

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ВДНЗ УКРАЇНИ «БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ»**

На правах рукопису

**ВАНЧУЛЯК ОЛЕГ ЯРОСЛАВОВИЧ**

УДК: 616.12-005.4-073.55

**ЕКСПЕРТНА ОЦІНКА ГОСТРОЇ ІШЕМІЇ МІОКАРДА  
ПОЛЯРИЗАЦІЙНО-КОРЕЛЯЦІЙНИМИ МЕТОДАМИ**

14.01.25 – судова медицина

Дисертація  
на здобуття наукового ступеня  
доктора медичних наук

Науковий консультант:  
Бачинський Віктор Теодосович  
доктор медичних наук, професор

Чернівці – 2016

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ДІАГНОСТИЧНІ МОЖЛИВОСТІ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОГО ІШЕМІЧНОГО УШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА У СУДОВІЙ МЕДИЦИНІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	18
1.1.Сучасний стан наукових поглядів на гостру коронарну недостатність.....	18
1.2.Сучасний стан проблеми визначення гострої коронарної недостатності.....	24
1.3 Поляриметричні методи.....	33
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	42
2.1. Матеріал дослідження.....	42
2.2. Методи дослідження.....	43
2.2.1. Методика забору матеріалу та послідовність проведення дослідження.....	43
2.2.2. Узагальнюючий перелік використаних методів.....	44
2.2.2.1. Метод фарбування гематоксиліном, основним фуксином, пікриновою кислотою.....	45
2.2.2.2. Гістотехніка виготовлення гістологічних препаратів забарвлених гематоксилін-еозином.....	46
2.2.2.3. Характеристика лазерних поляриметричних методів.....	47
2.2.2.3.1. Багатомірна поляризаційна та лазерна автофлуоресцентна мікроскопія зрізів міокарда.....	49
2.2.2.3.2. Методи об'єктивного аналізу двомірних розподілів даних багатомірної поляризаційної та лазерної автофлуоресцентної мікроскопії гістологічних зрізів міокарда.....	51
2.2.2.3.2.1. Статистичний аналіз.....	52

2.2.2.3.2.2. Кореляційний аналіз.....	54
2.2.2.3.2.3. Фрактальний аналіз.....	56
2.2.2.3.2.4. Вейвлет аналіз.....	58
2.2.2.3.2.5. Параметричний аналіз.....	61
2.2.2.3.3. Методика проведення поляризаційної мікроскопії зрізів міокарда.....	62
2.2.2.3.4. Методика проведення автофлуоресцентної лазерної мікроскопії.....	66
2.2.2.3.5. Метрологічні параметри лазерного мікрополяриметра ЛМП1.....	69
2.2.2.3.6. Приклади вимірювань.....	69
2.2.2.4. Доказова база отриманих результатів.....	75
2.2.2.4.1. Розрахунок чисельності вибірки.....	75
2.2.2.4.2. Параметри інформативності використання багатомірної поляризаційної та лазерної автофлуоресцентної мікроскопії.....	76
2.3. Висновки до розділу 2.....	80
<b>РОЗДІЛ 3. МАСШТАБНО-СЕЛЕКТИВНА БАГАТОМІРНА ПОЛЯРИЗАЦІЙНА МІКРОСКОПІЯ У ПОСМЕРТНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ГОСТРОЇ ІШЕМІЇ МІОКАРДА.....</b>	<b>82</b>
3.1. Модельний розгляд оптичної анізотропії міокарда.....	82
3.2. Верифікація гострої коронарної недостатності та диференціація з хронічною ішемічною хворобою серця методами багатомірної поляризаційної мікроскопії зрізів міокарда.....	88
3.2.1. Мапи азимута поляризації зображень зрізів міокарда досліджуваних груп.....	88
3.2.2. Мапи еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зрізів міокарда з ХІХС і ГКН.....	94
3.2.3. Інформаційний аналіз мап азимута та еліптичності поляризації мікроскопічних зображень у посмертній діагностиці міокарда.....	98

3.3. Диференціальна діагностика зрізів міокарда шляхом азимутально-інваріантного поляризаційного картографування мікроскопічних зображень.....	106
3.4. Посмертна діагностика ГКН міокарда з використанням вейвлет-аналізу азимутально-інваріантних поляризаційних мап мікроскопічних зображень.....	113
3.5. Висновки до розділу 3.....	124
<b>РОЗДІЛ 4. ДІАГНОСТИКА ГОСТРОЇ КОРОНАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ МЕТОДОМ МЮЛЛЕР-МАТРИЧНОГО АНАЛІЗУ МІОЗИНОВИХ МЕРЕЖ МІОКАРДА.....</b>	<b>129</b>
4.1. Діагностичні можливості багатопараметричного аналізу розподілів “орієнтаційного” елементу матриці Мюллера тканини міокарда.....	130
4.2. Діагностичні можливості багатопараметричного аналізу розподілів “орієнтаційно-фазового” елементу матриці Мюллера тканини міокарда.....	140
4.3. Діагностика ПІ зрізів міокарда шляхом азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування.....	153
4.4. Посмертна діагностика міокарда з використанням вейвлет-аналізу азимутально-інваріантних мюллер-матричних зображень зрізів досліджуваних груп.....	159
4.5. Висновки до розділу 4.....	170
<b>РОЗДІЛ 5. ЛАЗЕРНА АВТОФЛУОРЕСЦЕНТНА ПОЛЯРИЗАЦІЙНА МІКРОСКОПІЯ У ПОСМЕРТНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ГОСТРОЇ ІШЕМІЇ МІОКАРДА.....</b>	<b>173</b>
5.1. Мюллер-матричне картографування оптично анізотропних молекулярних ендогенних флуорофорів міокарда у діагностиці причини настання смерті.....	174
5.2. Спектрально-селективна лазерна автофлуоресцентна	



поляриметрия оптично анізотропних структур міокарда у посмертній діагностиці гострої коронарної недостатності.....	179
5.3. Метод спектрально-селективної лазерної мюллер-матричної поляриметрії автофлуоресценції нікотинамідадениннуклеотиду у посмертній діагностиці гострої ішемії міокарда.....	186
5.4. Метод спектрально-селективної лазерної мюллер-матричної поляриметрії автофлуоресценції флавінів у посмертній діагностиці гострої ішемії міокарда.....	192
5.5. Метод спектрально-селективної лазерної поляриметрії автофлуоресценції ендогенних порфіринів у посмертній діагностиці гострої ішемії міокарда.....	197
5.6. Висновки до розділу 5.....	201
<b>РОЗДІЛ 6. ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАДИЦІЙНИХ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОЇ КОРОНАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ТА МЕТОДУ СТАТИСТИЧНОГО АНАЛІЗУ СПЕКТРАЛЬНО-СЕЛЕКТИВНИХ АВТОФЛУОРЕСЦЕНТНИХ МЮЛЛЕР-МАТРИЧНИХ ЗОБРАЖЕНЬ.....</b>	<b>203</b>
6.1. Результати встановлення ішемії міокарда ГОПФ забарвленням..	203
6.2. Висновки до розділу 6.....	212
<b>АНАЛІЗ Й УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....</b>	<b>214</b>
<b>ВИСНОВКИ.....</b>	<b>236</b>
<b>ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....</b>	<b>240</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....</b>	<b>243</b>

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

*Ac* – збалансована точність

*AUC* – площа під кривою

*Se* – чутливість

*Sp* – специфічність

*TP* – істино позитивний випадок

*TN* – істино негативний випадок

*FP* – хибно позитивний випадок

*FN* – хибно негативний випадок

АТФ – аденозинтрифосфорна кислота

БТ – біологічні тканини

БШ – біологічні шари

ГКН – гостра коронарна недостатність

ГІ – гостра ішемія

ІКМ – індекс кровопостачання міокарда

НАД – нікотинамідаденіндинуклеотид

ФАД – флавінаденіндинуклеотид

ФМН – флавінмононуклеотид

ХІХС – хронічна ішемічна хвороба серця

ПКМ - поляризаційно-кореляційні методи

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Серцево-судинні захворювання є причиною близько третини смертельних наслідків в усьому світі, займаючи лідируючу позицію серед інших причин смерті [243, 256]. Починаючи з 2000 р. серцево-судинні захворювання були причиною 33,7 % зареєстрованих смертельних випадків, серед них 42,5 % були пов'язані з ішемічною хворобою серця (ІХС), зокрема з раптовою серцевою смертю внаслідок гострої коронарної недостатності (ГКН) [176, 304]. Значна поширеність випадків ГКН у практиці судово-медичного експерта та її раптовість, що породжує підозру у судово-слідчих органів на насильницький характер, вимагає використання об'єктивних точних методів діагностики гострої ішемії (ГІ) міокарда. Однак, ГКН важко діагностувати через неспецифічність макроскопічних ознак і необхідність використання специфічних методів забарвлення та через роль «людського фактора». Разом з тим питання встановлення ГІ в ранні терміни залишається відкритим. Тому актуальним є розробка нових методів та критеріїв діагностики патологічних змін міокарда та об'єктивізація і збільшення достовірності даних оцінки результатів змін серцевого м'яза, шляхом доповнення спектру вже існуючих методик.

Пріоритетність вказаного напряму досліджень неодноразово підкреслювалося на наукових форумах, як на державному, так і на міжнародному рівні. Достатньо зазначити, що на наукових засіданнях Міжнародної академії судової медицини (International Academy of Legal Medicine), Міжнародної асоціації судових наук (International Association of Forensic Sciences) завжди в науковій програмі виділяють секцію з танатології, де розглядають сучасні методи встановлення раптової серцевої смерті та ГКН.

Враховуючи багатогранність патологічного процесу, дана проблема є об'єктом досліджень фахівців біохімічних, клінічних, біофізичних, морфологічних та низки інших напрямків медичної науки та, безумовно, значної уваги їй надають фахівці з судової медицини (Герасименко О.І.,

Михайличенко Б.В., Мішалов В.Д., Дунаєв О.В., Федорчук-Незнакомцева Є.П., Ольховський В.О., Завальнюк А.Х., Игрунова К.Н., Зозуля И.С. та ін.) через нез'ясованість та неочевидність обставин смерті, її причин та значну частоту в практиці [42, 46-49, 58, 118].

Сучасні досягнення науки і техніки та розробка на їх основі нових діагностичних методів у медицині дозволяють знайти нові підходи до розвитку та вирішення цієї судово-медичної проблеми. Слід відмітити, що на даний час судово-медична практика потребує суттєвого доповнення методик встановлення ГІ, оскільки існуючі методи залежать від часу, який пройшов від моменту загострення захворювання до моменту настання смерті, кваліфікації персоналу, що проводить дослідження, правильності обробки тканин міокарда та оцінки отриманих результатів. Наявний брак сучасних, об'єктивних методик визначення ГІ спонукає до пошуку і розробки нових методик вивчення патологічних змін міокарда людини.

Із судово-медичної точки зору доцільним є комплексне спектрофотополяриметричне лазерне дослідження зображень міокарда отриманих при дослідженні тіл померлих від ГКН, що є перспективним для визначення діагностичних критеріїв ГІ. Поляризаційно-кореляційні методи (ПКМ) дають нову, об'єктивну інформацію про динаміку зміни лазерних поляриметричних зображень морфологічної структури біотканин та успішно апробовані при розв'язанні таких судово-медичних проблем, як визначення давності настання смерті, часу формування гематом, діагностика часу спричинення та встановлення прижиттєвості тілесних ушкоджень. Загалом застосування лазерів у медичних дослідженнях ґрунтується на використанні широкого кола явищ, пов'язаних з різними ефектами взаємодії світла з біологічними об'єктами. Зокрема використання лазерів в оптиці світлорозсіяння зумовило розвиток іншого напрямку досліджень, пов'язаного з дослідженням двовимірних розподілів оптичних параметрів зображень біологічних об'єктів [179, 320]. Тому розробка нових підходів та засобів аналізу розподілів станів поляризації і фаз світлових коливань зображень

міокарда у різних спектральних діапазонах може бути ефективною для розв'язання завдань визначення їх змін, пов'язаних із вогнищами ГІ при ГКН. В основу такого підходу покладено сукупність методів лазерної спектрофотополяриметрії, які поєднують розвиток традиційних однохвильових методів еліпсометрії з розробкою нових методів поляризаційної і спектральної фазометрії лазерних зображень міокарда людини. З іншого боку самі тканини можуть бути джерелом електромагнітного випромінювання у видимому спектрі після поглинання ними енергії збудження, тобто здатні до автофлуоресценції. Тому паралельно з поляризаційно-кореляційними методами інтенсивно розвиваються альтернативні спектральні методи, засновані на діагностичному використанні ефектів флуоресценції молекул та їх комплексів.

Перспективним є також можливість одночасного проведення диференційної діагностики з хронічною ішемічною хворобою серця (ХІХС).

Тому можна стверджувати, що ПКМ є одним із найбільш перспективних напрямів подальшого розвитку в плані визначення діагностичних критеріїв змін морфологічної структури міокарда людини при ГІ, а відповідно й для встановлення ГКН та ХІХС.

Отже, **актуальність дисертаційного дослідження** зумовлена необхідністю :

1) пошуку і розробки нових підходів до визначення ГІ, комплексу нових методів об'єктивної спектральної, поляризаційної і автофлуоресцентної лазерної діагностики та моніторингу змін параметрів міокарда людини та його макронеоднорідностей для розробки об'єктивних критеріїв судово-медичного визначення ГКН;

2) дослідження можливостей комплексної лазерної спектрофотополяриметрії зображень зрізів міокарда трупа людини в різних спектральних ділянках для встановлення ГІ, а також розробки і обґрунтування комплексу статистичних і кореляційних критеріїв об'єктивного визначення ГКН та диференційної діагностики з ХІХС;

3) пошуку взаємозв'язку між змінами поляризаційної структури спектральних лазерних зображень та розробки поєднаних з автофлуоресцентним дослідженням методів лазерної поляриметрії ділянок ГІ міокарда для об'єктивного встановлення критеріїв ГКН та ХІХС;

4) обґрунтування принципів і розробки практичних рекомендацій з використання в судово-медичній практиці фазометрії лазерних поляриметричних та автофлуоресцентних зображень зрізів міокарда людини для достовірного встановлення ГКН і диференційної діагностики ХІХС.

#### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Тему дисертаційної роботи затверджено Вченою радою ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», протокол №10, від 27.05.2010 року та проблемною комісією «Судова медицина» МОЗ та АМН України, протокол №3, від 02.06.2010 року.

Робота є ініціативною науково-дослідною з державним реєстраційним номером 0110U001984.

**Мета і задачі дослідження.** Розробка багатопараметричної поляризаційної та лазерної автофлуоресцентної мікроскопії біологічних шарів шляхом удосконалення методів традиційного поляризаційного та мюллер-матричного картографування оптично-анізотропних мереж, пошуку нових азимутально-незалежних та масштабно-селективних методів визначення сукупності об'єктивних параметрів, які характеризують поляризаційні, мюллер-матричні та автофлуоресцентні мапи полікристалічних фібрилярних міозинових мереж, для посмертної діагностики ГІ міокарда.

#### **Завдання дослідження:**

1. Дослідити можливості верифікації випадків ГКН шляхом аналізу зображень міокарда за допомогою масштабно-селективної багатомірної поляризаційної мікроскопії, включаючи статистичну, кореляційну і масштабно-самоподібну структуру розподілів азимута та еліптичності поляризації, метод азимутально-інваріантного поляризаційного

картографування та вейвлет-аналізу азимутально-незалежних поляризаційних мап, а також можливості диференціації з XIXC за її допомогою.

2. Встановити можливості методу мюллер-матричного аналізу міозинових мереж міокарда для діагностики ГКН та розмежування з XIXC, включаючи статистичну, кореляційну і фрактальну структуру розподілів “орієнтаційного” та “орієнтаційно-фазового” елементів матриці Мюллера, застосування методу азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування та вейвлет-аналізу азимутально-незалежних мюллер-матричних інваріантів.
3. Виявити спроможність методу статистичного аналізу лазерних поляризаційних автофлуоресцентних зображень ендогенних флуорофорів міозинових мереж у посмертному встановленні ГКН та диференціальної діагностики з XIXC.
4. Здійснити комплексне порівняльне дослідження інформативності сукупності методів багатопараметричної поляризаційної, мюллер-матричної та автофлуоресцентної мікроскопії полікристалічних фібрилярних міозинових мереж у посмертній діагностиці ГІ міокарда.
5. Провести порівняльне дослідження операційних характеристик найбільш інформативного із сукупності методів багатопараметричної поляризаційної, мюллер-матричної та автофлуоресцентної мікроскопії полікристалічних фібрилярних міозинових мереж та традиційного забарвлення за Lee у посмертній діагностиці ГІ міокарда.

**Об’єкт дослідження:** мікроскопія біологічних тканин, зміни поляризаційних властивостей мікроскопічних зображень міокарда у посмертному періоді.

**Предмет дослідження:** азимутально-незалежні поляризаційні мапи мікроскопічних зображень, мюллер-матричні зображення полікристалічних фібрилярних міозинових мереж; взаємозв’язки між набором статистичних, кореляційних і фрактальних параметрів, які характеризують розподіли

значень поляризаційних мап, мюллер-матричних зображень із ішемічними змінами міокарда померлих внаслідок ГКН; розподіли інтенсивності зображень автофлуоресценції зрізів міокарда; операційні характеристики (чутливість, специфічність, збалансована точність) діагностичної ефективності багатопараметричної мікроскопічної та автофлуоресцентної посмертної діагностики міокарда.

#### **Методи дослідження.**

У роботі використовувалися методи поляризаційної мікроскопії (визначалися розподіли азимутів та еліптичності поляризації зображень зрізів міокарда); стокс-поляриметрії (визначалися розподіли елементів матриці Мюллера гістологічних зрізів міокарда); автофлуоресцентної мікроскопії (визначалися координатні розподіли інтенсивності автофлуоресценції); параметричного аналізу (визначалися розподіли екстремальних значень мюллер-матричних зображень гістологічних зрізів міокарда); вейвлет-аналізу (визначалися вейвлет-коефіцієнти розподілів значень поляризаційних мап і мюллер-матричних зображень гістологічних зрізів міокарда); статистичного аналізу (визначалися статистичні моменти 1 – 4-го порядків); кореляційного аналізу (визначалися статистичні моменти 1 – 4-го порядків, які характеризують автокореляційні функції); фрактального аналізу (визначалися логарифмічні залежності спектрів потужності), а також традиційна методика виготовлення гістологічних зрізів та їх забарвлення гематоксилін-еозином і за Lee.

#### **Наукова новизна одержаних результатів.**

Уперше розроблені судово-медичні принципи об'єктивного визначення ГКН міокарда за допомогою взаємодоповнюючого статистичного і кореляційного підходів аналізу одержаної оптичної інформації.

Уперше для аналізу посмертних змін міокарда запропоновано азимутально-незалежні методи поляризаційної мікроскопії та визначено взаємозв'язок між набором статистичних, кореляційних і фрактальних



параметрів, які характеризують розподіли значень поляризаційних мап мікроскопічних зображень міозинових мереж, та випадками ГКН та ХІХС.

Розроблено новий мюллер-матричний метод діагностики посмертних змін міокарда та вперше визначено статистичні (асиметрія та ексцес), кореляційні (ексцес автокореляційної функції) і фрактальні (апроксимуючі криві до логарифмічних залежностей спектрів потужності) критерії діагностики і диференціації ГКН та ІХС.

Уперше для підвищення збалансованої точності посмертної діагностики міокарда використано параметричний та вейвлет-аналіз мюллер-матричних зображень фібрилярних мереж для роздільного аналізу змін первинної та вторинної структури білків у визначенні випадків смерті внаслідок ГКН.

Уперше визначено, що процеси трансформації структури міокарда людини, яка зумовлена динамікою їх посмертних змін, виявляються у зростанні кристалізації фібрилярних мереж міокарда, що кількісно визначається збільшенням середнього, асиметрії та ексцесу, що характеризують координатні розподіли вейвлет-коефіцієнтів розподілів значень поляризаційних мап.

На основі узагальненої мюллер-матричної моделі флуоресценції двопротенезаломлених мереж оптично активних комплексів біологічних тканин розроблений метод спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії для посмертної діагностики ГІ міокарда.

Визначено мюллер-матричні азимутально-незалежні інваріанти лазерної автофлуоресценції, що характеризують поляризаційні прояви флуоресценції ендогенних флуорофорів на тлі лінійного двопротенезаломлення та оптичної активності протеїнів міокарда.

Уперше реалізовано спектрально-селективну лазерну поляриметричну автофлуоресцентну діагностику посмертних змін міокарда та визначено об'єктивні статистичні критерії діагностики випадків ГКН та диференціації з ХІХС.

Уперше продемонстрована діагностична ефективність статистичного аналізу координатних розподілів мюллер-матричних інваріантів лазерної поляризаційної автофлуоресценції у посмертній діагностиці міокарда, що забезпечило відмінну збалансовану точність визначення ГКН.

Уперше продемонстровано високу ефективність методу спектрально-селективної лазерної автофлуоресцентної поляриметрії в задачі посмертної діагностики міокарда, що забезпечило відмінну збалансовану точність визначення ГКН.

Уперше шляхом статистичного, кореляційного та фрактального аналізу репрезентативних вибірок зразків біологічних шарів визначено збалансовану точність методів багатопараметричної поляризаційної та лазерної автофлуоресцентної мікроскопії у посмертній діагностиці ГІ міокарда.

**Практичне значення одержаних результатів.** Одержані під час досліджень наукові результати дозволяють отримувати сучасні, обґрунтовані, точні та об'єктивні дані про посмертну структуру міокарда померлих внаслідок ГКН.

Отримано комплекс нових судово-медичних критеріїв об'єктивного встановлення ГКН шляхом використання комплексу азимутально-незалежних та масштабно-селективних методів визначення сукупності об'єктивних параметрів, які характеризують поляризаційні, мюллер-матричні та автофлуоресцентні мапи полікристалічних міозинових мереж.

Результати роботи з поляризаційної, мюллер-матричної та лазерної автофлуоресцентної мікроскопії зрізів міокарда людини вказують на закономірний характер їх змін у різних посмертному періоді, що актуально для:

1. Розробки комплексу поляриметричних і автофлуоресцентних методів об'єктивного визначення ГКН шляхом статистичного, кореляційного та фрактального аналізу посмертних змін структури мікроскопічних зображень міокарда людини.

2. Підвищення точності азимутально-незалежної поляриметричної діагностики визначення ГКН, яка недосяжна при традиційному поляризаційному аналізі мікроскопічних зображень міокарда у судовій медицині.

3. Розробки азимутально-інваріантного методу мюллер-матричної мікроскопії, ефективного для об'єктивного визначення ГКН з високою точністю.

4. Розробки параметричного та масштабного-селективного вейвлет-аналізу поляризаційних мап і мюллер-матричних зображень зрізів міокарда у діагностиці ГКН з високою точністю.

5. Розробки багатопараметричної автофлуоресцентної лазерної поляризаційної мікроскопії міокарда для діагностики ГКН з максимальною точністю.

**Впровадження результатів дослідження в практику.** Результати дослідження впроваджені в практичну роботу Дніпропетровського, Вінницького, Житомирського, Харківського, Хмельницького, Тернопільського, Сумського обласних бюро судово-медичної експертизи та роботу і навчальний план кафедр судової медицини Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, Харківської медичної академії післядипломної освіти, Харківського національного медичного університету, Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, Івано-Франківського національного медичного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням Ванчуляка О.Я. Особистий внесок автора в отриманні наукових результатів є основним і полягає в виборі напрямку і методів дослідження, контингенту груп, що включені в дослідження, формулюванні мети та завдань дослідження, вивченні даних вітчизняної та закордонної літератури (336 джерел), проведенні патентно-інформаційного

пошуку, проведенні забору матеріалу (150 випадків ГКН, 160 випадків ХІХС, 20 контрольна група), його вивченні при забарвленні за Lee та методами масштабної-селективної багатомірної поляризаційної мікроскопії, мюллер-матричного аналізу міозинових мереж та статистичного аналізу лазерних поляризаційних автофлуоресцентних мікроскопічних зображень міокарда, комплексному статистичному їх порівнянню, аналізу та узагальненню отриманих результатів, формулюванні висновків та практичних рекомендацій та у підготовці наукових результатів до публікацій. У наукових працях та розробках здійснених у співавторстві автору належить провідна роль щодо ідеї їх написання, збору та обробки експертного матеріалу, підготовки до друку та всіх супровідних документів. Запозичень ідей та розробок співавторів публікацій не було.

**Апробація результатів роботи.** Результати дисертаційного дослідження доповідалися на численних конференціях: II міжнародній науково-практичній конференції судових медиків і криміналістів “Бокаріусовські читання” (Харків, 2008), XII конгресі Світової федерації Українських лікарських товариств (Івано-Франківськ – Київ – Чикаго, 2008) 90-ій підсумковій науковій конференції співробітників БДМУ, присвяченій 600-річчю Чернівців (Чернівці, 2009), Ювілейному X з’їзді Всеукраїнського Лікарського Товариства (Київ, 2009) Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю “Впровадження сучасних наукових досягнень в судову експертизу” (Харків, 2009), 91-ій підсумковій науковій конференції співробітників БДМУ (Чернівці, 2010), XIII конгресі ВУЛТ (Львів, 2010), European exhibition of creativity and innovation (Iasi, Romania, 2010), The 14-th international salon of reserch, innovation and technological transfer “Inventica 2010” (Iasi, Romania, 2010), XIII конгресі світової федерації укр. лік. товариств “100 років укр. лік. товариству” (Львів, 2010), 80-й ювілейній науково-практичній конференції студентів і молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Працюємо, творимо, презентуємо» (Івано-Франківськ, 2011), «Актуальні питання сучасної медицини» (Харків, 2011),

92-й підсумковій науковій конференції співробітників БДМУ (Чернівці, 2011), 10-th International Conference “Correlation Optics 2011” (Чернівці, 2011), XI з’їзді ВУЛТ “100 років укр. лік. товариству” (Київ, 2011), 93-й науковій підсумковій конференції професорсько-викладацького персоналу БДМУ (Чернівці, 2013), всеукраїнській конференції «Актуальні питання судово-медичної науки, освіти і практики» (Алушта, 2012), Всеукраїнській науково-практичній нараді-семінарі начальників обл. Бюро СМЕ України (Дніпропетровськ, 2012), Підсумковій науковій конференції професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету (Чернівці, 2013), Науково-практичній нараді начальників бюро судово-медичної експертизи України (Дніпропетровськ, 2012), Всеукраїнській конференції «Актуальні питання судово-медичної науки, освіти і практики» (Сімферополь-Алушта, 2012), Підсумковій науково-практичній конференції працівників Тернопільського державного медичного університету (Тернопіль, 2013), Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання судово-медичної експертизи» (Чернівці, 2013), Науково-практичній нараді начальників бюро судово-медичної експертизи України (Вінниця, 2013), 95-й науковій підсумковій конференції професорсько-викладацького персоналу БДМУ (Чернівці, 2014), Всеукраїнській навчально-науковій конференції з міжнародною участю: “Досягнення і перспективи впровадження кредитно-модульної системи організації навчального процесу у вищих мед. (фарм.) навчальних закладах України” (Тернопіль, 2014), Міжнародному симпозиумі «Osteuropaverein» (Кишинів, Молдова, 2014), Доповідь на Міжнародній науковій конференції “Сучасні досягнення в галузі судової медицини та експертизи” (Ужгород, 29квітня-02 травня 2015 р), 50 Травневій судово-медичній конференції з міжнародною участю разом із 7 Міжнародним симпозиумом Східної асоціації судової медицини (Братислава, Словаччина, 2015), Науково-практичній нараді начальників бюро судово-медичної експертизи України (Кіровоград, 2015) а також на засіданнях кафедри судової медицини та медичного

правознавства ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет».

**Публікації.** Основні наукові положення дисертації викладені у 74 наукових працях, із них: 47 статей в журналах, 26 з яких затверджених переліком ДАК МОН України, 8 – з яких включені до міжнародних наукометричних баз, 15 – закордонних видань, 21 тези наукових конференцій, симпозіумів та з'їздів, 3 з яких у виданнях іноземних держав, 18 статей написано одноосібно, 29 – у співавторстві; отримано шість деклараційних патентів України на корисну модель (1 – одноосібно).

**Структура та обсяг дисертації.** Робота викладена на 292 сторінках машинописного тексту, з яких 154 займає основний зміст і складається із вступу, шести розділів, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій. Робота проілюстрована 54 таблицями та 82 рисунками, список джерел літератури містить 336 джерел із них 165 латиницею та 171 кирилицею.

**РОЗДІЛ 1**  
**СУЧАСНІ ДІАГНОСТИЧНІ МОЖЛИВОСТІ ТА ПЕРСПЕКТИВИ**  
**ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОГО ІШЕМІЧНОГО УШКОДЖЕННЯ**  
**МІОКАРДА У СУДОВІЙ МЕДИЦИНІ**  
**(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)**

**1.1. Сучасний стан наукових поглядів на гостру коронарну недостатність.**

Експертне встановлення із застосуванням об'єктивних критеріїв гострого ішемічного ушкодження міокарда, тобто гострої коронарної недостатності (ГКН), залишається однією зі складних проблем судово-медичної практики. Вирішення даної проблеми є одним із ключових завдань судово-медичної науки. Встановлення ГКН має важливе значення, оскільки воно виступає варіантом раптової смерті, що трактується Всесвітньою організацією охорони здоров'я як засвідчена ненасильницька смерть, яка наступила миттєво або протягом однієї години після початку гострих симптомів [89, 90, 168, 188]. Якщо ж свідків події не було, то раптова смерть визначається часовим проміжком до 24 годин з того моменту, коли людину востаннє бачили живою [135, 260]. Важливість встановлення ГКН зумовлена, таким чином, швидкістю настання смерті та часто відсутністю свідків, що викликає підозру на її насильницький характер та породжує низку питань у працівників судово-слідчих органів [2, 27, 80, 202].

Відзначимо, що ГКН входить до більш широкого поняття – раптова серцева смерть. Раптова серцева смерть є найчастішою причиною раптової смерті [13, 87, 171]. За світовими даними вона становить більше половини випадків смертей дорослого населення [253, 299, 316]. Поряд із цим смертність від захворювань серцево - судинної системи є лідером серед інших нозологій, що зумовлює важливість встановлення ГКН та проведення її диференціації з іншими захворюваннями кардіо-васкулярної системи [1, 222].

Дана проблема набула глобальних масштабів, що підтверджують численні дослідження [231, 256, 296]. Мовою цифр, - поширеність раптової серцевої смерті в країнах Західної Європи від 0,36 до 1,28 випадків на 1000 населення в рік [155, 198, 221]. Саме такі дані оприлюднює Європейська спілка кардіологів [178, 269, 270]. У Сполучених Штатах Америки 56% випадків раптової смерті становить раптова серцева смерть, що за даними авторів має тенденцію до щорічного збільшення на 6% та становить від 180,000 до 450,000 випадків на рік за даними різних джерел [172, 176, 209, 210, 232, 301-303]. Автори також відзначають недостатню увагу до патології серед жіночого населення, що в США становить близько 11% від усіх випадків ГКН [117, 216, 276, 301].

Судові медики акцентують увагу на відсутність на теренах України, Росії, Білорусії та ін. реєстру випадків раптової серцевої смерті в цілому та ГКН зокрема, тому точні кількісні дані про поширеність патології не можливо отримати [30, 35, 55, 56, 242].

Висловлюється думка, що смертність внаслідок ГКН є вищою, від прогнозованої та рутинно зареєстрованої [33, 34, 265].

Вивченню досліджуваної проблеми присвячено чимало робіт вітчизняних і зарубіжних учених, що свідчить про складність і актуальність проблеми для судово-медичної науки не тільки в Україні, але і за її межами, а також вказує на різносторонність патології та необхідність комплексного підходу до її вивчення [48, 213, 217, 220, 223, 277, 312, 315].

У випадках, коли іншої причини смерті не виявлено, а також немає структурних змін міокарда та його судин, причина смерті зарубіжними колегами трактується як синдром раптової аритмічної смерті “Sudden arrhythmic death syndrome (SADS)”, що по суті є ГКН у розумінні вітчизняних авторів. Обмеженість часового проміжку однією годиною підвищує ймовірність аритмічного механізму смерті [228, 313]. За даними дослідників частота SADS становить до 10% від кількості раптових серцевих смертей [173, 301].



Для всебічного об'єктивного заключення про характер і особливості патологічного процесу, у випадку невизначеності патогенетичного фактора, можливості взаємодії кількох факторів, що визначають конкретний тип патології та танатогенезу необхідний детальний аналіз патофізіологічних аспектів ГКН [147, 257, 282].

Однією з можливих причин розвитку ГКН у клінічно здорових людей на думку дослідників можуть бути варіанти розвитку артеріальної сітки серця [242, 252].

Електрофізіологічно ГКН маніфестує, як шлуночкова тахікардія, фібриляція шлуночків, електрична активність без пульсу чи асистолія [259, 297]. Фактичною причиною, що призводить до запуску патологічного кола, яке закінчується смертю, виступає невідповідність у забезпеченні атеросклеротично інтактними коронарними судинами, зростаючої метаболічної потреби міокарда у кисні, з формуванням механізму re-entry [110, 329]. Фактично, баланс між кровопостачанням міокарда та метаболічною потребою в кисні може порушуватись внаслідок різних причин: різкого падіння коронарного кровотоку в результаті тромбоутворення, спазму коронарних артерій на тлі нормальної величини метаболічної потреби; екстремального підвищення потреб у кисні, що перевищує величину коронарного резерву; обмеженості коронарного резерву при фізіологічному підвищенні рівня потреби міокарда в кисні та при різноспрямованості змін величини коронарного кровотоку (зменшення) і рівня потреби (збільшення) [6, 101].

Одноставної думки науковців що до теорії, яка б пояснювала причинно-наслідкові зв'язки та механізми розвитку ГКН немає [79]. Дослідники відзначають, що ушкодження міокарда у випадку ГКН має множинний характер [11, 42, 124]. Власне визначення ГКН включає послідовність подій, проте не вказує на механізм їх розвитку, однак встановлення ключових ланок патологічного ланцюга є вирішальним не тільки для лікування, а й, насамперед, для діагностики патології, зокрема в судово-медичній науці.

Тому окреслимо основні тенденції у встановленні патофізіологічних механізмів ГКН.

На дуку одних дослідників у результаті викликаного гіпоксією переходу метаболізму міокарда на переважне використання з метою енергозабезпечення окислення жирних кислот, на противагу аеробному окислюванню глюкози, відбувається накопичення в клітині надлишкової кількості лактату і протонів водню і, як наслідок, розвиток внутрішньоклітинного ацидозу, ускладненого накопиченням вільних жирних кислот, які в умовах нестачі кисню та зниженні швидкості окисного фосфорилування не встигають окислюватися в циклі трикарбонових кислот [103, 111]. Внутрішньоклітинний ацидоз веде до активації  $H^+/Na^+$ - помпи і накопичення в цитозолі натрію. Для зменшення концентрації натрію активується робота  $Na^+/Ca^{2+}$ - помпи, внаслідок чого відбувається накопичення в цитозолі іонів кальцію [52, 264]. Перевантаження кальцієм веде до порушення скорочення і розслаблення кардіоміоцитів, що може провокувати аритмії [241, 291]. Крім того, надлишок кальцію деструктивно впливає на мембрани мітохондрій, активуючи  $Ca^{2+}$ -залежні фосфоліпази, що руйнують ліпідний бішар мітохондріальних мембран [251, 258]. Це веде до перевантаження кальцієм самих мітохондрій і, як наслідок, роз'єднання окисного фосфорилування та електронтранспортного ланцюга [292]. Відбувається замикання вадного кола, розпочатого пригніченням мітохондріального енергоутворення, за рахунок нестачі кисню [133]. Цей механізм відомий як «кальцієвий парадокс» [199].

Важливо, що порушення в роботі дихального ланцюга відбивається на співвідношенні редокс пари нікотинамідаденіндинуклеотиду  $НАД^+ / НАДН$  в клітинах міокарда, що має патогенетичне значення для порушення функціонування ріанодинових рецепторів 2-го типу і, відповідно, призводить до порушення вивільнення і захоплення  $Ca^{2+}$  з внутрішньоклітинних депо (саркоплазматичного ретикулуму). Встановлено наявність взаємозв'язку між

аккумуляцією НАДН і розвитком контрактури кардіоміоцитів на 250-500-тій секундах ішемії [287].

Багато наукових праць присвячено механізмам розвитку аритмій при ішемії [60, 66, 183, 203, 218, 238, 244, 271, 286, 330]. Деякі вчені проводять поділ ГКН на стадію 1a та 1b. Стадія 1a триває перші 10 хв ішемії, а 1b в подальшому. Вважається, що на стадії 1a переважним механізмом розвитку аритмій є механізм «re-entry», тоді як в 1b аритмії розвиваються, як по механізму re-entry так і за рахунок формування вогнищ ектопічного автоматизму [110]. Феномен re-entry зумовлений затримкою збудження кардіоміоцитів ішемізованої ділянки в результаті чого робиться можливим повторний вхід збуджуючого імпульсу в один і той же регіон та виникнення позачергового збудження, електрофізіологічним підґрунтям даного явища є уповільнення деполяризації [11, 12].

Дані недавно проведених наукових досліджень свідчать про існування прихованої електричної нестабільності, що зумовлена спадковими і, можливо, набутими змінами кальцієвих каналів кардіоміоцитів L - типу, наявність яких встановлена при синдромі Бругада, синдромі вкороченого та подовженого QT, Timothy, J-wave синдромах та ін. [151, 185, 187, 239, 255, 262, 280, 285].

Значна кількість досліджень підтверджує існування зміни функції АТФ-залежних  $K^+$ -каналів, як одного з ключових моментів функціональної нестабільності кардіоміоцитів при ішемії [99, 106]. Автори робіт довели, що при ішемії уповільнення провідності обумовлено ацидозом і гіперкаліємією та викликає зниження мембранної збудливості [289]. Ці зміни в ураженому серцевому м'язі будуть неоднорідними. Неоднорідність мембранної збудливості, зумовлена ацидозом і гіперкаліємією разом із зменшенням АТФ збільшує вікно для розвитку односпрямованого блокування та створює шлях для розвитку аритмій [230, 305].

Науковці довели, що зміни структури і, як наслідок, функції  $Na^+$  каналів можуть бути причиною фатальних аритмій [182, 192, 229].

На думку вчених окремою особливістю, що веде до летального наслідку при гострій ішемії є розміщення щільних контактів не тільки в зоні вставних дисків кардіоміоцитів, але й на інших ділянках цитолемі, що є структурною основою виникнення аритмій [60]. Також наявні результати досліджень, що вказують на структурні перебудови конексонів ортотопічно розташованих нексусів [181].

Що до механізму розвитку ГКН при психоемоційному навантаженні, то тут переважаючою є гіпотеза про проаритмогенну дію катехоламінів [144, 333]. Висловлюється також теорія про катехоламінопосердковане посилення вільнорадикального окислення [103, 332]. Вказані патофізіологічні особливості переважають при так званій катехоламінергічній поліморфній шлуночкової тахікардії [14, 193].

Стосовно раптового падіння серцевого викиду при ГКН, як відображення адаптивно-дезадаптивних механізмів на даний час сформульовано так звану теорію «нових ішемічних синдромів», що об'єднує поняття «оглушений міокард» («Myocardial Stunning»), «гібернуючий - сплячий міокард» («Myocardial Hibernation»), «прекондиціонування» («Preconditioning»), «прекондиціонування - друге вікно захисту» («Second Window Of Protection - SWOP») [121, 126, 190, 195, 224, 237, 278, 314, 336]. При переході на анаеробний гліколіз, на етапі короткочасного періоду адаптації, відбувається виснаження запасів макроергічних фосфатів (АТФ, креатинфосфат) у міокарді, що супроводжується в першу чергу порушенням діастолічної фази розслаблення кардіоміоцитів і, як наслідок, зниженням скорочувальної функції міокарда в ділянці ішемії [98, 122, 235].

Справді, при ГКН найбільш глибоко порушується функція скорочувального апарату – основного споживача енергії [291]. Нестача АТФ в міофібрилах проявляється двояким чином – по-перше, зменшується кількість зв'язків-містків між актиновими і міозиновими нитками і, відповідно, падає скоротлива здатність серцевого м'язу, а по-друге, залишаються зв'язаними волокна міозину і актину, в результаті подальше

переміщення ниток в даному саркомері стає неможливим – виникає контрактура [177, 291]. Тривалість контрактури визначається часом рефосфорилування молекули АДФ [5, 204].

Розглянуті патофізіологічні особливості дозволяють зрозуміти застосування існуючих методів верифікації ГКН, а також відкривають можливості до їх удосконалення та розробки нових способів діагностики, що адекватно відображають характер метаболічних і функціональних зрушень на різних структурно-функціональних рівнях біологічної організації.

## **1.2. Сучасний стан проблеми визначення гострої коронарної недостатності.**

Актуальність верифікації ГКН у судово-медичній практиці зумовила існування низки методів можливого виявлення даного стану [3-5, 31, 42, 45, 220, 300, 306]. Проте наявність численних діагностичних методів вимагає критичного їх осмислення, зокрема усвідомлення переваг в тому чи іншому випадку та обмежень у використанні [9, 10, 16, 38, 70]. Враховуючи різноспрямованість патофізіологічних механізмів та наявність багатьох питань, що залишаються без відповіді, вибір методу діагностики та трактування результатів його використання часто є складним завданням у практиці судово-медичного експерта [17, 123, 128]. Іноземні дослідники відзначають, що для судово-медичних експертів встановлення ГКН є проблематичним від 33% до 96% випадків [207].

Один із важливих моментів під час дослідження трупів при підозрі на ГКН – виявлення таких макроскопічних ознак: дряблий, строкатий міокард з можливим набуханням в ішемізованій ділянці, розширення порожнини лівого шлуночка, свіжі тромби в коронарних артеріях [49, 104, 116, 118, 220]. Автори відзначають, що дряблість міокарда є результатом фібриляції шлуночків, яка спостерігається в більшості померлих [41, 74, 76, 113]. Строкатість забарвлення міокарда полягає в наявності більш світлих ділянок ішемії, що частіше локалізовані в субендокардіальних відділах і часто

чергуються з ділянками повнокров'я [47, 62-64, 77, 161]. Зрозуміло, що така невелика кількість критеріїв та їх недостатня специфічність (дряблий міокард зустрічається також при гіпертрофічній кардіоміопатії, жировій дистрофії серця, як неспадкової етіології так і при тезаурисмозах; при міокардитах міокард не тільки дряблий, але й строкатий) не дозволяють судовому медику тільки на їх основі зробити експертний висновок [14, 120]. Деякі дослідники вважають, що вказані ознаки ГКН практично не верифікуються [71-73].

Дослідники вказують, що тромбоз вінцевих артерій зустрічається відносно рідко, в середньому в 5%, хоча існують дані, що і до 24% випадків ГКН [154, 281]. При цьому відмічена чітка закономірність: чим більший проміжок часу від початку клінічних проявів до моменту смерті, тим частіше зустрічаються тромби [154, 166]. Таким чином на основі наявності даної ознаки діагноз ГКН можна верифікувати щонайбільше тільки в одному з чотирьох випадків.

Низка авторів довели як одну із причин розвитку ГКН різноманітні вроджені аномалії коронарних судин [44, 51, 86, 161, 162]. Проте дані аномалії можна виявити при заповненні артеріальної судинної системи серця візуалізуючими субстанціями з наступним використанням високовартісного непоширеного обладнання, що дозволяє конструювати 3D моделі досліджуваних сердець [95]. На даний час загальної думки вчених та міжнародних організацій кардіологів, морфологів та інших фахівців медичних галузей що до норм закладки, розвитку та єдиних стандартів функціональних навантажень коронарних судин немає [19, 83, 92, 93, 159, 166].

Рядом авторів висловлюється твердження про можливість морфометричного встановлення гострої ішемії [37, 139-142, 152, 170]. Серед морфометричних методів для даної мети використовують індекс кровопостачання міокарда (ІКМ) [78, 81, 174]. ІКМ корелює з адекватністю кровопостачання міокарда та його дефіцитом, показуючи масу міокарда в грамах, яку забезпечує  $1\text{мм}^2$  площі судини. Для його обчислення необхідно

визначити чисту масу міокарда та периметри лівої огиальної артерії, передньої міжшлуночкової гілки лівої коронарної артерії, правої коронарної артерії в найвужчих частинах проксимальної третини [100, 189]. Недоліком даного способу є його неточність. Так при вимірюванні периметру артерій результат залежить від місця виміру техніки процедури, що безумовно знижує цінність методу. Інші дослідники зазначають, що даний метод є неінформативним, оскільки у більш часті за умов ГКН спостерігається порушення на дистальних рівнях коронарного русла, структура якого не досліджується при даному способі [154].

В літературі знаходимо відомості про якісне макроскопічне визначення ділянок ішемії на основі здатності коензимів та дегідрогеназ у здоровому міокарді відновлювати реагент, утворюючи забарвлений продукт реакції, - так звані дегідрогеназні реакції [107]. У випадку ГКН відновлювальні коензими втрачаються, тому в місцях ішемії ділянки міокарда залишаються незабарвленими [8]. Сюди відносять так звану макроскопічну пробу на ішемію з нітросинім тетразолієм (реакція нітро-СТ), що проводиться безпосередньо біля секційного столу [134]. Після проведення проби некротична ділянка виділяється своїм блідо-сірим кольором на фоні карміново-червоного незміненого серцевого м'яза. Застосовується також проба з телуритом калію [136, 169]. Життєздатний міокард забарвлюється в темно-фіолетовий колір. Зона ішемії не дає позитивної реакції і не містить барвника, будучи блідо-забарвленою. Проте дані методи інформативні для діагностики ішемії у чітко визначеному часовому проміжку [127]. Так особливості танатогенезу накладають чіткі вимоги до часу проведення автопсії, для виявлення забарвлення розтин та фарбування повинні проводитись до 6 год після смерті. У більш пізні терміни відбувається руйнування дегідрогеназ і фарбування не спостерігається. Таким чином дані методи не можуть служити об'єктивними засобами діагностики ГКН на всьому часовому проміжку [124].

За даними вчених мікроскопічна діагностика ішемічних пошкоджень базується на структурних проявах порушення енергетичного обміну, що фактично відбивають різної міри стереотипні зміни скорочувального апарату м'язових клітин серця [32, 152, 250]. Оскільки характер змін міофібрил визначає тинкторіальні властивості саркоплазми пошкоджених кардіоміоцитів, їх можна виявити за допомогою мікроскопії забарвлених препаратів.

За даними науковців розвиток різних мікроскопічних змін при ішемії відбувається неодноразово після її початку [62, 63]. Найбільш ранньою ознакою є набряк, який можна виявити вже через 2-3 год та зміни ядер кардіоміоцитів, що діагностуються не раніше як через 4 год від початку ГКН [75]. Більше того, для їх діагностики при автопсії необхідно, щоб особа прожила даний часовий проміжок. Інші зміни в зоні ішемії можна визначити через 6-8 год від її початку, що вносить суттєві складнощі у роботу експерта [22, 137, 145].

Загалом комплекс змін міокарда на мікроскопічному рівні при ГКН включає набряк м'язових волокон, що втрачають глікоген, але зберігають поперечну посмугованість; паретичне розширення капілярів; стаз еритроцитів у судинах; вогнищеві крововиливи; набряк строми та плазматипачне просякнення, набрякання інтими, утворення подушечок у стінках судин [27, 29, 75].

Що до забарвлення гематоксилін-еозином, то тут спостерігаються наступні особливості: колір саркоплазми та інтенсивність забарвлення не відрізняються в пошкоджених та непошкоджених кардіоміоцитах. На ішемічну дистрофію вказує гомогенний вигляд саркоплазми, вона набуває «лакованого» вигляду [23, 53, 113, 115].

Можливе проведення забарвлення гістологічних препаратів залізним гематоксиліном за Реґо (Regaud) [84, 85]. За даними авторів на серійних зрізах вони точно співпадають із настільки ж яскравими і чіткими змінами кардіоміоцитів, які виявляються при забарвленні трихромом по Массону та



при PAS-реакції [37]. Набагато менше простежується співпадіннь при забарвленні гематоксилін-еозином.

При забарвленні за Рего пошкодженні кардіоміоцити чи навіть окремі саркомери мають чорний або темно-сірий колір та чітко контрастують з навколишніми непошкодженими ділянками, які забарвлені в світло-сірий колір [37, 54]. Але варто відзначити, що із плином часу залізний гематоксилін Рего поступово окислюється і через кілька місяців інтенсивність забарвлення змінюється, що повинно враховуватись при виборі часу експозиції та в свою чергу вносить неоднозначність у трактування результатів [84, 119].

За даними літератури, на серійних зрізах при забарвленні по Массону ці ж пошкодження виявляються за різко вираженим просвітленням основного тону забарвлення саркоплазми. Замість насиченого яскраво-червоного кольору кардіоміоцити або їх частини мають блідо-рожеве забарвлення. При використанні даного методу набагато краще візуалізуються пошкодження сарколеми: сарколема стає нерівною, наявні вип'ячування, інколи вона втрачає безперервність [67]. PAS-реакція дозволяє чіткіше візуалізувати ці пошкодження [71].

Важливою особливістю вказаних методів є те, що вони можуть бути використані тільки в більш пізній термін – адже при ранньому їх використанні не вдається отримати об'єктивних критеріїв ішемічного ушкодження міокарда [94].

Відомі методи з використанням метилового зеленого і піроніну, а також фельгенокисленого таніну/азо, проте за літературними даними вони не більш чутливі ніж забарвлення за гематоксилінеозином [16, 149].

Методика забарвлення по Lie (виявлення ушкоджень міокарда різного генезу гематоксиліном-основним фуксином-пикриновою кислотою (ГОФПК) дозволяє виявити ранні ішемічні ушкодження, а також патологію міокарда некоронарогенного походження [132]. При ГКН міокарда виявляється фуксинофільна дегенерація [71, 84]. Варто відзначити, що ішемію за

допомогою даного методу можна виявити вже через 30 хв від її початку [25]. До недоліків методу можна віднести затрати часу та вартість реактивів необхідних для приготування препаратів, складність їх приготування та відсутність кількісних об'єктивних показників, які не залежать від кваліфікованості дослідників та можуть бути багаторазово повторно знову встановлені.

Високоточним методом візуалізації ішемічного ушкодження кардіоміоцитів є метод трансмісійної електронної мікроскопії [24, 26, 153]. Метод дозволяє верифікувати наявність ГКН вже через 5 хв від її початку на основі зменшення розміру гранул глікогену в перинуклеарній ділянці та мікроконтрактур скоротливого апарату. Так через 15 хв від початку ішемії чітко візуалізується початок апоптотичного зморщування ядер кардіоміоцитів, фрагментація міофібрил та інтенсивне утворення мікровезикул біля сарколеми. Автори відзначають, що тільки за допомогою даного методу можна побачити характерний дискоїдний розпад волокон та розриви міофібрил на рівні Z-дисків, а також виявити атопічне розміщення нексусів [108]. При контрастуванні зрізів в розчині оцтовокислого свинцю можна виявити зміни активності ферментної системи АТФ-ази, а за допомогою методики описаної Селігманом можна виявити зміни активності цитохром-с-оксидази [24]. В наступному можна простежити часову динаміку змін міокардіоцитів, що насамперед включають зміни мітохондрій [97, 109, 157]. Таким чином метод дозволяє виявити найбільш ранні структурні зміни міокардіоцитів в зоні ішемії, що не виявляються методом світлової мікроскопії, а також прослідкувати деталі танатогенезу на субклітинному рівні [112, 170].

Проте даний метод вимагає виготовлення цілої серії дороговартісних зрізів (товщина одного зрізу складає 100 нм, а одного міокардіоцита 12-90 мкм, тому, щоб охопити серією зрізів один кардіоміоцит потрібно зробити від 120 до 900 зрізів), а самі зразки руйнуються під пучком електронів в процесі дослідження, що робить неможливим повторне вивчення того ж

зразка [167, 208, 211]. Крім того, придбання та обслуговування електронних мікроскопів є дороговартісною. Ще однією їх особливістю є необхідність роботи в приміщеннях без вібрацій та без зовнішніх електромагнітних полів [24].

На думку більшості вчених незамінними в діагностиці гострих ішемічних ушкоджень є біохімічні методи, оскільки за їх допомогою в експерименті можна виявити прискорення анаеробного гліколізу та роз'єднання окислення і форсфорилування вже через 15 хв від початку ішемії [39, 57, 138]. Відомим з клінічної практики є підвищення активності «серцевих» ферментів та структурних білків актино-міозинового комплексу міокардіоцитів, як маркерів ГКН [272]. Відомі спроби їх використання в судово-медичних цілях для встановлення причини смерті від ГКН. Так проведено комплексне дослідження активності ферментів у стінках вінцевих артерій, міокарді та плазмі крові [40, 58]. При раптової смерті при ГКН були виявлені статистично достовірні зрушення активності аспартат-амінотрансферази, аланін-амінотрансферази, малатдегідрогенази, глутаматдегідрогенази, креатинкінази і кислій фосфатази. На думку авторів, отримані ними дані можуть бути використані в якості додаткових критеріїв для судово-медичної діагностики ГКН [25, 36, 46, 107].

Науковцями досліджена загальна активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) та її ізоферментів у міокарді, скелетних м'язах та печінці. При раптової смерті при ГКН та стадії формування інфаркту міокарда в зонах ішемії і некрозу встановлено різко виражене зниження загальної активності ЛДГ і органоспецифічні зміни з боку ізоферментного спектра, який представлений фракціями ЛДГ1, ЛДГ2, ЛДГ3 [25, 105].

Проте експериментальні дослідження інших авторів вказують на те, що дані методи мають значення для виявлення ГКН скоріше в піддослідних тварин, при їх використанні для встановлення ішемії в людини потрібно враховувати наступне положення. При проведенні судово-медичної експертизи часто не відомий ні точний час смерті, ні тим більше точний час

початку ішемії. Більше того встановлення точного часу початку ішемії утруднене тим фактом, що поява клінічних симптомів не завжди збігається з часом початку ішемії [236, 243]. Це важливо оскільки ферментативна активність і самі ферменти є нестабільними субстанціями, які вимагають вилучення матеріалу в найкоротші терміни після настання смерті, оскільки вони досить швидко підлягають посмертному автолізу. Таким чином без знання точного часу початку ішемії та настання смерті не можливо трактувати зміну активності ферментів.

Гістохімічні методи є своєрідною зв'язуючою ланкою між морфологічними та біохімічними методами. Відомими є наступні неензиматичні методи, що перевірені експериментально на тваринах: виявлення псевдофосфорилази та глікогену. Так активність псевдофосфорилази та зниження глікогену можна зареєструвати через годину після початку ішемії [16, 96]. До експериментально встановлених ензиматичних методів належать зміна активності сукцинатдегідрогенази,  $\beta$ -оксибутиратдегідрогенази та ізоцитратдегідрогенази, зміна характеру розподілу формазину від «дрібнокрапкового» до «великокрапкового» зі збільшенням інтенсивності забарвлення, що реєструються в межах 3-х год. від початку ішемії [61].

Науковцями пропонуються використовувати наступні неензиматичні гістохімічні методи для дослідження міокарда людини: метод з тетрафенілбором та флюоресцентний метод для ліпідів (фосфин 3R) [96, 149]. Також за даними вчених можна використовувати наступні ензиматичні методи: кальцієво-кобальтовий метод встановлення активності АТФ-ази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази [96, 164]. Проте як і у випадку з біохімічними маркерами ішемії результати гістохімічних методів в значній мірі залежать від часу, що минув з моменту настання смерті. Автори наголошують, що для проведення гістохімічних досліджень потрібно забирати тільки свіжий матеріал протягом перших 30 хв після смерті, що

практично не можливо у практичній діяльності бюро судово-медичної експертизи [59, 68].

Для кількісного виявлення порушень функції клітин, тканин і органів на молекулярному рівні авторами пропонується виявлення порушень у функціонуванні калієво-натрієвої АТФ-ази, дискоординація роботи якої при ГКН проявляється падінням концентрації калію і проникнення в клітину натрію, а також запускає ряд інших патофізіологічних процесів [15, 110]. За умов настання смерті в перші 24 год. від початку ішемії пропонується визначити концентрацію калію і натрію в міокарді методом полум'яної фотометрії та на основі результатів здійснюється заключення про можливе ішемічне ушкодження. За даними авторів діагностичне значення має зниження відношення калій/натрій нижче 1,0, яке свідчить про гострі ішемічні порушення в дослідженій ділянці міокарда.

Іноземні автори пропонують використовувати Na/K відношення інтенсивностей рентгенівського випромінювання заморожених зрізів міокарда, отриманого при розтині трупів використовуючи електронно-зондовий метод. Автори стверджують, що використовуючи даний метод, можна верифікувати ішемію вже через 30 хв від її початку [205].

Окремим методом що дозволяє виявити гостре ішемічне пошкодження міокарда є електрофорез ДНК. Оскільки в кардіоміоциті відбувається апоптоз з фрагментацією ДНК, можна виявити олігонуклеотидні ділянки, що відрізняються від електрофоретичної картини здорового серця [21, 129, 130]. Нещодавно запропоновані методи дослідження позаклітинної ДНК, підвищення рівня якої спостерігається при процесах, що запускають апоптоз, в тому числі при гострій ішемії [20, 225, 267, 283]. Проте застосування даного методу вимагає дотримання процедури екстракції нуклеїнових кислот та наявності реактивів та обладнання для проведення електрофорезу, утрудненою є також інтерпретація результатів [267, 307].

Враховуючи, що каналопатії становлять від 4 до 29% випадків ГКН, зарубіжні автори висловлюють думку про діагностику методом полімеразної

ланцюгової реакції з наступним секвенуванням, при цьому можлива наявність низки змін [91, 181, 191, 284, 298]. Наведемо тільки основні гени, зміни яких часто виявляються при ГКН: RYR 2 (ген рецептора рiанодину серця), CASQ 2 (ген серцевого кальсеквестрин) KCNJ2 (ген вхідного потенціалзалежного натрієвого каналу), група генів кальмодуліну, мутації генів натрієвих каналів SCN5A та SCN4B, гену NKX2-5 та ін [192, 207, 240, 249, 263, 290].

Проте мутації вдається виявити тільки в 50-60% випадків [28, 165, 334]. Враховуючи таку невисоку чутливість, а також дороговизну та складність методики, безумовно метод генетичного діагнозу на теперішній час не може бути використаний в повсякденній практиці судово-медичної служби [146, 277].

Таким чином діагноз ГКН залишається складним для встановлення у практиці судово-медичного експерта, що вимагає від лікаря ґрунтовних знань етіології, патогенезу, проявів, можливостей та обмежень методів діагностики для верифікації даного експертного висновку.

### **1.3 Поляриметричні методи.**

Для виявлення ішемії використовують також поляризаційну мікроскопію [163, 273]. Поляризаційна мікроскопія є одним з потужних методів морфологічних досліджень структури і властивостей препаратів біологічних тканин та середовищ організму та дозволяє вивчати властивості гістологічних структур, що володіють здатністю подвійного променезаломлення. Так відомо, що весь комплекс БТ можна представити сукупністю фібрилярних білкових структур, які формують його унікальну структурно-функціональну організацію [331]. Важливою особливістю даних фібрилярних протеїнів є їх чітка впорядкованість, що надає їм властивості рідких кристалів – речовин, які одночасно проявляють плинність рідин і властивості кристалів, молекулам яких властива певна симетрія [317]. Як наслідок, існує анізотропія механічних, електричних, магнітних і оптичних

властивостей речовин цього класу. Саме анізотропію оптичних властивостей можна виявити методами поляриметрії [321].

Для реалізації методу поляризаційної мікроскопії можна дооснастити будь-який мікроскоп. Мікроскоп дооснащують двома поляризаційними фільтрами: перший поміщають безпосередньо під конденсором, другий поміщають між об'єктивом і оком дослідника [82, 158]. Поворотом поляризатора домагаються затемнення поля зору. Поміщають препарат. Обертають препарат на предметному столику до появи яскраво освітлених структур. Світіння з'являється в той момент, коли вісь двопротенезаломлюючого об'єкта буде знаходитися під кутом  $45^\circ$  до площини поляризації [219].

Поляризаційна мікроскопія пройшла різні етапи свого розвитку з поступовим удосконаленням методики. На початковому етапі для поляризаційної мікроскопії використовувалися поляризаційні фільтри з лінійною поляризацією. В наступному розпочалось використання поляризаційних фільтрів з циркулярною поляризацією. Виявилось, що зображення, отримані за допомогою циркулярних фільтрів, несуть набагато більше інформації і дозволяють виявляти більш тонку структуру тканин і клітин [227, 234].

Дослідження в поляризованому світлі можна проводити на заморожених або парафінових зрізах після депарафінізації, нефарбованих і забарвлених, залитих у різні середовища. Блоки тканини слід вирізати і орієнтувати таким чином, щоб м'язові волокна шару міокарда були зрізані подовжньо. Міофібрили в поляризованому світлі виявляють характерну поперечну смугастість, пов'язану з чергуванням, анізотропних (А) і ізотропних (І) дисків. Диски А мають яскраво виражене позитивне двопротенепереломлення і здаються світлими в поляризованому світлі (у звичайному світлі вони темні), тоді як І-диски майже повністю позбавлені здатності до двопротенепереломлення і в поляризованому світлі виглядають темними (у звичайному світлі - світлі) [219, 233].

Метод зручно використовувати для виявлення контрактур при гострому ішемічному пошкодженні кардіоміоцитів.

Прийнято виділяти три стадії цих пошкоджень:

- I стадія - посилюється анізотропія на окремих ділянках м'язових волокон;

- II стадія - А-диски з підвищеною анізотропією зближуються, внаслідок чого товщина І-дисків зменшується;

- III стадія - А-диски зливаються в суцільний анізотропний конгломерат.

Поряд з контрактурними ушкодженнями поляризаційна мікроскопія дозволяє ідентифікувати ще один тип ураження поперечно-смугастих м'язових волокон - гіперрелаксацію саркомерів при ішемії міокарда [82].

Останнє десятиліття поляризаційна мікроскопія шляхом міжгалузевої інтеграції оптичної фізики, аналітичної математики та медицини трансформувалась в лазерну поляриметрію. Потужна діагностична цінність у поєднанні з об'єктивністю, відтворюваністю та швидкістю отримання результату зумовили впровадження даної методики в галузь судово-медичної діагностики [7, 18, 326].

Зокрема розроблені об'єктивні доказові критерії встановлення зажиттєвого чи післясмертного характеру спричинення тілесних ушкоджень, а також строки їх давності на основі визначених і теоретично обґрунтованих взаємозв'язки між зажиттєвістю чи післясмертністю утворення саден та статистичними (середнє і дисперсія) і просторово-частотними (дисперсія екстремумів Log–log залежностей спектрів потужності) параметрами, що характеризують координатні розподіли інтенсивності, азимутів, еліптичності, фазових зсувів між ортогональними компонентами лазерної хвилі в зображеннях шкіри біоманекенів [7, 18]. У результаті виявлені статистичні критерії диференціації зажиттєвого або післясмертного походження ушкоджень шкіри тіла людини. До головних можна віднести наступні. Часова динаміка зміни середнього ( $M_1$ ) розподілу азимутів поляризації лазерних зображень зрізів зажиттєвих та післясмертних саден показує



наявність статистично достовірної різниці від 1 до 90 год.. Часова динаміка зміни середнього ( $M_1$ ) розподілу еліптичності лазерних зображень зрізів зажиттєвих та післясмертних саден показує можливість диференціації зажиттєвого або післясмертного походження саден шкіри в терміни від 1 до 60 год. Статистичний аналіз часової динаміки зміни середнього ( $M_1$ ) та дисперсії ( $M_2$ ) розподілу ступеня деполяризації лазерних зображень зрізів зажиттєвих та післясмертних саден людини вказує на наявність статистично достовірної різниці для зміни середнього ( $M_1$ ) від 1 до 130 годин, а для зміни дисперсії ( $M_2$ ) – від 1 до 100 год [200, 201].

Розроблено комплекс методів судово-медичної лазерної спектрофотополяриметрії та фазометрії біологічних структур трупа людини для об'єктивного визначення ДНС і часу формування гематом. Установлено, що кількісно поляризаційні зміни БТ після настання смерті характеризуються зменшенням рівня просвітлення, зміною розмірів поляризаційно-активних структур, різницею екстремальних значень азимутів і еліптичності поляризації, звуженні інтервалів випадкової зміни цих параметрів, що зумовлює можливість визначення ДНС у межах 1–48 год. (для дерми шкіри, м'язів), від 1-16 год. (для нирки, селезінки, легеневої тканини, тонкої кишки) та від 1-6 год. (тканина мозку) [18]. Двовимірні структури поляризаційних мап володіє різною швидкістю зміни статистичних моментів 1–4-го порядків, які характеризують координатні розподіли значень азимутів і еліптичності лазерних зображень біологічних тканин [266, 327]. Усі статистичні моменти поляризаційних мап тканин трупа людини з плином післясмертного часу досягають насичення діапазону зміни власних значень, що на 35% - 45% розширює часові терміни визначення ДНС у порівнянні з лазерною поляриметриєю.

Найбільш інформативним до змін оптичної анізотропії БТ і пов'язаними з цим змінами поляризації лазерного випромінювання є четвертий параметра вектора Стокса. Часові залежності статистичних моментів 3-го і 4-го

порядків, які характеризують координатні розподіли четвертого параметру вектора Стокса зображень тканин трупа, збільшують можливості визначення ДНС порівняно з поляризаційним картографуванням до 70 год. післясмертного періоду залежно від виду БТ [179, 180].

Елементи матриці Мюллера, яка являє собою аналог поляризаційно-фазових властивостей архітекtonіки БТ людини та морфологічно пов'язана з концентрацією речовини оптично анізотропних протеїнових структур, у післясмертному періоді динамічно змінюються і зумовлюють можливість визначення ДНС у діапазоні від 1 до 13–70 год., залежно від типу БТ [158, 175, 261].

Автокореляційний аналіз розподілів поляризаційних параметрів лазерних зображень гістологічних зрізів БТ трупа, зумовлених їх післясмертними руйнівними змінами, є ефективним для відповідного часового моніторингу, що забезпечило збільшення до 120 год. інтервал визначення ДНС шляхом кореляційного аналізу поляризаційних параметрів спектрів потужності лазерних зображень зрізів м'язової і сполучної тканини у порівнянні з даними поляриметричного моніторингу.

Паралельно до поляриметричної мікроскопічної діагностики БТ інтенсивно розвиваються методи наноскопії, що засновані на діагностичному використанні ефектів флуоресценції білкових молекул та їх комплексів [69, 125]. Люмінесцентний аналіз відкрив великі можливості для медико-біологічних досліджень. Завдяки високій чутливості до малих кількостей біологічного активного матеріалу та хорошій відтворюваності результатів, метод знайшов широке застосування у вирішенні низки завдань в галузі молекулярної та клітинної біології. Зокрема медичне використання люмінесцентного аналізу полягає в діагностиці найважливіших фізіологічних процесів [148]. Впровадження лазерної техніки надає люмінесцентному аналізу якісно нові характеристики, що дозволяє значно підвищити ефективність досліджень. Відомо, що основою лазерного флуоресцентного аналізу лежить реєстрація фотонів, які випромінюють молекули при їх

переході із електонно-звуженого стану в стаціонарний. З фізичних досліджень відомо, флуоресценція з найнижчого коливального рівня  $s^1$  на рівень  $S^0$  відбувається без зміни спіна електрону, тобто відноситься до квантовомеханічних дозволених переходів і триває приблизно  $10^{-8}$  с. Так як на процес збудження молекули потрібний час приблизно в тривалість світлового коливання (орієнтовно  $10^{-15}$  с), то за долі секунди можна отримати інформацію про досліджуваний об'єкт [69, 150].

Флуоресцентні методи оптичної біопсії можна розрізнити на два класи: методи, засновані на реєстрації флуоресценції ендогенних флуорофорів, автофлуоресценції та на ті, що використовують різні флуоресцентні сполуки, що вводяться у клітину ззовні для візуалізації тих чи інших процесів та структур. Використання власної флуоресценції (автофлуоресценції) для діагностики біохімічних процесів, що мають місце в клітині, одне з найбільш точних, оскільки не тільки володіє високою чутливістю, але й здатне до топографічного маркування [125, 148].

За даними авторів можливе виявлення різниці в люмінесценції між пошкодженим та інтактним міокардом. При використанні розчину тетрацикліну ділянка ішемії чи некрозу на темному фоні міокарда люмінесціює яскравим жовтим кольором, що відомо як люмінесцентний мікроаналіз. Ділянки міокардіокслерозу не вступають у реакцію з тетрацикліном і люмінесціюють блакитно-білим кольором [114]. Основним недоліком даного методу, як і інших методів з використанням органічних флуорофорів, є швидка фотодеструкція останніх, їх короткий період напівжиття та наявність фонової флуоресценції флавінів, піридинів, колагену та еластину [50]. Нещодавно стало відомо, що одним із способів усунення даних недоліків може бути заміна органічних флуорофорів на їх флуоресціюючі хелати з іншими лігандами [125]. Проте можливість виявлення ішемії та некрозу такими комплексами досі не встановлена.

На сьогодні автофлуоресцентний аналіз широко використовується в різних галузях медицини з діагностичною метою. Зокрема методи застосовуються в

гастроентерології, онкології, гінекології, офтальмології, стоматології, дерматології [69, 150, 226, 288, 328].

Встановлені основні тканинні флуорофори, розроблені різні прототипи установок для клінічного використання [226, 311]. Так міокардіоцити містять речовини, що здатні до флуоресценції – флуорофори. Так близько 90% флуоресценції білків зумовлена наявністю в їх складі амінокислоти трипрофану. Максимум флуоресценції досягається при довжині хвилі 300 – 350 нм. Час життя флуоресценції триптофану білками лежить в діапазоні 1-7 нс і залежить від амінокислотної послідовності білку та його третинної структури [288]. Також флуорофорами є і інші амінокислоти, зокрема цистин, цистеїн, фенілаланін та тирозин. В синій та жовтозеленій ділянці спектру флуоресціюють НАДН та НАДФН (довжина хвилі 440-480 нм) та окиснені флавопротеїди (довжина хвилі 510-540 нм). Практично найменші зрушення в метаболізмі клітин відображаються на динаміці флуоресцентних властивостей НАД, НАДФ та ФП, що може бути виявлено за допомогою флуорисцентного аналізу. Власною флуоресценцією володіє і скоротливий апарат міокардіоцитів та мітохондріон, при чому як і для вище вказаних речовин, флуоресцентні властивості залежать від фізіологічного стану та змінюється при різних станах клітини. Флуоресценція в червоній ділянці спектру зумовлена наявністю порфіринів [323-326].

Вчені відзначають, що класична флуоресцентна мікроскопія має роздільну здатність, що практично дорівнює світловій мікроскопії [226, 288, 335]. Це зумовлено обмеженням, яке накладається на роздільну здатність складних (багатолінзових) оптичних систем, довжиною хвилі використовуюваного пучка світла [245, 311]. Тому повністю розкрити весь спектр можливостей флуоресцентних методів для діагностики ГКН можна тільки за допомогою методу лазерної мікроскопії [131, 160, 214]. Метод дозволяє виявляють стан мітохондрій та інших клітинних органел та вивчати перебіг патологічних процесів, які протікають у клітинах ішемізованого

серця [88, 246, 254, 310]. При використанні Tb<sup>3+</sup> – тетраметилпродаміну можливе вивчення взаємодії актину та міозину [50].

Вчені відзначають переваги методу мікроспектрофлуометрії для дослідження власної флуоресценції клітин, що відомий також як автофлуоресценція [148]. Як було зазначено, основними джерелами флуоресценції виступають піридинові та флавінові нуклеотиди, які володіють власними спектрами, а також білки в тому числі актино-міозинового комплексу [69, 150]. Вивільнення кванту світла відбувається при переході електрону на нижчий енергетичний рівень, тому сполуки, що володіють такими властивостями володіють структурою, що дозволяє електронам рухатись між енергетичними рівнями [43, 328]. Цілком зрозуміло, найпотужнішими флуорофорами в організмі такими виступають донатори електронів у дихальному ланцюгу такі як NADH, NADPH [186]. Ендогенна флуоресценція, як правило створює небажаний фон при використанні екзогенних флуоресцентних біологічно активних речовин та флуоресцентно-мічених молекул, але вона несе в собі надзвичайно цінну інформацію про метаболізм клітини, зокрема і тої, що знаходяться в середовищі з недостатньою кількістю кисню [50]. Спектральні характеристики NADH, NADPH ( $\lambda$  мф довжина хвилі максимуму флуоресценції 465–480 нм) і флавопротеїдів ( $\lambda$  мф = 510–570 нм) уже детально вивчені, що дозволяє використовувати їх у мікроспектральному аналізі, як індикатори активності енергетичного апарату клітини та виявляти розвиток ішемії вже на 250-500-х секундах після її початку в експерименті [184].

