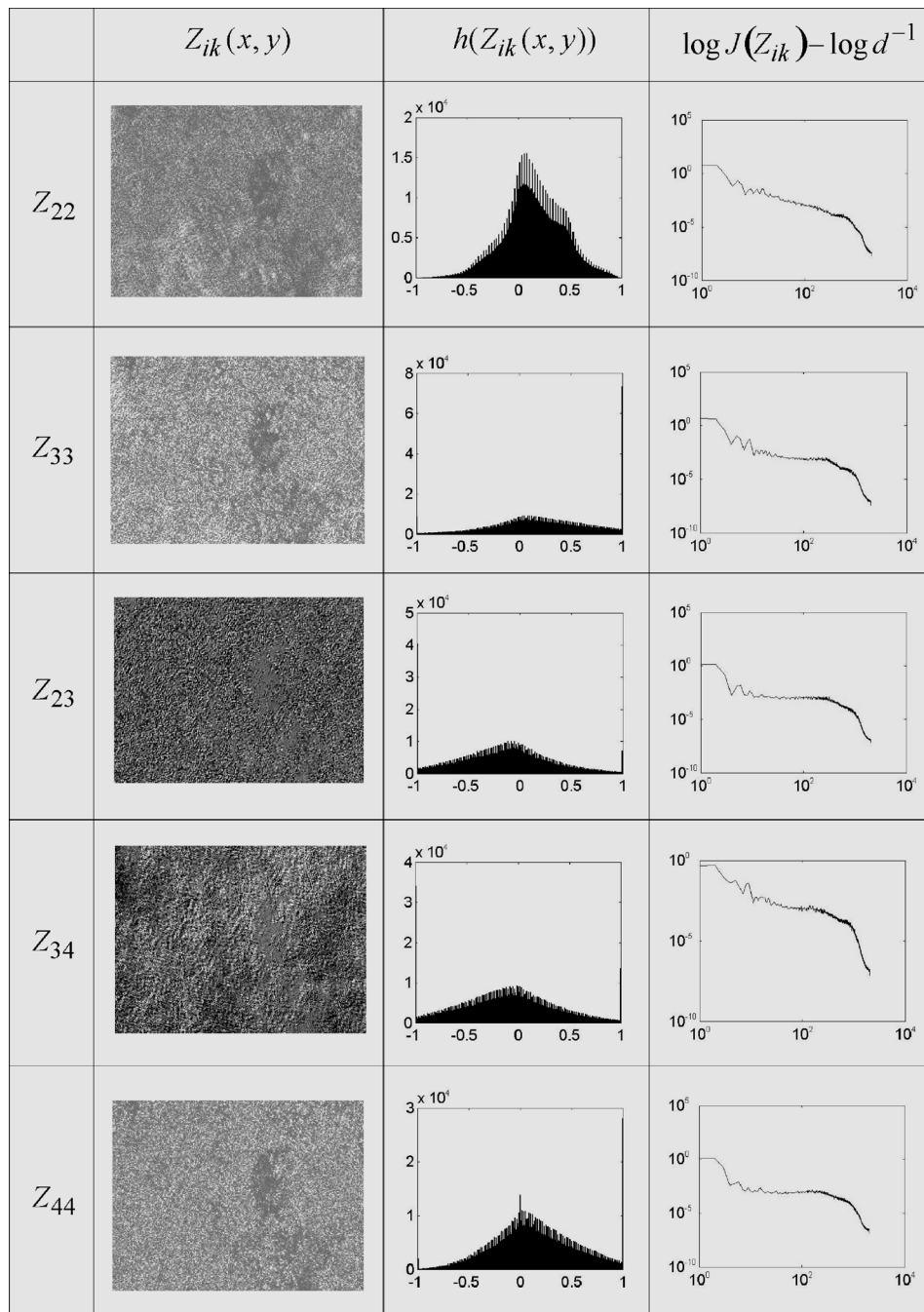


Рис. 3. Координатна, статистична, фрактальна структури Мюллер-матричних зображень нормальної ділянки стравоходу

Таблиця

Елементи матриці Мюллера  $Z_{ik}$  стінки стравоходу в новонароджених

$Z_i$	Нормальна ділянка	Преатретичний сегмент	Ділянка атрезії
$Z_1$	$0,63 \pm 0,077$	$0,56 \pm 0,065$	$0,54 \pm 0,055$
$Z_2$	$0,13 \pm 0,017$	$0,16 \pm 0,021$	$0,22 \pm 0,031$
$Z_3$	$0,34 \pm 0,042$	$1,15 \pm 0,23$	$2,19 \pm 0,37$
$Z_4$	$0,53 \pm 0,11$	$0,93 \pm 0,12$	$1,71 \pm 0,33$



**Рис. 4.** Координатна, статистична і фрактальна структури Мюллер-матричних зображень з атрезією стравоходу

Діагностично чутливими є елементи матриці Мюллера 3-го і 4-го порядків, які збільшуються в преатретичному сегменті і в області атрезії стравоходу новонароджених в 3,34 і 6,44 і в 1,75 і 3,23 раза відповідно.

