УДК 535.4+57.08

К СПЕКЛ-ТОМОГРАФИИ ФУНКЦИЙ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

А. П. Владимиров [1,2] *

[1] Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора;
[2] Уральский федеральный университет, г. Екатеринбург, Россия

Целью работы являлось создание теоретической базы метода, который бы позволил послойно восстанавливать параметры, характеризующие процессы, протекающие в малых участках живых клеток. Для модели клетки в виде тонкого фазового объекта, расположенного вблизи фазового экрана, теоретически решена задача о динамике спеклов в плоскости изображения объекта, вызванной случайными изменениями оптических путей волн в разных слоях внутри клетки. В предположении, что в указанных слоях случайные изменения разности оптических путей пар волн Δu независимы, получены выражения для средней по времени интенсивности излучения $\tilde{I}$ в произвольной точке плоскости изображения и для временно́й автокорреляционной функции $\eta(t_1,t_2)$ этой интенсивности. Получены соотношения, связывающие параметры, характеризующие протекающие процессы (функции клеток), с величинами $\tilde{I}$ и η. В формуле для $\tilde{I}$ такими параметрами являются среднее значение и дисперсия величины Δu, полученные усреднением по области, размеры которой равны линейному разрешению линзы и толщине слоя, и по времени. В формуле для $\eta(t_1,t_2)$ функциональными параметрами участков являются средние значения и дисперсии величины Δu в моменты времени t_1 и t_2, а также временна́я автокорреляционная функция $\eta(t_1,t_2)$ величины Δu, дополнительно усреднённые по ансамблю объектов. Теоретически показано, что указанные параметры, полученные усреднением по толщине клетки, являются суммами аналогичных параметров в слоях клетки. На живых клетках, расположенных после разморозки на стеклянной подложке, показано соответствие формулы для $\eta(t_1,t_2)$ физическим процессам, протекающим в клетках. В предположении, что в клетках протекают четыре процесса, независимо изменяющие фазы волн, получено очень хорошее совпадение теории и эксперимента.

ВВЕДЕНИЕ

При освещении шероховатой поверхности когерентным излучением в свободном пространстве и в плоскости изображения этой поверхности образуется однородная в макроскопическом смысле, но неоднородная в микроскопическом смысле структура рассеянного излучения. Неоднородности, или спеклы, случайного размера и яркости образуются в результате взаимной интерференции многих волн со случайными амплитудами и фазами, отражённых от элементарных участков поверхности. При поступательном перемещении поверхности, её жёстком повороте, упругой или пластической деформации картина спеклов изменяется — возникает смещение и (или) изменение её структуры. Изменение спекл-полей возникает также при вариации показателя преломления на пути рассеянных волн. В настоящее время статистические свойства неподвижных, перемещающихся и изменяющихся спекл-полей хорошо изучены [1–5], на основе полученных данных разработаны методы определения перемещений, поворотов и деформаций поверхности отражающих тел, показателя преломления внутри прозрачных объектов [6–9], изучены механические свойства биотканей [10].

Спеклы используются также для изучения процессов, происходящих в живых системах: семенах, фруктах, в коже людей, живых тканях и подобных объектах. Спеклы, используемые в биологии, получили название биоспеклов. С многочисленными примерами использования биоспеклов

* vap52@bk.ru

в научных исследованиях можно ознакомиться в монографии [11]. Следует отметить статью [12], в которой динамика спеклов была использована для изучения процессов, протекающих внутри клеток растений. В настоящее время методика использования контраста спеклов доведена до практического применения и применяется в клиниках для оценки скорости кровотока на сетчатке глаза и на конечностях пациентов [13, 14].

Актуальность использования спеклов при изучении процессов, происходящих в живых системах, связана с тем, что болезни людей прямо или косвенно связаны с явлениями, возникающими в мембранах и внутри клеток. При зондировании клеток когерентным светом физико-химические процессы, протекающие в них на структурном уровне, случайным образом меняют фазы волн. Поэтому появляется потенциальная возможность по изменениям во времени интенсивности прошедшего через них излучения анализировать процессы, протекающие в живых клетках людей, и создавать методики для индивидуального лечения пациентов.

Сложность задач по установлению связи между физическими процессами, влияющими на изменение фаз волн и через них на параметры динамики спеклов, обусловлена тем, что для их решения нужны дисперсионные соотношения, определяющие связи между фазами волн, изменяющимися в пространстве и во времени. Указанная сложность была преодолена в работе [15], где теоретически была решена задача о динамике спеклов в плоскости изображения тонкого биологического фазового объекта. В ней были получены формулы для средней по времени интенсивности излучения $\tilde{I}$ в некоторой точке плоскости изображения и для нормированной временно́й автокорреляционной функции $\eta(t_1,t_2)$ этой интенсивности. Предполагалось, что фазовый объект освещается через случайный фазовый экран, а показатель преломления и (или) толщина объекта изменяются случайным образом. Было показано, что в указанные формулы входят параметры, характеризующие случайные изменения разности оптических путей пар волн Δu. А именно, величина $\tilde{I}$ зависит от среднего значения и дисперсии величины Δu, полученных усреднением по области с поперечным размером, равным линейному разрешению линзы, и по времени. В выражении для η фигурируют средние значения и дисперсии величины Δu в моменты времени t_1 и t_2, найденные путём усреднения как по времени, так и по ансамблю объектов, а также временна́я автокорреляционная функция $\rho(t_1,t_2)$ величины Δu. Была также получена формула, связывающая временны́е спектры Δu и $\tilde{I}$. Преимуществом использования схемы со случайным фазовым экраном является высокая чувствительность метода усреднённых по времени спекловых изображений к случайным изменениям фаз волн в фазовых объектах. Как было показано в работе [16], при прочих равных условиях данный метод по чувствительности на один–два порядка превосходит метод цифровой голографической интерферометрии. В экспериментах с монослоем живых клеток, культивированных на прозрачной подложке, была продемонстрирована хорошая корреляция среднеквадратичного отклонения величины Δu и температуры [17], хорошее совпадение особенностей изменения величин $\tilde{I}$ и η с особенностями развития вируса герпеса в клетках [18]. На основе данных, полученных ранее в статьях [15, 17–19], в данной публикации средние значения, дисперсии, а также фигурирующее в зависимости $\rho(t_1,t_2)$ время корреляции величины Δu предлагается использовать в качестве функциональных параметров, т. е. параметров, характеризующих процессы, протекающие в живых клетках.

