

УДК 616.71-073

Н.Б. Кузняк, Є.Г. Махрова, О.П. Антонюк, Я.В. Горицький, Я.І. Яковець

ЛАЗЕРНА ПОЛЯРИМЕТРІЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ТА ТКАНИН ПАЗУХ ТВЕРДОЇ МОЗКОВОЇ ОБОЛОНКИ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Резюме. Метод лазерної поляриметрії дозволяє проаналізувати на сучасному науковому рівні особливості будови кісток та тканин пазух твердої мозкової оболонки. Існує однозначний взаємозв'язок між морфо-

логічними параметрами біологічної тканини і станом поляризації об'єктивного лазерного поля.

Ключові слова: лазерна поляриметрія, кістки, колагенові волокна.

Вступ. На сьогодні широке практичне застосування знайшов метод лазерної поляриметрії біологічних тканин. Він дозволяє моделювати біологічну тканину двокомпонентною аморфно-кристалічною матрицею [1, 2]. Як лазерне випромінювання, так і неполяризоване світло можуть поглинатися та розсіюватися біологічними тканинами. Кожен із цих процесів несе інформацію про мікро- і макроструктуру цього середовища та її складових [3-5].

Мета дослідження. Вивчення можливостей лазерної поляриметричної діагностики кісткової тканини та тканин пазух твердої мозкової оболонки плодів людини.

Матеріал і методи. Як біологічні об'єкти бралися тонкі зрізи (товщиною 20 мкм) кісткової тканини та тканин пазух твердої мозкової оболонки (верхньої стрілової пазухи, нижньої стрілової пазухи, потиличної пазухи, стоку пазух) 240,0 мм ТКД (тім'яно-куприкової довжини) плодів людини, виготовлені за допомогою заморожуючого мікротому. Всього було використано 33 препарати.

Оптична схема дослідження поляризаційних зображень представлена на рис. 1. Освітлення проводиться паралельним ($\Delta E=10^4$ мкм) пучком He-Ne лазера 1 ($\lambda=0,6328$ мкм, $W=5,0$ мВт), промінь проходить через коліматор 2. Поляризаційний освітлювач складається з чвертьхвильових пластинок 3, 5 і поляризатора 4. Зображення біологічного об'єкта 6 за допомогою мікрооб'єктива 7 проєктується в площину світлочутливої площадки (800x600 пікселів) CCD-камери 10, яка забезпечує діапазон вимірювання розмірів структурних елементів об'єкта від 2 мкм до 2000 мкм. Аналіз зображень здійснюється за допомогою поляризатора 9 та чвертьхвильової пластинки 8. Інформація записується і зберігається в комп'ютері 11. Формування лазерного пучка забезпечується з довільним азимутом $0^\circ \leq \alpha_0 \leq 180^\circ$ або еліптичністю $0^\circ \leq \beta_0 \leq 180^\circ$ поляризації.

У звичайних умовах (при співосних поляризаторі-аналізаторі « $0^\circ-0^\circ$ ») структури колагенових волокон кісток та стінок пазух твердої мозкової оболонки практично не виділяються. При повороті осі поляризатора-аналізатора на кут 45° зміншується загальний фон зображень, який пов'язаний з оптично ізотропним епітелієм « $0^\circ-45^\circ$ ». У ситуації перехрещених поляризатора-аналізатора « $0^\circ-90^\circ$ » досягається повна поляризаційна візуалізація оптичноанізотропних колагенових структур. Обертання осі пропускання аналізатора на кут 10° вліво « $0^\circ-80^\circ$ » та вправо « $0^\circ-100^\circ$ » забезпечує поляризаційне зондування анізотропної структури колагенової мережі. Якісне перетворення поляризаційної структури кісткової та м'язової тканин показано на мікрофотографіях, одержаних у схрещених поляризаторі та аналізаторі.

Зображення одержані за допомогою ССД-камери, під'єднаної безпосередньо до комп'ютера, що дозволяє провести оптичне моделювання мікрополяризаційної структури колагенових волокон у їх просторово-координатних мережах.

