

Введение. В данный промежуток времени оптика спекл полей является перспективным направлением развития науки. Интерференционные эффекты, наблюдаемые в биотканях, дают огромное пространство для исследований. Знание о том, как можно работать с бесполезной, на первый взгляд, информацией и перенаправить себе исключительно на пользу является крайне полезным. Разработки методик обработки спекл изображений ведутся и по сей день, совершая попытки нахождения наилучшего образа получения данных из эксперимента. В моей работе рассмотрен один из аспектов получения и обработки данных от различных поверхностей с механическими колебаниями, а именно исследование диагностической эффективности лазерной спекл-визуализации для определения частоты колебания объектов. Объектами исследования будут выступать различного рода живые и неживые объекты. Из простых для анализа поверхностей будет пластиковая поверхность телефона, пластиковая накладка на диффузоре колонки, скорлупа яйца, а из более сложных подушечка пальца человека и сердце куриного эмбриона. Предметом исследования выступают механические колебания от различных объектов разного происхождения. Например, от искусственно генерируемого сигнала, подаваемого на диффузор динамика или же сердцебиения куриного эмбриона, производящего колебания яйца в целом. В работе для получения данных из объектов исследования использовался метод лазерной спекл-визуализации, который является перспективным методом анализа различного рода структур. Для обработки данных был взят метод LASKA (анализ контраста лазерных спеклов).

Целью работы является оценка потенциала метода лазерной спекл-визуализации для определения характеристик колебаний объектов со своими или вынужденными механическими пульсациями.

Задачи:

1. Поиск и анализ литературы по теме лазерной спекл-визуализации

2. Освоение методики измерения пульсаций от различных объектов
3. Освоение методики обработки полученных спекл изображений
4. Обработка и анализ полученных данных

Работа состоит из двух основных глав, теоретической и практической, а также заключения и списка использованных источников.

Теоретическая часть состояла из подпунктов:

- 1.1 Виды спеклов
- 1.2 Аспекты обработки сигналов
- 1.3 Развитие сердечно-сосудистой системы куриного эмбриона

Практическая часть:

- 2.1 Материалы и методы
- 2.2 Обработка данных
- 2.3 Результаты

В конце работы было представлено обсуждение результатов и заключение.

Основное содержание работы

Для того чтобы проверить эффективность исследования диагностической эффективности спекл фотографии и проверить достоверность получаемых данных, в первой серии экспериментов был использован динамик с подключенным к нему генератором частот, который позволяет регулировать частоту движения диффузора. Таким образом проводился анализ и выяснение недостатков обработки данных. Вторым объектом для исследования был телефон с вибромоторчиком со стабильными колебаниями и неизвестными частотными характеристиками. В третью очередь было решено попытаться получить результат с пережатой верёвкой фаланги указательного пальца человека. И уже после проведения опытов по выяснению правильности работы системы был проведен ряд экспериментов со скорлупой яйца без эмбриона внутри, после, с эмбрионом и эмбрионом на чаше Петри (фокус на сердце). В эксперименте был использован эмбрион на 9-11 дне развития, поскольку затрудняется использование более взрослых образцов, это связано с различного рода дрожаниями и подергиваниями неразвитого цыпленка. Данный день развития позволяет эффективно проводить неинвазивные опыты, поскольку развитая сердечно-сосудистая система даёт возможность регистрировать пульсации в стабильном режиме (стабильность сердцебиения появляется именно с 9-11 дня и составляет примерно 115 ударов/минуту) при этом минимизируются помехи связанные с движениями самого эмбриона.

Методика: Для анализа исследуемого объекта использовался метод лазерной микроскопии с использованием красного лазера с длиной волны 650нм и мощностью 15 мВ. Лазер направлялся на объект и освещал его линейно поляризованным лазерным лучом прошедшим через расширитель пучка под углом 45 градусов. Далее с помощью камеры Guppy PRO F-125, закреплённая через переходник в окуляр микроскопа и непосредственно

подключенная к персональному компьютеру (Рисунок 4), производился захват изображений для последующего анализа.

Результаты.

Далее представлено несколько из проведённых опытов. Первым был проведён эксперимент с использованием диффузора колонки и генератором колебаний. Этот опыт являлся основополагающим в плане выявления проблем с которыми мы можем столкнуться на стадии выполнения более сложных экспериментов с использованием более сложных колебательных процессов. Было выбрано 3 частоты генерации: 0,5 Гц, 1 Гц, 2,5 Гц (форма волны синусоидальная). Запись производилась в сериях по 1000 изображений с частотой дискретизации 16 кадров в секунду.