Исследования, проведённые в работах [15, 17, 18], имели один серьёзный недостаток: указанные выше функциональные параметры усреднялись по толщине объектов. Получение информации об изменении оптических путей волн на малых участках по толщине клетки позволило бы более детально изучать процессы, протекающие в клетках при воздействии на них инфекций и токсических веществ, а также исследовать механизмы действия лекарств на клеточном уровне. В настоящее время имеется большое число отечественных и зарубежных публикаций, посвящённых определению трёхмерного распределения показателя преломления в фазовых объектах и в живых клетках [20–25]. Имеются коммерческие трёхмерные голо-томографические микроскопы, например типа HT-2S Tomocube, позволяющие визуализировать внутренние структуры клетки. Из последних публикаций на эту тему можно выделить оригинальную статью [25], в которой была использована схема трёхлучевого интерферомметра с однаракурсным зондированием клетки. Последняя располагалась на двухслойной подложке, состоящей из зеркала и полупрозрачного зеркала. Результат интерференции волн, отражённых от двух слоёв подложки и слоя клетки, регистрировали в процессе непрерывного изменения длины волны освещающего излучения. Авторам удалось восстановить поле показателя преломления с рекордным разрешением по толщине, равным 89 нм.

В литературе имеются сведения об использовании интерференционной томографии [24, 25], а также цифровой голографической интерферометрии [26] для изучения некоторых процессов. Анализ данных, полученных в этих публикациях, показывает, что возможности использованных этих методов для изучения внутриклеточных процессов, особенно быстропротекающих, ограничены. По мнению специалистов в области клеточной биологии [27], необходимы новые методы, позволяющие изучать происходящие в клетках процессы и определять параметры, характеризующие их функционирование («функции» клеток). Термин «функции клеток» был введён в [27] и будет использоваться в данной статье.

Данная работа посвящена созданию теоретической базы метода, позволяющего послойно восстанавливать функциональные параметры клетки, а именно усреднённые по времени средние значения и дисперсии величины Δu, а также её временны́е автокореляционные функции. В статье сделан первый, но важный шаг в этом направлении. Целью работы являлось получение на основе модели, использованной ранее в работе [15], формул, связывающих средние значения, дисперсии и времена корреляции разности оптических путей Δu в разных слоях объекта со средней по времени интенсивностью $\tilde{I}$ в произвольной точке плоскости изображения тонкого фазового объекта и временно́й автокорреляционной функцией $\eta(t_1, t_2)$ этой интенсивности. Также целью работы являлась экспериментальная проверка корректности полученных формул.

Особо отметим, что создание соответствующего устройства и использование полученных формул для послойного восстановления указанных выше трёх функциональных параметров выходят за рамки данной статьи. Решение этой задачи является предметом дальнейших исследований. Отметим также, что областью усреднения данных в проведённых экспериментах является область с размером порядка 1 мкм. Этот размер намного превышает средний размер молекул в клетках. В связи с этим участки указанного размера рассматриваются в статье как области сплошной среды, а предлагаемый автором метод не позволяет изучать биофизические и биохимические процессы, протекающие на атомно-молекулярном уровне. Метод предназначен для определения только макроскопических функциональных параметров.

1. МОДЕЛЬ ОБЪЕКТА

Воспользуемся моделью объекта, рассмотренного ранее в работе [15], несколько изменив её для решения новой задачи. Детально с этой моделью можно ознакомиться в указанной статье. В данном разделе мы рассмотрим основные положения модели, необходимые для наших преобразований. В математическом смысле эти преобразования мало отличаются от расчётов, проведённых в статье [15]. Отличие заключается в том, что оптическую длину пути в пределах фазового объекта мы разбиваем на M частей и предполагаем, что случайные разности фаз пар волн в этих частях являются независимыми. В остальном проводятся такие же преобразования, что и в работе [15]. Рассматриваемая оптическая система изображена на рис. 1.

Как и в работе [15], предположим, что тонкий фазовый объект *3* освещается точечным коге-

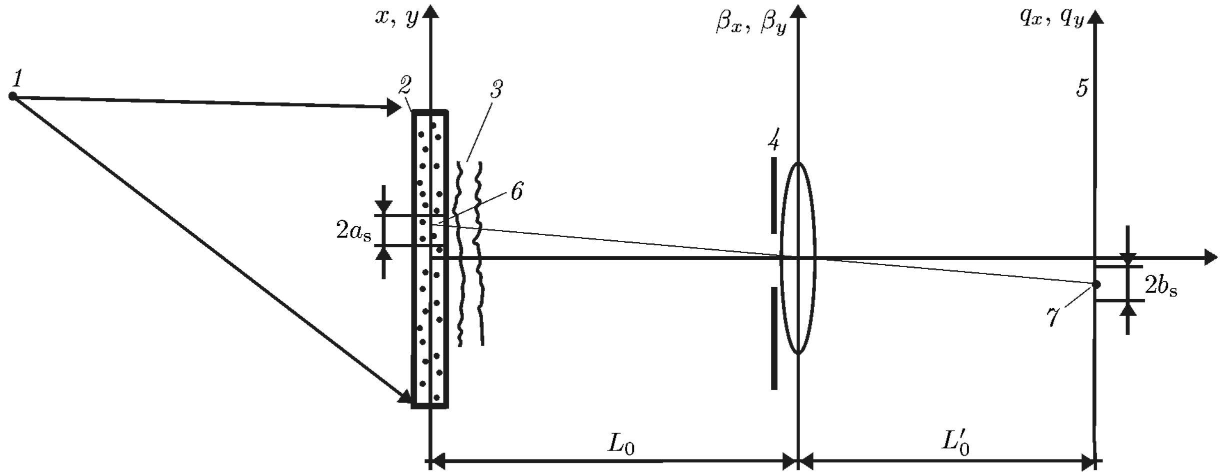

Рис. 1. Оптическая система: *1* — точечный источник света, *2* — диффузор, *3* — тонкий фазовый объект, *4* — тонкая линза с диафрагмой, *5* — плоскость наблюдения, *6* и *7* — сопряжённые точки

рентным источником света *1* через тонкий прозрачный диффузор *2*. Диффузор *2*, содержащий хаотично расположенные точечные центры рассеяния, располагается вблизи плоскости xy. На расстоянии L_0 располагается тонкая линза с диафрагмой *4*. Плоскости xy и q_xq_y, а также точки *6* и *7* являются сопряжёнными. Предположим, что поперечное разрешение линзы $2a_{\rm s}$ и толщина объекта малы по сравнению с расстояниями от точки *6* до источника света и до линзы, диаметр диафрагмы линзы мал по сравнению с расстоянием от линзы до точки *7*, а на отрезке, равном продольному разрешению линзы, укладывается сумма толщины диффузора, толщины объекта и расстояния от объекта до диффузора.