Результати дослідження та їх обговорення. Оптичні властивості кісткової тканини моделюються двокомпонентною аморфно-кристалічною матрицею. У межах запропонованого методологічного підходу вперше розглянуті оптичні властивості кісткової тканини та тканин пазух твердої мозкової оболонки. Відомо, що активна мінеральна матриця кісткової тканини складається з кристалів гідроксилапатиту, поперечні розміри яких майже на два рівні менші від діаметра колагенових волокон. Довгі осі кристалів орієнтовані паралельно до поздовжнього напрямку колагенових волокон. Вони розташовані між мікрофібрилами, фібрилами і колагеновими волокнами, утворюють самостійну неперервну мінеральну структуру. Крім того, колагенові волокна розглядаються як просторово розміщені елементи в мінеральній

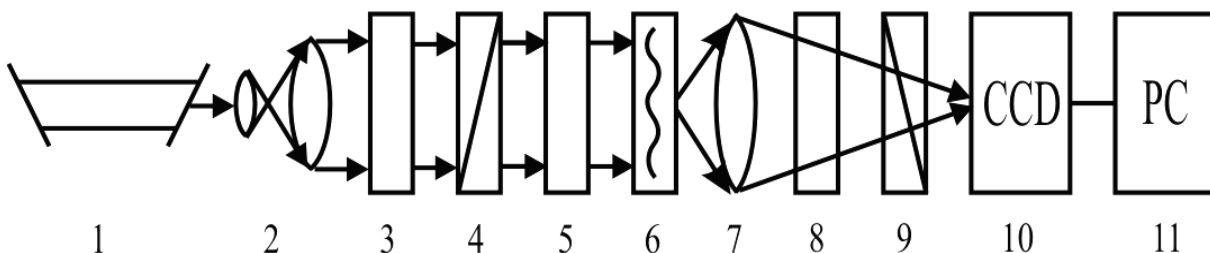


Рис. 1. Оптична схема дослідження

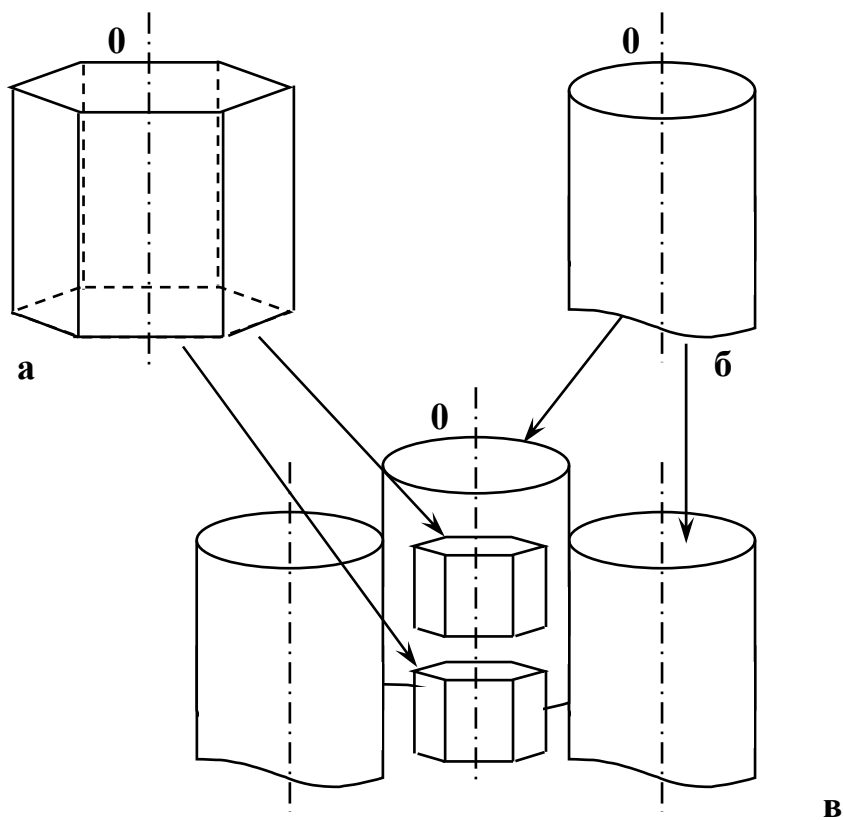
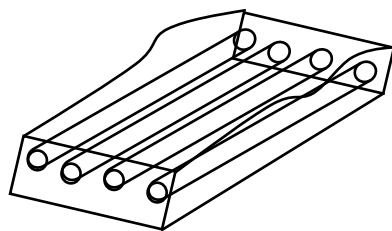