На Рисунок 2 представлен график зависимости контраста изображения C от времени t при частоте колебаний диффузора 2.5 Гц. Видны явные изменения контраста изображения с течением времени.

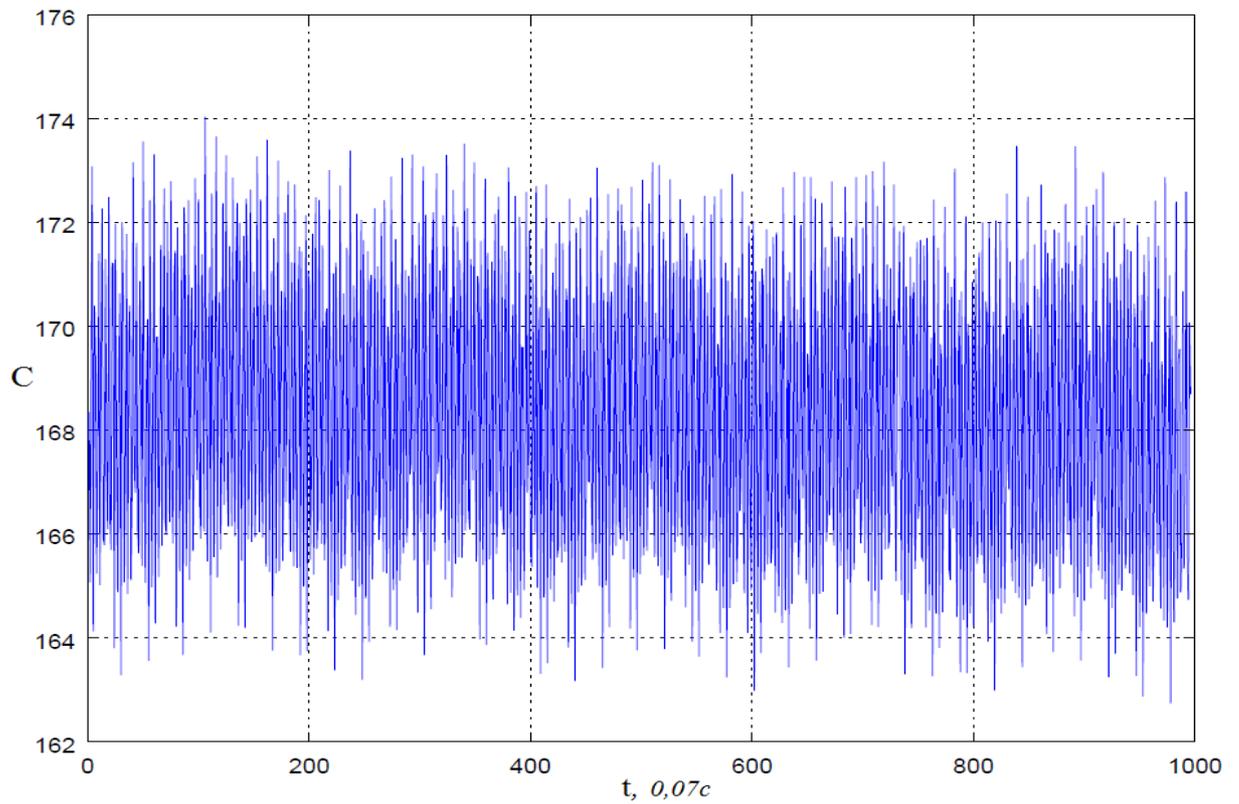


Рисунок 2 – График зависимости контраста изображения C от времени t при частоте колебаний диффузора 2,5 Гц.

Рисунок 2 отображает спектр колебаний изображений. На нём виден пик на частоте 5 Гц, что соответствует экспериментальным, эталонным, данным.