Для упрощения задачи принимаем, что показатели преломления среды в диффузоре и вне его одинаковы и равны единице. Считаем, что фаза волны, рассеянной точечным центром, случайна, а случайные фазы волн, зондирующих объект, являются независимыми. Все рассматриваемые волны считаются линейно поляризованными в одном направлении. Полагаем также, что две волны с одинаковыми амплитудами формируют картину интерференции с контрастом, равным единице.

Рассмотрим сначала выражение для комплексной амплитуды излучения $A(\mathbf{q})$ в некоторой точке $\mathbf{q}$ плоскости q_xq_y. В предположении, что в области поперечного разрешения линзы находится достаточно большое число центров рассеяния, в работе [15] было получено выражение для комплексной амплитуды излучения $A(\mathbf{q})$ в точке $\mathbf{q}$ плоскости q_xq_y. Воспользуемся им для дальнейших преобразований:

$$A(\mathbf{q}) = A_0 \sum_{j=1}^{N} \exp(i\theta_j + iku_j), \tag{1}$$

где A_0 — комплексная постоянная, $j = 1, 2, \ldots, N$ — число волн, зондирующих область с диаметром $2a_{\rm s}$, величина θ_j учитывает набеги фазы, появляющиеся на пути j-й волны от источника света до центра рассеяния и далее до точки $\mathbf{q}$ в отсутствие тонкого фазового объекта, $k = 2\pi/\lambda$, величина ku_j учитывает набег фазы j-й волны при прохождении через тонкий прозрачный объект, u_j — оптическая длина пути j-й волны в фазовом объекте, которая определяется формулой

$$u_j = \int\limits_{l_j} [n_j(l) - n_0]\, {\rm d}l, \tag{2}$$

где интегрирование ведётся по толщине объекта, l_j — длина пути j-й волны в объекте, $n_j(l)$ —

распределение показателя преломления вдоль пути l для j-й волны, n_0 — показатель преломления вне объекта.

Для упрощения выкладок предположим далее, что направление наблюдения параллельно оси z, а одной стороной прозрачный объект *3* касается плоской поверхности диффузора *2*. Проведём через центр области с диаметром $2a_{\rm s}$ линию, параллельную оси z, до касания края объекта. Длину этой линии, равную L, примем за толщину объекта. Разделим теперь толщину объекта на M частей, равных s_m, $m = 1, 2, \ldots, M$, при этом $m = 1$ пусть соответствует участку, расположенному у диффузора. Примем, что значение показателя преломления на m-м участке пути j-й волны есть величина постоянная, равная n_{jm}. Полагаем, что волны с разным нижним индексом j в каждом в m-м участке будут проходить одинаковые расстояния s_m, но в последнем M-м участке из-за сложной формы объекта они проходят разные расстояния. Вместо (2) теперь имеем

$$u_j = \sum_{m=1}^{M-1} (n_{jm} - n_0) s_m + u_{jM}, \tag{3}$$

где u_{jM} — оптическая длина пути j-й волны на последнем, M-м, участке.

Подставляя (3) в (1), получаем

$$A(\mathbf{q}) = A_0 \sum_{j=1}^{N} \exp\left[i\theta_j + iku_{jM} + ik \sum_{m=1}^{M-1} (n_{jm} - n_0) s_m\right]. \tag{4}$$

Предположим далее, что показатели преломления n_{jm} непрерывно изменяются во времени. Тогда комплексная амплитуда $A(\mathbf{q})$ и интенсивность излучения $I = A(\mathbf{q}) A^*(\mathbf{q})$ являются непрерывными функциями времени (здесь и далее звёздочка обозначает комплексное сопряжение).

2. СРЕДНЯЯ ПО ВРЕМЕНИ ИНТЕНСИВНОСТЬ ИЗЛУЧЕНИЯ

Найдём далее среднюю по времени интенсивность излучения в точке $\mathbf{q}$. Для времени усреднения, равного T, имеем

$$\begin{gathered}\tilde{I}(\mathbf{q}) = \frac{1}{T} \int\limits_T A(\mathbf{q}, t) A^*(\mathbf{q}, t)\, \mathrm{d}t = N A_0^2 + A_0^2 \frac{1}{T} \int\limits_T \mathrm{d}t \sum_{j=1}^{N} \sum_{\substack{n=1 \\ j \neq n}}^{N} \exp[i(\theta_j - \theta_n) + ik(z_1 n_{jM} - z_2 n_{nM}) + \\ + ik \sum_{m=1}^{M-1} (n_{jm} - n_{nm}) s_m] + A_0^2 \frac{1}{T} \int\limits_T \mathrm{d}t \sum_{j=1}^{N} \sum_{\substack{n=1 \\ j \neq n}}^{N} \exp[-i(\theta_j - \theta_n) - ik(z_1 n_{jM} - z_2 n_{nM}) - \\ - ik \sum_{m=1}^{M-1} (n_{jm} - n_{nm}) s_m],\end{gathered} \tag{5}$$

где мы учли, что разность $u_{jM} - u_{nM}$ равна $z_1 n_{jM} - z_2 n_{nM}$, z_1 и z_2 — соответствующие расстояния от $(M-1)$-го участка до края объекта.

Из выражения (5) следует, что изменение величины $\tilde{I}$ зависит от изменений разностей фаз $k(n_{jm} - n_{nm}) s_m$, а также фаз $kz_1 n_{jM}$ и $kz_2 n_{nM}$.