Рис. 2. Схема оптичної моделі мікросталічної організації кісткової тканини: а – кристал гідроксилапатиту; б – мікрофібрила; в – мінералізоване волокно

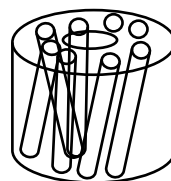


а

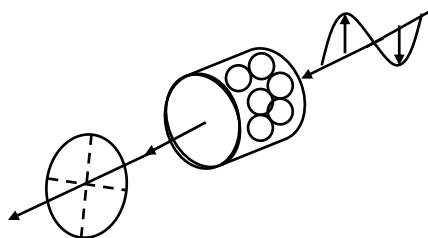
г



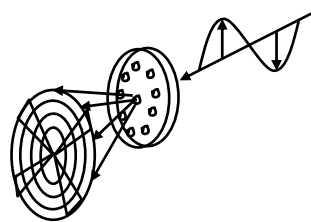
б



д



в



е

Рис. 3. Схема оптичної моделі кристалічної структури кісткової тканини. Ліва частина – кісткова трабекула; права частина – ламела остеона (пояснення в тексті)

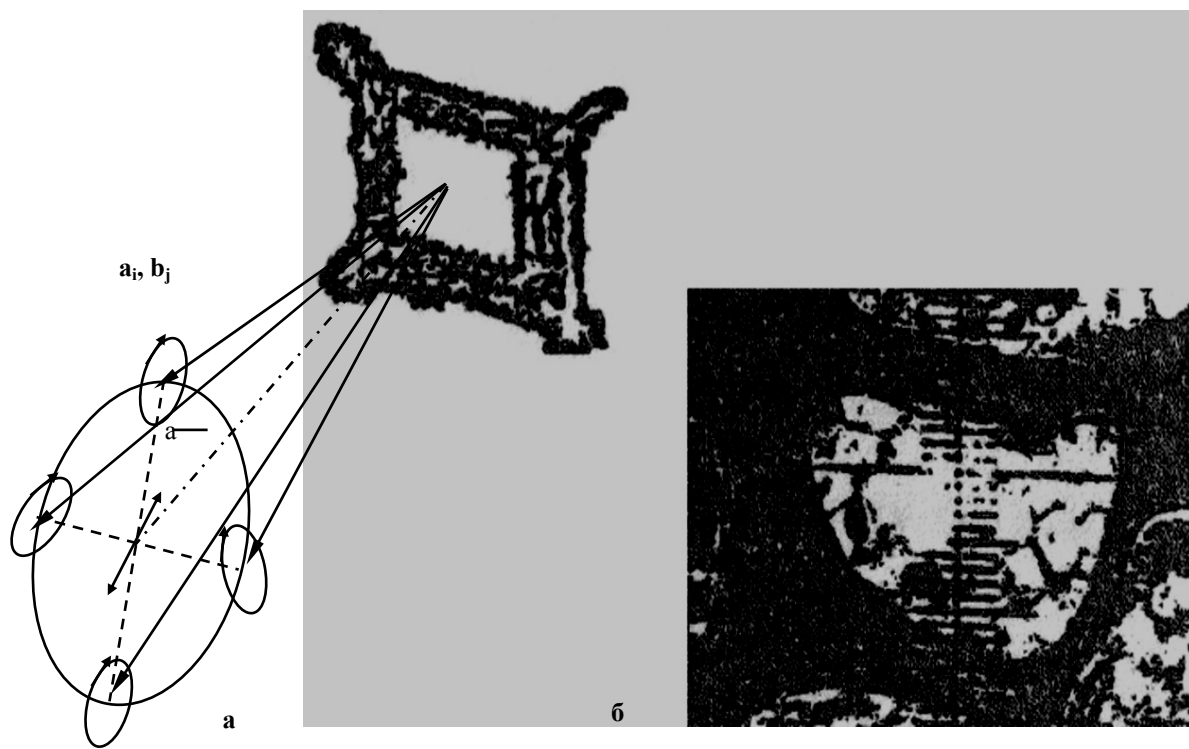


Рис. 4. Схема оптичної моделі архітектонічного рівня: а – просторова структура кісткових трабекул; б – ламели остеонів