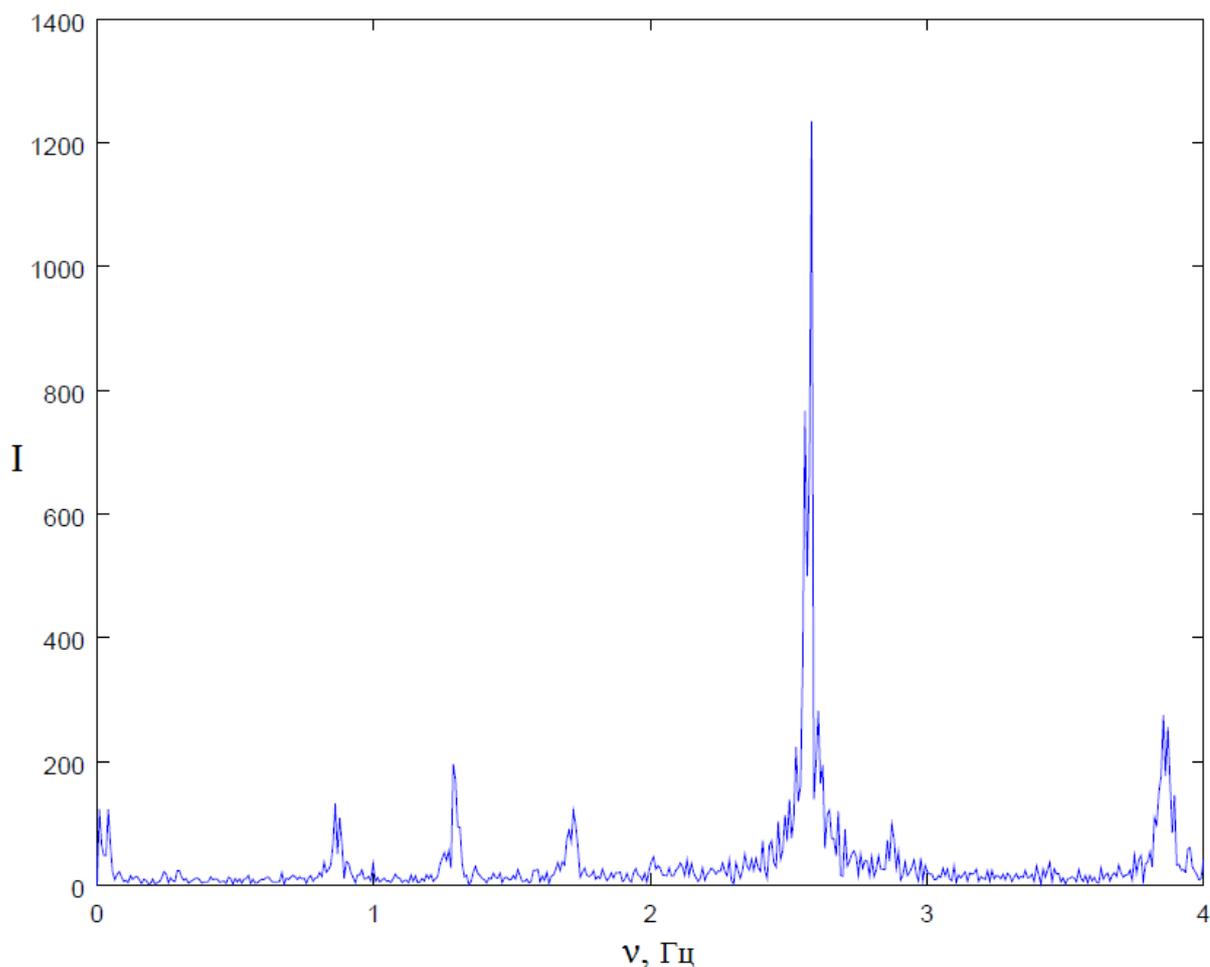


Рисунок 3 – Спектр колебаний контраста изображений. Зависимость интенсивности I от частоты .

Куриное яйцо

Одним из объектов исследования в работе стал эмбрион 10го дня развития, изъятый из скорлупы. Эмбрион был выложен на чашу Петри, фокус микроскопа был направлен непосредственно на сердце. График контраста изображений (Рисунок 4) показывает ритмичные всплески и падения интенсивности с определённой периодичностью. График на Рисунок 5 показывает нам 3 пика частот в диапазоне 0.3–1.2 Гц. Анализ представлен в заключении.