Далее мы предположим, что изменения указанных разностей фаз и изменения фаз являются стационарными во времени и эргодическими процессами. Тогда усреднение во времени мы можем заменить усреднением по ансамблю объектов. Таким образом, мы предполагаем, что имеется большое число (ансамбль) статистически подобных объектов *3* (см. рис. 1), на которых в фиксированный момент времени определяются указанные разности фаз и набегов фаз. Все указанные случайные разности фаз и набеги фаз мы считаем независимым. Как и в работе [15], мы полагаем, что разности фаз $\Delta\varphi_m = k(n_{jm} - n_{nm})s_m$, а также фазы $\varphi_M = kz_1 n_{jM}$ и $kz_2 n_{nM}$ распределены по закону Гаусса. Таким образом, интегрирование по времени функций $\exp(\pm i\,\Delta\varphi_m)$ и $\exp(\pm i\varphi_M)$ мы заменяем на интегралы

$$\int\limits_{-\infty}^{+\infty} \exp(\pm i\,\Delta\varphi_m)\rho(\Delta\varphi_m)\,\mathrm{d}(\Delta\varphi_m) \qquad \int\limits_{-\infty}^{+\infty} \exp(\pm i\varphi_M)\rho(\varphi_M)\,\mathrm{d}(\varphi_M), \tag{6}$$

где $\rho(\Delta\varphi_m)$ и $\rho(\Delta\varphi_M)$ — гауссова плотность вероятности величин $\Delta\varphi_m$ и φ_M соответственно. Подставляя плотности вероятности в соответствующие интегралы, получаем, что первый интеграл в (6) равен

$$\exp\left(\pm ik\,\Delta\mu_m s_m - \frac{k^2\,\Delta\sigma_m^2 s_m^2}{2}\right),$$

а интегралы, содержащие величины z_1 и z_2, равны

$$\exp\left(\pm ik\mu_{M1}z_1 - \frac{k^2\sigma_{M_1}^2 z_1^2}{2}\right) \qquad \exp\left(\pm ik\mu_{M2}z_2 - \frac{k^2\sigma_{M_2}^2 z_2^2}{2}\right),$$

где $\Delta\mu_m$ — средние по ансамблю значения разностей показателя преломления в m-й зоне объекта, μ_{M1} и μ_{M2} — средние значения показателей преломления, соответствующие расстояниям z_1 и z_2, а $\Delta\sigma_m^2$ — дисперсии разностей показателей преломления, σ_{M1}^2, σ_{M2}^2 — соответствующие дисперсии показателей преломления в M-й зоне. В итоге для правой части (5) получаем

$$\begin{aligned} NA_0^2 + A_0^2 \exp\left(-\frac{k^2 z_1^2\sigma_{M1}^2 + k^2 z_2^2\sigma_{M2}^2 + \sum\limits_{m=1}^{M-1} k^2\,\Delta\sigma_m^2 s_m^2}{2}\right) \sum_{j=1}^{N}\sum_{\substack{n=1\\ j\neq n}}^{N} \exp\Bigg[i(\theta_j - \theta_n) + \\ + ik(z_1\mu_{M1} - z_2\mu_{M2}) + ik\sum_{m=1}^{M-1}\Delta\mu_m s_m\Bigg] + A_0^2\exp\left(-\frac{k^2 z_1^2\sigma_{M1}^2 + k^2 z_2^2\sigma_{M2}^2 + \sum\limits_{m=1}^{M-1} k^2\,\Delta\sigma_m^2 s_m^2}{2}\right) \times \\ \times \sum_{j=1}^{N}\sum_{\substack{n=1\\ j\neq n}}^{N} \exp\left[-i(\theta_j - \theta_n) - ik(z_1\mu_{M1} - z_2\mu_{M2}) - ik\sum_{m=1}^{M-1}\Delta\mu_m s_m\right]. \end{aligned} \tag{7}$$

Преобразуем величины, содержащие z_1 и z_2. Предположим, что из-за малости величины $2a_\mathrm{s}$ в пределах области с диаметром $2a_\mathrm{s}$ имеет место линейная связь между величинами z_1 и z_2, а также между величинами μ_{M1} и μ_{M2}. Примем, что $z_2 = z_1 + \gamma\,\langle\Delta x\rangle$, $\mu_2 = \mu_1 + n'\,\langle\Delta x\rangle$, $z_0 = (z_2 + z_1)/2$, $\mu_0 = (\mu_2 + \mu_1)/2$, где $\langle\Delta x\rangle$ — среднее по множеству реализаций расстояние между зондирующими волнами. Предполагая, что $\sigma_{M1}^2 + \sigma_{M2}^2 \gg (\sigma_{M2}^2 - \sigma_{M1}^2)$, $\sigma_{M2}^2 > \sigma_{M1}^2$, после элементарных преобразований вместо (7) получаем

$$NA_0^2 + A_0^2 \exp\left[-\frac{2k(\sigma_{M1}^2+\sigma_{M2}^2)(z_0^2+\gamma^2\langle\Delta x\rangle^2/4)+\sum\limits_{m=1}^{M-1} k^2\,\Delta\sigma_m^2 s_m^2}{2}\right]\sum_{j=1}^{N}\sum_{\substack{n=1\\ j\neq n}}^{N}\exp\biggl[i(\theta_j-\theta_n)-$$

$$-\,ik(z_0n'-\mu_0\gamma)\,\frac{\langle\Delta x\rangle}{2}+ik\sum_{m=1}^{M-1}\Delta\mu_m s_m\biggr]+$$

$$+\,A_0^2\exp\left[-\frac{2k^2(\sigma_{M1}^2+\sigma_{M2}^2)(z_0^2+\gamma^2\langle\Delta x\rangle^2/4)+\sum\limits_{m=1}^{M-1} k^2\,\Delta\sigma_m^2 s_m^2}{2}\right]\times$$

$$\times\sum_{j=1}^{N}\sum_{\substack{n=1\\ j\neq n}}^{N}\exp\left[-i(\theta_j-\theta_n)+ik(z_0n'-\mu_0\gamma)\,\frac{\langle\Delta x\rangle}{2}-ik\sum_{m=1}^{M-1}\Delta\mu_m s_m\right]. \qquad (8)$$

Упростим последнее выражение, преобразовав сумму косинусов:

$$\tilde I(\mathbf{q}) = I_1 + I_2\exp\left(-\frac{\Sigma_{m=1}^{M}k^2\,\Delta\sigma_m^2 s_m^2}{2}\right)\cos\left(k\sum_{m=1}^{M}\Delta\mu_m s_m+\alpha\right), \qquad (9)$$

где $I_1 = NA_0^2$, $I_2 = 2A_0^2B$, $B^2 = E^2+F^2$, $E = \Sigma_{\kappa=1}^{K}\cos(\Delta\theta_\kappa)$, $F = \Sigma_{\kappa=1}^{K}\sin(\Delta\theta_\kappa)$, $\alpha = \operatorname{arctg}(F/E)$, $\Delta\theta_\kappa = \theta_j-\theta_n$, κ — номер пары волн с индексами j и n, $j\neq n$, $K = N(N-1)/2$ — число пар волн, $\Delta\sigma_M^2 = 2(\sigma_{M1}^2+\sigma_{M2}^2)$, $s_M^2 = z_0^2+\gamma^2\,\langle\Delta x\rangle^2/4$, $\Delta\mu_M s_M = -(z_0n'-\mu_0\gamma)\,\langle\Delta x\rangle/2$.