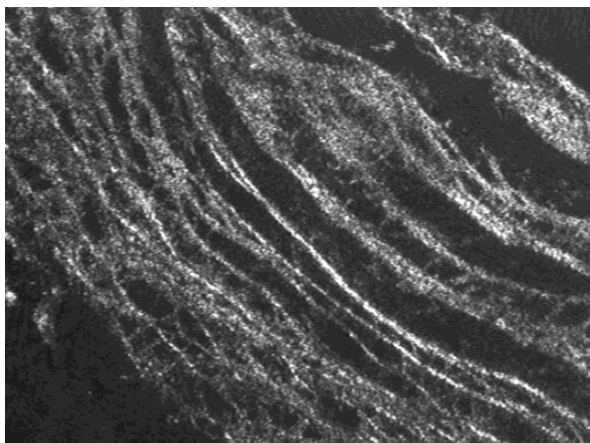


Рис. 5. Лазерне поляризаційне зображення колагенових волокон у ділянці тім'ячка верхньої стрілової пазухи плода 240,0 мм ТКД. Замороження тканин. Мікрофото. 36. x 10

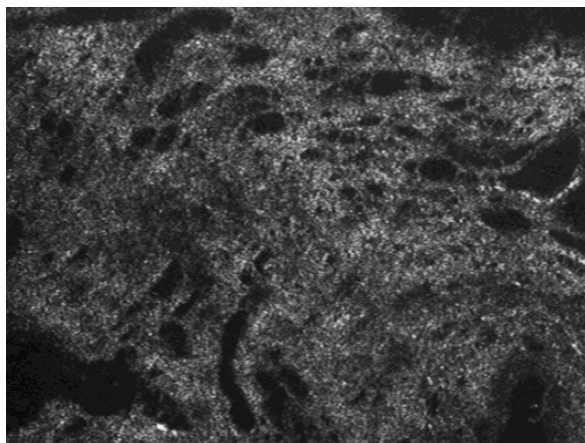


Рис. 6. Лазерна поляризаційне зображення колагенових волокон у ділянці нижньої стрілової пазухи плода 240,0 мм ТКД. Замороження тканин. Мікрофото. 36. x 10

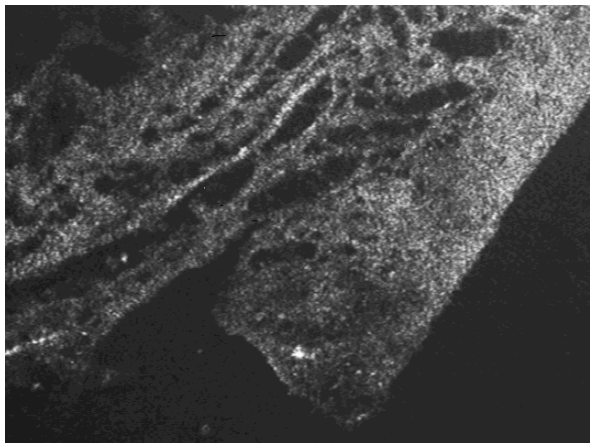


Рис. 7. Лазерна поляриметрія колагенових волокон у стінці потиличної пазухи плода 240,0 мм ТКД. Замороження тканин. Мікрофото. 36. x 10