#### Висновок

Диференційовані лазерні поляриметричні зображення стінок стравоходу в нормі та при атрезії. Визначені взаємозв'язки між статистичними моментами 1-4-го порядків і фрактальними розмірностями, які характеризують координатні розподіли елементів матриці Мюллера.

#### Перспективи подальших досліджень

Доцільно дослідити методом лазерної поляриметрії структуру сфінктерів стравоходу в новонароджених.

**Література.** 1. Основи поляриметрії. Вектор-параметрична діагностика патологічного стану біологічних тканин людини / Ушенко О.Г., Бойчук Т.М., Пересунько О.П. та ін. – Чернівці: Чернівецький нац. ун-т, 2010. – 576 с. 2. Birefringence characterization of biological tissue by use of optical coherence tomography / M.J. Everett, K. Shoenenberger, B.W. Colsto, L.B. [et al.] // Opt. Lett. – 1998. – Vol. 23. – P. 228-230. 3. De Boer J.F. Review of polarization sensitive optical coherence tomography and Stokes vector determination / J.F. de Boer, T.E. Milner // J. Biomed. Opt. – 2002. – Vol. 7. – P. 359-371. 4. Ushenko A.G. Laser Polarimetry of Biological Tissue: Principles and Applications / A.G. Ushenko, V.P.

Pishak // In Handbook of Coherent-Domain Optical Methods: Biomedical Diagnostics, Environmental and Material Science. V.V. Tuchin, Ed. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2004. – Vol. 1. – P. 93-138. 5. Statistical and Fractal Structure of Biological Tissue Mueller Matrix Images / O.V. Angelsky, A.G. Ushenko, Yu.A. Ushenko, V.P. Pishak // In Optical Correlation Techniques and Applications, O.V. Angelsky, Ed. Washington: Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers, 2007. – P. 213-266. 6. Statistical, Correlation, and Topological Approaches in Diagnostics of the Structure and Physiological State of Birefringent Biological Tissues / O.V. Angelsky, A.G. Ushenko, Yu.A. Ushenko [et al.] // In Handbook of Photonics for Biomedical Science, V.V. Tuchin, Ed. USA: CRC Press, 2010. – P. 21-67.

#### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛАЗЕРНОЙ ПОЛЯРИМЕТРИИ ДЛЯ АНАЛИЗА СТРУКТУРЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ

*О.П.Антонюк, Т.Н.Бойчук, А.Г.Ушенко, А.В.Дуболазов*

**Резюме.** Работа направлена на исследование возможностей Мюллер-матричной диагностики лазерной анизотропии двучепреломляющих сетей биологических тканей человека. Определены взаимосвязи между статистическими моментами 1-4-го порядков и фрактальными размерностями, характеризующих координатные распределения элементов матрицы Мюллера тканей в норме и при атрезии пищевода новорожденных.

**Ключевые слова:** лазерная поляриметрия, пищевод, новорожденные.

#### USING LASER POLARIMETRY TO ANALYZE THE STRUCTURE OF BIOLOGICAL TISSUES

*O.P.Antoniuk, T.M.Boichuk, A.G.Ushenko, A.V.Dubolazov*

**Purpose.** The development of a method of Mueller-matrix diagnostics of the optico-anisotropic tissue structure of the hu-

man body and the determination of statistical and fractal criteria of a transformation in health caused by atresia of the esophagus in newborns.

**Design.** A basis, in particular, for the development of model concepts of biological structures has been created by the vector approach to a morphological structure investigation. A biological tissue is considered as a two – component amorphous-crystalline structure-matrix. The amorphous component – fats, lipids, unstructured proteins, etc. is polarizationally isotropic. The crystal component – collagenic proteins, myosin, etc. are spatially oriented birefringent protein fibril networks.

**Findings.** On the basis of Mueller-matrix diagnostics of laser anisotropy for birefringent networks of the human biological tissues interrelationships between the statistical moments of the 1<sup>st</sup>-4<sup>th</sup> orders and fractal dimensions, characterizing the coordinate distributions for the Mueller-matrix elements of tissues in a normal condition and in the region of atresia, as well as in the proximal and distal segments of the esophagus have been determined.

**Conclusion.** Laser polarimetric images of the esophageal walls in health and with atresia have been differentiated. The statistical moments and fractal dimensions characterize the coordinate distributions of the Mueller-matrix elements. Diagnostically sensitivity are the Mueller-matrix elements of the 3<sup>rd</sup>-4<sup>th</sup> orders.

**Originality.** Using Mueller-matrix diagnostics, the statistical and fractal analysis of polarization images, the criteria for the oesophagus in health and disease have been established pathological in newborns.

**Key words:** laser polarimetry, oesophagus, newborns.

**Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)**

**Yu.Fedkovych National University (Chernivtsi)**

Clin. and experim. pathol.- 2013.- Vol.12, №1 (43).-P.21-26.

*Надійшла до редакції 07.02.2013*

*Рецензент – проф. М.В.Шаплавський*

© *О.П.Антонюк, Т.М.Бойчук, А.Г.Ушенко, А.В. Дуболазов, 2013*