Разом з тим, на даний час відома незначна кількість публікацій, що присвячені використанню аналізу флуоресценції оптично активних білкових молекул та їх комплексів у завданнях судової медицини [156]. Тому перспективним завданням судової медицини виявляється розвиток описання оптичної анізотропії біологічних шарів на більш загальний випадок флуоресценції двопротенезаломлюючих мереж оптично активних

молекулярних комплексів з фазовою анізотропією. У практичному аспекті перспективною є розробка автофлуоресцентних методів у завданні посмертної діагностики ішемії міокарда.

Результати цього розділу висвітлені у наступних публікаціях:

1. Ванчуляк О.Я. Діагностика структурних змін міокарда людини у випадку гострого ішемічного ушкодження (огляд літератури) / О.Я. Ванчуляк // Судово-медична експертиза. – 2014. – № 2. – С. 31-35.
2. Ванчуляк О.Я. Структурні зміни міокарда при гострій коронарній недостатності / О.Я. Ванчуляк // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. ПЛ Шупика. – Київ, 2014. – Випуск 23, Книга 3. – С. 510-516.
3. Теоретичні основи вивчення морфологічної структури позаклітинної матриці основних типів тканин людини для розробки нових оптичних методів дослідження у судовій медицині / В.Т. Бачинський, О.Я. Ванчуляк, І.Г. Савка, М.Р. Тимчук // Матер. всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю “Впровадження сучасних наукових досягнень в судову експертизу” – Харків: ТОВ “Оберіг”. – 2009. – С. 155-158.
4. Optical methods of investigation in forensic practice / V.T. Bachinsky, O.Y. Vanchulyak, A.I. Zavolovich [et al.] // Info-Med Revistă științifico-practică. – 2014. – P.32-33.
5. Modern optical methods of investigation of acute ischemic myocardial injury / O.Y. Vanchulyak, N.V. Tymoshchuk, Y.V. Sarkisova, P.Y. Kyshkan // XVIth Edition of Craiova International Medical Students' Conference. – 6-9 November 2014. – Craiova, Romania. – P. 42.

## РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В розділі описано групи дослідження та критерії включення в них. Детально охарактеризовано поляризаційно-кореляційні та автофлуоресцентні методи дослідження. Наведено приклади обчислень. Охарактеризовано принципи статистичного опрацювання отриманих даних.

### 2.1. Матеріал дослідження.

У первинному дослідженні діагностичних можливостей лазерних поляризаційно-кореляційних та автофлуоресцентних методів для встановлення ГКН, що проведено шляхом встановлення критеріїв гострого ішемічного ушкодження кардіоміоцитів, встановлення чутливості, специфічності, збалансованої точності у порівнянні з «золотим стандартом» та можливостей практичного використання методів, враховуючи можливість диференціації ГКН від ХІХС, досліджувались ділянки міокарда трупів людей. Відповідно до поставлених цілей, виділено три групи та розроблено критерії включення та критерії виключення [65]. Всі померлі були жителями м. Чернівці та області, які зі слів родичів та даних судово-гістологічного дослідження не мали інших значних системних захворювань та не знаходились з цього приводу на обліку.

I група – контрольна (20 трупів)

Критерії включення:

- трупи людей двох статей віком від 18 до 40 років;
- насильницька смерть з відсутнім агональним періодом.

Критерії виключення:

- наявність анамнестичних, макроскопічних, мікроскопічних, в тому числі гістохімічних даних наявності патології міокарда;
- виявлення ознак характерних для агонії під час помирання;
- лабораторно підтверджені будь-які екзогенні інтоксикації.

II група – ГКН (150 трупів)

Критерії включення:

- трупи людей двох статей віком від 18 до 45 років;
- гістохімічно підтверджено ГКН.

Критерії виключення:

- наявність анамнестичних, макроскопічних, мікроскопічних, в тому числі гістохімічних даних іншої патології міокарда;
- підтверджено лабораторно наявність будь-яких екзогенних інтоксикацій.

III група – XIXC (160 трупів)

Критерії включення:

- трупи людей обох статей віком старше 45 років;
- макроскопічні ознаки: дрібновогнищевий міокардіосклероз, наявність атеросклеротичних бляшок у просвіті коронарних артерій, гіпертрофія стінки лівого шлуночка (товщина стінки 1,6-2,0 см), гіпертрофія пупкових м'язів, укорочення сухожилля мітрального клапана.

Критерії виключення:

- постінфарктний міокардіосклероз;
- наявність анамнестичних, макроскопічних, мікроскопічних, у тому числі гістохімічних даних іншої патології міокарда;
- підтверджено лабораторно наявність будь-яких екзогенних інтоксикацій.

Чоловіків було 254 (76,96%), середній вік  $45,8 \pm 4,12$  років, жінок – 76 (23,64%), середній вік  $51,6 \pm 4,31$  років. У віці до 30 років було 41 чоловіків, середній вік складав  $25,3 \pm 1,25$ , жінок 12, середній вік складав  $24,7 \pm 1,97$ . У віковій групі з 31-40 рр. було 78 чоловіків, середній вік складав  $35,8 \pm 1,01$ , жінок 14, середній вік складав  $36,2 \pm 0,63$ . У віковій групі з 41-50 рр. було 38 чоловіків, середній вік складав  $45,6 \pm 1,04$ , жінок 9, середній вік складав  $43,5 \pm 0,71$ . У віковій групі з 51-60 рр. було 48 чоловіків, середній вік складав  $55,7 \pm 0,78$ , жінок 12, середній вік складав  $56,2 \pm 0,79$ . У віковій групі з 61-70 рр. було 27 чоловіків, середній вік складав  $65,5 \pm 0,77$ , жінок 12, середній вік



складав  $64,8 \pm 0,70$ . У віковій групі з старше 71 р. було 22 чоловіків, середній вік складав  $73,7 \pm 0,53$ , жінок 17, середній вік складав  $75,0 \pm 1,04$ . Статеві-віковий розподіл по групах дослідження ілюструє таблиця 1.

Таблиця 1

**Статеві-віковий розподіл трупів досліджуваних груп**

	Вікові групи, роки	Чоловіки		Жінки	
		Кількість	Вік, $M \pm m$ , років	Кількість	Вік, $M \pm m$ , років
ХІХС	41-50	19	$48,4 \pm 0,79$	3	$45,6 \pm 0,65$
	51-60	48	$55,7 \pm 0,77$	12	$56,2 \pm 1,84$
	61-70	27	$65,5 \pm 1,16$	12	$64,8 \pm 0,70$
	$\geq 71$	22	$73,7 \pm 0,96$	17	$75,0 \pm 1,04$
	Всього	116	$60,2 \pm 2,58$	44	$65,1 \pm 2,85$
ГКН	$\leq 20-30$	28	$25,8 \pm 0,95$	8	$25,5 \pm 1,94$
	31-40	76	$35,9 \pm 1,01$	13	$36,5 \pm 0,58$
	41-45	19	$42,7 \pm 0,69$	6	$42,5 \pm 1,31$
	Всього	123	$34,6 \pm 2,56$	27	$34,5 \pm 2,87$
Контроль	$\leq 20-30$	12	$24,1 \pm 1,27$	3	$21 \pm 8,27$
	31-35	2	$33,5 \pm 2,93$	2	$31,5 \pm 10,54$
	Всього	15	$26,4 \pm 2,68$	5	$25,2 \pm 2,46$
Разом		254	$45,8 \pm 4,12$	76	$51,6 \pm 4,31$

Як у контрольній групі так і групі ГКН, ХІХС кількісно переважали чоловіки. Найчисельнішою у групі ГКН була вікова категорія 31-40 рр., у групі ХІХС вікова категорія 51-60 рр.

## 2.2. Методи дослідження.

### 2.2.1. Методика забору матеріалу та послідовність проведення дослідження.

Забір матеріалу проводився поточно у період з 2010 по 2015 рр. у приміщенні комунальної медичної установи “Обласне бюро судово-медичної експертизи” Департаменту охорони здоров’я Чернівецької обласної державної адміністрації при змішаному освітленні, температурі повітря  $+18-22^\circ\text{C}$  та відносній вологості 60-75%.

У всіх випадках забір проводився з різних анатомічних структур, включаючи ділянки перетинки, стінки правого та лівого шлуночка, стінки правого та лівого передсердя, а також область верхівки. Паралельно проводився забір на судово-гістологічне дослідження згідно інструкції про проведення судово-медичної експертизи № 6 від 17 січня 1995 року «Про затвердження та удосконалення судово-медичної служби в Україні». Формувались блоки об'ємом  $1 \text{ см}^3$ , які безпосередньо після забору нарізались на заморожуючому мікротомі на зрізи товщиною  $30 \pm 5 \text{ мкм}$ . Зрізи маркувались відповідно до присвоєного номера з буквеною вказівкою на відповідний метод дослідження. Зрізи підсушувались. Висушені нативні зрізи доставлялись у лабораторію кафедри оптики та видавничо-поліграфічної справи Чернівецького національного університету ім. Ю. Федьковича, де і проводилось дослідження лазерних поляриметричних характеристик даних зрізів.

Алгоритм-схему проведених досліджень ілюструє рис. 2.2.

### **2.2.2. Узагальнюючий перелік використаних методів.**

Для реалізації поставлених завдань у роботі використано «золотий стандарт» для верифікації гострого ішемічного ушкодження міокарда – фарбування гематоксиліном, основним фуксином, пікриновою кислотою (ГОПФ), – метод Lie. Також досліджувались гістологічні зрізи, забарвлені гематоксилін-еозином за стандартною методикою.

Лазерні поляриметричні методи використані відповідно до існуючого положення про рідкокристалічну структуру протеїнових волокон БТ.

Визначення достатнього об'єму вибірки, лазерних поляриметричних критеріїв ГКН та для встановлення їх діагностичних характеристик проведено з використанням статистичного обґрунтування.

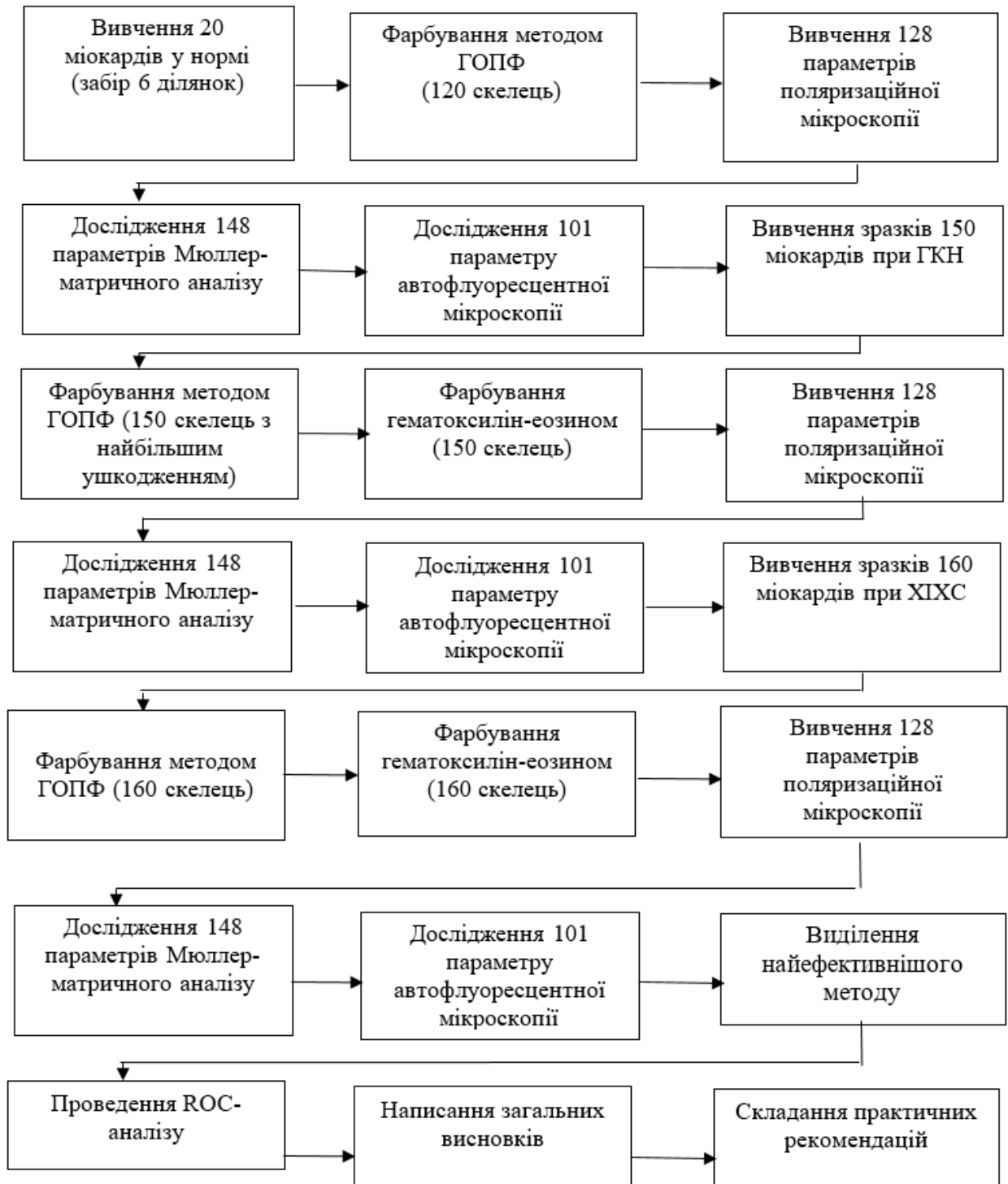


Рис. 2.2. Алгоритм-схема проведених досліджень.

### **2.2.2.1. Метод фарбування гематоксиліном, основним фуксином, пікриною кислотою.**

Метод виявлення ранніх ішемічних ушкоджень міокарда, запропонований Lie під назвою «фуксинорагічний», дозволяє виявляти як ішемічні так і некоронарогенні, ушкодження міокарда, забарвлюючи при цьому еритроцити, фібрин і сполучнотканинні структури, що дозволило проводити комплексне дослідження міокарда [132].

Для дослідження за даним методом, блоки досліджуваного матеріалу фіксували в кислому 10% формаліні. Проводили заливку в парафін [84].

Для методу ГОПФ попередньо готувались розчини А, В та С. Розчин А готувався з 6 г алюмо-амонієвих квасців, 0,5 г гематоксиліну, 0,25 г жовтого оксиду ртуті, які кип'ятили в 70 мл дистильованої води 10 хв, після чого охолоджували до кімнатної температури та додавали 30 мл гліцерину і 4 мл льодяної оцтової кислоти. Розчин В: 0,1% розчин основного фуксину в дистильованій воді. Розчин С: 0,1% розчин пікринової кислоти в абсолютному ацетоні [85, 119, 132].

Процедура фарбування проводилась наступним чином: 1) зрізи депарафінувались та доводились до води за стандартною методикою; 2) розчином А забарвлювали протягом 10 с; 3) промивали у проточній воді 5 хв; 4) фарбували розчином В 3 хв; 5) ополіскували в дистильованій воді 5-10 с; 6) ополіскували в абсолютному ацетоні (5-10 с) 7) диференціювали в розчині С 20 с; 8) полоскали у абсолютному ацетоні 5-10 с; 9) просвітляли у ксилолі і поміщали у канадський бальзам [37].

Всі маніпуляції проводились при кімнатній температурі. Розчин С і всі промивні рідини мінялись після кожних 5-6 зрізів.

Ішемізовані кардіоміоцити верифікували за малиново-рожевим забарвленням, тоді як не уражені кардіоміоцити забарвлювались в жовто-зелений колір. Крім ділянок ішемії при фарбуванні ГОПФ можна виявити фібрин і сполучнотканинні структури (рубцева тканина забарвлюється в сіро-бузковий колір, еластичні волокна в яскраво-червоний, гранули опасистих

клітин у вишнево-червоний). Еритроцити забарвлюються в червоний колір [132, 149].

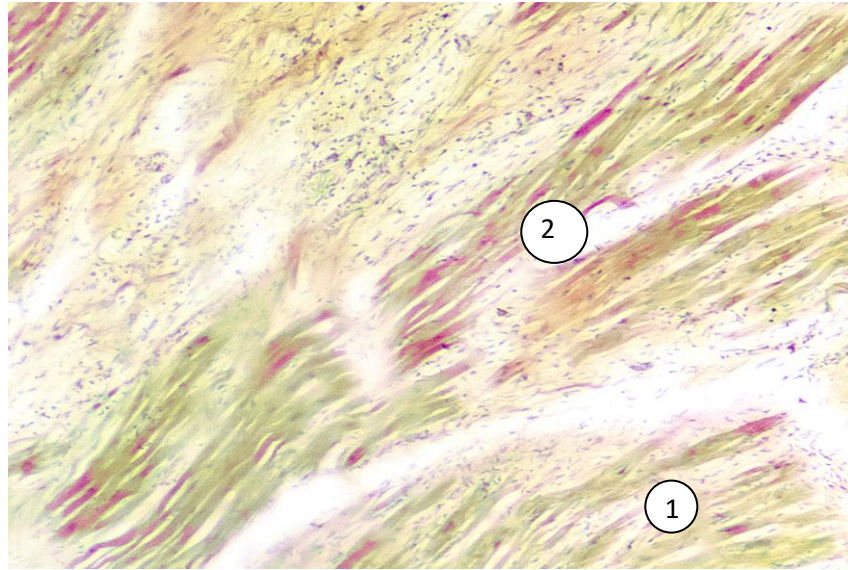


Рис.2.1. Ділянка міокарда зразка при ГКН. Забарвлення ГОПФ (x100):  
1- інтактні кардіоміоцити; 2 – ішемізовані кардіоміоцити.

#### **2.2.2.2. Гістотехніка виготовлення гістологічних препаратів забарвлених гематоксилін-еозином.**

Виготовлення гістологічних зрізів, забарвлених гематоксилін-еозином, проводилось за стандартною методикою та включало забір гістологічного матеріалу, його фіксацію та промивання із наступним зневодненням. Блоки просочувались та заливались в парафін, після чого готувались парафінові зрізи, що після депарафінізації фарбувались гематоксилін-еозином та заключались під покривне скельце [37, 84, 119].

#### **2.2.2.3. Характеристика лазерних поляриметричних методів.**

З фізичної точки зору нативні зрізи міокарда являють собою оптично-анізотропні біологічні шари. У товщі таких зразків реалізується однократна взаємодія лазерного випромінювання з просторово-детермінованими фібрилами, волокнами, пучками, що утворюють оптично-анізотропні сітки [196, 309, 322].

У результаті такої взаємодії відбувається координатна по площині зображення нативного зрізу міокарда модуляція величин азимута та еліптичності поляризації. За рахунок цього формується поляризаційно-неоднорідне зображення такого шару.

Приклад отриманих на основі згаданого принципу зображень контрольної групи (у розташуванні стокс-поляриметра) наведено на серії рис. 2.2. – рис. 2.5.

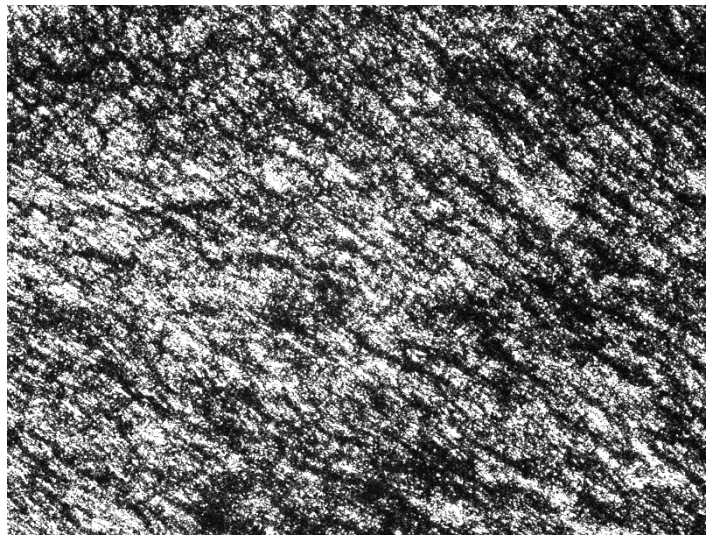


Рис. 2.2. Мікроскопічне зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи для повороту площини пропускання поляризатора – аналізатора  $\Theta = 0^\circ$

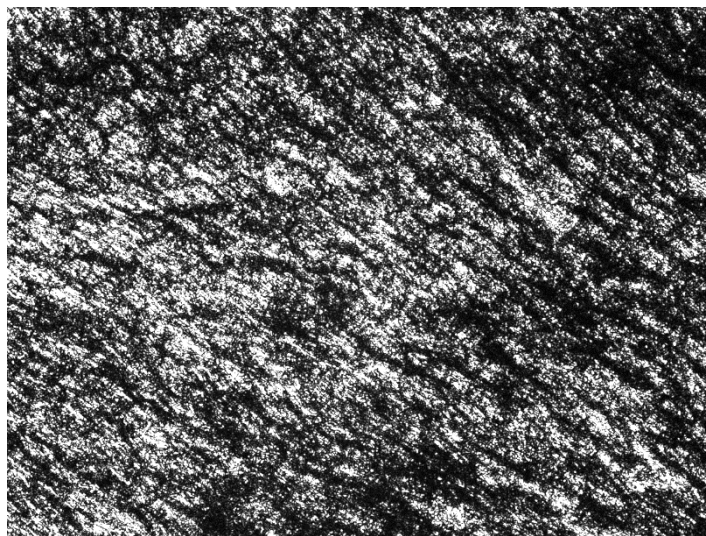


Рис. 2.3. Мікроскопічне зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи для повороту площини пропускання поляризатора – аналізатора  $\Theta = 45^\circ$





Рис. 2.4. Мікроскопічне зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи для повороту площини пропускання поляризатора – аналізатора  $\Theta = 90^\circ$

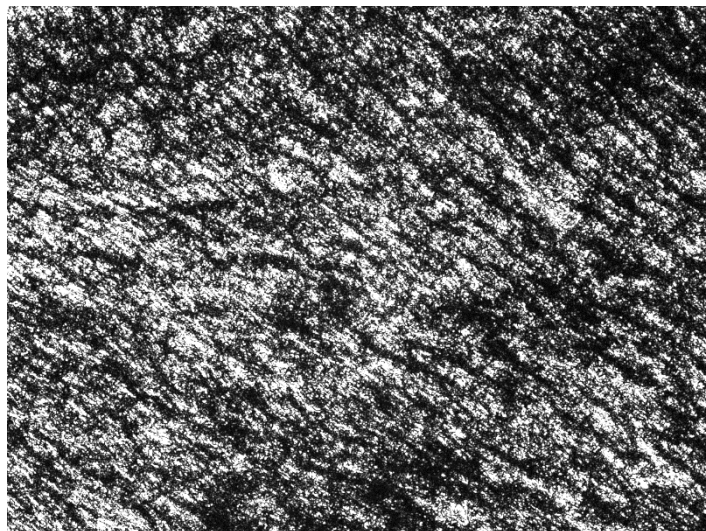


Рис. 2.5. Мікроскопічне зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи для повороту площини пропускання поляризатора – аналізатора  $\Theta = 135^\circ$

Порівняльний якісний аналіз поляризаційної структури мікроскопічних зображень гістологічних зрізів міокарда (рис. 2.17 – рис. 2.20), виявив складні прояви оптичної анізотропії фібрилярних міозинових мереж.

Прямі багатопараметричні дослідження зображень зрізів міокарда забезпечують можливість безпосереднього порівняння одержаних даних із результатами ГОПФ.

Отже, системне вивчення даних дозволяє одержати багатомірну, об'єктивну інформацію про зміни оптико-анізотропної структури зрізів міокарда та може бути використане для діагностики ГКН.

### **2.2.2.3.1. Багатомірна поляризаційна та лазерна автофлуоресцентна мікроскопія зрізів міокарда.**

У даному параграфі наведено дані про сукупність двох груп методів поляризаційної мікроскопії зрізів міокарда, що використані у дослідженні. До переліку таких методів відносяться:

- багатомірна поляризаційно-фазова мікроскопія;
- багатомірна лазерна автофлуоресцентна мікроскопія.

#### ***Багатомірна поляризаційно-фазова мікроскопія зрізів міокарда***

До переліку методів поляризаційно-фазової мікроскопії зображень міокарда відносяться:

1. Поляриметрія у межах сукупності пікселів світлочутливої площадки цифрової камери координатних розподілів значень азимута  $\alpha(p \times k)$  та еліптичності  $\beta(p \times k)$  поляризації шляхом поляризаційної фільтрації мікроскопічних зображень зрізів міокарда. Такі розподіли згідно загальноприйнятій термінології, будемо називати поляризаційними мапами [180, 197, 279].
2. Стокс-параметрична двомірна поляриметрія цифрових зображень зрізів міокарда, яка базується на вимірюванні координатних розподілів параметрів вектора Стокса  $V_i(p \times k)$  мікроскопічного зображення біологічного препарату. Одержані двомірні розподіли  $V_i(p \times k)$  будемо називати стокс-параметричними зображеннями нативного зрізу міокарда [233, 247, 275].
3. Мюллер-матричне картографування зрізів міокарда з наступним обчисленням серії координатних розподілів елементів матриці Мюллера (мюллер-матричних зображень  $m_{ik}(p \times k)$ ), які вичерпно повно



характеризують просторову структуру міозинових мереж та ступень їх кристалізації [175, 212, 234, 261, 268, 309].

### ***Багатомірна лазерна автофлуоресцентна мікроскопія зрізів міокарда***

До переліку методів автофлуоресцентної поляриметрії зображень міокарда відносяться:

1. Вимірювання координатних розподілів інтенсивності  $I(p \times k)$  у сукупності пікселів цифрової камери, що реєструє автофлуоресцентні зображення зрізів міокарда для різних станів поляризації лазерного пучка, який збуджує вторинне випромінювання ендогенних флуорофорів [248, 311].
2. Поляриметрия автофлуоресцентних зображень на основі обчислення координатних розподілів значень азимута  $\alpha(p \times k)$  та еліптичності  $\beta(p \times k)$  поляризації [247].

Таким чином, у результаті застосування сукупності обох груп методів одержується багатомірна інформація про структуру зрізів міокарда

$$r \equiv \left[ \begin{array}{c} \left( V_i \right) \\ \alpha \\ \beta \\ \left( m_{ik} \right) \end{array} , \left( \begin{array}{c} I \\ \alpha^* \\ \beta^* \end{array} \right) \right].$$

### **2.2.2.3.2. Методи об'єктивного аналізу двомірних розподілів даних багатомірної поляризаційної та лазерної автофлуоресцентної мікроскопії гістологічних зрізів міокарда.**

У даному параграфі приведено сукупність взаємодоповнюючих методів

об'єктивного аналізу двомірних розподілів даних  $r \equiv \left[ \begin{array}{c} \left( V_i \right) \\ \alpha \\ \beta \\ \left( m_{ik} \right) \end{array} , \left( \begin{array}{c} I \\ \alpha^* \\ \beta^* \end{array} \right) \right]$

багатомірної поляризаційної та лазерної автофлуоресцентної мікроскопії зрізів міокарда:

- статистичний аналіз [175, 212, 274, 293-295, 320, 324];
- кореляційний аналіз [201, 293, 324];
- фрактальний аналіз [175, 274, 294, 295, 331];
- вейвлет – аналіз [268, 327, 331];
- параметричний аналіз [247, 308, 319].

Такі методи об'єктивного аналізу складають основу багаточисельних досліджень структури БТ різної будови та за різних фізіологічних та патологічних станів [179, 206, 234]. Тому у даній частині роботи наведемо лише стислий перелік та описання таких методів, які будуть використанні для розробки об'єктивних критеріїв для судово-медичної верифікації ГКН.

#### 2.2.2.3.2.1. Статистичний аналіз.

Для об'єктивної оцінки координатних розподілів випадкових величин

координатних розподілів  $r \equiv \left[ \begin{pmatrix} V_i \\ \alpha \\ \beta \\ m_{ik} \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} I \\ \alpha^* \\ \beta^* \end{pmatrix} \right]$ , які характеризують мікроскопічні

зображення та морфологічні властивості зрізів міокарда, визначаються їх гістограми  $N(r)$ . На цій основі обчислюється сукупність статистичних моментів 1 – 4-го порядків  $M_{i=1;2;3;4}$ , які характеризують особливості залежностей  $N(r)$  [7, 274].

Статистичний момент 1-го – порядку  $M_1$  - це середнє значення серед усього набору (ансамблю) випадкових величин координатних розподілів  $q$  і обчислюється за співвідношенням [293]:

$$M_1 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |(r)_i|. \quad (2.1)$$

Статистичний момент 2-го порядку  $M_2$  або дисперсія, яка характеризує розподіл випадкової величини  $r$  - це міру розкиду даної величини або її відхилення від математичного очікування [320]:

$$M_2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (r)_i^2 . \quad (2.2)$$

Статистичний момент 3-го порядку  $M_3$  або асиметрія, що характеризує відхилення від нормального розподілу випадкової величини  $r$ , і обчислюється згідно співвідношенням [294]:

$$M_3 = \frac{1}{M_2^3} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (r)_i^3 \quad (2.3)$$

Статистичний момент 4-го порядку  $M_4$  або ексцес, який характеризує ступень гостроти “піку” розподілу випадкової величини  $r$  :

$$M_4 = \frac{1}{M_2^4} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (r)_i^4 , \quad (2.4)$$

де  $N$  - кількість (1280×960) пікселів цифрової камери стокс-поляриметра, що реєструє поляризаційно-відфільтровані мікроскопічні зображення нативного зрізу міокарда.

Приклад застосування статистичного аналізу двомірного розподілу азимутів та еліптичності поляризації мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда ілюструють рис. 2.6 і рис. 2.7, а також таблиця 2.1.

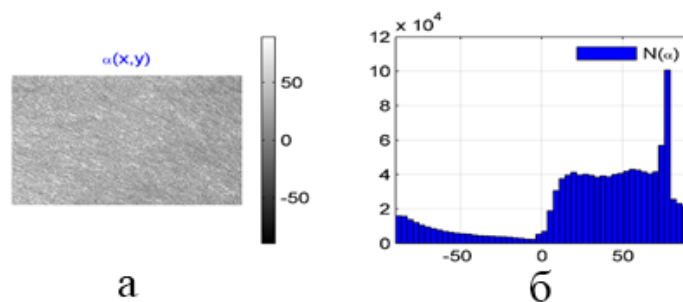


Рис. 2.6. Азимутальна залежність поляризаційної структурності мікроскопічного зображення зрізу міокарда контрольної групи: а - поляризаційна мапа азимутів; б - гістограма розподілу випадкових значень.

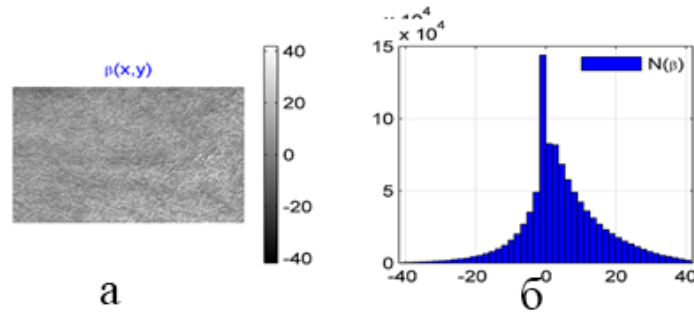


Рис. 2.7. Еліптична залежність поляризаційної структурності мікроскопічного зображення зрізу міокарда контрольної групи: а - поляризаційна мапа азимутів; б - гістограма розподілу випадкових значень.

Таблиця 2.1

**Статистичні моменти  $M_i$ , які характеризують розподіли азимута та еліптичності поляризації мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи**

$M_i$	Азимут	Еліптичність
$M_1$	0,68	0,08
$M_2$	0,21	0,14
$M_3$	1,89	0,26
$M_4$	0,77	0,43

#### 2.2.2.3.2.2. Кореляційний аналіз.

З метою оцінювання особливостей координатної структури двомірних

розподілів параметрів  $r \equiv \left[ \begin{pmatrix} V_i \\ \alpha \\ \beta \\ m_{ik} \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} I \\ \alpha^* \\ \beta^* \end{pmatrix} \right]$  використовувався кореляційний

аналіз поляризаційних мап, мюллер-матричних зображень, автофлуоресцентних зображень гістологічних зрізів міокарда.

Даний метод базується на обчисленні автокореляційних функцій  $K(r)$  шляхом координатного зсуву вздовж рядків пікселів цифрової камери координатних розподілів  $r(p \times k)$  за відомим співвідношенням у рамках програмного продукту MATLAB [201, 293, 324].

З метою кількісної оцінки автокореляційних функцій  $K(r)$  ми використали обчислення статистичних моментів 2-го (співвідношення 2.2) і 4-го (співвідношення (2.4)) порядків (в подальшому кореляційні моменти  $K_2$  і  $K_4$ ).

Приклад застосування автокореляційного аналізу двомірного розподілу азимутів та еліптичності поляризації мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи ілюструють рис. 2.8 і рис. 2.9, а також таблиця 2.2.

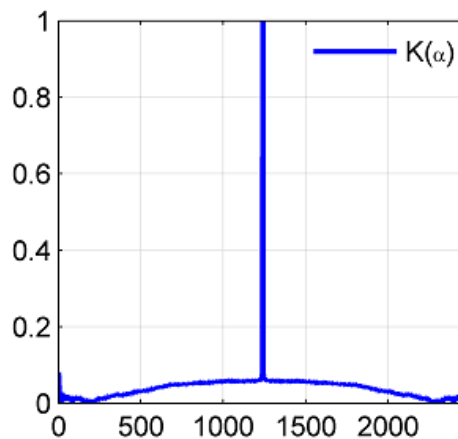


Рис. 2.8. Автокореляційна функція  $K(\alpha)$  розподілу випадкових значень мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи.

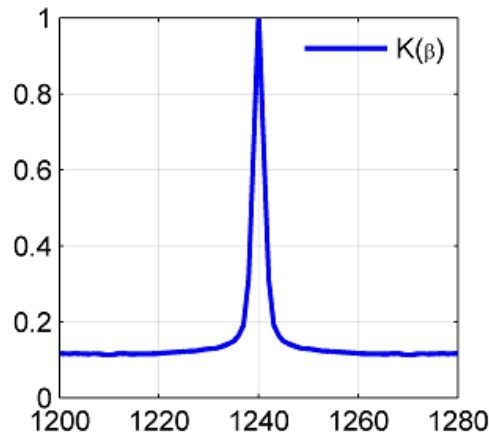


Рис. 2.9. Автокореляційна функція  $K(\beta)$  розподілу випадкових значень мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи.

Таблиця 2.2

**Статистичні моменти  $M_i$ , які характеризують розподіли азимута та еліптичності поляризації мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи**

$M_i$	Азимут	Еліптичність
$M_2$	0,023	0,11
$M_4$	1,95	0,74

### 2.2.2.3.2.3. Фрактальний аналіз.

Фрактальний аналіз забезпечує можливість одержання нової інформації про масштабно-самоподібну побудову координатних розподілів об'єктивних

$$\text{параметрів } r \equiv \left[ \begin{array}{c} \left( V_i \right) \\ \alpha \\ \beta \\ m_{ik} \end{array} \right], \left( \begin{array}{c} I \\ \alpha^* \\ \beta^* \end{array} \right).$$

Кількісно дана процедура проводиться за класичною схемою - шляхом розрахунку логарифмічних залежностей спектрів потужності  $\log L(r) - \log(1/d)$  розподілів сукупності параметрів  $r$ . Тут  $1/d$  - просторові частоти, що визначаються геометричними розмірами ( $d$ ) розподілів станів

поляризації, фаз, елементів матриці Мюллера, інтенсивності автофлуоресценції.

З метою визначення ступеня самоподібності координатних розподілів  $r(p \times k)$  обчислені логарифмічні залежності  $\log L(r) - \log(1/d)$  апроксимуються методом найменших квадратів у криві  $A(u)$ . Потім проводиться класифікація координатних розподілів  $r$  [175, 274, 295, 331]:

- координатні розподіли  $r$  - фрактальні за умови постійного значення кута нахилу  $u = const$  апроксимуючої  $A(u)$ ;
- координатні розподіли  $r$  - мультифрактальні за умови наявності декількох постійних кутів нахилу апроксимуючої  $A(u)$ ;
- координатні розподіли  $r$  - випадкові при умові відсутності стабільних кутів нахилу апроксимуючої  $A(u)$  для всього діапазону зміни розмірів  $d$ .

Приклад застосування фрактального аналізу двомірного розподілу азимутів та еліптичності поляризації мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда ілюструють рис. 2.9 і рис. 2.10.

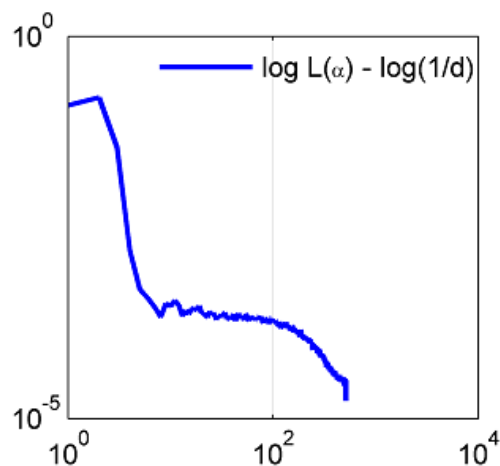


Рис. 2.10. Залежності  $\log L(\alpha) - \log(d^{-1})$  розподілу випадкових значень мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи

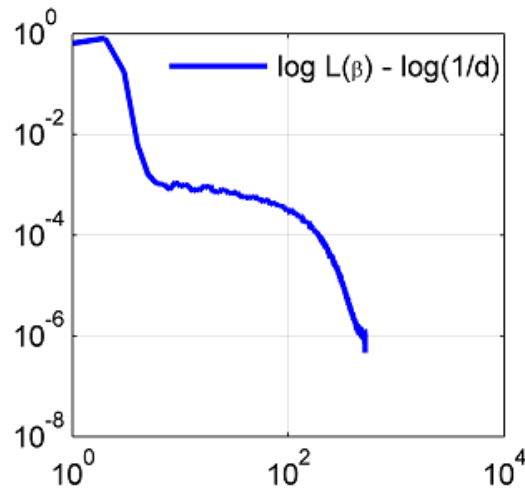


Рис. 2.11. Залежності  $\log L(\beta) - \log(d^{-1})$  розподілу випадкових значень мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи

#### 2.2.2.3.2.4. Вейвлет аналіз.

Серед основних аналітичних способів локального оцінювання

координатних розподілів  $r \equiv \left[ \begin{array}{c} (V_i) \\ \alpha \\ \beta \\ (m_{ik}) \end{array} \right], \left[ \begin{array}{c} (I) \\ \alpha^* \\ \beta^* \end{array} \right]$  є вейвлет-аналіз [268, 327, 331].

Даний метод базується на застосуванні в якості аналітичного зонду спеціальної математичної функції, яку називають вейвлет-функцією. Така аналітична функція має скінченну основу як в координатному, так і частотному просторі.

За допомогою вейвлет-функції розподіл значень обчисленого параметру  $q$ , який характеризує структуру зображення нативного зрізу міокарда, можна розкласти в математичний ряд, який являє собою згортку (корреляцію) параметрів зміщення ( $b$ ) та масштабування ( $a$ ) та певних коефіцієнтів (вейвлет-коефіцієнти).



Вейвлет-перетворення добре виявляє як низькочастотні, так і високочастотні характеристики розподілів  $r \equiv \left[ \begin{array}{c} (V_i) \\ \alpha \\ \beta \\ (m_{ik}) \end{array} \right], \left[ \begin{array}{c} (I) \\ \alpha^* \\ \beta^* \end{array} \right]$  на різних координатних масштабах (“математичний мікроскоп”).

З цієї причини вейвлет-аналіз дозволяє дослідити різномасштабну структуру поляризаційних, фазових мап, Мюллер-матричних зображень, які взаємопов’язані з морфологічною будовою міозинових сіток міокарда.

Якщо продовжувати аналогію з математичним «мікроскопом», то параметр зсуву  $b$  фіксує точку фокусування мікроскопу, масштабний коефіцієнт  $a$  – збільшення.

Результатом вейвлет - перетворення одномірної залежності параметру  $r$  є двомірний масив амплітуд вейвлет-коефіцієнтів  $W(a,b)$ .

Розподіл цих значень в просторі  $(a, b)$  (просторовий масштаб, просторова координата - локалізація) дає інформацію про еволюцію відносного вкладу компонент різного масштабу в координатний розподіл і називається спектром коефіцієнтів вейвлет - перетворення, (частотно-) масштабно-просторовим спектром. Спектр  $W(a,b)$  представляє собою поверхню в трьохмірному просторі.

Приклад застосування вейвлет-аналізу аналізу двомірного розподілу азимутів та еліптичності поляризації зображення нативного зрізу міокарда ілюструють рис. 2.12. і рис. 2.13.

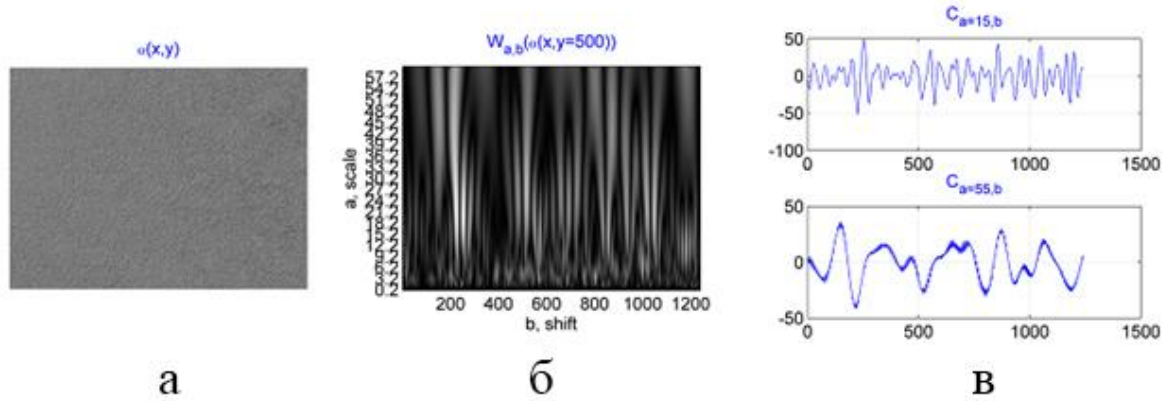


Рис. 2.12. Розподіл вейвлет-коефіцієнтів поляризаційної мапи азимута поляризації мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи: а - поляризаційна мапа азимутів; б - вейвлет-коефіцієнти  $W_{a,b}$  розподілу випадкових значень; в – перерізи вейвлет-коефіцієнтів на масштабах  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a55,b}$ .

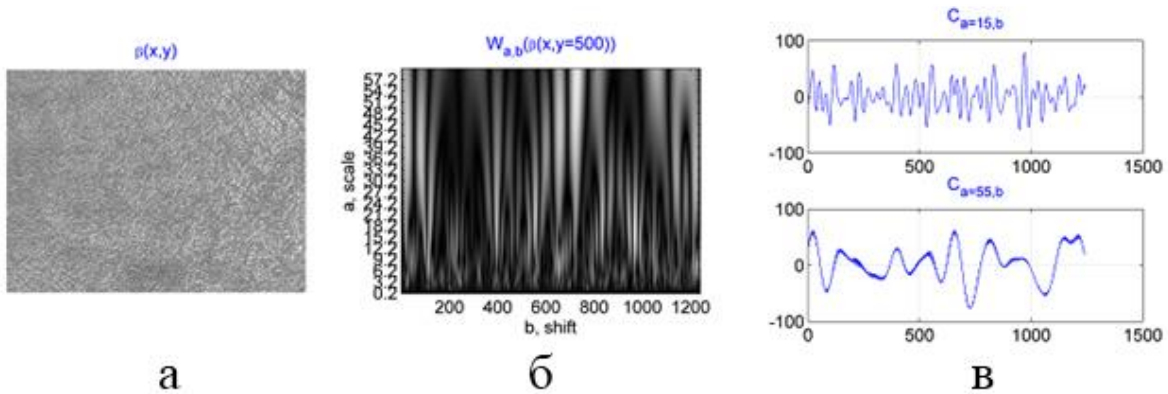


Рис. 2.13. Розподіл вейвлет-коефіцієнтів мапи азимута поляризації мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи: а - поляризаційна мапа азимутів; б - вейвлет-коефіцієнти  $W_{a,b}$  розподілу випадкових значень; в – перерізи вейвлет-коефіцієнтів на масштабах  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a55,b}$ .

### 2.2.2.3.2.5. Параметричний аналіз.

Методика визначення розподілів кількості характеристичних точок

розподілів  $r \equiv \left[ \begin{pmatrix} V_i \\ \alpha \\ \beta \\ m_{ik} \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} I \\ \alpha^* \\ \beta^* \end{pmatrix} \right]$  полягала у наступній послідовності дій [247, 308,

319]:

- дискретизація двомірного розподілу  $r$  мікроскопічного зображення або мапи нативного зрізу міокарда в напрямку  $x$  з кроком в 1 піксель;
- підрахунку кількості  $N^{(1)}$  точок  $r(x, y) = r_0$  у межах площини  $(1_{pix} \times p_{pix})$ ;
- побудови координатної залежності кількості характеристичних значень  $N(x) = (N^{(1)}, N^{(2)}, \dots, N^{(m)})$ .

Визначені залежності  $N(x)$  для поляризаційних мап азимута та еліптичності зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи ілюструє рис. 2.14 та рис. 2.15.

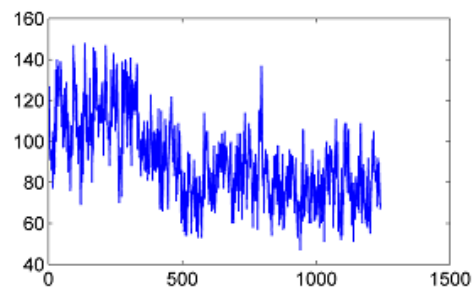
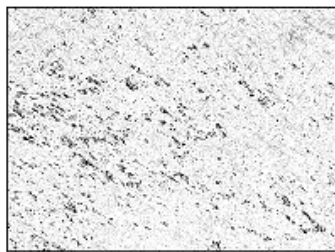


Рис. 2.14. Залежності  $N(x)$  розподілів азимута поляризації зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи: а – поляризаційна мапа азимута поляризації; б – залежності кількості характеристичних значень  $(0) N(x) = (N^{(1)}, N^{(2)}, \dots, N^{(m)})$  координатних розподілів азимута поляризації.

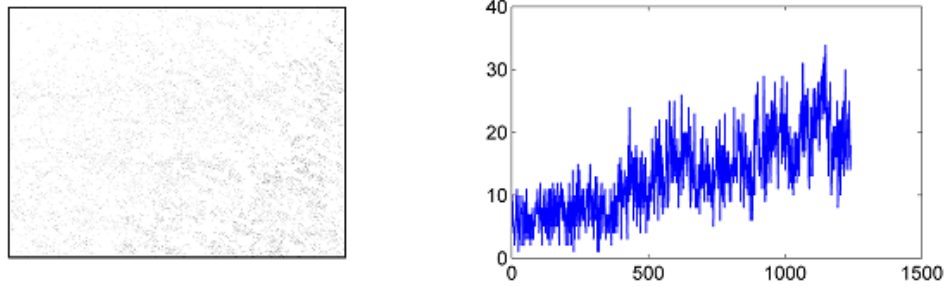


Рис. 2.15. Залежності  $N(x)$  розподілів еліптичності поляризації зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи: а – поляризація мапа азимута поляризації; б – залежності кількості характеристичних значень (0)  $N(x) = (N^{(1)}, N^{(2)}, \dots, N^{(m)})$  координатних розподілів еліптичності поляризації.

Об'єктивно відмінності між залежностями  $N(x)$  оцінювались шляхом обчислення сукупності статистичних моментів 1 – 4-го порядків розподілів кількості характеристичних значень – таблиця 2.3.

Таблиця 2.3

**Сукупність статистичних моментів 1 – 4-го порядків залежностей  $N(x)$  розподілів азимута та еліптичності поляризації зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи**

$M_i$	Азимут	Еліптичність
$M_1$	0.23	0.07
$M_2$	0.19	0.11
$M_3$	0.68	0.87
$M_4$	1.61	1.19

### 2.2.2.3.3. Методика проведення поляризаційної мікроскопії зрізів міокарда.

Поляризаційну мікроскопію проводили у стандартному розташування стокс-поляриметра (рис. 2.16) [247, 248].

Стокс-поляриметр успішно застосовувався у різних біомедичних напрямках лазерної поляриметрії, що реалізувались на базі Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича у співдружності з науковцями ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» [275].

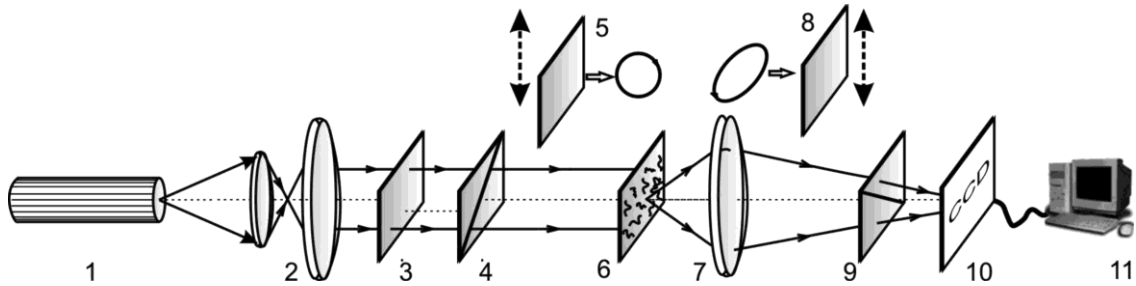


Рис. 2.16. Оптична схема стокс-поляриметра: 1 – He-Ne лазер; 2 – коліматор; 3 – стаціонарна чвертьхвильова пластинка; 4 – поляризатор; 5 – механічно рухома чвертьхвильова пластинка; 6 – нативний зріз; 7 – поляризаційний мікροоб’єктив; 8 – механічно рухома чвертьхвильова пластинка; 9 – аналізатор; 10 – CCD камера; 11 – персональний комп’ютер.

Опромінювання зразків міокарда (рис. 2.16, 6) проводилося паралельним ( $\otimes = 2 \times 10^3 \mu m$ ) слабоінтенсивним ( $P=5,0$  мВт) пучком He-Ne лазера ( $\lambda=0,6328 \mu m$ ).

Поляризаційний опромінювач складався з двох чвертьхвильових пластинок (Achromatic True Zero-Order Waveplate) (рис. 2.16, 3, 5) і поляризатора (B+W Kaesemann XS-Pro Polarizer MRC Nano) (рис. 2.16, 4).

Зріз міокарда послідовно зондувався лазерним пучком із наступними типами поляризації: лінійна з азимутами  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $+45^\circ$  і права циркуляція ( $\otimes$ ).

Поляризаційні зображення зразку міокарда за допомогою поляризаційного мікροоб’єктиву 7 (Nikon CFI Achromat P, фокусна відстань – 30мм, числова апертура – 0.1, збільшення – 4x) проектувалося у площину світлочутливої площадки ( $m \times n = 1280 \times 960$  пікселів) CCD-камери (рис. 2.16,

10) (The Imaging Source DMK 41AU02.AS, monochrome 1/2" CCD, Sony ICX205AL (progressive scan); роздільна здатність – 1280x960; розмір світлочутливої площадки – 7600x6200мкм; чутливість – 0.05 lx; динамічний діапазон – 8 bit).

Аналіз зображень зразків міокарда здійснювався за допомогою поляризатора (рис. 2.15, 9) і чвертьхвильової пластинки (рис. 2.16, 8).

Обчислення координатних розподілів  $V_i(p \times k)$ ,  $\alpha(p \times k)$ ,  $\beta(p \times k)$  та  $m_{ik}(p \times k)$ , які характеризують мікроскопічні зображення зрізів міокарда здійснювалось за відомими алгоритмами [318]:

$$\begin{aligned} m_{11} &= 0.5(V_1^0 + V_1^{90}); & m_{21} &= 0.5(V_2^0 + V_2^{90}); & m_{31} &= 0.5(V_3^0 + V_3^{90}); & m_{41} &= 0.5(V_4^0 + V_4^{90}); \\ m_{12} &= 0.5(V_1^0 - V_1^{90}); & m_{22} &= 0.5(V_2^0 - V_2^{90}); & m_{32} &= 0.5(V_3^0 - V_3^{90}); & m_{42} &= 0.5(V_4^0 - V_4^{90}); \\ m_{13} &= V_1^{45} - m_{11}; & m_{23} &= V_2^{45} - m_{21}; & m_{33} &= V_3^{45} - m_{31}; & m_{43} &= S_4^{45} - m_{41}; \\ m_{14} &= V_1^{\otimes} - m_{11}; & m_{24} &= V_2^{\otimes} - m_{21}; & m_{34} &= V_3^{\otimes} - m_{31}; & m_{44} &= S_4^{\otimes} - m_{41}. \end{aligned} \quad (2.5)$$

Тут  $V_{i=2;3;4}^{0;45;90;\otimes}$  - елементи вектора Стокса в точках цифрового зображення нативного зрізу, виміряні для серії лінійно ( $0^0$ ;  $45^0$ ;  $90^0$ ) та право-циркулярного ( $\otimes$ ) поляризованих зондуючих лазерних пучків:

$$\begin{aligned} V_{i=1}^{0;45;90;\otimes} &= I_0^{0;45;90;\otimes} + I_{90}^{0;45;90;\otimes}; \\ V_{i=2}^{0;45;90;\otimes} &= I_0^{0;45;90;\otimes} - I_{90}^{0;45;90;\otimes}; \\ V_{i=3}^{0;45;90;\otimes} &= I_{45}^{0;45;90;\otimes} - I_{135}^{0;45;90;\otimes}; \\ V_{i=4}^{0;45;90;\otimes} &= I_{\otimes}^{0;45;90;\otimes} + I_{\oplus}^{0;45;90;\otimes}. \end{aligned} \quad (2.6)$$

Тут  $I_{0;45;90;135;\otimes;\oplus}$  - інтенсивності випромінювання пропущеного лінійним поляризатором з азимутом повороту  $0^0$ ;  $45^0$ ;  $90^0$ ;  $135^0$ , та право- ( $\otimes$ ) й ліво- ( $\oplus$ ) циркулярно поляризованим фільтром.

На рис. 2.17 приведено приклад серії двомірних розподілів значень параметрів вектора Стокса мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи.

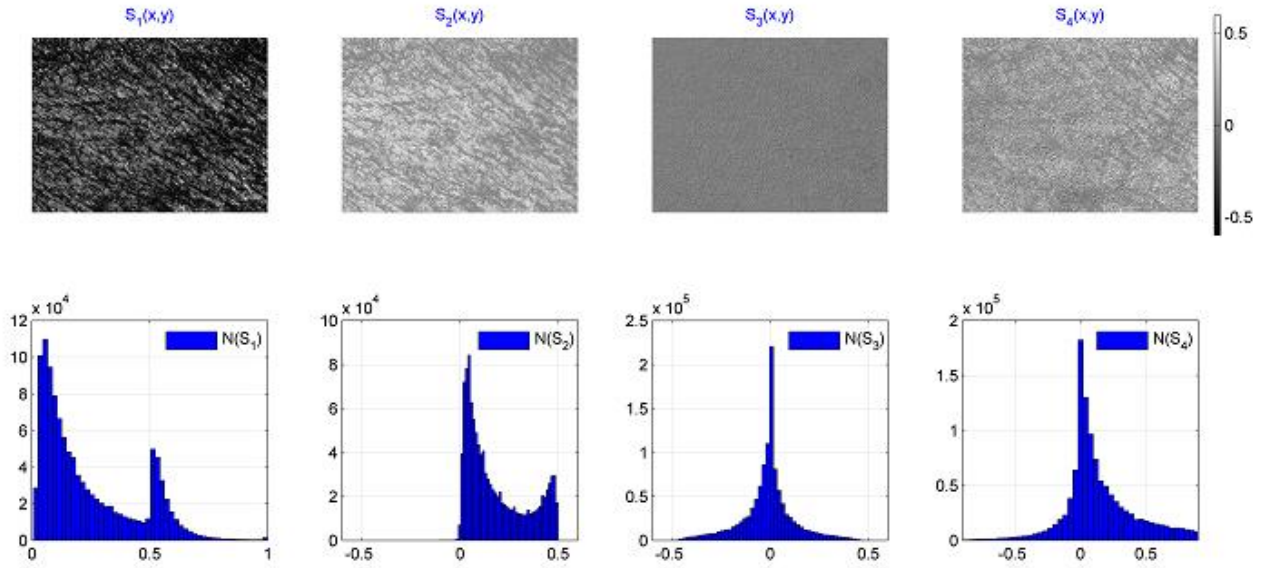


Рис. 2.17. Двомірні розподіли значень параметрів вектора Стокса зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи.

На рис. 2.18 приведено приклад серії двомірних розподілів значень елементів матриці Мюллера нативного зрізу міокарда контрольної групи.

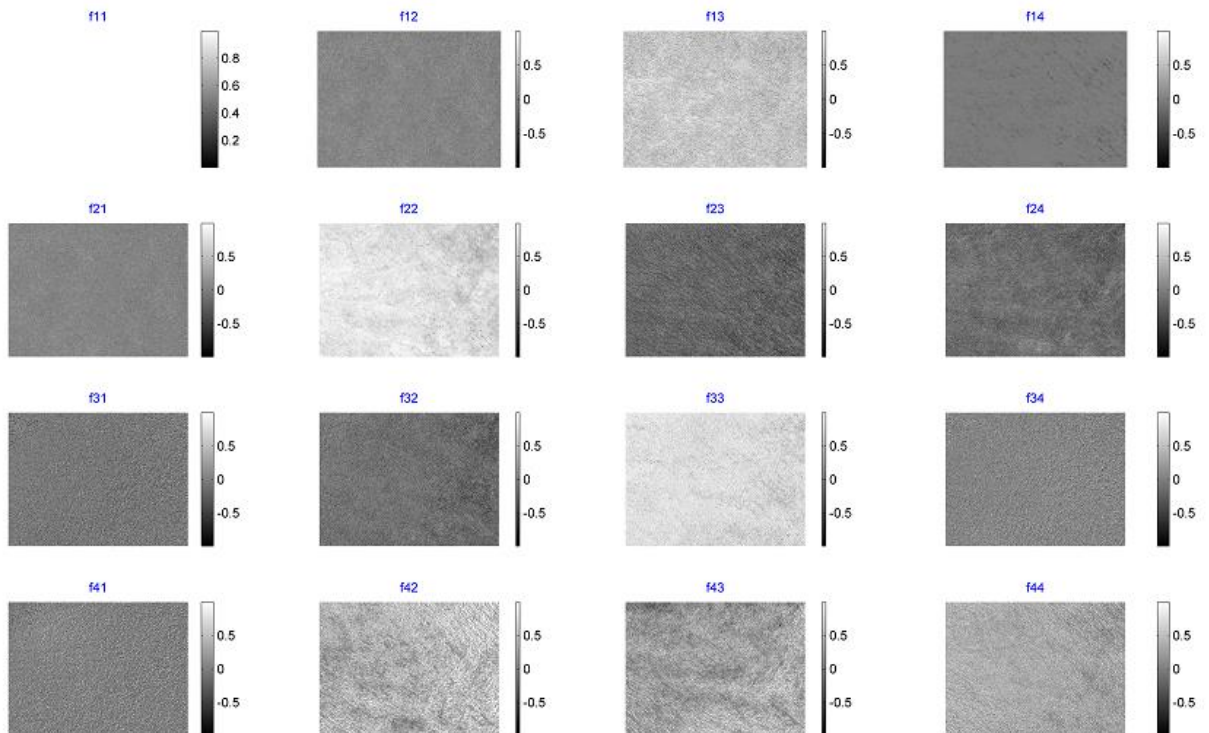


Рис. 2.18. Двомірні розподіли значень елементів матриці Мюллера нативного зрізу міокарда контрольної групи.

Визначивши згідно з (2.6) у кожному пікселі світлочутливої площадки набір параметрів Стокса  $V_i$  можна отримати значення азимуту  $\alpha^*$  та еліптичності  $\beta^*$  поляризації у відповідних точках зображення нативного зрізу міокарда:

$$\alpha^* = 0,5 \arctg \frac{V_{i=3}}{V_{i=2}};$$

$$\beta^* = 0,5 \arcsin \frac{V_{i=4}}{V_{i=1}}.$$
(2.7)

#### 2.2.2.3.4. Методика проведення автофлуоресцентної лазерної мікроскопії.

На рис. 2.19 наведена оптична схема експериментального розташування стокс поляриметра, що модифікований для досліджень лазерної автофлуоресценції зрізів міокарда [247, 248].

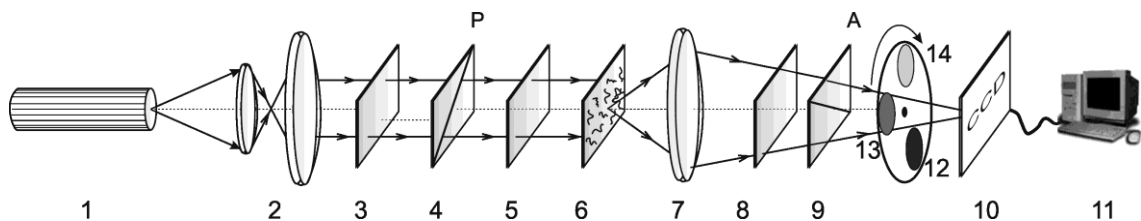


Рис. 2.19. Оптична схема лазерного поляризаційного аутофлуоресцентного стокс-поляриметра: 1 – напівпровідниковий лазер; 2 – коліматор; 3 – стаціонарна чвертьхвильова пластинка; 4 – поляризатор; 5 – механічно рухома чвертьхвильова пластинка; 6 – нативний зріз; 7 – поляризаційний мікрооб’єктив; 8 – механічно рухома чвертьхвильова пластинка; 9 – аналізатор; 10 – CCD камера; 11 – персональний комп’ютер; 12 – інтерференційний світофільтр; 13 – інтерференційний світофільтр; 14 – інтерференційний світофільтр.

Для збудження автофлуоресценції зрізів міокарда у експериментальному розташуванні стокс-поляриметра (рис. 2.19) ми використали “синій”



твердотільний напівпровідниковий лазер з довжиною хвилі на нітридах галію LSR405ML-LSR-PS-II  $\lambda = 0,405 \mu m$  і потужністю  $P = 100 мВт$ .

Вимірювання координатних розподілів інтенсивності автофлуоресценції  $I$  у площині світлочутливої площадки цифрової камери 10 здійснювалося за допомогою “відсікаючих” основне лазерне випромінювання інтерференційних світлофільтрів (рис. 2.19, 12 - 14), із наступними максимумами спектрального пропускання  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \mu m$ ,  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \mu m$  і  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \mu m$ .

Мюллер-матричний опис фізичної моделі фазової анізотропії біологічних тканин полягає в наступному:

1. Амінокислоти та утворені ними поліпептидні ланцюги володіють оптичною активністю й характеризуються наступним матричним оператором:

$$A = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & a_{22} & a_{23} & 0 \\ 0 & a_{32} & a_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, \quad a_{ik} = \begin{cases} a_{22} = a_{33} = \cos 2\theta; \\ a_{23} = -a_{32} = \sin 2\theta. \end{cases} \quad (2.8)$$

Тут  $\theta$  - кут повороту площини поляризації світлового пучка.

2. Фібрилярні протеїнові мережі, які утворені поліпептидними ланцюгами, володіють *лінійним двопронезаломленням*. Оптичні прояви такого механізму описуються матрицею Мюллера [309, 320]:

$$B = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & b_{22} & b_{23} & b_{24} \\ 0 & b_{32} & b_{33} & b_{34} \\ 0 & b_{42} & b_{43} & d_{44} \end{pmatrix}, \quad b_{ik} = \begin{cases} b_{22} = \cos^2 2\gamma + \sin^2 2\gamma \cos \phi; \\ b_{23} = b_{32} = \cos 2\gamma \sin 2\gamma (1 - \cos \phi); \\ b_{33} = \sin^2 2\gamma + \cos^2 2\gamma \cos \phi; \\ b_{24} = -b_{42} = \sin 2\gamma \sin \phi; \\ b_{34} = -b_{43} = \cos 2\gamma \sin \phi; \\ b_{44} = \cos \phi. \end{cases} \quad (2.9)$$

Тут

$\gamma$  - напрям укладання фібрил,  $\phi$  - фазовий зсув міжлінійно-поляризованими ортогональними складовими амплітуди світлового пучка.

З урахуванням зазначених механізмів фазової анізотропії матриця Мюллера біологічного шару приймає вигляд:

$$\underline{F} \equiv \underline{A} \underline{B} \equiv f_{11}^{-1} \times \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & f_{22} & f_{23} & f_{24} \\ 0 & f_{32} & f_{33} & f_{34} \\ 0 & f_{42} & f_{43} & f_{44} \end{pmatrix}. \quad (2.10)$$

На рис. 2.20 наведено приклад автофлуоресцентного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи у червоній ділянці спектру

$$(\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \mu m).$$

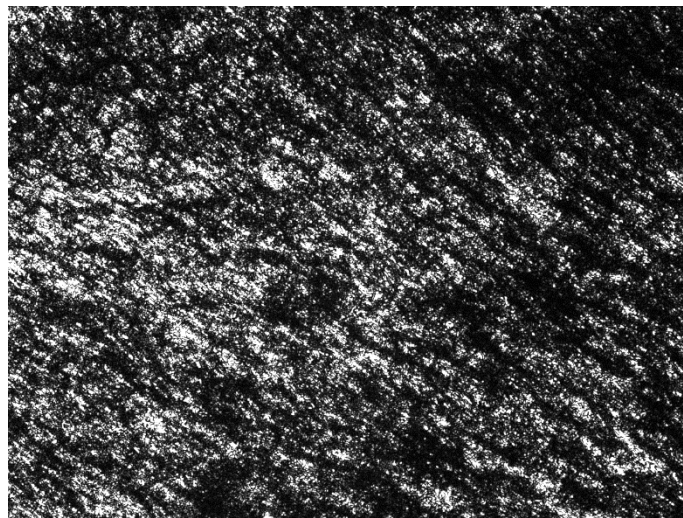


Рис. 2.20. Автофлуоресцентне зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи у червоній ділянці спектру.

### 2.2.2.3.5. Метрологічні параметри лазерного мікрополяриметра ЛМП1.

Вищенаведені схеми лазерного мікрополяриметра були метрологічно повірені у державному підприємстві «Всеукраїнський державний науково-

виробничий центр стандартизації, метрології, сертифікації та захисту прав споживачів» Мінекономрозвизку України.

Одержані сертифікаційні свідоцтва на роботу даного пристрою № 37/3209 від 21 жовтня 2015 року.

### 2.2.2.3.6. Приклади вимірювань.

Тут наведено приклад реалізації досліджуваної методики вимірювань двомірних розподілів параметрів вектора Стокса зображення нативного зрізу міокарда на прикладі контрольної зразків групи [212, 268].

У загальному, для кожного пікселя світлочутливої площадки цифрової камери стокс-поляриметра визначали параметри вектора Стокса  $V$  зображення такого зразку, шляхом проведення шести вимірювань інтенсивності із наступною наступною поляризаційною фільтрацією.

1. Орієнтували площину пропускання поляризатора – аналізатора під кутом  $\Theta = 0^\circ$  і вимірювали розподіл інтенсивності  $I_0(p \times k)$  мікроскопічного зображення (рис. 2.21).



Рис. 2.21. Поляризаційне мікроскопічне зображення  $I_0(p \times k)$  нативного зрізу міокарда контрольної групи.

2. Повертали поляризатор на кут  $\Theta = 90^\circ$  і вимірювали координатний розподіл інтенсивності  $I_{90}(p \times k)$  (рис. 2.22).



Рис. 2.22. Поляризаційне мікроскопічне зображення  $I_{90}(p \times k)$  нативного зрізу міокарда контрольної групи.

На основі визначення вектора Стокса  $V$  [279] знаходили його перший  $V_1$  (рис. 2.23) і другий  $V_2$  параметри (рис. 2.24)

$$V_1 = I_0 + I_{90}; \quad (2.11)$$

$$V_2 = I_0 - I_{90}. \quad (2.12)$$

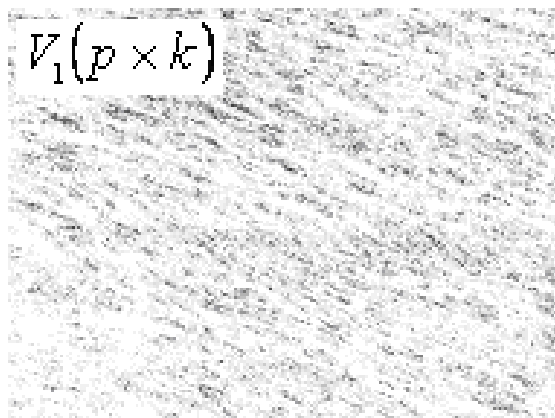


Рис. 2.23. Двомірний розподіл 1-го параметру вектора Стокса  $V_1(p \times k)$  зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи

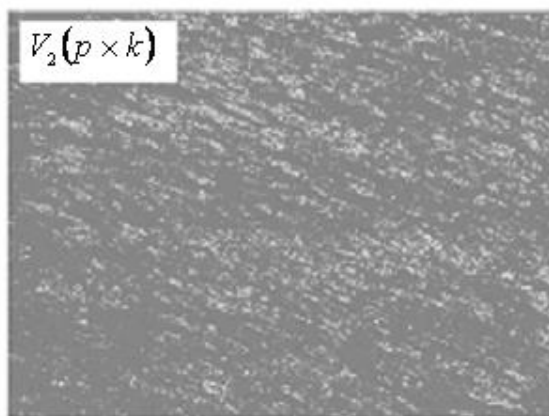


Рис. 2.24. Двомірний розподіл 2-го параметру вектора Стокса  $V_2(p \times k)$  мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи

3. Орієнтували площину поляризатора під кутом  $\Theta = 45^\circ$  і вимірювали координатний розподіл  $I_{45}(p \times k)$  (рис. 2.25)



Рис. 2.25. Поляризаційне мікроскопічне зображення  $I_{45}(p \times k)$  нативного зрізу міокарда контрольної групи

4. Повертали поляризатор на кут  $\Theta = 135^\circ$  і вимірювали координатний розподіл інтенсивності  $I_{135}(p \times k)$  (рис. 2.26)





Рис. 2.26. Поляризаційне мікроскопічне зображення  $I_{135}(p \times k)$  нативного зрізу міокарда контрольної групи.

5. Обчислювали третій  $V_3$  параметр вектора Стокса (рис. 2.27)

$$V_3 = I_{45} - I_{135}. \quad (2.13)$$

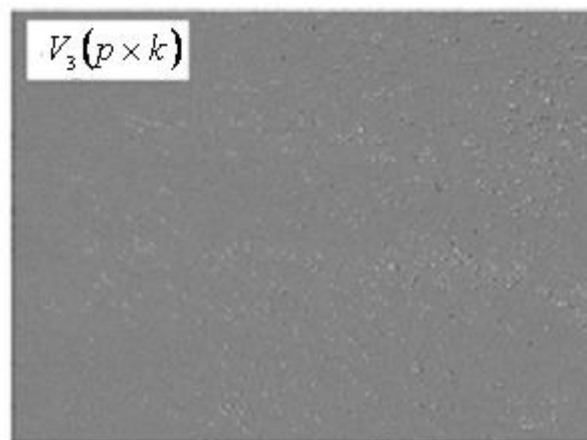


Рис. 2.27. Двомірний розподіл 3-го параметру вектора Стокса  $V_3(p \times k)$  зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи.