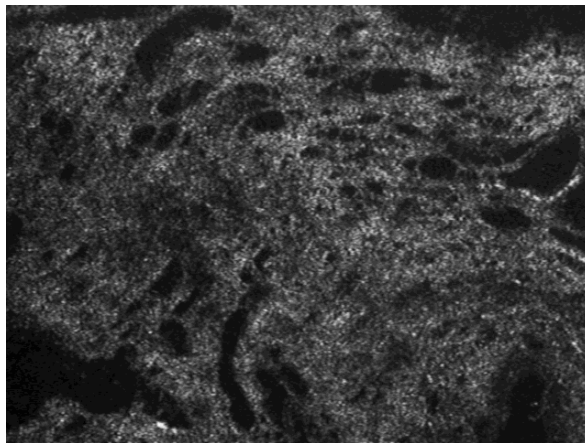


Рис. 8. Лазерна поляриметрія колагенових волокон задньої стінки стоку пазух плода 240,0 мм ТКД. Замороження тканин. Мікрофото. 36. x 10

матриці. Вважаємо їх орієнтацію для кісткових трабекул впорядкованою і паралельною оптичній площині. Для остеонів кісткової тканини властива просторово спіральна орієнтація колагенових волокон. Останнім у ламелах остеона властиві різні кути розміщення спіралей, але в кожній ламелі вони орієнтовані в одному напрямку. У суміжних ламелах волокна спрямовані під кутом від 30° до 90° до поздовжньої осі остеона.

На основі знань про біоструктуру кісткової тканини запропонована наступна модельна схема. Кісткова тканина як композит складається, в основному, з двох фаз: органічної та неорганічної. Перша містить колаген I типу і малу кількість не колагенових білків, кислих глікопротеїнів і малих протеогліканів. Основною частиною неорганічної фази кістки є гідроксилапатит і трикальційфосфат із включенням карбонату, цитрату, Na, Mg, Cl, F.

Двопроменезаломлюючі колагенові структури і кристали гідроксилапатиту мають здатність до перетворення поляризації лазерного випромінювання.

Оптичне моделювання структури кісткової тканини включає три організаційні рівні: мікрокристалічний, макрокристалічний та архітектонічний.

Макроскопічний рівень. Під мінімальним рівнем цієї організації вважаються структурні утворення, розміри яких сумісні з довжиною хвилі лазерного випромінювання. У першу чергу, це колагенові фібрили, згруповані в пучки фібрил діаметром 0,5-2 мкм, які зі стрижнеподібними кристалами утворюють багатосухожилкові пучки, розміри яких змінюються від 100 до 200 мкм.

Мікроскопічний рівень. Основними оптично активними структурами цього рівня є неорганічні кристали гідроксилапатиту і колагенові фібрили. Геометричні розміри перших становлять 7-25 нм, других – 60-110 нм. З точки зору кристалооптики ці речовини мають загальну характеристику – двопроменезаломлення, тобто здатність до перетворення типу і форми поляризації випромінювання, що розповсюджується в них. Просторова симетрія кристалооптичної структури неорганічного та органічного мікрокомпонента кісткової тканини – це оптично одноосні кристалічні структури.

Визначають: ρ – кут орієнтації оптичної осі біокристалічного утворення (орієнтація оптичної осі мікрокристала гідроксил апатиту і відповідне укладення фібрил колагенових волокон); d – величину фазового зсуву між ортогональними компонентами поляризації. Оптично активні мікрокристалічні структури характеризуються показником двопроменезаломлення n . Знаходимо величину фазового зсуву d :

$$\delta = \frac{2\pi}{\lambda} \cdot \Delta n \cdot l,$$

де λ – довжина хвилі лазерного випромінювання, l – товщина біооб'єкта.

