

УДК 535.361; 535.555

В.Г. ЖИТАРЮК, Ю.Я. ТОМКА, Є.І. КУРЕК, Я.М. БЕРЕЗОВСЬКИЙ

## ЛАЗЕРНА СИСТЕМА СПЕКТРАЛЬНО-СЕЛЕКТИВНОЇ АВТОФЛУОРЕСЦЕНТНОЇ ПОЛЯРИМЕТРІЇ ПОЛІКРИСТАЛІЧНИХ ПЛІВОК ЕКСУДАТУ У МОНІТОРИНГУ РЕГЕНЕРАЦІЇ РАН

*Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича, Коцюбинського 2, Чернівці,  
58002, Україна, e-mail: o.ushenko@chnu.edu.ua*

**Анотація.** У даній роботі приведені основні методики спектрально-селективного картографування лазерно-індукованої флуоресценції полікристалічних шарів ексудату людини. Наведені експериментальні приклади реалізації методу картографування автофлуоресцентних мікроскопічних зображень плівок ексудату пацієнтів з різним ступенем регенерації хірургічних ран. У межах статистичного аналізу досліджено структуру мікроскопічних зображень власної флуоресценції полікристалічних плівок ексудату трьох груп пацієнтів з різним часом регенерації ран. Установлені найбільш чутливі до ступеня регенерації статистичні параметри мікроскопічних зображень лазерно-індукованої флуоресценції полікристалічних плівок ексудату.

**Ключові слова:** флуоресценція, поляризація, біологічні кристали, діагностика.

**Abstract.** This paper presents the main techniques of spectrally selective mapping of laser-induced fluorescence in polycrystalline layers of human exudate. Experimental examples are provided to demonstrate the implementation of the method for mapping autofluorescent microscopic images of exudate films from patients with different degrees of surgical wound regeneration. Within the framework of statistical analysis, the structure of microscopic images of intrinsic fluorescence of polycrystalline exudate films from three groups of patients with different wound regeneration times was investigated. The statistical parameters of microscopic images of laser-induced fluorescence of polycrystalline exudate films that are most sensitive to the degree of regeneration were established.

**Keywords:** fluorescence, polarization, biological crystals, diagnostics.

**DOI: 10.31649/1681-7893-2026-51-1-168-173**

### ВСТУП

Біологічні об'єкти (тканини і рідини) містять велику кількість різноманітних природних флуорофорів, в основному з групи флавінів, протеїнів та порфіринів. Кожен флуорофор має характерні спектри поглинання і емісії [1-20].

Зокрема:

- В ультрафіолетовій частині спектру флуоресціюють такі позаклітинні білки, як колаген, еластин, а також ароматичні амінокислоти внутріклітинних білків – триптофан, тирозин, фенілаланін. Колаген – структурний білок сполучної тканини і найбільш розповсюджений протеїн. Максимум спектру його поглинання складає близько 340 нм, а емісії - 380 нм. Для еластину максимум поглинання припадає приблизно на 350 нм, а емісії - на 410 нм. Встановлено, що велика частина емісії припадає на триптофан, тому що його квантовий вихід набагато вище квантового виходу тирозину і фенілаланіну.
- Набагато більше речовин люмінесціюють в синій і жовто-зеленій областях спектру. Перш за все, це такі найважливіші компоненти систем енергетичного обміну, як відновлені піридиннуклеотиди (НАД-Н, НАДФ-Н) і окислені флавопротеїни (ФМН, ФАД). Відновлені форми НАД і НАДФ володіють характерними полосами поглинання в УФ-діапазоні (260 і 340 нм) і випромінювання в інтервалі 465-480 нм.

При переході НАД-Н і НАДФ-Н в окислений стан вони втрачають полосу поглинання 340 нм і здатність до люмінесценції. Цей факт має діагностичне значення, так як пухлинна тканина характеризується більш низьким рівнем рН і порушенням балансу між вмістом окисленої і відновленої форм НАД, яке проявляється зниженням загальної інтенсивності світіння. Флавопротеїни в окисленій формі також володіють характерними спектрами поглинання (450, 375 і 263 нм) і люмінесценції (520-530 нм). При переході цих груп у відновлений стан вони втрачають смуги поглинання 450 нм. Серед інших сполук, що люмінесціюють в даній області, можна назвати вітаміни і продукти метаболізму, у тому числі піридоксал, фолієву кислоту, її похідні та ін.