6. Для вимірювання четвертого параметру вектора Стокса  $V_4$  встановлювали фазову чвертьхвильову пластинку. Орієнтували вісь найбільшої швидкості на кут  $0^\circ$ . Площину пропускання аналізатора орієнтували під кутом  $\Theta = 45^\circ$ . Вимірювали координатний розподіл

інтенсивності правоциркулярно поляризованого випромінювання  $I_{\otimes}(p \times k)$  (рис. 2.28).

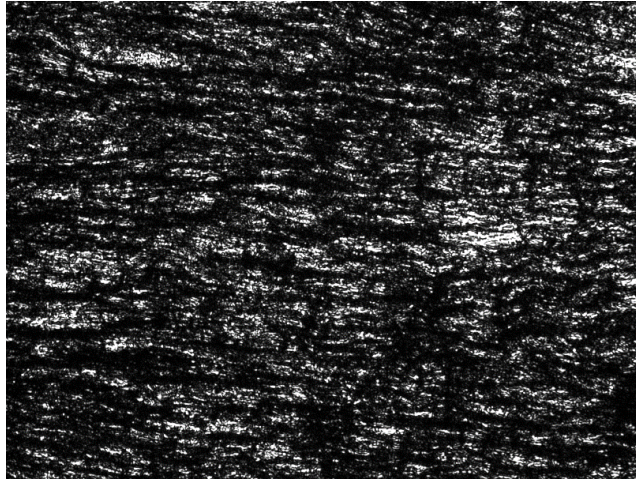


Рис. 2.28. Поляризаційне мікроскопічне зображення  $I_{\otimes}(p \times k)$  нативного зрізу міокарда контрольної групи.

7. Орієнтували площину пропускання поляризатора-аналізатора відносно орієнтації осі найбільшої швидкості фазової чвертьхвильової пластинки під кутом  $\Theta = 135^\circ$ . Вимірювали розподіли інтенсивності лівоциркулярно поляризованого випромінювання  $I_{\oplus}(m \times n)$  у мікроскопічному зображенні (рис. 2.29).

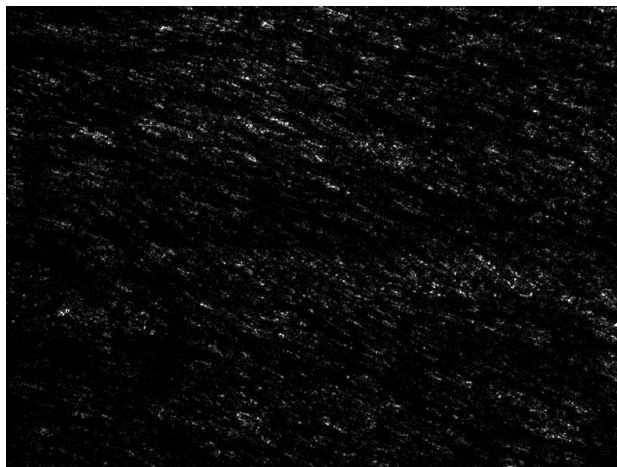


Рис. 2.29. Поляризаційне зображення  $I_{\oplus}(p \times k)$  нативного зрізу міокарда контрольної групи.

8. Обчислювали координатний розподіл 4-го параметру (рис. 2.30)

$$V_4 = I_{\otimes} - I_{\oplus}. \quad (2.14)$$

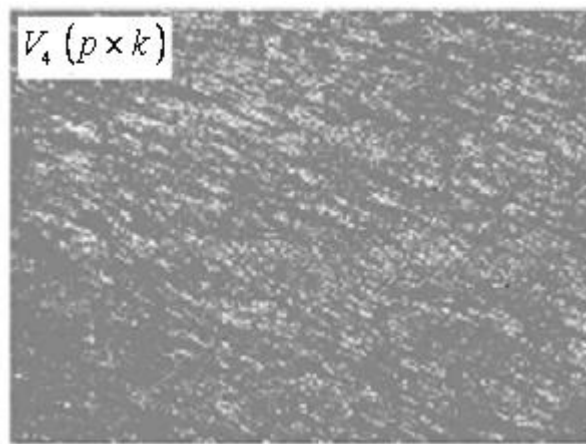


Рис. 2.30. Двомірний розподіл 4-го параметру вектора Стокса  $V_4 (p \times k)$  мікроскопічного зображення нативного зрізу міокарда контрольної групи

#### 2.2.2.4. Доказова база отриманих результатів.

У розділі наведена інформація про статистичні методи, використані для статистичного опрацювання отриманого матеріалу, що відповідають сучасним положенням доказової медицини.

##### 2.2.2.4.1. Розрахунок чисельності вибірки.

При розробці статистичного забезпечення роботи закладався мінімальний довірчий рівень імовірності  $P = 0,945$ , що для біомедичних досліджень забезпечує отримання даних, що достатньо повно відображають узагальнюючі характеристики генеральної сукупності [102].

Вибірка сформована методом неповторного механічного відбору. Для даного способу відбору необхідна чисельність вибірки розраховувалась за формулою [200]:

$$n = \frac{t^2 \sigma^2 N}{\varepsilon_{\bar{x}}^2 N + t^2 \sigma^2} \quad (2.15)$$

Де  $t$  – коефіцієнт довіри,  $\sigma^2$  – дисперсія,  $N$  – чисельність всіх випадків,  $\varepsilon_{\bar{x}}^2$  – гранична похибка вибірки.

При зарахуванні об'єктів у дослідженні керувались відповідали критеріям включення з врахуванням критеріїв виключення.



Узагальнення даних спостереження включало обчислення статистичних моментів 1 – 4-го порядків: середнього, дисперсії, асиметрії та ексцесу [143].

Проводилось визначення стандартної похибки вибірки, граничної похибки вибірки та інтервалу де з ймовірністю 95% знаходиться результат.

Для встановлення параметрів інформативності користувались рекомендованими в доказовій медицині критеріями.

#### 2.2.2.4.2. Параметри інформативності використання багатомірної поляризаційної та лазерної автофлуоресцентної мікроскопії.

Критеріями [143, 194, 200], що характеризують методи багатомірної поляризаційної та лазерної автофлуоресцентної мікроскопії зрізів міокарда є *достовірність, відтворюваність і збіжність* результатів дослідження.

*Достовірність* або *валідність* методу показує в якій мірі отримана сукупність об'єктивних параметрів (параграф 2.2.2.3.2.), що характеризують

координатні розподіли  $r \equiv \left[ \begin{pmatrix} V_i \\ \alpha \\ \beta \\ m_{ik} \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} I \\ \alpha^* \\ \beta^* \end{pmatrix} \right]$ , відповідає конкретній причині

настання смерті, яка визначається за допомогою *золотого стандарту*.

При проведенні досліджень зразків міокарда, взятих у різних груп померлих, використовували загальноприйняту у доказовій медицині термінологію:

1. Інтерпретація “позитивний” для померлих внаслідок ГКН. Це “істинно позитивний випадок” – (*TP*).
2. Інтерпретація “негативний” для померлих внаслідок насильницької смерті. Це “істинно негативний випадок” – (*TN*).
3. Інтерпретація “позитивний” для померлих внаслідок насильницької смерті. Це “хибно позитивний випадок” – (*FP*).
4. Інтерпретація “негативний” для померлих внаслідок ГКН. Це “хибно негативний випадок” – (*FN*).

Для характеристики інформативності будь якого діагностичного методу користуються об'єктивними параметрами, що називають *операційними характеристиками*.

- *Чутливість* ( $Se$ ) – це пропорція правильних позитивних результатів ( $TP$ ) діагностичного методу багатомірної поляризаційної та лазерної автофлуоресцентної мікроскопії серед усіх випадків ГКН ( $D_+$ )

$$Se = \frac{TP}{D_+} 100\% . \quad (2.16)$$

Чутливість показує, якою буде частка експертних випадків, у яких дане дослідження дасть позитивний результат. Чим вища чутливість тесту, тим частіше з його допомогою буде виявлятися захворювання, отже, він більш ефективний [102].

У той же час, якщо такий високочутливий тест виявляється негативним, то наявність захворювання малоімовірна. Тому їх слід застосовувати для виключення захворювань. У силу цього високочутливі методи нерідко називають ідентифікаторами. Необхідно також відзначити, що високочутливий тест інколи дає багато хибно позитивних результатів.

- *Специфічність* ( $Sp$ ) – це пропорція правильних від'ємних результатів ( $TN$ ) методики серед контрольної групи ( $D_-$ )

$$Sp = \frac{TN}{D_-} 100\% . \quad (2.17)$$

Визначивши специфічність, можна апріорі припускати, яка частка здорових осіб, у яких це дослідження дасть негативний результат. Чим вища специфічність методу, тим надійніше з його допомогою підтверджується експертне заключення, і тим він більш ефективний.

Високоспецифічні методи називаються в діагностиці дискримінаторами. Для встановлення специфічності методів багатомірної поляризаційної та лазерної автофлуоресцентної мікроскопії додатково проводилось статистичне опрацювання результатів дослідження зразків з XIXС.

- *Точність* ( $A_c$ ) – пропорція правильних результатів ( $TP + TN$ ) тесту серед всіх обстежених випадків контрольної групи та ГКН ( $D_+ + D_-$ )

$$A_c = \frac{TP + TN}{D_+ + D_-} 100\% . \quad (2.18)$$

Якщо  $D_+ = D_-$ , то  $A_c$  називають *збалансованою точністю*.

Таким чином, точність показує, скільки всього правильних результатів отримано в ході застосування даного методу дослідження. Цей критерій також носить назву діагностичної ефективності і позначають як *De - diagnostic efficiency* [200].

Для правильного трактування діагностичної ефективності методів дослідження важливу роль відіграють критерії апостеріорної ймовірності, тобто прогностичність позитивного і негативного результатів. Саме ці критерії показують, яка ймовірність захворювання (або його відсутності) при відомому результаті дослідження. Таким чином, апостеріорні показники мають більше значення, ніж апріорні.

Прогностична цінність (*predictive value*) тесту - ймовірність наявності захворювання за умови відомого результату діагностичного дослідження (тесту). Показник розраховується на підставі даних чутливості і специфічності.

Прогностичність позитивного результату – це ймовірність захворювання при позитивному (патологічному) результаті діагностичного дослідження (тесту).

Прогностичність негативного характеру – ймовірність відсутності захворювання при негативному (нормальному) результаті діагностичного дослідження (тесту).

Прогностична цінність – це характеристика не тільки самого методу. Вона залежить як від його чутливості і специфічності, так і від поширеності захворювання в досліджуваній популяції, тобто частки осіб з досліджуваним захворюванням у певній популяції в даний момент часу. Поширеність –

апріорна (або претестова) ймовірність, тобто це ймовірність виявлення хвороби до того, як стали відомі результати дослідження.

Чим чутливіший тест, тим вища прогностична цінність його негативного результату (тобто зростає впевненість експерта в тому, що негативні результати дослідження відкидають наявність ГКН). Навпаки, чим специфічніший тест, тим вище прогностична цінність його позитивного результату (тобто експерт може з більшою впевненістю вважати, що позитивні результати підтверджують передбачуваний діагноз). Оскільки поширеність патології впливає на прогностичну цінність діагностичного методу, остання неминуче залежить і від умов його виконання. Якщо позитивні результати навіть високо специфічного методу отримані в популяції з низькою ймовірністю захворювання, то вони виявляться переважно хибно позитивними.

- *Прогностична цінність позитивного результату (+PV, PVP) – це пропорція істинно позитивних результатів серед всіх позитивних значень тесту. Даний показник визначається за формулою:*

$$PVP = \frac{TP}{TP+FN} \times 100\%. \quad (2.19)$$

Прогностична цінність позитивного результату визначається як частота його збігу з захворюванням і, таким чином, показує, наскільки велика ймовірність наявності хвороби при позитивних результатах дослідження.

- *Прогностична цінність негативного результату (-PV, PVN) – це пропорція істинно негативних результатів тесту серед усіх негативних значень. Показник визначається за формулою:*

$$PVN = \frac{TN}{TN+FP} \times 100\%. \quad (2.20)$$

Прогностична цінність негативного результату визначається як частота його збігу з відсутністю захворювання. Цей критерій, таким чином, показує, наскільки велика ймовірність того, що ГКН відсутня, якщо результати дослідження негативні.

Для заключної наглядної характеристики застосування традиційних методів та спектрофотометрії для верифікації ГКН використовували, метод що отримав назву ROC-аналіз (Receiver Operator Characteristic). ROC-аналіз базується на побудові ROC-кривої, яка найбільш часто використовується для представлення результатів бінарної класифікації. ROC- крива демонструє залежність кількості вірно класифікованих позитивних прикладів від кількості невірно класифікованих негативних. У «ідеального» тесту крива проходить через верхній лівий кут, де частка істинно позитивних випадків становить 100%, відповідно, чим нижче вигин кривої, тим менш якісний тест. Графік доповнювали прямою  $y = x$ , оскільки недоцільно розглядати метод з ROC-кривою, що знаходиться нижче  $y = x$  та, відповідно, є увігнутою. Для отримання чисельного значення клінічної значущості тесту, а також для порівняння тестів між собою, використовували показник AUC (Area Under Curve), який розраховували за допомогою методу трапецій. Про якість тесту судили за загальноприйнятою шкалою для значень AUC: 0,9-1 відмінно; 0,8-0,9 дуже добре; 0,7-0,8 добре; 0,6-0,7 середньо; 0,5-0,6 незадовільно.

### **2.3. Висновки до розділу 2.**

1. Охарактеризовано групи дослідження, дані критерії для включення в них та критерії виключення.
2. Описана методика забору матеріалу та послідовність проведення дослідження.
3. Вказано можливості та методику використання фарбування гематоксиліном, основним фуксином, пікриновою кислотою.
4. Наведено описання експериментальних розташувань і методів багатомірної поляризаційної та фазової мікроскопії зрізів міокарда, до яких відносяться поляриметрія розподілів азимута та еліптичності мікроскопічних зображень; стокс-поляриметрія координатних розподілів параметрів вектора Стокса; фазометрія мікроскопічних

- зображень та мюллер-матричне картографування фібрилярних міозинових мереж.
5. Проілюстровано методику експериментального визначення сукупності двомірних вектор-параметричних мікроскопічних зображень нативного зрізу міокарда.
  6. Представлено інформацію про експериментальне розташування лазерної поляризаційної аутофлуоресцентної мікроскопії гістологічних зрізів міокарда.
  7. Проаналізовано основні групи об'єктивного аналізу двомірних розподілів азимута, еліптичності, фаз, елементів матриці Мюллера, інтенсивності авто флуоресценції:
    - статистичний аналіз;
    - кореляційний аналіз;
    - фрактальний аналіз;
    - вйвлет – аналіз;
    - параметричний аналіз;
    - інформаційний аналіз.
  8. Виділено основні групи об'єктивних параметрів  $r \equiv \left[ \begin{pmatrix} V_i \\ \alpha \\ \beta \\ m_{ik} \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} I \\ \alpha^* \\ \beta^* \end{pmatrix} \right]$ , які характеризують поляризаційні та фазові мапи, мюллер-матричні, а також аутофлуоресцентні лазерні мікроскопічні цифрові зображення зрізів міокарда.
  9. Приведені дані метрологічної повірки параметрів лазерного мікрополяриметра.
  10. Окреслені основні етапи статистичного забезпечення дослідження.

На методи, висвітлені в даному розділі отримані наступні патенти:

1. Пат. 54166 Україна, МПК G01N 33/00, A61B 5/00. Спосіб поляризаційного визначення причини настання смерті внаслідок гострої коронарної недостатності / Ушенко Ю.О., Ванчуляк О.Я.; Заявник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № заяви u201005886 від 17.05.2010; опубл. 25.10.2010, бюл. № 20.
2. Пат. 54167 Україна, МПК G01N 33/00, A61B 5/00. Спосіб топологічного визначення причини настання смерті внаслідок гострої коронарної недостатності / Ванчуляк О.Я.; Заявник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № заяви u201005887 від 17.05.2010; опубл. 25.10.2010, бюл. № 20.
3. Пат. 55675 Україна, МПК G01N 33/00, A61B 5/00. Спосіб поляризаційного визначення причини настання смерті внаслідок гострої коронарної недостатності / Ушенко О.Г., Ванчуляк О.Я., Бачинський В.Г.; Заявник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № заяви u201005883 від 17.05.2010; опубл. 27.12.2010, бюл. № 24.
4. Пат. 88762 Україна, МПК G01N 33/00, A61B 5/00. Спосіб визначення настання смерті внаслідок гострої коронарної недостатності за допомогою масштабно-селективного аналізу фур'є фазових мап зображень міокарда / Ушенко О.Г., Ванчуляк О.Я., Ушенко Ю.О., Дуболазов О.В., Карачевцев А.О., Савіч В.О.; Заявник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № заяви u201313630 від 25.11.2013; опубл. 25.03.2014, бюл. № 6.
5. Пат. 89673 Україна, МПК G01N 33/00, A61B 5/00. Спосіб визначення настання смерті внаслідок гострої коронарної недостатності за допомогою вейвлет-аналізу просторово-частотно відфільтрованих мап азимутів зображень міокарда / Ушенко О.Г., Ванчуляк О.Я., Ушенко Ю.О., Дуболазов О.В., Карачевцев А.О., Савіч В.О.; Заявник

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № заяви u201314315 від 09.12.2013; опубл. 25.04.2014, бюл. № 8.

6. Пат. 89675 Україна, МПК G01N 33/00, A61B 5/00. Спосіб визначення настання смерті внаслідок гострої коронарної недостатності за допомогою масштабно селективного аналізу фур'є мап еліптичності зображень міокарда / Ушенко О.Г., Ванчуляк О.Я., Ушенко Ю.О., Дуболазов О.В., Карачевцев А.О., Савіч В.О.; Заявник Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – № заяви u201314317 від 09.12.2013; опубл. 25.04.2014, бюл. № 8.



### Розділ 3

## МАСШТАБНО-СЕЛЕКТИВНА БАГАТОМІРНА ПОЛЯРИЗАЦІЙНА МІКРОСКОПІЯ У ПОСМЕРТНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ГОСТРОЇ ШЕМІЇ МІОКАРДА

### 3.1. Модельний розгляд оптичної анізотропії міокарда.

У циклі робіт [247, 248, 274, 275, 317-327] запропоновано і успішно апробовано для завдань у судовій медицині наступний підхід для моделювання оптичних проявів морфологічної будови БТ:

1. Все різноманіття БТ людини можна представити у вигляді чотирьох основних типів - сполучна, м'язова, епітеліальна та нервова тканини.
2. Морфологічна будова будь якого типу БТ розглядається у вигляді двокомпонентної аморфно-кристалічної структури.
3. Кристалічна компонента або позаклітинна матриця являє собою архітектонічну сітку, що складається з протеїнових (колаген, міозин, еластин та ін.) фібрил.

З морфологічної точки зору серце є порожнистим м'язовим органом, що розміщений в порожнині грудної клітки у середньому середостінні. Анатомічно виділяють верхівку серця та основу серця, груднинно-реброву поверхню, передню, діафрагмальну, нижню поверхню та праву/ліву легеневі поверхні. При зовнішньому огляді чітко контурується вінцева борозна, яка є проекцією межі між шлуночками і передсердями серця. Від вінцевої борозни по передній та нижній поверхнях проходять передня міжшлуночкова борозна та задня міжшлуночкова борозна, які є проекцією межі між правим та лівим шлуночками, тут проходять відповідно ліва та права міжшлуночкові артерії і супроводжуючі їх вени [92, 93]. Правий шлуночок складається із власне шлуночка та артеріального. На внутрішній поверхні правого шлуночка (ventriculus dexter) розташовані м'ясисті перекладки, які формують передній сосочкоподібний м'яз, задній сосочкоподібний м'яз та перегородковий сосочкоподібний м'язи. Лівий шлуночок є найбільшою камерою серця і

утворює більшу частину його діафрагмової поверхні. М'ясисті перекладки формують передній та задній соскоподібні м'язи [77, 100, 159].

Стінка серця складається із ендокарда, міокарда та епікарда. М'язові волокна передсердь і шлуночків починаються від волокнистої тканини, яка входить до складу м'якого скелета серця. Міокард передсердь складається з поверхневого шару з кільцевими волокнами, який є загальним для обох передсердь та глибокого шару з поздовжніми пучками, який є окремим для кожного з передсердь. Міокард шлуночків складається з зовнішнього шару, який починається від волокнистих кілець, має поздовжній напрямок волокон і продовжується вниз до верхівки серця, де утворює завиток серця переходить у глибокий шар протилежного боку; середнього шару із циркулярним розміщенням волокон, який є окремим для кожного шлуночка; глибокого шару із поздовжнім напрямком волокон [77, 78, 116].

Міокард це сукупність високоспеціалізованих м'язових клітин – кардіомиоцитів та інтерстиції. Довжина кардіомиоцитів із різних відділів серця коливається в межах 50-120 мкм, ширина - 10-20 мкм. За допомогою контактів «кінець в кінець» кардіомиоцити об'єднані в м'язові волокна з добре вираженою поперечною смугастістю. Косопоперечні містки (нексуси) між їх бічними поверхнями інтегрують міокард в «функціональний синтіцій» [100, 235].

На мікро- та макроскопічному рівнях чітко простежується тенденція до об'єднання м'язових волокон у пучки (фасцікули) різної потужності. Ніжні прошарки пухкої сполучної тканини, які їх обмежують, є місцем розподілу інтрамуральних судин та елементів лімфатичної мережі. Однак виділення пучкової структури міокарда носить умовний характер внаслідок широкого обміну фасцікул м'язовими волокнами та мікросудинами, що їх супроводжують [159]. Структурна консолідація м'язових волокон і прохідність капілярів, що їх живлять в усі фази серцевого циклу забезпечується колагеновим каркасом, який має три рівні організації. Коллагенова мережа охоплює цілі групи м'язових волокон та інтрамуральні

судини, оточує мікросудини, міжміоцитарні і міоцитарно-капілярні з'єднання, формуючи складну тривимірну систему. Ендомізій являє собою ніжний несущільний футляр із пучків колагенових філаментів товщиною 120-150 нм, який міцно з'єднаний з кардіоміоцитами на рівні їх Z-ліній. Цей зв'язок здійснюється короткими тяжами, які утворені навколо клітин манжетки, що контактують за допомогою спеціалізованих молекул адгезії з елементами цитоскелету. Сплетення перимізій об'єднані поперечними колагеновими волокнами і більш грубими поздовжньо-орієнтованими волокнистими структурами. Еластичні волокна в міокарді поодинокі, їх кількість збільшується в старшому віці [77, 204, 235].

Компоненти інтерстицію співвідносяться наступним чином: 55% становлять судинні структури, 5% - елементи нервової системи, на клітини сполучної тканини, її волокна і протеоглікани припадає 7%, 4% і 23% обсягу відповідно, а решта 6% - на оптично порожні зони. Пухка сполучна тканина інтерстицію, яка структурно інтегрує міокард, являє собою поліфункціональну систему взаємозалежних елементів [254].

Міжклітинна речовина забезпечує формування середовища для нормального функціонування робочих компонентів міокарда. Міжклітинна речовина включає сильно гідратований гель, транспортно-трофічні властивості якого визначаються протеогліканами і глікопротеїнами. Їх великі молекули складаються з білка, ковалентно зв'язаного з глікозаміногліканами. Найбільш важливі з них - гіалуронова кислота, гепарин, сульфатований і нессульфатований хондроїтин. Кількість волокнистих елементів в інтерстиції здорового міокарда незначна. Їх основу складає колаген I типу і в меншій кількості - III. Молекули колагену – шаруваті впорядковані структури, які мають властивості рідких кристалів. Волокна колагену та міжклітинна речовина, орієнтовані, як правило, паралельно силі розтягу, що забезпечує максимальну ефективність їх опорно-скелетної функції. Пов'язані між собою колагенові фібрили, спіралеподібно обвивають кардіоміоцити, попереджаючи перерозтяг м'язових волокон і обмежуючи їх взаємне

зміщення у динаміці серцевого циклу. Деформації колагенових структур, що виникають при цьому, генерують додаткове зусилля при поверненні серця до вихідного об'єму [177, 235, 254].

Субстанції, структуровані в колагенових волокнах, базальних мембранах і міжклітинній речовині, продукуються різними клітинами. Синтез глікозаміногліканів і склеропротеїдів здійснюється в ендоплазматичному ретикулумі і комплексі Гольджі фібробластів, у судинній стінці - гладком'язовими клітинами, гепарин синтезується в тучних клітинах.

У міокарді клітини фібробластичного ряду розрізняються ступенем зрілості і спеціалізацією. Всі вони здатні до міграції в тривимірному колагеновому гелі, в основі їх енергетичного метаболізму лежить гліколіз. Синтезовані молекули колагену мають здатність до самозбірки, порядок якої визначається розташуванням амінокислот в кінцевих відділах. Цей процес і моделювання утворення волокон здійснюються на поверхні фібробластів, що, однак, не виключає «дистанційне» фібрилоутворення.

У фізіологічних умовах катаболізм колагену, як і фібрилогенез, здійснюється на клітинній основі. Десмолітичні чинники – катепсини, колагеназа, гіалунідаза, ряд нелізосомних ферментів, продукуються не тільки спеціалізованими фібробластами, а й макрофагами, тучними клітинами, лейкоцитами. Ензимотичну дезінтеграцію міжклітинної речовини регулюють зміни рН, концентрація  $Ca^{2+}$ , гематичні чинники. Клітинна резорбція фібробластами надлишкового або дефектного колагену іммунонезалежна і регулюється «колагенчутливими» рецепторами, розташованими на їх поверхні. Рівновага десмолітичних та десмопластичних процесів представляє важливий фактор тканинного гомеостазу [204].

Фібробласти, макрофаги та іноді присутні в інтерстиції формені елементи крові служать джерелом численних цитокінів, які не тільки регулюють морфогенез стромы, але і впливають на ендотелій і кардіоміоцити. Однак найбільш потужний вплив на морфофункціональний стан всіх тканинних компонентів, що підтримують нормальний баланс

строми і скорочувального міокарда, чинять самі кардіоміоцити. У спектр біологічно активних речовин, синтезованих кардіоміоцитами шлуночків, входять металопротеази, колагенази (стромелін, желатинази А і В) і ряд інших гуморальних факторів [100].

Безпосередньо кардіоміоцити містять всі органели загального характеру, однак ступінь їх розвитку різний. Ядро, як правило світле, характеризується наявністю великої кількості еухроматину. У людини кількість двоядерних міозитів не перевищує 10—13%. Апарат Гольджі представлений 3-4 цистернами і скупченням дрібних пухирців та везикул, зазвичай розташовується біля полюсів ядра. Лізосоми, переважно розташовані навколо ядра. Гранулярний ендоплазматичний ретикулум розвинутий незначно — інколи зустрічаються поодинокі канали. Мітохондрії, з числа органел загального характеру, досягли найбільшого розвитку і займають значний об'єм кардіоміоцитів шлуночків серця. Характерною особливістю мітохондрій є наявність специфічних структур — міжмітохондріальних контактів. Оскільки кардіоміоцит належить до збудливих клітин його цитоплазматична мембрана спеціалізується на проведенні (а у випадку кардіоміоцитів провідної системи серця і генерування) потенціалу дії, що знайшло відображення в великій кількості іонних каналів [100, 116]. Деякі з них (кальцієві) є досить специфічними. Для трансформації електричного сигналу в скорочення міофібрил цитолема утворює вгинання – систему Т-трубочок. Всередині кардіоміоцита апарат Гольджі спеціалізується в саркоплазматичний ретикулум, що утворює L-трубочки. Місця контакту сусідніх клітин в функціональному волокні сприймаються, як більш чіткі поперечні полоси — вставні диски. В ділянці вставних дисків між кардіоміоцитами знаходяться інтердигітації, десмосоми, нексуси. Функціональні волокна оточені базальною мембраною таким чином, що вона покриває лише бокові поверхні кардіоміоцитів та не заходить на їх основу (торцеві поверхні). Скорочення забезпечується актино-міозиновими дисками, що володіють анізотропними властивостями [204, 235].

В основу опису механізмів оптичної анізотропії міокарда покладено наступні модельні уявлення [175, 196, 197, 215, 317-327]:

1. Амінокислоти та утворені ними поліпептидні ланцюги міозину (первинна структура білка) володіють *оптичною активністю* [274, 275]. Такий механізм призводить до формування обертання площини поляризації лазерного пучка. За рахунок особливостей координатного розподілу поліпептидних ланцюгів у площині гістологічного зрізу міокарда формується множина значень поворотів площини поляризації у точках відповідного зображення. Отже, шляхом реєстрації поляризаційної мапи азимута поляризації (розділ 2, параграф 2.2.2.3.3., рис. 2.6, співвідношення (2.6),(2.7)) можна одержати інформацію про прояви оптично активних структур первинної структури білків, які формують морфологічну будову міокарда.

2. Фібрилярні (вторинна структура) протеїнові мережі, які утворені поліпептидними ланцюгами, володіють *лінійним двопронезаломленням* [279]. Оптичним проявом особливостей морфологічної будови фібрилярної сітки є формування координатного розподілу інтенсивності у площині зображення гістологічного зрізу міокарда. Таким чином, шляхом реєстрації поляризаційної мапи еліптичності поляризації (розділ 2, параграф 2.2.2.3.3., рис. 2.6, співвідношення (2.6),(2.7)) можна одержати інформацію про прояви властивостей фібрилярних мереж (сіток), які формують вторинну структуру морфологічної будову міокарда.

3. Ішемічні зміни морфологічної будови міокарда призводять до структурної та біохімічної трансформації первинної та вторинної структури її білкових складових. Оптично такі процеси призводять до змін координатних розподілів мап азимута (біохімічні процеси) та еліптичності (орієнтаційні зміни фібрилярних сіток) поляризації зображень зрізів міокарда.

4. Головна ідея встановлення ГКН та її диференціації лежить у

можливості багатопараметричної ( $r \equiv \left[ \begin{matrix} (V_i) \\ \alpha \\ \beta \\ (m_{ik}) \end{matrix} \right], \left[ \begin{matrix} I \\ \alpha^* \\ \beta^* \end{matrix} \right]$ ) об'єктивізації (розділ 2,

параграф 2.2.2.3.2.1., співвідношення (2.1)-(2.4)) аналізу зображень зрізів.

5. Шляхом перехресного статистичного аналізу трьох груп зразків (норма (група 1), XIXС (група 2) і ГКН (група 3)) з використанням методології доказової медицини визначають діагностичну силу методу поляризаційної мікроскопії у посмертній діагностиці зрізів міокарда.

### **3.2. Верифікація гострої коронарної недостатності та диференціація з хронічною ішемічною хворобою серця методами багатомірної поляризаційної мікроскопії зрізів міокарда.**

#### **3.2.1. Мапи азимута поляризації зображень зрізів міокарда досліджуваних груп.**

Вимірювання поляризаційних мап азимута поляризації зображень міокарда проводилося у розташуванні стокс-поляриметра [320, 324] (розділ 2, параграф 2.2.2.3.3., рис. 2.16).

За допомогою обертання осі пропускання аналізатора  $\Theta$  на кут  $\Theta$  в межах  $= 0^0 - 180^0$  визначаються масиви мінімальних і максимальних рівнів інтенсивності  $I_{\min}(p \times k); I_{\max}(p \times k)$  зображення біологічного об'єкту для кожного окремого пікселя  $(mn)$  CCD-камери і, відповідні їм кути повороту  $\Theta(p \times k)(I(p \times k) \equiv \min)$ . Далі розраховуються координатні розподіли (поляризаційні мапи) азимутів поляризації зображення біологічного об'єкту з використанням таких співвідношень [212, 294]

$$\alpha(p \times k) = \Theta(I(p \times k) \equiv \min) - \frac{\pi}{2}. \quad (3.1)$$

Рис. 3.1 ілюструє серію поляризаційних зображень оптико анізотропної матриці (у перехрещених  $\Theta = 90^\circ$  площинах пропускання поляризатора 4 і аналізатора 9 – рис. 2.16) зразків тканини міокарда обох груп.

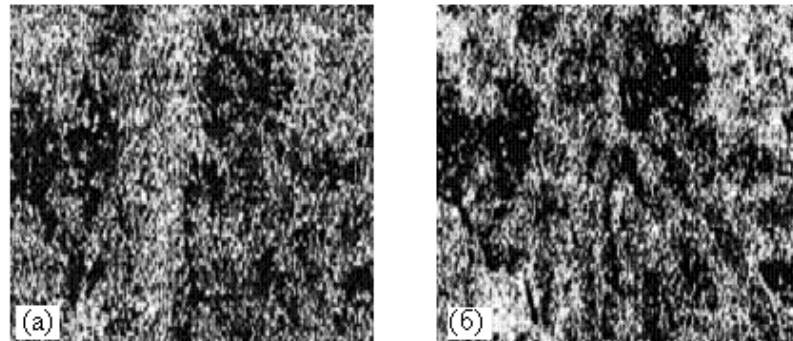


Рис. 3.1. Лазерні зображення поляризаційно-візуалізованої фібрилярної сітки зрізу міокарда: а) – ГКН; б) – XIXС.

Порівняльний аналіз поляризаційно-візуалізованих зображень зразків міокарда виявив, що незалежно від причини настання смерті значний внесок у формування розподілів азимутів поляризації дають оптико анізотропні первинні та вторинні структури білків фібрилярних мереж актино-міозинового комплексу.

Даний факт підтверджує наявність великої кількості світлих ділянок, поляризаційно-трансформованих внаслідок впливу оптичної анізотропії (активності поліпептидних ланцюгів) молекул міозину у зображеннях зрізів зразків міокарда обох груп [201, 247].

Для мікроскопічного зображення зразку тканини міокарда групи 2 (рис. 3.1а) характерний достатньо рівномірний розподіл площі світлих ділянок, які відповідають напрямам укладання міозинових фібрил міокарда.

Морфологічні зміни тканини міокарда у наслідок ГКН виявляються у формуванні локальних кластерів анізотропних структур - у відповідних візуалізованих поляризаційних зображеннях фібрилярних мереж його зрізів (рис. 2б) спостерігається певна координатна локалізація світлих ділянок.



Слід очікувати, що якісно проаналізовані оптичні прояви тенденції зміни морфологічної будови тканини міокарда внаслідок різної причини настання смерті більш виразно виявляться у відмінностях величин і діапазонів зміни статистичних моментів 1–4-го порядків (розділ 2, співвідношення (2.1)-(2.4)), які характеризують розподіли азимутів поляризації (співвідношення (3.1)) поляризаційних зображень досліджуваних зразків.

Розподіли  $\alpha(p \times k)$  (фрагмент а) і гістограми (фрагмент б) їх значень обчислені для поляризаційного зображення зразку тканини міокарда групи 2 приведені на рис. 3.2.

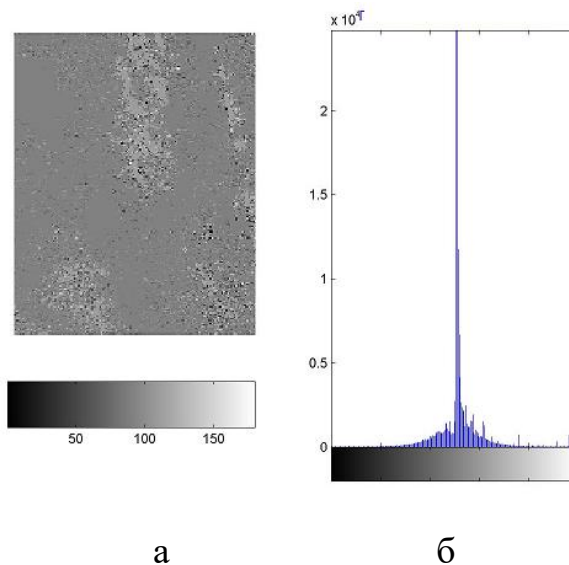


Рис. 3.2. Лазерне зображення зрізу тканини міокарда при ГКН: а - двомірний  $(p \times k)$  розподіл азимутів поляризації  $\alpha$ ; б - гістограми випадкових значень азимутів поляризації.

Аналіз поляризаційної мапи азимутів (рис. 3.2, а) поляризаційного зображення зрізу тканини міокарда групи і випадку ГІ виявив, що для гістограми випадкових значень  $\alpha$  характерний максимальний діапазон зміни  $(0^\circ \leq \Delta\alpha \leq 180^\circ)$  значень азимуту поляризації лазерного випромінювання. Проте, співвідношення величини головного екстремуму  $(\alpha_0 = 90^\circ)$  і локальних екстремумів складає 1 до 50 (рис. 3.2, б). Дана обставина об'єктивно обумовлює високий рівень значень статистичного моменту 4-го

порядку, що характеризує розподіл азимутів поляризації мікроскопічного зображення тканини міокарда.

З іншого боку, гістограма розподілу значень азимутів поляризації зображення тканини міокарда групи 2 дещо асиметрична відносно головного екстремуму. Статистично це виявиться у відповідній величині статистичного моменту 3-го порядку, що характеризує асиметрію розподілу значень азимута поляризаційної мапи  $\alpha(p \times k)$  поляризаційного зображення.

Кількісно оптичні прояви анізотропії мереж міозинових фібрил тканини міокарда при ГКН ілюструє сукупність значень статистичних моментів 1–4-го порядків, обчислена за співвідношеннями (2.1)-(2.4)  $M_1^\alpha = 0,56; M_2^\alpha = 0,16; M_3^\alpha = 0,28; M_4^\alpha = 1,19$ .

На рис. 3.3 наведені результати дослідження поляризаційної мапи  $\alpha(p \times k)$  мікроскопічного зображення гістологічного зрізу тканини міокарда людини з ГКН.

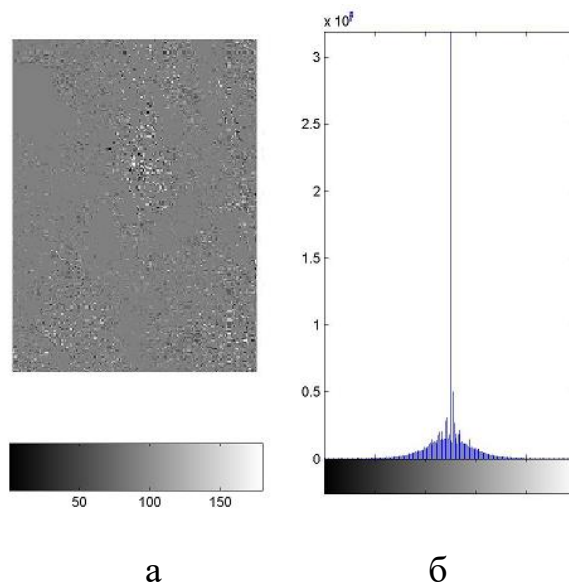


Рис. 3.3. Лазерне зображення зрізу тканини міокарда групи при XIXС: а - двомірний  $(p \times k)$  розподіл азимутів поляризації  $\alpha$ ; б - гістограми випадкових значень азимутів поляризації.

Одержана інформація про координатний (рис. 3.3, а) і статистичний (рис. 3.3, б) розподіл значень поворотів площини поляризації лазерного

випромінювання у точках цифрового мікроскопічного зображення свідчить про певне зменшення оптичної активності речовини міозинових фібрил зразку тканини міокарда групи з ХІХС. Як видно зростає величина головного екстремуму значень азимутів поляризації  $\alpha_0 = 90^\circ$ . Окрім цього, розподіл випадкових значень азимута поляризації стає більш симетричним.

Кількісно зміни біохімічної і геометричної структури протеїнових фібрил характеризує зміна статистичних моментів 3-го (зменшення на 40%) і 4-го порядків (зростання на 35%), які характеризують координатний розподіл значень азимута поляризаційної мапи поляриметричного зображення тканини міокарда людини, що померла внаслідок ГКН, -  $M_1^\alpha = 0,59; M_2^\alpha = 0,14; M_3^\alpha = 0,18; M_4^\alpha = 1,61$ .

Кореляційну структуру поляризаційних мап  $\alpha(p \times k)$  зображень зрізів тканини міокарда при ГКН та ХІХС ілюструють автокореляційні функції  $K^\alpha(\Delta p)$  (розділ 2, параграф 2.2.2.3.2.2.), які наведені на рис. 3.4.

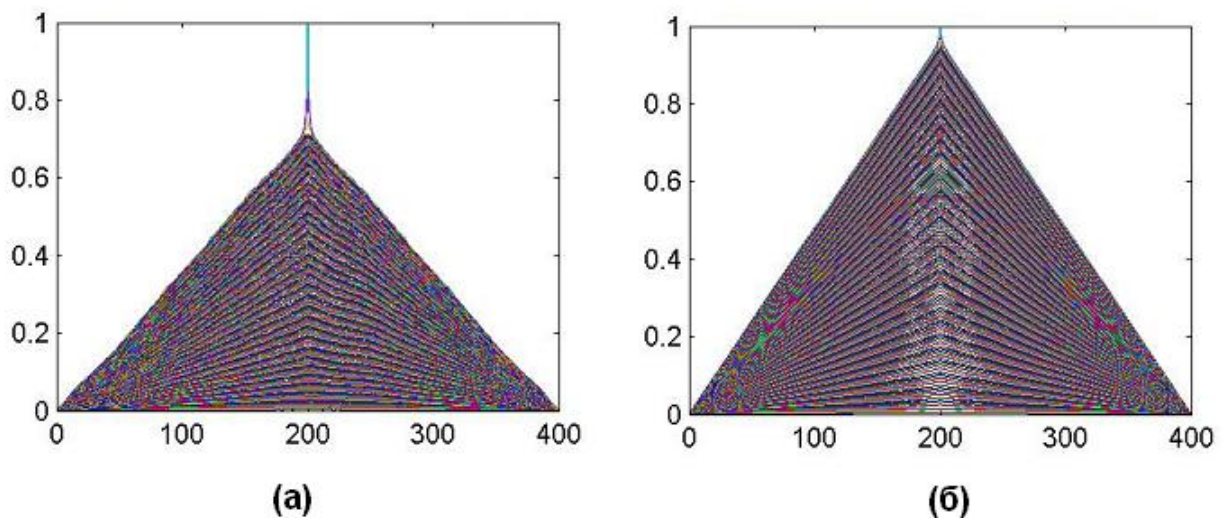


Рис. 3.4. Автокореляційні функції розподілів азимутів поляризації  $\alpha$  в зображеннях зрізів тканини міокарда: а – при ГКН; б – при ХІХС.

З одержаних даних видно, що координатний розподіл величин азимутів поляризації лазерного зображення гістологічного зрізу тканини міокарда при ГКН більш однорідний. Це впливає з того, що автокореляційна функція

$K^\alpha(\Delta p)$ , обчисленої для поляризаційної мапи  $\alpha(p \times k)$  мікроскопічного зображення гістологічного зрізу тканини міокарда з ГКН (рис. 3.4, а) спадає швидше у порівнянні з аналогічною кореляційною залежністю, що була одержана для міокарда з ХІХС (рис. 3.4, б).

На рис. 3.5 приведені логарифмічні залежності спектрів потужності розподілів азимутів поляризації мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда при ГКН та ХІХС.

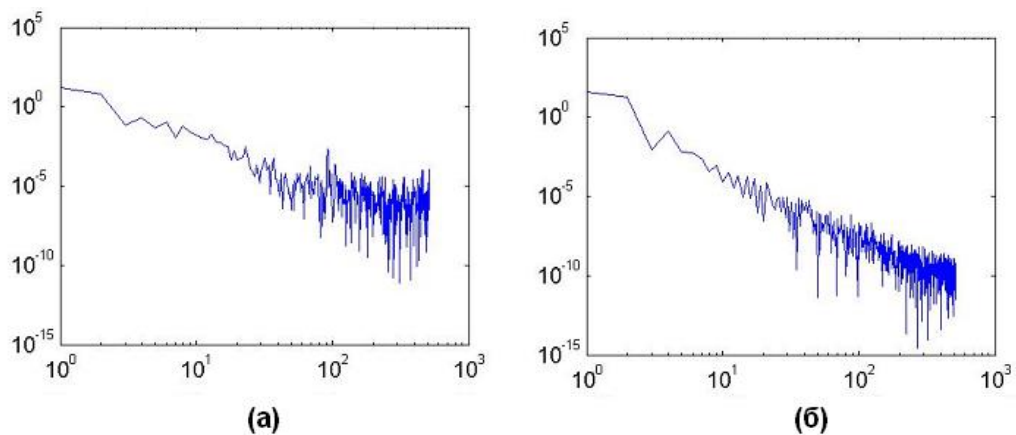


Рис. 3.5. Залежності  $\log L(\alpha) - \log \frac{1}{d}$  мікроскопічних зображень зрізів міокарда: а – ГКН; б – ХІХС.

З одержаних даних видно, що координатні розподіли азимутів поляризації у площині мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда при ГКН та ІХС різні.

Для міокарда при ГІ розподіл  $\alpha(p \times k)$  фрактальний, оскільки залежність  $\log L(\alpha) - \log \frac{1}{d}$  характеризується постійним нахилом  $u = const$  апроксимуючої кривої  $A(u)$  (розділ 2, параграф 2.2.2.32.3.).

Для міокарда при ХІХС розподіл  $\alpha(p \times k)$  статистичний у діапазоні малих розмірів (2 мкм – 20 мкм) міозинових фібрил міокарда, оскільки для апроксимуючих кривих  $A(u)$  відсутнє стабільне значення кута нахилу  $u \neq const$ .

### 3.2.2. Мапи еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зрізів міокарда з XIXC і ГКН.

Методика вимірювань координатних розподілів еліптичності поляризації у мікроскопічних цифрових зображень зрізів міокарда включає наступні кроки:

- за допомогою обертання осі пропускання аналізатора 9 (розділ 2, параграф 2.2.2.3.3., рис. 2.16) на кут  $\Theta$  в межах  $= 0^0 - 180^0$  визначаються масиви мінімальних і максимальних рівнів інтенсивності  $I_{\min}(p \times k); I_{\max}(p \times k)$  мікроскопічного зображення зрізу міокарда для кожного окремого пікселя  $(pk)$  CCD-камери і, відповідні їм кути повороту  $\Theta(p \times k)(I(p \times k) \equiv \min)$ ;
- далі розраховуються координатні розподіли (поляризаційні мапи) еліптичності поляризації мікроскопічного зображення зрізу міокарда з використанням співвідношення [201]:

$$\beta(p \times k) = \arctg \frac{I_{\min}(p \times k)}{I_{\max}(p \times k)}. \quad (3.2)$$

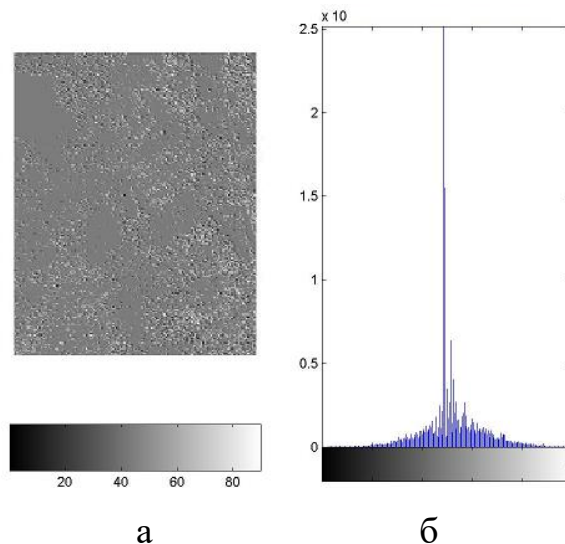


Рис. 3.6. Лазерне зображення зрізу тканини міокарда при ГКН: а - двомірний  $(p \times k)$  розподіл азимутів поляризації  $\beta$ ; б - гістограми випадкових значень азимутів поляризації.

На рис. 3.6 показані координатні розподіли еліптичності поляризації  $\beta$  та гістограми їх значень у мікроскопічному зображенні гістологічного зрізу міокарда при ГКН.

Наявність двопронезаломлення речовини міозинових фібрил тканини міокарда групи 1 ілюструє, дещо асиметрична відносно головного екстремуму ( $\beta_0 = 45^\circ$ ) гістограма випадкових значень  $\beta$  - рис. 3.6, б.

З іншого боку, співвідношення між величиною головного екстремуму та іншими локальними екстремальними значеннями складає 100 до 1, що обумовлює високе значення ексцесу розподілу еліптичності поляризації мікроскопічного зображення зразку міокарда при Г. Таку особливість двовимірного розподілу  $\beta(p \times k)$  можна пов'язати з певною переважною просторовою орієнтацією протеїнових фібрил, що призводить до збільшення ймовірності відповідних значень еліптичності поляризації лазерного зображення. Кількісно особливості морфологічної побудови фібрилярної мережі міокарда виявляються у відмінності від нуля всіх статистичних моментів:  $M_1^\beta = 0,72; M_2^\beta = 0,08; M_3^\beta = 0,14; M_4^\beta = 2,21$ .

Поляризаційна мапа і гістограма значень еліптичності поляризації мікроскопічного зображення гістологічного зрізу тканини міокарда при XIXС показані на рис. 4.

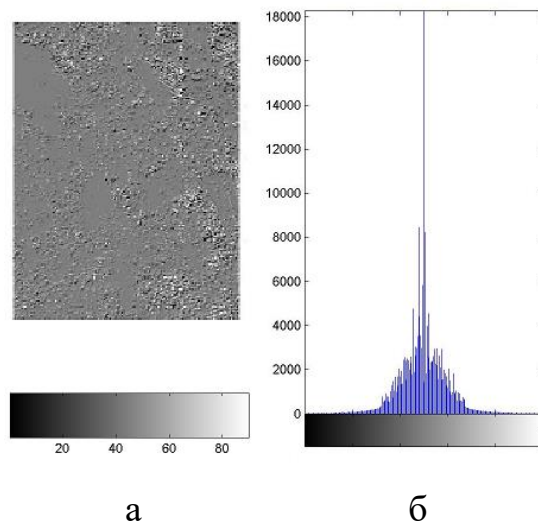


Рис. 3.7. Лазерне зображення зрізу тканини міокарда при XIXC: а - двомірний  $(p \times k)$  розподіл азимутів поляризації  $\beta$ ; б - гістограми випадкових значень азимутів поляризації.

Аналіз координатної структури поляризаційної мапи (рис. 3.7, а) свідчать про деяке зростання двопроменезаломлення (ділянки з відмінними від  $45^\circ$  значеннями  $\beta$ ) фібрилярної мережі зразку тканини міокарда групи 3. Кількісно такі зміни ілюструє асиметрія гістограми випадкових значень  $\beta$  та збільшення її півширина (рис. 3.7, б).

Найбільш виразно статистичні зміни розподілу  $\beta(p \times k)$  характеризує зростання практично у 2 рази величини статистичного моменту 3-го порядку та зменшення на 40% статистичного моменту 4-го порядку, -  $M_1^\beta = 0,69; M_2^\beta = 0,11; M_3^\beta = 0,29; M_4^\beta = 1,81$ .

Кореляційну структуру розподілів поляризаційних мап  $\beta(p \times k)$  мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда при ГКН та XIXC ілюструють автокореляційні функції  $K^\beta(\Delta p)$ , які наведені на рис. 3.8.

З одержаних даних видно, що координатний розподіл величин еліптичності поляризації мікроскопічного зображення зрізу тканини міокарда при ГКН менш однорідний ніж при XIXC.

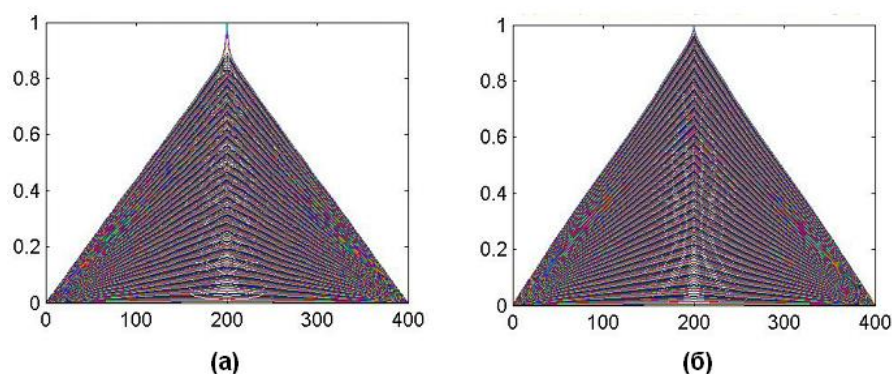


Рис. 3.8. Автокореляційні функції розподілів азимутів поляризації  $\beta$  в зображеннях зрізів тканини міокарда: а – ГКН; б – XIXC.



На даний факт вказує більш повільне спадання відносних значень автокореляційної функції  $K^\beta(\Delta p)$ , обчисленої (розділ 2, параграф 2.2.2.3.2.3.) для поляризаційної мапи  $\beta(p \times k)$  мікроскопічного зображення зрізу тканини міокарда з ГКН (рис. 3.8, а) у порівнянні з аналогічною кореляційною залежністю, що була одержана для тканини міокарда при ХІХС (рис. 3.8, б).

На рис. 3.9 приведені логарифмічні залежності спектрів потужності розподілів еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда при ГКН та ХІХС.

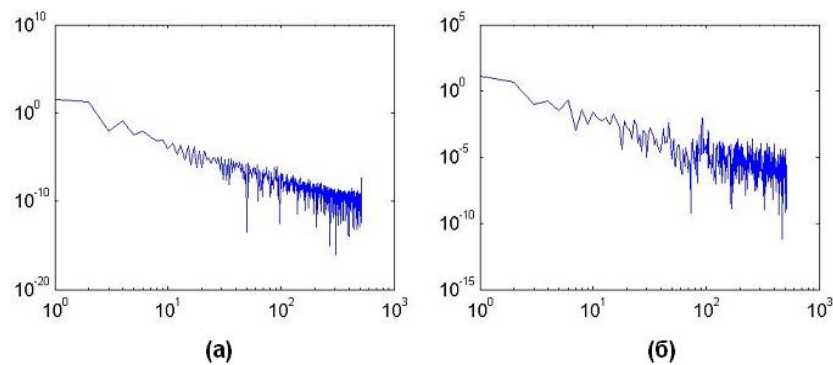


Рис. 3.9. Залежності  $\log L(\beta) - \log \frac{1}{d}$  мікроскопічних зображень зрізів міокарда: а – ГКН; б – ХІХС.

З одержаних даних видно, що розподіли еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда при ГКН та ХІХС різні. Для при ГІ розподіл  $\beta(p \times k)$  фрактальний, що підтверджується постійним нахилом  $u = const$  апроксимуючої кривої  $A(u)$  залежності  $\log L(\beta) - \log \frac{1}{d}$ . У випадку ХІХС розподіл  $\beta(p \times k)$  поляриметричного зображення міокарда у діапазоні малих геометричних розмірів фібрил – статистичний, оскільки для апроксимуючих кривих  $A(u)$  відсутнє стабільне значення кута нахилу  $u \neq const$ .



### 3.2.3. Інформаційний аналіз мап азимута та еліптичності поляризації мікроскопічних зображень у посмертній діагностиці міокарда.

З метою діагностичного застосування методу багатомірної поляризаційної мікроскопії в сенсі диференціації причини настання смерті було сформовано дві групи зрізів міокарда загальною кількістю  $n_1 = n_2 \equiv n = 69$ , відповідно до розрахунків достатньої кількості репрезентативної вибірки [179].

На наступному етапі визначались:

- середні (як у випадку ГКН так і ХІХС) величини  $M_{i=1,2,3,4}(\alpha, \beta)$  і  $K_{i=2,4}(\alpha, \beta)$  (розділ 2, параграф 2.2.2.3.2.1., співвідношення (2.1)-(2.4)) та їх стандартні відхилення  $\pm \sigma$  - таблиці 3.1 - 3.4.
- традиційні для доказової медицини операційні характеристики (розділ 2, параграф 2.2.2.4.2., співвідношення (2.16)-(2.18)) - чутливість  $Se$ , специфічність  $Sr$  та збалансована точність  $Ac$ .

Диференціація зразків зрізів міокарда для кожної поляризаційної мапи здійснювалась шляхом перехресного порівняння гістограм  $N(r)$ . Якщо середнє значення того чи іншого параметру  $\bar{r}$  у контрольні знаходиться поза стандартним відхиленням  $\sigma$  групи з ГКН то відмінність між  $\bar{r}$  вважається статистично достовірною і даний параметр може бути використаний для діагностики ГКН.

Вказана послідовність операцій проводилась і для поляризаційної мапи кожного зразка з ХІХС з метою виявлення можливостей диференціації.

Серед поляризаційних мап азимутів мікроскопічних зображень у межах обох груп зразків найбільш чутливими виявилися статистичні моменти 4-го порядку. Максимальний діапазон відмінності між даними статистичними моментами досягає 1,5 рази.

Результати порівняльного аналізу усереднених значень і стандартних відхилень зміни величин статистичних моментів  $M_k^\alpha$ , які характеризують координатні розподіли поворотів поляризації  $\alpha(p \times k)$  у точках

мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда при ГКН та XIXC приведені в таблиці 3.1. У таблиці також наведений довірчий інтервал для кожного із розрахованих параметрів.

Таблиця 3.1

**Середнє, дисперсія, асиметрія та ексцес розподілів  $\alpha(p \times k)$   
мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда**

$M_k^\alpha$	ГКН	XIXC
$M_1^\alpha$	$0,68 \pm 0,063$	$0,63 \pm 0,057$
	$p > 0,05$	
$M_2^\alpha$	$0,09 \pm 0,01$	$0,11 \pm 0,011$
	$p > 0,05$	
$M_3^\alpha$	$0,29 \pm 0,024$	$0,24 \pm 0,022$
	$p > 0,05$	
$M_4^\alpha$	$1,21 \pm 0,13$	$1,56 \pm 0,15$
	$p < 0,01$	

З одержаних даних проведеного дослідження статистичної структури розподілів поворотів поляризації зразків мікроскопічних зображень зрізів тканин міокарда впливає можливість статистично достовірної диференціації настання смерті внаслідок ГКН на основі використання статистичного моменту 4-го порядку.

Результати порівняльного аналізу значень і діапазонів зміни кореляційних моментів  $K_2^\alpha$  і  $K_4^\alpha$ , які характеризують автокореляційні функції розподілів поворотів площини поляризації  $\alpha(p \times k)$  мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда обох груп, приведені в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

**Дисперсія  $K_2^\alpha$  та ексцес  $K_4^\alpha$ , які характеризують автокореляційні  
функції  $K^\alpha(\Delta p)$  розподілів  $\alpha(p \times k)$  азимута зображень зрізів міокарда**

Параметри	ГКН	ХІХС
$K_2^\alpha$	$0,26 \pm 0,023$	$0,23 \pm 0,021$
	$p > 0,05$	
$K_4^\alpha$	$0,88 \pm 0,081$	$1,07 \pm 0,11$
	$p < 0,01$	

З одержаних даних досліджень кореляційної структури розподілів поворотів поляризації мікроскопічних зображень зразків тканин міокарда впливає можливість статистичної верифікації ГКН як причини смерті та диференціації з ХІХС.

Найбільш чутливим і статистично достовірним виявився кореляційний момент 4-го порядку, що характеризував гостроту піку автокореляційних функцій розподілів значень азимутів поляризації мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда. Максимальний у межах обох груп зразків діапазон відмінності між величинами цих статистичних моментів досягає 2-х разів.

У таблиці 3.3 приведені результати порівняльного аналізу усереднених у межах груп зразків значень статистичних моментів  $M_k^\beta$ , які характеризують координатні розподіли еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда обох типів.

Таблиця 3.3

**Середнє  $M_1^\beta$ , дисперсія  $M_2^\beta$ , асиметрія  $M_3^\beta$  та ексцес  $M_4^\beta$ , які характеризують розподіли  $\beta(p \times k)$  еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда**

$M_k^\beta$	ГКН	ХІХС
$M_1^\beta$	$0,71 \pm 0,068$	$0,67 \pm 0,062$
	$p > 0,05$	
$M_2^\beta$	$0,07 \pm 0,005$	$0,09 \pm 0,0075$
	$p > 0,05$	
$M_3^\beta$	$0,18 \pm 0,014$	$0,22 \pm 0,018$
	$p > 0,05$	

$M_4^\beta$	$2,19 \pm 0,19$	$1,78 \pm 0,15$
	$p < 0,01$	

Одержані експериментальні дані про статистичну структуру ( $M_k^\beta$ ) мап еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зразків тканин міокарда обох груп виявили можливість статистичної діагностики причини настання смерті внаслідок ГКН на основі обчислення  $M_4^\beta$ .

Результати порівняльного аналізу усереднених значень і діапазонів зміни у межах обох груп кореляційних параметрів  $K_2^\beta$  і  $K_4^\beta$ , які характеризують автокореляційні функції розподілів еліптичності поляризації  $\beta(p \times k)$  мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда, приведені в таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

**Дисперсія  $K_2^\beta$  та ексцес  $K_4^\beta$ , які характеризують автокореляційні функції  $K^\beta(\Delta p)$  розподілів  $\beta(m \times n)$  мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда**

Параметри	ГКН	ХІХС
$K_2^\beta$	$0,25 \pm 0,021$	$0,29 \pm 0,028$
	$p > 0,05$	
$K_4^\beta$	$0,61 \pm 0,057$	$0,52 \pm 0,046$
	$p < 0,01$	

З одержаних даних експериментальних досліджень кореляційної структури розподілів еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зразків тканин міокарда видно, що статистично достовірним виявився кореляційний момент 4-го порядку.

Даний параметр, який характеризує автокореляційну функцію розподілу значень еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зрізів тканини міокарда, має найбільший діапазон змін власних значень. Максимальна відмінність досягає до 2,5 разів.

Зазначимо, що перехресний аналіз розподілів випадкових значень обчислених параметрів  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \left( \begin{matrix} \alpha \\ \beta \end{matrix} \right) \right]$  у межах обох патологічних станів (ХІХС і ГКН) виявив суттєве “перекриття” діапазонів їх зміни.

Іншими словами, виникають значні помилки типу:

- $FP$  – для міокарда в нормі;
- $FN$  – для міокарда з ГКН.

Результати інформаційного аналізу (розділ 2, параграф 2.2.2.4.2., співвідношення (2.16)-(2.18)) ілюструють величини операційних характеристик, які характеризують діагностичну силу поляризаційної мікроскопії, наведено в таблиці 3.5 і в таблиці 3.6.

Таблиця 3.5

**Операційні характеристики багатомірної поляризаційної мікроскопії розподілів азимута поляризації зображень зрізів міокарда**

$q$	$Se(\alpha),\%$	$Sp(\alpha),\%$	$Ac(\alpha),\%$	$a, b$ $c, d$
$M_1$	51	52	51,5	$a = 35, b = 34$ $c = 36, d = 33$
$M_2$	51	51	51	$a = 35, b = 34$ $c = 35, d = 34$
$M_3$	57	54	55,5	$a = 39, b = 30$ $c = 37, d = 32$
$M_4$	62	59	60,5	$a = 43, b = 26$ $c = 41, d = 28$
$K_2$	57	54	55,5	$a = 39, b = 30$ $c = 37, d = 32$
$K_4$	68	54	61	$a = 47, b = 22$ $c = 39, d = 30$

Тут  $a = TN; b = FP;$   
 $c = TP; d = FN.$

Аналіз операційних характеристик методу поляризаційної мікроскопії, що визначають її діагностичну інформативність, не виявили задовільного рівня більшості з об'єктивних параметрів  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \begin{pmatrix} \alpha \\ \beta \end{pmatrix} \right]$  розподілів азимута та еліптичності поляризації мікроскопічних зображень у завданні посмертної діагностики міокарда.

Таблиця 3.6

**Операційні характеристики багатомірної поляризаційної мікроскопії розподілів еліптичності поляризації зображень зрізів міокарда**

$q$	$Se(\beta),\%$	$Sp(\beta),\%$	$Ac(\beta),\%$	$a, b$ $c, d$
$M_1$	51	52	51,5	$a = 35, b = 34$ $c = 36, d = 33$
$M_2$	57	55	56	$a = 37, b = 32$ $c = 36, d = 33$
$M_3$	55	51	53	$a = 38, b = 31$ $c = 35, d = 34$
$M_4$	58	52	55	$a = 40, b = 29$ $c = 36, d = 33$
$K_2$	52	57	54,5	$a = 36, b = 33$ $c = 37, d = 32$
$K_4$	62	55	58,5	$a = 43, b = 26$ $c = 38, d = 31$

Тут  $a = TN; b = FP;$   
 $c = TP; d = FN.$

Найбільш інформативними виявилися статистичні і кореляційні моменти 4-го порядку  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \begin{pmatrix} \alpha \\ \beta \end{pmatrix} \right]:$

$$\alpha \Leftrightarrow \begin{cases} Se(\alpha) = 62\% - 68\% \\ Sp(\alpha) = 54\% - 59\% \\ Ac(\alpha) = 60,5\% - 61\% \end{cases} ; \beta \Leftrightarrow \begin{cases} Se(\beta) = 58\% - 62\% \\ Sp(\beta) = 55\% - 57\% \\ Ac(\beta) = 56\% - 58,5\% \end{cases} .$$

Досягнутий рівень інформативності не відповідає задовільній якості діагностичного тесту.

Проаналізуємо таку “діагностичну проблему” детальніше.

У теорії лазерної поляриметрії [247, 248] продемонстрована можливість диференціації зразків БТ людей з високою чутливістю, яка визначається діапазоном відмінності (до одного порядку величини) середніх (у межах контрольної й досліджуваної груп) значень статистичних моментів. Проте, для клінічного застосування одного цього показника недостатньо.

У роботах [321, 322] виявлено азимутальну залежність (при обертанні площини зразку відносно напрямку опромінення або при зміні стану поляризації зонduючого пучка) координатних розподілів поляризаційних параметрів мікроскопічних зображень зрізів БТ. Виходячи з цього стає зрозумілим великий інтервал перекриття параметрів  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \left( \begin{matrix} \alpha \\ \beta \end{matrix} \right) \right]$ .

У наших серійних досліджень неможливим є однотипна орієнтація зразків міокарда відносно площини поляризації лазерного пучка. Тому координатні розподіли азимута та еліптичності поляризації у точках мікроскопічних зображень різних зразків у межах однієї групи залежать не тільки від орієнтаційної будови фібрилярних мереж, але й від конкретного розташування зразку. За рахунок цього у кожній групі середнє значення

$r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \left( \begin{matrix} \alpha \\ \beta \end{matrix} \right) \right]$  зменшується, а діапазон зміни випадкових значень, навпаки, збільшується. Відповідно до цього знижується загальний рівень чутливості, специфічності та збалансованої точності методу.

Азимутальну залежність поляризаційної структурності мікроскопічних зображень зрізу міокарда, одержаних для різних станів поляризації опромінюючого пучка ілюструють рис. 3.10.

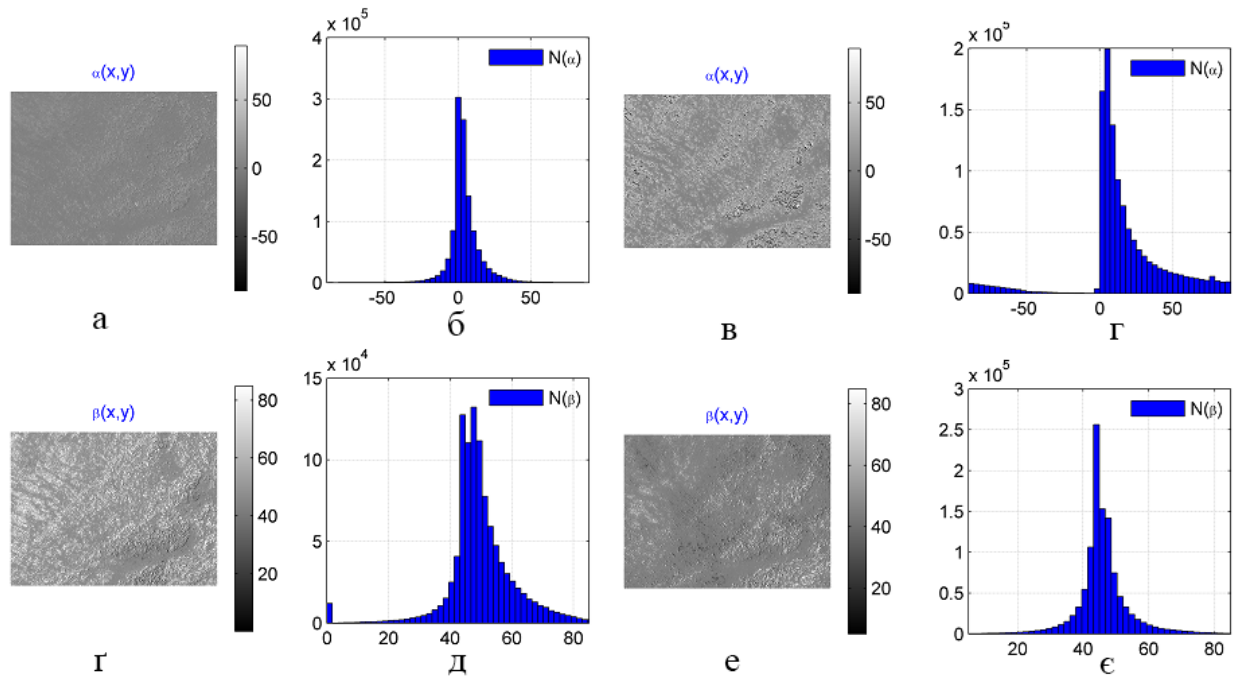


Рис. 3.10. Азимутальна залежність поляризаційної структурності мікроскопічних зображень зрізу міокарда: а – поляризаційні мапи азимутів  $\alpha(p \times k)$ , одержані для азимутів поляризації опромінюючого лазерного пучка  $\alpha_0 = 0^0$ ; б – гістограми розподілів  $N(\alpha)$ , одержані для азимутів поляризації опромінюючого лазерного пучка  $\alpha_0 = 0^0$ ; в – поляризаційні мапи азимутів  $\alpha(p \times k)$ , одержані для азимутів поляризації опромінюючого лазерного пучка  $\alpha_0 = 45^0$ ; г – гістограми розподілів  $N(\alpha)$ , одержані для азимутів поляризації опромінюючого лазерного пучка  $\alpha_0 = 45^0$ ; г – еліптичності  $\beta(p \times k)$  одержані для азимутів поляризації опромінюючого лазерного пучка  $\alpha_0 = 0^0$ ; д – гістограми розподілів  $N(\beta)$  одержані для азимутів поляризації опромінюючого лазерного пучка  $\alpha_0 = 0^0$ ; е – еліптичності  $\beta(p \times k)$ , одержані для азимутів поляризації опромінюючого лазерного пучка  $\alpha_0 = 45^0$ ; є – гістограми розподілів  $N(\beta)$ , одержані для азимутів поляризації опромінюючого лазерного пучка  $\alpha_0 = 45^0$ .



Аналіз топографічної  $\alpha(p \times k)$ ,  $\beta(p \times k)$  (рис. 3.10, а, в, г, е) та статистичної (рис. 3.10, б, г, д, е)  $N(\alpha)$ ,  $N(\beta)$  структури різних ( $\alpha_0 = 0^\circ$ ,  $\alpha_0 = 45^\circ$ ) мікроскопічних зображень гістологічного зрізу міокарда підтвердив наявність їх індивідуальної, поляризаційно-неоднорідної побудови - положення екстремуму, півширина, асиметрія та гострота піку) залежностей  $N(\alpha)$ ,  $N(\beta)$ , що є індивідуальними для різних поляризаційних умов опромінювання.

Тому і виникають суттєві відмінності між значеннями статистичних моментів 1-4-го порядків  $M_{i=1,2,3,4}(\alpha_0, \Theta)$ , які характеризують поляризаційні  $\alpha(p \times k)$ ,  $\beta(p \times k)$  розподіли.

При аналізі літературних даних, щодо формування поляризаційної структури мікроскопічних зображень оптично-анізотропних мереж різної конфігурації було виявлено азимутальну стійкість поляризаційних мап азимута і еліптичності за умови опромінення циркулярно поляризованим пучком [324, 326].

Іншими словами,  $\{\alpha_{\otimes}(p \times k)\}(\Theta) = const$  та  $\{\beta_{\otimes}(p \times k)\}(\Theta) = const$ .