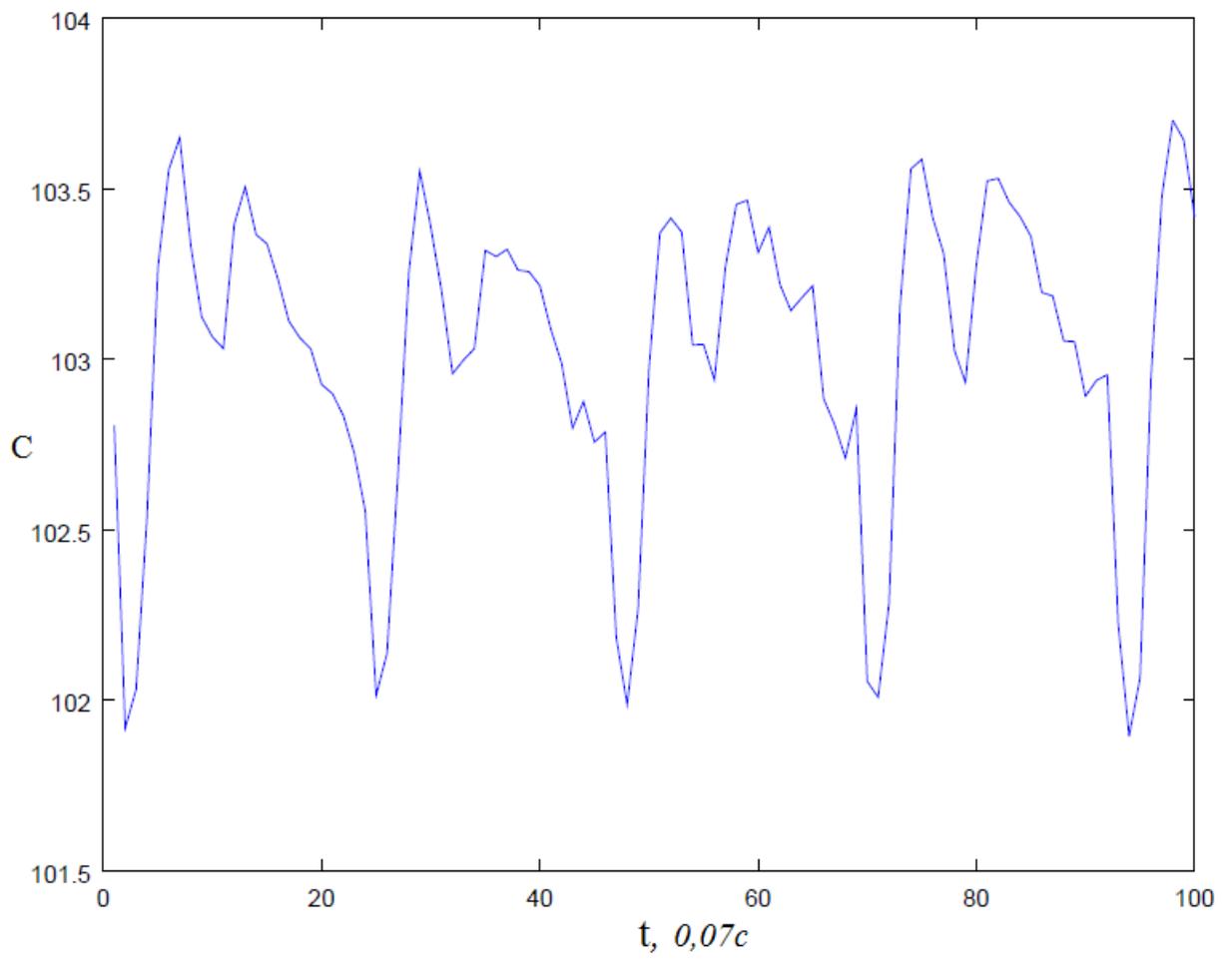


Рисунок 4 – График зависимости контраста изображения C от времени t скорлупы яйца без эмбриона.