Автофлуоресценція тканин в червоній області спектру характеризується меншою інтенсивністю в порівнянні з ультрафіолетовою і короткохвильовою видимою областями. Було встановлено, що вона пов'язана переважно з ендogenous порфіринами. Всю групу можна розділити на власне порфірини, дегідропорфірини (хлорини) і тетрагідропорфірини (бактеріохлорини), що відрізняються ступенем гідратації подвійних зв'язків. Вивчення властивостей хлоринів і бактеріохлоринів приваблює з точки зору їх використання як екзогенних фотосенсибілізаторів при фотодинамічній терапії. Власне ж порфірини є попередниками гема, небілкової складової гемоглобіну, міоглобіну, численних цитохромів, каталази, пероксидази та ін. Всі перераховані білки беруть участь в транспортуванні кисню та забезпеченні клітин енергією. У будь-яких активно проліферуючих клітинах (а отже, і в пухлинних) зміст протопорфіринів вищий, що було показано в численних дослідженнях.

Дана робота спрямована на дослідження та обґрунтування інформаційних можливостей об'єктивного методу двомірного спектрально-селективного ("синя – зелена - червона" ділянки спектру) картографування мікроскопічних зображень полікристалічних плівок ексудату у задачі діагностики та диференціації неалкогольної жирової хвороби печінки та хронічного гепатиту.

## 2. СХЕМА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

На рис. 1 наведена схема модифікованого для досліджень автофлуоресценції біологічних шарів лазерного мікрополяриметра [21]

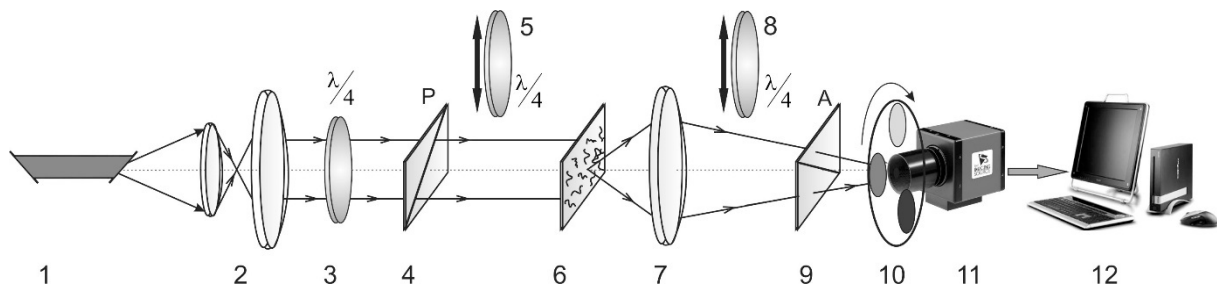


Рисунок 1 – Оптична схема лазерного поляризаційного автофлуоресцентного стокс-поляриметра

Для збудження автофлуоресценції ендogenous флуорофорів полікристалічної плівки ексудату 6 у розташуванні стокс-поляриметра (рис. 1) ми використали "синій" напівпровідниковий лазер LSR405ML-LSR-PS-II з довжиною хвилі  $\lambda = 0,405 \mu\text{м}$  і потужністю  $W = 50 \text{ мВт}$ . Вимірювання координатних розподілів значень інтенсивності автофлуоресценції  $I_{\lambda}^{\Phi}$  у точках мікроскопічного зображення шару полікристалічної плівки ексудату 6 у площині світлочутливої площадки цифрової камери 11 здійснювалося з використанням смугових світлофільтрів 10. Кожен з таких світлофільтрів характеризується наступними максимумами спектрального пропускання "синя -  $\lambda_{\text{max}}^{(1)}$ ", "зелена -  $\lambda_{\text{max}}^{(2)}$ " і "червона -  $\lambda_{\text{max}}^{(3)}$ ".