### **3.3. Диференціальна діагностика зрізів міокарда шляхом азимутально-інваріантного поляризаційного картографування мікроскопічних зображень.**

У даній частині роботи наведено результати азимутально-стабільного ( $\{\alpha_{\otimes}(p \times k)\}(\Theta) = const$  та  $\{\beta_{\otimes}(p \times k)\}(\Theta) = const$ ) поляризаційного картографування мікроскопічних зображень зрізів міокарда різних груп:

- контрольна група – інтактний міокард (поляризаційні параметри зразків даного типу наведені у розділі 2);
- Досліджувана група – ГКН;
- Порівняльна група – XIXС.

На рис. 3.11 і рис. 3.12 наведено поляризаційні мапи азимута  $\alpha(p \times k)$ , еліптичності  $\beta(p \times k)$ ; гістограми  $N(\alpha)$ ,  $N(\beta)$  розподілів поляризаційних параметрів мікроскопічних зображень зрізів міокарда групи ГКН (рис. 3.11) та XIXС (рис. 3.12), а також відповідні автокореляційні  $K(\alpha)$ ,  $K(\beta)$  і  $\log L(\alpha) - \log(1/d)$ ,  $\log L(\beta) - \log(1/d)$  залежності.

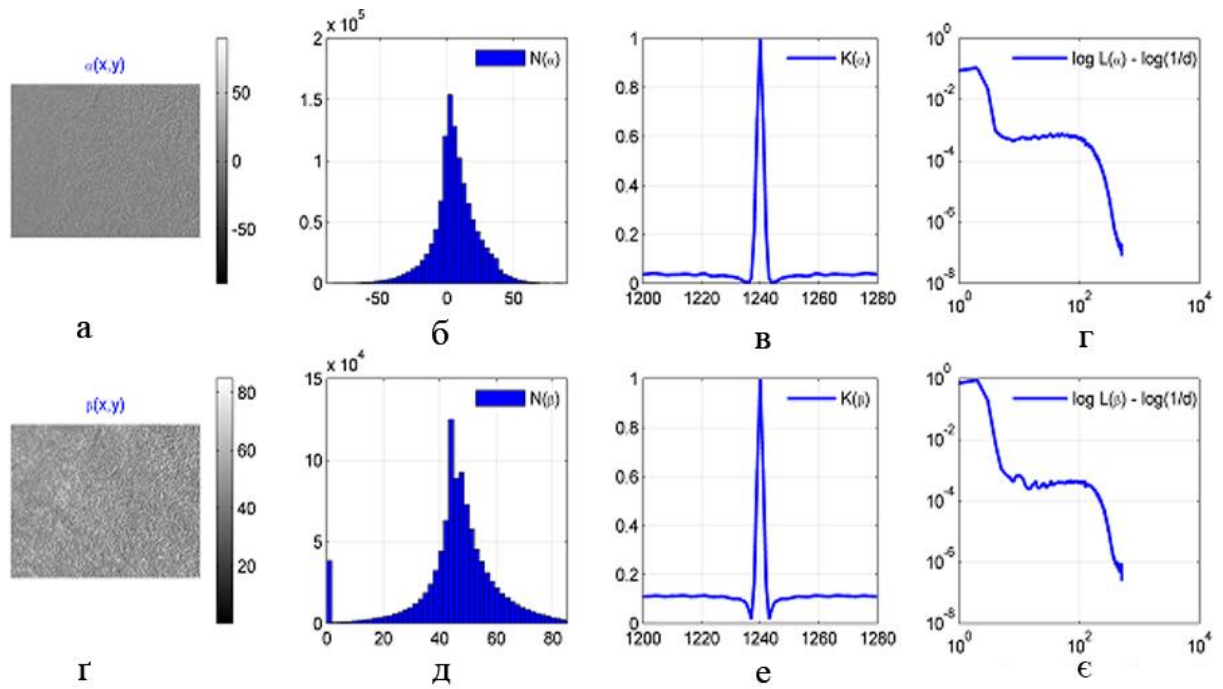


Рис. 3.11. Спектри потужності розподілів станів поляризації мікроскопічних зображень зрізів міокарда померлих від ГКН: а - поляризаційна мапа  $\alpha(p \times k)$ ; б - гістограма розподілу  $N(\alpha)$ , в - автокореляційна функція  $K(\alpha)$ ; г - логарифмічна залежність спектрів потужності  $\log L(\alpha) - \log(1/d)$ ; г - поляризаційна мапа  $\beta(p \times k)$ ; д - гістограма розподілу  $N(\beta)$ ; е - автокореляційна функція  $K(\beta)$ ; є - логарифмічна залежність спектрів потужності  $\log L(\beta) - \log(1/d)$ .

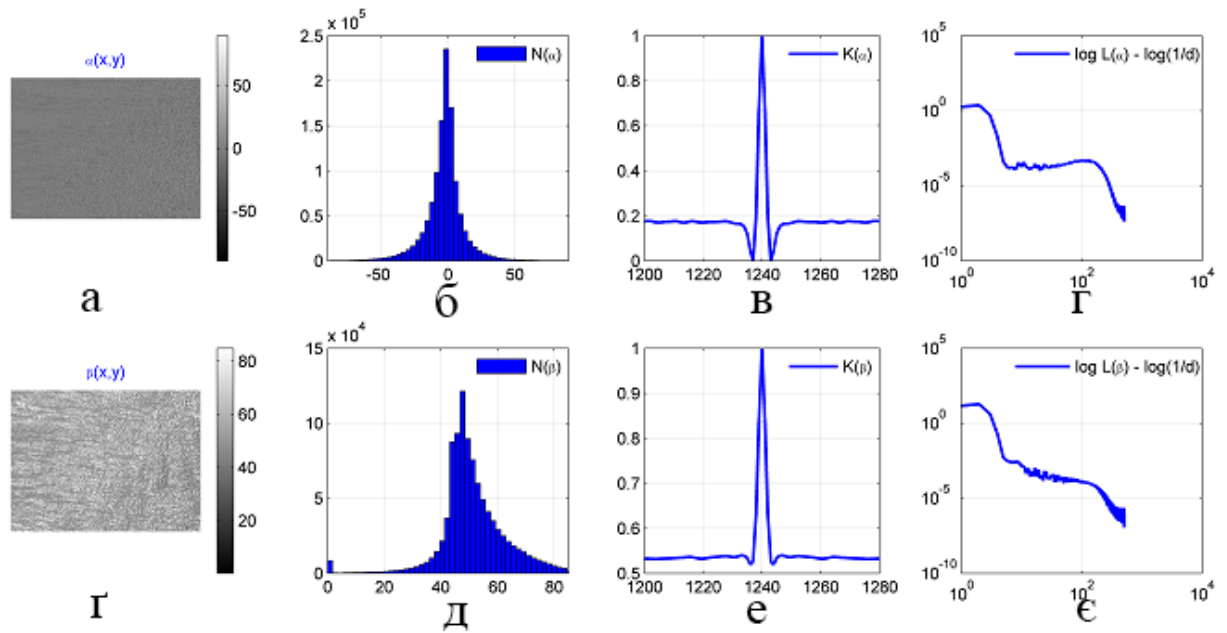


Рис. 3.12. Спектри потужності розподілів станів поляризації мікроскопічних зображень зрізів міокарда померлих з XIXC: а - поляризаційна мапа  $\alpha(p \times k)$ ; б - гістограма розподілу  $N(\alpha)$ , в - автокореляційна функція  $K(\alpha)$ ; г - логарифмічна залежність спектрів потужності  $\log L(\alpha) - \log(1/d)$ ; г - поляризаційна мапа  $\beta(p \times k)$ ; д - гістограма розподілу  $N(\beta)$ ; е - автокореляційна функція  $K(\beta)$ ; є - логарифмічна залежність спектрів потужності  $\log L(\beta) - \log(1/d)$ .

Результати обчислення сукупності об'єктивних параметрів  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \left( \begin{matrix} \alpha \\ \beta \end{matrix} \right) \right]$  методу азимутально-інваріантної поляризаційної мікроскопії зрізів міокарда двох груп померлих від ГКН та XIXC.

Для визначення статистичної достовірності зазначених репрезентативних вибірок зрізів методом визначалось середньоквадратичне відхилення  $\sigma^2$  вимірених значень  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \left( \begin{matrix} \alpha \\ \beta \end{matrix} \right) \right]$  методом перехресної перевірки [200].

Статистичне опрацювання отриманих результатів встановило рівень, який забезпечує статистичну достовірність методу азимутально-незалежного картографування у межах репрезентативної вибірки. Отримане відхилення відповідає значенню довірчого інтервалу  $p < 0,05$ .

Діагностика ГКН та диференціація з ХІХС зразків міокарда для кожної поляризаційної мапи здійснювалась шляхом перехресного порівняння гістограм  $N(r)$ .

Середнє ( $\bar{r}$ ) і стандартне відхилення ( $\pm \sigma$ ) параметрів  $r$  поляризаційних мап  $\alpha(p \times k)$  мікроскопічних зображень зразків міокарда з ГКН, ХІХС та у нормі наведені в таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

**Середнє ( $\bar{r}$ ) і стандартне відхилення ( $\pm \sigma$ ) параметрів  $r$  поляризаційних мап  $\alpha(p \times k)$  мікроскопічних зображень зразків міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль (n=20)	ХІХС (n=69)	ГКН (n=69)
Середнє, $M_1$	0,16±0,012	0,09±0,008	0,12±0,011
$p_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $M_2$	0,34±0,021	0,21±0,016	0,27±0,017
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	
Асиметрія, $M_3$	0,61±0,052	0,39±0,028	0,48±0,045
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Ексцес, $M_4$	0,13±0,011	0,27±0,023	0,19±0,014
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Дисперія, $M^{K_2}$	0,07±0,004	0,13±0,011	0,11±0,01
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	
Ексцес, $M^{K_4}$	2,02±0,15	1,23±0,12	1,68±0,15

$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	

Розрахунки вказують, що найбільш інформативними для діагностики ГКН є такі статистичні моменти поляризаційних мап  $\alpha(p \times k)$  як асиметрія  $M_3$ , ексцес  $M_4$  та ексцес,  $M^k_4$ .

Середнє ( $\bar{r}$ ) і стандартне відхилення ( $\pm \sigma$ ) параметрів  $r$  поляризаційних мап  $\beta(p \times k)$  мікроскопічних зображень зразків міокарда з ГКН, ХІХС та у нормі наведені в таблиці 3.8.

Таблиця 3.8

**Середнє ( $\bar{r}$ ) і стандартне відхилення ( $\pm \sigma$ ) параметрів  $r$  поляризаційних мап  $\beta(p \times k)$  мікроскопічних зображень зрізів міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
Середнє, $M_1$	0,53±0,042	0,61±0,054	0,63±0,059
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $M_2$	0,24±0,017	0,16±0,013	0,19±0,016
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	
Асиметрія, $M_3$	0,59±0,044	0,79±0,063	0,62±0,059
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Ексцес, $M_4$	0,27±0,017	0,47±0,041	0,35±0,029
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Дисперія, $M^k_2$	0,17±0,014	0,11±0,009	0,09±0,008
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	
Ексцес, $M^k_4$	1,02±0,094	1,61±0,13	1,27±0,11
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	

Розрахунки вказують, що найбільш інформативними статистичними моментами параметрів  $r$  поляризаційних мап  $\beta(p \times k)$  для діагностики ГКН є такі ж, як і для поляризаційних мап  $\alpha(p \times k)$ , а саме асиметрія  $M_3$ , ексцес  $M_4$  та ексцес,  $M^K_4$ .

Для поляризаційних мап мікроскопічних зображень зрізів міокарда з ГКН та із XIXC установлені наступні відмінності між найбільш чутливими параметрами:

$$\begin{aligned} & \bullet \alpha(p \times k) \begin{cases} \Delta M_1(\alpha) = \Delta M_3(\alpha) = 1,23; \Delta M_4(\alpha) = 1,42; \\ \Delta M^K_4(\alpha) = 1,37. \end{cases} \\ & \bullet \beta(p \times k) \begin{cases} \Delta M_3(\beta) = 1,27; \Delta M_4(\beta) = 1,34; \\ \Delta M^K_4(\beta) = 1,27. \end{cases} \end{aligned}$$

Результати аналізу інформативності (розділ 2, параграф 2.2.2.4.2., співвідношення (2.16)-(2.18)) ілюструють величини операційних характеристик, які описують діагностичну силу поляризаційної мікроскопії, наведені в таблиці 3.9 і таблиці 3.10.

Таблиця 3.9

**Операційні характеристики багатомірної поляризаційної мікроскопії  
розподілів азимута зображень зрізів міокарда**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_1$	67 $a = 46, b = 23$	64 $c = 44, d = 25$	54 $a = 37, b = 32$	52 $c = 36, d = 33$
$M_2$	70 $a = 48, b = 21$	67 $c = 46, d = 23$	57 $a = 39, b = 30$	54 $c = 37, d = 32$
$M_3$	78 $a = 54, b = 15$	75 $c = 52, d = 17$	62 $a = 43, b = 26$	59 $c = 41, d = 28$
$M_4$	79 $a = 56, b = 13$	79 $c = 55, d = 14$	71 $a = 49, b = 20$	64 $c = 44, d = 25$
$K_2$	66 $a = 45, b = 24$	67 $c = 46, d = 23$	58 $a = 40, b = 29$	54 $c = 37, d = 32$

$K_4$	80 $a = 57, b = 12$	79 $c = 56, d = 13$	75 $a = 52, b = 17$	62 $c = 43, d = 26$
-------	------------------------	------------------------	------------------------	------------------------

Аналіз операційних характеристик методу поляризаційної мікроскопії, що визначають її діагностичну інформативність, виявив задовільний рівень таких об'єктивних параметрів як статистичні моменти 1 – 4-го порядків, а також кореляційні моменти 2-го та 4-го порядку  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \left( \begin{matrix} \alpha \\ \beta \end{matrix} \right) \right]$ , які характеризують розподіли азимута поляризації мікроскопічних зображень у завданні посмертної діагностики ГКН.

Таблиця 3.10

**Операційні характеристики багатомірної поляризаційної мікроскопії  
розподілів еліптичності зображень зрізів міокарда**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_1$	70 $a = 48, b = 21$	66 $c = 45, d = 24$	52 $a = 36, b = 33$	51 $c = 35, d = 34$
$M_2$	72 $a = 50, b = 19$	70 $c = 48, d = 21$	53 $a = 37, b = 32$	51 $c = 35, d = 34$
$M_3$	83 $a = 57, b = 12$	80 $c = 54, d = 15$	58 $a = 40, b = 29$	55 $c = 38, d = 31$
$M_4$	86 $a = 59, b = 10$	82 $c = 56, d = 13$	71 $a = 49, b = 23$	62 $c = 43, d = 26$
$K_2$	66 $a = 45, b = 24$	67 $c = 46, d = 23$	58 $a = 40, b = 29$	53 $c = 37, d = 32$
$K_4$	86 $a = 59, b = 10$	82 $c = 56, d = 13$	72 $a = 50, b = 19$	59 $c = 41, d = 28$

Аналіз операційних характеристик методу поляризаційної мікроскопії, що визначають її діагностичну інформативність у завданні посмертної діагностики ГКН, виявив хороший рівень таких об'єктивних параметрів як статистичні моменти 3-го та 4-го порядків, а також кореляційні моменти 4-го порядку  $r \equiv \left[ M_{i=3;4}; K_{i=4} \begin{pmatrix} \alpha \\ \beta \end{pmatrix} \right]$ , які характеризують розподіли еліптичності поляризації мікроскопічних зображень.

Найбільш інформативними у диференціації ГКН та ХІХС виявилися статистичні моменти 3-го і 4-го порядків, а також кореляційні моменти 4-го порядку  $q \equiv \left[ M_{i=3;4}; K_{i=4} \begin{pmatrix} \alpha \\ \beta \end{pmatrix} \right]$ :

$$\alpha \Leftrightarrow \begin{cases} Se(\alpha) = 71\% - 75\% \\ Sp(\alpha) = 62\% - 64\% \\ Ac(\alpha) = 67,5\% - 68,5\% \end{cases} ; \beta \Leftrightarrow \begin{cases} Se(\beta) = 71\% - 72\% \\ Sp(\beta) = 59\% - 62\% \\ Ac(\beta) = 65,5\% - 66,5\% \end{cases} .$$

Одержані результати (таблиці 3.9, 3.10) дозволяють стверджувати про достатньо високий рівень збалансованої точності, що з позицій доказової медицини відповідає задовільній якості діагностичного тесту -  $Ac(\beta) = 66,5\%$  і  $Ac(\alpha) = 68,5\%$ .

Таким чином представлений метод посмертної діагностики міокарда на основі азимутально-інваріантного поляризаційного картографування мікроскопічних зображень має адекватне аналітичне обґрунтування та добру відтворюваність.

#### **3.4. Посмертна діагностика ГКН міокарда з використанням вейвлет-аналізу азимутально-інваріантних поляризаційних мап мікроскопічних зображень.**

У даному параграфі наведено результати досліджень випадків ГКН та ХІХС шляхом використання вейвлет-аналізу координатних розподілів азимутів і еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зрізів міокарда з метою підвищення збалансованої точності діагностичного методу.



Як вже було зазначено (розділ 2, параграф 2.2.2.3.2.4.) вейвлет-аналіз дозволяє роздільно оцінювати прояви оптичних властивостей дрібномасштабних поліпептидних ланцюгів оптично активних молекул міозину (поляризаційні мапи азимута) та великомасштабних фібрилярних мереж (поляризаційні мапи еліптичності) зрізів міокарда [268, 327].

ГКН, як прояв гострої ішемії, характеризується масивними зрушеннями у перебігу біохімічних процесів в клітині. Насамперед відбувається перехід на аеробний механізм гліколізу з накопиченням відновлювальних еквівалентів та одномоментне гальмування енергозалежних процесів – функціонування актино-міозинового комплексу та іонних pomp у поєднанні з запуском перекисного окислення ліпідів. Дані зміни зумовлюють утворення актиноміозинових мостиків, що лежать в основі контрактурних пошкоджень скоротливого апарату [39].

Виходячи з цього, можна припустити, що найбільші відмінності між нормальним міокардом та міокардом у випадку ГКН слід шукати на дрібних масштабах зміни структури поліпептидних ланцюгів білків міокарда.

Навпаки, основні оптичні прояви ХІХС припадають на трансформацію великомасштабних фібрилярних міозинових мереж. Тому, масштабно-селективний підхід до аналізу поляризаційних мап мікроскопічних зображень зрізів обох груп дозволить підняти точність посмертної діагностики ГКН.

Результати досліджень розподілів вейвлет-коефіцієнтів, які характеризують прояви оптичних властивостей анізотропних мереж міокарда на різних масштабах поляризаційних мап мікроскопічних зображень

$r = \left\{ \begin{array}{l} W[\alpha(x, y)] \\ W[\beta(x, y)] \end{array} \right\}$  зрізів міокарда при ГКН та ХІХС, наведені серії рис. 3.13 –

3.16.

Рисунки 3.13 – 3.16. містять три основні фрагменти:

- поляризаційні мапи  $\{\alpha(x, y); \beta(x, y)\}$  мікроскопічних зображень зразків міокарда, померлих внаслідок ГКН та ХІХС;
- двомірні розподіли вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}\{\alpha(x, y); \beta(x, y)\}$ , які характеризують структуру поляризаційних мап сформовану різномасштабними морфологічними складовими фібрилярних мереж;
- лінійні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  вейвлет-мапи  $W_{a,b}$  на масштабах вейвлет-функції  $a=15$  та  $a=55$ , що забезпечує роздільне оцінювання змін оптичної анізотропії на рівні окремих поліпептидних ланцюгів ( $a=15$ ) та рівні їх організації у фібрили ( $a=55$ ).

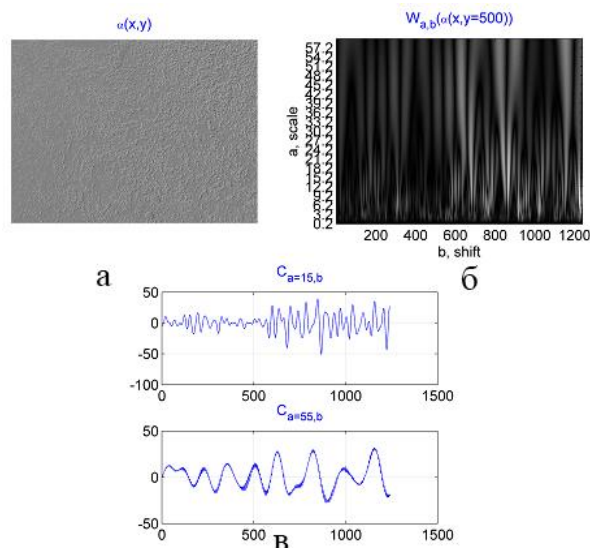


Рис. 3.13. Розподіл вейвлет-коефіцієнтів поляризаційної мапи азимута поляризації мікроскопічного зображення зрізу міокарда при ГКН: а – двомірний розподіл азимута поляризації; б – двомірний розподіл вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}(\alpha)$ ; в - перерізи вейвлет-коефіцієнтів на масштабах  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$ .

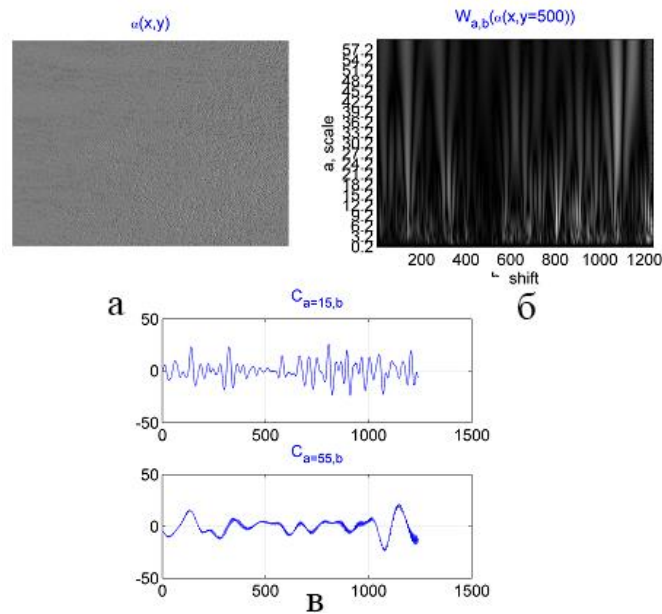


Рис. 3.14. Розподіл вейвлет-коефіцієнтів поляризаційної мапи азимута поляризації мікроскопічного зображення зрізу міокарда при XIXС: а – двомірний розподіл азимута поляризації; б – двомірний розподіл вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}(\alpha)$ ; в - перерізи вейвлет-коефіцієнтів на масштабах  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$ .

Порівняльний аналіз результатів дослідження азимута поляризації координатних, мультимасштабних розподілів вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}(\alpha)$  і  $W_{a,b}(\beta)$ , які характеризують поляризаційно-неоднорідні мікроскопічні зображення зразків тканини міокарда померлих внаслідок ГКН та XIXС, виявив найбільші відмінності між ними на рівні малих масштабів  $a_{\min}$  розподілів вейвлет-коефіцієнтів, на що вказує модуляція “дрібномасштабних” залежностей  $C_{a=15,b}$  таких вейвлет-мап. Найбільш виразно встановлені зміни виявлялися для поляризаційної мапи азимута зображень нативних зрізів міокарда (рис. 3.12 і рис. 3.13).

Встановлені особливості можна пов'язати з тим, що ішемічні зміни полікристалічних фібрилярних мереж міокарда відбуваються не на морфологічному (великомасштабному), а на концентраційному (дрібномасштабному) рівнях його морфологічної будови. За рахунок зміни концентрації оптично активних молекул міозину внаслідок виникнення

ішемічних змін, які обумовлені ГКН, зменшується рівень оптичної активності, що виявляється у формуванні поворотів площини поляризації точок відповідного мікроскопічного зображення нативного зрізу. Відповідно до цього, зменшується і глибина модуляції амплітуд вейвлет-коефіцієнтів на малих  $a_{\min}$  масштабах азимутально-інваріантної мапи азимутів поляризації  $\alpha(x, y)$ .

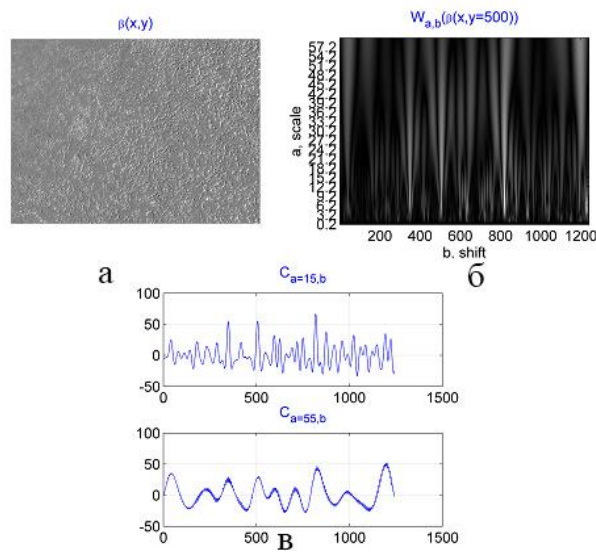


Рис. 3.15. Розподіл вейвлет-коефіцієнтів поляризаційної мапи еліптичності поляризації мікроскопічного зображення зрізу міокарда при ГКН: а – двомірний розподіл азимута поляризації; б – двомірний розподіл вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}(\beta)$ ; в - перерізи вейвлет-коефіцієнтів на масштабах  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a55,b}$ .

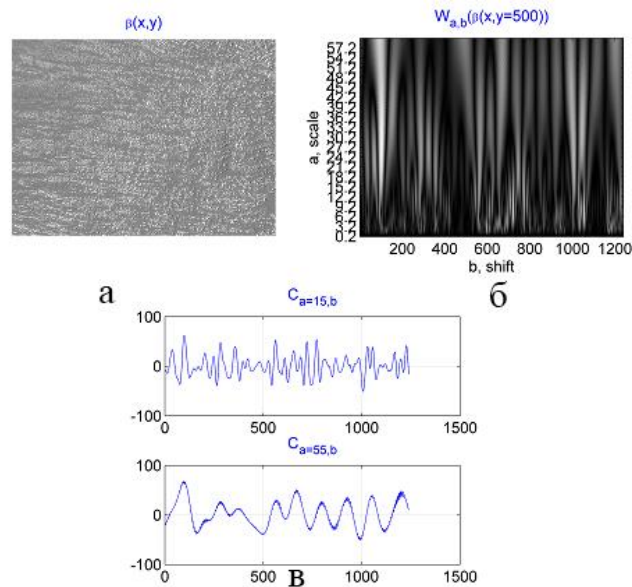


Рис. 3.16. Розподіл вейвлет-коефіцієнтів поляризаційної мапи еліптичності поляризації мікроскопічного зображення зрізу міокарда при XIXC: а – двомірний розподіл азимута поляризації; б – двомірний розподіл вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}(\beta)$ ; в - перерізи вейвлет-коефіцієнтів на масштабах  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$ .

Порівняльний аналіз результатів дослідження еліптичності поляризації координатних, мультимасштабних розподілів вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}(\alpha)$  і  $W_{a,b}(\beta)$  (рис. 3.15, рис. 3.16.), які характеризують поляризаційно-неоднорідні мікроскопічні зображення зразків тканини міокарда померлих внаслідок ГКН та XIXC, виявив найбільші відмінності між ними на рівні великих масштабів  $a_{\max}$  розподілів вейвлет-коефіцієнтів, на що вказує модуляція “великомасштабних” залежностей  $C_{a=55,b}$  таких вейвлет-мап.

Шляхом проведення статистичного аналізу, встановлено що кількісно зменшення глибини модуляції амплітуд вейвлет-коефіцієнтів на малих  $a_{\min}$  масштабах азимутально-інваріантної мапи азимутів поляризації  $\alpha(x,y)$  виявляється у зменшенні дисперсії  $M_{i=2}(C_{a=15,b}(\alpha)) \downarrow$  та відповідному зростанні значень статистичних моментів вищих порядків  $M_{i=3,4}(C_{a=15,b}(\alpha)) \uparrow$ , які характеризують розподіли вейвлет-коефіцієнтів (табл. 3.11.) Зокрема на

масштабі  $a_{\min} = 15$  найбільш чутливим до верифікації ГКН були статистичні моменти  $M_2$ ,  $M_3$ ,  $M_4$ , а на масштабі  $a_{\max} = 55$   $M_3$ ,  $M_4$ .

Таблиця 3.11

**Статистичні моменти 1 – 4-го порядків, які характеризують розподіли  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  вейвлет-коефіцієнтів мапи азимутів поляризації мікроскопічних зображень зрізів міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
$a_{\min} = 15$			
Середнє, $M_1$	0,009±0,001	0,013±0,0011	0,015±0,0012
$p_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $M_2$	0,094±0,01	0,18±0,014	0,13±0,011
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Асиметрія, $M_3$	0,16±0,012	0,38±0,026	0,25±0,022
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Екссес, $M_4$	1,13±0,11	0,67±0,049	0,89±0,091
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
$a_{\max} = 55$			
Середнє, $M_1$	0,05±0,002	0,06±0,004	0,07±0,006
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $M_2$	0,28±0,023	0,23±0,021	0,25±0,022
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Асиметрія, $M_3$	0,31±0,025	0,19±0,018	0,24±0,018
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Екссес, $M_4$	1,08±0,097	0,72±0,068	0,86±0,071
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	

На основі отриманих даних, визначені кількісні параметри відмінності між статистичними моментами, які характеризують розподіли вейвлет-коефіцієнтів на різних масштабах поляризаційної мапи азимута мікроскопічних зображень для статистично достовірної диференціації зразків міокарда померлих внаслідок ГКН та ХІХС:

$$\alpha(p \times k) \Rightarrow \begin{cases} a_{\min} \rightarrow \Delta M_2 = 1,38; \Delta M_3 = 1,52; \Delta M_4 = 1,33; \\ a_{\max} \rightarrow \Delta M_3 = 1,26; \Delta M_4 = 1,19. \end{cases}$$

З іншого боку, вейвлет-аналіз поляризаційних мап еліптичності точок цифрових мікроскопічних зображень зрізів міокарда як при ГКН так і при ХІХС виявився більш чутливим до ішемічних змін міокарда на великих масштабах фібрилярної мережі (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

**Статистичні моменти 1 – 4-го порядків, які характеризують розподіли  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  вейвлет-коефіцієнтів мапи еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зрізів міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
$a_{\min} = 15$			
Середнє, $M_1$	$0,027 \pm 0,0021$	$0,031 \pm 0,024$	$0,029 \pm 0,0022$
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $M_2$	$0,1 \pm 0,009$	$0,13 \pm 0,011$	$0,11 \pm 0,008$
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Асиметрія, $M_3$	$0,44 \pm 0,039$	$0,53 \pm 0,042$	$0,45 \pm 0,041$
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Екссес, $M_4$	$0,83 \pm 0,071$	$0,75 \pm 0,068$	$0,79 \pm 0,064$
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
$a_{\max} = 55$			

Середнє, $M_1$	$0,14 \pm 0,009$	$0,11 \pm 0,007$	$0,12 \pm 0,008$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Дисперсія, $M_2$	$0,29 \pm 0,024$	$0,25 \pm 0,021$	$0,28 \pm 0,023$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Асиметрія, $M_3$	$0,81 \pm 0,075$	$0,49 \pm 0,038$	$0,63 \pm 0,058$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	
Експес, $M_4$	$1,36 \pm 0,11$	$0,91 \pm 0,082$	$1,18 \pm 0,11$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	

Аналіз даних, наведених в таблиці, демонструє що чутливими до ішемічних змін на великомасштабному рівні будови міокарда були статистичні моменти вищих порядків, які характеризують розподіли вейвлет-коефіцієнтів на великому масштабі  $a_{\max} = 55$  поляризаційної мапи еліптичності точок мікроскопічних зображень, а саме  $M_3$  та  $M_4$ .

Визначені кількісні параметри відмінності між вказаними об'єктивними параметрами для статистично достовірної верифікації зразків міокарда померлих внаслідок ГКН:

$$\alpha(p \times k) \Rightarrow \{a_{\max} \rightarrow \Delta M_3 = 1,29; \Delta M_4 = 1,31.$$

Результати аналізу інформативності методу (розділ 2, параграф 2.2.2.4.2., співвідношення (2.16)-(2.18)) ілюструють величини операційних характеристик, які характеризують діагностичну силу посмертної діагностики міокарда шляхом вейвлет-аналізу поляризаційних мап азимута та еліптичності мікроскопічних зображень нативних зрізів міокарда померлих внаслідок ГКН та ХІХС на малому ( $a_{\min} = 15$ ), - таблиця 3.13 і таблиця 3.14 та великому ( $a_{\max} = 55$ ), - таблиця 3.15 і таблиця 3.16 - масштабах.



Таблиця 3.13

**Операційні характеристики вейвлет-аналізу розподілів азимута  
зображень зрізів міокарда на масштабі  $a_{\min} = 15$**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_1$	70 $a = 48, b = 21$	67 $c = 46, d = 23$	54 $a = 37, b = 32$	52 $c = 36, d = 33$
$M_2$	74 $a = 51, b = 18$	70 $c = 48, d = 21$	59 $a = 41, b = 28$	55 $c = 38, d = 31$
$M_3$	78 $a = 54, b = 15$	74 $a = 51, b = 18$	64 $a = 41, b = 28$	59 $c = 38, d = 31$
$M_4$	88 $a = 61, b = 8$	78 $a = 54, b = 15$	77 $a = 53, b = 16$	68 $c = 47, d = 22$

Таблиця 3.14

**Операційні характеристики вейвлет-аналізу розподілів еліптичності  
зображень зрізів міокарда на масштабі  $a_{\min} = 15$**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_1$	57 $a = 39, b = 30$	56 $c = 38, d = 31$	54 $a = 37, b = 32$	52 $c = 36, d = 33$
$M_2$	60 $a = 41, b = 28$	51 $c = 40, d = 29$	57 $a = 39, b = 30$	51 $c = 35, d = 34$
$M_3$	65 $a = 45, b = 24$	63 $c = 44, d = 25$	62 $a = 43, b = 26$	58 $c = 40, d = 29$
$M_4$	76 $a = 52, b = 17$	74 $c = 50, d = 19$	71 $a = 49, b = 20$	65 $c = 45, d = 24$

Таблиця 3.15

**Операційні характеристики вейвлет-аналізу розподілів азимута  
зображень зрізів міокарда на масштабі  $a_{\max} = 55$**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
-----	----------------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------

$M_1$	62 $a = 43, b = 26$	61 $c = 42, d = 27$	57 $a = 39, b = 30$	57 $c = 39, d = 30$
$M_2$	67 $a = 46, b = 23$	65 $c = 45, d = 24$	62 $a = 43, b = 26$	57 $c = 39, d = 30$
$M_3$	77 $a = 54, b = 15$	75 $c = 52, d = 17$	67 $a = 46, b = 23$	65 $c = 45, d = 24$
$M_4$	83 $a = 57, b = 12$	81 $c = 55, d = 14$	75 $a = 52, b = 17$	71 $c = 49, d = 20$

Таблиця 3.16

**Операційні характеристики вейвлет-аналізу розподілів еліптичності  
зображень зрізів міокарда на масштабі  $a_{\max} = 55$**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_1$	57 $a = 39, b = 30$	56 $c = 38, d = 31$	54 $a = 37, b = 32$	52 $c = 36, d = 33$
$M_2$	60 $a = 41, b = 28$	51 $c = 40, d = 29$	57 $a = 39, b = 30$	51 $c = 35, d = 34$
$M_3$	77 $a = 53, b = 16$	72 $c = 50, d = 21$	62 $a = 43, b = 26$	58 $c = 40, d = 29$
$M_4$	83 $a = 57, b = 12$	78 $c = 54, d = 15$	71 $a = 49, b = 20$	65 $c = 45, d = 24$

Аналіз операційних характеристик масштабно-селективного методу вейвлет-аналізу даних поляризаційної мікроскопії, що визначають її діагностичну інформативність, виявив зростання (у порівнянні з безпосереднім аналізом поляризаційних мап) збалансованої точності посмертної діагностики міокарда.

На великих масштабах ( $a_{\max} = 55$ ) оцінювання проявів оптичної анізотропії фібрилярних мереж найбільш інформативним виявився статистичний момент 3-го порядку, що характеризує асиметрію розподілу

вейвлет-коефіцієнтів мапи еліптичності поляризації мікроскопічних

$$\text{зображень зрізів міокарда при ГКН та XIXC } \beta \Leftrightarrow \begin{cases} Se(\beta) = 62\% - 78\% \\ Sp(\beta) = 57\% - 67\% \\ Ac(\beta) = 59,5\% - 72,5\% \end{cases} .$$

На малих масштабах ( $a_{\min} = 15$ ) оцінювання проявів оптичної активності первинної структури білків міозину найбільш інформативними виявилися статистичні моменти 3-го порядку і 4-го порядків, які характеризують розподіли вейвлет-коефіцієнтів мап азимута поляризації мікроскопічних зображень нативних зрізів міокарда померлих внаслідок ГКН та XIXC

$$\alpha \Leftrightarrow \begin{cases} Se(\alpha) = 64\% - 77\% \\ Sp(\alpha) = 59\% - 68\% \\ Ac(\alpha) = 61,5\% - 72,5\% \end{cases}$$

Одержані результати по визначенню операційних характеристик методу поляризаційної мікроскопії з масштабно-селективним аналізом (таблиці 3.15, 3.16) виявили зростання збалансованої точності до рівня хорошої якості діагностичного тесту -  $Ac(\beta) = 72,5\%$  і  $Ac(\alpha) = 72,5\%$  .

Таким чином представлений метод посмертної діагностики міокарда на основі азимутально-інваріантного поляризаційного картографування мікроскопічних зображень має адекватне аналітичне обґрунтування та відповідну відтворюваність.

Паралельно з цим представлений метод вейвлет-аналізу розподілів станів поляризації мікроскопічних зображень зрізів міокарда розширює функціональні можливості азимутально-інваріантного поляризаційного картографування.

### 3.5. Висновки до розділу 3.

1. У рамках традиційної поляризаційної мікроскопії досліджено статистичну (статистичні моменти 1 – 4-го порядків), кореляційну (автокореляційні функції) і масштабно-самоподібну (логарифмічні

залежності спектрів потужності) структуру розподілів азимута та еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зрізів міокарда контрольної групи та при ГКН і ХІХС. Виявлено азимутальну залежність координатних розподілів станів поляризації, що обумовлює погану відтворюваність даних та низький рівень збалансованої точності посмертної діагностики ГІ міокарда.

2. Апробація методу азимутально-інваріантного поляризаційного картографування посмертних змін оптичної анізотропії зрізів міокарда обох груп забезпечила задовільний рівень збалансованої точності -  $A_c \sim 58,5\% - 62,5\%$  виявлення ГКН та диференціації з ХІХС.
3. Вперше розглянуто можливості застосування вейвлет-аналізу азимутально-незалежних поляризаційних мап  $r = \{\alpha(x, y); \beta(x, y)\}$  мікроскопічних зображень зрізів у посмертній діагностиці ГІ міокарда.
4. Вейвлет-аналіз поляризаційних мап мікроскопічних зображень оптичних проявів первинної та вторинної структури фібрилярної сітки міокарда виявив чутливість набору статистичних моментів 1 – 4-го порядків, які характеризують розподіли амплітуд вейвлет - коефіцієнтів на різних масштабах до посмертних змін міокарда. На цій основі вперше реалізована посмертна діагностика ГКН міокарда з хорошою збалансованою точністю  $A_c = 72,5\% - 73\%$ .

Результати, отримані у даному розділі, висвітлені у наступних публікаціях:

1. Бачинський В.Т. Діагностика гострої ішемії міокарда методами лазерної спектрофото-поляриметрії / В.Т. Бачинський, О.Я. Ванчуляк // Матеріали 95 підсумкової науково-практичної конференції професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету. – Чернівці, 2014. – С.6.
2. Ванчуляк О.Я. Вейвлет-аналіз мап азимутів поляризації лазерних зображень міокарда для діагностики гострої коронарної недостатності /

- О.Я. Ванчуляк // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т.15, №3 (59). – С.143-146.
3. Ванчуляк О.Я. Вейвлет-аналіз фрактальної структури мап еліптичності поляризації лазерних зображень міокарда для діагностики гострої коронарної недостатності / О.Я. Ванчуляк // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика. – Київ, 2012. – Випуск 21, Книга 3. – С. 470-476.
  4. Ванчуляк О.Я. Застосування вейвлет-аналізу фрактальної структури мап еліптичності поляризації лазерних зображень міокарда при діагностиці гострої коронарної недостатності / О.Я. Ванчуляк // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика. – К., 2014. – Випуск 23, Книга 4. – С. 68-74.
  5. Ванчуляк О.Я. Кореляційний аналіз поляризаційно-неоднорідних лазерних зображень двопротинезаломлюючих структур міокарда для діагностики гострої коронарної недостатності / О.Я. Ванчуляк // Судово-медична експертиза. – 2012. – № 6. – С. 30-33.
  6. Ванчуляк О.Я. Кореляційно-поляризаційні методи діагностики ішемічних процесів у судовій медицині / О.Я. Ванчуляк // Матеріали 94 підсумкової науково-практичної конференції професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету. – Чернівці, 2013. – С.11.
  7. Ванчуляк О.Я. Лазерні поляриметричні критерії гострої коронарної недостатності (метод статистичного аналізу) / О.Я. Ванчуляк, Ю.В. Любеля, Н.О. Максимчук // Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Медична наука та практика в умовах сучасних трансформаційних процесів». – Львів, 2013. – С.84-86.
  8. Ванчуляк О.Я. Можливості використання кореляційного фазового лазерного аналізу для діагностики структурних змін міокарда / О.Я. Ванчуляк // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2015. – Т.19, №2. – С.325-328.

9. Ванчуляк О.Я. Можливості використання фрактального аналізу фазових лазерних зображень міокарда для діагностики гострої коронарної недостатності / О.Я. Ванчуляк // Клінічна та експериментальна патологія – 2011. – Т.10, №2 (36,ч1). – С. 9-12.
10. Ванчуляк О.Я. Принципи доказової медицини для локального масштабно-селективного кореляційного аналізу розподілів еліптичності поляризації лазерних цифрових мікроскопічних зображень міокарда за умови гострої ішемії / О.Я. Ванчуляк // Буковинський медичний вісник. – 2013. – Т.17, №3 (67). – С.20-24.
11. Ванчуляк О.Я. Структура міокарда людини за умов гострої ішемії / О.Я. Ванчуляк, Ю.В. Любеля // Тези доповідей 80-ї ювілейної науково-практичної конференції студентів і молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Працюємо, творимо, презентуємо». – Івано-Франківськ, 2011. – С.75-76.
12. Ванчуляк О.Я. Структурні зміни міокарда людини за умов гострої ішемії використанням кореляційного фазового аналізу / О.Я. Ванчуляк // Український медичний альманах – 2013. – Т.16, №2. – С.111-113.
13. Вейвлет аналіз мап еліптичності поляризації лазерних зображень міокарда для діагностики гострої коронарної недостатності. Статистичний підхід / В.Т. Бачинський, О.Я. Ванчуляк, О.Г. Ушенко, Н.О. Максимчук // Судово-медична експертиза. – 2011. – № 4. – С. 10-14.
14. Вейвлет-аналіз мап еліптичності поляризації лазерних зображень міокарда для діагностики гострої коронарної недостатності. Статистичний підхід / О.Я. Ванчуляк, В.Т. Бачинський, О.Г. Ушенко, Н.О. Максимчук // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика. – 2011. – Випуск 20, Книга 3. – К. – С. 599-606.
15. Діагностика гострої коронарної недостатності із застосуванням статистичного фазового аналізу лазерних зображень міокарда / В.Т. Бачинський, О.Я. Ванчуляк, О.Г. Ушенко, Ю.В. Любеля // Збірник

- наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика. – Київ, 2012. – Випуск 20, Книга 2. – С. 157-163.
16. Діагностика гострої коронарної недостатності методом кореляційного аналізу лазерних поляризаційних зображень міокарда / В.Т. Бачинський, О.Я. Ванчуляк, О.І. Олар, О.В. Григорова // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т.15, №4 (60). – С.132-135.
17. Дослідження міокарда за умов гострої коронарної недостатності вейвлет-аналізом кореляційної структури мап азимутів поляризації лазерних зображень / В.Т. Бачинський, О.Я. Ванчуляк, О.І. Никля, А.Й. Заволович // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т.15, №2 (58). – С.148-152.
18. Использование фрактального анализа поляризационно-неоднородных лазерных изображений миокарда при диагностике острой коронарной недостаточности / В.Т. Бачинский, О.Я. Ванчуляк, М.С. Гараздюк, Ю.В. Саркисова // Научно-практический журнал «Судебная медицина». – Т. 1, № 2. – 2015. – С. 46-47.
19. Перспективи використання лазерних поляриметричних методів дослідження біотканин та середовищ організму / В.Т. Бачинський, О.Я. Ванчуляк, А-В. С. Сивокоровська [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини – 2015. – Т.15, № 3(51), Ч.2. – С.193-198.
20. Перспективи діагностики гострої коронарної недостатності шляхом використання фрактального аналізу лазерних поляризаційних зображень міокарда / А.С. Сивокоровська, О.Я. Ванчуляк, І.Л. Беженар [та ін.] // Буковинський медичний вісник. – 2014. – Т.18, №2 (70) – С. 245-248.
21. Поляризаційно-кореляційна методика оцінки ішемії міокарда в судовій медицині / В.Т. Бачинський, І.Г. Савка, О.Я. Ванчуляк, А.Й. Заволович // Науково-практичний журнал Судово-медична експертиза № 6/2012, матеріали всеукраїнської конференції «Актуальні питання судово-медичної науки, освіти і практики». – Алушта, 2012. – С. 53–55.

22. Статистичний аналіз поляризаційно-неоднорідних лазерних зображень міокарда для діагностики гострої коронарної недостатності / В.Т. Бачинський, О.Я. Ванчуляк, Ю.В. Любеля, Н.О. Максимчук // Мат. ХІЗ'їзду ВУЛТ : "100 років укр. лік. товариству" 28-30 вересня 2011р – К.:ВУЛТ. – 2011. – С. 311.
23. Latest prospective polarizational methods of research / V. Bachinskiy, O. Vanchuliak, Y. Sarkisova // Modern advances in forensic science and expertise. – Ужгород, 2015. – С. 32-33.



## Розділ 4

**ДІАГНОСТИКА ГОСТРОЇ КОРОНАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ  
МЕТОДОМ МЮЛЛЕР-МАТРИЧНОГО АНАЛІЗУ  
МІОЗИНОВИХ МЕРЕЖ МІОКАРДА**

Доповненням і розвитком лазерної поляриметрії розподілів азимутів і еліптичностей мікроскопічних зображень біологічних шарів (БШ) є сукупність методів поляризаційної нефелометрії [7]. Дані методи базуються на визначенні параметрів мікроскопічних зображень статистично усереднених за всією сукупністю оптичних неоднорідностей. Досягнення статистичного усереднення ґрунтується на визначенні елементів матриці розсіяння світла (матриці Мюллера) [234, 261], яка несе найбільш повну інформацію про поляризаційні властивості біологічних об'єктів.

Таким чином, вимірювання величин, які описують вектор поляризації (вектора Стокса) випромінювання, перетвореного БШ дає можливість отримати найповнішу (статистично усереднену для всіх неоднорідностей біологічного об'єкта) інформацію про поляризаційні властивості останнього [14-38].

Можна виділити три групи – елементів матриці Мюллера  $m_{ik}(p \times k)$  тканини міокарда [7, 212, 295, 308, 309]:

- координатні розподіли значень елементів матриці Мюллера  $m_{22,33}(p \times k)$ . Такі елементи характеризують ступінь перетворення азимуту поляризації лазерної хвилі міозиновими фібрилами, оптичні осі яких орієнтовані у двох взаємно перпендикулярних напрямках  $\gamma = 0^\circ \leftrightarrow 90^\circ$  ( $m_{22}(p \times k)$ ) і  $\gamma = 45^\circ \leftrightarrow 135^\circ$  ( $m_{33}(p \times k)$ ), відповідно;
- координатні розподіли матричного елементу  $m_{44}(p \times k)$ . Значення даного елементу визначається фазовими зсувами між ортогональними компонентами амплітуди лазерної хвилі, що виникають за рахунок явища двопроменезаломлення речовини міозинових фібрил [201, 293, 320];

- координатні розподіли недиагональних елементів матриці Мюллера  $m_{23;24;34}(p \times k)$ , які характеризують механізми взаємних перетворень фібрилярною мережею міокарда лінійної поляризації в еліптичну і, навпаки.

У даному розділі досліджено можливості діагностики настання смерті внаслідок ГКН шляхом визначення статистичних моментів 1 – 4-го порядків, які характеризують розподіли елементів матриці Мюллера зрізів тканини міокарда.

#### 4.1. Діагностичні можливості багатопараметричного аналізу розподілів “орієнтаційного” елемента матриці Мюллера тканини міокарда.

##### *Статистичний аналіз*

Результати експериментальних досліджень (розділ 2, параграф 2.2.2.3.3. рис. 2.16, співвідношення (2.6), (2.7)) координатної  $m_{22}(p \times k)$  і статистичної  $N(m_{22})$  структури “орієнтаційних” елементів  $m_{22}$  матриці Мюллера зрізів міокарда при ГКН та ХІХС, ілюструє рис. 4.1.

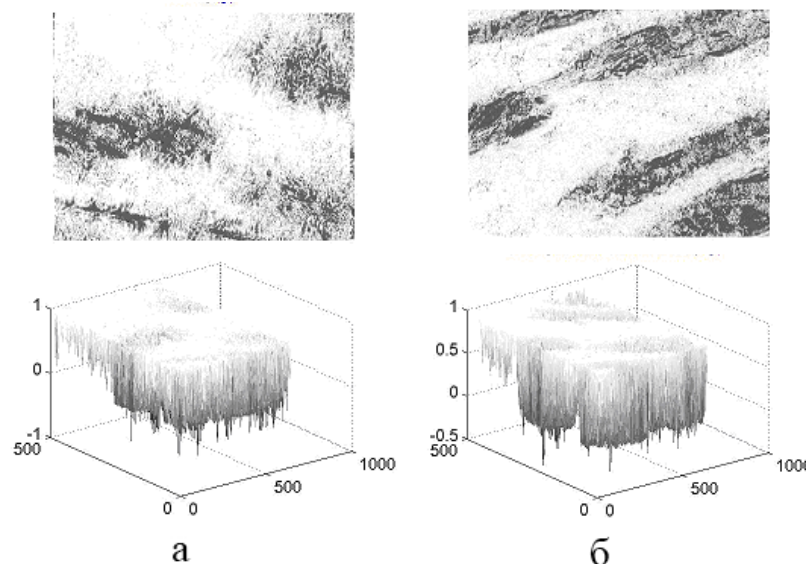


Рис. 4.1. Координатна та статистична структура “орієнтаційного” матричного елемента  $m_{22}(p \times k)$  міокарда обох груп: а – група ГКН; б - група ХІХС.

З одержаних даних видно, що використання координатної структури “орієнтаційного” елемента  $m_{22}$  матриці Мюллера міокарда для візуального

встановлення ГКН чи для диференціації з іншими станами (ХІХС) утруднено.

Розподіли  $m_{22}(p \times k)$ , що характеризують розподіли напрямів оптичних осей міозинових фібрил міокарда координатно-неоднорідні і володіють однаковим діапазоном зміни власних значень  $-1 \leq m_{22} \leq 1$ .

Кількісно структуру розподілів фазових елементів  $Z_{22}$ , визначених для двох груп зразків (ХІХС –  $n = 69$  і ГКН –  $n = 69$ ) міокарда, ілюструють величини і діапазони зміни значень (розділ 2, параграф 2.2.2.3.2.1., співвідношення (2.1) – (2.4)) статистичних моментів 1 – 4-го порядків  $M_{j=1;2;3;4}(m_{22})$  (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

**Статистичні моменти  $M_j(m_{22})$ , які характеризують координатні розподіли  $m_{22}(p \times k)$  тканини міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
Середнє, $M_1$	$0,89 \pm 0,072$	$0,72 \pm 0,058$	$0,86 \pm 0,067$
$p_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Дисперсія, $M_2$	$0,12 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,011$	$0,11 \pm 0,012$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Асиметрія, $M_3$	$0,29 \pm 0,023$	$0,24 \pm 0,019$	$0,28 \pm 0,026$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Ексцес, $M_4$	$0,58 \pm 0,047$	$0,51 \pm 0,046$	$0,67 \pm 0,057$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	

Порівняльний аналіз усереднених у межах обох груп величин і діапазонів зміни значень статистичних моментів 1 – 4-го порядків  $M_{j=1;2;3;4}(m_{22})$ , які характеризують координатні розподіли матричних

елементів, що описують орієнтаційну будову фібрилярних мереж міокарда у межах досліджуваних груп, не виявив об'єктивної (статистично достовірної) можливості верифікації ГКН, оскільки діапазони зміни значень середнього  $M_1(m_{22})$ , дисперсії  $M_2(m_{22})$ , асиметрії  $M_3(m_{22})$  та ексцесу  $M_4(m_{22})$  перекриваються для різних груп зрізів міокарда.

З метою пошуку більш чутливих діагностичних критеріїв було застосовано параметричний аналіз Мюллер-матричних зображень - досліджувалася статистична структура залежностей  $N(m_{22}=0) \equiv N_0$  і  $N(m_{22}=1) \equiv N_1$  (розділ 2, параграф 2.2.2.3.2.5., рис. 2.14, рис. 2.15).

Двовимірний масив “орієнтаційно-фазового” Мюллер-матричного елемента  $m_{22}(p \times k)$  сканувався у горизонтальному напрямку  $x \equiv 1, \dots, p$  з кроком  $\Delta x = 1 \text{ pix}$ . У межах кожної локальної вибірки  $(1_{\text{pix}} \times n_{\text{pix}})^{(k=1, 2, \dots, m)}$  обчислювалася кількість ( $N$ ) характеристичних значень  $m_{22}(k)=0$ , - ( $N_0^{(k)}$ ) і  $m_{22}(k)=1$ , - ( $N_1^{(k)}$ ). Таким чином, визначалися залежності  $N_0(x) \equiv (N_0^{(1)}, N_0^{(2)}, \dots, N_0^{(p)})$  і  $N_1(x) \equiv (N_1^{(1)}, N_1^{(2)}, \dots, N_1^{(p)})$  кількості екстремальних значень “орієнтаційного” матричного елемента  $m_{22}$  у межах його координатного розподілу  $(p \times k)$ . Даний підхід дозволив окремо вивчити статистичні прояви двопротенезаломлення міозинових фібрил зрізів тканини міокарда на двох його екстремальних рівнях, - мінімальному, - оптично ізотропному ( $N(m_{22}=1) \equiv N_1$ ) і максимальному, - оптично анізотропному ( $N(m_{22}=0) \equiv N_0$ ).

На рис. 4.2 представлені координатні і кількісні залежності екстремальних значень “орієнтаційного” елемента  $m_{22}(p \times k)$  матриці Мюллера зразків тканини міокарда з ГКН.

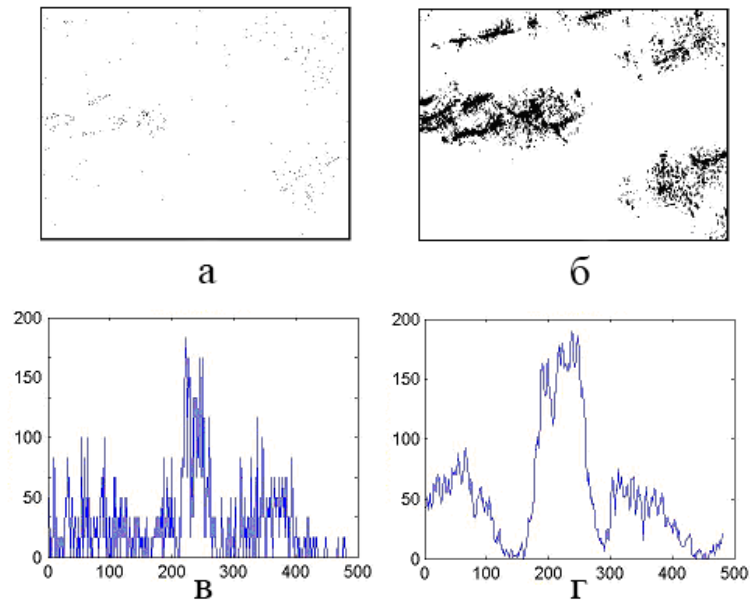


Рис. 4.2. Структура залежностей  $N(m_{22}=0) \equiv N_0$  “орієнтаційного” Мюллер-матричного елементу елементу  $m_{22}$  оптико-анізотропної складової тканини міокарда обох груп: а - координатна структура у групі ГКН; б - координатна структура у групі XIXС; в – кількісна структура у групі ГКН; г – кількісна структура у групі XIXС.

На рис. 4.3 представлені координатні і кількісні залежності екстремальних значень “орієнтаційного” елементу  $m_{22}(p \times k)$  матриці Мюллера зразків тканини міокарда XIXС.

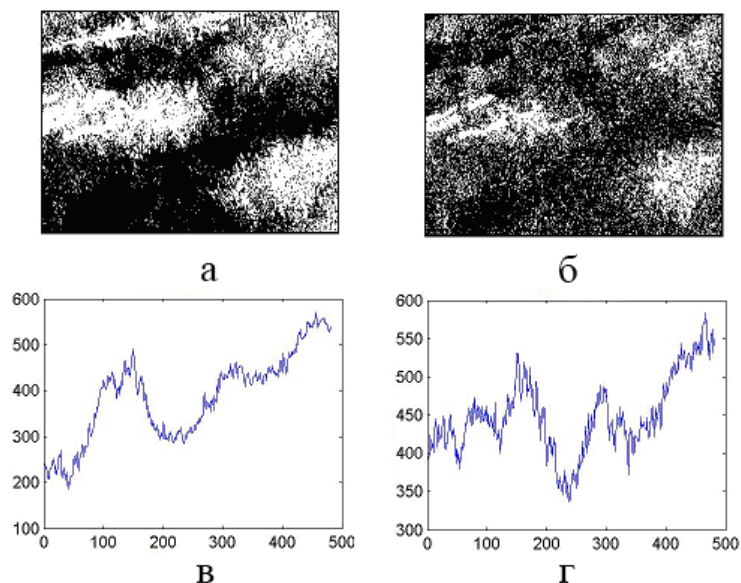


Рис. 4.3. Структура залежностей  $N(m_{22}=1) \equiv N_1$  “орієнтаційного” Мюллер-матричного елементу елементу  $m_{22}$  оптико-анізотропної складової тканини міокарда обох груп: а - координатна структура у групі ГКН; б - координатна структура у групі ХІХС; в – кількісна структура у групі ГКН; г – кількісна структура у групі ХІХС.

У результаті досліджень залежностей кількості екстремальних значень  $N(m_{22}=1) \equiv N_1$  і  $N(m_{22}=0) \equiv N_0$  виявлена діагностична чутливість до верифікації випадків настання смерті внаслідок ГКН розподілів  $N(m_{22}=0) \equiv N_0$ . Так, для ГКН мало місце зменшення кількості екстремальних значень  $m_{22}=0$  “орієнтаційного” елементу матриці Мюллера тканини міокарда (рис. 4.3, а, в). Вказаний факт свідчить про процес розупорядкування напрямів оптичних осей, які визначаються напрямками укладання оптико-анізотропних міозинових фібрил.

Кількісно процеси зміни двопроменезаломлення міозинових фібрил міокарда на різних екстремальних рівнях характеризувала сукупність статистичних моментів  $M_{j=1;2;3;4}(N_{0;1})$ , які характеризували розподіли значень залежностей  $N_0$  і  $N_1$  (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

**Статистичні моменти 1 – 4-го порядків, які характеризують розподіли  $N_0(x)$  і  $N_1(x)$  екстремальних значень “орієнтаційного” елементу  $m_{22}$**

**матриці Мюллера міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
$N_0$			
Середнє, $M_1(N_0)$	0,37 ± 0,021	0,61 ± 0,052	0,53 ± 0,046
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Дисперсія,	0,21 ± 0,019	0,14 ± 0,012	0,17 ± 0,014
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	

Асиметрія,	$0,87 \pm 0,069$	$0,65 \pm 0,056$	$0,74 \pm 0,063$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$>0,05$	
Ексцес, $M_4(N_0)$	$0,68 \pm 0,051$	$0,42 \pm 0,037$	$0,55 \pm 0,046$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	
$N_1$			
Середнє, $M_1(N_1)$	$0,59 \pm 0,039$	$0,53 \pm 0,038$	$0,56 \pm 0,037$
$p_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Дисперсія, $M_2(N_1)$	$0,19 \pm 0,016$	$0,15 \pm 0,012$	$0,17 \pm 0,015$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Асиметрія, $M_3(N_1)$	$0,75 \pm 0,061$	$0,68 \pm 0,054$	$0,79 \pm 0,058$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Ексцес, $M_4(N_1)$	$0,86 \pm 0,061$	$0,74 \pm 0,063$	$0,78 \pm 0,075$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$>0,05$	

Отримані дані про статистичну структуру розподілів кількості екстремальних значень “орієнтаційного” елемента  $m_{22}$  матриці Мюллера тканини міокарда вказували на можливість диференціації причини настання смерті і діагностики ГКН. Найбільш чутливими виявилися статистичні моменти 1-го і 4-го порядків розподілів, які характеризують розподіли  $N_0(x)$  екстремальних значень Мюллер-матричного елемента  $m_{22}(p \times k) = 0$  тканини міокарда. Установлені наступні діапазони максимальних відмінностей між статистичними параметрами, що характеризують розподіли  $m_{22}(p \times k) = 0$ , які описують оптично анізотропну складову міокарда з ГКН: середнє  $M_1(N_0)$  (зменшення у 2,18 разів); дисперсія  $M_2(N_1)$  (збільшення у 2,3 рази); асиметрія  $M_3(N_0)$  (збільшення у 3,49 разів) і ексцес  $M_4(N_0)$  (збільшення у 2,88 разів).

Проте, такий розкид обумовлений не лише змінами орієнтаційної побудови морфологічної структури міокарда. Великий внесок дають “неконтрольовані” кутові розташування зразків відносно напрямку опромінюючого пучка. Тому і виникає суттєвий рівень неоднозначності у диференціації випадків ХІХС та ГКН, що безумовно зменшує ефективність методу.

### **Кореляційний і фрактальний аналіз**

Результати експериментальних досліджень координатної  $m_{22}(p \times k)$  і статистичної  $N(m_{22})$ , кореляційної  $K(m_{22})$  і фрактальної  $\log L(m_{22}) - \log \frac{1}{d}$  структури “орієнтаційних” елементів  $m_{22}$  елементів матриці Мюллера міокарда людини при ХІХС та ГКН ілюструє рис. 4.4.

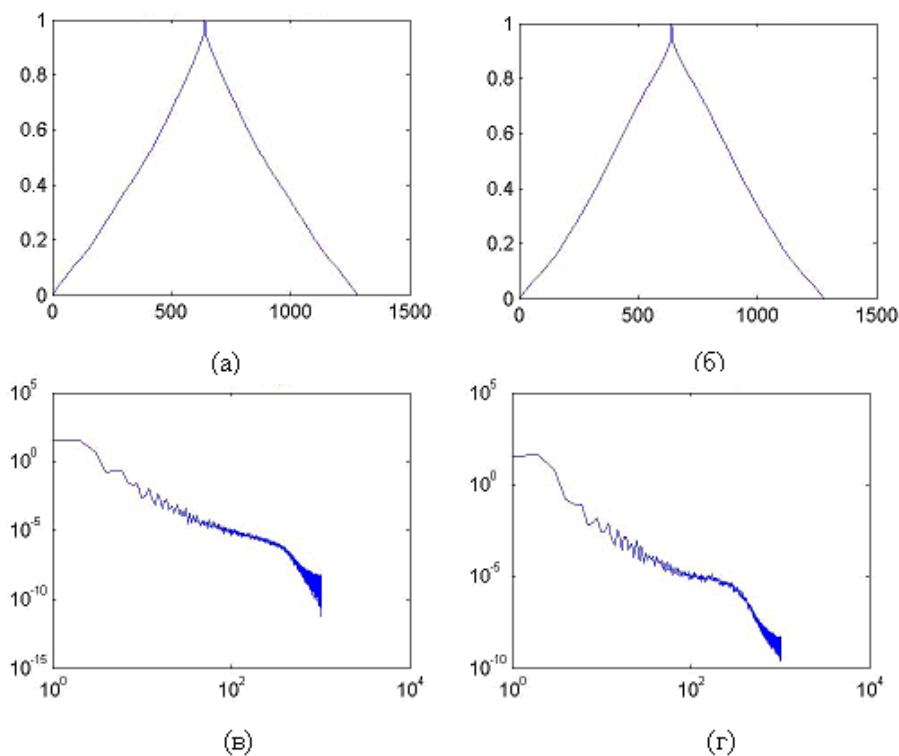


Рис. 4.4. Залежності розподілів “орієнтаційного” елементу  $m_{22}$  зрізів міокарда обох груп: а – кореляційні залежності розподілів у групі з ХІХС; б – кореляційні залежності розподілів у групі з ГКН; в – фрактальні залежності розподілів у групі з ХІХС; г – фрактальні залежності розподілів у групі з ГКН.



Аналіз рисунку показує, що координатні розподіли  $m_{22}(p \times k)$  (рис. 4.4, а, б) тканини міокарда з ХІХС чи ГКН були мультифрактальними (розділ 2, параграф 2.2.2.3.2.3.), про що свідчить монотонне спадання автокореляційних функцій  $K(m_{22})$  (рис. 4.4, в, г) та наявність двох стабільних нахилів апроксимуючих кривих до залежностей  $\log L(m_{22}) - \log \frac{1}{d}$  (рис. 4.4 л, е).

Кількісно кореляційну структуру розподілів значень “орієнтаційних” матричних елементів  $m_{22}(p \times k)$ , визначених для зразків міокарда, досліджуваних груп, ілюструють усереднені величини і діапазони зміни кореляційних моментів 2-го та 4-го порядків - дисперсії  $K_2(m_{22})$  та ексцесу  $K_4(m_{22})$  (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

**Статистичні моменти  $M_j(m_{22})$  координатних розподілів  $m_{22}(p \times k)$**

**тканини міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
$m_{22}$			
Дисперсія, $K_2(m_{22})$	0,29±0,021	0,32±0,024	0,33±0,024
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Ексцес, $K_4(m_{22})$	0,2±0,012	0,24±0,015	0,21±0,013
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	

Порівняльний аналіз усереднених величин і діапазонів зміни значень кореляційних параметрів  $K_2(m_{22})$ ,  $K_4(m_{22})$ , які характеризували залежності автокореляційних функцій розподілів “орієнтаційних” елементів  $m_{22}$  матриці Мюллера міокарда не виявив об’єктивної можливості верифікації причини настання смерті, оскільки діапазони зміни значень кореляційних параметрів

для різних груп міокарда перекривалися. З метою пошуку більш чутливих діагностичних критеріїв досліджувалася статистична структура залежностей  $N(m_{22}=0) \equiv N_0$  і  $N(m_{22}=1) \equiv N_1$  (рис. 4.5 і рис. 4.6).

Результати порівняльного дослідження усереднених величин і діапазонів зміни дисперсії  $K_2(N_0)$ ,  $K_2(N_1)$ ; ексцесу  $K_4(N_0)$ ,  $K_4(N_1)$ , які характеризують розподіли  $N(m_{22}=0) \equiv N_0$ ,  $N(m_{22}=1) \equiv N_1$  кількості екстремальних значень  $m_{22}=0$  і  $m_{22}=1$  “орієнтаційного” елементу  $m_{22}(p \times k)$  матриці Мюллера тканини міокарда з XIXС та ГКН представлені в таблиці 4.4 ( $N(m_{22}=0) \equiv N_0$ ) і таблиці 4.5 ( $N(m_{22}=1) \equiv N_1$ ).

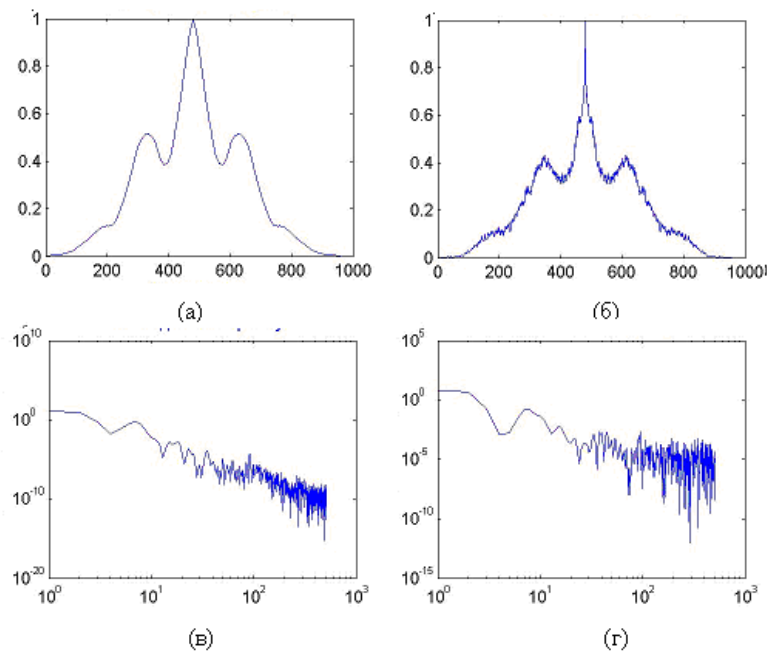


Рис. 4.5. Структура залежностей екстремальних значень “орієнтаційного” матричного елементу  $m_{22}=0$  зрізів міокарда померлих обох груп: а – кореляційна структура у групі з XIXС; б – кореляційна структура у групі з ГКН; в – фрактальна структура у групі з XIXС; г – фрактальна структура у групі з ГКН.

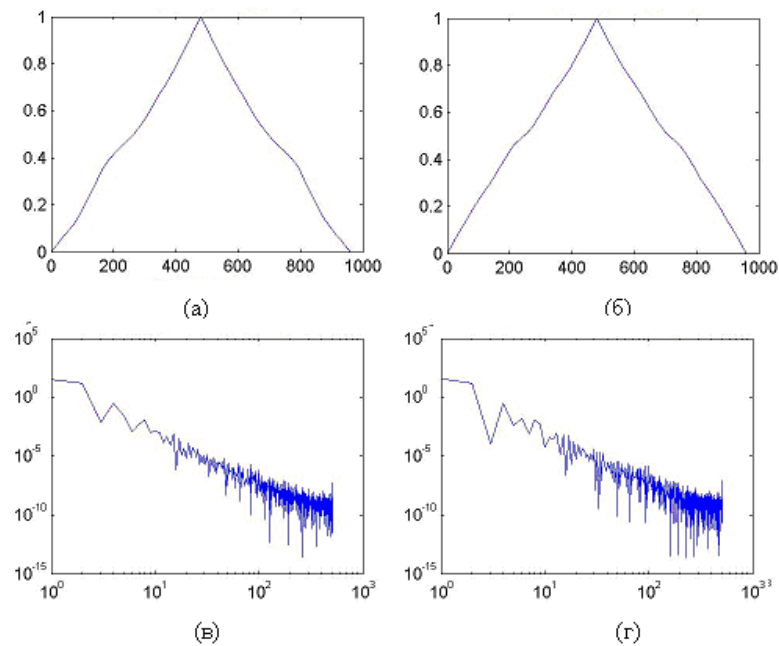


Рис. 4.6. Структура залежностей екстремальних значень “орієнтаційного” матричного елемента  $m_{22}=1$  зрізів міокарда померлих обох груп: а – кореляційна структура у групі з XIXС; б – кореляційна структура у групі з ГКН; в – фрактальна структура у групі з XIXС; г – фрактальна структура у групі з ГКН.