3. ВРЕМЕННА́Я АВТОКОРРЕЛЯЦИОННАЯ ФУНКЦИЯ

Получим теперь выражение для временно́й автокорреляционной функции интенсивности $\tilde I$ в точке $\mathbf{q}$, рассматривая величину $\tilde I$ как непрерывную функцию времени t:

$$R_{12}(\mathbf{q},t_1,t_2) = \left\langle\left(\tilde I_1-\left\langle\tilde I_1\right\rangle\right)\left(\tilde I_2-\left\langle\tilde I_2\right\rangle\right)\right\rangle = \left\langle\tilde I_1\tilde I_2\right\rangle-\left\langle\tilde I_1\right\rangle\left\langle\tilde I_1\right\rangle, \qquad (10)$$

где индексы 1 и 2 соответствуют моментам времени t_1 и t_2, а угловые скобки обозначают усреднение по множеству реализаций. Как обычно делается в теории спеклов, полагаем, что случайные разности начальных фаз волн $\Delta\theta_\kappa$ однородно распределены в области $(-\pi,+\pi)$, все случайные величины независимы, имеется корреляция величин $\Delta\mu_m$ по времени. Определим сначала выражения $\left\langle\tilde I_1\right\rangle$ и $\left\langle\tilde I_2\right\rangle$. Поскольку $\langle(\exp(\pm i\,\Delta\theta_\kappa)\rangle = 0$, имеем

$$\left\langle\tilde I_1\right\rangle = NI_0,\qquad \left\langle\tilde I_2\right\rangle = NI_0,\qquad \left\langle\tilde I_1\right\rangle\left\langle\tilde I_2\right\rangle = N^2I_0^2, \qquad (11)$$

где $I_0 = A_0^2$. Найдём теперь $\left\langle\tilde I_1\tilde I_2\right\rangle$, используя левую часть выражения (8). Имеем:

$$\left\langle\tilde I_1\tilde I_2\right\rangle = \left\langle\left(I_0N + I_0\exp\left(-\frac{1}{2}\sum_{m=1}^{M}k^2\,\Delta\sigma_{1m}^2 s_m^2\right)\sum_{\kappa}^{K}\left\{\exp\left[ik\left(\Delta\theta_\kappa+\sum_{m}^{M}\Delta\mu_{1m}s_m\right)\right]+\right.\right.\right.$$

$$\left.\left.+\exp\left[-ik\left(\Delta\theta_\kappa+\sum_{m}^{M}\Delta\mu_{1m}s_m\right)\right]\right\}\right)\left(I_0N+I_0\exp\left(-\frac{1}{2}\sum_{m=1}^{M}k^2\Delta\sigma_{2m}^2 s_m^2\right)\times\right.$$

$$\times \sum_{n}^{K} \left\{ \exp\left[ik\left(\Delta\theta_n + \sum_{m}^{M} \Delta\mu_{2m} s_m \right) \right] + \exp\left[-ik\left(\Delta\theta_n + \sum_{m}^{M} \Delta\mu_{2m} s_m \right) \right] \right\} \Bigg) \Bigg\rangle =$$

$$= I_0^2 N^2 + I_0^2 \prod_{m=1}^{M} \left\langle \exp(-k^2\, \Delta\sigma_{1m}^2 s_m/2) \right\rangle \left\langle \exp(-k^2\, \Delta\sigma_{2m}^2 s_{2m}^2) \right\rangle \times$$

$$\times \sum_{\kappa=1}^{K} \sum_{n=1}^{K} \left(\left\{ \prod_{m=1}^{M} \langle \exp[i(x_{1m} + x_{2m})] \rangle \right\} \langle \exp[i(y_\kappa + y_n)] \rangle + \left\{ \prod_{m=1}^{M} \langle \exp[i(x_{1m} - x_{2m})] \rangle \right\} \times \right.$$

$$\times \langle \exp[i(y_\kappa - y_n)] \rangle + \left\{ \prod_{m=1}^{M} \langle \exp[i(-x_{1m} - x_{2m})] \rangle \right\} \langle \exp[i(-y_\kappa + y_n)] \rangle +$$

$$\left. + \left\{ \prod_{m=1}^{M} \langle \exp[i(-x_{1m} - x_{2m})] \rangle \right\} \langle \exp[i(-y_\kappa - y_n)] \rangle \right), \quad (12)$$

где $x = k\,\Delta\mu s$, $y = \Delta\theta$. Из выражения (12) следует, что не равными нулю являются слагаемые, содержащие разности $y_\kappa - y_n$ и $-y_\kappa + y_n$ при $\kappa = n$. Для дальнейших преобразований мы предположим, что при $\kappa = n$ совместная плотность вероятности $\rho(x_1, x_2)$ величин x_1 и x_2 есть двумерная функция Гаусса. Два интеграла в выражении (12), $\langle \exp[i(x_1 - x_2)] \rangle = \int_{-\infty}^{+\infty} \exp[i(x_1 - x_2)]\rho(x_1, x_2)\,\mathrm{d}x_1\,\mathrm{d}x_2$ и $\langle \exp[i(-x_1 + x_2)] \rangle = \int_{-\infty}^{+\infty} \exp[i(-x_1 + x_2)]\rho(x_1, x_2)\,\mathrm{d}x_1\,\mathrm{d}x_2$, являются характеристическими функциями $g(+1, -1)$ и $g(-1, +1)$ случайных величин x_1 и x_2. Согласно [28]

$$g(+1, -1) = \exp(i\langle x_1 \rangle - i\langle x_2 \rangle - k_{11}/2 - k_{22}/2 + k_{12}/2 + k_{21}/2), \quad (13)$$

$$g(-1, +1) = \exp(-i\langle x_1 \rangle + i\langle x_2 \rangle - k_{11}/2 - k_{22}/2 + k_{12}/2 + k_{21}/2), \quad (14)$$