## 3. СТАТИСТИЧНИЙ АЛГОРИТМ ОБРОБКИ РОЗПОДІЛІВ ІНТЕНСИВНОСТІ ВЛАСНОЇ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ ПЛІВОК ЕКСУДАТУ ЛЮДИНИ

Для об'єктивної оцінки розподілів випадкових значень інтенсивності автофлуоресценції, що характеризують зображення зразків полікристалічних плівок ексудату людини, використовували статистичні моменти першого ( $M_1$  - середнє або математичнє очікування), другого ( $M_2$  - дисперсія), третього ( $M_3$  - асиметрія) і четвертого ( $M_4$  - ексцес) порядків. Дані статистичні параметри обчислювалися у програмному продукті MATLAB 6 за наступними класичними алгоритмами [22]

$$M_1 = \frac{1}{N} (p_1 + p_2 + \dots + p_N); \quad (1)$$

$$M_2 = \sqrt{\frac{1}{N} (p_1^2 + p_2^2 + \dots + p_N^2)}; \quad (2)$$

$$M_3 = \frac{1}{M_2^3} \left\{ \sqrt{\frac{1}{N} (p_1^3 + p_2^3 + \dots + p_N^3)} \right\}; \quad (3)$$

$$M_4 = \frac{1}{M_2^4} \left\{ \sqrt{\frac{1}{N} (p_1^4 + p_2^4 + \dots + p_N^4)} \right\}; \quad (4)$$

де  $N = m \times n$  - загальна кількість пікселів цифрової камери, що реєструє набір параметрів  $p \equiv I$ .

#### 4. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДАНІ ТА ОБГОВОРЕННЯ

В якості об'єктів експериментального дослідження використовувалася серія полікристалічних плівок ексудату трьох груп пацієнтів з наперед визначеним діагнозом:

- хворі з часом регенерації 6 год - група 1;
- хворі з часом регенерації 12 год. - група 2;
- хворі з часом регенерації 24 год. – група 3.

Зразки ексудату готувались в ідентичних умовах – крапля рідини наносилася на підкладку з оптично однорідного скла та розтікалася. Утворена плівка просушувалася при кімнатній температурі на протязі 24 годин до повної кристалізації.

На серії рис. 2 – рис. 4 представлені мікроскопічні зображення та гістограми розподілів інтенсивності автофлуоресценції у площині полікристалічної плівки ексудату пацієнта з групи 1 для різних спектральних ділянок електромагнітного діапазону – “синя -  $\lambda_{max}^{(1)}$ ”, “зелена -  $\lambda_{max}^{(2)}$ ” і “червона -  $\lambda_{max}^{(3)}$ ”.

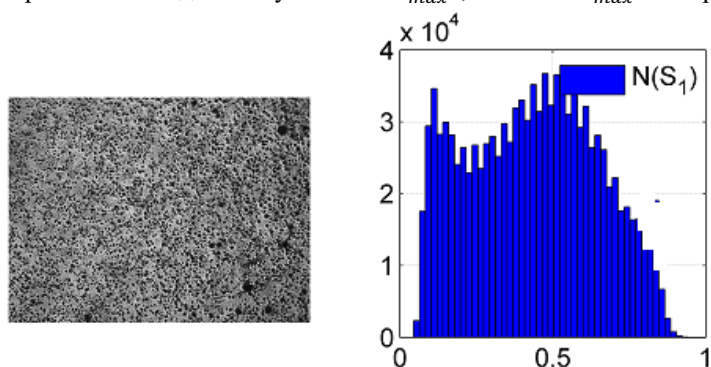


Рисунок 2 – Автофлуоресцентне ( $\lambda_{max}^{(1)}$ ) мікроскопічне зображення полікристалічної плівки ексудату людини (ліва частина) та гістограма розподілу значень інтенсивності власної флуоресценції (права частина)

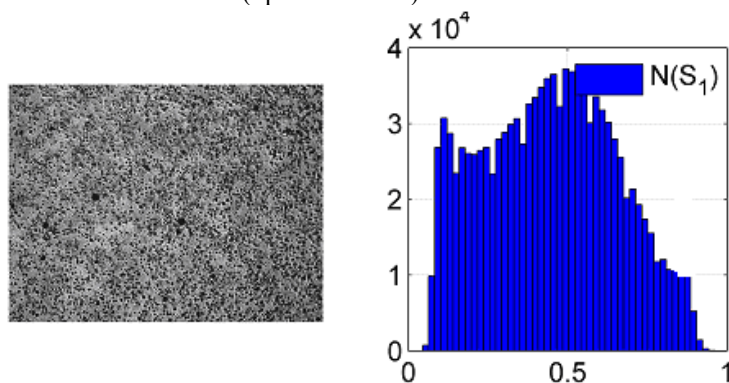


Рисунок 3 – Автофлуоресцентне ( $\lambda_{max}^{(2)}$ ) мікроскопічне зображення полікристалічної плівки ексудату людини (ліва частина) та гістограма розподілу значень інтенсивності власної флуоресценції (права частина)

