

# Antros harmonikos generavimo mikroskopija ir dviguba Stokso poliarimetrija kolageno vaizdinimui

## Second Harmonic Generation Microscopy and Double Stokes Polarimetry for Collagen Imaging

Viktoras Mažeika<sup>1</sup>, Mykolas Mačiulis<sup>2</sup>, Lukas Kontenis<sup>3</sup>, Edvardas Žurauskas<sup>4</sup>, Martynas Riauka<sup>2</sup>, Mehdi Alizadeh<sup>5,6</sup>, Leonardo Uribe Castano<sup>5,6</sup>, Kamdin Mirsanaye<sup>5,6</sup>, Virginijus Barzda<sup>2,5,6</sup>

<sup>1</sup>Biomokslų institutas, Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Saulėtekio al. 7, LT- 10257, Vilnius, Lietuva

<sup>2</sup>Lazerinių tyrimų centras, Fizikos fakultetas, Vilniaus universitetas, Saulėtekio al. 10, LT- 10222, Vilnius, Lietuva

<sup>3</sup>Light Conversion, Keramikų g. 2B, LT-10233, Vilnius, Lietuva

<sup>4</sup>Patologijos, teismo medicinos ir farmakologijos katedra, Medicinos fakultetas, Vilniaus universitetas, M.K. Čiurlionio g. 21/27, LT-03101, Vilnius, Lietuva

<sup>5</sup>Department of Physics, University of Toronto, 60 St. George St, Toronto, M5S 1A7, Canada

<sup>6</sup>Department of Chemical and Physical Sciences, University of Toronto, 3359 Mississauga Rd North, Mississauga, L5L 1C6, Canada

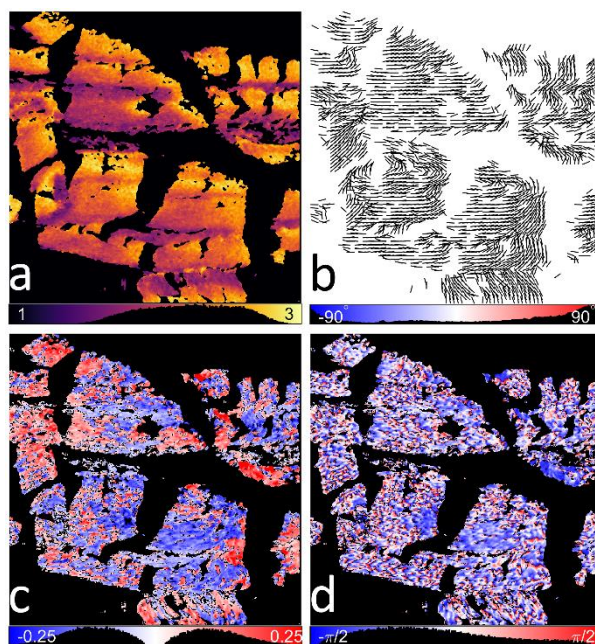
viktoras.mazeika@ff.stud.vu.lt

Antros harmonikos generavimo (SHG) mikroskopija yra metodas, leidžiantis vaizdinti necentrosimetrinės struktūros medžiagas. Ši jos savybė leidžia selektyviai vaizdinti tam tikras biologines struktūras, pvz., kolageną ar mioziną, todėl SHG mikroskopija yra tinkama įvairiems biologiniams tyrimams [1]. Kadangi SHG procesas priklauso nuo žadinančios šviesos poliarizacijos, atliekant poliarimetrinius matavimus galima gauti ultrastruktūrinę informaciją apie vaizdinamus objektus kiekviename vokselėje. SHG poliarimetrinei analizei yra naudojami įvairūs metodai, kaip *polarization in – polarization out* (PIPO) ar netiesinė Stokso-Miulerio poliarimetrija (NSMP) [2]. Šiame darbe bus pristatomas naujas analizės metodas, vadinamas dviguba Stokso poliarimetrija (DSP). Pagrindinis DSP privalumas, lyginant su prieš tai minėtais metodais – trumpa skaičiavimų trukmė, leidžianti greitai analizuoti didelės raiškos ir didelio ploto vaizdus.

SHG poliarimetriniai matavimai buvo atlikti naudojant skenuojantį netiesinį mikroskopą. Žadinimui buvo naudotas 1030 nm femtosekundinis Yb:KGW lazeris. Lazero spindulys ant bandinio buvo sufokusuotas su 20× 0,75 NA objektyvu, o skenavimui buvo naudojami galvanometrinių veidrodžių. SHG šviesa buvo išskiriama su 515 nm juostos praleidimo filtru ir detektuojama su fotodaugintuvu. Žadinančios ir surenkamos spinduliuotės poliarizacija buvo keičiama su pusės ir ketvirčio bangos ilgio plokštelėmis.

Darbo metu buvo vaizdinti žiurkės uodegos sausgyslės histologiniai pjūviai. Naudojant DSP buvo apskaičiuoti keliolika poliarimetrinių parametrų, iš kurių pagrindiniai – netiesinio jautrio tenzorius komponentų santykiai R ir C, fazių skirtumas tarp achiralinių ir chiralinių tenzorius komponentų  $\Delta$ , susijęs su kolageno skaidulų poliškumu, ir kolageno skaidulos orientacija vaizdo plokštumoje  $\delta$ . Buvo palyginti rezultatai, gauti su skirtingu kampu atpjautais sausgyslės pjūviais. DSP analizės rezultatai taip pat buvo palyginti su PIPO metodu gautais rezultatais. DSP poliarimetrinė netiesinė mikroskopija leidžia greitai apskaičiuoti poliarimetrinius parametrus dideliame bandinio plote, kas suteikia

informacijos apie audinio ultrastruktūrą ir gali būti panaudota histologinių pjūvių analizei vėžio diagnostikoje.



1 pav. Skersinio žiurkės uodegos sausgyslės pjūvio DSP parametrų vaizdai: a) R santykis, b) skaidulų orientacija  $\delta$ , c) C santykis, d) fazės skirtumas  $\Delta$ .

*Reikšminiai žodžiai:* SHG, mikroskopija, poliarimetrija, kolagenas.

### Literatūra

- [1] A. Aghigh, S. Bancelin, M. Rivard, M. Pinsard, H. Ibrahim ir F. Legare, *Biophys. Rev.*, **15**, 43-70 (2023).
- [2] R. Cisek, A. Joseph, M. Harvey ir D. Tokarz, *Polarization-Sensitive Second Harmonic Generation Microscopy for Investigations of Diseased Collagenous Tissues*, *Front. Phys.* **9** (2021).