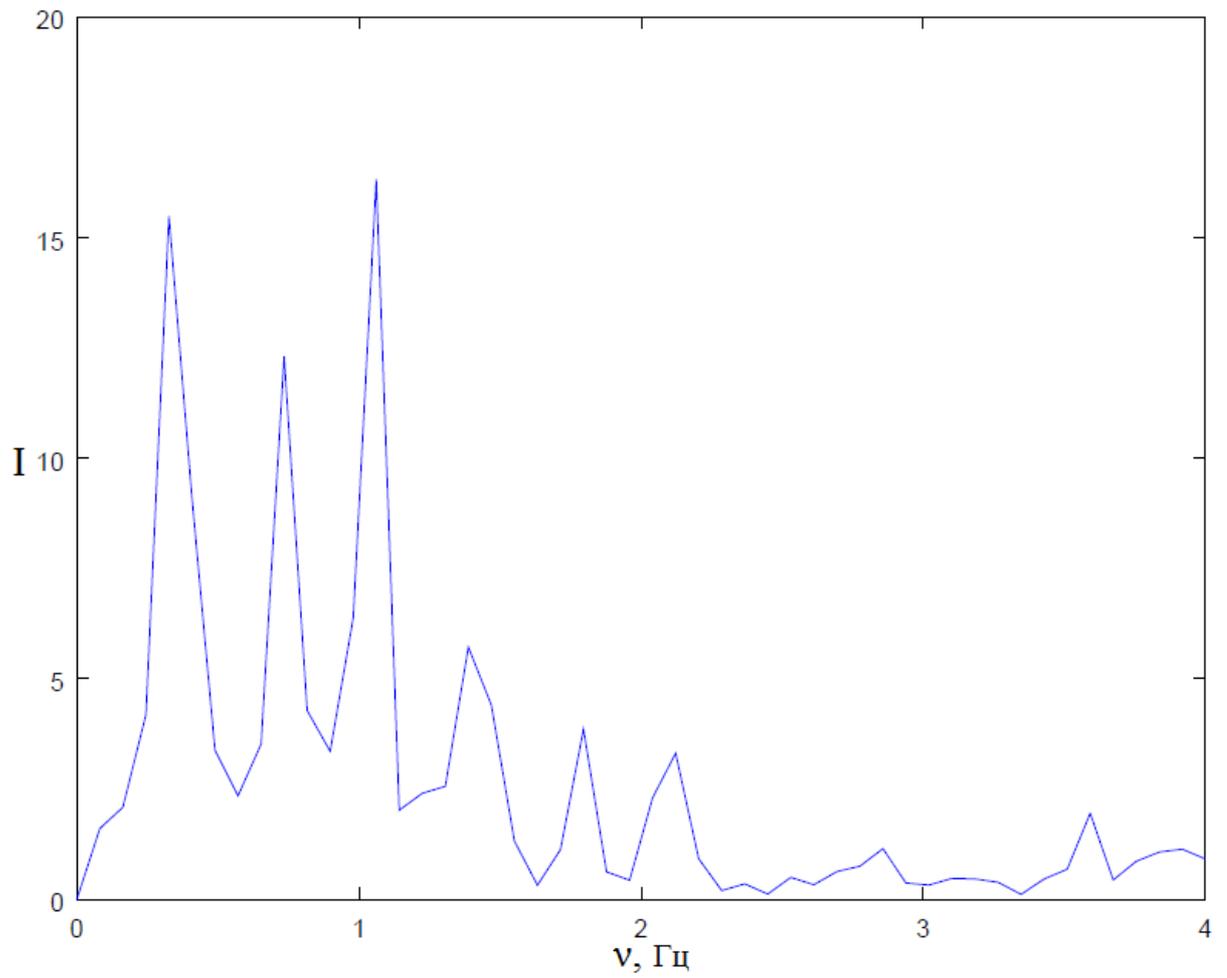


Рисунок 5 – Спектр колебаний контраста изображений. Зависимость интенсивности I от частоты. Скорлупы яйца без эмбриона.

Обсуждение

Изначально в работе планировалось попытаться повторить эксперимент описанный в статье [9] и проверить возможно ли данным способом зафиксировать сердцебиение. Авторы статьи [9] с торца просвечивали скорлупу яйца лазерным пучком для снятия спеклов при диффузном прохождении света и, как следствие, непосредственно просто видели кровеносную систему и её развитие. Данный эксперимент повторить не удалось из-за малой мощности лазера. Появилась идея сделать эксперимент в других условиях, а именно попытаться анализировать колебания всего объекта (куриного яйца) в целом, предполагая, что они генерируются сердцем. Была проделана большая работа по выявлению достоинств и минусов данной системы определения колебаний систем. В работе это представлено в виде графиков контраста и спектров частот, при этом для демонстрации результата выбирались результаты с более или менее типичным поведением в серии эксперимента. Первым в исследовании была использована колонка с подключенным к ней источником колебаний. Все серии экспериментов показали ожидаемые результаты, которые коррелируют с изначальными данными, что говорит об эффективности анализа данной методики.

Далее в эксперименте был использован телефон. Для анализа были взяты вибрации от вибромотора. Данный объект исследования был хорош тем, что мы не знаем частоту колебаний телефона во включенном режиме, что дальше указало на минусы. Дело в том, что по полученным графикам можно узнать лишь частоту смены режимов с включения на выключение колебаний. Это говорит о очень сильном недостатке частоты дискретизации. Изображение смазывается на столько, что невозможно найти отличий между двумя кадрами. В тоже время, по тем же графикам, удалось примерно узнать частоту смены режимов вибромотора, она составляет примерно 0.6 Гц.