Величина двопроменезаломлення кристалів гідроксилапатиту на два рівні вища за аналогічний

параметр для речовини колагену, а орієнтації оптичних осей близькі. Можна вважати, що кристалічні властивості кісткової тканини переважно визначаються речовиною гідроксилапатиту (рис. 2).

На фрагменті “а” представлена схема кристала гідроксил апатиту. Фрагмент “б” ілюструє кристалооптичну структуру фібрили колагенового волокна. Частина схеми “в” показує комплексну колаген-гідроксилапатитну мікроструктуру кісткової тканини.

Наступний рівень організації представляють ділянки переважно впорядкованої структури мінералізованих волокон – кісткові трабекули і ламели остеонів. Оптичні властивості трабекул можуть бути описані матричним оператором, а величина фазового зсуву δ_1 визначається за формулою:

$$\delta_1 = \frac{2\pi}{\lambda} \cdot \Delta n \cdot d \cdot C$$

де d – геометрична товщина кісткової трабекули, C – концентрація кристалічного гідроксилапатиту.

Для системи ламел остеонів ситуація дещо відмінна. У кожній структурній одиниці (ламелі) кісткової тканини орієнтація мінералізованих колагенових пучків утворює певний кут з площиною її поперечного перерізу.

Макрокристалічний рівень організації кісткової тканини (рис. 3) представлений у вигляді сукупності фазовозсуваючих оптично одноосних структур з орієнтацією їх осей як у площині поперечного перерізу кісткової тканини (сукупність трабекул – а, б, в), так і просторово розподіленою (спіралеподібною) орієнтацією – система ламел остеонів (г, д, е). При проходженні крізь такі біокристалічні структури, лазерне випромінювання зазнає перетворення фотометричних і поляризаційно-фазових характеристик. Внаслідок цього формується об'єктне поле з розподілом типів і форм поляризації, зумовлених орієнтаційною і мінералізаційною структурою колагенових волокон.

Архітектонічний рівень. Такий рівень оптичної організації вивчає просторову структуру кісткових трабекул і ламел остеонів, які мають фрактальну дифракційну структуру (рис. 4). У цьому випадку відбувається модуляція фази і поляризації лазерних пучків, які перетворені біокристалами кісткової тканини, та утворення різних поляризованих парціальних фронтів.

Аналіз поляризаційного модульованого об'єктного лазерного поля вимагає вимірювання координатного розподілу його інтенсивності за всією площиною зразка кісткової тканини. Поляризаційна структура граничного поля може бути візуалізована у вигляді топологічного розподілу інтенсивності.

Для визначення орієнтації спіралеподібних структур колагенових волокон потрібний координатний аналіз розподілу інтенсивності когерентного зображення біокристала. Величина інтенсивності когерентного зображення ламел остеонів у точці з координатами (x, y) визначається співвідношенням:

$$I = \sin^2\left(\frac{\pi}{2} \delta\right).$$

Отже, шляхом поляризаційного аналізу об'єктивних полів можна одержувати орієнтаційні та фазові томограми біотканин.

Одержані результати показують, що граничне поле архітектонічної структури кісткової тканини має розвинуту поляризаційну структуру, яка зумовлена різноманітними напрямками орієнтації колагенових волокон локальних біокристалів. Діапазон зміни азимута поляризації граничного поля фрактальної структури становить 0^0 - 180^0 .

У роботі використані також можливості поляризаційної візуалізації систем колагенових пучків для пазух твердої мозкової оболонки в ранньому онтогенезі людини, що ілюструє серія фотографій, наведених на рис. 5-8. Флуктуації локальних значень азимутів і еліптичності поляризації відносно деякого постійного середнього рівня визначаються переважно орієнтацією колагенових пучків, що підтверджує тонку поляризаційну структуру стінок пазух твердої мозкової оболонки.