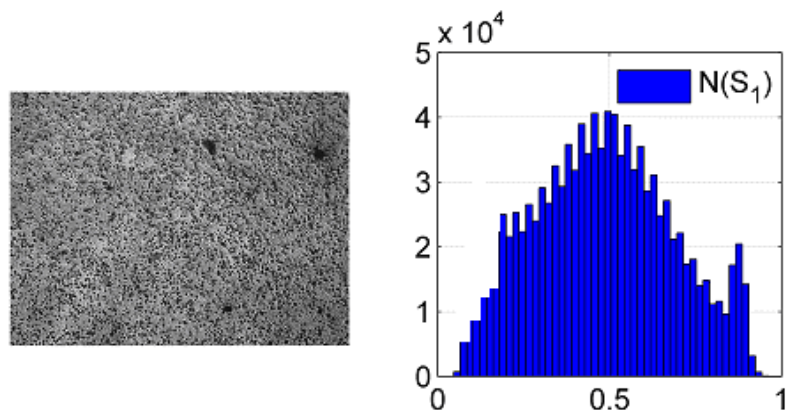


Рисунок 4 – Автофлуоресцентне ( $\lambda_{max}$ ) мікроскопічне зображення полікристалічної плівки ексудату людини (ліва частина) та гістограма розподілу значень інтенсивності власної флуоресценції (права частина)

Порівняльний аналіз координатної та статистичної структури автофлуоресцентних зображень полікристалічної плівки ексудату пацієнта з групи 1 у різних спектральних діапазонах виявив суттєві відмінності між ними (рис. 2- рис.4). Так найбільша інтенсивність власної флуоресценції спостерігається у довгохвильовій (“червоній”) ділянці спектру. Навпаки, найменша інтенсивність флуоресценції має місце у короткохвильовій (“синій”) ділянці. Це підтверджує високу чутливість флуоресцентної діагностики до зміни біохімічного складу ексудату.

У таблицях 1 - 3 приведені результати статистичного аналізу розподілів значень інтенсивності флуоресценції у точках мікроскопічних зображень зразків плівок ексудату всіх трьох груп пацієнтів.

Таблиця 1 - Середнє  $M_1^I$ , дисперсія  $M_2^I$ , асиметрія  $M_3^I$  та ексцес  $M_4^I$ , які характеризують розподіли інтенсивності власної флуоресценції зразків плівок ексудату різних груп пацієнтів для  $\lambda_{max}^{(1)}$

$M_k^I$	Група 1	Група 2	Група 3
$M_1^I$	0,24	0,27	0,31
$M_2^I$	0,31	0,27	0,21
$M_3^I$	0,79	0,88	0,97
$M_4^I$	0,43	0,51	0,63

Таблиця 2 - Середнє  $M_1^I$ , дисперсія  $M_2^I$ , асиметрія  $M_3^I$  та ексцес  $M_4^I$ , які характеризують розподіли інтенсивності власної флуоресценції зразків плівок ексудату різних груп пацієнтів для  $\lambda_{max}^{(2)}$

$M_k^I$	Група 1	Група 2	Група 3
$M_1^I$	0,39	0,56	0,65
$M_2^I$	0,29	0,18	0,14
$M_3^I$	0,91	1,23	1,87
$M_4^I$	0,77	0,93	1,17

Таблиця 3 - Середнє  $M_1^I$ , дисперсія  $M_2^I$ , асиметрія  $M_3^I$  та ексцес  $M_4^I$ , які характеризують розподіли інтенсивності власної флуоресценції зразків плівок ексудату різних груп пацієнтів для  $\lambda_{max}$

$M_k^I$	Група 1	Група 2	Група 3
$M_1^I$	0,46	0,64	0,75
$M_2^I$	0,34	0,21	0,12
$M_3^I$	1,19	1,88	2,72
$M_4^I$	0,55	1,01	1,73

З аналізу одержаних даних видно, що кожне мікроскопічне зображення власної флуоресценції полікристалічної плівки ексудату, що забрана у донора та пацієнтів з різним типом захворювання, характеризується індивідуальним набором значень статистичних моментів 1-го – 4-го порядків.