Следующим шагом было попробовать более сложную структуру для проведения эксперимента. Данным объектом оказалась подушечка пальца человека, также, для лучшего эффекта, было принято решение затруднить поступление крови в палец путём пережатия области до фаланги для локального увеличения кровяного давления, что дало более сильные пульсации. Графики контраста показали хорошие колебания и в прицепе, если судить человеческим глазом, можно предположить, что циклические всплески на Рисунок 14 соответствуют сердцебиению человека, но в тоже время график спектра не дал адекватных результатов. Один из двух пиков наблюдается в области 0.5 Гц, что соответствует 30 ударам в секунду, в то время как пульс испытуемого был 60 ударов в секунду.

Дальнейшие наши эксперименты были с куриным яйцом и развивающимися эмбрионами внутри. Первый эксперимент был калибровочным с пустым яйцом. Результат был ожидаем, данные для анализа отсутствовали. Вторым эксперимент является ключевым в реалиях данной работы. Был снят очень хороший сигнал с очевидными колебаниями на графике контраста. График спектра показывает нам пики в отрезке от 0.4 до 0.8 Гц, что соответствует 24-45 ударам в минуту. В теории сердцебиение куриного эмбриона на данной стадии развития должно составлять 115 ударов/минуту. Данный ритм наблюдается в нормальных для яйца условиях, т.е. примерно 40°C. Температура же помещения составляла примерно 18-22°C, что привело к затруднению перекачки крови сердцем. Следующий эксперимент с эмбрионом на чаше Петри вне скорлупы показал более яркие данные и немного похожие на предыдущий эксперимент. В данном случае у нас появилась возможность увидеть сердцебиение собственными глазами. Банальный подсчёт с секундомером дал результат примерно в 35-40 ударов/минуту т.е. графики со столько заниженными значениями частот могут иметь место.

Заключение

В результате работы был проанализирован объем литературы по теме и проведено обучение методике измерения пульса куриного эмбриона без нарушения целостности скорлупы и, как следствие, обработка и анализ полученных данных. Подводя итоги можно сказать, что все опыты имели место быть, но с определёнными условиями. Опыт с вибромотором телефона требовал большей частоты дискретизации, в ином случае невозможно зафиксировать интересующие нас колебания, а опыт с попыткой детектировать пульсации кровотока в подушечке пальца требует в первую очередь набора статистики с разных экспериментов, потому что метод имеет потенциал и возможно чуть большей частоты дискретизации. С куриным эмбрионом же следует каким-либо способом обеспечивать постоянное подведение тепла для яйца, в противном случае, будет сложно интерпретировать полученные данные.

Список литературы

1. С.С. Ульянов. Что такое спеклы // Соросовский образовательный журнал, №5-1999 – С. 5.
2. В.В. Тучин. Оптическая биомедицинская диагностика –2007– С. 392-411.
3. В.П. Рябухо. Спекл-интерферометрия С. 9. // Владимир Петрович Рябухо.– 2001 – V. 7, №5– С. 9.
4. Briers J. D. Time-varying laser speckle for measuring motion and flow / J. D. Briers // Saratov Fall Meeting 2000: Coherent Optics of Ordered and Random Media. – 2001. – V. 4242. – P. 25-39.
5. Briers J. D. Laser Doppler, speckle and related techniques for blood perfusion mapping and imaging // Institute of Physics Publishing, Physiol. Meas. – 2001. – V. 22. – P. 35–66.
7. Briers J.D., Webster S. Laser speckle contrast analysis (LASCA): a non-scanning, full-field technique for monitoring capillary blood flow // J. Biomed. Opt. – 1996. – V. 1. - P. 174–179.
8. Тимошина П. А. Мониторинг микроциркуляции крови методом спекл-контрастной визуализации в исследованиях модельных патологий на животных: диссертация ... кандидата физ.-мат. наук : 03.01.02 Тимошина Полина Александровна 2016.– P. 12–30 .
9. Lin Yang, Sixian You, Liangkai Zhang, Tixiong Yang, Pengcheng Li, and Jinling Lu. Noninvasive vasculature detection using laser speckle imaging in avian embryos through intact egg in early incubation stage / Lin Yang, Sixian You, Liangkai Zhang, Tixiong Yang, Pengcheng Li, Jinling Lu *Britton Chance Center for Biomedical Photonics* – 2012 P.

 21.06.17