Таблиця 4.4

**Кореляційні і фрактальні параметри залежностей кількості екстремальних значень  $N_0(m_{22}=0)$  координатних розподілів  $m_{22}(p \times k)$  тканини міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	XIXС	ГКН
$N_0$			
Дисперсія, $K_2(N_0)$	$0,05 \pm 0,003$	$0,12 \pm 0,011$	$0,09 \pm 0,007$
$p_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	
Ексцес, $K_4(N_0)$	$4,21 \pm 0,36$	$2,34 \pm 0,21$	$3,31 \pm 0,27$
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	

Таблиця 4.5

**Кореляційні і фрактальні параметри залежностей кількості екстремальних значень  $N_1(m_{22} = 1)$  координатних розподілів  $m_{22}(p \times k)$  тканини міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	XIXC	ГКН
$N_1$			
Дисперсія, $K_2(N_1)$	0,25 ± 0,02	0,22 ± 0,018	0,24 ± 0,019
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Ексцес, $K_4(N_1)$	0,1 ± 0,009	0,11 ± 0,009	0,1 ± 0,009
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	

З одержаних даних експериментальних досліджень статистичної структури розподілів кількості екстремальних значень фазового елементу матриці Мюллера зрізів тканини міокарда обох типів впливає об'єктивна можливість діагностики ГКН та диференціації причини настання смерті. Суттєвих змін зазнає ексцес, який характеризує ступень гостроти піку автокореляційної функції розподілу  $K(N_0)$ , для якого величина  $K_4(N_0)$  у межах всієї статистичної вибірки зразків зрізів міокарда у максимальному аспекті зростає у 2,33 рази.

#### **4.2. Діагностичні можливості багатопараметричного аналізу розподілів “орієнтаційно-фазового” елементу матриці Мюллера тканини міокарда.**

Результати експериментальних досліджень “орієнтаційно-фазових” елементів  $m_{34}$  матриці Мюллера міокарда при XIXC та ГКН ілюструє рис. 4.7.

З одержаних даних видно, що якісне порівняння координатної структури “орієнтаційно-фазового” елементу  $m_{34}$  матриці Мюллера міокарда з метою встановлення причини смерті утруднено, адже розподіли  $m_{34}(p \times k)$ , що

характеризують орієнтацію оптичних осей міозинових фібрил міокарда координатно-неоднорідні і володіють однаковим діапазоном зміни власних значень  $-1 \leq m_{34} \leq 1$ .

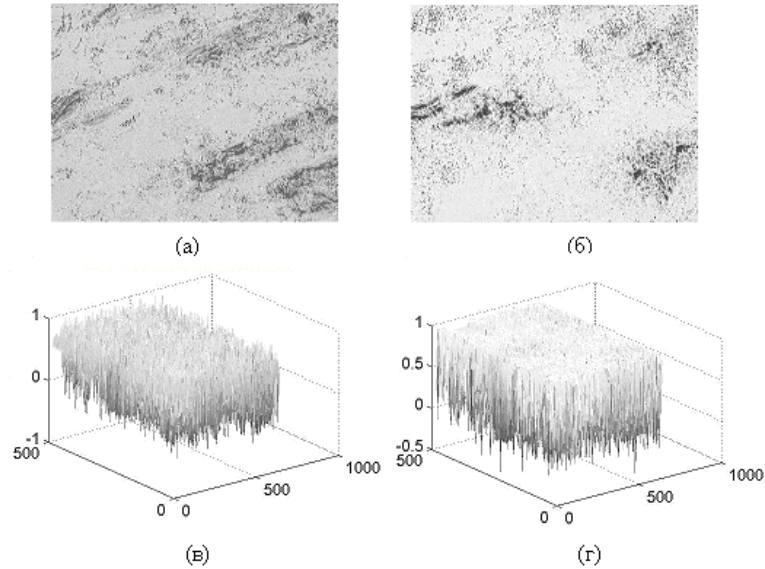


Рис. 4.7. Координатна та статистична структура “орієнтаційно-фазового” матричного елементу  $m_{34}(p \times k)$  міокарда обох груп: а – координатна структура у групі з XIXС; б – координатна структура у групі з ГКН; в – статистична структура у групі з XIXС; г – статистична структура у групі з ГКН.

Кількісно структуру розподілів “орієнтаційно-фазових” елементів  $m_{34}$ , визначених для досліджуваних груп зразків міокарда, ілюстрували усереднені величини і діапазони зміни значень статистичних моментів 1 – 4-го порядків  $M_{j=1;2;3;4}(m_{34})$  (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

**Статистичні моменти  $M_{j=1;2;3;4}(m_{34})$  координатних розподілів  $m_{34}(p \times k)$  тканини міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль (n=20)	XIXС (n=69)	ГКН (n=69)

Середнє, $M_1(m_{34})$	$0,14 \pm 0,012$	$0,11 \pm 0,011$	$0,13 \pm 0,012$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Дисперсія, $M_2(m_{34})$	$0,27 \pm 0,023$	$0,32 \pm 0,031$	$0,29 \pm 0,027$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Асиметрія, $M_3(m_{34})$	$0,59 \pm 0,054$	$0,54 \pm 0,046$	$0,56 \pm 0,053$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Екссес, $M_4(m_{34})$	$0,94 \pm 0,087$	$0,87 \pm 0,079$	$0,92 \pm 0,87$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	

Порівняльний аналіз величин і діапазонів зміни значень статистичних моментів 1 – 4-го порядків  $M_{j=1;2;3;4}(m_{34})$ , які характеризували координатні розподіли фазових елементів міокарда у межах досліджуваних груп, не виявив об'єктивної можливості диференціації таких випадків настання смерті, оскільки діапазони зміни значень середнього  $M_1(m_{34})$ , дисперсії  $M_2(m_{34})$ , асиметрії  $M_3(m_{34})$  та ексцесу  $M_4(m_{34})$  перекривались для різних досліджуваних груп.

З метою пошуку більш чутливих діагностичних критеріїв встановлено статистичну структуру параметричних залежностей  $N(m_{34}=0) \equiv N_0$  і  $N(m_{34}=1) \equiv N_1$ .

На рис. 4.8 і рис. 4.9 представлені координатні і кількісні залежності екстремальних значень “орієнтаційно-фазового” елементу  $m_{34}(p \times k)$  матриці Мюллера зразків тканини міокарда з ГКН та XIXС.

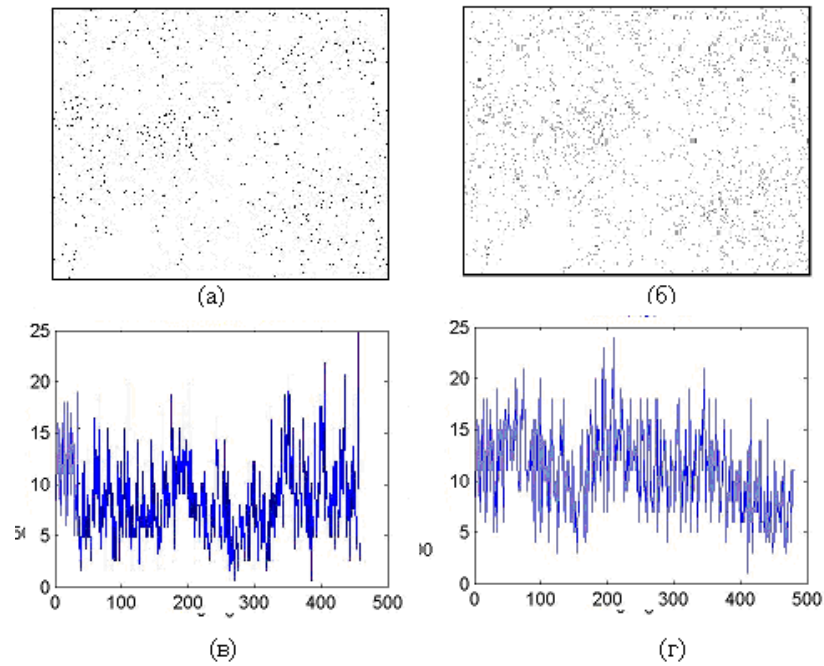


Рис. 4.8. Координатна і кількісна структура залежностей  $N(m_{34}=1) \equiv N_1$  “орієнтаційно-фазового” елементу  $m_{34}$  оптико-анізотропної складової тканини міокарда обох груп: а – координатна структура у групі з XIXС; б – координатна структура у групі з ГКН; в – кількісна структура у групі з XIXС; г – кількісна структура у групі з ГКН.

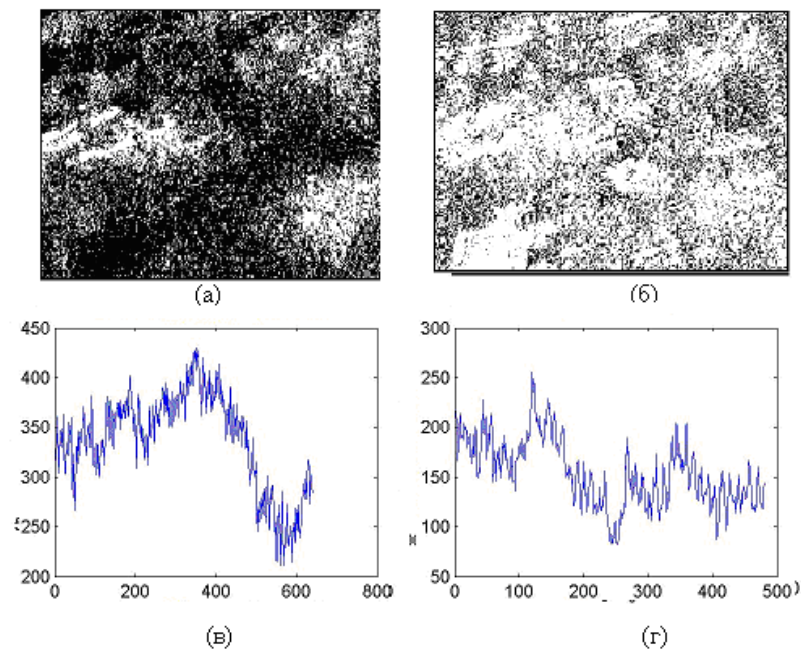


Рис. 4.9. Координатна і кількісна структура залежностей  $N(m_{22}=0) \equiv N_0$  “орієнтаційно-фазового” елементу  $m_{34}$  оптико-анізотропної складової

тканини міокарда обох груп: а – координатна структура у групі з ХІХС; б – координатна структура у групі з ГКН; в – кількісна структура у групі з ХІХС; г – кількісна структура у групі з ГКН.

У результаті досліджень залежностей кількості екстремальних значень  $N(m_{34}=1) \equiv N_1$  і  $N(m_{34}=0) \equiv N_0$  виявлена діагностична чутливість до діагностики ГІ та диференціації випадків настання смерті внаслідок ХІХС і ГКН розподілів  $N(m_{34}=1) \equiv N_1$ .

Кількісно процеси зміни двоприменезаломлення міозинових фібрил міокарда на різних екстремальних рівнях характеризувала сукупність статистичних моментів  $M_{j=1;2;3;4}(N_{0;1})$ , що характеризували залежності  $N_0$  і  $N_1$  (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

**Статистичні моменти 1 – 4-го порядків розподілів  $N_0(x)$  і  $N_1(x)$   
екстремальних значень “орієнтаційно-фазового” елемента  $m_{34}$  матриці  
Мюллера тканини міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
$N_0$			
Середнє, $M_1(N_0)$	0,53 ± 0,045	0,54 ± 0,046	0,51 ± 0,049
р <sub>1</sub>		>0,05	>0,05
Р <sub>2</sub>		>0,05	
Дисперсія, $M_2(N_0)$	0,28 ± 0,021	0,21 ± 0,017	0,23 ± 0,022
Р <sub>1</sub>		<0,001	<0,001
Р <sub>2</sub>		>0,05	
Асиметрія, $M_3(N_0)$	1,87 ± 0,16	1,46 ± 0,13	1,58 ± 0,15
Р <sub>1</sub>		<0,001	<0,001
Р <sub>2</sub>		>0,05	
Ексцес, $M_4(N_0)$	1,16 ± 0,11	1,09 ± 0,095	1,12 ± 0,11
Р <sub>1</sub>		>0,05	>0,05
Р <sub>2</sub>		>0,05	



$N_1$			
Середнє, $M_1(N_1)$	$0,12 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,0086$	$0,11 \pm 0,009$
$p_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Дисперсія, $M_2(N_1)$	$0,39 \pm 0,026$	$0,45 \pm 0,034$	$0,41 \pm 0,032$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Асиметрія, $M_3(N_1)$	$3,75 \pm 0,28$	$2,11 \pm 0,17$	$3,08 \pm 0,26$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	
Ексцес, $M_4(N_1)$	$2,86 \pm 0,21$	$1,84 \pm 0,18$	$2,37 \pm 0,22$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	

З одержаних даних експериментальних досліджень статистичної структури розподілів кількості екстремальних значень “орієнтаційно-фазового” елемента  $m_{34}$  матриці Мюллера тканини міокарда досліджуваних груп впливає об’єктивна можливість діагностики ГКН та диференціації причини настання смерті. Найбільш інформативними виявилися статистичні моменти 3-го і 4-го порядків розподілів  $N_1(x)$  екстремальних значень Мюллер-матричного елемента  $m_{34}(p \times k)=1$  тканини міокарда.

Установлені наступні (максимальні у межах досліджених репрезентативних вибірок зрізів міокарда) діапазони відмінностей між статистичними параметрами, що характеризують розподіли  $m_{34}(p \times k)=1$ , які описують оптично анізотропну складову міокарда з ГКН та ХІХС, - асиметрія  $M_3(N_1)$  (збільшення у 2,4 разів) і ексцес  $M_4(N_1)$  (збільшення у 2,2 рази).

Результати досліджень кореляційної  $K(m_{34})$  і фрактальної  $\log L(m_{34}) - \log \frac{1}{d}$  структури “орієнтаційно-фазових” елементів  $m_{34}$  матриці Мюллера міокарда людини при ХІХС та ГКН ілюструє рис. 4.10. Із одержаних даних видно, що координатні розподіли  $m_{34}(p \times k)$  (рис. 4.10, а, б)

тканини міокарда з XIXC чи ГКН є мультифрактальними, оскільки відзначадось монотонне спадання автокореляційних функцій  $K(m_{34})$  (рис. 4.10, в, г) та наявність двох стабільних нахилів апроксимуючих кривих до залежностей  $\log L(m_{34}) - \log \frac{1}{d}$  (рис. 4.10, д, е) – розділ 2, параграф 2.2.2.3.2.2. і 2.2.2.3.2.3.

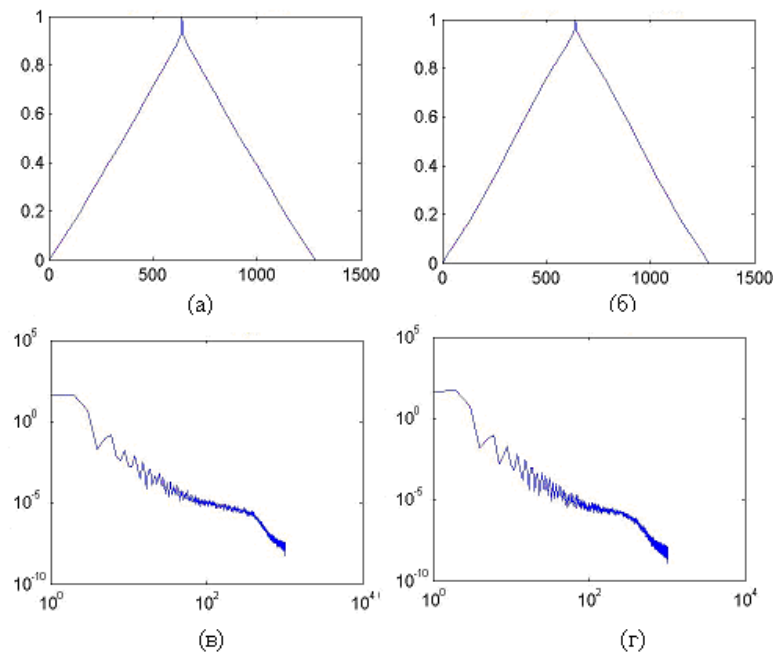


Рис. 4.10. Кореляційні та фрактальні параметри, які характеризують розподіли “орієнтаційно-фазового” елементу  $m_{34}$  міокарда: а – кореляційні параметри у групі з XIXC; б – кореляційні параметри у групі з ГКН; в – фрактальні параметри у групі з XIXC; г – фрактальні параметри у групі з ГКН.

Кількісно кореляційну структуру розподілів “орієнтаційних” матричних елементів  $m_{34}(p \times k)$ , визначених для двох груп зразків міокарда, ілюструють усереднені величини і діапазони зміни значень дисперсії  $K_2(m_{34})$  та ексцесу  $K_4(m_{34})$  (табл. 4.8).

Порівняльний аналіз величин і діапазонів зміни значень кореляційних параметрів  $K_2(m_{34})$ ,  $K_4(m_{34})$  автокореляційних функцій розподілів “орієнтаційно-фазових” елементів  $m_{34}$  матриці Мюллера зрізів міокарда у межах досліджуваних груп не виявив об’єктивної можливості встановлення ГІ, як причини настання смерті. Діапазони зміни значень кореляційних і фрактальних параметрів для різних груп перекривалися.

Таблиця 4.8

**Кореляційні моменти автокореляційних функцій розподілів  $m_{34}(p \times k)$  тканини міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	XIXC	ГКН
Дисперсія, $K_2(m_{34})$	$0,029 \pm 0,0021$	$0,31 \pm 0,024$	$0,34 \pm 0,026$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Ексцес, $K_4(m_{34})$	$0,86 \pm 0,077$	$0,84 \pm 0,075$	$0,91 \pm 0,079$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	

З метою пошуку більш чутливих діагностичних критеріїв досліджувалася кореляційна і фрактальна структура залежностей  $N(m_{34} = 1) \equiv N_1$  (рис. 4.11) і  $N(m_{34} = 0) \equiv N_0$  (рис. 4.12).

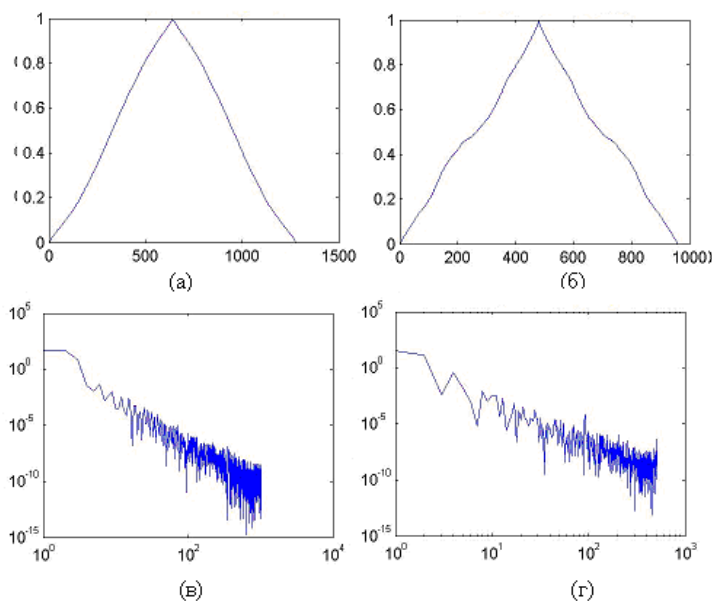


Рис. 4.11. Кореляційна і фрактальна структура залежностей екстремальних значень “орієнтаційно-фазового” матричного елемента  $m_{34} = 0$  міокарда обох груп: а – кореляційна структура у групі з ХІХС; б – кореляційна структура у групі з ГКН; в – фрактальна структура у групі з ХІХС; г – фрактальна структура у групі з ГКН.

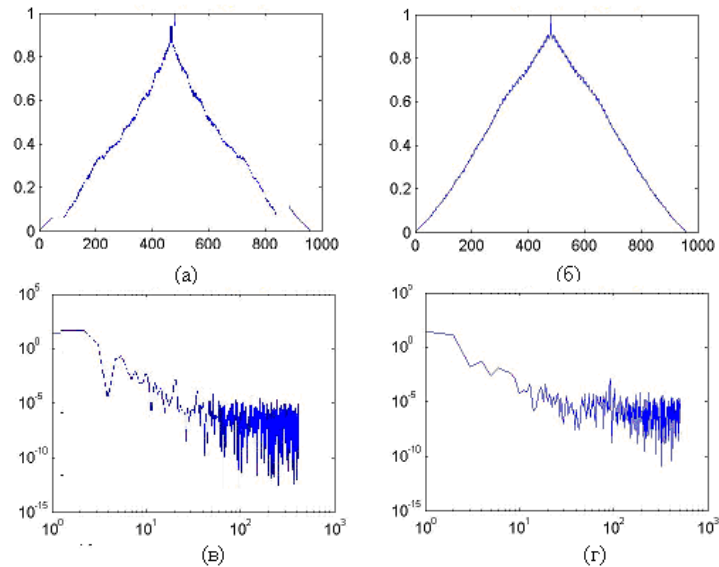


Рис. 4.12. Кореляційна і фрактальна структура залежностей екстремальних значень “орієнтаційно-фазового” матричного елемента  $m_{34} = 1$  міокарда обох груп: а – кореляційна структура у групі з ХІХС; б – кореляційна структура у групі з ГКН; в – фрактальна структура у групі з ХІХС; г – фрактальна структура у групі з ГКН.

Результати порівняльного дослідження усереднених величин і діапазонів зміни дисперсії  $K_2(N_0)$ ,  $K_2(N_1)$ ; ексцесу  $K_4(N_0)$ ,  $K_4(N_1)$  розподілів  $N(m_{34} = 0) \equiv N_0$ ,  $N(m_{34} = 1) \equiv N_1$  кількості екстремальних значень  $m_{34} = 0$  і  $m_{34} = 1$  “орієнтаційно-фазового” елемента  $m_{34}(p \times k)$  матриці Мюллера тканини міокарда з ХІХС та ГКН представлені в таблиці 4.9 ( $N(m_{34} = 1) \equiv N_1$ ) і таблиці 4.10 ( $N(m_{34} = 0) \equiv N_0$ ).

Таблиця 4.9

**Кореляційні параметри залежностей кількості екстремальних значень**

$N_1(m_{34} = 0)$  координатних розподілів  $m_{34}(p \times k)$  тканини міокарда

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
$N_0$			
Середнє, $K_2(N_0)$	0,23 ± 0,021	0,21 ± 0,019	0,24 ± 0,022
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $K_4(N_0)$	0,37 ± 0,032	0,41 ± 0,035	0,39 ± 0,034
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	

Таблиця 4.10

**Кореляційні параметри залежностей кількості екстремальних значень**

$N_0(m_{34} = 1)$  координатних розподілів  $m_{34}(p \times k)$  тканини міокарда

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
$N_1$			
Дисперсія, $K_2(N_1)$	0,19 ± 0,017	0,14 ± 0,012	0,16 ± 0,013
$p_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	
Ексцес, $K_4(N_1)$	1,21 ± 0,11	2,34 ± 0,21	1,53 ± 0,14
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	

Результати досліджень статистичної структури розподілів кількості екстремальних значень фазового елементу матриці Мюллера тканини міокарда вказують на можливість встановлення ГКН та диференціації з ХІХС на основі вимірювання ексцесу автокореляційної функції розподілу  $K_4(N_1)$ . Для ГКН характерне зменшення  $K_4(N_1)$  у 1,85 рази.

Результати аналізу інформативності методів (розділ 2, параграф 2.2.2.4.2., співвідношення 2.7-2.9) ілюструють величини

операційних характеристик, які характеризують діагностичну силу мюллер-матричної мікроскопії зрізів міокарда (табл 4.16 і табл. 4.18).

Таблиця 4.11

**Операційні характеристики параметричного аналізу розподілів  
орієнтаційного матричного елемента  $m_{22}$  зрізів міокарда**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_1(N_0)$	67	57	67 $a = 46, b = 23$	57 $c = 39, d = 30$
$M_2(N_0)$	68 $a = 46, b = 23$	61 $c = 42, d = 27$	61 $a = 42, b = 27$	55 $c = 38, d = 31$
$M_3(N)$	61 $a = 42, b = 27$	57 $c = 39, d = 30$	61 $a = 42, b = 27$	54 $c = 37, d = 32$
$M_4(N_0)$	64 $a = 48, b = 21$	62 $c = 43, d = 26$	64 $a = 44, b = 25$	58 $c = 40, d = 29$
$K(N_0)$	68 $a = 47, b = 22$	60 $c = 41, d = 28$	68 $a = 46, b = 23$	57 $c = 39, d = 30$

Таблиця 4.12

**Операційні характеристики параметричного аналізу розподілів  
орієнтаційно-фазового  $m_{34}$  матричного елемента зрізів міокарда**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_3(N_1)$	66 $a = 45, b = 24$	58 $c = 40, d = 29$	61 $a = 42, b = 27$	55 $c = 38, d = 31$
$M_4(N_1)$	68 $a = 46, b = 23$	59 $c = 41, d = 28$	61 $a = 42, b = 27$	54 $c = 37, d = 32$
$K_4(N_1)$	66 $a = 45, b = 24$	58 $c = 40, d = 29$	64 $a = 42, b = 27$	58 $c = 40, d = 29$

Аналіз операційних характеристик параметричного методу мюллер-матричної мікроскопії, що визначають її діагностичну інформативність, не виявили достатньо високого рівня збалансованої точності більшості з об'єктивних параметрів  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \left( \begin{matrix} m_{22} \\ m_{34} \end{matrix} \right) \right]$ , які характеризують мюллер-матричні зображення орієнтаційної та орієнтаційно-фазової будови фібрилярної сітки міокарда, у завданні його посмертної діагностики.

Досягнуто наступного рівня операційних характеристик:

$$m_{22} \Leftrightarrow \begin{cases} Se = 67\% - 68\% \\ Sp = 57\% - 58\% \\ Ac = 61\% - 62,5\% \end{cases} ; m_{34} \Leftrightarrow \begin{cases} Se = 61\% - 64\% \\ Sp = 55\% - 58\% \\ Ac = 58\% - 61\% \end{cases} .$$

Досягнутий рівень інформативності дещо вищий (на 5-7%) ніж інформативність прямого поляризаційного картографування мікроскопічних зображень зрізів міокарда (розділ 3, параграф 3.2.3, таблиця 3.5 і таблиця 3.6). Проте, рівень збалансованої точності не перевищує задовільну якість діагностичного тесту. Такий результат також пов'язаний із азимутальною залежністю величини матричних елементів  $m_{22}$  і  $m_{34}$  при обертанні площини зразку відносно напрямку опромінення. Справді, неможливим є однотипна орієнтація міофібрил зразків міокарда відносно площини поляризації лазерного пучка. Відповідно координатні розподіли відповідних елементів матриці Мюллера різних зразків у межах однієї групи залежить не тільки від орієнтаційної будови фібрилярних мереж, але й від конкретного розташування зразку. За рахунок цього у кожній групі середнє значення  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \left( \begin{matrix} m_{22} \\ m_{34} \end{matrix} \right) \right]$  зменшується, а діапазон зміни випадкових значень, навпаки, збільшується. Відповідно до цього знижується загальний рівень чутливості, специфічності та збалансованої точності методу.

Азимутальну залежність Мюллер-матричних зображень полікристалічних фібрилярних мереж зрізу міокарда, одержаних для

поворотів зразку відносно напрямку опромінюючого лазерного пучка  $\Theta = 0^\circ$  і  $\Theta = 45^\circ$  ілюструє рис. 4.12.

Аналіз топографічної  $m_{22}(p \times k)$ ,  $m_{34}(p \times k)$  та статистичної структури  $N(m_{22})$ ;  $N(m_{34})$  (Рис. 4.12)) різних ( $\Theta = 0^\circ, \Theta = 45^\circ$ ) мюллер-матричних зображень зрізу міокарда підтвердив наявність їх індивідуальної, координатної-неоднорідної будови. Положення екстремуму, півширини, асиметрії та гострота піку залежностей  $N(m_{22})$  та  $N(m_{34})$  є індивідуальними для різних кутів повороту зразку.

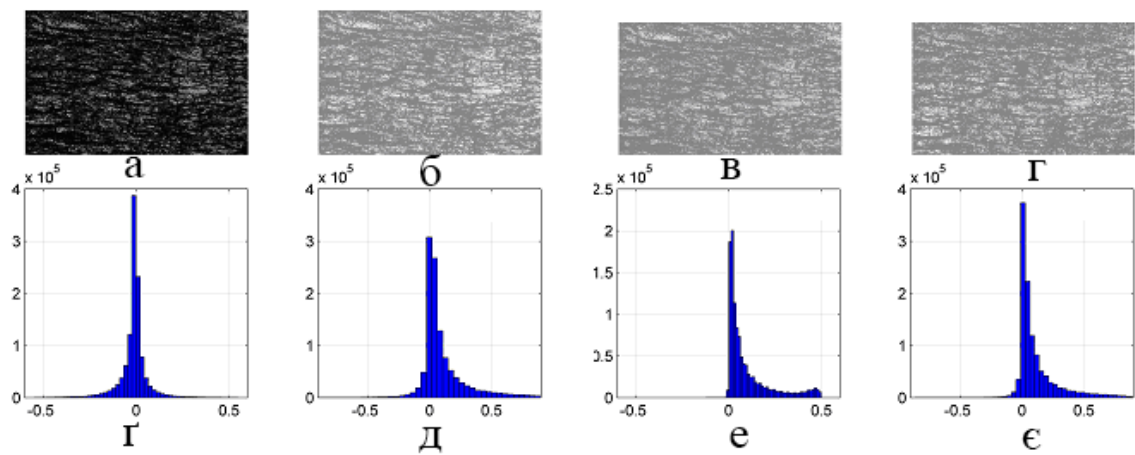


Рис. 4.12. Мюллер-матричні зображення  $m_{22}(p \times k)$ ,  $m_{34}(p \times k)$  і гістограми розподілів  $N(m_{22})$ ;  $N(m_{34})$  зрізу міокарда, одержані для поворотів зразку відносно напрямку опромінюючого лазерного пучка  $\Theta = 0^\circ$  і  $\Theta = 45^\circ$ : а – топографічна структура  $m_{22}(p \times k)$  мюллер-матричного зображення, одержаного для повороту зразку відносно напрямку опромінюючого лазерного пучка  $\Theta = 0^\circ$ ; б – топографічна структура  $m_{34}(p \times k)$  мюллер-матричного зображення, одержаного для повороту зразку відносно напрямку опромінюючого лазерного пучка  $\Theta = 0^\circ$ ; в – топографічна структура  $m_{22}(p \times k)$  мюллер-матричного зображення, одержаного для повороту зразку відносно напрямку опромінюючого лазерного пучка  $\Theta = 45^\circ$ ; г – топографічна структура  $m_{34}(p \times k)$  мюллер-матричного зображення, одержаного для повороту зразку відносно напрямку опромінюючого



лазерного пучка  $\Theta = 45^0$ ; г – статистична структура  $N(m_{22})$  мюллер-матричного зображення, одержаного для повороту зразку відносно напрямку опромінюючого лазерного пучка  $\Theta = 0^0$ ; д – статистична структура  $N(m_{34})$  мюллер-матричного зображення, одержаного для повороту зразку відносно напрямку опромінюючого лазерного пучка  $\Theta = 0^0$ ; е – статистична структура  $N(m_{22})$  мюллер-матричного зображення, одержаного для повороту зразку відносно напрямку опромінюючого лазерного пучка  $\Theta = 45^0$ ; є – статистична структура  $N(m_{34})$  мюллер-матричного зображення, одержаного для повороту зразку відносно напрямку опромінюючого лазерного пучка  $\Theta = 45^0$ .

Вказані дані пояснюють відмінності між значеннями статистичних моментів 1-4-го порядків  $M_{i=1,2,3,4}(\Theta)$ , які характеризують координатні розподіли  $m_{22}(p \times k)$ ,  $m_{34}(p \times k)$ .

У теорії мюллер-матричної біомедичної оптики показано, що азимутально-незалежними серед усіх елементів матриці є лише два.

Перший – це фазовий елемент  $m_{44}$ , який пов'язаний із двопроменезаломленням вторинної білкової структури – міозинової фібрилярної сітки [234, 295].

Другий – це наступна комбінація матричних елементів  $\Delta m = \frac{m_{23} - m_{32}}{m_{22} + m_{33}}$ ,

яка пов'язана із оптичною активністю дрібномасштабних поліпептидних ланцюгів молекул міозину [268].

### 4.3. Діагностика ГІ зрізів міокарда шляхом азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування.

У даній частині роботи наведено результати азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування  $(\{m_{44}(p \times k)\})(\Theta) = const$  та  $\{\Delta m(p \times k)\}(\Theta) = const$  зрізів міокарда.

На рис. 4.13 і рис. 4.14 наведено мюллер-матричні зображення  $m_{44}$  (рис. 4.13) і  $\Delta m$  (рис. 4.14) зрізів міокарда померлих внаслідок ХІХС і ГКН.

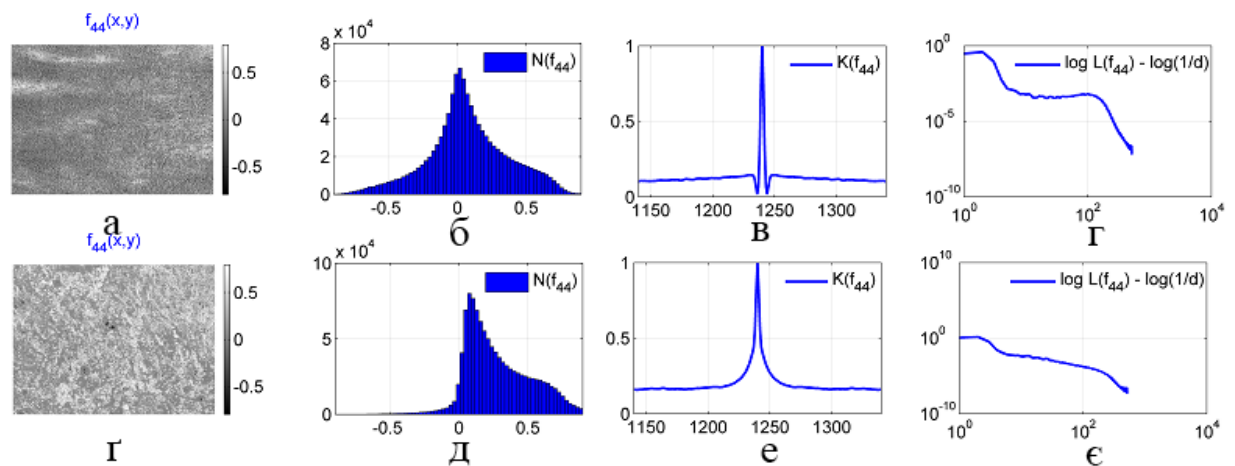


Рис. 4.13. Статистичні  $N(m_{44})$ , кореляційні  $K(m_{44})$  та просторово-частотні  $\log L(m_{44}) - \log(1/d)$  залежності, що характеризують мюллер-матричні зображення  $m_{44}(p \times k)$  зрізів міокарда: а – топографічна структура  $m_{44}$  мюллер-матричного зображення при ХІХС; б – статистична залежність  $N(m_{44})$  при ХІХС; в – кореляційна залежність  $K(m_{44})$  при ХІХС; г – просторово-частотна залежність  $\log L(m_{44}) - \log(1/d)$  при ХІХС; г – топографічна структура  $m_{44}$  мюллер-матричного зображення при ГКН; д – статистична залежність  $N(m_{44})$  при ГКН; е – кореляційна залежність  $K(m_{44})$  при ГКН; є – просторово-частотна залежність  $\log L(m_{44}) - \log(1/d)$  при ГКН.

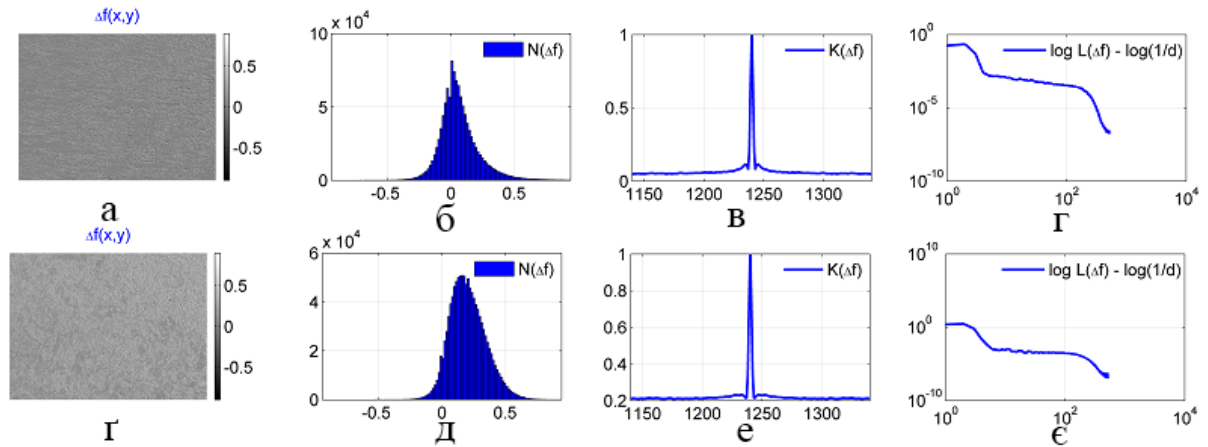


Рис. 4.14. Статистичні  $N(\Delta m)$ , кореляційні  $K(\Delta m)$  та просторово-частотні  $\log L(\Delta m) - \log(1/d)$  залежності, що характеризують мюллер-матричні зображення  $\Delta m(p \times k)$  зрізів міокарда: а – топографічна структура  $\Delta m$  мюллер-матричного зображення при XIXС; б – статистична залежність  $N(\Delta m)$  при XIXС; в – кореляційна залежність  $K(\Delta m)$  при XIXС; г – просторово-частотна залежність  $\log L(\Delta m) - \log(1/d)$  при XIXС; е – топографічна структура  $\Delta m$  мюллер-матричного зображення при ГКН; д – статистична залежність  $N(\Delta m)$  при ГКН; е – кореляційна залежність  $K(\Delta m)$  при ГКН; є – просторово-частотна залежність  $\log L(\Delta m) - \log(1/d)$  при ГКН.

Результати обчислення сукупності об'єктивних параметрів  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \left( \begin{matrix} m_{44} \\ \Delta m \end{matrix} \right) \right]$  методу азимутально-інваріантної мюллер-матричної мікроскопії зрізів міокарда досліджуваних груп наведено у таблиці 4.13 і таблиці 4.14.

Таблиця 4.13

**Середнє ( $\bar{q}$ ) і стандартне відхилення ( $\pm \sigma$ ) параметрів  $r$  мюллер-матричної мікроскопії розподілів фазового елементу  $m_{44}$  зразків міокарда**

Статистичні	Причина смерті
-------------	----------------

моменти	Контроль	ХІХС	ГКН
$m_{44}$			
Середнє, $M_1$	0,27±0,021	0,45±0,035	0,36±0,034
$p_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Дисперсія, $M_2$	0,18±0,012	0,16±0,014	0,19±0,016
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Асиметрія, $M_3$	1,31±0,11	0,68±0,058	1,14±0,1
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Екссес, $M_4$	1,18±0,071	0,73±0,069	0,97±0,082
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Дисперсія, $M^K_2$	0,24±0,019	0,22±0,018	0,25±0,023
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Екссес, $M^K_4$	0,79±0,064	1,44±0,12	0,93±0,081
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	

Для мюллер-матричних зображень  $m_{44}$  зрізів групи установлені наступні кількісні критерії, що дозволяють верифікувати ГКН:

$$m_{44}(p \times k) \begin{cases} \Delta M_1 = 1,26; \Delta M_2 = 1,27; \Delta M_3 = 1,53; \Delta M_4 = 1,56; \\ \Delta M_2^K = 1,22; \Delta M_4^K = 1,37. \end{cases}$$

Таблиця 4.14

**Середнє ( $\bar{q}$ ) і стандартне відхилення ( $\pm \sigma$ ) параметрів  $r$  мюллер-матричної мікроскопії розподілів фазового елементу  $\Delta m$  зразків міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
$\Delta m$			
Середнє, $M_1$	0,08±0,021	0,05±0,0037	0,07±0,0059
$p_1$		>0,05	>0,05

$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $M_2$	$0,17 \pm 0,012$	$0,13 \pm 0,011$	$0,16 \pm 0,013$
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Асиметрія, $M_3$	$0,31 \pm 0,021$	$0,17 \pm 0,015$	$0,24 \pm 0,023$
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Ексцес, $M_4$	$0,48 \pm 0,031$	$0,29 \pm 0,024$	$0,36 \pm 0,034$
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Дисперсія, $M^K_2$	$0,09 \pm 0,008$	$0,06 \pm 0,0048$	$0,08 \pm 0,0071$
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Ексцес, $M^K_4$	$2,57 \pm 0,21$	$1,49 \pm 0,11$	$2,13 \pm 0,17$
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	

Для мюллер-матричних зображень  $\Delta m$  зрізів групи установлені наступні кількісні критерії, що дозволяють верифікувати ГКН:

$$\Delta m(p \times k) \begin{cases} \Delta M_1 = 1,29; \Delta M_2 = 1,27; \Delta M_3 = 1,57; \Delta M_4 = 1,38; \\ \Delta M^K_2 = 1,29; \Delta M^K_4 = 1,49; \end{cases}$$

Як видно з наведених даних найбільш чутливими ( $\Delta \bar{q} = \max$ ) виявилися статистичні моменти  $M_3$ ,  $M_4$  та  $M^K_4$ , які характеризують координатні розподіли  $m_{44}(p \times k)$ ,  $\Delta m(p \times k)$ .

Результати аналізу інформативності (розділ 2, параграф 2.2.2.4.2., співвідношення 2.7 – 2.9 ілюструють величини операційних характеристик, які характеризують діагностичну силу мюллер-матричної мікроскопії зрізів міокарда (табл. 4.16 і табл. 4.18).

**Операційні характеристики багатомірної мюллер-матричної мікроскопії  
розподілів фазового елементу  $m_{44}$  зрізів міокарда**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_3$	74 $a = 49, b = 20$	64 $c = 44, d = 25$	62 $a = 43, b = 26$	59 $c = 41, d = 28$
$M_4$	77 $a = 53, b = 16$	72 $c = 48, d = 21$	74 $a = 49, b = 20$	64 $c = 44, d = 25$
$K_4$	80 $a = 55, b = 14$	74 $c = 50, d = 19$	75 $a = 52, b = 17$	62 $c = 43, d = 26$

Таблиця 4.16

**Операційні характеристики багатомірної мюллер-матричної мікроскопії  
розподілів  $\Delta m$  зрізів міокарда**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_3$	60 $a = 42, b = 27$	58 $c = 40, d = 29$	58 $a = 40, b = 29$	55 $c = 38, d = 31$
$M_4$	81 $a = 56, b = 13$	72 $c = 50, d = 19$	74 $a = 49, b = 23$	62 $c = 43, d = 26$
$K_4$	86 $a = 59, b = 10$	78 $c = 54, d = 15$	72 $a = 50, b = 19$	59 $c = 41, d = 28$

Аналіз операційних характеристик методу мюллер-матричної мікроскопії, що визначали діагностичну інформативність, виявили зростання рівня збалансованої точності посмертної діагностики ГІ міокарда шляхом перехресного статистичного аналізу наступних об'єктивних параметрів (статистичні моменти 3-го і 4-го порядків, кореляційний момент 4-го

порядку)  $r \equiv \left[ M_{i=3;4}; K_{i=4} \left( \begin{matrix} m_{44} \\ \Delta m \end{matrix} \right) \right]$ , які характеризують розподіли значень

азимутально-незалежних мюллер-матричних інваріантів, що описують прояви оптичної анізотропії фібрилярних протеїнових мереж на первинному ( $\Delta m$ ) та вторинному ( $m_{44}$ ) рівнях:

$$m_{44} \Leftrightarrow \begin{cases} Se = 74\% - 75\% \\ Sp = 62\% - 64\% \\ Ac = 68,5\% - 69\% \end{cases} ;$$

$$\Delta m \Leftrightarrow \begin{cases} Se = 72\% - 74\% \\ Sp = 59\% - 62\% \\ Ac = 65,5\% - 68\% \end{cases} .$$

Одержані результати (таблиці 4.15, 4.16) дозволяють стверджувати про зростання (на 10%-15%) збалансованої точності у порівнянні з методом прямого мюллер-матричного картографування (таблиці 4.11, 4.12). При цьому досягається достатньо високий рівень збалансованої точності, що з позицій доказової медицини відповідає хорошій якості діагностичного тесту -  $Ac(m_{44}) = 69\%$  і  $Ac(\Delta m) = 68\%$  при добрій відтворюваності експериментальних даних.

Як було вже вище зазначено, “інформаційне навантаження” мюллер-матричних інваріантів  $m_{44}$  і  $\Delta m$  різне. Перший з них ( $m_{44}$ ) переважно описує прояви оптичної анізотропії на великомасштабному рівні фібрилярних міозинових мереж міокарда. Другий ( $\Delta m$ ) пов’язаний з дрібномасштабними рівнями оптично активних міозинових молекул (поліпептидні ланцюги). Тому з метою поглиблення аналізу експериментальних даних азимутально-незалежного мюллер-матричного картографування зрізів міокарда досліджуваних груп встановлено інформаційні можливості вейвлет-аналізу.

#### **4.4. Посмертна діагностика міокарда з використанням вейвлет-аналізу азимутально-інваріантних мюллер-матричних зображень зрізів досліджуваних груп.**

У даному параграфі наведено результати досліджень зразків міокарда, шляхом використання вейвлет-аналізу координатних розподілів

азимутально-незалежних елементів матриці Мюллера, що характеризують первинну та вторинну структуру білків серцевого м'язу з метою підвищення збалансованої точності діагностичного методу посмертної діагностики ГІ.

Як було зазначено (розділ 2, параграф 2.2.2.3.2.4.), вейвлет-аналіз дозволяє роздільно оцінювати прояви оптичних властивостей дрібномасштабних поліпептидних ланцюгів оптично активних молекул міозину (мюллер-матричні зображення інваріанту  $\Delta m$ ) та великомасштабних фібрилярних міозинових мереж (мюллер-матричні зображення  $m_{44}$ ) зрізів міокарда.

Якщо проаналізувати виникнення ГКН як послідовність біохімічних процесів внаслідок недостачі макроергічної сполуки АТФ та відповідно порушення функціонування актиноміозинового комплексу, як найбільш енергоємного процесу у кардіоміоцитах, можна припустити, що найбільші відмінності при ГІ слід шукати на дрібних масштабах зміни первинної структури поліпептидних ланцюгів білків міокарда.

Навпаки, основні оптичні прояви ХІХС припадають на трансформацію великомасштабних фібрилярних міозинових мереж. Тому, масштабно-селективний підхід до аналізу мюллер-матричних зображень оптично анізотропних структур зрізів обох груп дозволить підняти точність посмертної діагностики ГІ міокарда та забезпечити диференціацію з іншими станами (ХІХС).

Результати досліджень розподілів вейвлет-коефіцієнтів, які характеризують прояви оптичних властивостей анізотропних мереж міокарда

на різних масштабах мюллер-матричних зображень  $r = \left\{ \begin{array}{l} W[m_{44}(x, y)]; \\ W[\Delta m(x, y)] \end{array} \right\}$  зрізів

обох груп, наведені серії рис. 4.15 – рис. 4.18.

Вище вказані рисунки ілюструють:

- мюллер-матричні зображення  $\{m_{44}(x, y); \Delta m(x, y)\}$  зразків міокарда, у випадку ГКН та ХІХС;



- двомірні розподіли вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}\{m_{44}(x, y); \Delta m(x, y)\}$ , які характеризують координатну структуру розподілів мюллер-матричних інваріантів, яка сформована різномасштабними морфологічними складовими міозинових фібрилярних мереж зрізу міокарда;
- лінійні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  вейвлет-мапи  $W_{a,b}$  на масштабах вейвлет-функції  $a=15$  та  $a=55$ , що забезпечує роздільне оцінювання проявів змін оптичної анізотропії на рівні поліпептидних ланцюгів ( $a=15$ ), а також фібрилярних мереж ( $a=55$ ).

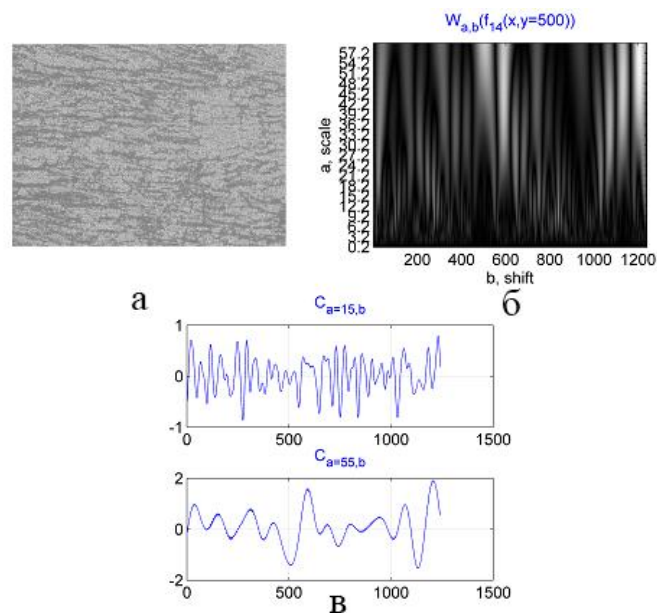


Рис. 4.15. Двомірні розподіли мюллер-матричного зображення  $m_{44}$ , вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  для зрізу міокарда при ГКН: а – двомірний розподіл мюллер-матричного зображення  $m_{44}$ ; б – двомірний розподіл вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}(m_{44}(x, y))$ ; в - перерізи вейвлет-коефіцієнтів на масштабах  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$ .

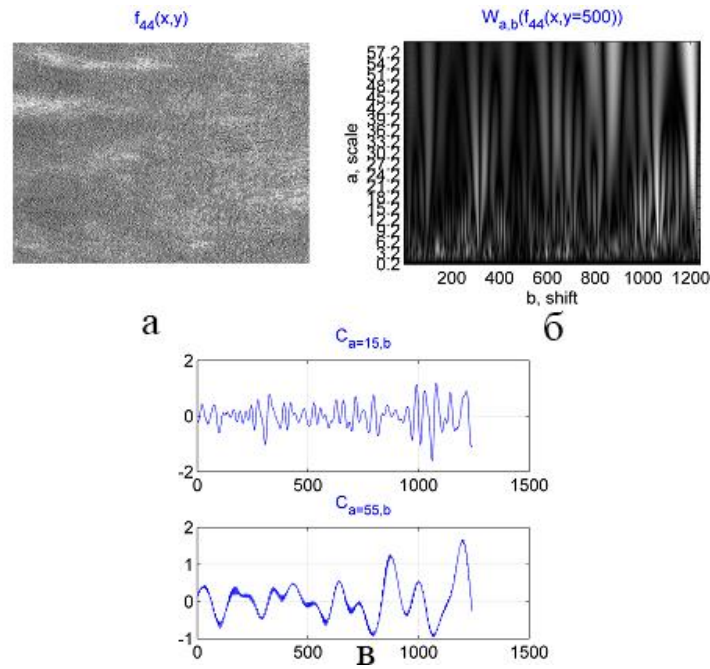


Рис. 4.16. Двомірні розподіли мюллер-матричного зображення  $m_{44}$ , вейвлет-коєфіцієнтів  $W_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  зрізу міокарда при XIXС: а – двомірний розподіл мюллер-матричного зображення  $m_{44}$ ; б – двомірний розподіл вейвлет-коєфіцієнтів  $W_{a,b}(m_{44}(x,y))$ ; в - перерізи вейвлет-коєфіцієнтів на масштабах  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$ .

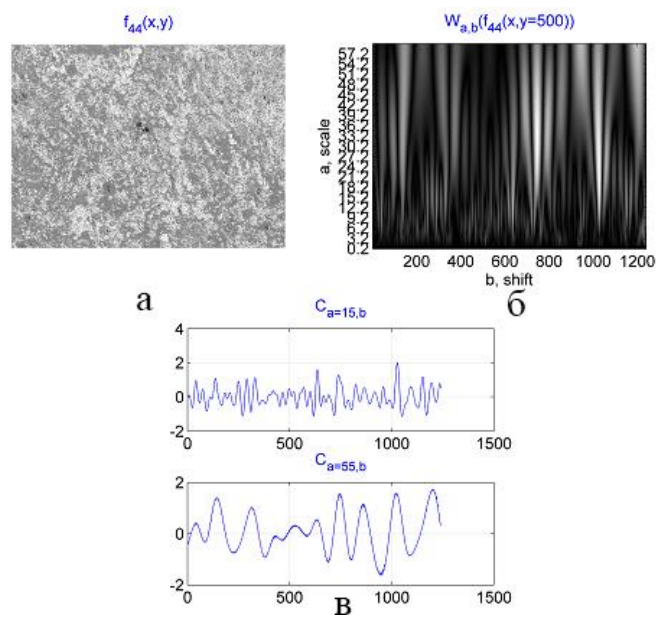


Рис. 4.17. Двомірні розподіли мюллер-матричного зображення  $\Delta m$ , вейвлет-коєфіцієнтів  $W_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  зрізу міокарда

при ГКН: а – двомірний розподіл мюллер-матричного зображення  $\Delta m$ ; б – двомірний розподіл вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}(\Delta m(x, y))$ ; в - перерізи вейвлет-коефіцієнтів на масштабах  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$ .

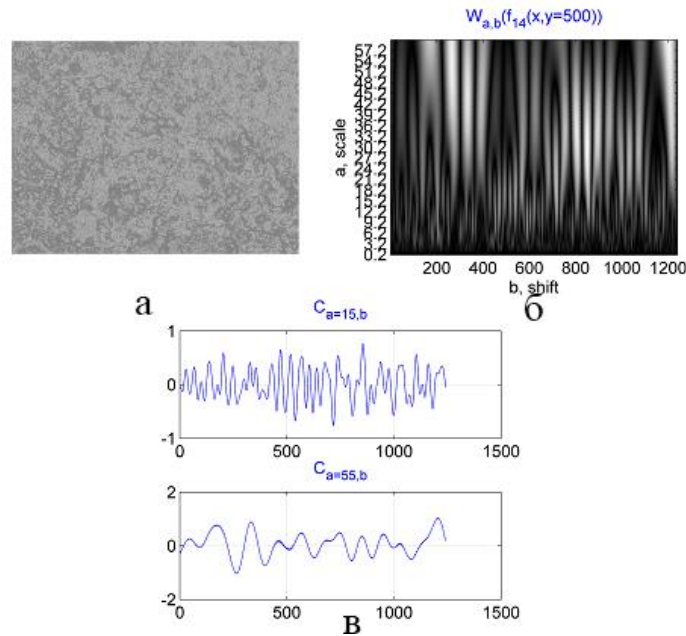


Рис. 4.18. Двомірні розподіли мюллер-матричного зображення  $\Delta m$ , вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}$  та їх різномасштабні перерізи  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  зрізу міокарда при XIXС: а – двомірний розподіл мюллер-матричного зображення  $\Delta m$ ; б – двомірний розподіл вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}(\Delta m(x, y))$ ; в - перерізи вейвлет-коефіцієнтів на масштабах  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$ .

Порівняльний аналіз результатів дослідження координатних, мультимасштабних розподілів вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}(m_{44})$  і  $W_{a,b}(\Delta m)$ , які характеризують мюллер-матричні зображення оптично анізотропних фібрилярних структур зразків тканини міокарда при ГКН та XIXС на первинному та вторинному рівнях виявив найбільші відмінності між ними на рівні малих масштабів  $a_{\min}$  розподілів вейвлет-коефіцієнтів (рис. 4.16 і рис. 4.18). Кількісно на це вказувала модуляція “дрібномасштабних” залежностей  $C_{a=15,b}(\Delta m)$  таких вейвлет-мап.

Найбільш виразно вище згадані зміни спостерігалися для мюллер-матричного зображення  $\Delta m$ , що характеризувало прояви первинної білкової структури міозинових мереж зрізів міокарда. Виявлений факт можна пов'язати з тим, що ішемічне ушкодження полікристалічних фібрилярних мереж міокарда відбуваються не на морфологічному (великомасштабному), а на концентраційному (дрібномасштабному) рівнях його будови. Тобто даним методом візуалізується утворення актиноміозинових мостиків на рівні головок міозину та спіралі актину, що внаслідок дефіциту макроергічних сполук не розриваються.

За рахунок зміни концентрації оптично активних молекул міозину внаслідок виникнення змін, які обумовлені ГКН, зменшувався рівень оптичної активності, що проявлялось у формуванні значень координатного розподілу мюллер-матричного інваріанту  $\Delta m$  відповідного зрізу. Тому зменшувалась глибина модуляції амплітуд вейвлет-коефіцієнтів на малих  $a_{\min}$  масштабах даного азимутально-інваріантного мюллер-матричного зображення первинних міозинових структур.

У межах статистичного підходу (розділ 2, параграф 2.2.2.3.2.1., співвідношення (2.1)-(2.4)) кількісно такий процес характеризувався зменшенням дисперсії  $M_{i=2}(C_{a=15,b}(\alpha))\downarrow$  та відповідному зростанні значень статистичних моментів вищих порядків  $M_{i=3,4}(C_{a=15,b}(\alpha))\uparrow$ , які характеризують розподіли вейвлет-коефіцієнтів - таблиця 4.17.

Таблиця 4.17

**Статистичні моменти 1 – 4-го порядків, які характеризують розподіли  $C_{a=15,b}$  і  $C_{a=55,b}$  вейвлет-коефіцієнтів мапи мюллер-матричних зображень**

**$\Delta m$  зрізів**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
$a_{\min} = 15$			

Середнє, $M_1$	$0,027 \pm 0,0021$	$0,03 \pm 0,0025$	$0,045 \pm 0,0037$
$p_1$		$>0,05$	$<0,001$
$P_2$		$>0,05$	
Дисперсія, $M_2$	$0,12 \pm 0,009$	$0,23 \pm 0,017$	$0,16 \pm 0,013$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	
Асиметрія, $M_3$	$0,24 \pm 0,019$	$0,55 \pm 0,046$	$0,36 \pm 0,034$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	
Ексцес, $M_4$	$1,38 \pm 0,11$	$0,81 \pm 0,074$	$1,19 \pm 0,11$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	
$a_{\max} = 55$			
Середнє, $M_1$	$0,12 \pm 0,009$	$0,09 \pm 0,008$	$0,11 \pm 0,009$
$p_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Дисперсія, $M_2$	$0,23 \pm 0,016$	$0,21 \pm 0,015$	$0,22 \pm 0,018$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Асиметрія, $M_3$	$0,58 \pm 0,045$	$0,31 \pm 0,028$	$0,44 \pm 0,038$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	
Ексцес, $M_4$	$0,86 \pm 0,071$	$0,52 \pm 0,048$	$0,68 \pm 0,055$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	

Найбільш чутливими для діагностики ГКН виявились статистичні моменти  $M_2$ ,  $M_3$  та  $M_4$  на масштабі  $a_{\min} = 15$ , а  $M_3$  та  $M_4$  на масштабі  $a_{\max} = 55$ .

Визначені кількісні параметри відмінності між статистичними моментами, які характеризують розподіли вейвлет-коефіцієнтів на різних масштабах мюллер-матричної мапи первинної структури міозинової сітки для статистично достовірної диференціації зразків міокарда померлих внаслідок ГКН від норми та XIXС:

$$\Delta m(p \times k) \Rightarrow \begin{cases} a_{\min} \rightarrow \Delta M_2 = 1,38; \Delta M_3 = 1,52; \Delta M_4 = 1,33; \\ a_{\max} \rightarrow \Delta M_3 = 1,26; \Delta M_4 = 1,19. \end{cases}$$

Навпаки, вейвлет-аналіз мюллер-матричних зображень  $m_{44}$  вторинної структури міозинових сіток зрізів обох груп виявив більшу чутливість до змін міокарда при ішемії на великих масштабах фібрилярної мережі – таблиця 4.18.

Таблиця 4.18

**Статистичні моменти 1 – 4-го порядків, які характеризують розподіли**

$C_{a=15,b}$  і  $C_{a55,b}$  **вейвлет-коефіцієнтів мюллер-матричних  $m_{44}$  зображень**

**зрізів міокарда**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
$a_{\min} = 15$			
Середнє, $M_1$	0,022±0,0021	0,023±0,021	0,025±0,0022
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $M_2$	0,19±0,014	0,18±0,014	0,16±0,013
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Асиметрія, $M_3$	0,44±0,039	0,45±0,042	0,41±0,034
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Експес, $M_4$	0,71±0,065	0,67±0,054	0,74±0,069
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
$a_{\max} = 55$			
Середнє, $M_1$	0,15±0,011	0,14±0,012	0,16±0,013
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $M_2$	0,29±0,024	0,25±0,021	0,28±0,023
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Асиметрія, $M_3$	1,21±0,095	0,74±0,068	0,96±0,088

$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Експес, $M_4$	$1,46 \pm 0,12$	$1,09 \pm 0,094$	$1,31 \pm 0,11$
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	

Як видно, чутливими до ішемічних змін на великомасштабному морфологічному рівні будови міокарда виявилися статистичні моменти вищих порядків, які характеризують розподіли вейвлет-коефіцієнтів на великому масштабі  $a_{\max} = 55$  мюллер-матричного зображення  $m_{44}(p \times k)$ , а саме  $M_3$  та  $M_4$ .

Визначені кількісні значення відмінності між такими об'єктивними параметрами для статистично достовірної диференціації ГКН зразків міокарда померлих від ХІХС та норми:

$$m_{44}(p \times k) \Rightarrow \{a_{\max} \rightarrow \Delta M_3 = 1,29; \Delta M_4 = 1,31.$$

Результати аналізу інформативності (розділ 2, параграф 2.3, співвідношення (2.7)-(2.9)) ілюструють величини операційних характеристик, які характеризують діагностичну силу посмертної діагностики ГІ міокарда шляхом вейвлет-аналізу мюллер-матричних зображень серцевого м'язу на малому ( $a_{\min} = 15$ ), - таблиця 4.19 і таблиця 4.20 та великому ( $a_{\max} = 55$ ), - таблиця 4.21 і таблиця 4.22 - масштабах.

Таблиця 4.19

**Операційні характеристики вейвлет-аналізу розподілів мюллер-матричних зображень  $\Delta m$  зрізів міокарда на масштабі  $a_{\min} = 15$**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_2$	85 $a = 58, b = 11$	74 $c = 51, d = 18$	77 $a = 53, b = 16$	68 $c = 47, d = 22$
$M_3$	89 $a = 61, b = 9$	79 $c = 54, d = 21$	83 $a = 57, b = 12$	70 $c = 48, d = 21$

$M_4$	94 $a = 64, b = 5$	87 $c = 60, d = 19$	86 $a = 59, b = 10$	72 $c = 50, d = 19$
-------	-----------------------	------------------------	------------------------	------------------------

Таблиця 4.20

**Операційні характеристики вейвлет-аналізу розподілів мюллер-матричних зображень  $m_{44}$  зрізів міокарда на масштабі  $a_{\min} = 15$**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_3$	92 $a = 62, b = 7$	86 $c = 57, d = 12$	77 $a = 53, b = 16$	72 $c = 50, d = 19$
$M_4$	94 $a = 64, b = 5$	90 $c = 61, d = 8$	78 $a = 54, b = 15$	72 $c = 50, d = 19$

Таблиця 4.21

**Операційні характеристики вейвлет-аналізу розподілів мюллер-матричних зображень  $\Delta m$  зрізів міокарда на масштабі  $a_{\max} = 55$**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_3$	94 $a = 64, b = 5$	88 $c = 59, d = 12$	78 $a = 54, b = 15$	72 $c = 50, d = 19$
$M_4$	94 $a = 64, b = 5$	90 $c = 61, d = 8$	81 $a = 56, b = 13$	71 $c = 49, d = 20$

Таблиця 4.22

**Операційні характеристики вейвлет-аналізу розподілів мюллер-матричних зображень  $m_{44}$  зрізів міокарда на масштабі  $a_{\max} = 55$**

$r$	$Se(\alpha),\%$ "1 – 2"	$Sp(\alpha),\%$ "1 – 3"	$Se(\alpha),\%$ "2 – 3"	$Sp(\alpha),\%$ "3 – 2"
$M_3$	94 $a = 64, b = 5$	90 $c = 61, d = 8$	82 $a = 57, b = 12$	73 $c = 51, d = 18$



$M_4$	94 $a = 64, b = 5$	92 $c = 62, d = 7$	84 $a = 59, b = 10$	74 $c = 52, d = 17$
-------	-----------------------	-----------------------	------------------------	------------------------

Аналіз операційних характеристик масштабно-селективного методу вейвлет-аналізу даних мюллер-матричної мікроскопії, що визначають її діагностичну інформативність, виявив зростання (у порівнянні з безпосереднім аналізом мюллер-матричних зображень) збалансованої точності посмертної діагностики міокарда.

На великих масштабах ( $a_{\max} = 55$ ) оцінювання проявів оптичної анізотропії вторинних білкових структур фібрилярних мереж найбільш інформативним виявився статистичні моменти 3-го і 4-го порядків, які характеризують асиметрію та гостроту піку розподілів вейвлет-коефіцієнтів мюллер-матричного зображення  $Z_{44}$  зрізів міокарда обох груп померлих

$$m_{44} \Leftrightarrow \begin{cases} Se = 82\% - 84\% \\ Sp = 72\% - 74\% \\ Ac = 77\% - 79\% \end{cases} .$$

На малих масштабах ( $a_{\min} = 15$ ) оцінювання проявів оптичної активності первинної структури білків міозину найбільш інформативними виявилися статистичні моменти 3-го порядку і 4-го порядків, які характеризують розподіли вейвлет-коефіцієнтів мюллер-матричного

$$\text{інваріанту } \Delta m \text{ зрізів міокарда } \Delta m \Leftrightarrow \begin{cases} Se = 83\% - 86\% \\ Sp = 72\% - 74\% \\ Ac = 77,5\% - 79\% \end{cases} .$$

Одержані результати по визначенню операційних характеристик методу поляризаційної мікроскопії з масштабно-селективним аналізом (таблиці 3.15, 3.16) виявили зростання (до 10%) хорошого рівня збалансованої точності діагностичного тесту -  $Ac(m_{44}) = 79\%$  і  $Ac(\Delta m) = 79\%$ . Таким чином представлений метод посмертної діагностики міокарда на основі методу вейвлет-аналізу азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування зрізів міокарда розширює функціональні

можливості діагностичного тесту при високій якості збалансованої точності та хорошій відтворюваності даних.

#### 4.5. Висновки до розділу 4.

1. Експериментально у рамках традиційної мюллер-матричної мікроскопії досліджено статистичну (статистичні моменти 1 – 4-го порядків), кореляційну (автокореляційні функції) і фрактальну (логарифмічні залежності спектрів потужності) структуру розподілів “орієнтаційного” та “орієнтаційно-фазового” елементів матриці Мюллера фібрилярних мереж зрізів міокарда досліджуваних груп. Виявлено азимутальну залежність координатних розподілів мюллер-матричних зображень, що обумовлює погану відтворюваність даних та достатньо низький рівень збалансованої точності посмертної діагностики міокарда.
2. При апробації методу азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування посмертних змін оптичної анізотропії зрізів міокарда встановлено хороший рівень збалансованої точності ( $A_c \sim 72\%$ ) виявлення ГКН.
3. Вперше розглянуто можливості застосування вейвлет-аналізу азимутально-незалежних мюллер-матричних інваріантів  $r = \{m_{44}(x, y); \Delta m(x, y)\}$  проявів оптичної анізотропії на первинному та вторинному рівнях структури міозинових мереж зрізів у посмертній діагностиці ГІ міокарда.
4. Вейвлет-аналіз мюллер-матричних зображень оптичних проявів первинної та вторинної структури фібрилярної сітки міокарда виявив чутливість набору статистичних моментів 1 – 4-го порядків, які характеризують розподіли амплітуд вейвлет-коефіцієнтів на різних масштабах морфологічної будови до посмертних змін міокарда. На цій основі вперше реалізована посмертна діагностика ГКН міокарда з максимальною збалансованою точністю  $A_c = 79\%$ .

Результати, отримані у даному розділі, висвітлені у наступних публікаціях:

1. Бачинський В.Т. Виявлення ділянок гострої ішемії міокарда шляхом застосування матричного аналізу двопроектного зображення / В.Т. Бачинський, І.Г. Савка, О.Я. Ванчуляк // Мат. 93-ї підсумк. наук. конф. проф.-викл. персоналу БДМУ (14,15,20 лютого, 2012р.). – Чернівці : Медуніверситет, 2012. – С. 33-34.
2. Ванчуляк О.Я. Діагностика гострої коронарної недостатності методом статистичного Мюллер-матричного аналізу полікристалічних міозинових мереж міокарда / О.Я. Ванчуляк // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2013. – №2 (19). – С.38-42.
3. Ванчуляк О.Я. Діагностика гострої коронарної недостатності методом Мюллер - матричного аналізу оптичної анізотропії міозинових мереж міокарда. Статистичний і фрактальний підхід / О.Я. Ванчуляк // Morphologia. – 2015. – Т. 9, № 2. – С. 24-28.
4. Ванчуляк О.Я. Діагностичні можливості методу статистичного Мюллер-матричного аналізу для діагностики гострої коронарної недостатності / О.Я. Ванчуляк // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». – Ужгород, 2013. – Випуск 3 (48). – С. 31-35.
5. Ванчуляк О.Я. Застосування методу мюллер-матричного орієнтаційно-фазового аналізу (статистичний і фрактальний підхід) / О.Я. Ванчуляк // Буковинський медичний вісник. – 2012. – №4 (64). – С. 230-235.
6. Використання методу статистичного Мюллер-матричного аналізу полікристалічних міозинових мереж міокарда для діагностики гострої коронарної недостатності / В.Т. Бачинський, О.Я. Ванчуляк, А.С. Сивокоровська, А.О. Андрійчук // XV конгрес СФУЛТ. – 16-18 жовтня 2014р. – м. Чернівці. – С. 425.
7. Перспективи діагностики гострої коронарної недостатності шляхом використання фрактального аналізу лазерних поляризаційних

- зображень міокарда / А.С. Сивокоровська, О.Я.Ванчуляк, І.Л.Беженар [та ін.] // Буковинський медичний вісник. – 2014. – Т.18, №2 (70) – С. 245-248.
8. Bachinskyi V.T. Fractal analysis of phasic laser images of the myocardium for the purpose of diagnostics of acute coronary insufficiency / V.T. Bachinskyi, O.Ya. Vanchuliak // Proc. SPIE. – 2011. – Vol. 8338. – P. 1-9.
  9. Laser polarimetric techniques used as objective express methods for addressing problems in forensic medicine / V.T. Bachynskiy, O.Ya. Vanchuliak, M.S. Harazdyuk, Yu.V. Sarkisova // Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю «Медицина XXI століття». – Харків, 2015. – С. 92-93.
  10. Laser-polarymetric methods of investigation of biological tissues in forensic medicine – perspectives, realities and the future / V.T. Bachynskiy, T.M. Boychuk, O.Ya. Vanchuliak, O.G. Ushenko // Клінічна та експериментальна патологія. – 2014. – Т. XIII, №3(49). – С.13-22.
  11. On the feasibilities of using the wavelet analysis of Mueller matrix images of biological crystals / V.T. Bachinsky, O.V. Dubolazov, A.G. Ushenko [et al.] // Advances in Optical Technologies. – 2010. – Vol. 2010. – P. 1-9.
  12. Vanchuliak O.Ya. Myocardial changes under the conditions of acute ischemia using the method of the matrix analysis / O.Ya. Vanchuliak, I.V. Liubelia, N.O. Maksymchuk // Abstract book X International Congress of Medical Sciences. – Sofia, Bulgaria, 2011. – P. 222.
  13. Ungurian V.P. Fractal processing of pathological changed muscular / V.P. Ungurian, O.Ya. Vanchuliak // Proc. SPIE. – 2009. – Vol. 7368. – P. 1-12.

## Розділ 5

# ЛАЗЕРНА АВТОФЛУОРЕСЦЕНТНА ПОЛЯРИЗАЦІЙНА МІКРОСКОПІЯ У ПОСМЕРТНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ГОСТРОЇ ШЕМІЇ МІОКАРДА

Тканина міокарда містить значну кількість природних флуорофорів, основними з яких є нікотинамід, флавоноїди та білки багаті на ароматичні амінокислоти (тирозин, фенілаланін, триптофан) чи з порфіриновим кільцем в якості апоферменту (наприклад, міоглобін) [125, 150]. Оскільки кожний флуорофор має властивий характерний спектр абсорбції та емісії, то інформація, отримана внаслідок реєстрації їхнього випромінювання несе інформацію про внутрішню структуру серцевого м'язу.