Установлені наступні діапазони відмінностей величин  $M_{i=1;2;3;4}^I$  автофлуоресцентних мікроскопічних зображень полікристалічних мереж плівок ексудату:

- “синя” ділянка - середнє (збільшення у 1,1 – 1,15 рази); дисперсія (зменшення у 1,14 – 1,46 рази); асиметрія (збільшення у 1,21 – 1,27 рази) і ексцес (збільшення у 1,13 – 1,24 рази);
- “зелена” ділянка - середнє (збільшення у 1,41 – 1,85 рази); дисперсія (зменшення у 1,54 – 2,06 рази); асиметрія (збільшення у 1,41 – 2,07 рази) і ексцес (збільшення у 1,37 – 1,74 рази);
- “червона” ділянка - середнє (збільшення у 1,51 – 1,91 рази); дисперсія (збільшення у 1,4 – 2,6 рази); асиметрія (збільшення у 1,94 – 3,03 рази) і ексцес (збільшення у 1,95 – 3,1 рази);

Як видно найбільший діапазон відмінностей між статистичними моментами 1-го – 4-го порядків, які характеризують автофлуоресцентні мапи полікристалічних плівок ексудату, має місце у довгохвильовій ділянці спектру електромагнітного випромінювання.

Отже, виявлена чутливість зміни величини статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують флуоресцентні мапи плівок ексудату здорових та хворих на неалкогольну жирову хворобу та хронічний гепатит може бути покладена в основу розробки об’єктивної клінічної діагностики та диференціації патології печінки людини.

### ВИСНОВКИ

1. Розроблено та обґрунтовано методику спектрально-селективного двомірного картографування розподілів інтенсивності власної флуоресценції полікристалічних плівок ексудату.
2. У межах статистичного аналізу досліджено структуру мікроскопічних зображень власної флуоресценції полікристалічних плівок ексудату трьох груп пацієнтів з різним часом регенерації ран.
3. Установлені найбільш чутливі до ступеня регенерації статистичні параметри мікроскопічних зображень лазерно-індукованої флуоресценції полікристалічних плівок ексудату.

### ПОДЯКИ

Дослідження виконано за підтримки гранту Національного фонду досліджень України №2023.03/0174.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ / REFERENCES

1. A.P. Demchenko, *Luminescence and Dynamics of Protein Structure*, Naukova Dumka, Kyiv, 1988, 277 p.
2. G. Münch, R. Keis, A. Wessels, et al., Determination of advanced glycation end products in serum by fluorescence spectroscopy and competitive ELISA, *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 35 (1997) 669–677.
3. V.G. Shore, A.B. Pardee, Fluorescence of some proteins, nucleic acids and related compounds, *Arch. Biochem. Biophys.* 60 (1) (1956) 100–107.
4. F. Teale, G. Weber, Ultraviolet fluorescence of the aromatic amino acids, *Biochem. J.* 65 (1957) 476–482.
5. F. Teale, The ultraviolet fluorescence of proteins in neutral solution, *Biochem. J.* 76 (1960) 381–388.
6. L. Stryer, Fluorescence spectroscopy of proteins, *Science* 162 (1968) 526–533.
7. J. Steinhardt, J. Krijn, J.G. Leidy, Differences between bovine and human serum albumins: binding isotherms, optical rotatory dispersion, viscosity, hydrogen ion titration, and fluorescence effects, *Biochemistry* 10 (1971) 4005–4015.
8. R.F. Chen, Extrinsic and intrinsic fluorescence of proteins, in: R.F. Chen, H. Edelhoch (Eds.), *Biochemical Fluorescence: Concepts*, Marcel Dekker, New York, 1973, Ch. 12.
9. Y. Saito, H. Tachibana, H. Hayashi, A. Wada, Excitation energy transfer between tyrosine and tryptophan in protein evaluated by the simultaneous measurement of fluorescence and absorbance, *Photochem. Photobiol.* 33 (1981) 289–295.
10. T. Peters, *All About Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications*, Academic Press, San Diego, 1995.
11. Ye.P. Busel, Luminescent properties of the main protein chromophores, in: *Results of Science and Technology. Series: Molecular Biology*, Vol. 3, VINITI, Moscow, 1973, pp. 85–126.