где $\langle x_1 \rangle$ и $\langle x_2 \rangle$ — средние значения величин x_1 и x_2, k_{11} и k_{22} — их дисперсии, а

$$k_{12} = \langle (x_1 - \langle x_1 \rangle)\,(x_2 - \langle x_2 \rangle) \rangle\,. \quad (15)$$

Предположим далее, что случайные величины $\Delta\sigma_{1m}^2$ и $\Delta\sigma_{2m}^2$ независимы и однородно распределены в диапазоне от 0 до $\Delta\sigma_{0m}^2$. В этом случае

$$\left\langle \exp\left(-k^2\, \Delta\sigma_{1m}^2 s_m^2/2\right) \right\rangle = \left\langle \exp\left(-k^2\, \Delta\sigma_{2m}^2 s_m^2/2\right) \right\rangle = \frac{1}{\Delta\sigma_{0m}^2} \int_0^{\Delta\sigma_0^2} \exp(-k^2 x s_m^2/2)\,\mathrm{d}x =$$

$$\frac{1 - \exp(-k^2\, \Delta\sigma_{0m}^2 s_m^2/2)}{k^2 s_m^2/2} = C_{0m} = \mathrm{const}. \quad (16)$$

С учётом (13)–(16), для $R_{1,2}(t_1, t_2)$ получаем

$$R_{1,2}(t_1, t_2) = 2I_0^2 K C_0^2 \exp\left(\sum_{m=1}^{M} -k_{11m}/2 - k_{22m}/2 + k_{12m} \right) \cos\left[\sum_{m=1}^{M} (\langle x_{1m} \rangle - \langle x_{2m} \rangle) \right], \quad (17)$$

где C_0^2 — произведение величин C_{0m}, $m = 1, \ldots, M$. Для нормированной автокорреляционной функции $\eta(t_1, t_2) = R_{1,2}(t_1, t_2)/R_{1,2}(0, 0)$ имеем

$$\eta(t_1, t_2) = \exp\left\{ \sum_{m=1}^{M} \left[-\frac{k_{11m}}{2} - \frac{k_{22m}}{2} + k_{12m}(t_1, t_2) \right] \right\} \cos \sum_{m=1}^{M} (\langle x_1 \rangle - \langle x_2 \rangle). \quad (18)$$

Сравним формулы для $\tilde{I}(\mathbf{q})$ и $\eta(t_1,t_2)$, выведенные в данной статье (выражения (9) и (18)) с аналогичными формулами (11) и (26) из работы [15] для случая $M = 1$. В обозначениях, принятых в данной статье, указанные формулы (11) и (26) имеют следующий вид:

$$\tilde{I}(q) = I_1 + I_2 \exp\left(-\frac{k^2\sigma_L^2 L^2}{2}\right)\cos(kL\,\Delta\mu + \alpha); \tag{19}$$

$$\eta(t_1,t_2) = \exp[-k_{11}/2 - k_{22}/2 + k_{12}(t_1,t_2)]\cos(\langle x_1\rangle - \langle x_2\rangle), \tag{20}$$

где L — толщина фазового объекта. Сравнение соответствующих формул показывает, что функциональные параметры $k^2\sigma_L^2 L^2$, $kL\,\Delta\mu$, k_{11}, k_{22}, $k_{12}(t_1,t_2)$, $\langle x_1\rangle$ и $\langle x_2\rangle$, определяемые усреднением по толщине клетки, равны сумме таких же параметров в слоях клетки. Данное наблюдение является важным обстоятельством для разработки метода послойного восстановления функциональных параметров.

4. ЭКСПЕРИМЕНТЫ

Для применения формул (9) и (18) на практике необходимо понять, насколько они соответствуют процессам, протекающим в живых клетках. В настоящее время у автора отсутствует аппаратура, на которой можно было бы провести эксперимент по одновременной регистрации массива значений $\tilde{I}$ и η и затем послойному восстановлению неизвестных функциональных параметров с использованием указанных формул.

Для проверки корректности выражения (18) воспользуемся результатами проведённого нами ранее эксперимента по изучению динамики спеклов в плоскости изображения клеток, осаждённых на прозрачную подложку сразу после разморозки. Данный эксперимент был подробно описан в работе [29]. Использованная в нём оптическая система соответствовала представленной на рис. 1. Диффузор *2* (см. рис. 1) был изготовлен из оконного стекла, отшлифованного сначала абразивом с размером 150 мкм, затем 40 и 5 мкм. Средний размер клеток был равен 28 мкм. В эксперименте в течение многих часов были зарегистрированы кадры спекловых изображений со временем усреднения T, равным 9 с.

Анализ зависимостей $\tilde{I} = \tilde{I}(t)$, а также просмотр фильма, состоящего из указанных кадров, позволил предположить, что флуктуации интенсивности излучения обусловлены четырьмя одновременно протекающими процессами, а именно: хаотическим движением клеток и их контактами с соседними клетками, изменяющими форму клеток, а также внутриклеточными процессами и процессами в питательном растворе. Полагаем, что разности оптических путей Δu_j зондирующих волн случайным образом изменяются вследствие действия этих четырёх независимых друг от друга факторов, а для размороженных клеток справедливы рассмотренная нами модель объекта и формула (18) для $M = 4$.

Возможность использования этой формулы связана с тем, что она представлена в форме, в которой не конкретизированы положения участков, где происходят изменения величины $k\,\Delta u$, а также с тем, что эти изменения могут происходить как на разных участках по толщине клетки, так и на одном участке, но с разной интенсивностью (с разными средними значениями и дисперсиями), а также с разной скоростью (разными временами корреляции). В частности, на элементарном участке, расположенном на месте контакта клетки с питательным раствором, оптические пути могут изменяться вследствие изменения формы клетки при её поступательном перемещении, а также одновременно, из-за механических возмущений, распространяющихся после контакта двух клеток. На элементарном участке, расположенном внутри клетки, изменение показателя преломления среды во времени в соответствие с формулой Лоренц—Лорентца может происходить как за счёт изменения плотности (температуры), так и за счёт изменения удельной преломляющей способности среды, которая равна сумме произведений удельных преломляющих способностей веществ на их относительные концентрации. Таким образом, флуктуации показателя преломления среды в элементарном объёме клетки могут возникнуть вследствие поглощения или выделения энергии в ходе протекания разных химических реакций, а также из-за диффузии разных веществ с различными скоростями.