Важливою здатністю деяких флуорофорів (наприклад нікотинаміддинуклеотиду та флавоноїдів) є здатність змінювати спектри флуоресценції в залежності від стану молекули у редокс парі. Таким чином, дослідження флуоресценції в спектрі емісії вказаних речовин відкривають можливість встановити стан біохімічних процесів, в яких вони беруть участь [69, 226].

При ГКН, як прояві гострої гемічної гіпоксії кардіоміоцитів, відбувається відновлення електронами усіх цитохромів дихального ланцюга, відповідно спостерігається зміна спектру емісії, що може бути зареєстровано за допомогою методу лазерної автофлуоресцентної поляризаційної мікроскопії. Технічний опис методу свідчить про ще одну перевагу поляризаційної мікроскопії: окрім гасіння нерезонансного фону, поляризаційна методика дозволяє керувати формою спектру, виділяючи в ньому ті чи інші лінії.

Таким чином лазерна автофлуоресцентна поляризаційна мікроскопія володіє значним потенціалом для застосування в якості методу діагностики ГІ міокарда та диференціації з іншими станами. З іншої сторони відкритим залишається питання що до безпосередніх параметрів інформативності

методу, оскільки раніше для посмертної діагностики ГІ міокарда його не застосовували [248].

У даному розділі досліджено можливості діагностики настання смерті внаслідок ГКН, використовуючи методи автофлуоресцентної поляризаційної мікроскопії зрізів тканини міокарда.

### **5.1. Мюллер-матричне картографування оптично анізотропних молекулярних ендogenous флуорофорів міокарда у діагностиці причини настання смерті.**

БТ представляють собою структурно-неоднорідні оптично анізотропні середовища, що володіють властивостями поглинання енергії електромагнітного випромінювання. Для опису взаємодії поляризованого світла з такими складними системами необхідні найбільш загальні наближення, засновані з використанням мюллер-матричного формалізму. В даний час в біологічних і медичних дослідженнях використовується безліч практичних методик, заснованих на вимірі й аналізі матриць Мюллера досліджуваних зразків, що безумовно підтверджує їх ефективність [7, 212, 308, 309, 320].

З іншого боку самі тканини можуть бути джерелом електромагнітного випромінювання у видимому спектрі після поглинання ними енергії збудження, тобто БТ здатні до випромінювання шляхом автофлуоресценції. Тому паралельно з мюллер-матричним аналізом інтенсивно розвиваються альтернативні спектральні методи, засновані на діагностичному використанні ефектів флуоресценції молекул та їх комплексів. На цій основі одержано перспективні результати в області діагностики раку органів людини [317-319].

Однак, до сьогодні відсутні дослідження що до апробації даної оптичної технології для завдань судово-медичної експертизи і зокрема для верифікації ГКН та диференціації з іншими станами (наприклад ХІХС).

Разом з тим, враховуючи значну частину випадків даної патології у практиці судово-медичної експертизи та складнощі діагностики перспективним завданням постає розвиток мюллер-матричної моделі на більш загальний випадок флуоресценції двопротенезаломлюючих мереж оптично активних комплексів міокарда і розробка на цій основі методу спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії для встановлення ГІ міокарда.

Експериментальні вимірювання проводилися в стандартному розташуванні стокс поляриметра, модифікованого для досліджень автофлуоресценції БШ (розділ 2, параграф 2.2.2.3.4., рис. 2.19).

Вимірювання координатних розподілів інтенсивності автофлуоресценції ( $I$ ) у проведено у площині світлочутливої площадки цифрової камери, а на основі отриманих даних розраховувався масив ( $p \times k$ ) мюллер-матричних інваріантів, значення яких визначали оптичну активність молекул міозину  $r_{14}$  та ступень кристалізації міокарда  $r_{41}$ .

$$\begin{cases} r_{14} = V_1^{\otimes} - 0,5(V_1^0 + V_1^{90}); \\ r_{41} = 0,5(V_4^0 + V_4^{90}). \end{cases} \quad (5.1)$$

Тут  $V_{i=1;4}^{0;90;\otimes}$  – параметри вектора Стокса в точках цифрового зображення зрізу міокарда, виміряні для серії лінійно ( $0^\circ$ ;  $90^\circ$ ) та право- ( $\oplus$ ) циркулярно поляризованих зондуючих лазерних пучків.

Після чого розраховувалась сукупність їх статистичних моментів першого-четвертого порядків (розділ 2, параграф 2.2.2.3.2.1., співвідношення (2.1)-(2.4)), які характеризували розподіли  $q \equiv \{r_{14;41}\}$ .

В усіх порівняльних дослідженнях посмертної діагностики міокарда (ХІХС – “група 2” – ГКН – “група 3”) використовувалася контрольна група зразків міокарда, померлих внаслідок насильницької смерті з відсутнім агональним періодом – “група 1”.

На рис. 5.1 і рис. 5.2 наведені результати мюллер-матричного картографування лазерної автофлуоресценції зразків міокарда при ГКН та ХІХС.

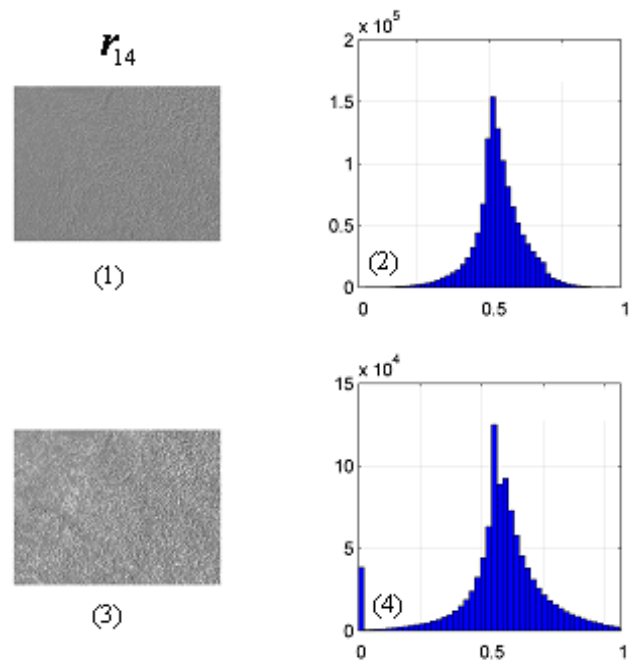


Рис. 5.1. Координатні розподіли  $r_{14}$  та гістограми їх значень міокарда обох груп: 1 – координатні розподіли  $r_{14}$  при XIXС; 2 - координатні розподіли  $r_{14}$  при ГКН; 3 – гістограма значень  $N(r_{14})$  при XIXС; 4 - гістограма значень  $N(r_{14})$  при ГКН.

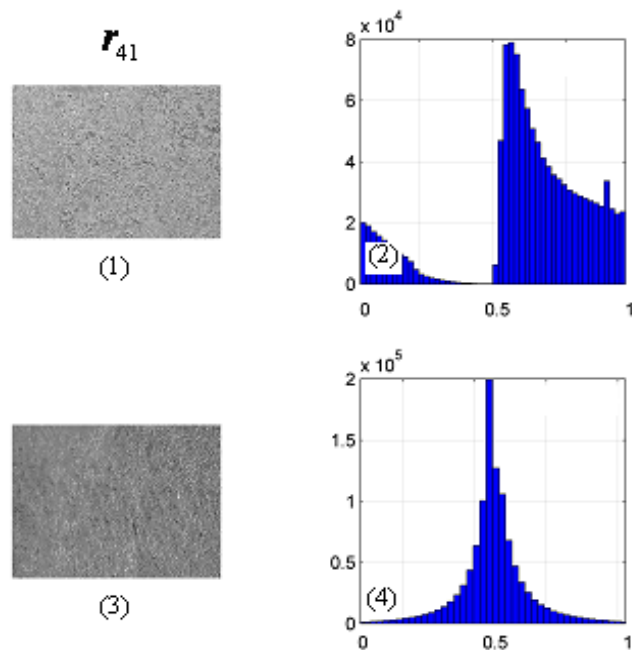


Рис. 5.2. Координатні розподіли  $r_{41}$  та гістограми їх значень міокарда обох груп: 1 – координатні розподіли  $r_{41}$  при XIXС; 2 - координатні розподіли  $r_{41}$



при ГКН; 3 – гістограма значень  $N(r_{41})$  при XIXС; 4 - гістограма значень  $N(r_{41})$  при ГКН.

Результати обчислення статистичних моментів 1 – 4-го порядку розподілів мюллер-матричних інваріантів  $r_{14}$  і  $r_{41}$  при використанні лазерної флуоресцентної поляриметрії наведено в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

**Статистичні моменти 1 – 4-го порядку розподілів мюллер-матричних інваріантів  $r_{14}$  і  $r_{41}$  для методу лазерної флуоресцентної поляриметрії**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	XIXС	ГКН
$r_{14}(\lambda_f)$			
Середнє, $M_1$	0,59±0,047	0,61±0,052	0,54±0,045
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $M_2$	0,1±0,009	0,12±0,012	0,15±0,013
$P_1$		>0,05	<0,001
$P_2$		>0,05	
Асиметрія, $M_3$	0,12±0,011	0,31±0,027	0,19±0,014
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Експес, $M_4$	0,58±0,041	0,46±0,036	0,29±0,027
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
$r_{41}(\lambda_f)$			
Середнє, $M_1$	0,74±0,065	0,65±0,058	0,71±0,062
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $M_2$	0,29±0,024	0,26±0,023	0,14±0,011
$P_1$		>0,05	<0,001
$P_2$		<0,001	
Асиметрія, $M_3$	1,01±0,085	0,78±0,065	1,23±0,11
$P_1$		<0,001	<0,001

$P_2$		<0,001	
Ексцес, $M_4$	$0,96 \pm 0,088$	$0,68 \pm 0,051$	$1,21 \pm 0,11$
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	

Для статистичних моментів  $M_{i=1;2;3;4}(q)$ , які характеризують розподіли  $r_{14}(\lambda_f)$  і  $r_{41}(\lambda_f)$ , встановлено такі діапазони міжгрупових відмінностей:

- $r_{14}(\lambda_f): \Delta M_1 \leftrightarrow 1,28; \Delta M_2 \leftrightarrow 1,28; \Delta M_3 \leftrightarrow 1,57; \Delta M_4 \leftrightarrow 1,75;$
- $r_{41}(\lambda_f): \Delta M_1 \leftrightarrow 1,3; \Delta M_2 \leftrightarrow 1,69; \Delta M_3 \leftrightarrow 2,08; \Delta M_4 \leftrightarrow 2,91.$

Як видно найбільш чутливими до причини настання смерті внаслідок ГКН виявилися статистичні моменти вищих порядків – асиметрія та ексцес, які характеризують розподіли  $q \equiv \{r_{14;41}\}$ .

Результати вивчення операційних характеристик методу мюллер-матричного флуоресцентного картографування наведені в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

### Операційні характеристики методу мюллер-матричного флуоресцентного картографування

$M_i$	$r_{14}(\lambda_f)$			$r_{41}(\lambda_f)$		
	$Se, \%$	$Sp, \%$	$Ac, \%$	$Se, \%$	$Sp, \%$	$Ac, \%$
$M_1$	68	60	64	69	62	63,5
$M_2$	68	56	62	72	62	67
$M_3$	76	68	72	92	80	86
$M_4$	82	72	78	94	84	89

Отримані результати дозволяють стверджувати про високий рівень точності запропонованого методу. Згідно з критеріями доказової медицини параметри  $r_{14}$  ( $Ac = 72\% - 78\%$ ) і  $r_{41}$  ( $Ac = 86\% - 89\%$ ) для верифікації ГКН та диференціації з іншими станами (зокрема XIXC).

## 5.2. Спектрально-селективна лазерна автофлуоресцентна поляриметрія оптично анізотропних структур міокарда у посмертній діагностиці гострої коронарної недостатності.

Відомо, що в кожній області спектрального діапазону результуюча автофлуоресценція являє собою суперпозицію спектрів випромінювання різноманітних флуорофорів з різною локалізацією екстремумів [248].

Справді, тканина міокарда утворена сукупністю як не флуоресціюючих речовин так і достатньою кількістю молекул, що випускають кванти світла при міжрівневих переходах. Такі молекули, як було вище зазначено, характеризуються індивідуальними спектрами поглинання лазерного випромінювання та емісії квантів власного електромагнітного випромінювання у видимій частині спектру, тобто спектру флуоресценції. Важливо, що останні часто перекриваються, і саме тому сумарна автофлуоресцентна мапа зображення міокарда має складний спектральний характер.

Для видимого оптичного діапазону можна виділити три такі області: "короткохвильова" ( $\Delta\lambda_{\max} = 0,45\text{мкм} \div 0,46\text{мкм}$ ); "середньохвильова" ( $\Delta\lambda_{\max} = 0,5\text{мкм} \div 0,55\text{мкм}$ ) та "довгохвильова" область ( $\Delta\lambda_{\max} = 0,63\text{мкм} \div 0,65\text{мкм}$ ).

Найбільш ефективними флуорофорами відповідно до оптичного діапазону видимого електромагнітного випромінювання:

- "Короткохвильова" область – лінійно двопроменезаломлюючі фібрилярні (міозин, колаген, еластин) мережі і оптично активний нікотинамідадениннуклеотид (НАД).
- "Середньохвильова" область – лінійно двопроменезаломлюючі фібрили і оптично активні флавіни.
- "Довгохвильова" область – оптично активні порфірини.

Таким чином, для збільшення точності методу можна провести селективну на певному діапазоні реєстрацію автофлуоресцентного

випромінювання, що одночасно стане відображенням біохімічних та структурних перебудов у кардіоміоцитах при ГІ. Вказані аргументи стали передумовою дослідження застосування спектрально-селективної лазерної автофлуоресцентної поляриметрії оптично анізотропних структур міокарда у посмертній діагностиці ГКН.

На серії рис. 5.3 – рис. 5.5 представлена серія спектрально-селективних на коротко- ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45\text{мкм}$ ), середньо- ( $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55\text{мкм}$ ), та довгохвильовій ( $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63\text{мкм}$ ) області автофлуоресцентних зображень зразків досліджуваних груп.

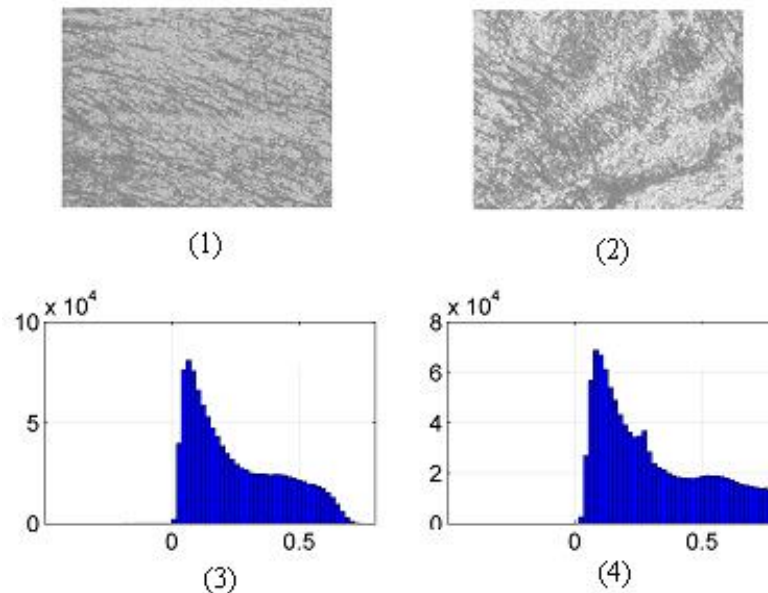


Рис. 5.3. Автофлуоресцентні зображення нативних зрізів міокарда обох груп при  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45\text{мкм}$ : 1 – автофлуоресцентна мапа при XIXС; 2 – автофлуоресцентна мапа при ГКН; 3 – гістограма значень при XIXС; 4 – гістограма значень при ГКН.

Рисунок 5.3. демонструє наявність автофлуоресценції нативних зрізів міокарда у короткохвильовій області, аналіз гістограми значень як при XIXС так і при ГКН показав, що на початкових масштабах інтенсивність різко зростає, досягаючи піку, після чого відбувається значний спад, який переходить у плато. Для XIXС було характерним поступове подальше

спадання до нуля інтенсивності випромінювання в ділянці 0,7 мкм, чого у випадку ГКН не спостерігалось.

Отримані результати можна пов'язати з "короткохвильовою" спектральною локалізацією максимумів автофлуоресценції двоприменезаломлюючих протеїнових мереж, утворених оптично активними молекулами міозину, колагену, еластину та НАД.

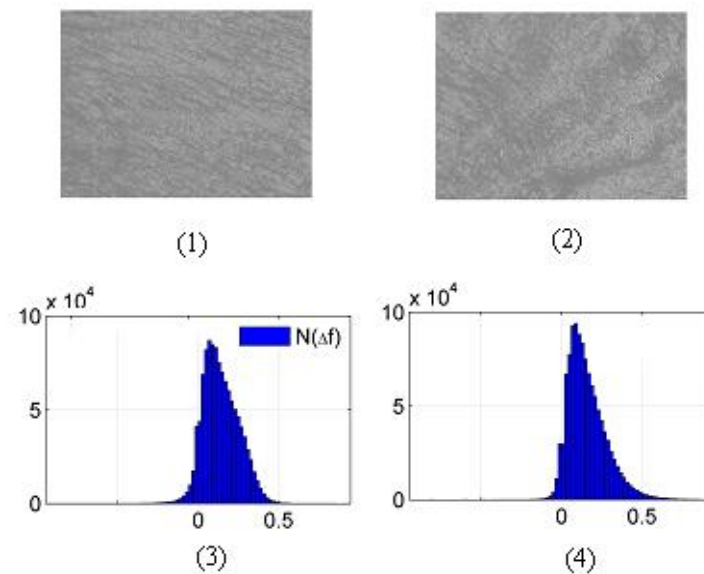


Рис. 5.4. Автофлуоресцентні зображення зрізів міокарда обох груп при  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$ : 1 – автофлуоресцентна мапа при XIXС; 2 – автофлуоресцентна мапа при ГКН; 3 – гістограма значень при XIXС; 4 – гістограма значень при ГКН.

Рисунок 5.4. демонструє наявність автофлуоресценції нативних зрізів міокарда у середньохвильовій області, аналіз гістограми значень як при XIXС так і при ГКН показав, що на початкових масштабах інтенсивність різко зростає, досягаючи піку, після чого відбувається значний спад, який не переходить у плато. Для ГКН та XIXС було характерним спадання до нуля інтенсивності випромінювання в ділянці 0,5 мкм. Таким чином, на відміну від гістограми значень у короткохвильовій області, при  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$  на

гістограмі значень було відсутнє плато та не було значних візуальних розбіжностей між ГКН та ХІХС.

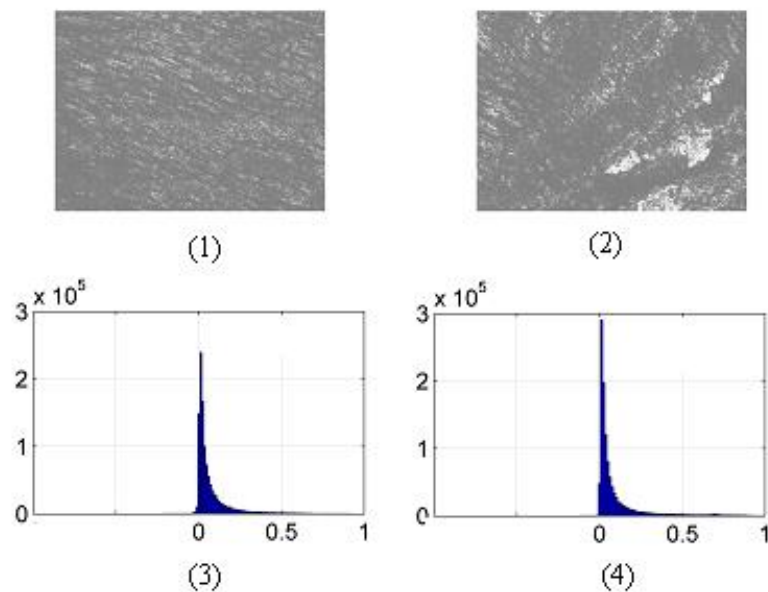


Рис. 5.5. Автофлуоресцентні зображення зрізів міокарда обох груп при  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$ : 1 – автофлуоресцентна мапа при ХІХС; 2 – автофлуоресцентна мапа при ГКН; 3 – гістограма значень при ХІХС; 4 – гістограма значень при ГКН.

Рисунок 5.5 демонструє наявність автофлуоресценції нативних зрізів міокарда у довгохвильовій області, аналіз гістограми значень як при ХІХС так і при ГКН показав, що на початкових масштабах інтенсивність різко зростає, досягаючи піку, після чого відбувається стрімкий спад. Для ГКН та ХІХС було характерним спадання практично до нуля інтенсивності випромінювання в ділянці  $0,25 \text{ мкм}$  та наявність шлейфу флуоресцентного випромінювання мінімальної інтенсивності. Таким чином, на відміну від гістограми значень у короткохвильовій області, при  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$  на гістограмі значень було відсутнє плато та не було значних візуальних розбіжностей між ГКН та ХІХС. Гістограми значень при  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$  та при  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$  значно відрізнялись своєю півшириною, що вказувало на значно менший розкид у довгохвильовій області.

Загалом, отримані дані (рис. 5.3 – рис. 5.5) ілюструють наявність лазерної автофлуоресценції нативних зрізів міокарда в всіх спектральних діапазонах. Для короткохвильової області ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45\text{мкм}$ ) спектра реалізується найвища інтенсивність автофлуоресцентних зображень (рис. 5.3), а у довгохвильовій області ( $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63\text{мкм}$ ) спектру такі зображення найменш інтенсивні (рис. 5.5). Таким чином спостерігалось спадання інтенсивності автофлуоресценції нативних зрізів міокарда як при ГКН, так і при ХІХС, що, відповідно, утруднювало безпосередню верифікацію ПІ міокарда на основі наявності спадання інтенсивності автофлуоресценції в залежності від області реєстрації.

Статистично зазначені між групові зміни структури автофлуоресцентних зображень супроводжуються збільшенням середнього ( $M_1 = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N I_j$ ) і дисперсії ( $M_2 = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (I_j)^2$ ) розподілів  $I_\lambda$  при  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45\text{мкм}$  (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

**Статистичні моменти  $M_{i=1,2,3,4} [(I(p \times k))]$  для методу спектрально-селективної лазерної автофлуоресцентної поляриметрії при  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45\text{мкм}$**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
Середнє, $M_1$	$0,36 \pm 0,025$	$0,51 \pm 0,037$	$0,67 \pm 0,051$
$p_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Дисперсія, $M_2$	$0,12 \pm 0,009$	$0,19 \pm 0,018$	$0,27 \pm 0,023$
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Асиметрія, $M_3$	$0,44 \pm 0,032$	$0,36 \pm 0,033$	$0,41 \pm 0,031$
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Ексцес, $M_4$	$0,41 \pm 0,03$	$0,39 \pm 0,034$	$0,35 \pm 0,028$

$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	

Аналіз даних наведених в таблиці 5.3 показав, що для короткохвильової області найбільш перспективними показниками спектрально-селективної лазерної автофлуоресцентної поляриметрії для встановлення ГКН були середнє та дисперсія, які становили  $M_1$   $0,67 \pm 0,051$  та  $M_2$   $0,27 \pm 0,023$ .

Встановлено статистичні моменти  $M_{i=1;2;3;4}[(I(p \times k))]$  для  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$  (табл. 5.4). Виявлені найбільш чутливі статистичні параметри для диференціації ГІ міокарда на спектрально-селективних автофлуоресцентних поляриметричних зображеннях зрізів. Такими статистичними моментами є середнє  $M_1$  та дисперсія  $M_2$ .

Таблиця 5.4

**Статистичні моменти  $M_{i=1;2;3;4}[(I(p \times k))]$  для методу спектрально-селективної лазерної автофлуоресцентної поляриметрії при**

$$\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$$

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
Середнє, $M_1$	$0,56 \pm 0,045$	$0,33 \pm 0,024$	$0,42 \pm 0,036$
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Дисперсія, $M_2$	$0,21 \pm 0,015$	$0,12 \pm 0,011$	$0,16 \pm 0,014$
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Асиметрія, $M_3$	$0,25 \pm 0,022$	$0,21 \pm 0,017$	$0,24 \pm 0,021$
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Ексцес, $M_4$	$0,21 \pm 0,019$	$0,25 \pm 0,019$	$0,22 \pm 0,017$
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	



Встановлено статистичні моменти  $M_{i=1;2;3;4}[(I(p \times k))]$  для  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$  (табл. 5.5). Виявлені найбільш чутливі статистичні параметри диференціації спектрально-селективних автофлуоресцентних поляриметричних зображень зразків досліджуваних груп в спектральному діапазоні  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$  були середнє та дисперсія.

Таблиця 5.5

**Статистичні моменти  $M_{i=1;2;3;4}[(I(p \times k))]$  для методу для спектрально-селективної лазерної автофлуоресцентної поляриметрії при**

$$\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \text{ мкм}$$

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	XIXС	ГКН
Середнє, $M_1$	$0,43 \pm 0,034$	$0,21 \pm 0,016$	$0,31 \pm 0,025$
$p_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Дисперсія, $M_2$	$0,25 \pm 0,019$	$0,13 \pm 0,012$	$0,19 \pm 0,014$
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Асиметрія, $M_3$	$0,88 \pm 0,074$	$0,72 \pm 0,061$	$0,84 \pm 0,072$
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Ексцес, $M_4$	$0,51 \pm 0,042$	$0,39 \pm 0,024$	$0,45 \pm 0,039$
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	

У таблиці 5.6 представлені дані збалансованої точності методу статистичного аналізу лазерних спектрально-селективних автофлуоресцентних поляриметричних зображень нативних зрізів міокарда. Проаналізовано тільки збалансовану точність, як один із найбільш важливих інтегральних показників, що одночасно відображає чутливість та специфічність методу статистичного аналізу лазерних спектрально-

селективних автофлуоресцентних зображень зрізів міокарда. Аналіз проведено для показників, що були найбільш перспективними для верифікації ГКН на всіх ділянках видимого спектру, тобто для середнього та дисперсії.

Аналіз даних, наведених у таблиці 5.6 показав, що використання статистичного аналізу лазерних спектрально-селективних автофлуоресцентних поляриметричних зображень нативних зрізів міокарда з визначенням середнього та дисперсії найперспективніше на короткохвильовій області видимого спектру  $Ac(\lambda_{\max}^{(1)}) = 76\% - 80\%$ .

Таблиця 5.6

**Точність методу статистичного аналізу спектрально-селективних автофлуоресцентних зображень зрізів міокарда**

Параметри	$Ac(\lambda_{\max}^{(1)}),\%$	$Ac(\lambda_{\max}^{(2)}),\%$	$Ac(\lambda_{\max}^{(3)}),\%$
$M_1$	76 $a = 53; b = 16$ $c = 49; d = 20$	62 $a = 44; b = 25$ $c = 41; d = 28$	66 $a = 48; b = 21$ $c = 45; d = 24$
$M_2$	80 $a = 56; b = 13$ $c = 52; d = 17$	64 $a = 46; b = 23$ $c = 45; d = 24$	69 $a = 49; b = 20$ $c = 46; d = 23$

Таким чином, використання методу лазерної спектрально-селективної автофлуоресцентної поляризаційної мікроскопії зрізів міокарда з хорошою збалансованою точністю  $Ac(\lambda_{\max}^{(1)}) = 76\% - 80\%$  дозволяло здійснювати верифікацію ГКН та диференціацію вказаного патологічного стану з ХІХС, в сумі розширюючи функціональні можливості діагностичного тесту при високій якості збалансованої точності та хорошій відтворюваності даних.

**5.3. Метод спектрально-селективної лазерної мюллер-матричної поляриметрії автофлуоресценції нікотинамідадениннуклеотиду у посмертній діагностиці гострої ішемії міокарда.**

Результати, отримані під час дослідження діагностичних можливостей методу лазерної спектрально-селективної автофлуоресцентної поляризаційної мікроскопії у верифікації ГКН, продемонстрували хорошу збалансовану точність методу при  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ . На вказаній довжині хвилі знаходиться спектр емісії кількох речовин, зокрема НАД, міозину, актину, колагену та еластину. Використання ж когерентного, поляризованого випромінювання дозволяє вивчати фазово-неоднорідні об'єкти, зокрема коаксіальні циліндричні протеїнові фібрили, виокремивши таким чином флуоресценцію НАД.

Для найбільш повної характеристики аморфно-кристалічної структури біологічних тканин в цілому та архітектонічної сітки міозинових фібрил кардіоміоцитів зокрема необхідно застосовувати узагальнюючі підходи, зокрема вектор-параметричний, або мюллер-матричних аналіз. Перспективність такого підходу продемонстрована в розділі 4 даного дослідження, а поєднання автофлуоресцентного та мюллер-матричного аналізу потенційно повинно забезпечити зростання операційних характеристик тесту для верифікації ГКН.

Результати вимірювання координатної та статистичної структури набору мюллер-матричних інваріантів нативних зрізів при ГКН та XIXC для спектральної області  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм} \pm 0,55 \text{ мкм}$  представлені на серії рис. 5.6 – рис. 5.7.

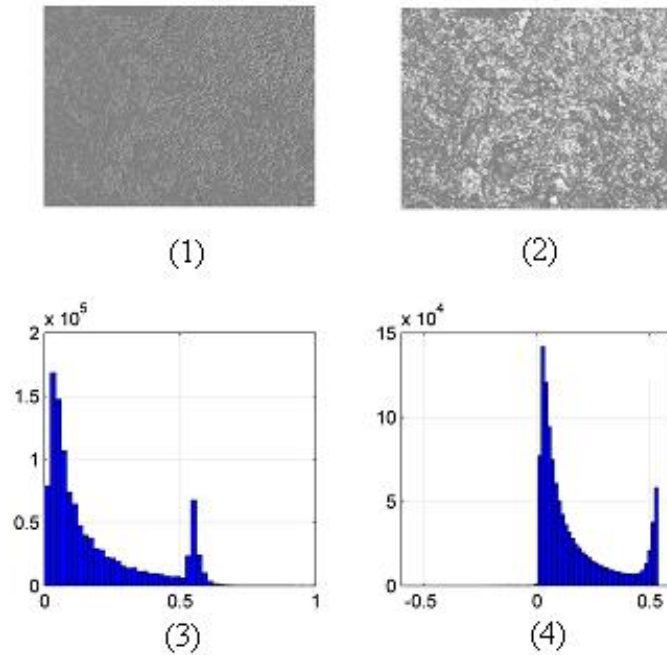


Рис. 5.6. Координатні та ймовірнісні розподіли мюллер–матричного інваріанта  $r_{14}$  лазерної поляризаційної автофлуоресценції зрізів міокарда обох груп для  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ : 1 – координатний розподіл зрізів міокарда з XIXС; 2 - координатний розподіл зрізів міокарда з ГКН; 3 - ймовірнісний розподіл зрізів міокарда з XIXС; 4 - ймовірнісний розподіл зрізів міокарда з ГКН.

Відомо, що при переході НАД в окислений стан він втрачає смугу поглинання і здатність до флуоресценції. Так як ішемічно пошкоджена тканина міокарда (ГКН) характеризується нижчим рН, то слід очікувати збільшення вторинної модуляції автофлуоресцентного випромінювання її оптично активними структурами ( $r_{14} \uparrow$ ).

Вказані факти ілюструють гістограми  $N(r_{14})$  (рис. 5.6, 3, 4). Порівняльний аналіз отриманих даних виявляє перерозподіл ймовірності величини інваріанта  $r_{14}$  в сторону більших значень (рис. 5.6, 4).

Статистично подібна трансформація гістограм  $N(r_{14})$ , які характеризують оптичну активність гістологічного зрізу міокарда з ГКН

детектується протилежними змінами статистичних моментів вищих порядків -  $M_3 \uparrow$  і  $M_4 \downarrow$ .

На рис. 5.7 представлені координатні і ймовірнісні розподіли мюллер–матричного інваріанта  $r_{41}$  лазерної автофлуоресценції фібрилярних структур міозинової сітки міокарда. З одержаних даних випливає достатня близькість гістограм розподілу мюллер–матричного інваріанту  $r_{41}$ , що визначає ступень кристалізації речовини зразків міокарда обох типів.

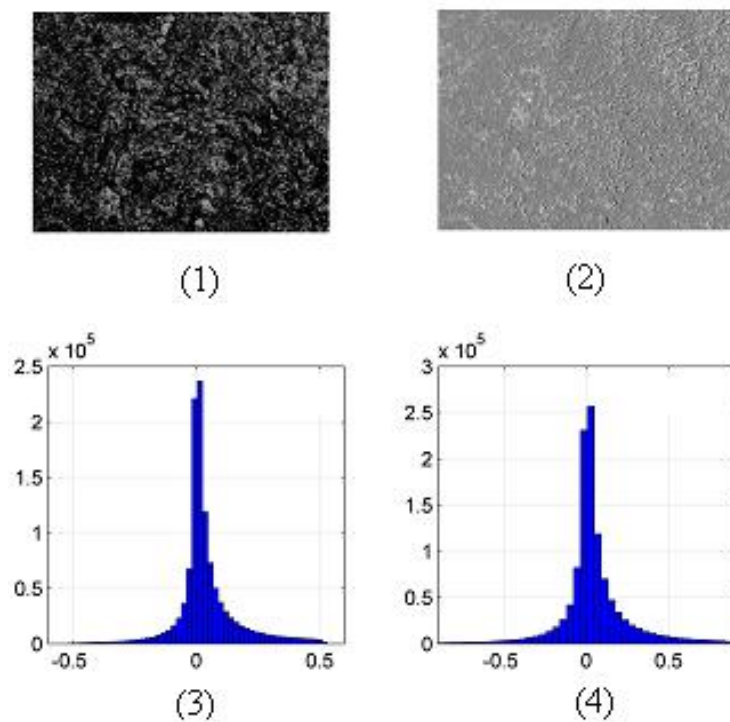


Рис. 5.7. Координатні та ймовірнісні розподіли мюллер–матричного інваріанта  $r_{41}$  лазерної поляризаційної автофлуоресценції зрізів міокарда обох груп для  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ : 1 – координатний розподіл зрізів міокарда з XIXС; 2 - координатний розподіл зрізів міокарда з ГКН; 3 - ймовірнісний розподіл зрізів міокарда з XIXС; 4 - ймовірнісний розподіл зрізів міокарда з ГКН.

У таблиці 5.7 представлені усереднені величини і стандартні відхилення статистичних моментів 1 – 4-го порядків гістограм  $N(r_{14})$  і  $N(r_{41})$ ,

знайдених в межах обох груп зразків для спектрального діапазону  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ .

Таблиця 5.7

**Статистичні моменти  $M_{i=1;2;3;4}[q(r_{14}; r_{41})]$  для методу спектрально-селективної лазерної мюллер-матричної поляриметрії автофлуоресценції при  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
$r_{14}$			
Середнє, $M_1$	$0,69 \pm 0,061$	$0,78 \pm 0,073$	$0,73 \pm 0,068$
$p_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Дисперсія, $M_2$	$0,23 \pm 0,019$	$0,21 \pm 0,014$	$0,24 \pm 0,021$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Асиметрія, $M_3$	$1,04 \pm 0,09$	$1,32 \pm 0,11$	$1,17 \pm 0,09$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	
Екссес, $M_4$	$2,43 \pm 0,19$	$2,02 \pm 0,08$	$2,26 \pm 0,13$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	
$r_{41}$			
Середнє, $M_1$	$0,13 \pm 0,01$	$0,095 \pm 0,008$	$0,12 \pm 0,011$
$p_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Дисперсія, $M_2$	$0,11 \pm 0,024$	$0,08 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,008$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$>0,05$	
Асиметрія, $M_3$	$1,38 \pm 0,11$	$1,12 \pm 0,11$	$1,68 \pm 0,14$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	
Екссес, $M_4$	$1,06 \pm 0,11$	$2,13 \pm 0,36$	$1,44 \pm 0,21$
$P_1$		$<0,001$	$<0,001$
$P_2$		$<0,001$	

Одержані результати підтверджують експериментально знайдені критерії диференціації ГКН від норми та XIXС.

Для оптично активних флуорофорів міокарду виявлено зростання (в 1,5 рази) величини  $M_3$ . Екссес  $M_4$  розподілу мюллер-матричних інваріантів зменшується в 1,6 рази.

У таблиці 5.7 представлені дані збалансованої точності методу спектрально-селективної лазерної мюллер-матричної поляриметрії автофлуоресценції при  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  нативних зрізів міокарда. Проаналізовано тільки збалансовану точність, як один із найбільш важливих інтегральних показників, що одночасно відображає чутливість та специфічність спектрально-селективної лазерної мюллер-матричної поляриметрії автофлуоресценції зрізів міокарда. Аналіз проведено для показників, що були найбільш перспективними для верифікації ГКН на всіх ділянках видимого спектру, тобто для асиметрії та ексцесу.

Таблиця 5.8

**Збалансована точність методу статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матричних зображень зрізів міокарда**

Параметри	$Ac(\lambda_{\max}^{(1)}), \%$	
	$r_{14}$	$r_{41}$
$M_3$	89 $a = 62; b = 7$ $c = 61; d = 8$	65 $a = 48; b = 21$ $c = 45; d = 24$
$M_4$	95 $a = 66; b = 4$ $c = 62; d = 7$	68 $a = 49; b = 20$ $c = 46; d = 23$

Аналіз даних, наведених у таблиці 5.8 показав, що використання методу спектрально-селективної лазерної мюллер-матричної поляриметрії автофлуоресценції нативних зрізів міокарда на  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  з визначенням асиметрії та ексцесу найперспективніше при  $r_{14}$ , що демонструє високий рівень збалансованої точності  $Ac(\lambda_{\max}^{(1)}) = 89\% - 95\%$ .

#### **5.4. Метод спектрально-селективної лазерної мюллер-матричної поляриметрії автофлуоресценції флавінів у посмертній діагностиці гострої ішемії міокарда.**

Результати, отримані під час дослідження діагностичних можливостей методу лазерної спектрально-селективної автофлуоресцентної поляризаційної мікроскопії на  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$  вказували на задовільний результат використання казаного методу для діагностики ГКН із збалансованою точністю статистичних моментів першого та одругого порядку  $Ac(\lambda_{\max}^{(1)}) = 62\% - 64\%$  як класифікаційних детермінаторів. Справді статистичний аналіз даних методу лазерної спектрально-селективної автофлуоресцентної поляризаційної мікроскопії на  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$  нативних зображень міокарда міг виявитись недостатньо чутливим. Іншим поясненням отриманих результатів щодо точності методу було недостатня відмінність у інтенсивності флуоресценції між досліджуваними групами одного із сукупності ключових флуорофорів на вказаній довжині хвилі – флавінів.

У кардіоміцитах флавіни представлені флавінаденидинуклеотидом (ФАД) та флавінмононуклеотидом (ФМН), їх ізоалоксазинове кільце може приєднувати електрони та протони, завдяки чому вказані сполуки виконують функцію переносників. Варто відзначити, що ФАД, виступаючи в ролі простатичної групи для ацил-КоА-дегідрогенази, дигідроліпоїлдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази, гліцерол-3-фосфат дегідрогенази, і таким чином бере участь у всіх ключових енергообмінних процесах в кардіоміоциті. Що до ФМН то він є простетичною групою для різних оксидоредуктаз, включаючи



NADH-дегідрогеназу. Оскільки NADH-дегідрогеназа є першим комплексом в електронтранспортному ланцюгу мітохондрій, нестача кисню при ГІ міокарда природньо веде до гальмування подальшого перенесення електронів до комплексу IV цитохром с оксидази, що спричиняє перебування ФМН у відновленому стані. При переході оптично активних флавінів у відновлений стан при ГІ міокарда, спостерігається втрата смуги власної абсорбції. На основі вище зазначеного, біохімічні процеси формування ГКН потенційно супроводжуються збільшенням вторинної модуляції автофлуоресценції оптично активними сполуками на  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$ .

Покращення детекції відмінностей автофлуоресцентного випромінювання на  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$  при ГКН та нормою і XIXС потенційно можна досягнути, використовуючи матричні методи, які більш детально характеризують оптичну анізотропію фазово-неоднорідних об'єктів. Справді, ферменти і відповідно флавоноїди як їх простатичні компоненти не утворюють у клітині однорідного дисперсного розчину, а формують двокомпонентну аморфно-кристалічну структуру.

Результати вимірювання координатної та статистичної структури набору мюллер-матричних інваріантів зрізів при ГКН та XIXС для спектральної області  $\Delta\lambda_{\max} = 0,5 \text{ мкм} \pm 0,55 \text{ мкм}$  представлені на серії рис. 5.8 – рис. 5.9.

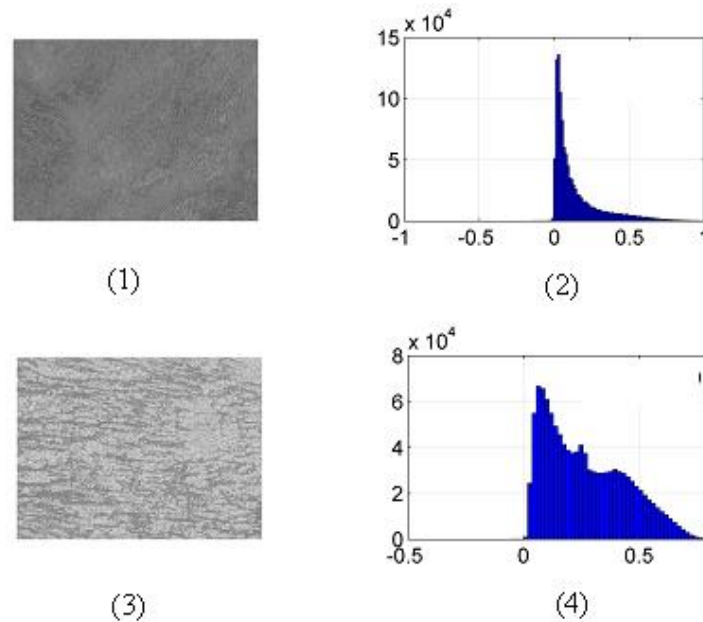


Рис. 5.8. Координатні та ймовірнісні розподіли мюллер–матричного інваріанта  $r_{14}$  лазерної поляризаційної автофлуоресценції зрізів міокарда обох груп для спектрального діапазону  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$ : 1 – координатний розподіл зрізів міокарда з XIXС; 2 - координатний розподіл зрізів міокарда з ГКН; 3 - ймовірнісний розподіл зрізів міокарда з XIXС; 4 - ймовірнісний розподіл зрізів міокарда з ГКН.

Аналіз інформації, наведеної на рис.5.8 свідчить, що візуальна диференціація ГКН з XIXС була утруднена при порівнянні координатних розподілів мюллер–матричного інваріанта  $r_{14}$ . Проте ймовірнісний розподіл мюллер–матричного інваріанта  $r_{14}$  при ГКН, суттєво відрізнявся від ймовірнісного розподілу при XIXС.

Таким чином, поляризаційним критерієм для діагностики ГКН в розглянутому спектральному діапазоні автофлуоресценції може служити умова  $r_{14} \rightarrow \max$  при проведенні методу статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матричних зображень зрізів міокарда.

На рис. 5.9 наведені експериментально отримані координатні і ймовірнісні розподілу даного мюллер-матричного інваріанта  $r_{41}$ , який характеризує ступень кристалізації речовини міокарда.

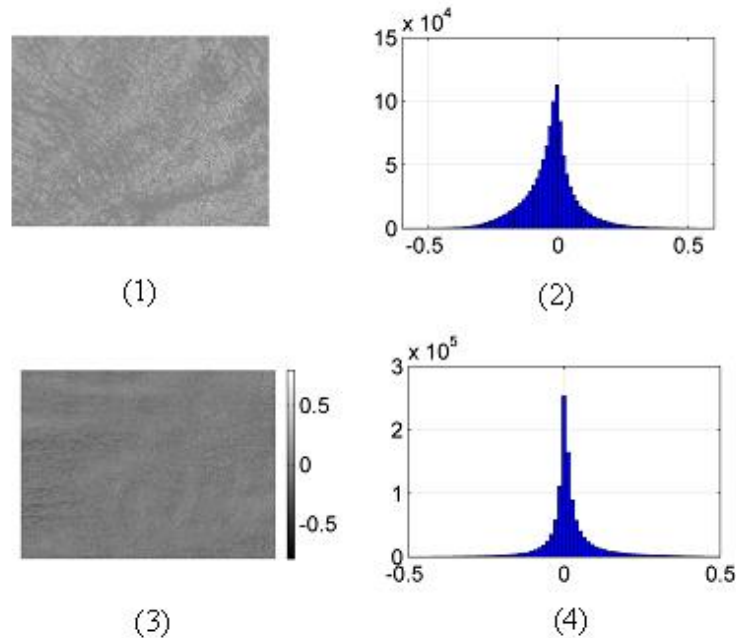


Рис. 5.9. Координатні та ймовірнісні розподіли мюллер–матричного інваріанта  $r_{41}$  лазерної поляризаційної автофлуоресценції зрізів міокарда обох груп для спектрального діапазону  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$ : 1 – координатний розподіл зрізів міокарда з XIXС; 2 - координатний розподіл зрізів міокарда з ГКН; 3 - ймовірнісний розподіл зрізів міокарда з XIXС; 4 - ймовірнісний розподіл зрізів міокарда з ГКН.

Аналіз одержаних даних показав, що відмінності вторинної фазової модуляції автофлуоресценції зразками обох груп мало виражені (рис. 5.9, 1, 3). Структура відповідних гістограм  $N(r_{41})$  практично ідентична (рис. 5.9, 2, 4). Це, мабуть, пов'язано з мінімальною інтенсивністю автофлуоресценції флуорофорів у даному спектральному діапазоні.

Таблиця 5.9 ілюструє усереднені величини і стандартні відхилення статистичних моментів 1 – 4-го порядків гістограм  $N(r_{14})$  і  $N(r_{41})$

розрахованих для зразків досліджуваних груп в спектральному діапазоні  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$ .

Таблиця 5.9

Статистичні моменти  $M_{i=1;2;3;4} [q(r_{14}; r_{41})]$  для методу статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матричних зображень зрізів міокарда

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
$r_{14}$			
Середнє, $M_1$	0,13 ± 0,011	0,14 ± 0,011	0,11 ± 0,0097
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $M_2$	0,23 ± 0,019	0,24 ± 0,013	0,28 ± 0,023
$P_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Асиметрія, $M_3$	1,84 ± 0,15	0,91 ± 0,083	1,43 ± 0,12
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Ексцес, $M_4$	0,21 ± 0,019	0,59 ± 0,041	0,31 ± 0,028
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
$r_{41}$			
Середнє, $M_1$	0,06 ± 0,004	0,05 ± 0,004	0,07 ± 0,005
$p_1$		>0,05	>0,05
$P_2$		>0,05	
Дисперсія, $M_2$	0,21 ± 0,014	0,31 ± 0,024	0,35 ± 0,033
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	
Асиметрія, $M_3$	0,31 ± 0,022	0,11 ± 0,011	0,14 ± 0,012
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	
Ексцес, $M_4$	0,94 ± 0,087	0,67 ± 0,065	0,61 ± 0,054
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		>0,05	

Встановлено, що відмінності між величинами статистичних моментів 1-го та 2-го порядків, які характеризують гістограми  $N(r_{41})$ , наведені на рис. 5.10, не перевищують 10% - 25%. Тобто використання статистичних моментів 1 – 4-го порядків  $N(r_{41})$  в спектральному діапазоні  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55\text{мкм}$  не забезпечує статистично достовірної можливості ГКН з контролем та XIXС.

Для оптично активних флавінів виявлено збільшення діапазонів відмінності (таблиця 5.10) між статистичними моментами вищих порядків ( $M_3$  - 1,49 рази,  $M_4$  - 1,86 рази), які характеризують гістограми розподілу випадкових значень мюллер-матричного інваріанту  $r_{14}$  на спектральному діапазоні  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55\text{мкм}$ . Саме вказані статистичні моменти можуть бути використані для верифікації ГІ міокарда.

Для аналізу інформативності методу методу статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55\text{мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матричних зображень зрізів міокарда проведено визначення збалансованої точності статистичних моментів вищих порядків, що за даними проведеного статистичного аналізу були перспективними для вирішення поставленої мети. У таблиці 5.12 наведено результати визначення клінічної ефективності методу статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55\text{мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матричних зображень зрізів міокарда.

Таблиця 5.10

**Збалансована точність методу статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55\text{мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матричних зображень зрізів міокарда**

$\lambda$	$\lambda_{\max}^{(2)}$	
	$Ac(r_{14}),\%$	$Ac(r_{41}),\%$
$M_3$	82	65

	$a = 59; b = 10$ $c = 58; d = 11$	$a = 48; b = 21$ $c = 45; d = 24$
$M_4$	86 $a = 61; b = 8$ $c = 58; d = 11$	67 $a = 49; b = 20$ $c = 46; d = 23$

Виявлена висока збалансована точність методу статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \text{ мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матричних зображень зрізів міокарда, що становила  $A_c = 82\% - 86\%$ .

### 5.5. Метод спектрально-селективної лазерної поляриметрії автофлуоресценції ендogenous порфіринів у посмертній діагностиці гострої ішемії міокарда.

Методика поляризаційно-варіабельної лазерної автофлуоресцентної мікроскопії зрізів міокарда включала в себе наступні етапи:

1. Опромінення зразка БТ плоскополяризованим лазерним променем;
2. Вимірювання розподілу інтенсивності в площині автофлуоресцентного зображення;
3. Статистичний аналіз розподілів інтенсивності автофлуоресцентного зображення.

Дані, отримані за допомогою методики лазерної автофлуоресцентної мікроскопії нативних зрізів міокарда ілюструє рис. 5.10 (група XIXС і група ГКН), де наведені автофлуоресцентні зображення  $I(p \times k)$  (рис. 5.10, 1, 2) та гістограми розподілів інтенсивності  $N(I)$  (рис. 5.10, 3, 4), що отримані для випадку XIXС та ГКН.

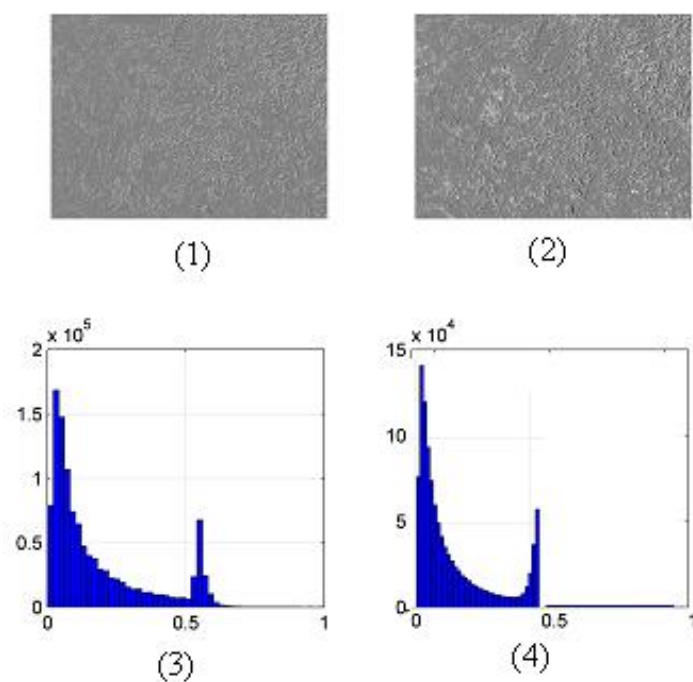


Рис. 5.10. Двомірні та статистичні розподіли інтенсивності автофлуоресцентних зображень міокарда обох груп: 1 – двомірний розподіл інтенсивності при XIXС; 2 - двомірний розподіл інтенсивності при ГКН; 3 – статистичний розподіл інтенсивності при XIXС; 4 – статистичний розподіл інтенсивності при ГКН.

З одержаних даних видно, що для зрізів обох груп (рис. 5.10, 1, 2) реалізуються різні розподіли інтенсивності їх автофлуоресцентних зображень (рис. 5.10, 3, 4). У площині зрізів зразків тканин міокарда при ГКН та XIXС спостерігався широкий спектр напрямків укладання протеїнових волокон. Фібрилярна мережа обох типів зразків була дуже схожа при дослідженні даним методом.

З іншого боку, для тканини міокарда при ГКН концентрація порфірину є більш високою. Цей факт можна пояснити меншими дегенеративно-дистрофічними змінами. Ось чому інтенсивність відповідного автофлуоресцентного зображення виявляється вищою. Кількісно це проявляється у збільшенні півширини гістограми  $N(I)$  і зсуві її екстремуму в сторону більших значень  $I$  (рис. 5.3, 4).

На наступному етапі були проведені статистичні дослідження виявлених відмінностей між поляризаційними автофлуоресцентними зображеннями БШ всіх типів (таблиця 5.11).

Величина репрезентативної вибірки перевірялася методом перехресної перевірки. З цією метою для кожної патології в межах кожної групи було досліджено  $n = 69$  зразків.

Встановлено, що величина середньоквадратичного відхилення середньої величини статистичних моментів  $M_{i=1;2;3;4}(I)$  не перевищує 0,025. Даний рівень відповідає величині статистично достовірного довірчого інтервалу  $p < 0,05$ .

Диференціація зразків БШ здійснювалася шляхом перехресного порівняння чотирьох гістограм розподілів  $M_{i=1;2;3;4}(I)$

Якщо середнє значення  $\bar{M}_i(I)$  в групі 1 лежить поза стандартного відхилення  $\sigma$  групи 2 відмінність вважається статистично достовірною.

При цьому актуальним виявляється аналіз області перекриття  $M_{i=1;2;3;4}(I)$ , які визначають чутливість  $Se$ , специфічність  $Sr$  і збалансовану точність  $Ac$  (табл. 5.11).

Таблиця 5.11

**Середні ( $\bar{M}_{i=1;2;3;4}$ ) і стандартні відхилення ( $\pm \sigma$ ) статистичні моменти**

$M_{i=1;2;3;4}$  для спектрально-селективної лазерної поляриметрії

**автофлуоресценції ендогенних порфіринів**

Статистичні моменти	Причина смерті		
	Контроль	ХІХС	ГКН
Середнє, $M_1$	$0,63 \pm 0,055$	$0,61 \pm 0,057$	$0,67 \pm 0,061$
$p_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	
Дисперсія, $M_2$	$0,28 \pm 0,023$	$0,25 \pm 0,021$	$0,31 \pm 0,025$
$P_1$		$>0,05$	$>0,05$
$P_2$		$>0,05$	



Асиметрія, $M_3$	$1,44 \pm 0,12$	$0,76 \pm 0,062$	$1,23 \pm 0,11$
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	
Ексцес, $M_4$	$0,21 \pm 0,014$	$0,44 \pm 0,034$	$0,32 \pm 0,026$
$P_1$		<0,001	<0,001
$P_2$		<0,001	

Порівняльний аналіз отриманих даних показав, що відмінності між величинами середніх  $\bar{M}_{i=1;2;3;4}(I)$  моментів всіх порядків є статистично достовірними. Разом з тим для всіх гістограм  $N(\bar{M}_i)$  має місце міжгрупове перекриття.

Визначені наступні кількісні відмінності між  $\bar{M}_{i=1;2;3;4}(I)$ :

$$\begin{cases} \Delta M_1 = 1,17; \\ \Delta M_2 = 1,22; \\ \Delta M_3 = 1,62; \\ \Delta M_4 = 1,79. \end{cases}$$

Виявлено, що найбільш чутливими ( $\Delta M_{i=1;2;3;4}(I) = \max$ ) є статистичні моменти 3-го і 4-го порядків, які характеризують гістограми  $N(I_f)$ .

З іншого боку, чим більше  $\Delta M_{i=1;2;3;4}(I)$ , тим менше "перекриття" гістограм (рис. 5.3). Тому для таких параметрів більш інформативним ( $Se \uparrow$ ;  $Sp \uparrow$ ;  $Ac \uparrow$ ) виявляється статистичний момент 4-го порядку (табл. 5.3).

Таблиця 5.12

### Операційні характеристики методу спектрально-селективної лазерної поляриметриї автофлуоресценції ендогенних порфіринів

Назва критерію	$M_i$	Значення критерію
$Se(M_i)\%$	$M_1$	69,8
	$M_2$	71,4
	$M_3$	93,6

	$M_4$	88,9
$Sp(M_i)\%$	$M_1$	65,2
	$M_2$	66,7
	$M_3$	87,3
	$M_4$	85,7
$Ac(M_i)\%$	$M_1$	65,65
	$M_2$	69,05
	$M_3$	90,45
	$M_4$	87,3

Порівняльний аналіз операційних характеристик методу поляризаційно-варіабельної автофлуоресценції виявив оптимальні параметри для диференціації міокарда обох типів – статистичні моменти 3-4 – го порядку:

$$Se(M_{3;4}) = 86,7\% - 93,6\%; Sp(M_{3;4}) = 85,7\% - 87,3\%; Ac(M_{3;4}) = 87,3\% - 90,4\%$$

Таким чином, спектрально-селективне картографування флуоресценції порфіринів виявилось ефективним у диференціальній діагностиці посмертних змін міокарда внаслідок ГКН та диференціації з ХІХС.  $Se(M_{3;4}) \sim 90\%$  та  $Ac(M_{3;4}) \sim 90\%$  відповідали відмінній якості діагностичного тесту відповідно до положень доказової медицини.

## 5.6. Висновки до розділу 5.

1. На основі узагальненої мюллер-матричної моделі флуоресценції двоприменезаломлених мереж оптично активних комплексів БТ розроблений метод спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії для посмертної діагностики ішемії міокарда.
2. Визначено мюллер-матричні азимутально-незалежні інваріанти лазерної автофлуоресценції, що характеризують поляризаційні прояви флуоресценції порфіринів на тлі лінійного двоприменезаломлення та оптичної активності протеїнів міокарда при ГКН.

3. Проведено дослідження в рамках статистичного підходу діагностичних можливостей методу мюллер-матричного картографування автофлуоресцентних зображень у посмертній діагностиці ГКН.
4. Продемонстрована діагностична ефективність статистичного аналізу координатних розподілів мюллер-матричних інваріантів  $r_{14}$  спектрально-селективної лазерної поляризаційної автофлуоресценції  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  у посмертній діагностиці ГІ міокарда із відмінною збалансованою точністю  $A_c = 95\%$ .
5. Продемонстрована діагностична ефективність методу спектрально-селективної лазерної поляриметрії автофлуоресценції ендогенних порфіринів, що з відмінною збалансованою точністю  $A_c = 90\%$  дозволяв верифікувати ГКН та проводити диференціацію з іншими патологічними станами (ХІХС).
6. Продемонстровано високу ефективність методу спектрально-селективної лазерної автофлуоресцентної поляриметрії в задачі посмертної діагностики ГІ міокарда.

## РОЗДІЛ 6

### ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАДИЦІЙНИХ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОЇ КОРОНАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ТА МЕТОДУ СТАТИСТИЧНОГО АНАЛІЗУ СПЕКТРАЛЬНО- СЕЛЕКТИВНИХ АВТОФЛУОРЕСЦЕНТНИХ МЮЛЛЕР- МАТРИЧНИХ ЗОБРАЖЕНЬ

Традиційно при підозрі на ГКН під час автопсії ставлять припущення, базуючись на виявленні таких макроскопічних ознаках, як строкатість міокарда, його в'ялість, розширення порожнини лівого шлуночка, свіжі тромби в коронарних артеріях та відсутність іншої причини даних змін. В наступному зразки міокарда забираються для проведення дослідження у відділенні судово-медичної гістології [63, 77, 100]. На результатах ГОПФ забарвлення встановлюється заключення про ГКН, як причину смерті [75, 84]. Результати, отримані вказаним способом певним чином залежать від досвіду, кваліфікації виконавця та стану реактивів, що вносить суб'єктивний фактор у судово-медичне заключення. Використання методу, що базується на математичному аналізі зображень міокарда з ПІ виключає вплив даних факторів, що сприяє підвищенню об'єктивності.

У розділі наведені порівняльні результати визначення гострого ішемічного ушкодження міокарда за традиційними методами та за допомогою статистичного аналізу зображень спектрально-селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ . Вказано дані їх операційних характеристик.

#### **6.1. Результати встановлення ішемії міокарда ГОПФ забарвленням.**

Припущення про наявність ГКН ставили під час автопсії. Зокрема базуючись на виявленні таких макроскопічних ознаках, як строкатість міокарда, його в'ялість, розширення порожнини лівого шлуночка, свіжі

тромби в коронарних артеріях та відсутність іншої причини даних змін спочатку виділено 90 випадків підозри на ГКН.

В наступному верифікація проводилась за допомогою методу ГОПФ, що дозволяє виявляти як ішемічні так і некоронарогенні, ушкодження міокарда, забарвлюючи при цьому еритроцити, фібрин і сполучнотканинні структури, що дозволило проводити комплексне дослідження міокарда.

Ішемізовані кардіоміоцити верифікували за малиново-рожевим забарвленням, тоді як не уражені кардіоміоцити забарвлювались в жовто-зелений колір. При забарвленні ГОПФ виявлялись як дрібні вогнища ГІ (малиново-рожеве забарвлення в основному у перинуклеарній ділянці) так і середні та великі (субтотальна фуксинофільна дегенерація). Еритроцити забарвлювались в червоний колір.

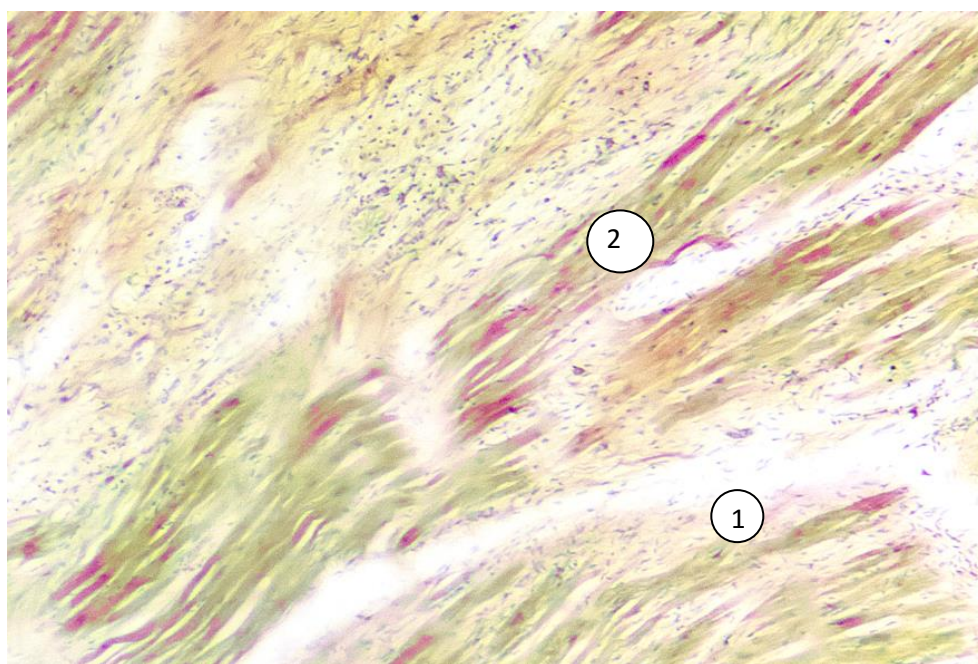


Рис.6.1. Ділянка міокарда зразка при ГКН. Забарвлення ГОПФ (x100):

2- інтактні кардіоміоцити; 2 – ішемізовані кардіоміоцити.

На рисунку 6.1 проілюстровано зріз міокарда людини у випадку ГІ. Наявне нерівномірне забарвлення міокарда, чітко виділяється малиново-рожевим зона ішемії. В зоні ГІ кардіоміоцити хвилеподібної форми, наявне їх перескорочення, що проявляється більш інтенсивним забарвленням

(субсегментарні контрактири). Виражена дрібно - і середньовогнищева фрагментація. Наявні місця розриву міокардіофібрил. Стан кровонаповнення міокарду характеризувався наявністю ділянок із судинами, що спалились та ділянок дифузного венозного вено-капілярного повнокрів'я із складжем еритроцитів. Наявний незначний набряк строми.

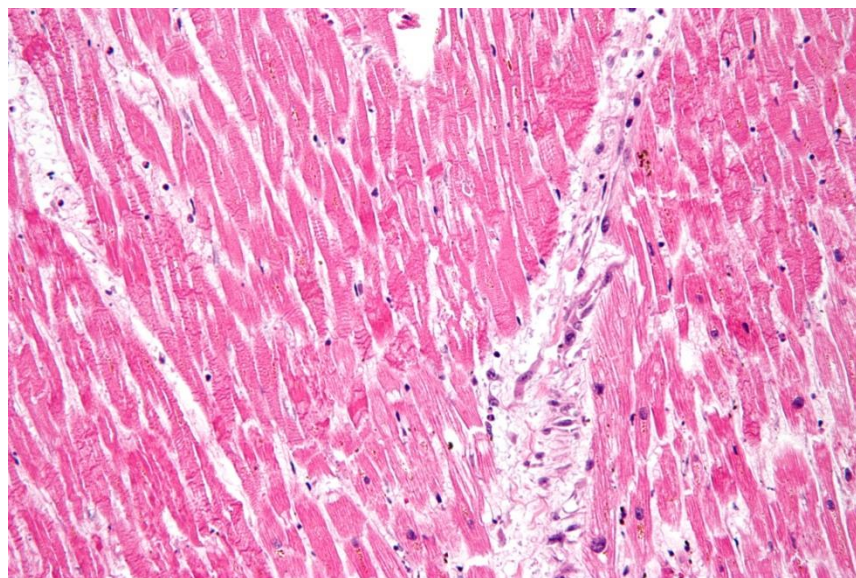


Рис.6.2. Ділянка міокарда зразка при ГКН. Забарвлення гематоксилін -еозин (x200)

При забарвленні гематоксилін-еозином (рис. 6.2) відмічалось нерівномірне забарвлення кардіоміоцитів. Дифузне виражене венозне і капілярне повнокров'я міокарда з складжем еритроцитів у капілярах. Слабо виражений набряк строми. У зрізах представлені невеликі коронарні артерії з практично незміненими стінками, окремі з них в стані дистонії, слабковираженого спазму, оточені периваскулярним кардіосклерозом на початковій стадії. В окремих ділянках спостерігалась зерниста дистрофія кардіоміоцитів, як свідчення гострої ішемії спостерігались контрактурні ушкодження.



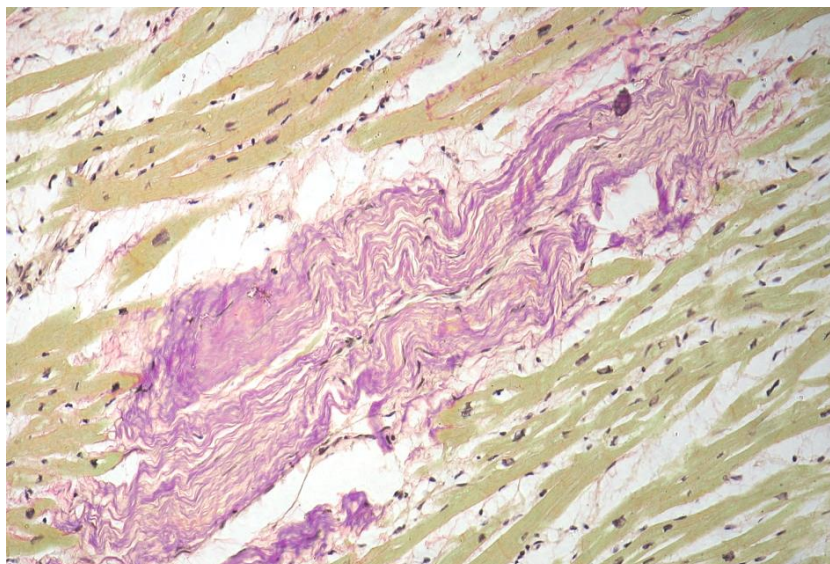


Рис.6.3. Ділянка міокарда зразка при ХІХС. Забарвлення ГОПФ (x200):

Рисунок 6.3 ілюструє патогістологічну структуру міокарда при ХІХС при забарвленні ГОПФ. Кардіоміоцити в стані гіпотрофії. Серцеві волокна забарвлювались в жовто-зелений колір, проте в окремих ділянках відмічено вогнища фуксинофілії. В окремих місцях відмічено дрібновогнищеву фрагментацію м'язових волокон. Виразений сітчастий кардіосклероз: колагенові волокна забарвлювалися в сіро - бузковий колір, а еластичні волокна в яскраво-червоний. Наявний незначний набряк строми. Спостерігалось нерівномірне кровонаповнення міокарда з переважанням вогнищ вираженого венозного і капілярного повнокров'я, в окремих ділянках спостерігались паретично дилатовані судини з еритростазом, поділом крові на плазму і формені елементи. На зрізі коронарні артерії дрібного калібру з нерівномірним потовщенням стінок внаслідок коронаросклерозу. Відмічався нерівномірно виражений набряк строми.

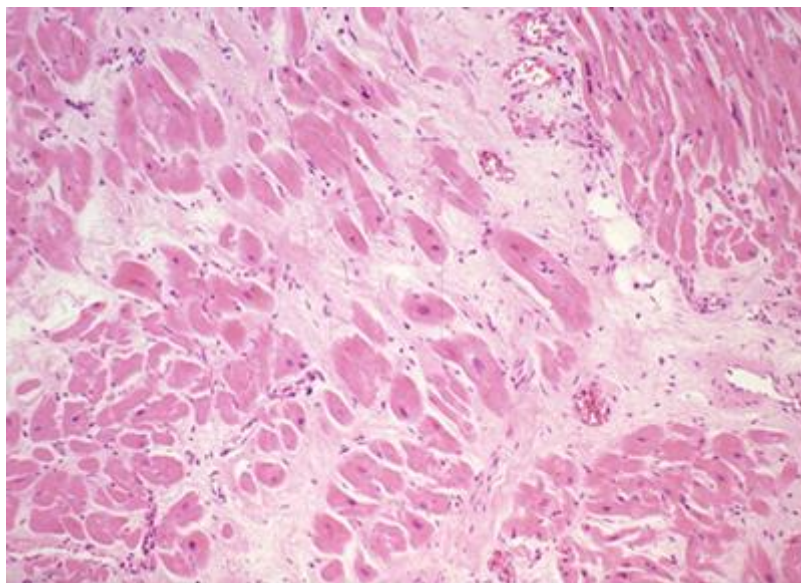


Рис.6.4. Ділянка міокарда зразка при ХІХС. Забарвлення гематоксилін -еозин (x200)

При забарвленні гематоксилін-еозином (рис. 6.4) спостерігалось нерівномірне забарвлення кардіоміоцитів. Практично у всіх полях зору відмічено різко виражену зернисту дистрофію кардіоміоцитів. На окремих препаратах відмічено субтотальну гіпертрофію кардіоміоцитів, що проявлялось їх потовщенням, а на інших спостеріголось стоншення волокон серцевого м'яза – їх атрофія. На препаратах чітко виділялись великі гіперхромні ядра. У цитоплазмі груп гіпертрофованих м'язових волокон подекуди візуалізувалася дрібнокрапельна жирова дистрофія (по відсутності забарвлення). В окремих місцях спостерігалась дрібновогнищева фрагментація м'язових волокон міокарда, як ознака можливого порушення серцевого ритму. Відмічався нерівномірно виражений набряк міжм'язової стромы. Помірно виражений дифузний дрібно - і середньовогнищевий кардіосклероз сітчастого типу. Спостерігалось нерівномірне кровонаповнення серцевого м'язу з переважанням вогнищ венозного та капілярного повнокров'я, окремі судин паретично розширені. В просвіті судин еритростаз, поділ крові на плазму та формені елементи, незначний внутрішньосудинний лейкоцитоз. У зрізах представлені невеликі та



середнього калібру коронарні артерії з нерівномірним потовщенням стінок за рахунок різко вираженого коронаросклерозу, із звуженим просвітом, в окремих судинах дистонія, нерізкий спазм стінок. Стеноз коронарних судин варіював від практично відсутнього до практично повної оклюзії просвіту. В просвіті окремих артерій виявлялися змішані тромби. На окремих ділянках зрізу були наявні артерії з помірним периваскулярним продуктивним запаленням. Відмічено одиничні дрібні вогнища ліпоматозу міокарда.