Поле розсіяного стінками твердої мозкової оболонки лазерного випромінювання являє собою ансамбль 100 % поляризованих і когерентних спеклів з імовірнісним розподілом азимутів й еліптичностей поляризації.

Висновки

1. Методом лазерної поляриметрії можна моделювати структуру кісткової тканини та тканин пазух твердої мозкової оболонки двокомпонентною аморфно-кристалічною матрицею, визначати просторову орієнтацію фібрил колагенових волокон та оцінювати ступінь мінералізації кісткових тканин.

2. Отже, лазерна поляриметрія дозволяє проаналізувати на сучасному науковому рівні особ-

ливості будови кісток та тканин пазух твердої мозкової оболонки на основі того, що існує однозначний взаємозв'язок між морфологічними параметрами біологічної тканини і станом поляризації об'єктивного лазерного поля.

Перспективи наукового пошуку. Метод лазерної поляриметрії можна використати для діагностики патології кісткової тканини та тканин пазух твердої мозкової оболонки плодів людини.

Література

1. Study of polarization structure of biospeckle fields in crosslinked tissues of human organism. Part 1. Vector tryucture of skin biospeckles / V. Pishak, A. Ushenko, P. Gryhoryshyn [et al.] // International Conference on Correlation Optics.– Chernivtsy, 1997. – Vol. 3317. – P. 418-424.
2. Study of polarization structure of biospeckle fields in crosslinked tissues of human organism / V. Pishak, A. Ushenko, P. Gryhoryshyn [et al.] // Part 2. Crystal optic properties of the transverse and longitudinal sections of the bone // International Conference on Correlation Optics. – Chernivtsi, 1997. – Vol. 3317. – P. 425-433.
3. Ushenko A. Laser biospeckles fields vector structure and polarization diagnostics of skin collagen structure / A. Ushenko // Laser Physics. – 2000. – Vol. 10, № 5. – P. 1143-1149.
4. Спосіб визначення просторово-кутової будови архітектонічної сітки кісткової тканини: Деклараційний патент на винахід 98116204 Україна, 31942 А / В.П. Пішак, Г.І. Кокошук, О.Г. Ушенко [та ін.]. Україна. № А61N5/06, G01N33/48; заявлено 24.11.1998; опубл. 15.12.2000. Бюл. № 7-П.
5. Лазерная поляриметрия ориентационной структуры остеонов костной ткани / А.Г. Ушенко, С.Б. Ермоленко, Д.Н. Бурковец, Ю.А. Ушенко // Ж. прикл. спектр. – 2000. – Т. 67, № 1. – С. 52-55.

ЛАЗЕРНАЯ ПОЛЯРИМЕТРИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ И СИНУСОВ ТВЕРДОЙ МОЗГОВОЙ ОБОЛОЧКИ

Н.Б. Кузник, Є.Г. Махрова, О.П. Антонюк, Я.В. Горицький, К.І. Яковец

Резюме. Метод лазерной поляриметрии позволяет проанализировать на современном научном уровне особенности строения костей и тканей синусов твердой мозговой оболочки. Существует однозначная взаимосвязь между морфологическими параметрами биологической ткани и состоянием поляризации объектного лазерного поля.

Ключевые слова: лазерная поляриметрия, кости, коллагеновые волокна.

LASER POLARIMETRY OF THE BONE TISSUE AND THE TISSUES OF THE DURA MATER SINUSES

N.B. Kuzniak, Ye.G. Makhrova, O.P. Antoniuk, Ya.V. Horyts'kyi, K.I. Yakovets'

Abstract. The method of laser polarimetry allows to analyze the structural features of the bones and the sinuses tissues of the dura mater at an up-to-date scientific level. There exists an unambiguous relationship between the morphological parameters of the biological tissue and the polarization state of an objective laser field.

Key words: laser polarimetry, bones, collagen fibers.

Bukovinian State Medicacal University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. М.В. Шаплавський

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 1 (65). – P. 202-206

Надійшла до редакції 17.10.2012 року