В рассматриваемом эксперименте оптическая длина пути внутри прозрачной кюветы была условно разделена на три слоя. Первый слой с толщиной около 1,5 мм соответствовал питательному раствору, второй слой с толщиной порядка 10 мкм охватывал почти всю клетку, третий слой с толщиной порядка 1 мкм располагался на стыке клетки с питательным раствором и охватывал часть клетки и часть питательного раствора. Предполагалось, что случайные изменения оптических путей волн в первом слое возникают вследствие флуктуации плотности, во втором слое — вследствие внутриклеточных процессов. Считалось, что в третьем слое разность оптических путей двух волн является суммой двух независимых случайных величин, изменяющихся с разной скоростью из-за механических возмущений, возникающих при контакте клеток, и вследствие поступательного перемещения клетки. В последнем случае через малую область пространства внутри слоя проходят участки поверхности клетки с разным наклоном.

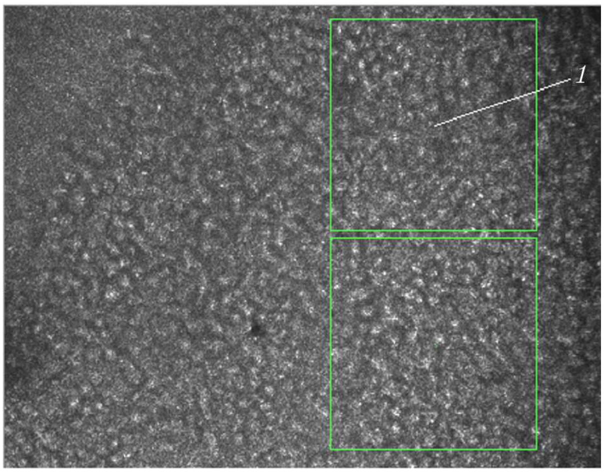

Рис. 2. Типичное спекловое изображение размороженных клеток. Цифрой *1* показана клетка, в пределах которой был выбран фрагмент с размером 3 × 3 пиксела. Рамками выделены две из четырёх областей, взятые для определения зависимости $\eta(t)$

На рис. 2 показано типичное спекловое изображение клеток с пространственным разрешением $2a_{\rm s} \approx 2$ мкм. Видно, что в среднем яркость центров клеток больше, чем их яркость на перифериях. Согласно формуле (9), более тёмные участки на периферии могут быть связаны с бо́льшими значениями дисперсий разности оптических путей зондирующих волн вследствие контактов с соседними клетками. На рис. 3 приведены типичные зависимости $\eta(\tau)$, полученные для двух фрагментов спекловых изображений. Рисунок 3*а* соответствует данным, полученным для одной клетки, а на рис. 3*б* величины η определялись по фрагментам кадра, охватывающим около 132 клеток. Величина η определялась по формуле

$$\eta = \frac{\dfrac{1}{nm} \sum\limits_{i=0}^{n-1} \sum\limits_{j=0}^{m-1} (A_{ij} - \bar{A})\,(B_{ij} - \bar{B})}{\left[\dfrac{1}{nm} \sum\limits_{i=0}^{n-1} \sum\limits_{i=0}^{m-1} (A_{ij} - \bar{A})^2\right]^{1/2} \left[\dfrac{1}{nm} \sum\limits_{i=0}^{n-1} \sum\limits_{i=0}^{m-1} (B_{ij} - \bar{A})^2\right]^{1/2}}\,. \tag{21}$$

Здесь i, j — номера элементов (пикселов) строки и номера строк матрицы соответственно, n и m — число пикселов строки и число строк матрицы соответственно, A_{ij} — числовое значение пиксела с номерами i и j при t_1, B_{ij} — числовое значение этого пиксела в момент времени t_2, $\bar{A}$ — среднеарифметическая величина числовых значений элементов матрицы при t_1, $\bar{B}$ — среднеарифметическая величина числовых значений элементов матрицы в момент времени t_2.

Как видно из рис. 3*а*, величина η, найденная по 9 пикселам, хаотично изменяется в пределах от $+1$ до -1 относительно среднего уровня, равного нулю. Девяти пикселам соответствуют 9

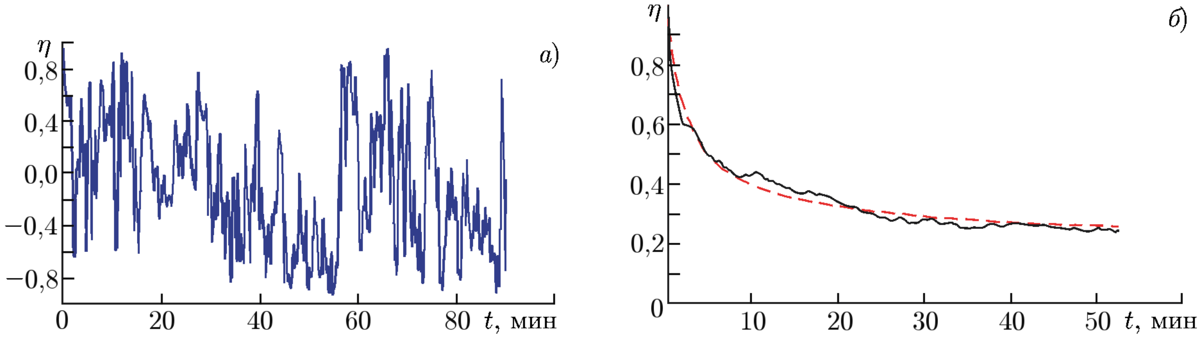

Рис. 3. Зависимости $\eta(t)$ для участка с размером 3×3 пиксела в пределах изображения одной клетки (*а*) и для фрагмента, содержащего изображение 132 клетки (*б*)

участков одной клетки с размерами около 2 мкм, в пределах которых величина Δu изменяется случайным образом. Согласно формуле (18) η может достигнуть величины -1, если $k_{11m} = k_{22m}$, а сумма разностей средних величин Δu_m в начальный и текущий моменты времени равны или кратны $\lambda/2$.