Таким чином проводилась верифікація ГКН та здійснювалась диференційна діагностика з ХІХС.

На основі здійсненого ГОПФ забарвлення 90 зразків міокарда людей діагноз ГКН був підтверджений у 81 випадку, у трьох випадках результат був умовно позитивний, а у шести діагноз не підтвердився. При дослідженні зразків даної групи методом статистичного аналізу зображень спектрально-селективної автофлуоресцентної Мюллер-матричної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  отримано аналогічні оптичні показники у 85 випадках. Із групи, що відповідає негативному результату за гістохімічним дослідженням у одному випадку діагноз ГКН був встановлений.

Результати лінійного регресійного аналізу чутливості та специфічності (ROC-аналізу) при використанні методів ГОПФ забарвлення та статистичного аналізу зображень спектрально-селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної мікроскопії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  для діагностики ГКН ілюструють рис. 6.4 та 6.5.

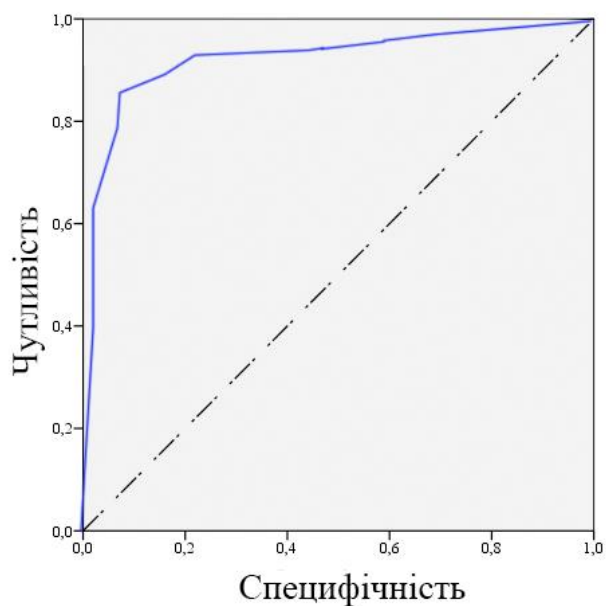


Рис. 6.4. ROC – крива, розрахована для ГОПФ забарвлення в діагностиці гострої коронарної недостатності.

Площа під кривою (AUC), розрахована для методу ГОПФ забарвлення в діагностиці ГКН складала 0,902.

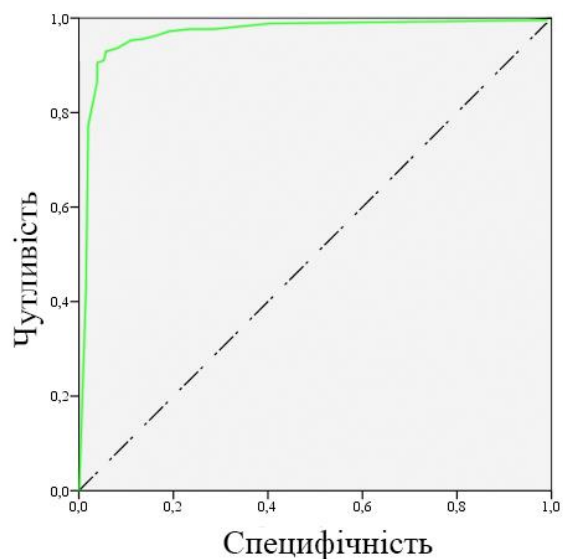


Рис. 6.5. ROC – крива, розрахована для методу статистичного аналізу зображень спектрально-селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \mu\text{м}$  в діагностиці гострої коронарної недостатності.

AUC, розрахована для методу статистичного аналізу зображень спектрально-селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  в діагностиці ГКН становила 0,954, що на 6% більше ніж AUC для ГОПФ забарвлення.

Отримані результати свідчать про більшу діагностичну чутливість та специфічність методу статистичного аналізу зображень спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  у порівнянні з гістохімічним дослідженням при діагностиці ГКН.

Гістологічне дослідження 100 зразків міокарда людей з підозрою на ХІХС підтвердило діагноз у 91 випадку, у семи випадках діагноз був умовно позитивний та у двох негативний. При дослідженні зразків даної групи за допомогою методу статистичного аналізу зображень спектрально-селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  було виявлено оптичні показники, що підтверджували діагноз у 97 випадках та у трьох спростовували.

Результати ROC-аналізу при використанні методів ГОПФ забарвлення та методу статистичного аналізу зображень спектрально-селективної автофлуоресцентної мікроскопії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  в діагностиці ХІХС наведені на рис. 6.6 та 6.7.

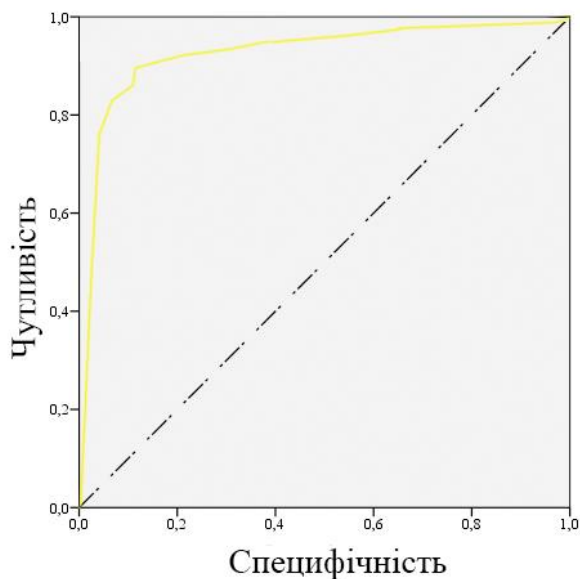


Рис. 6.6. ROC – крива, розрахована для ГОПФ забарвлення в діагностиці хронічної ішемічної хвороби серця.

AUC, розрахована для методу ГОПФ забарвлення в діагностиці ХІХС становила 0,923.

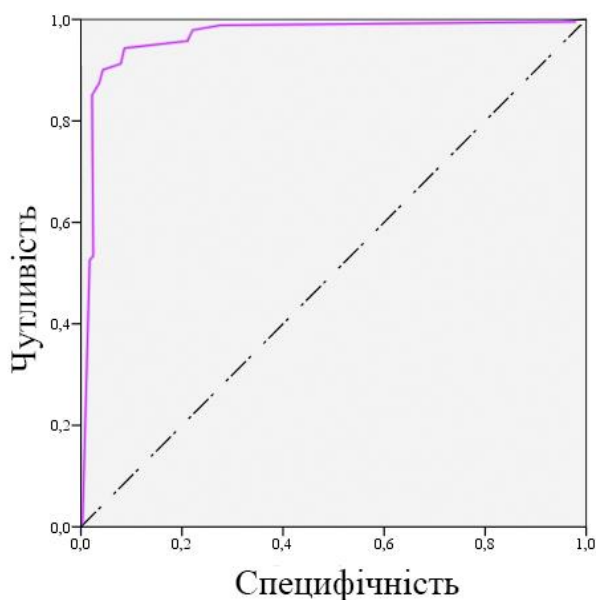


Рис. 6.7 ROC – крива, розрахована для методу статистичного аналізу зображень спектрально-селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \mu\text{км}$  в діагностиці хронічної ішемічної хвороби серця.

AUC, розрахована для методу статистичного аналізу зображень спектрально-селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  в діагностиці XIXC становила 0,946, що на 3% перевищує аналогічний показник для ГОПФ забарвлення.

Отримані результати свідчать про більшу діагностичну чутливість та специфічність методу статистичного аналізу зображень спектрально-селективної мюллер-матричної автофлуоресцентної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  у порівнянні з класичним дослідженням із ГОПФ забарвленням при діагностиці ГКН. Результати порівняльного дослідження констатують перевагу методу статистичного аналізу зображень спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  також для диференціації ГКН та XIXC.

## 6.2. Висновки до розділу 6.

1. Встановлено, що при використанні методу ГОПФ забарвлення можлива діагностика ГКН та диференціація з IXC.

2. Доведено, що застосування методу автофлуоресцентної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  забезпечує діагностику ГКН та диференціальну діагностику з XIXC.

3. Проведено ROC-аналіз як відображення співвідношення між чутливістю та специфічністю, встановлено кількісну інтерпретацію ROC-кривих при використанні як класичного методу ГОПФ забарвлення так і спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ .

4. Встановлено наявність кращих діагностичних характеристик методу автофлуоресцентної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  у порівнянні з класичним методом ГОПФ забарвлення як для діагностики ГКН так і для диференціації з XIXC.

Результати, отримані у даному розділі, висвітлені у наступній публікації:

1. Modern prospective forensic methods for diagnosis of ischemic damage of the human myocardium / V. Backinskiy, O. Vanchuliak, O. Pavlyukovich [et al.] // *Folia Societatis Medicinae Legalis Slovacae*. – 2015. – Vol. 5, №1. – P. 23-25.

## АНАЛІЗ Й УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У розділі наведено результати обговорення даних дослідження можливостей встановлення ГКН за допомогою ПКМ, їх поєднання з автофлуоресцентним аналізом з наступним опрацюванням отриманих даних методами статистичного, фрактального, автокореляційного чи вейвлет-аналізу.

Значна увага у розділі приділяється розкриттю сутності зв'язків між проявами ГКН та їх відображенні у зміні структури отриманих зображень міокарда.

Проведено співставлення отриманих новітніх результатів із наявними у літературних джерелах.

За даними вчених (І.В. Іркін, В.Д. Мішалов, Б.В. Михайличенко, В.В. Войченко) у судово-медичній практиці раптова смерть (РС) складає 75-80% усіх секційних випадків і переважно настає за умов неочевидності або за нез'ясованих обставин, має підозру на насильницьку смерть, оскільки не супроводжується виразними зовнішніми ушкодженнями.

Однією з найбільш поширених і важко діагностованих форм раптової смерті є раптова серцева смерть (РСС), в основі якої можуть лежати окремі захворювання – ішемічна хвороба серця, міокардити, кардіоміопатії, уроджені вади серця та інші. (Л.В. Кактурский, 2005). За визначенням ВООЗ, раптова серцева смерть – це смерть практично здорових людей у перші 6 годин після появи симптомів захворювання. У 95% випадків вона настає протягом однієї години, з них – у 73% випадків упродовж перших 10 хвилин. Не менш важливим є діагностика (чи диференційна діагностика) гострого інфаркту міокарда. Секційне дослідження таких випадків вимагає від експерта знання чітких критеріїв диференційної діагностики гострої ішемії міокарда, наслідком якої можуть бути випадки РСС чи гострий інфаркт міокарда. Однак, на думку Г.Г. Автандилова (2000), судово-медичні експерти

володіють цими критеріями не в достатньому обсязі при секційному дослідженні трупа.

Біля 80% випадків РСС зумовлені ІХС, а основний механізм розвитку РСС – аритмогенний, так як у 80% випадків її причиною є фібриляція шлуночків, частіше за все спровокована шлуночковою тахікардією, рідше – брадикардією і асистолією. Така раптова смерть клініцистами визначена як раптова коронарна смерть (РКС) і має таке визначення: раптова коронарна смерть (первинна зупинка серця). Справді, ішемічна хвороба серця як показано в дослідженнях міжнародних ініціативних груп є лідируючою причиною смерті як серед усіх нозологій, так і лежить в основі більш ніж 80% випадків раптової серцевої смерті у розвинених країнах [27, 72, 301].

Найбільш частою причиною РКС є коронарний спазм, тривалість якого складає до 6 годин. Раптова оклюзія коронарних судин, що є пусковим фактором ГКН, запускає цілий рад патологічних процесів, які в кінцевому рахунку призводять до летального наслідку [71, 134, 154]. При цьому, виникають ушкодження кардіоміоцитів, які можна позначити як гостру ішемічну дистрофію міокарда, що приводить до його електричної нестабільності. Спазм коронарних артерій активізує симпатoadреналову систему і виникає гіперкатехолемія. Зростає концентрація адреналіну, що здатний викликати фібриляцію шлуночків. Аритмогенним ефектом володіють і продукти вільного радикального і перекисного окислення ліпідів. Аритмогенні речовини різко посилюють електричну нестабільність серця і сприяють розвитку фібриляції, яка і є безпосередньою причиною смерті.

Тому, якщо хворий помер під час нападу стенокардії або протягом перших 6 годин після нього, є підстави вважати, що мала місце саме ГКН.

При ГКН в тканині міокарда відбувається утворення аритмогенних речовин: лізофос-фогліцеридів і жирних кислот – продуктів деградації мембран кардіоміоцитів. Вони з'являються вже через 5-10хв після початку нападу ішемії і їх накопиченні сприяє надлишковому утворенню цАМФ в тканині. При цьому, значно збільшується надходження іонів кальцію до



кардіоміоцитів, посилюється глікогенез і ліполіз, що посилює електричну нестабільність міокарда, морфологічним відображенням чого є контрактури та міоцитоліз.

Швидка зміна патофізіологічних процесів та, відповідно, їх морфологічного відображення, значно ускладнює посмертну верифікацію ГКН у ранні терміни.

Так перші еозинофільні гіалінізовані серцеві волокна можна виявити при двогодинній прижиттєвості ішемії, а при чотирьохгодинній зажиттєвості ішемії поодинокі вогнища жирової дегенерації та перші ознаки геморагічної демаркації і лізис ядер кардіоміоцитів можна побачити при проведенні світлової мікроскопії. Таким чином судово-медична гістопатологія не має чітких критеріїв ГКН. Як зазначають автори наявні методи володіють долею суб'єктивності, оскільки оцінка результатів проводиться людиною.

Можливим вирішенням згаданого кола питань потенційно є лазерні поляриметричні та автофлуоресцентні методи, які поєднують аналіз поляризаційно-неоднорідних структур БТ з наступним опрацюванням отриманих даних потужним математичним апаратом.

За літературними даними, більшість БТ характеризується оптичною анізотропією, як на мікроскопічному, так і на макроскопічному рівнях [7]. Відомо, що оптична анізотропія на макроскопічному рівні, викликана просторово впорядкованою фібрилярною структурою протеїнових молекул, яка обумовлює лінійне двопроменезаломлення. У випадку міокарда такими протеїновими молекулами є молекули міозину. Оскільки під час ГКН відбувається різке падіння концентрації АТФ, то голівки міозинових молекул не можуть від'єднатись від f-актину, формуючи мікроконтрактури. Така зміна просторової конфігурації саркомеру закономірно відображалась на поляризаційних властивостях як показали результати даної роботи.

Проведено дослідження діагностичних можливостей методів *багатомірної поляризаційної мікроскопії* зрізів міокарда для постмортальної верифікації ГКН. Встановлено, що морфологічні зміни тканини міокарда у

наслідок ГКН виявляються у формуванні локальних кластерів анізотропних структур - у відповідних візуалізованих поляризаційних зображеннях фібрилярних мереж його зрізів виявлена відмінна від такої у групах порівняння структура світлих міозинових ділянок. Статистично це виявлялося у відповідній величині статистичного моменту 3-го порядку, що характеризував асиметрію розподілу значень азимута поляризаційної мапи  $\alpha(p \times k)$  поляризаційного зображення. Також координатний розподіл величин азимутів поляризації лазерного зображення зрізу тканини міокарда при ГКН характеризувався більшою однорідністю, про що свідчило більш швидке спадіння автокореляційної функція  $K^\alpha(\Delta p)$ , обчисленої для поляризаційної мапи  $\alpha(p \times k)$  мікроскопічного зображення (рис. 3.4, а).

З іншого боку, співвідношення між величиною головного екстремуму та іншими локальними екстремальними значеннями мап еліптичності поляризації мікроскопічних зображень зрізів міокарда складало 100 до 1, що обумовлює високе значення ексцесу розподілу еліптичності поляризації мікроскопічного зображення зразку міокарда при ГІ. Таку особливість двовимірного розподілу  $\beta(p \times k)$  можна пов'язати з певною переважною просторовою орієнтацією протеїнових фібрил, що призводить до збільшення ймовірності відповідних значень еліптичності поляризації лазерного зображення.

Нами для верифікації ГКН використовували також нефелометричні методи, що базуються на здійсненні статистичного усереднення тобто застосуванні матриці Мюллера. Так проведено визначення елементів  $m_{22}$  матриці Мюллера, що характеризують ступінь перетворення азимуту поляризації лазерної хвилі міозиновими фібрилами, оптичні осі яких орієнтовані у двох взаємно перпендикулярних напрямках  $\gamma = 0^\circ \leftrightarrow 90^\circ$ . Проте використання координатної структури “орієнтаційного” елементу  $m_{22}$  матриці Мюллера міокарда для візуального встановлення ГКН чи для

диференціації з іншими станами (XIXC) утруднено, тому проведено кількісну характеристику “орієнтаційного” елементу  $m_{22}$  за допомогою статистичних моментів 1 – 4-го порядків  $M_{j=1;2;3;4}(m_{22})$  (табл. 4.1). Власне статистичний аналіз не виявив об’єктивної можливості розрізнення досліджуваних груп зразків, тому було проведено параметричний аналіз Мюллер-матричних зображень - досліджувалася статистична структура залежностей  $N(m_{22}=0) \equiv N_0$  і  $N(m_{22}=1) \equiv N_1$ . При ГКН спостерігалось зменшення кількості екстремальних значень  $m_{22}=0$  “орієнтаційного” елементу матриці Мюллера тканини міокарда (рис. 4.3, а, в), що свідчило про розупорядкування напрямів оптичних осей, які визначаються напрямками укладання оптико-анізотропних міозинових фібрил актино-міозинового комплексу. Отримані дані про статистичну структуру розподілів кількості екстремальних значень “орієнтаційного” елементу  $m_{22}$  матриці Мюллера тканини міокарда вказували на можливість диференціації причини настання смерті і діагностики ГКН. Найбільш чутливими виявилися статистичні моменти 1-го і 4-го порядків розподілів, які характеризують розподіли  $N_0(x)$  екстремальних значень Мюллер-матричного елементу  $m_{22}(p \times k)=0$  тканини міокарда.

Що до кореляційної  $K(m_{22})$  і фрактальної  $\log L(m_{22}) - \log 1/d$  структури “орієнтаційних” елементів  $m_{22}$  елементів матриці Мюллера, то спостерігалось монотонне спадання автокореляційних функцій  $K(m_{22})$  (рис. 4.4, в, г) та наявність двох стабільних нахилів апроксимуючих кривих до залежностей  $\log L(m_{22}) - \log 1/d$  (рис. 4.4 л, е). Як і при дослідженні координатного розподілу, порівняльний аналіз усереднених величин і діапазонів зміни значень кореляційних параметрів  $K_2(m_{22})$ ,  $K_4(m_{22})$  не виявив об’єктивної можливості верифікації причини настання смерті,

оскільки діапазони зміни значень кореляційних параметрів для різних груп міокарда перекривалися. Тому проведено дослідження усереднених величин і діапазонів зміни дисперсії  $K_2(N_0)$ ,  $K_2(N_1)$ ; ексцесу  $K_4(N_0)$ ,  $K_4(N_1)$ , які характеризують розподіли  $N(m_{22}=0) \equiv N_0$ ,  $N(m_{22}=1) \equiv N_1$  кількості екстремальних значень  $m_{22}=0$  і  $m_{22}=1$  “орієнтаційного” елемента  $m_{22}(p \times k)$  матриці Мюллера. Саме вказані параметри можуть бути використані для верифікації ГКН.

З іншого боку не встановленим залишались взаємні перетворення фібрилярною мережею міокарда лінійної поляризації в еліптичну і, навпаки, тому нами досліджено “орієнтаційно-фазовий” елемент  $m_{34}$ , а саме координатну  $m_{34}(p \times k)$  і статистичну  $N(m_{34})$  структури. Кількісно структуру розподілів “орієнтаційно-фазових” елементів  $m_{34}$ , визначених для досліджуваних груп зразків міокарда, ілюстрували усереднені величини і діапазони зміни значень статистичних моментів 1 – 4-го порядків  $M_{j=1;2;3;4}(m_{34})$  (табл. 4.6). Як і у випадку з елементом матриці Мюллера  $m_{22}$ , діапазони зміни значень середнього  $M_1(m_{34})$ , дисперсії  $M_2(m_{34})$ , асиметрії  $M_3(m_{34})$  та ексцесу  $M_4(m_{34})$  перекривались для різних досліджуваних груп, тому встановлено статистичну структуру параметричних залежностей  $N(m_{34}=0) \equiv N_0$  і  $N(m_{34}=1) \equiv N_1$ . Найбільш інформативними виявилися статистичні моменти 3-го і 4-го порядків розподілів  $N_1(x)$  екстремальних значень Мюллер-матричного елемента  $m_{34}(p \times k)=1$  тканини міокарда. Також встановлено кореляційну  $K(m_{34})$  і фрактальну  $\log L(m_{34}) - \log \frac{1}{d}$  структури “орієнтаційно-фазових” елементів  $m_{34}$  матриці Мюллера. Як  $K(m_{22})$  автокореляційна функція  $K(m_{34})$  монотонно спадала, а також відмічено наявність двох стабільних нахилів апроксимуючих кривих до

залежностей  $\log L(m_{34}) - \log \frac{1}{d}$ , як і у випадку фрактальної залежності  $\log L(m_{22}) - \log \frac{1}{d}$ . Через вказану подібність, діапазони зміни значень кореляційних і фрактальних параметрів для різних груп перекривалися, що не дозволяло пропонувати числову характеристику вказаних параметрів для верифікації ГКН.

Вирішенням вказаних труднощів та встановлення більш чутливих діагностичних критеріїв стало можливим завдяки визначенню кореляційної і фрактальної структури залежностей  $N(m_{34}=1) \equiv N_1$  (рис. 4.11) і  $N(m_{34}=0) \equiv N_0$ . Зокрема як критерій ГКН пропонується інтервал значення ексцесу автокореляційної функції розподілу  $K_4(N_1)$ .

Зростання точності досліджуваних методів ґрунтується на використанні багатопараметричного аналітичного підходу. Справді механізми анізотропії кардіоміоцитів включають не тільки двопронезаломлення, але й оптичну активність та циркулярний дихроїзм. Тому, для опису взаємодії поляризованого світла з такими складними системами необхідні вектор-параметричне описання світлових пучків та мюллер-матричне представлення поляризаційних властивостей біологічних шарів [179].

Під час аналізу отриманих результатів спостерігався багатопараметричний взаємозв'язок між статистичними моментами 1 – 4-го порядків, які характеризують розподіли значень параметрів поляризації та елементів матриці Мюллера, і розподілами параметрів фазової анізотропії.

Таблиця 7.1

**Операційні характеристики азимут-залежних поляриметричного та мюллер-матричного картографування**

Метод	Параметр	$Se$	$Sp$	$Ac$	Розшифрування
					ння

Багатомірна поляризаційна мікроскопія	$K_4$ азимута	68%	54%	61%	задовільно
	$K_4$ еліптично сті	62%	55%	58,5%	незадовільно
Параметричний аналіз розподілів орієнтаційного матричного елемента $m_{22}$	$K_4(N_0)$	68%	57%	62,5%	задовільно
Параметричний аналіз розподілів орієнтаційно-фазового елемента $m_{34}$	$K_4(N_1)$	64%	58%	61%	задовільно

У роботах [321-324] виявлено азимутальну залежність (при обертанні площини зразку відносно напрямку опромінення або при зміні стану поляризації зонду чого пучка) координатних розподілів поляризаційних параметрів мікроскопічних зображень зрізів БТ. Виходячи з цього стає зрозумілим великий інтервал перекриття параметрів  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \begin{pmatrix} \alpha \\ \beta \end{pmatrix} \right]$ .

У наших серійних досліджень неможливим є однотипна орієнтація зразків міокарда відносно площини поляризації лазерного пучка. Тому координатні розподіли азимута та еліптичності поляризації у точках мікроскопічних зображень різних зразків у межах однієї групи залежать не тільки від орієнтаційної будови фібрилярних мереж, але й від конкретного розташування зразку. За рахунок цього у кожній групі середнє значення  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \begin{pmatrix} \alpha \\ \beta \end{pmatrix} \right]$  зменшується, а діапазон зміни випадкових значень, навпаки, збільшується. Відповідно до цього знижується загальний рівень чутливості, специфічності та збалансованої точності методу.

При аналізі літературних даних [268, 317, 325], щодо формування поляризаційної структури мікроскопічних зображень оптично-анізотропних мереж різної конфігурації було виявлено азимутальну стійкість поляризаційних мап азимута і еліптичності за умови опромінення циркулярно поляризованим пучком.

Метод вейвлет-аналізу розподілів станів поляризації мікроскопічних зображень зрізів міокарда розширює функціональні можливості азимутально-інваріантного поляризаційного картографування.

Шляхом проведення статистичного аналізу, встановлено що кількісно зменшення глибини модуляції амплітуд вейвлет-коефіцієнтів на малих  $a_{\min}$  масштабах азимутально-інваріантної мапи азимутів поляризації  $\alpha(x, y)$  виявляється у зменшенні дисперсії  $M_{i=2}(C_{a=15,b}(\alpha)) \downarrow$  та відповідному зростанні значень статистичних моментів вищих порядків  $M_{i=3;4}(C_{a=15,b}(\alpha)) \uparrow$ , які характеризують розподіли вейвлет-коефіцієнтів (табл. 3.11.) Зокрема на масштабі  $a_{\min} = 15$  найбільш чутливим до верифікації ГКН були статистичні моменти  $M_2, M_3, M_4$ , а на масштабі  $a_{\max} = 55$   $M_3, M_4$ .

Виходячи з цього, найбільші відмінності між нормальним міокардом та міокардом у випадку ГКН слід проявлялися на дрібних масштабах зміни структури поліпептидних ланцюгів білків міокарда. Навпаки, основні оптичні прояви XIXS припадають на трансформацію великомасштабних фібрилярних мереж. Тому, масштабно-селективний підхід до аналізу поляризаційних мап мікроскопічних зображень зрізів обох груп дозволив підняти точність посмертної верифікації ГКН.

Як свідчать отримані дані (таб 7.1), параметричний метод мюллер-матричної мікроскопії володіє не достатньо високим рівнем збалансованої точності для посмертної діагностики ГКН. І хоча досягнутий рівень інформативності дещо вищий ніж інформативність прямого поляризаційного картографування мікроскопічних зображень зрізів міокарда, але рівень

збалансованої точності не перевищує задовільну якість діагностичного тесту. На нашу думку це пов'язано як і у випадку поляризаційного картографування з азимутальною залежністю величини матричних елементів  $m_{22}$  і  $m_{34}$  при обертанні площини зразку відносно напрямку опромінення.

Таким чином, недоліком “одноточкового” поляриметричного та мюллер-матричного картографування виявилася погана відтворюваність методів внаслідок азимутальної залежності величини азимута та еліптичності поляризації, а також більшості матричних елементів від повороту зразку відносно напрямку опромінення. З шістнадцяти елементів матриці Мюллера лише чотири є азимутально-незалежними, які в подальшому будемо називати мюллер-матричними інваріантами. Тому тестування краще відтворюваних (азимутально-незалежних), більш точних методів лазерної поляриметрії шляхом застосування об'єктивного аналізу сукупності мюллер-матричних інваріантів стало ключем до удосконалення об'єктивних методів діагностики ГКН. Зокрема вивчалися два мюллер-матричні інваріанти.

Перший – це фазовий елемент  $m_{44}$ , який пов'язаний із двопротенезаломленням вторинної білкової структури – міозинової фібрилярної сітки [43, 88]. Другий – це наступна комбінація матричних елементів  $\Delta m = \frac{m_{23} - m_{32}}{m_{22} + m_{33}}$ , яка пов'язана із оптичною активністю дрібномасштабних поліпептидних ланцюгів молекул міозину [234]. Саме тому ми проводили азимутально-інваріантне мюллер-матричне картографування ( $\{m_{44}(p \times k)\}(\Theta) = const$  та  $\{\Delta m(p \times k)\}(\Theta) = const$ ) зрізів міокарда.

Результати обчислення сукупності об'єктивних параметрів  $r \equiv \left[ M_{i=1;2;3;4}; K_{i=2;4} \left( \begin{matrix} m_{44} \\ \Delta m \end{matrix} \right) \right]$  методу азимутально-інваріантної мюллер-матричної мікроскопії зрізів міокарда виявили найбільшу чутливість ( $\Delta \bar{q} = \max$ )



статистичних моментів  $M_3$ ,  $M_4$  та  $M_4^K$  координатних розподілів  $m_{44}(p \times k)$ ,  $\Delta m(p \times k)$  для верифікації ГКН.

Оскільки мюллер-матричний інваріант  $m_{44}$  переважно описує прояви оптичної анізотропії на великомасштабному рівні фібрилярних міозинових мереж міокарда, а  $\Delta m$  вказує на перебудову дрібномасштабних рівнів оптично активних міозинових молекул (поліпептидні ланцюги), то використання вейвлет-аналізу, що дозволяє різномасштабно оцінювати зміни оптичних характеристик може суттєво покращити операційні характеристики азимутально-інваріантного мюллер-матричного картографування.

Дослідження координатних, мультимасштабних розподілів вейвлет-коефіцієнтів  $W_{a,b}(m_{44})$  і  $W_{a,b}(\Delta m)$ , які характеризують мюллер-матричні зображення оптично анізотропних фібрилярних структур зразків тканини міокарда на первинному та вторинному рівнях виявив найбільші відмінності між зразками досліджуваних груп на рівні малих масштабів  $a_{\min}$  розподілів вейвлет-коефіцієнтів (рис. 4.16 і рис. 4.18). Кількісно на це вказувала модуляція “дрібномасштабних” залежностей  $C_{a=15,b}(\Delta m)$  таких вейвлет-мап. Справді, у випадку ГКН внаслідок недостатчі макроергічної сполуки АТФ та відповідно порушення функціонування актиноміозинового комплексу, як найбільш енергоємного процесу у кардіоміоцитах, спостерігаються контрактури актино-міозинового комплексу, а найбільші відмінності при ПІ проявляються на дрібних масштабах зміни первинної структури поліпептидних ланцюгів білків міокарда. Таким чином, зменшувався рівень оптичної активності, що проявлялось у формуванні значень координатного розподілу мюллер-матричного інваріанту  $\Delta m$  відповідного зрізів з ГКН, а це відображалось на зменшенні глибини модуляції амплітуд вейвлет-коефіцієнтів на малих  $a_{\min}$  масштабах азимутально-інваріантного мюллер-матричного зображення первинних міозинових структур.

Визначені кількісні параметри відмінності між статистичними моментами, які характеризують розподіли вейвлет-коефіцієнтів  $\Delta m$  на різних масштабах мюллер-матричної мапи первинної структури міозинової сітки для статистично достовірної диференціації зразків міокарда померлих внаслідок ГКН від норми та ХІХС. Найбільш чутливими для діагностики ГКН виявились статистичні моменти  $M_2$ ,  $M_3$  та  $M_4$  на масштабі  $a_{\min} = 15$ , а  $M_3$  та  $M_4$  на масштабі  $a_{\max} = 55$ . Навпаки, вейвлет-аналіз мюллер-матричних зображень  $m_{44}$  вторинної структури міозинових сіток зрізів обох груп виявив більшу чутливість до змін міокарда при ішемії на великих масштабах фібрилярної мережі – таблиця 7.2.

Таблиця 7.2.

**Аналіз операційних характеристик азимут-незалежних  
поляриметричного та мюллер-матричного картографування**

Метод	Параметр	<i>Se</i>	<i>Sp</i>	<i>Ac</i>	Розшифрування
Азимутально-інваріантне поляризаційне картографування	Азимут автокореляційної функції $K_4$	75%	62%	68,5%	задовільно
	Еліптичність автокореляційної функції $K_4$	72%	59%	65,5%	задовільно
Вейвлет-аналіз азимутально-інваріантних поляризаційних мап	Ексцес азимута на масштабі $a_{\min} = 15$	77%	68%	72,5%	добре
	Ексцес еліптичності на	71%	65%	68%	задовільно

	масштабі $a_{\min} = 15$				
	Ексцес $M_4$ азимута на масштабі $a_{\max} = 55$	75%	71%	73%	добре
	Ексцес $M_4$ еліптичності на масштабі $a_{\max} = 55$	71%	65%	68%	задовільно
Мюллер-матрична мікроскопія розподілів фазового елементу $m_{44}$	Ексцес $K_4$ автокореляційної функції	75%	62%	68,5 %	задовільно
Мюллер-матрична мікроскопія розподілів фазового елементу $\Delta t$	Ексцес $K_4$ автокореляційної функції	72%	59%	65,5 %	задовільно
Вейвлет-аналіз розподілів мюллер-матричних зображень на масштабі $a_{\min} = 15$	Ексцес $M_4$ розподілу фазового елементу $\Delta t$	86%	72%	79%	добре
	Ексцес $M_4$ розподілу фазового елементу $m_{44}$	78%	72%	75%	добре
Вейвлет-аналізу розподілів мюллер- матричних зображень зрізів міокарда на масштабі $a_{\max} = 55$	Ексцес $M_4$ розподілу фазового елементу $\Delta t$	81%	71%	76%	добре
	Ексцес $M_4$	84%	74%	79%	добре

	розподілу фазового елементу $m_{44}$				
--	--	--	--	--	--

Паралельно до поляриметричної та кореляційної мікроскопічної діагностики структури БТ і рідин організму інтенсивно розвиваються методи, що засновані на діагностичному використанні ефектів флуоресценції білкових молекул та їх комплексів. На цій основі сформувався самостійний напрям оптичної діагностики – флуоресцентна спектрофотометрія, яка ефективно застосовується у діагностиці раку органів людини [275]. За даними авторів флуоресценція завжди частково поляризована. Анізотропне світлове збудження дозволяє виділити із хаотичного скуплення атомів та молекул певну групу. Власне, досліджуючи поляризацію флуоресценції можна встановити поведінку молекул до поглинання та після випускання фотонів, їх орієнтацію та взаємозв'язок з оточенням.

Новим кроком у розвитку методів оптичної діагностики біологічних шарів стало успішне поєднання поляриметричного і флуоресцентного методів [226, 247, 248]. Завдяки прогресу біомедичної оптики та розвитку мюллер-матричного описання оптичної анізотропії біологічних шарів на більш загальний випадок флуоресценції двоприменезаломлюючих мереж оптично активних молекулярних комплексів та розробці спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії мікроскопічних зображень БТ і рідин в роботі суттєво підвищилась точність розв'язання поставлених завдань. Об'єднання методів поляризаційного, мюллер-матричного, поляризаційно-кореляційного картографування та лазерної автофлуоресцентної поляриметрії повинно дозволило отримати нову інформацію про морфологічну та оптично анізотропну структуру міокарда на мікро- та макрорівнях його організації.

Використання напівпровідникового лазера забезпечило високу спектральну щільність потужності збуджуючого випромінювання, яке з великою точністю фокусувалось в коло діаметром приблизно 1 мікромметр. З іншої сторони, використання сучасної матриці для реєстрації автофлуоресценції, забезпечило детекцію електромагнітного випромінювання ультранизкої інтенсивності і, таким чином, досягнути надчутливої реєстрації просторового розташування флуорофорів у кардіоміоцитах.

У результаті тестування методів оптичної біопсії, як їх прийнято називати за високу чутливість та специфічність, проведено мюллер-матричне картографування лазерної автофлуоресценції зразків міокарда зразків досліджуваних груп та обчислено статистичні моменти 1 – 4-го порядку розподілів мюллер-матричних інваріантів  $r_{14}$  і  $r_{41}$ . Чутливими до наявності ГКН виявилися статистичні моменти вищих порядків – асиметрія та ексцес, які характеризують розподіли  $q \equiv \{r_{14,41}\}$ .

Для збільшення точності проведено селективну реєстрацію інтенсивності автофлуоресцентного випромінювання на умовно виділених короткохвильовій ( $\Delta\lambda_{\max} = 0,45\text{мкм} \div 0,46\text{мкм}$ ), середньохвильовій ( $\Delta\lambda_{\max} = 0,5\text{мкм} \div 0,55\text{мкм}$ ) та довгохвильовій області ( $\Delta\lambda_{\max} = 0,63\text{мкм} \div 0,65\text{мкм}$ ). Зареєстровано наявність лазерної автофлуоресценції нативних зрізів міокарда в всіх спектральних діапазонах. Для короткохвильової області ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45\text{мкм}$ ) спектра відмічено найвищу інтенсивність автофлуоресцентних зображень (рис. 5.3), а у довгохвильовій області ( $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63\text{мкм}$ ) спектру такі зображення були найменш інтенсивні (рис. 5.5). Таким чином спостерігалось спадання інтенсивності автофлуоресценції нативних зрізів міокарда як при ГКН, так і при XIXС, що, відповідно, не дозволяє проводити безпосередню верифікацію ГІ міокарда на

основі наявності спадання інтенсивності автофлуоресценції в залежності від області реєстрації.

Аналіз, обчислених статистичних моментів  $M_{i=1;2;3;4}[(I(p \times k))]$  для усіх спектральних діапазонів, продемонстрував, що найбільш чутливими статистичними параметрами диференціації спектрально-селективних автофлуоресцентних поляриметричних зображень зразків обох груп в наступних спектральних діапазонах були середнє та дисперсія.

Результати, отримані під час дослідження діагностичних можливостей методу лазерної спектрально-селективної автофлуоресцентної поляризаційної мікроскопії у верифікації ГКН, продемонстрували хорошу збалансовану точність методу при  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ . На вказаній довжині хвилі знаходиться спектр емісії кількох речовин, зокрема НАД, міозину, актину, колагену та еластину. Використання ж когерентного, поляризованого випромінювання дозволяє вивчати фазово-неоднорідні об'єкти, зокрема коаксіальні циліндричні протеїнові фібрили, виокремивши таким чином флуоресценцію НАД. Застосовуючи такий підхід, вимірювання координатну та статистичну структури набору мюллер-матричних інваріантів нативних зрізів при ГКН та XIXC для спектральної області  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм} \pm 0,55 \text{ мкм}$ .

Відзначалось збільшення вторинної модуляції автофлуоресцентного випромінювання оптично активними структурами ( $r_{14} \uparrow$ ) зразків міокарда при ГІ. У порівнянні із XIXC та контролем спостерігався перерозподіл ймовірності величини інваріанта  $r_{14}$  в сторону більших значень. Аналіз знайдених статистичних моментів 1-4-го порядків показав, що для оптично активних флуорофорів міокарду при ГКН характерне зростання величина асиметрії  $M_3$  в 1,5 рази та зменшення в 1,6 рази ексцесу  $M_4$  розподілу моллер-матричних інваріантів.

Одержані дані добре стикуються із класичним уявленням про роль НАД в клітині та патофізіологічними механізмами, що запускаються при

ішемії міокарда. Так, при гіпоксії в міокардіоциті в результаті нестачі кисню порушується процес взаємного окислення - відновлення переносників електронів в дихальному ланцюга мітохондрій. Каталізатори дихального ланцюга не можуть служити акцепторами електронів від відновлених коферментів, так як самі знаходяться у відновленому стані. В результаті знижується або повністю припиняється перенесення електронів в дихальному процесі, а в міокардіоциті збільшується кількість відновлених форм коферментів, зокрема НАД, що виявляється точно та достовірно запропонованим методом.

Встановлено координатну та статистичну структури набору мюллер-матричних інваріантів зрізів досліджуваних груп для спектральної області  $\Delta\lambda_{\max} = 0.5\text{мкм} \pm 0.55\text{мкм}$ , при чому ймовірнісний розподіл мюллер-матричного інваріанта  $r_{14}$  при ГКН, суттєво відрізнявся від ймовірнісного розподілу при ХІХС та групи контролю. Виявлено статистично достовірні відмінності між статистичними моментами вищих порядків (асиметрією та ексцесом), які характеризують гістограми розподілу випадкових значень мюллер-матричного інваріанту  $r_{14}$  на спектральному діапазоні  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55\text{мкм}$ .

При використанні методу спектрально-селективної лазерної поляриметрії автофлуоресценції ендогенних порфіринів у посмертній діагностиці гострої ішемії міокарда, що для зрізів обох груп (рис. 5.10, 1, 2) реалізуються різні розподіли інтенсивності їх автофлуоресцентних зображень (рис. 5.10, 3, 4). У площині зрізів зразків тканин міокарда при ГКН та ХІХС спостерігався широкий спектр напрямків укладання протеїнових волокон. Фібрилярна мережа обох типів зразків була дуже схожа при дослідженні даним методом. З іншого боку, для тканини міокарда при ГКН концентрація порфірину є більш високою. Цей факт можна пояснити меншими дегенеративно-дистрофічними змінами. Ось чому інтенсивність відповідного автофлуоресцентного зображення виявляється вищою. Кількісно це проявляється у збільшенні півширини гістограми  $N(I)$  і зсуві її екстремуму в

сторону більших значень інтенсивності автофлуоресценції. Порівняльний аналіз даних статистичних моментів 1-4-го порядків показав, що відмінності між величинами середніх  $\bar{M}_{i=1;2;3;4}(I)$  моментів всіх порядків були статистично достовірними, проте для всіх гістограм  $N(\bar{M}_i)$  спостерігалось міжгрупове перекриття. Виявлено, що найбільш чутливими для верифікації ГКН даним методом ( $\Delta M_{i=1;2;3;4}(I) = \max$ ) є статистичні моменти 3-го порядку, які характеризують гістограми  $N(I_f)$ . За даними дослідників ішемія тканини призводить до зміни співвідношення деяких деривативів гемоглобіну і міоглобіну, що мають різні спектри поглинання. З одного боку це спотворює дані за спектрами флуоресценції, проте дає можливість оцінювати ступінь ішемії міокарда і відповідно верифікувати ГКН.

Таблиця 7.3

**Операційні характеристики лазерних поляриметричних методів дослідження автофлуоресцентних зображень міокарда**

Метод	Параметр	$Se$	$Sp$	$Ac$	Розшифрування
Метод мюллер-матричного флуоресцентного картографування	Ексцес $M_4$ розподілу $r_{14}(\lambda_f)$	82%	72%	78%	добре
	Ексцес $M_4$ розподілу $r_{41}(\lambda_f)$	94%	84%	89%	дуже добре
Метод статистичного аналізу лазерних спектрально-селективних автофлуоресцентних поляриметричних	Дисперсія $M_2$ на $Ac(\lambda_{\max}^{(1)})$	85%	75%	80%	дуже добре
	Дисперсія $M_2$ на	71%	57%	64%	задовільно



зображень	$Ac(\lambda_{\max}^{(2)})$				
	Дисперсія $M_2$ на $Ac(\lambda_{\max}^{(3)})$	73%	65%	69%	задовільно
Метод статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45\text{мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матрчиних зображень	Екссес $M_4$ розподілу $r_{14}$	96%	94%	95%	відмінно
Метод статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55\text{мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матрчиних зображень	Екссес $M_4$ розподілу $r_{14}$	91%	81%	86%	дуже добре
Метод спектрально-селективної лазерної поляриметрії автофлуоресценції ендогенних порфіринів	Асиметрія інтенсивності $M_3$	93%	87%	90%	відмінно

Сумарні дані діагностичної ефективності окремих із досліджуваних методів наведені в таблиці 7.4. При трактування отриманих результатів користувались прийнятими в доказовій медицині критеріями оцінки діагностичного тесту, а саме знаходження  $Ac$  в інтервалі 90%-100%

трактувалось як “відмінно” , 80%-89% “дуже добре, 70%-79% “добре”, 60%-69% “задовільно”,  $\leq 59\%$  “незадовільно”.

Таблиця 7.4.

**Збалансована точність методів багатовимірної поляризаційної мікроскопії біологічних шарів міокарда досліджуваних груп**

Методи	Контроль - ГКН		Контроль - XIXC		ГКН - XIXC	
	Стат. аналіз	Стат. аналіз	Кор. аналіз	Кор. аналіз	Стат. аналіз	Кор. аналіз
Азимутально-інваріантне поляризаційне картографування $\alpha(x, y); \beta(x, y)$	69%	72%	70%	69%	66,5%	68,5%
Вейвлет-аналіз поляризаційних мап $\alpha(x, y); \beta(x, y)$	76%	77%	78%	77%	73%	72,5%
Азимутально-інваріантне Мюллер-матричне картографування $f_{ik}(x, y)$	73%	75%	76%	72%	68,5%	65,5%
Вейвлет-аналіз Мюллер-матричних інваріантів $f_{ik}(x, y)$	84%	86%	88%	87%	77%	79%
Метод лазерної автофлуоресцентної мікроскопії	91%	93%	94%	92%	84%	90%

Спектрально- селективна авто флуоресцентна мюллер-матрична поляриметрия $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45\text{мкм}$	96%	97%	95%
Спектрально- селективна авто флуоресцентна мюллер-матрична поляриметрия $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55\text{мкм}$	92%	95%	86%
Спектрально- селективна лазерна поляриметрия автофлуоресценції ендогенних порфіринів	94%	94%	90%

Отримані результати продемонстрували дуже добрі операційні характеристики методу статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45\text{мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матричних зображень. Проте дизайн дослідження передбачав одностороннє порівняння ГКН з методом ГОПФ. З іншої сторони не вивченим залишаються питання незалежного порівняння вказаних методів шляхом сліпої діагностики ГКН обома методами. Тому у випадку підозри на ГКН робили парні блоки які досліджували за методом ГОПФ та методом статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45\text{мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матричних зображень.

Ішемізовані кардіоміоцити верифікували за малиново-рожевим забарвленням, тоді як не уражені кардіоміоцити забарвлювались в жовто-зелений колір. При забарвленні ГОПФ виявлялись як дрібні вогнища ПІ (малиново-рожеве забарвлення в основному у перинуклеарній ділянці) так і середні та великі (субтотальна фуксинофільна дегенерація). Еритроцити забарвлювалися в червоний колір.

При ХІХС кардіоміоцити були в стані гіпотрофії. Серцеві волокна забарвлювалися в жовто-зелений колір, проте в окремих ділянках відмічено вогнища фуксинофільії. В окремих місцях відмічено дрібновогнищеву фрагментацію м'язових волокон. Виражений сітчастий кардіосклероз: колагенові волокна забарвлювалися в сіро - бузковий колір, а еластичні волокна в яскраво-червоний. Наявний незначний набряк строми. Спостерігалось нерівномірне кровонаповнення міокарда з переважанням вогнищ вираженого венозного і капілярного повнокров'я, в окремих ділянках спостерігались паретично дилатовані судини з еритростазом, поділом крові на плазму і формені елементи. На зрізі коронарні артерії дрібного калібру з нерівномірним потовщенням стінок внаслідок коронаросклерозу. Відмічався нерівномірно виражений набряк строми.

ГКН методом статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матричних зображень ідентифікували у випадку потрапляння значення ексцесу  $r_{14}$  в інтервал  $2,26 \pm 0,13$ , а ХІХС  $2,02 \pm 0,08$ .

На основі здійсненого ГОПФ забарвлення 90 зразків міокарда людей діагноз ГКН був підтверджений у 81 випадку, у трьох випадках результат був умовно позитивний, а у шести діагноз не підтвердився. При дослідженні зразків даної групи методом спектрально-селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  отримано аналогічні оптичні показники у 85 випадках. Із групи, що відповідає негативному результату за

гістохімічним дослідженням у одному випадку діагноз ГКН був встановлений.

Гістологічне дослідження 100 зразків міокарда людей з підозрою на ХІХС підтвердило діагноз у 91 випадку, у семи випадках діагноз був умовно позитивний та у двох негативний. При дослідженні зразків даної групи за допомогою методу спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  було виявлено оптичні показники, що підтверджували діагноз у 97 випадках та у трьох спростовували.

Сумарні результати лінійного регресійного аналізу чутливості та специфічності (ROC-аналізу) при використанні методів ГОПФ забарвлення та спектрально-селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної мікроскопії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  для діагностики ГКН та ХІХС ілюструє рис. 7.1.

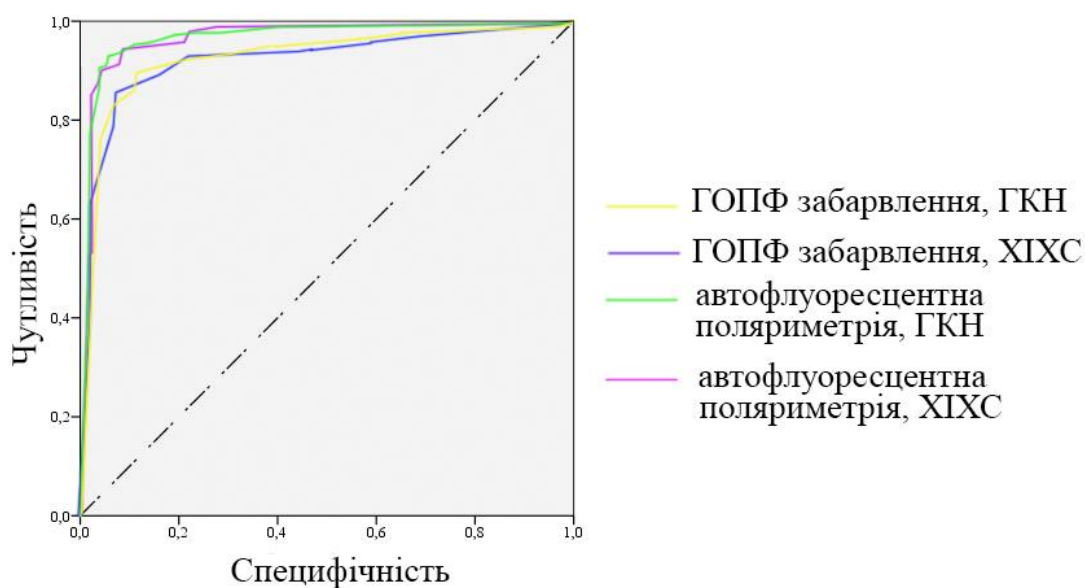


Рис. 7.1. ROC – крива, розрахована для ГОПФ забарвлення та спектрально-селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної мікроскопії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  в діагностиці ГКН та ХІХС.

Значення AUC, розраховане для методу ГОПФ забарвлення в діагностиці ГКН складала 0,902. AUC, розрахована для методу спектрально-

селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  в діагностиці ГКН становила 0,954, що на 6% більше ніж AUC для ГОПФ забарвлення. AUC, розрахована для методу ГОПФ забарвлення в діагностиці XIXC становила 0,923. AUC, розрахована для методу спектрально-селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  в діагностиці XIXC становила 0,946, що на 3% перевищує аналогічний показник для ГОПФ забарвлення.

Отримані дані ґрунтуються на високій чутливості автофлуоресцентної мікроскопії та використання інваріантного мюллер-матричного аналізу. Інваріант  $r_{14}$  володіє рядом важливих характеристик, зокрема він не залежить від повертання зразку та характеризує особливості поглинання лазерного випромінювання молекулами, що в сумі забезпечує валідність отриманих даних.

Підсумовуючи аналіз та узагальнення результатів проведених гістопатологічних досліджень з використанням ГОПФ та дані отримані методами багатомірної поляризаційної та автофлуоресцентної мікроскопії, їх статистичний, фрактальний, кореляційний, параметричний та вейвлет-аналізи, відзначимо, що найбільш точно та об'єктивно характеризують структуру міокарда при ГКН методи, які поєднують в собі сильні сторони як автофлуоресцентної мікроскопії так і багатомірної поляризаційної, зокрема метод спектрально-селективної автофлуоресцентної мюллер-матричної поляриметрії  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$ . Таким чином використання вказаних методів суттєво доповнює традиційні способи діагностики ГКН, дозволяючи здійснювати об'єктивну, швидку та специфічну верифікацію ГІ міокарда.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі пропонується й обґрунтовується комплекс нових судово-медичних методів і об'єктивних критеріїв установлення гострої коронарної недостатності шляхом нових азимутально-незалежних та масштабно-селективних методів поляризаційного та мюллер-матричного картографування полікристалічних фібрилярних мереж, а також лазерної автофлуоресцентної поляриметрії у посмертній діагностиці міокарда. З результатів виконаної дисертаційної роботи випливають висновки:

1. Виявлено азимутальну залежність поляризаційної структурності мікроскопічних та мюллер-матричних зображень гістологічних зрізів міокарда від повороту зразка відносно напрямку опромінення. Аналіз операційних характеристик методу традиційної поляризаційної та мюллер-матричної мікроскопії, що визначають її діагностичну інформативність, не виявили задовільного рівня виміряних об'єктивних параметрів розподілів азимута та еліптичності поляризації мікроскопічних зображень, а також елементів матриці Мюллера у завданні посмертної діагностики міокарда.

2. Вперше для експериментально відтворюваного аналізу та опису посмертних змін міокарда використано азимутально-незалежні мюллер-матричні інваріанти, що характеризують прояви первинної та вторинної полікристалічної структури міозинових мереж. Це дозволило знайти взаємозв'язок між набором статистичних (статистичні моменти 1–4-го порядків), кореляційних (кореляційні моменти 2-го і 4-го порядків) і фрактальних (логарифмічні залежності спектрів потужності) параметрів, які характеризують розподіли значень поляризаційних мап, мюллер-матричних зображень, інтенсивності автофлуоресценції зрізів міокарда та їх змінами при смерті внаслідок хронічної ішемічної хвороби серця та гострої коронарної недостатності.

3. Кількісно азимутально-інваріантні поляризаційні мапи та еліптичності поляризації мікроскопічних зображень гістологічних зрізів міокарда померлих внаслідок гострої коронарної недостатності

характеризуються розширенням діапазону зміни розподілів азимута (поліпептидні ланцюги) та еліптичності (фібрилярні мережі). Найбільш інформативними виявилися статистичні моменти 3-го і 4-го порядків, а також кореляційні моменти 4-го порядку, які характеризують поляризаційні мапи мікроскопічних зображень зрізів міокарда. Одержано задовільний рівень збалансованої точності діагностичного тесту виявлення гострої коронарної недостатності при використанні інтервального значення кореляційного моменту 4-го порядку автокореляційної функції  $A_c(\alpha) = 68,5\%$ .

4. Уперше для підвищення збалансованої точності посмертної діагностики міокарда використано масштабно-селективний вейвлет-аналіз поляризаційних мап мікроскопічних зображень фібрилярних міозинових мереж. Одержані результати для роздільного виявлення змін первинної та вторинної структури міозину виявили зростання збалансованої точності до рівня хорошої якості діагностичного тесту ( $A_c(\beta) = 73\%$ ) при використанні як діагностичного критерію ексцесу азимуту на масштабі  $a_{\max} = 55$ .

5. Установлено найбільш чутливі параметри посмертної діагностики міокарда. На великих масштабах ( $a_{\max} = 55$ ) оцінювання проявів оптичної анізотропії фібрилярних мереж найбільш інформативним виявився статистичний момент 3-го порядку, що характеризує асиметрію розподілу вейвлет-коефіцієнтів мапи еліптичності поляризації; на малих масштабах ( $a_{\min} = 15$ ) оцінювання проявів оптичної активності первинної структури білків міозину найбільш інформативними виявилися статистичні моменти 3-го і 4-го порядків, які характеризують розподіли вейвлет-коефіцієнтів мап азимута поляризації мікроскопічних зображень гістологічних зрізів міокарда померлих внаслідок хронічної ішемічної хвороби серця та гострої коронарної недостатності.

6. Вперше визначено, що процеси трансформації структури міокарда людини, яка зумовлена динамікою їх післясмертних змін, виявляються у зростанні кристалізації фібрилярних мереж міокарда, що кількісно



визначається збільшенням середнього, асиметрії та ексцесу, що характеризують координатні розподіли мюллер-матричних інваріантів, які є аналогами орієнтаційних властивостей таких мереж та морфологічно пов'язані з концентрацією речовини оптично активних міозинових структур.

7. Аналіз операційних характеристик методу мюллер-матричної мікроскопії виявили задовільний рівень збалансованої точності ( $Ac(m_{44}) = 68.5\%$ ) посмертної діагностики ішемічних змін міокарда шляхом перехресного статистичного аналізу об'єктивних параметрів (статистичні моменти 3-го і 4-го порядків, кореляційний момент 4-го порядку), які характеризують розподіли значень азимутально-незалежних мюллер-матричних інваріантів, що описують прояви оптичної анізотропії фібрилярних протеїнових мереж на первинному та вторинному рівнях.

8. Статистичний аналіз вейвлет-коефіцієнтів розподілів значень мюллер-матричних зображень зрізів міокарда забезпечив хороший рівень збалансованої точності діагностики гострої коронарної недостатності шляхом застосування діагностичного методу мюллер-матричної мікроскопії з масштабним-селективним аналізом -  $Ac(m_{44}) = 79\%$  і  $Ac(\Delta m) = 79\%$ .

9. На основі узагальненого мюллер-матричного описання флуоресценції двопротенезаломлених мереж оптично активних комплексів біологічних тканин розроблений метод спектрально-селективної автофлуоресцентної поляриметрії для посмертної діагностики патологічних змін міокарда.

10. Уперше на основі вимірювання мюллер-матричних інваріантів, що характеризують поляризаційні прояви флуоресценції порфіринів на тлі лінійного двопротенезаломлення та оптичної активності молекул міозину реалізовано спектрально-селективну лазерну автофлуоресцентну діагностику посмертних змін міокарда та визначено об'єктивні статистичні критерії диференціації випадків хронічної ішемічної хвороби серця та гострої коронарної недостатності.

11. Уперше продемонстрована діагностична ефективність статистичного аналізу координатних розподілів мюллер-матричних інваріантів лазерної поляризаційної автофлуоресценції у посмертній діагностиці змін міокарда, що забезпечило відмінну збалансовану точність визначення гострої коронарної недостатності.

12. Вперше шляхом статистичного аналізу репрезентативних вибірок зразків біологічних шарів визначено збалансовану точність методів багатопараметричної поляризаційної та лазерної автофлуоресцентної мікроскопії у посмертній діагностиці змін міокарда, характерних для гострої коронарної недостатності.

13. Продемонстрована діагностична ефективність статистичного аналізу координатних розподілів мюллер-матричних інваріантів  $r_{14}$  спектрально-селективної лазерної поляризаційної автофлуоресценції  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \text{ мкм}$  у посмертній діагностиці ГІ міокарда із відмінною збалансованою точністю  $A_c = 95\%$ .

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Для дослідження зміни поляризаційних властивостей зрізів міокарда при ГКН та ХІХС по відношенню до норми, необхідно:

1. При проведенні експертизи вилучити шматочки міокарда з наступних ділянок: верхівка, стінка лівого шлуночка, стінка правого шлуночка, перетинка, стінка лівого передсердя, стінка правого передсердя; при підозрі на ділянку ішемії в якійсь іншій зоні чи на їх переході її необхідно вилучати також.
2. З вилучених зразків міокарда за допомогою заморожуючого мікротома виготовити нативні гістологічні зрізи міокарда  $30 \pm 5$  мкм.
3. Отримані зрізи міокарда розташувати в оптичній схемі стокс-поляриметра між механічно рухомою чвертьхвильовою пластинкою та мікрооб'єктивом.
4. Опромінення проводити паралельним ( $\otimes = 2 \times 10^3 \mu m$ ) слабкоінтенсивним ( $P=5,0$  мВт) пучком He-Ne лазера ( $\lambda=0,6328 \mu m$ ).
5. Зріз міокарда послідовно зондувати лазерним пучком із наступними типами поляризації: лінійна з азимутами  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $+45^\circ$  і права циркуляція ( $\otimes$ ).
6. Реєстрацію проводити за допомогою CCD – камери.
7. Шляхом подальшої математичної обробки на ЕОМ проводити наступне опрацювання отриманих даних:
  - А) отримати поляризаційні мапи, тобто координатні розподіли значень азимута  $\alpha(p \times k)$  та еліптичності  $\beta(p \times k)$  поляризації – тобто провести поляриметрію у межах сукупності пікселів світлочутливої площадки;
  - Б) виміряти координатних розподілів параметрів вектора Стокса  $V_i(p \times k)$  мікроскопічного зображення міокарда – тобто провести стокс-параметричну двомірну поляриметрію;

В) обчислити серію координатних розподілів елементів матриці Мюллера (мюллер-матричних зображень  $m_{ik}(p \times k)$ ) – здійснити Мюллер-матричне картографування.

Г) Для отриманих даних поляриметрії у межах сукупності пікселів світлочутливої площадки, стокс-параметричної двомірної поляриметрії та Мюллер-матричного картографування провести аналіз двомірних розподілів даних за допомогою статистичного, кореляційного, фрактального, параметричного та вейвлет – аналізу.

Д) Отримані результати співставити із інтервальними значеннями для ГКН, XIXС та нормою та зробити висновок.

Таблиця 8.1

**Інтервальні значення азимут-незалежних поляриметричного та мюллер-матричного картографування для діагностики гострої ішемії міокарда**

Метод	Параметр	Норма	ГКН	XIXС	Ac
Азимутально-інваріантне поляризаційне картографування	Азимут автокореляційної функції $K_4$	$2,02 \pm 0,15$	$1,23 \pm 0,12$	$1,68 \pm 0,15$	75%
	Еліптичність автокореляційної функції $K_4$	$1,02 \pm 0,094$	$1,61 \pm 0,13$	$1,27 \pm 0,11$	72%
Вейвлет-аналіз азимутально-інваріантних поляризаційних мап	Ексцес $M_4$ азимута на масштабі $a_{\min} = 15$	$1,13 \pm 0,11$	$0,67 \pm 0,049$	$0,89 \pm 0,091$	77%
	Ексцес $M_4$ еліптичності на масштабі $a_{\min} = 15$	$0,83 \pm 0,071$	$0,75 \pm 0,068$	$0,79 \pm 0,064$	71%
	Ексцес $M_4$ азимута на	$1,08 \pm$	$0,72 \pm$	$0,86 \pm$	75%

	масштабі $a_{\max} = 55$		0,097	0,068	0,071	
	Ексцес $M_4$ еліптичності на масштабі $a_{\max} = 55$		$1,36 \pm 0,11$	$0,91 \pm 0,082$	$1,18 \pm 0,11$	71%
Мюллер-матрична мікроскопія розподілів фазового елементу $m_{44}$	Ексцес $K_4$ автокореляційної функції		$0,79 \pm 0,064$	$1,44 \pm 0,12$	$0,93 \pm 0,081$	75%
Мюллер-матрична мікроскопія розподілів фазового елементу $\Delta m$	Ексцес $K_4$ автокореляційної функції		$2,57 \pm 0,21$	$1,49 \pm 0,11$	$2,13 \pm 0,17$	72%
Вейвлет-аналіз розподілів мюллер-матричних зображень на масштабі $a_{\min} = 15$	Ексцес $M_4$ розподілу фазового елементу $\Delta m$		$1,38 \pm 0,11$	$0,81 \pm 0,074$	$1,19 \pm 0,11$	86%
	Ексцес $M_4$ розподілу фазового елементу $m_{44}$		$0,71 \pm 0,065$	$0,67 \pm 0,054$	$0,74 \pm 0,069$	78%

Для дослідження зміни автофлуоресцентних властивостей зрізів міокарда при ГКН та ХІХС по відношенню до норми, необхідно:

1. При проведенні експертизи вилучити шматочки міокарда з наступних ділянок: верхівка, стінка лівого шлуночка, стінка правого шлуночка, перетинка, стінка лівого передсердя, стінка правого передсердя; при підозрі на ділянку ішемії в якійсь іншій зоні чи на їх переході її необхідно вилучати також.
2. З вилучених зразків міокарда за допомогою заморожуючого мікротома виготовити нативні гістологічні зрізи міокарда  $30 \pm 5$  мкм.
3. Отримані гістологічні зрізи міокарда розташувати в оптичній схемі стокс-поляриметра модифікованого для дослідження автофлуоресценції між механічно рухомою чвертьхвильовою пластинкою та мікрооб'єктивом.
4. Для збудження автофлуоресценції зрізів міокарда використовувати “синій” твердотільний напівпровідниковий лазер з довжиною хвилі  $\lambda = 0,405 \mu m$  і потужністю  $P = 100 мВт$ .
5. Виміряти координатні розподіли інтенсивності автофлуоресценції  $I$  у площині світлочутливої площадки CCD – камери за допомогою “відсікаючих” основне лазерне випромінювання інтерференційних світлофільтрів з наступним максимумом спектрального пропускання  $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \mu m$ ,  $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55 \mu m$ ;  $\lambda_{\max}^{(3)} = 0,63 \mu m$ .
6. Шляхом подальшої математичної обробки на ЕОМ проводити наступне опрацювання отриманих даних:
  - А) розрахувати масив ( $p \times k$ ) мюллер-матричних інваріантів;
  - Б) розраховувати сукупність статистичних моментів першого-четвертого порядків  $M_{i=1;2;3;4} [q(r_{14}; r_{41})]$  мюллер-матричних інваріантів.
  - В) Отримані результати співставити із інтервальними значеннями для ГКН, XIXС та нормою та зробити висновок.

**Операційні характеристики лазерних поляриметричних методів  
дослідження автофлуоресцентних зображень міокарда**

Метод	Параметр	Норма	ГКН	XIXC	Ac
Метод мюллер-матричного флуоресцентного картографування	Ексцес $M_4$ розподілу $r_{14}(\lambda_f)$	$0,58 \pm 0,041$	$0,46 \pm 0,036$	$0,29 \pm 0,027$	82%
	Ексцес $M_4$ розподілу $r_{41}(\lambda_f)$	$0,96 \pm 0,088$	$0,68 \pm 0,051$	$1,21 \pm 0,11$	94%
Метод статистичного аналізу лазерних спектрально-селективних автофлуоресцентних поляриметричних зображень	Дисперсія $M_2$ на $Ac(\lambda_{\max}^{(1)})$	$0,12 \pm 0,009$	$0,19 \pm 0,018$	$0,27 \pm 0,023$	85%
	Дисперсія $M_2$ на $Ac(\lambda_{\max}^{(2)})$	$0,21 \pm 0,015$	$0,12 \pm 0,011$	$0,16 \pm 0,014$	71%
	Дисперсія $M_2$ на $Ac(\lambda_{\max}^{(3)})$	$0,25 \pm 0,019$	$0,13 \pm 0,012$	$0,19 \pm 0,014$	73%
Метод статистичного аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(1)} = 0,45 \mu\text{м}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матричних зображень	Ексцес $M_4$ розподілу $r_{14}$	$2,43 \pm 0,19$	$2,02 \pm 0,08$	$2,26 \pm 0,13$	96%
Метод статистичного	Ексцес $M_4$	$0,21 \pm 0,019$	$0,59 \pm 0,041$	$0,31 \pm 0,028$	91%

аналізу спектрально-селективних ( $\lambda_{\max}^{(2)} = 0,55\text{мкм}$ ) автофлуоресцентних мюллер-матрчиних зображень	розподілу $r_{14}$				
Метод спектрально-селективної лазерної поляриметрії автофлуоресценції ендогенних порфіринів	Асиметрія інтенсивності $M_3$	1,44± 0,12	0,76± 0,062	1,23± 0,11	93%



**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Александров С.С. Методы стандартизации в определении места внезапной коронарной смерти среди прочих форм ишемической болезни сердца / С.С. Александров, В.В. Аникин, С.К. Мелессе [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2006. – №6. – С. 72-76.
2. Антонова И.С. Предикторы внезапной смерти у больных сердечной недостаточностью различного генеза / И.С. Антонова, О.М. Моисеева, В.С. Морошкин // Артериальная гипертензия. – 2009. – Т.15, №4. – С. 462-465.
3. Асташкина О.Г. Значение биохимических исследований в практике судебно-медицинской экспертизы / О.Г. Асташкина, Н.В. Власова // Суд. мед. эксперт. – 2008. – №4. – С. 19-22.
4. Асташкина О.Г. Способ дифференциальной диагностики смерти от ишемической болезни сердца и алкогольной кардиомиопатии с использованием диагностических коэффициентов / О.Г. Асташкина, Н.В. Власова // Суд.-мед. экспертиза. – 2008. – Т. 51, №5. – С. 12-15.
5. Асташкина О.Г. Экспертная оценка биофизических показателей при внезапной сердечной смерти / О.Г. Асташкина, Е.С. Тучик, Е.П. Столярова // Лабораторная служба. – 2013. – № 2. – С. 3-5.
6. Атрощенко Е.С. Новые ишемические синдромы – новая цель для кардиолога // Сердце. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 72-75.
7. Бачинський В.Т. Полярizaційні образи позаклітинних матриць основних типів біологічних тканин для завдань судової медицини / В.Т. Бачинський // Клінічна та експериментальна патологія. – 2008. – Т.7, №1. – С. 6 - 13.
8. Березов Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин // М.: Медицина, 2004. – 704 с.

9. Богомолов Д.В. Некоторые методологические основы судебно-медицинской танатологии как науки / Д.В. Богомолов // Российское полицейское право. – 2014. – № 1. – С.52-60.
10. Богомолов Д.В. Перспективы аксиоматизации танатологии / Д.В. Богомолов // Современные проблемы медико-криминалистических, судебно-химических и химико-токсикологических исследований. – 2007. – С. 308-311.
11. Боднар П.В. Патоморфологія провідної системи серця при гострій коронарній недостатності / П.В. Боднар // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2007. – Т.6, № 4. – С. 62-66.
12. Боднар П.В. Ультраструктурні зміни провідникової системи при гострій коронарній недостатності / П.В. Боднар // Бук. мед. вісник. – 2008. – Т.12, №1. – С. 113-117.
13. Бокерия Л.А. Внезапная сердечная смерть / Л.А. Бокерия, А.Ш. Ревизишвили, Н.М. Неминуший // М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 272 с.
14. Бокерия О.Л. Внезапная сердечная смерть у спортсменов / О.Л. Бокерия, Л.А. Бокерия // Анналы аритмологии. – 2009. – Т. 6, № 2. – С. 24-39.
15. Болдырев А.А. Роль Na/K-насоса в возбудимых тканях (обзор) / А.А. Болдырев // J. Siberian Fed. Univ. Biology. – 2008. – № 3. – С. 208–225.
16. Буданцев А.Ю. Основы гистохимии: Учебное пособие (компьютерный вариант) / А.Ю. Буданцев // Пуццино: Пуцинский гос. ун-т. – 2008. – Режим доступа: [http://window.edu.ru/window/library?p\\_rid=59159](http://window.edu.ru/window/library?p_rid=59159).
17. Буромский И.В. Формирование профессиональной компетентности врача в области судебной медицины и судебно-медицинской экспертизы в современных условиях. – Автореф. дисс. докт. мед. наук: 14.00.24 / РГМУ – М, 2009. – 46 с.
18. Ванчуляк О.Я. Диференційно діагностичні критерії давності настання смерті. – Автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.15. / МОЗ України. НМАПО імені П.Л. Шупика. – К., 2007. – 18с.

19. Вариантная коронарная анатомия в повседневной практике интервенционного кардиолога (опыт 30 тысяч коронарографий) / И. Губенко, В. Илюхин, А. Аналеев [и др.] // Международный журнал интервенционной кардиоангиологии. – 2013. – № 35. – С. 19.
20. Васильева И.Н. Нуклеосомная фракция внеклеточной ДНК как показатель апоптоза / И.Н. Васильева, О.И. Подгорная, В.Г. Беспалов // Цитология. – 2015. – Т. 57, № 2. – С. 87-94.
21. Васина Л.В. Клеточные и гуморальные маркеры апоптоза при остром коронарном синдроме / Л.В. Васина, Н.Н. Петрыщев // Патология. – 2008. – Т.5, №3. – С. 94.
22. Вельков В.В. Экспрес-диагностика острых коронарных событий: быстрота, надежность, экономичность / В.В. Вельков, О.Н. Резникова // Лабораторна діагностика. – 2010. – №3. – С. 69-71.
23. Вербицкий В.В. Морфологія порушень енергетичного та пластичного забезпечення міокарда при хронічній коронарній недостатності / В.В. Вербицкий // Лікарська справа. – 2006. – № 7. – С. 31-35.
24. Власов А.И. Электронная микроскопия: учеб. пособие / А.И. Власов, К.А. Елсуков, И.А. Косолапов // М.: Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2011. – 168 с.
25. Власова Н.В. Дифференциальная диагностика ишемической болезни сердца и алкогольной кардиомиопатии / Н.В. Власова, О.Г. Асташкина // Москва. – 2010. – 108с.
26. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на ремоделирование миокарда при экспериментальной ишемии / В.А. Мониц, С.Л. Малиновская, В.Ф. Лазукин [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. XIX, № 4. – С. 64-66.
27. Внезапная ненасильственная смерть молодых людей (ретроспективный анализ) / М.В. Гордеева, О.Е. Велеславова, М.А. Батунова [и др.] // Медицина неотложных состояний. – 2014. – № 4. – С. 18-26.