12. O.I. Dragan, S.N. Khropuniv, Adsorption and luminescence studies of intermolecular interactions of the tyrosine chromophore. I. Analysis of absorption and fluorescence spectra, Biofizika (1989).
13. Примітка: у вихідних даних відсутні том, номер і сторінки.
14. O.I. Dragan, S.N. Khropuniv, Adsorption and luminescence studies of intermolecular interactions of the tyrosine chromophore. II. Influence of solvent polarity on chromophore fluorescence spectra, Biofizika 34 (2) (1989) 187–194.
15. I.V. Shepotinovska, I.M. Nazarova, N.Ya. Umanska, Fluorimetric method for determination of protein amide groups, Laboratornoe Delo (1993) 18.
16. Примітка: бажано уточнити номер журналу та повний діапазон сторінок.
17. N.L. Vekshin, Separation of tyrosine and tryptophan fluorescence components by synchronous scanning, Biofizika 41 (6) (1996) 1176–1179.
18. Yu.A. Ushenko, O.I. Olar, A.V. Dubolazov, V.O. Balanetskaya, V.P. Unguryan, N.I. Zabolotna, B.P. Oleinichenko, Mueller-matrix diagnostics of optical properties inherent to polycrystalline networks of human blood plasma, Semicond. Phys. Quantum Electron. Optoelectron. 14 (1) (2011) 98–105.
19. S.B. Yermolenko, Y.O. Ushenko, A.G. Prydij, S.G. Guminetski, I. Gruia, Spectropolarimetry in singular structure biotissue images for diagnostics of their pathological changes, in: Proc. SPIE 7371 (2009) 73711M.
20. Y.A. Ushenko, Investigation of formation and interrelations of polarization singular structure and Mueller-matrix images of biological tissues and diagnostics of their cancer changes, J. Biomed. Opt. 16 (6) (2011).

*Дата надходження: 15.03.2026*

*Дата прийняття до друку після рецензування: 22.04.2026*

*Дата публікації: 18.06.2026*

*Ця робота ліцензується відповідно до*

*[Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)*

**ЖИТАРЮК ВІКТОР ГРИГОРОВИЧ** – кандидат фізико-математичних наук, доцент, доцент кафедри поліграфічних, мультимедійних та оптичних технологій, Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича, Чернівці, Україна, ***e-mail:*** [v.zhitaryuk@chnu.edu.ua](mailto:v.zhitaryuk@chnu.edu.ua), <https://orcid.org/0009-0004-6187-1501>

**ТОМКА ЮРІЙ ЯРОСЛАВОВИЧ** – кандидат фізико-математичних наук, доцент, доцент кафедри комп'ютерних наук, Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича, Чернівці, Україна, ***e-mail:*** [y.tomka@chnu.edu.ua](mailto:y.tomka@chnu.edu.ua), <https://orcid.org/0000-0002-0495-3090>

**КУРЕК ЄЛЕНА ІГОРІВНА** – кандидат фізико-математичних наук, асистент кафедри поліграфічних, мультимедійних та оптичних технологій, Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича, Чернівці, Україна, ***e-mail:*** [e.kurek@chnu.edu.ua](mailto:e.kurek@chnu.edu.ua), <https://orcid.org/0000-0003-2788-606X>

**БЕРЕЗОВСЬКИЙ ЯРОСЛАВ МИКОЛАЙОВИЧ** – фахівець 1 категорії кафедри поліграфічних, мультимедійних та оптичних технологій, Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича, Чернівці, Україна, ***e-mail:*** [y.berezovskyi@chnu.edu.ua](mailto:y.berezovskyi@chnu.edu.ua), <https://orcid.org/0009-0009-7878-5956>

**V.H. ZHYTARYUK, YU.Y. TOMKA, E.I. KUREK, Y.M. BEREZOVSKYI**

**LASER SYSTEM FOR SPECTRAL-SELECTIVE AUTOFLUORESCENT POLARIMETER OF POLYCRYSTALLINE EXUDATE FILMS IN WOUND REGENERATION MONITORING**

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University