28. Внезапная сердечная смерть и полиморфизм генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний / В.П. Новоселов, С.К. Малютин М.И. Воевода [и др.] // Кардиология. – 2009. – №4. – С.52-57.
29. Внезапная сердечная смерть у больных ишемической болезнью сердца / С.А. Бойцов, Н.Н. Никулина, С.С. Якушин [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2011. – № 2. – С. 59-64.
30. Возможные причины внезапной кардиальной смерти в Харьковской области / В.И. Целуйко, Е.А. Белостоцкая, К.Л. Крейндель [и др.] // Укр. кардіологічний журнал. – 2008. – № 6. – С. 8-12.
31. Волков В.П. Морфометрический подход к оценке кардиальной патологии / В.П. Волков // Современная медицина: актуальные вопросы. – 2013. – № 19. – С. 45-49.
32. Вторичная митохондриальная дисфункция при остром коронарном синдроме / И.А. Садулаева, О.В. Крикунова, О.Н. Кудряков [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2007. – Т. 3, № 1. – С. 41-47.
33. Выявляемость острых форм ишемической болезни сердца в клинической практике / С.А. Бойцов, Н.Н. Никулина, С.С. Якушин [и др.] // Клиническая медицина. – 2010. – № 6. – С. 30.
34. Габинский Я.Л. Структура латентности больных на догоспитальном этапе / Я.Л. Габинский, А.А. Гришина // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2007. – Т. 6, № 6. – С. 22-29.
35. Гаврилова Е.А. Внезапная смерть в спорте / Е.А. Гаврилова // Международная научно-практическая конференция государств-участников СНГ по проблемам ФК и спорта: доклады пленарных заседаний. – 2010. – С. 91-96.
36. Герасименко О. Словник-довідник термінів судової медицини / О. Герасименко // Київ, 2002. – 418 с.

37. Горбунова Т.К. Применение гематоксилина в микроскопической технике / Т.К. Горбунова // Математическая морфология. Электронный математический и медико-биологический журнал. – 2008. – Т. 7, Вып. 1.
38. Гринхальх Т. Основы доказательной медицины / Т. Гринхальх // М.: ГЭОТАР-МЕД, 2006. – 240 с.
39. Дежинова Т.А. Посмертные биохимические исследования при диагностике поражения миокарда в практике судебно-медицинской экспертизы / Т.А. Дежинова // Актуальные вопросы судебной биохимии. СПб. – 2006. – С. 45.
40. Дегтярева О.В. Сыроваточный неопептин и С-реактивный белок у больных с разными клиническими вариантами острого коронарного синдрома / О.В. Дегтярева, О.В. Петюнина // Укр. терапевт. жур. – 2008. – №1. – С. 41-44.
41. Денисюк В.І. Фібриляція шлуночків, асистолія та електромеханічна дисоціація: стандарти діагностики, реанімації та профілактики згідно з доказовою медициною / В.І. Денисюк, О.В. Ковальчук, Г.І. Хребтій // Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2007. – №3. – С. 13-18.
42. Діагностика гострого ішемічного пошкодження міокарда – актуальна проблема судової медицини / В.Д. Мішалов, С.В. Козлов, І.В. Іркін [та ін.] // Буковинський медичний вісник. – 2014. – Т. 18, № 4. – С. 231-233.
43. Диагностика ишемической болезни сердца с использованием метода широкополосной ИК-спектроскопии / В.М. Микин, О.А. Малых, Н.П. Лопина // Совершенствование структуры и содержания научной и практической медицины. Ежегодный сборник научно-практических работ. – Тверь, «Фактор», 2005. – С. 68-70.
44. Д полиморфизм гена ангеотензинпревращающего фермента у больных с острым коронарным синдромом / Р.Т. Сайгитов, М.Г. Глезер, Д.П. Семенцов, Н.А. Малыгина // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2006. – Т.5, №8. – С. 34-41.

45. Дунаев О.В. Гістологічні критерії диференційної діагностики раптової смерті внаслідок гострої коронарної недостатності на фоні хронічного отруєння алкоголем за гістологічними змінами / О.В. Дунаев, Л.І. Циганюк // Укр. морфологічний альманах. – 2009. – Т.7, №1. – С. 27-30.
46. Дунаев О.В. Значення експрес аналізу серцевого тропоніну І у диференційній діагностиці причин раптової смерті / О.В. Дунаев // Укр. мед. альманах. – 2008. – Т.11, №3. – С. 49-51.
47. Дунаев О.В. Особливості змін ендокарда передсердь і шлуночків у разі раптової смерті внаслідок гострої коронарної недостатності / О.В. Дунаев, О.М. Панзу // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика: Випуск 16. Книга 3 / Гол. ред. Ю.В. Вороненко – К.: НМАПО ім. П.Л. Шупика, 2007. – С. 336-340.
48. Дунаев О.В. Особливості стану вегетативної нервової системи та провідної системи серця при раптовій серцевій смерті / О.В. Дунаев // Укр. мед. альманах – 2009. – Т. 12, № 4. – С. 69-72.
49. Дунаев О.В. Судово-медицині особливості серця внаслідок гострої коронарної недостатності у разі раптової серцевої смерті / О.В. Дунаев, О.О. Самойленко // Український морфологічний альманах. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 43-44.
50. Жердева В.В. Применение лантанидного индуктивно-резонансного переноса энергии при изучении биологических процессов *in vitro* и *in vivo* / В.В. Жердева, А.П. Савицкий // Успехи биологической химии. – 2012. – Т. 52. – С. 315-362.
51. Жарінов О.Й. Успадковані каналопатії та міокардіальні причини раптової серцевої смерті / О.Й. Жарінов // Мистецтво лікування. – 2009. – №6. – С.23-28.
52. Зависимость скорости  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  обмена от внеклеточной концентрации ионов натрия и калия в изолированном сердце крысы / В.В. Алабовский, А.А. Винокуров, О.В. Башарина [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. 18, № 2. – С. 14-17.

53. Залесский В.Н. Внутрисосудистая оптическая когерентная томография: возможности визуализации коронарной патологии / В.Н. Залесский // Український медичний часопис. – 2005. – №6. – С.42-46.
54. Зеляк В.Л. Гістопатологія мікроциркуляторного русла міокарда при раптовій серцевій смерті / В.Л. Зеляк, І.Д. Ключініський, М.Б. Пастух // Буков. мед. вісник – 2002. – Т.6, №2-3. – С. 46-48.
55. Зербіно Д.Д. Раптова смерть від хвороб системи кровообігу, гострої коронарної недостатності та інфаркту міокарда: вік, стать і професії померлих (аналіз динаміки за вісімнадцять років) / Д.Д. Зербіно, Т.М. Соломенчук, О.Р. Малик // Український медичний часопис. – 2004. – № 5 (43). – С. 106-109.
56. Зербіно Д.Д. Раптова смерть в Україні і вплив кризових екологічних чинників / Д.Д. Зербіно, О.Р. Малик, Т.М. Соломенчук // Серце і судини. – 2006. – №1. – С. 41-49.
57. Зими́на І.А. Перспективы использования биохимических диагностических констант в судебно-медицинской экспертизе инфаркта миокарда / І.А. Зими́на, Т.Д. Лелюх, Л.С. Маслаускайте // Материалы Всеросс. научно-практ. конф., поев. 75-летию РЦСМЭ. – Москва. – 2006. – С. 252-254.
58. Зозуля В.М. Експрес-аналіз раптової серцевої смерті шляхом дослідження тропоніна І / В.М. Зозуля // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. ПЛ Шупика. – 2013. – № 22 (3). – С. 380-384.
59. Зырянова А.В. Оценка влияния клинических и лабораторных характеристик больных с острым коронарным синдромом на результаты качественного иммунохроматографического метода определения сердечного белка, связывающего жирные кислоты / А.В. Зырянова, Н.Н. Ярошно, К.Ю. Николаев // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т.17, №4. – С. 123-124.

60. Ермошкин В.И. Предполагаемый механизм возникновения аритмии сердца человека / В.И. Ермошкин // Электронный научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке». – 2013. – Т. 15. – № 6.
61. Єрмола Ю.А. Зміна показників перекисного окислення ліпідів і антиоксидантної системи при розвитку експериментального перитоніту / Ю.А. Єрмола // Патологія. – 2013. – № 2 (25). – С. 92-94.
62. Иванов И.Н. Взаимосвязь микроскопических изменений миокарда с биохимическими показателями перикардальной жидкости при острых формах ишемической болезни сердца / И.Н. Иванов, А.Г. Резник, Н.В. Дзик // Архив патологии. – 2006. – Т. 68, № 3. – С. 18-20.
63. Иванов И.Н. Микроскопические изменения миокарда при острых формах ишемической болезни сердца / И.Н. Иванов, А.Г. Резник // Судебно-медицинская экспертиза. – 2006. – Т. 49, № 1. – С. 3-5.
64. Иванов И.Н. Судебно-медицинская диагностика внезапной коронарной смерти. Учебное пособие / И.Н. Иванов, А.Г. Резник // СПб.: СПбМАПО, 2009. – 23 с.
65. Иванов И.Н. Подходы к выбору контрольной группы при патоморфологическом исследовании сердца / И.Н. Иванов, А.Г. Резник // Судебно-медицинская экспертиза. – 2009. – № 4. – С. 3-7.
66. Идиопатическая фибрилляция желудочков / З.Ф. Кудзоева, А. Заварина, О. Бокерия, Л.И. Бокерия // Анналы аритмологии. – 2010. – Т. 7. – № 4. – С. 5-16.
67. Изучение морфологических свойств соединительной ткани в зоне имплантации различных эндопротезов на миокард собак / А.В. Тимербаев, И.В. Дмитриев, Э.К. Гасанов [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 73-80.
68. Инструкция по применению набора реагентов «Кардио БСЖК» для иммунохроматографического выявления сердечного белка, связывающего жирные кислоты, в цельной крови // Новосибирск, 2008. – 2с.



69. Использование флуоресцентной спектроскопии для оценки ишемического повреждения миокарда / В.В. Салмин, А.Б. Салмина, А.А. Фурсов [и др.] // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2011. – Т. 4, № 2. – 142-157.
70. Исследования, применяемые в диагностике смерти от патологии сердечнососудистой системы / С.В. Архипкин, И.А. Кох, Н.С. Горбунов [и др.] // Сиб. мед. ж. (Иркутск). – 2013. – №4. – С. 5-7.
71. Кактурский Л.В. Внезапная сердечная смерть (морфологическая диагностика). Пособие для врачей / Л.В. Кактурский, М.Г. Рыбакова, И.А. Кузнецова // СПб.: ГПАБ. – 2008. – № 100. – С. 80.
72. Кактурский И.В. Внезапная сердечная смерть: современное состояние проблемы / И.В. Кактурский // Архив патологии. – 2005. – № 3. – С. 8-11.
73. Кактурский И.В. Информативность гистологических признаков поражения миокарда при внезапной коронарной смерти / И.В. Кактурский // Диагностическая медицинская морфометрия. Сб., посвященный 80-летию Г.Г. Автандилова. – 2002. – С. 62-65.
74. Кактурский И.В. Клиническая морфология острого коронарного синдрома / И.В. Кактурский // Архив патологии. – 2007. – Т. 69, №4. – С.16-19.
75. Капустин А.В. Микроскопические изменения миокарда и их значение для судебно-медицинской диагностики / А.В. Капустин // Судебно-медицинская экспертиза. – 2006. – Т. 49, № 6. – С. 3-6.
76. Капустин А.В. Морфологические признаки нарушения проведения возбуждения в миокарде // Суд. мед. эксперт. – 2005. – № 3. – С. 6-8.
77. Кимбар В.И. Модифицированный вариант макроскопического исследования сердечной мышцы в случаях скоропостижной смерти от сердечно-сосудистых заболеваний / В.И. Кимбар // Суд.-мед. экспертиза. – 2002. – Т.45, №2. – С.6-7.
78. Кирьякулов Г.С. Морфометрия сердца в норме / Г.С. Кирьякулов, Н.И. Яблучанский, В.Е. Шляховер // - К.: Вища школа, 1990. – 152 с.

79. Коваленко В.Н. Руководство по кардиологии / Под редакцией В.Н. Коваленко. ННЦ «Институт кардиологии им. Н.Д. Стражеско» АМН Украина, Морион, 2008. – 1424 с.
80. Коваленко В.Н. Нозологический профиль и клинико–морфологические сопоставления при внезапной сердечной смерти / В.Н. Коваленко, И.Л. Старикова // Известия Челябинского научного центра. – 2006. – Вып. 2 (32). – С. 104-109.
81. Козлов С.В. Биометрический анализ сердечной стенки человека / С.В. Козлов // Морфологія. – 2009. – № 2. – С. 37-41.
82. Колтовой Н.А. Новый метод поляризационной микроскопии для диагностики инфаркта миокарда [Электронный ресурс] / Н.А. Колтовой // Юридическая библиотека. – 2006. – Режим доступа к журн.: [http://www.juristlib.ru/book\\_5964.html](http://www.juristlib.ru/book_5964.html)
83. Компьютерная томография в оценке анатомического строения сердца при врожденных пороках / Л.А. Бокерия, В.Н. Макаренко, Л.А. Юрпольская, Д.А. Приказчиков // Бюллетень НЦССХ им. АН Бакулева РАМН. – 2008. – Т. 9, № 2-С. – С. 41-52.
84. Коржевский Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э. Коржевский, А.В. Гиляров // СПб.: СпецЛит. – 2010. – 95 с.
85. Коржевский Д.Э. Применение гематоксилина в гистологической технике / Д.Э. Коржевский // Морфология. – 2007. – Т. 132, № 6. – С. 77-81.
86. Коркушко О.В. Возрастные особенности функционального состояния эндотелия микрососудов / О.В. Коркушко, В.Ю. Лишневская, Г.В. Дужак // Кровообіг та гемостаз. – 2007. – № 4. – С. 5-11.
87. Котвіцька А.А. Дослідження соціально-епідеміологічних показників населення України внаслідок хвороб системи кровообігу на державному та регіональному рівнях / А.А. Котвіцька, І.О. Лобова // Вісник фармації. – 2012. – № 4. – С. 62-65.

88. Кратнов А.Е. Изменение внутриклеточного метаболизма нейтрофилов и смертельный исход при ишемической болезни сердца / А.Е. Кратнов, И.В. Хабарова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – Т. 1. – С. 20-21.
89. Кривда Г.Ф. Результати вивчення показників смертності внаслідок захворювань органів системи кровообігу серед населення Одеської області // Український медичний альманах. – 2007. – №6. – С.46-48.
90. Кулешова Є.В. Всегда ли внезапна внезапная сердечная смерть? / Є.В. Кулешова, Е.А. Демченко, Е.В. Шляхта // Вестник аритмологии. – 2005. – № 42. – С. 22-27.
91. Куликов И.В. Генетические маркеры тяжести поражения коронарных сосудов у больных с острым коронарным синдромом / И.В. Куликов // Бюллетень СО РАМН. – 2013.– № 4. – С. 65-70.
92. Лежнина О.Ю. Особенности морфофункциональной организации коронарного русла сердца / О.Ю. Лежнина, А.А. Коробкеев // Бюллетень медицинских интернет-конференций. Общество с ограниченной ответственностью Наука и инновации. – 2013. – Т. 3, № 5. – С. 923-924.
93. Лежнина О.Ю. Характеристика субэпикардального артериального русла сердца человека / О.Ю. Лежнина, А.А. Коробкеев // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. 19, № 2. – С. 169-170.
94. Лекаева И.А. Ишемическая болезнь сердца и гистологические изменения миокарда / И.А. Лекаева, Е.В. Казакова // Актуальные вопросы судебно-медицинской экспертизы трупа. – 2008. – С. 55-58.
95. Ликов И.В. Клиническое значение мультиспиральной компьютерной ангиографии в диагностике ишемической болезни сердца / И.В. Ликов // Кардиология и сердечно-сосуд. хир. – 2011. – Т. 4. – С. 30-36.
96. Лойда З. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы / З. Лойда, Р. Госсрау, Т. Гиблер // М.: Мир. – 1992. – 271с.

97. Лоскутов О.А. Характеристика митохондрий в условиях экспериментальной ишемии миокарда / О.А. Лоскутов, О.А. Пивоварова // Морфология. – 2013. – Т. VII, № 1. – Р. 54-59.
98. Лукьянова Л.Д. Закономерности формирования резистентности организма при разных режимах гипоксического прекондиционирования: роль гипоксического периода и реоксигенации / Л.Д. Лукьянова, Э.Л. Германова, Р.А. Копаладзе // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 147, №4. – С. 380-384.
99. Маслов Л.Н. Адаптация миокарда к ишемии. Ранняя фаза ишемического состояния / Л.Н. Маслов, Ю.Б. Лишманов, Н.В. Соленкова // Усп. физиол. наук. – 2006. – Т. 37, №3. – С. 25-41.
100. Макроскопический и органомертрический анализ сердца в патологии: пособие для врачей / Л.Б. Митрофанова, Х.К. Аминева; под ред. проф. Г.Б. Ковальского // Санкт-Петербург: ГПАБ. – 1998. – 60 с.
101. Малик О.Р. Патоморфологія артерій серця при раптовій смерті в осіб молодого віку. / О.Р. Малик // Автореф. дис.... канд. мед. наук. 14.03.02. – Львів, нац. мед. унів. – 2007. – 20 с.
102. Мармоза А.Т. Теорія статистики [текст] підручник / А.Т. Мармоза – 2-ге вид. перероб. та доп. – К.: «Центр учбової літератури», 2013. – 592 с.
103. Метаболическая десинхронизация при критических состояниях / Г.А. Ливанов, М.В. Александров, С.А. Васильев [и др.] // Общая реаниматология. – 2006. – Т. 2, №1. – С. 42-46.
104. Мішин М.Ю. Судово-медична діагностика раптові кардіальної смерті за допомогою комплексу лабораторних досліджень / М.Ю. Мішин // Дис... канд. мед. наук: 14.01.25. – Київ, 2008. – 145 с.
105. Миелопероксидаза нейтрофильных лейкоцитов в диагностике ишемического повреждения миокарда / Ж.М. Васильчева, Е.Д. Космачева, Л.М. Чуприненко, А.А. Славинський // Соврем. наукоемк. технол. – 2013. – №3. – С. 80-81.

106. Митохондриальные АТФ-зависимые калиевые каналы, как точка приложения действия при дистантном прекондиционировании / Л.М. Даниленко, М.В. Покровский, А.Е. Королев [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. – 2010. – №22, Вып. 12/2. – С. 15-18.
107. Морозов Ю.Е. Судебно-медицинские критерии для встановления острой формы ИБС в случаях скоропостижной смерти (комплекс биохимического исследования активности ферментов в стенках венечных артерий сердца, миокарда и плазмы крови) /Ю.Е. Морозов // Автореф. дис. ... канд.. мед. наук., М., 1978.
108. Морфогенетические аспекты изменений миокарда в условиях острой и хронической ишемии / В.Н. Благодаров, М.В. Данилишина, Н.Н. Лагода [и др.] // Запорожский медицинский журнал. – 2011. – Т. 13, № 6. – С. 10-12.
109. Морфологическая диагностика инфаркта миокарда / В.П. Новоселов, С.В. Савченко, Н.Г. Ощепкова [и др.] // Буковинський медичний вісник. – 2013. – Т. 17, № 3 (1). – С. 111-113.
110. Нарыжная Н.В. Ишемические и реперфузионные повреждения сердца: основные проявления и молекулярный механизм / Н.В. Нарыжная, Л.Н. Маслов // Бюллетень федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А Алмазова. – 2012. – С. 56.
111. Некоторые механизмы нарушения биоэнергетики и оптимизация подходов к их фармакотерапии / В.А. Кашуро, В.Б. Долго-Сабуров, В.А. Башарин [и др.] // Биомедицинский журнал Medline. ru. – 2010. – Т. 11, № 52. – С. 611-634.
112. Непомнящих Л.М. Морфологические проявления «атеросклеротического сердца» (патологоанатомическое и экспериментальное исследование) /

- Л.М. Непомнящих, В.Д. Розенберг // Бюл. Сиб. отд-ния РАМН. – 2006. – № 2. – С. 118-125.
113. Николаева А.В. Закономерности патоморфологических изменений миокарда предсердий при внезапной сердечной смерти у гериатрических пациентов // Аспирантский вестник Поволжья. – 2009. – № 7-8. – С. 178-181.
114. Новиков Д.А. Биофизика: курс лекций. Часть 2 / Д.А. Новиков, М.М. Филимонов // Минск: БГУ, 2010. – 148с.
115. Новые критерии диагностики скоропостижной сердечной смерти в судебной медицине / Д.В. Богомолов, Ю.Г. Таборов, М.Я. Баранова [и др.] // Суд. мед. эксперт. – 2007. – № 4. – С. 16-19.
116. Нормативные значения толщины стенок желудочков сердца по результатам морфометрических исследований / Л.А. Бокерия, О.А. Махачев, М.С. Панова [и др.] // Бюллетень научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. АН Бакулева РАМН Сердечно-сосудистые заболевания. – 2006. – Т. 7., № 6. – С. 42-61.
117. Оганов Р.Г. Гендерные различия кардиоваскулярной патологии / Р.Г. Оганов, Г.Я. Масленникова // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2012. – Т. 11, № 4. – С. 101-104.
118. Ольховський В.О. Визначення діагностичної цінності морфологічних ознак при складанні судово-медичного експертного висновку про причину раптової серцевої смерті / В.О. Ольховський, М.В. Губін, Л.С. Купріянова // Експериментальна і клінічна медицина. – 2011. – № 3 (52). – С. 145-148.
119. Основы обеспечения качества в гистологической лабораторной технике: Руководство / П.Г. Мальков, Г.А. Франк, Л.В. Москвина [и др.] // М., 2011. – 108 с.
120. Особенности исследования трупов лиц, умерших скоропостижно от ишемической болезни сердца / В.П. Новоселов, С.В. Савченко,

- Р.В. Скребов [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 27, № 2. – С. 111-113.
121. Острый коронарный синдром, современный подход к диагностике и лечению / С.А. Белякин, В.А. Игонин, А.Б. Шамес, В.М. Проскурин // Военно-медицинский журнал. – 2009. – Т. 330, №3. – С. 24-29.
122. Острый коронарный синдром: патогенез, диагностика, лечение. Монография / В. Шуманов, Т. Талаева, А. Пархоменко, В. Братусь // К.: Четверта хвиля, 2006. – 608с.
123. Оценка ультраструктурных изменений сократительного аппарата кардиомиоцитов при ушибе сердца / В. Новоселов, С. Савченко, Д. Кошляк, [и др.] // Судебно-медицинская экспертиза. – 2010. – Т. 53, № 2. – С. 13-15.
124. Панзу А.О. Судово-медична оцінка гістологічних змін міокарда шлуночків у разі раптової смерті внаслідок гострої ішемічної хвороби серця / А.О. Панзу // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика: Випуск 16. Книга 2 / Гол.ред. Ю.В. Вороненко – К.: НМАПО ім. П.Л. Шупика, 2007. – С. 496-499.
125. Паращенко И.И. Сенсibiliзировавшая флуоресценция в присутствии мицелл пав для определения некоторых физиологически активных веществ в растворе и на поверхности / И.И. Паращенко // Автореф. дис.... канд. хим. наук. 02.00.02. – ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского». – 2013. – 22 с.
126. Патогенез, клиника и диагностика коронарного синдрома X / Я.К. Рустамов, М.Н. Алехин, Б.А. Сидоренко, В.А. Азизов // Кардиология. – 2008. – Т. 48, № 11. – С. 74-78.
127. Патологоанатомическая диагностика острой ишемической болезни сердца / Всемирная организация здравоохранения. Серия технических докладов № 441. – 1971. – 32с.
128. Пиголкин Ю.И. Судебно-медицинская оценка морфологических изменений миокарда и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой

- системы при внезапной сердечной смерти / Ю.И. Пиголкин, О.В. Должанский, Т.М. Громова // Судебно-медицинская экспертиза. – 2012. – №2. – С. 13-17.
129. Петрищев Н.Н. Содержание растворимых маркеров апоптоза и циркулирующих аннексин V-связанных апоптотических клеток в крови больных острым коронарным синдромом / Н.Н. Петрищев, Л.В. Васина, А.В. Луговая // Вестник Санкт-Петербургского Университета. – 2008. – №11. – С. 14–23.
130. Петрищев Н.Н. Клеточные и гуморальные маркеры апоптоза при остром коронарном синдроме / Н.Н. Петрищев, Л.В. Васина // Патологія. – 2008. – Т. 5, № 3. – С. 94-94.
131. Прижизненная отражательная конфокальная лазерная сканирующая микроскопия: история создания, принцип работы, возможности применения в дерматологии / Н.Н. Лукашева, С.Б. Ткаченко, Н.Н. Потекаев [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2008. – № 5. – С. 10-15.
132. Применение окраски гематоксилином-основным фуксином-пикриновой кислотой (ГОФП) для выявления повреждений миокарда различного генеза / Р.А. Серов, Г.А. Токарева, К.К. Рагузин, Т.А. Шмырева // Архив патологии. – 1977. – Т. 39, №. 5. – С. 70-72.
133. Поиск новых маркеров окислительного стресса при ишемии мозга для оптимизации терапевтических подход / О. Баранова, А. Чеканов, А. Карнеев [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии. – 2011. – Т. 111, № 12. – С. 25-31.
134. Порсуков Э.А. Современные морфологические критерии внезапной сердечной смерти / Э.А. Порсуков // Суд. мед. эксперт. – 2009. – № 4. – С. 7-11.



135. Пронина Е.Н. Внезапная сердечная смерть (распространенность, возможные причины, сопутствующая патология) / Е.Н. Пронина // Проблемы экспертизы в медицине. – 2009. – Т. 9. – № 36-4. – С. 44-46.
136. Ранні та пізні біомаркери некрозу міокарда у хворих з гострим коронарним синдромом / В. Лизобут, Т. Завальська, П. Ткач [та ін.] // Лікарська справа. – 2007. – №8. – С. 12-20.
137. Резник А.Г. Динамика посмертного аутолиза кардиомиоцитов / А.Г. Резник, И.Н. Иванов, И.Н. Иванов // Судебно-медицинская экспертиза. – 2011 – №1. – С. 19-22.
138. Резник А.Г. Информативность электролитов и глюкозы перикардиальной жидкости при острых формах ишемической болезни сердца / А.Г. Резник // Арх. пат. – 2008. – № 4. – С. 47-49.
139. Резник А.Г. Морфологические предпосылки возникновения фибрилляции желудочков сердца при внезапной коронарной смерти / А.Г. Резник // Кардиология. – 2009. – Т. 49, №5. – С. 22-25.
140. Резник А.Г. Морфологические проявления скоропостижной смерти от ишемической болезни сердца: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб 2004. – 118 с.
141. Резник А.Г. Морфология миокарда в случаях смерти от острых форм ишемической болезни сердца / А.Г. Резник // Архив патологии. – 2007. – Т.69, №4. – С. 32-35.
142. Резник А.Г. Морфология острого инфаркта миокарда в донекротической стадии / А.Г. Резник // Кардиология. – 2010. – № 1. – С. 4-8.
143. Резник А.Г. Современные информационные технологии анализа статистических данных при оценке патоморфологических изменений сердца / А.Г. Резник // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. – № 11. – С. 92-95.
144. Ретроспективный анализ случаев внезапной сердечной смерти (с 2000 по 2004 гг.) / М.Ш. Мукашев, З.З. Громова, О.А. Лавриненко [и др.] // Вестник КРСУ. – 2006. – Т. 6, № 2. – С. 18.

145. Рыбакова М.Г. Патогенетические механизмы внезапной сердечной смерти / М.Г. Рыбакова, И.А. Кузнецова // Учен. зап. СпбГМУ. – 2012. – Т.19, № 2. – С. 64-67.
146. Савостина Е.П. Стратегия методических подходов в производстве судебно-медицинских молекулярно-генетических экспертиз / Е.П. Савостина, Л.А. Арсентьева // Проблемы экспертизы в медицине. – 2011. – Т. 11. – С. 43-44.
147. Савченко В.И. Острый коронарный синдром у пациентов пожилого возраста / В.И. Савченко // Практическая ангиология. – 2009. – №3-4. – С.52-56.
148. Салмин В.В. УФ лазер-индуцированная аутофлуоресцентная спектроскопия для медицинской диагностики - Автореф. дис. докт. физ.-мат. наук: 01.04.21., 03.01.02 / В.В. Салмин // ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики». – 2012. – 45с.
149. Силантьева Т.А. Количественная оценка интенсивности гистохимических реакций на оцифрованных изображениях гистологических препаратов с использованием градуировочных стандартов / Т.А. Силантьева, Е.Н. Горбач // Український журнал телемедицини та медичної телематики. – 2010. – Т. 8, № 1. – С. 68-71.
150. Смирнова Т.Д. Флуориметрическое определение флюомеквина с помощью сенсibilизированной флуоресценции тербия в организованных средах / Т.Д. Смирнова // Химико-фармацевтический журнал. – 2009. – Т. 44, № 11. – С. 49-52.
151. Снежицкий В.А. Синдром Бругада / В.А. Снежицкий, Т.В. Шаблыко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2009. – № 4 (28). – С. 10-15.
152. Сравнительное морфометрическое исследование различных отделов предсердий при их пароксизмальной и персистирующей фибрилляции /

- Л.Б. Митрофанова, Д.С. Лебедев, И.В. Антонова, П.Г. Платонов // Вестник аритмологии. – 2010. – № 62. – С. 32-36.
153. Судово-медична діагностика раптової смерті від гострої ішемічної хвороби серця відповідно до МКХ / І.В.Іркін, В.Д.Мішалов, Б.В. Михайличенко, В.В. Войченко // Київ, 2012. – С.27.
154. Телкова И.Л. Возможный механизм внезапной сердечной смерти при микрососудистом поражении коронарных артерий по данным аутопсии миокарда / И.Л. Телкова, М.В. Фадеев // Вестник аритмологии. – 2007. – Т. 47. – С. 64-7.
155. Теренда Н.О. Прогностична оцінка захворюваності та поширеності хвороб системи кровообігу / Н.О. Теренда // Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. – 2014. – № 4. – С. 31-35.
156. Тучин В.В. Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике / В. В. Тучин // М. : ФИЗМАТЛИТ, 2012. – 811 с.
157. Ультроструктурные аспекты постинфарктного ремоделирования левого желудочка / А.А. Миллер, В.М. Шипулин, И.В. Суходоло, В.А. Казаков // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – Т. 24, № 4-1. – С. 6-11.
158. Унгурян В.П. Методи поляризаційної та фазової діагностики патологічних змін біологічних тканин / В.П. Унгурян, Ю.О. Ушенко, Л.І. Бізер // Монографія. – Чернівці: ЧНУ. – 2009. – 247 с.
159. Федько И.И. Морфофункциональная характеристика топографо-анатомических взаимоотношений артерий и вен сердца / И.И. Федько, О.Ю. Лежнина, А.А. Коробкеев // Оригинальные исследования. Морфология. – 2013. – С. 60-62.
160. Феофанов А.В. Спектральная лазерная сканирующая конфокальная микроскопия в биологических исследованиях / А.В. Феофанов // Успехи биологической химии. – 2007. – Т. 47. – С. 371-410.

161. Ходасевич Л.С. Нозологический профиль внезапной сердечной смерти у спортсменов / Л.С. Ходасевич, А.Л. Ходасевич, С.Г. Кузин // Архив патологии. – 2013. – № 4. – С. 42-47.
162. Ходасевич Л.С. Судебно-медицинские аспекты внезапной сердечной смерти в спорте / Л.С. Ходасевич, С.Г. Кузин, А.Л. Ходасевич // Судебно-медицинская экспертиза. – 2012. – Т. 55, № 5. – С. 56-61.
163. Целлариус Ю.Г. Патологоанатомическая диагностика преднекротических изменений и инфаркта методом поляризационной микроскопии / Ю.Г. Целлариус, Л.А. Семенова, Л.М. Непомнящих // Метод рекоменд. – 1979. – 23с.
164. Цитохимические аспекты энергетического дефицита миокарда в условиях атерогенной дислипотеидемии / В.Н. Благодаров, М.В. Данилишина, Н.Н. Лагода [и др.] // Світ медицини та біології. – 2011. – № 4. – С. 20-23.
165. Частота полиморфизма промотора гена, кодирующего эпоксигеназу 2J2, у больных с острым коронарным синдромом / А.О. Лисовой, В.Е. Досенко, А.Н. Пархоменко, А.А. Мойбенко // Цитология и генетика. – 2010. – Т. 44, № 2. – С. 53-57.
166. Челнокова Н.О. Клинико-морфологические основы моделирования гемодинамики в системе венечных артерий с учетом их взаимодействия с миокардом (обзор) / Н.О. Челнокова, А.А. Голядкина, О.А. Щучкина // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2011. – Т. 7, № 4. – С. 762-768.
167. Чудиновских Ю.А. Резидентные стволовые клетки сердца и их роль в развитии гипертрофии миокарда / Ю.А. Чудиновских // Дис. ... канд. мед. наук. – М., 2011. – 136 с.
168. Шабалина Т.Н. Судебно-медицинские и медико-социальные аспекты летальных исходов от сердечно-сосудистых заболеваний у населения работоспособного возраста / Т.Н. Шабалина // Суд. мед. эксперт. – 2008. – № 4. – С. 6-8.

169. Экспертная оценка случаев острых форм ишемической болезни сердца / В.П. Новоселов, С.В. Савченко, В.В. Тихонов [и др.] // *ВВ: Российское полицейское право*. – 2014. – № 1. – С.37-44.
170. Яковлева Э.В. Внезапная сердечная смерть: принципы морфологической диагностики / Э.В. Яковлева, Г.Г. Фрейнд // *Проблемы экспертизы в медицине*. – 2012. – Т. 12, № 3-4. – С. 47-48.
171. Ященко Ю. Б. Динаміка захворюваності та смертності внаслідок хвороб системи кровообігу в Україні у регіональному аспекті / Ю.Б. Ященко, Н.Ю. Кондратюк // *Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України*. – 2012. – № 3. – С. 25-29.
172. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death) / D.P. Zipes, A.J. Camm, M. Borggrefe [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2006. – Vol. 48, № 5. – P. e247-e346.
173. Aetiology of sudden cardiac death in athletes in the United Kingdom: a pathological study / S.V. De Noronha, S. Sharma, M. Papadakis [et al.] // *Heart*. – 2009. – Vol. 95, № 17. – P. 1409-1414.
174. Agrafioti F. Heart biometrics: theory, methods and applications / F. Agrafioti, J. Gao, D. Hatzinakos // *Biometrics: Book*. – 2011. – Vol. 3. – P. 199-216.
175. A fractal and statistic analysis of Mueller-matrix images of phase inhomogeneous layers / Y.A. Ushenko, A.V. Dubolazov, A.O. Karachevtcev, N.I. Zabolotna // *Proc. SPIE*. – 2011. – Vol. 8134. – P. 81340P.
176. American Heart Association. Older Americans and cardiovascular diseases—statistics // Dallas, Texas: American Heart Association. – 2005.

177. Anatomic model of the human cardiac muscle myosin filament / A. Hind Al-Khayat, W. Robert Kensler, M. John Squire [et al.] // *Proct. Nat. Acad Sci USA*. – 2013. – Vol. 110, №1. – P. 318-323.
178. An update on regional variation in cardiovascular mortality within Europe / J. Muller-Nordhorn, S. Binting, S. Roll, S.N. Willich // *Eur. Heart J.* – 2008. – Vol. 29. – P. 1316-1326.
179. Angelsky O.V. Complex degree of mutual polarization of biological tissue coherent images for the diagnostics of their physiological state / O.V. Angelsky, A.G. Ushenko, Y.G. Ushenko // *Journal of biomedical optics*. – 2005. – Vol. 10, № 6. – P. 060502-060502-3.
180. Angelsky O.V. The degree of mutual anisotropy of biological liquids polycrystalline nets as a parameter in diagnostics and differentiations of hominal inflammatory processes / O.V. Angelsky, Yu.A. Ushenko, V.O. Balanetska // *Proc. SPIE*. – 2011. – Vol. 8338. – P. 83380S.
181. Arrhythmogenic ion-channel remodeling in the heart: heart failure, myocardial infarction, and atrial fibrillation / S. Nattel, A. Maguy, S. Le Bouter, Y.H. Yeh // *Physiological reviews*. – 2007. – Vol. 87, № 2. – P. 425-456.
182. Association of early repolarization and sudden cardiac death during an acute coronary event / J.T. Tikkanen, V. Wichmann, M.J. Junttila [et al.] // *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*. – 2012. – Vol. 5, № 4. – P. 714-718.
183. Association of genetic variants and incident coronary heart disease in multiethnic cohorts: the PAGE study / N. Franceschini, C. Carty, P. Buzková, A. Reiner // *Circ. Cardiovasc. Genet*. – 2011. – Vol. 4. (6). – P. 661–672.
184. Automated laser spectrofluorimeter for monitoring of myocardial metabolism / A.Y. Popov, V.V. Salmin, A.A. Fursov [et al.] // *International Society for Optics and Photonics*. – 2006. – P. 62840J-62840J-4.

185. Bastiaenen R. Sudden death and ion channel disease: pathophysiology and implications for management / R. Bastiaenen, E.R. Behr // *Heart*. – 2011. – Vol. 97, № 17. – P. 1365-1372.
186. Bigio I.J. Optical Biopsy in Encyclopedia of Optical Engineering / I.J. Bigio, J.R. Mourant // London: Taylor & Francis. – 2007. – P. 1577-1593.
187. Brugada syndrome: report of the second consensus conference endorsed by the Heart Rhythm Society and the European Heart Rhythm Association / C. Antzelevitch, P. Brugada, M. Borggrefe [et al.] // *Circulation*. – 2005. – Vol. 111, № 5. – P. 659-670.
188. Boitsov S.A. The topical issues of the terminology, classification, and statistics of acute forms of ischemic heart disease / S.A. Boitsov, S.S. Iakushin, N.N. Nikulina // *Terapevticheskii arkhiv*. – 2009. – Vol. 82, № 9. – P. 5-13.
189. Calvert J.W. Cardiac Muscle / J.W. Calvert, D.J. Lefer // *Muscle*. – Vol. 1. – 2012. – P. 57-66.
190. Canty J.M. Myocardial perfusion and contraction in acute ischemia and chronic ischemic heart disease / J.M. Canty, G. Suzuki // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 2012. – Vol. 52, № 4. – P. 822-831.
191. Cardiac channel molecular autopsy: insights from 173 consecutive cases of autopsy-negative sudden unexplained death referred for postmortem genetic testing / D.J. Tester, A. Medeiros-Domingo, M.L. Will [et al.] // *Mayo Clinic Proceedings*. Elsevier. – 2012. – Vol. 87, № 6. – P. 524-539.
192. Cardiac sodium channel mutation in atrial fibrillation / P.T. Ellinor, E. G. Nam, M.A. Shea [et al.] // *Heart Rhythm*. – 2008. – Vol. 5, № 1. – P. 99-105.
193. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia / R.A. Pagon, M.P. Adam, H.H. Ardinger [et al.] // *GeneReviews*. – 2014.

194. Chen D. Probability and statistics / D. Chen, Z. Geng, M. Zhi-Ming // *Frontiers of Mathematics in China*. – 2011. – Vol. 6, № 6. – P. 1021-1024.
195. Clinical relevance of hibernating myocardium in ischemic left ventricular dysfunction / A.F. Schinkel, J.J. Bax, V. Delgado [et al.] // *The American journal of medicine*. – 2010. – Vol. 123, № 11. – P. 978-986.
196. Complex degree of coherency inherent to laser images of blood plasma polycrystalline networks / Y.A. Ushenko, V.V. Istratiy, A.V. Dubolazov, A.P. Angelsky // *Semicond. Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics*. – 2010. – № 13(4). – P. 404-412.
197. Complex degree of mutual anisotropy of biological liquid crystals net / Y.A. Ushenko, O.V. Dubolazov, O.Yu. Telenga [et al.] // *Proc. SPIE*. – 2011. – Vol. 8087. – P. 80872Q.
198. Comparison of US and Italian experiences with sudden cardiac deaths in young competitive athletes and implications for preparticipation screening strategies / B. J. Maron, T.S. Haas, J.J. Doerer [et al.] // *The American journal of cardiology*. – 2009. – Vol. 104, № 2. – P. 276-280.
199. Connection B.H. Contemporary Reviews in Cardiovascular Medicine / B.H. Connection // *Circulation*. – 2007. – Vol. 116. – P. 77-84.
200. Cook N.R. Performance of reclassification statistics in comparing risk prediction models / N.R. Cook, N.P. Paynter // *Biometrical Journal*. – 2011. – Vol. 53, № 2. – P. 237-258.
201. Correlation-and singular-optical approaches in diagnostics of polarization inhomogeneity of coherent optical fields from biological tissues / O.V. Angelsky, A.G. Ushenko, A.O. Angelska, Y.A. Ushenko // *Ukr. J. Phys. Opt.* – 2007. – Vol. 8, № 2. – P. 106.



202. Deo R. Epidemiology and genetics of sudden cardiac death / R. Deo, C. Albert // *Circulation*. – 2012. – Vol. 125, № 4. – P. 620-637.
203. Developmental basis for electrophysiological heterogeneity in the ventricular and outflow tract myocardium as a substrate for life-threatening ventricular arrhythmias / B.J. Boukens, V.M. Christoffels, R. Coronel, A.F. Moorman // *Circulation Research*. – 2009. – Vol. 104, № 1. – P. 19-31.
204. DiCapua D.B. Muscle contraction / D.B. DiCapua // *Encyclopedia of the Neurological Sciences (Second Edition)*. – 2014. – P. 185-189.
205. Diagnosis of early human myocardial ischemic damage with electron probe microanalysis / S. Singh, P. Wolf, J. L. Abraham [et al.] // *The American journal of forensic medicine and pathology*. – 1983. – Vol. 4, № 1. – P. 85-92.
206. Diagnostics of optical anisotropy changes in biological tissues using Müller matrix / Y.A. Ushenko, Y.Y. Tomka, A.V. Dubolazov, O.Y. Telenga // *Quantum Electron*. – 2011. – № 41(3) – P. 273-277.
207. Diagnostic yield in sudden unexplained death and aborted cardiac arrest in the young: the experience of a tertiary referral center in The Netherlands / C. Van der Werf, N. Hofman, H.L. Tan [et al.] // *Heart Rhythm*. – 2010. – Vol. 7, № 10. – P. 1383-1389.
208. Electron microscopy of whole cells in liquid with nanometer resolution / N. De Jonge, D.B. Peckys, G.J. Kremers [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2009. – Vol. 106, № 7. – P. 2159-2164.
209. Emergency duties and deaths from heart disease among firefighters in the United States / S.N. Kales, E.S. Soteriades, C.A. Christophi, D.C. Christiani // *New England Journal of Medicine*. – 2007. – Vol. 356, № 12. – P. 1207-1215.
210. Epidemiology of sudden cardiac death: clinical and research implications / S. Chugh, K. Reinier, C. Teodorescu [et al.] // *Progress in cardiovascular diseases*. – 2008. – Vol. 51, № 3. – P. 213-228.

211. Erickson H.P. Size and shape of protein molecules at the nanometer level determined by sedimentation, gel filtration, and electron microscopy / H.P. Erickson // Biol Proced Online. – 2009. – Vol. 11, № 1. – P. 32-51.
212. Evolution of statistic moments of 2D-distributions of biological liquid crystal net Mueller matrix elements in the process of their birefringent structure changes / A.G. Ushenko, I.Z. Misevich, V. Istratiy [et al.] // Advances in Optical Technologies. – 2010. – Vol. 2010. – Art. ID 423145.
213. Fabre A. Sudden adult death syndrome and other non-ischaemic causes of sudden cardiac death / A. Fabre, M. N. Sheppard // Heart. – 2006. – Vol. 92, № 3. – P. 316-320.
214. Fellers T.J. Introduction to confocal microscopy / T.J. Fellers, M.W. Davidson // Olympus Fluoview Resource Center. – 2007.
215. Fourier-domain Jones-matrix mapping of a complex degree of mutual anisotropy in differentiation of biological tissues' pathological states / Y.A. Ushenko, L.Y. Trifonyuk, A.V. Dubolazov, A.O. Karachevtsev // Appl. Opt. – 2014. – № 53. – P. B205-B214.
216. Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States a policy statement from the American heart association / P.A. Heidenreich, J.G. Trogon, O.A. Khavjou [et al.] //Circulation. – 2011. – Vol. 123, № 8. – P. 933-944.
217. Genetic etiology and evaluation of sudden cardiac death / E. Dolmatova, S. Mahida, P.T. Ellinor, S.A. Lubitz // Current cardiology reports. – 2013. – Vol. 15, № 8. – P. 1-14.
218. Genetic variants related to height and risk of atrial fibrillation the cardiovascular health study / M.A. Rosenberg, R.C. Kaplan, D.S. Siscovick [et al.] //American journal of epidemiology. – 2014. – Vol. 180, № 2. – P. 215-222.
219. Ghosh N. Techniques for fast and sensitive measurements of two-dimensional birefringence distributions / N. Ghosh, I.A. Vitkin // Journal of Biomedical Optics. – 2011. – № 16(11). – P. 110801.

220. Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death / C. Basso, M. Burke, P. Fornes [et al.] // *Virchows Archiv.* – 2008. – Vol. 452, № 1. – P. 11-18.
221. Heart disease and stroke statistics—2010 update A report from the American Heart Association / D. Lloyd-Jones, R.J. Adams, T.M. Brown [et al.] // *Circulation.* – 2010. – Vol. 121, № 7. – P. e46-e215.
222. Heart disease and stroke statistics-2015 update: a report from the american heart association / D. Mozaffarian, E.J. Benjamin, A.S. Go [et al.] // *Circulation.* – 2015. – Vol. 131, № 4. – P. e29.
223. Herzog C.A. Non-coronary heart disease in dialysis patients: sudden cardiac death and dialysis patients / C.A. Herzog, J.M. Mangrum, R. Passman // *Blackwell Publishing Ltd.* – 2008. – Vol. 21, № 4. – P. 300-307.
224. Hibernating myocardium: pathophysiology, diagnosis, and treatment This article is one of a selection of papers from the NATO Advanced Research Workshop on Translational Knowledge for Heart Health (published in part 2 of a 2-part Special Issue) / J. Slezak, N. Tribulova, L. Okruhlicova [et al.] // *Canadian journal of physiology and pharmacology.* – 2009. – Vol. 87, № 4. – P. 252-265.
225. Holdenrieder S. Clinical use of circulating nucleosomes / S. Holdenrieder, P. Stieber // *Critical reviews in clinical laboratory sciences.* – 2009. – Vol. 46, № 1. – P. 1-24.
226. Huang B. Super resolution fluorescence microscopy / B. Huang, M. Bates, X. Zhuang // *Annual review of biochemistry.* – 2009. – T. 78. – C. 993.
227. Hung H. Optimal Composite Markers for Time-Dependent Receiver Operating Characteristic Curves with Censored Survival Data / H. Hung, C-T. Chiang // *Scandinavian Journal of Statistics.* – 2010. – Vol. 37, № 4. – P. 664-679.
228. Huikuri H.V. Sudden death due to cardiac arrhythmias / H.V. Huikuri, A. Castellanos, R.J. Myerburg // *N. Engl. J. Med.* – 2001. – Vol. 345. – P. 1473-1482.

229. Human heart failure is associated with abnormal C-terminal splicing variants in the cardiac sodium channel / L.L. Shang, A.E. Pfahnl, S. Sanyal [et al.] // *Circulation research*. – 2007. – Vol. 101, № 11. – P. 1146-1154.
230. Impact of ionic current variability on human ventricular cellular electrophysiology / L. Romero, E. Pueyo, M. Fink [et al.] // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2009. – Vol. 297, № 4. – P. H1436-H1445.
231. Incidence of sudden cardiac arrest is higher in areas of low socioeconomic status: a prospective two year study in a large United States community / K. Reinier, E.C. Stecker, C. Vickers [et al.] // *Resuscitation*. – 2006. – Vol. 70, № 2. – P. 186-192.
232. Incidence of sudden cardiac death in national collegiate athletic association athletes / K.G. Harmon, I.M. Asif, D. Klossner [et al.] // *Circulation*. – 2011. – Vol. 123, № 15. – P. 1594-1600.
233. Intracoronary optical coherence tomography and the evaluation of stents / P. Barlis, G. Van Soest, P.W. Serruys, E. Regar // *Expert review of medical devices*. – 2009. – Vol. 6, № 2. – P. 157-167.
234. Investigation of 2D Mueller matrix structure of biological tissues for preclinical diagnostics of their pathological states / O.V. Angelsky, Y.Y. Tomka, A.G. Ushenko [et al.] // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2005. – Vol. 38. – P. 4227-4235.
235. Irving M. Cell-Based Studies of the Molecular Mechanism of Muscle Contraction / M. Irving // *Comprehensive Biophysics*. – 2012. – Vol. 4. – P. 191-225.
236. Israel C.W. Mechanisms of sudden cardiac death / C.W. Israel // *Indian heart journal*. – 2014. – Vol. 66. – P. S10-S17.
237. Jennings R.B. Historical perspective on the pathology of myocardial ischemia/reperfusion injury / R.B. Jennings // *Circulation research*. – 2013. – Vol. 113, № 4. – P. 428-438.

238. Jie X. Mechanisms of mechanically induced spontaneous arrhythmias in acute regional ischemia / X. Jie, V. Gurev, N. Trayanova // *Circulation research*. – 2010. – Vol. 106, № 1. – P. 185-192.
239. J-point elevation in survivors of primary ventricular fibrillation and matched control subjects: incidence and clinical significance / R. Rosso, E. Kogan, B. Belhassen [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2008. – Vol. 52, № 15. – P. 1231-1238.
240. Kass R.S. Sodium Channel Inactivation in Heart: A Novel Role of the Carboxy-Terminal Domain / R.S. Kass // *Journal of cardiovascular electrophysiology*. – 2006. – Vol. 17, № s1. – P. S21-S25.
241. Katz A.M. *Physiology of the Heart* / A.M. Katz // Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – P. 193-275.
242. Khodasevich L. S. The forensic medical aspects of sudden cardiac death among the athletes / L.S. Khodasevich, S.G. Kuzin, A.L. Khodasevich // *Sudebno-meditsinskaia ekspertiza*. – 2011. – Vol. 55, № 5. – P. 56-61.
243. Kim N.H. Sudden Cardiac Death / N.H. Kim, K.H. Yun, S.K. Oh // *Journal of the Korean Medical Association*. – 2010. – Vol. 53, № 3. – P. 214-227.
244. Kozhevnikov D. Mechanisms of enhanced arrhythmogenicity of regional ischemia in the hypertrophied heart / D. Kozhevnikov, E.B. Caref, N. El-Sherif // *Heart Rhythm*. – 2009. – Vol. 6, № 4. – P. 522-527.
245. Kubo T. Recent advances in intracoronary imaging techniques: focus on optical coherence tomography / T. Kubo, T. Akasaka // *Expert Review of Medical Devices*. – 2008. – Vol. 5, № 6. – P. 691-697.
246. Label-free biochemical imaging of heart tissue with high-speed spontaneous Raman microscopy / M. Ogawa, Y. Harada, Y. Yamaoka [et al.] // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2009. – Vol. 382, № 2. – P. 370-374.

247. Laser polarization fluorescence of the networks of optically anisotropic biological crystals / Y.A. Ushenko, A.V. Dubolazov, A.P. Angelsky [et al.] // Proc. SPIE. – 2013. – Vol. 8698. – P. 869809.
248. Laser polarization autofluorescence of endogenous porphyrins of optically anisotropic biological tissues and fluids in diagnostics of necrotic and pathological changes of human organs / Y.A. Ushenko, A.D. Arkhelyuk, M.I. Sidor, [et al.] // Appl. Opt. – 2014. – № 53. – P. B181-B191.
249. Leenhardt A. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia / A. Leenhardt, I. Denjoy, P. Guicheney // Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology. – 2012. – Vol. 5, № 5. – P. 1044-1052.
250. Liew R. Prediction of sudden arrhythmic death following acute myocardial infarction / R. Liew // Heart. – 2010. – Vol. 96, № 14. – P. 1086-1094.
251. Lisa F. Mitochondria in Myocardial Ischemia / F. Lisa // Encyclopedia of Biological Chemistry. – 2013. – P. 108-112.
252. Löllgen H. The pre-participation examination for leisure time physical activity: general medical and cardiological issues / H. Löllgen, D. Leyk, J. Hansel // Deutsches Ärzteblatt International. – 2010. – Vol. 107, № 42. – P. 742.
253. Lopera G. Risk stratification for sudden cardiac death: current approaches and predictive value / G. Lopera, A.B. Curtis // Curr. Cardiol. Rev. – 2009. – Vol. 5. – P. 56-64
254. Loss of T-tubules and other changes to surface topography in ventricular myocytes from failing human and rat heart / A.R. Lyon, K.T. MacLeod, Y. Zhang [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2009. – Vol. 106, № 16. – P. 6854-6859.
255. Low prevalence of risk markers in cases of sudden death due to Brugada syndrome: relevance to risk stratification in Brugada syndrome / H. Raju, M. Papadakis, M. Govindan, [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 2011. – Vol. 57, № 23. – P. 2340-2345.

256. Mehra R. Global public health problem of sudden cardiac death / R. Mehra // Journal of electrocardiology. – 2007. – Vol. 40, № 6. – P. S118-S122.
257. Milroy C.M. Coronary artery disease, sudden death and implications for forensic pathology practice / C. M. Milroy // Diagnostic Histopathology. – 2013. – Vol. 19, №1. – P. 1-6.
258. Mitochondrial dynamics: an emerging paradigm in ischemia-reperfusion injury / L. Calo, Y. Dong, R. Kumar [et al.] // Current pharmaceutical design. – 2013. – Vol. 19, № 39. – P. 6848-6857.
259. Mode of onset of ventricular fibrillation in patients with early repolarization pattern vs. Brugada syndrome / G.B. Nam, K.H. Ko, J. Kim [et al.] // European heart journal. – 2009. – P. ehp423.
260. Morentin B. Population-based study of out-of-hospital sudden cardiovascular death: incidence and causes of death in middle-aged adults / B. Morentin, C. Audicana // Rev. Esp. Cardiol. – 2011. – Vol. 64. – P. 28-34.
261. Multidimensional Mueller Matrices Microscopy of Biological Crystal Networks Structure / Y.A. Ushenko, A.V. Dubolazov, A.O. Karachevtsev [et al.] // Proc. Fringe 2013. – 2014. – P. 855-858.
262. Mutations in the cardiac L-type calcium channel associated with inherited J-wave syndromes and sudden cardiac death / E. Burashnikov, R. Pfeiffer, H. Barajas-Martinez [et al.] // Heart Rhythm. – 2010. – Vol. 7, № 12. – P. 1872-1882.
263. Mutational spectrum of the NKX2-5 gene in patients with lone atrial fibrillation / H. Yu, J.H. Xu, H.M. Song [et al.] // International journal of medical sciences. – 2014. – Vol. 11, № 6. – P. 554.

264. Myerburg R. J. Sudden cardiac death caused by coronary heart disease / R.J. Myerburg, M.J. Junttila // *Circulation*. – 2012. – Vol. 125, № 8. – P. 1043-1052.
265. Nationwide study of sudden cardiac death in persons aged 1–35 years / B.G. Winkel, A.G. Holst, J. Theilade [et al.] // *European heart journal*. – 2011. – Vol. 32, № 8. – P. 983-990.
266. New parameter for describing and analyzing the optical-anisotropic properties of biological tissues / Y.A. Ushenko, O.I. Telenga, A.P. Peresunko, O.K. Numan // *J. Innov. Opt. Health Sci*. – 2011. – № 4(4) – P. 463-475.
267. Nucleosomes in serum of patients with early cerebral stroke / S. Geiger, S. Holdenrieder, P. Stieber [et al.] // *Cerebrovascular Diseases*. – 2006. – Vol. 21, № 1-2. – P. 32-37.
268. On the feasibilities of using the wavelet analysis of Mueller matrix images of biological crystals / O.V. Dubolazov, A.G. Ushenko, V.T. Bachynsky [et al.] // *Advances in Optical Technologies*. – 2010. – Vol. 2010.
269. Out of hospital sudden cardiac death in Italy: a population-based case-control study / A. Filippi, E. Sessa, G. Mazzaglia [et al.] // *Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. – 2008. – Vol. 9. – P. 595-600.
270. Rubart M. Mechanisms of sudden cardiac death / M. Rubart, D. Zipes // *Journal of Clinical Investigation*. – 2005. – Vol. 115, № 9. – P. 2305-2315.
271. Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation: a translational appraisal / U. Schotten, S. Verheule, P. Kirchhof, A. Goette // *Physiological reviews*. – 2011. – Vol. 91, № 1. – P. 265-325.
272. Pathophysiology of sudden cardiac death as demonstrated by molecular pathology of natriuretic peptides in the myocardium / J. Chen, T. Michiue, T. Ishikawa, H. Maeda // *Forensic science international*. – 2012. – Vol. 223, №1. – P. 342-348.



273. Pawley J.B. Handbook of biological confocal microscopy / J.B. Pawley, B.R. Masters // Optical Engineering. – 2006. – Vol. 35, № 9. – P. 2765-2766.
274. Phase maps for networks of polycrystalline human biological liquids: Statistical and fractal analyses / Y.O. Ushenko, V.V. Istratiy, V.O. Balanets'ka [et al.] // Semicond. Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics. – 2010. – № 13(3). – P. 240-247.
275. Polarization singularities of biological tissues images / O.V. Angelsky, A.G. Ushenko, Y.G. Ushenko, Y.Y. Tomka // Journal of biomedical optics. – 2006. – Vol. 11, № 5. – P. 054030-054030-9
276. Population-based analysis of sudden cardiac death with and without left ventricular systolic dysfunction: two-year findings from the Oregon Sudden Unexpected Death Study / E. Stecker, C. Vickers, J. Waltz [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 2006. – Vol. 47, № 6. – P. 1161-1166.
277. Postmortem Genetic Testing for Conventional Autopsy–Negative Sudden Unexplained Death An Evaluation of Different DNA Extraction Protocols and the Feasibility of Mutational Analysis From Archival Paraffin-Embedded Heart Tissue / E. Carturan, D.J. Tester, B.C. Brost [et al.] // American Journal of Clinical Pathology. – 2008. – Vol. 129, № 3. – P. 391-397.
278. Postischemic myocardial stunning is superior to transient ischemic dilation for detecting multivessel coronary artery disease / S. Hida, T. Chikamori, H. Tanaka [et al.] // Circulation Journal. – 2012. – Vol. 76, № 2. – P. 430-438.
279. Potentiality of using the singular approach for analysis of rough surfaces polarization-inhomogeneous laser images in diagnostics and classification of their optical properties / Y.A. Ushenko, I.Z. Misevich, A.P. Angelsky [et al.] // Opt. Eng. – 2012. – № 51. – P. 014301.

280. Prevalence of J-point elevation in sudden arrhythmic death syndrome families / L.M. Nunn, J. Bhar-Amato, M.D. Lowe [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2011. – Vol. 58, № 3. – P. 286-290.
281. Prevention of sudden cardiac death in the young and in athletes: dream or reality? / G. Thiene, E. Carturan, D. Corrado, C. Basso // *Cardiovascular Pathology*. – 2010. – Vol. 19, № 4. – P. 207-217.
282. Priori S.G. Sudden cardiac death / S.G. Priori, D.P. Zipes // Blackwell Pub. – 2006. – P.156-178.
283. Profile of the circulating DNA in apparently healthy individuals / J. Beck, H.B. Urnovitz, J. Riggert [et al.] // *Clinical chemistry*. – 2009. – Vol. 55, № 4. – P. 730-738.
284. Prospective, population-based long QT molecular autopsy study of postmortem negative sudden death in 1 to 40 year olds / J.R. Skinner, J. Crawford, W. Smith [et al.] // *Heart Rhythm*. – 2011. – Vol. 8, № 3. – P. 412-419.
285. Recommendations for the use of genetic testing in the clinical evaluation of inherited cardiac arrhythmias associated with sudden cardiac death: Canadian Cardiovascular Society/Canadian Heart Rhythm Society joint position paper / M.H. Gollob, L. Blier, R. Brugada [et al.] // *Canadian Journal of Cardiology*. – 2011. – T. 27. – № 2. – C. 232-245.
286. Roberts J. D. A contemporary review on the genetic basis of atrial fibrillation / J.D. Roberts, M.H. Gollob // *Methodist DeBakey cardiovascular journal*. – 2014. – V. 10, № 1. – P. 18.
287. Roles of NAD<sup>+</sup>/NADH and NADP<sup>+</sup>/NADPH in cell death / W. Xia, Z. Wang, Q. Wang [et al.] // *Current pharmaceutical design*. – 2009. – Vol. 15, № 1. – P. 12-19.

288. Schermelleh L. A guide to super-resolution fluorescence microscopy / L. Schermelleh, R. Heintzmann, H. Leonhardt // *The Journal of cell biology*. – 2010. – Vol. 190, № 2. – P. 165-175.
289. Schmitt N. Cardiac potassium channel subtypes: new roles in repolarization and arrhythmia / N. Schmitt, M. Grunnet, S.P. Olesen // *Physiological reviews*. – 2014. – Vol. 94, № 2. – P. 609-653.
290. SCN4B-encoded sodium channel  $\beta$ 4 subunit in congenital long-QT syndrome / A. Medeiros-Domingo, T. Kaku, D.J. Tester [et al.] // *Circulation*. – 2007. – Vol. 116, № 2. – P. 134-142.
291. Siebert T. Computational modeling of muscle biomechanics / T. Siebert, C. Rode // *Computational Modelling of Biomechanics and Biotribology in the Musculoskeletal System: Biomaterials and Tissues*. – 2014. – P. 173-204.
292. Semenza G.L. Oxygen sensing, hypoxia-inducible factors, and disease pathophysiology / G.L. Semenza // *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. – 2014. – Vol. 9. – P. 47-71.
293. Statistical, correlation, and topological approaches in diagnostics of the structure and physiological state of birefringent biological tissues / O.V. Angelsky, A.G. Ushenko, Y.A. Ushenko [et al.] // USA: CRC Press. – 2010. – P. 21-67.
294. Statistical and Fractal Processing of Phase Images of Human Biological Fluids / Y.O. Ushenko, Y.Y. Tomka, Y.I. Marchuk, V.O. Balanetcka // *Advances in Electrical and Computer Engineering*. – 2010. – Vol. 10, № 4. – P. 161-166.
295. Statistical and fractal structure of biological tissue Mueller matrix images / O.V. Angelsky, A.G. Ushenko, Y.A. Ushenko / *Optical Correlation Techniques and Applications*. – 2007. – Vol. 6616. – P. 213-263.

296. Sudden cardiac death in children and adolescents between 1 and 19 years of age / C.M. Pilmer, J.A. Kirsh, D. Hildebrandt [et al.] // Original Research Article Heart Rhythm. – 2014. – Vol. 11 (2). – P. 239-245.
297. Sudden cardiac death prediction and prevention report from a National Heart, Lung, and Blood Institute and Heart Rhythm Society workshop / G.I. Fishman, S.S. Chugh, J.P. DiMarco [et al.] // Circulation. – 2010. – Vol. 122, № 22. – P. 2335-2348.
298. Sudden cardiac death with normal heart: molecular autopsy / C. Basso, E. Carturan, K. Pilichou [et al.] // Cardiovascular Pathology. – 2010. – Vol. 19, № 6. – P. 321-325.
299. Sudden death in the young. / R. Puranik, C.R. Chow, J.A. Duffl [et al.] // Heart Rhythm. – 2005. – Vol. 2, №12. – P. 1277-1282.
300. Sudden death in young adults: an autopsy-based series of a population undergoing active surveillance / R.E. Eckart, E.A. Shry, A.P. Burke [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 2011. – Vol. 58, № 12. – P. 1254-1261.
301. Sudden deaths in young competitive athletes analysis of 1866 deaths in the united states, 1980–2006 / B.J. Maron, J.J. Doerer, T.S. Haas [et al.] // Circulation. – 2009. – Vol. 119, № 8. – P. 1085-1092.
302. Survival trends in the United States following exercise-related sudden cardiac arrest in the youth: 2000–2006 / J.A. Drezner, J.S. Chun, K.G. Harmon [et al.] // Heart Rhythm. – 2008. – Vol. 5, № 6. – P. 794-799.
303. Systematic review of the incidence of sudden cardiac death in the United States / M.H. Kong, G.C. Fonarow, E.D. Peterson [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 2011. – Vol. 57, № 7. – P. 794-801.
304. Tang E.W. Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE) hospital discharge risk score accurately predicts long-term mortality post acute coronary syndrome / E.W. Tang, C.K. Wong, P. Herbison // American heart journal. – 2007. – Vol. 153, № 1. – P. 29-35.

305. Ten Tusscher K. H. Organization of ventricular fibrillation in the human heart / K.H. Ten Tusscher, A.V. Panfilov // *Circulation Research*. – 2007. – Vol. 100, № 12. – P. e87-e101.
306. Tester D.J. Cardiomyopathic and channelopathic causes of sudden unexplained death in infants and children / D.J. Tester, M.J. Ackerman // *Annual review of medicine*. – 2009. – Vol. 60. – P. 69-84.
307. Tester D.J. The role of molecular autopsy in unexplained sudden cardiac death / D.J. Tester, M.J. Ackerman // *Curr. Opin. Cardiol*. – 2006. – Vol. 21. – P. 166-172.
308. The Interconnection between the Coordinate Distribution of Mueller-Matrixes Images Characteristic Values of Biological Liquid Crystals Net and the Pathological Changes of Human Tissues / O.V. Angelsky, Y.A. Ushenko, A.V. Dubolazov, O.Y. Telenha // *Advances in Optical Technologies*. – 2010. – P. 130659.
309. The Mueller-matrix elements characteristic values of biological tissues / Y.A. Ushenko, O.V. Dubolazov, A.O. Karachevtcev, N.I. Zabolotna // *Proc. SPIE*. – 2011. – Vol. 8001. – P. 80010J.
310. Three-dimensional electron microscopy reveals new details of membrane systems for Ca<sup>2+</sup> signaling in the heart / T. Hayashi, M.E. Martone, Z. Yu [et al.] // *Journal of Cell Science*. – 2009. – Vol. 122, № 7. – P. 1005-1013.
311. Three-dimensional, single-molecule fluorescence imaging beyond the diffraction limit by using a double-helix point spread function / S.R.P. Pavani, M.A. Thompson, J.S. Biteen [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2009. – Vol. 106, № 9. – P. 2995-2999.
312. Trends in sudden cardiovascular death in young competitive athletes after implementation of a preparticipation screening program / D. Corrado, C. Basso, A. Pavei [et al.] // *Jama*. – 2006. – Vol. 296, № 13. – P. 1593-1601.
313. Turakhia M. Sudden Cardiac death: Epidemiology, mechanisms and therapy / M. Turakhia, Z.H. Tseng // *Curr. Probl. Cardiol*. – 2007. – Vol. 32. – P. 501-546.

314. Turer A.T. Pathogenesis of myocardial ischemia-reperfusion injury and rationale for therapy / A.T. Turer, J.A. Hill // *The American journal of cardiology*. – 2010. – Vol. 106, № 3. – P. 360-368.
315. Tzou W.S. Genetic testing in the management of inherited arrhythmia syndromes / W.S. Tzou, E.P. Gerstenfeld // *Current cardiology reports*. – 2009. – Vol. 11, № 5. – P. 343-351.
316. Quinn T. Sudden Cardiac Death / T. Quinn, P. Gregory // *Acute Cardiac Care: A Practical Guide for Nurses*. – 2009. – P. 98-137.
317. Ushenko Y.A. Complex degree of mutual anisotropy of extracellular matrix of biological tissues / Y.A. Ushenko, Y.Y. Tomka, A.V. Dubolazov // *Optics and Spectroscopy*. – 2011. – № 110(5) – P. 814-819.
318. Ushenko Y.A. Complex degree of mutual anisotropy in diagnostics of biological tissues physiological changes / Y.A. Ushenko, A.V. Dubolazov, A.O. Karachevtcev, N.I. Zabolotna // *Proc. SPIE*. – 2011. – Vol. 8134. – P. 81340O.
319. Ushenko Y.A. Degree of local depolarization determined for fields of laser radiation scattered by multilayer birefringent networks of protein crystals / Y.A. Ushenko, A.P. Angelsky // *Semicond. Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics*. – 2011. – № 14(1) – P. 41-50.
320. Ushenko Y.A. Evolution of statistic moments of 2D-distributions of biological tissues Mueller matrix elements of the optically thick biological tissues in the process of their birefringent structure changes / Y.A. Ushenko, A.V. Dubolazov, A.O. Karachevtsev // *Proc. SPIE*. – 2011. – Vol. 8338. – P. 83380H.
321. Ushenko Y.O. Jones-matrix images corresponding to networks of biological crystals for diagnostics and classification of their optical properties / Y.O. Ushenko, V.O. Balanetska, O.P. Angelsky // *Semicond. Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics*. – 2011. – № 14(1) – P. 365-374.
322. Ushenko Y.A. Laser diagnostics of anisotropy in birefringent networks of biological tissues in different physiological conditions / Y.A. Ushenko,

- Y.Y. Tomka, A.V. Dubolazov // QUANTUM ELECTRON. – 2011. – № 41(2). – P. 170-175.
323. Ushenko Y. Laser metrology of biological liquid crystals singular structure / Y. Ushenko, O. Telenha, V. Balanetskyaya // Proc. SPIE. – 2010. – Vol. 7821. – P. 78210Z.
324. Ushenko Y.A. Phase maps of polycrystalline human biological fluids networks: statistical, correlation, and fractal analysis / Y.A. Ushenko // Opto-electron. Rev. – 2011. – № 19(3). – P. 333-339.
325. Ushenko Y.O. Polarization-singular processing of biological layers laser images to diagnose and classify their optical properties / Y.O. Ushenko, O.Y. Telenga // Proc. SPIE. – 2011. – Vol. 8338. – P. 83380U.
326. Ushenko Y.A. Scale-selective polarization cartography of biological polycrystalline net / Y.A. Ushenko, O.Y. Wanchuliak, V.T. Bachynskyi // Proc. SPIE. – 2012. – Vol. 8498 – P. 84980Z.
327. Ushenko Y.A. Wavelet analysis of polarization maps of polycrystalline biological fluids networks / Y.A. Ushenko // Opto-electron. Rev. – 2011. – № 19(4). – P. 425-434.
328. Valeur B. Molecular fluorescence: principles and applications / B. Valeur, M.N. Berberan-Santos // John Wiley & Sons. – 2012. – P. 15-37.
329. Ventricular arrhythmias and sudden cardiac death / R.M. John, U.B. Tedrow, B.A. Koplan, [et al.] // The Lancet. – 2012. – Vol. 380, № 9852. – P. 1520-1529.
330. Varró A. Possible mechanisms of sudden cardiac death in top athletes: a basic cardiac electrophysiological point of view / A. Varró, I. Baczkó // Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. – 2010. – Vol. 460, № 1. – P. 31-40.
331. Wavelet analysis for polarization maps of networks formed by liquid biological crystals in blood plasma: statistical and fractal approaches / V.T. Bachinsky, Y.O. Ushenko, Y.Y. Tomka [et al.] // Semicond. Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics. – 2010. – № 13(2). – P. 189-201.
332. Wittstein I.S. Acute stress cardiomyopathy / I.S. Wittstein // Current heart failure reports. – 2008. – Vol. 5, № 2. – P. 61-68.

333. Wittstein I.S. Stress cardiomyopathy: a syndrome of catecholamine-mediated myocardial stunning? / I.S. Wittstein // Cellular and molecular neurobiology. – 2012. – Vol. 32, № 5. – P. 847-857.
334. Wolf C.M. Inherited conduction system abnormalities—one group of diseases, many genes / C.M. Wolf, C.I. Berul // Journal of cardiovascular electrophysiology. – 2006. – Vol. 17, № 4. – P. 446-455.
335. Yamanaka M. Introduction to super-resolution microscopy / M. Yamanaka, N.I. Smith, K. Fujita // Microscopy. – 2014. – P. dfu007.
336. Yang X. Mechanism of cardioprotection by early ischemic preconditioning / X. Yang, M.V. Cohen, J.M. Downey // Cardiovascular Drugs and Therapy. – 2010. – Vol. 24, № 3. – P. 225-234.