Из кривых на рис. 3*б* следует, что при усреднении по большому числу клеток величина η положительна и постепенно уменьшается до значений около 0,2. Отсутствие отрицательных значений величины η можно объяснить тем, что при хаотическом движении клеток в фиксированный момент времени соответствующее значение Δu принимает случайное как положительное, так и отрицательное значение. Поэтому средние по большому числу клеток (ансамблю объектов) значения x_{1j} и x_{2j} равны нулю. Кроме того, хорошее совпадение зависимостей $\eta(t)$, полученных с разницей во времени в несколько часов, указывает на стационарность изучаемых нами случайных процессов. Мы предположили, что все рассматриваемые нами процессы стационарны. Для стационарных процессов $\langle x_{1j}\rangle = \langle x_{2j}\rangle$, $k_{11j} = k_{22j}$, тогда вместо (18) имеем

$$\eta(\tau) = \prod_{j=1}^{4} \eta_j(\tau) = \prod_{j=1}^{4} \exp\{-k^2[k_{11j} - k_{11j}\exp(-\tau/\tau_{0j})]\}, \qquad (22)$$

где нормированная автокорреляционная функция $\rho_{12}(\tau)$ величин Δu_j взята в виде функции Лоренца, τ_{0j} — время корреляции (релаксации) величины Δu_j.

Как было указано выше, мы предположили, что четыре процесса, влияющие на изменение величины Δu, — это процессы, протекающие в питательном растворе, идущие на структурном уровне внутри клеток, связанные с контактами с соседними клетками и обусловленные изменением формы (деформацией) клеток при их хаотическом движении. Типичные значения k_{11j} и τ_{0j}, соответствующие процессам в питательном растворе (0,05 и 0,16 мин соответственно), а также процессам в клетках (0,08 и 0,8 мин соответственно) известны из наших ранних работ [17, 30]. В этих работах также было показано, что нормированные автокорреляционные функции $\rho_{12}(\tau)$ для питательного раствора и клеток являются функциями Лоренца. В данной работе предполагалось, что все четыре функции $\rho_{12}(\tau)$ являются функциями Лоренца. Типичные значения τ_{0j}, соответствующие контактам и деформациям клеток, были взяты равными 5 и 20 мин соответственно. Они отвечали крупномасштабным временны́м изменениям в зависимости $\tilde I = \tilde I(t)$. Полагалось, что дисперсии k_{11j} для последних двух процессов на порядок больше и равны 0,6.

Указанные первоначальные значения k_{1j} и τ_{0j} были изменены так, чтобы по формуле (20) максимально приблизить теоретическую зависимость к экспериментальной. Подбор четырёх пар значений k_{11j} и τ_{0j} заключался в последовательной фиксации значений семи параметров и в изменении значения оставшегося параметра. Выбиралось такое значение последнего, при котором в модели линейной регрессии коэффициент корреляции теоретических и экспериментальных данных достигал максимального значения. На рис. 3*б* теоретическая зависимость показана штриховой линией, окончательное значение указанного коэффициента корреляции равнялось 0,99. Среднеквадратичные отклонения $\sigma_j = \sqrt{k_{11j}}$ и времена корреляции τ_{0j} величин Δu_j, подставленных в формулу (20), имели следующие значения: $\sigma_1 = 23$ нм и $\tau_{01} = 0{,}45$ мин; $\sigma_2 = 49$ нм и $\tau_{02} = 2{,}25$ мин; $\sigma_3 = 68$ нм и $\tau_{03} = 3{,}75$ мин; $\sigma_4 = 89$ нм и $\tau_{02} = 22{,}5$ мин. Как было указано выше, все значения $\langle \Delta u_j \rangle$, $j = 1, 2, 3, 4$, равны нулю.

6. ОБСУЖДЕНИЕ

Из полученных формул (9) и (18) следует, что средняя по времени интенсивность излучения $\tilde{I}$ и величина η в общем случае являются квазипериодическими функциями времени. Их периоды зависят от средних значений разности фаз пар зондирующих волн $\Delta\varphi$, а амплитуды — от дисперсий указанных величин. В формуле для $\tilde{I}$ случайные величины усредняются по времени, а в формуле для η — ещё и по ансамблю объектов (множеству реализаций случайных величин). Как показывает опыт автора, на практике в качестве объектов ансамбля следует выбирать участки объекта, размеры которых равны линейному разрешению оптической системы. Если случайная величина $\Delta\varphi$ является суммой m независимых случайных величин $\Delta\varphi_m$, то периоды величин $\tilde{I}$ и η зависят от суммы средних величин слагаемых, а их амплитуды — от суммы дисперсий $\Delta\varphi_m$ и от суммы параметров, характеризующих степень корреляции фаз $\Delta\varphi_m$ в начальный и текущий моменты времени.

Корректность формул, подтверждённая экспериментом, может быть основой для создания устройства, позволяющего изучать процессы, протекающие на участках, расположенных по толщине клетки. Для этого в формулы (9) и (18) следует в явном виде вводить толщину этих участков. Неизвестными величинами в формулах являются среднее значение, дисперсия и время релаксации разности показателя преломления на среднем расстоянии в пределах участка, а на краю клетки ещё и тангенс угла наклона её поверхности, характеризующий локальное изменение формы (деформацию) клетки. Известными величинами являются пути волн в участках и длина волны излучения. Создание методики и организация эксперимента, которые позволяют получить и решить систему трансцендентных уравнений относительно неизвестных, является предметом дальнейших исследований. Отметим, что рассмотренные выше параметры характеризуют лишь процессы, протекающие на макроскопическом уровне, и не дают сведений о явлениях на атомно-молекулярном уровне. Поэтому для исследования тонких механизмов внутриклеточных процессов желательно одновременно изучать процессы, протекающие на разных масштабных уровнях с использованием соответствующих методов.

Автор благодарит своих коллег Бахарева А. А. и Михайленко Ю. А. за обсуждение результатов исследования, а руководство Екатеринбургского института вирусных инфекций — за поддержку исследований в области спекл-томографии живых клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Enloe L. H. // Bell Labs Tech. J. 1967. V. 46. No. 7. P. 1 479–1 489. https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1967.tb02471.x
2. Гудмен Дж. Статистическая оптика. М. : Мир, 1988. 528 с.
3. Анисимов В. В., Козел С. М., Локшин Г. Р. // Оптика и спектроскопия. 1969. Т. 27, № 3. С. 483–491.

4. Yamaguchi I. // Opt. Acta: Int. J. Opt. 1981. V. 28, No. 10. P. 1 359–1 376. https://doi.org/10.1080/713820454
5. Yoshimura T. // J. Opt. Soc. Amer. A. 1986. V. 3, No. 7. P. 1 032–1 054. https://doi.org/10.1364/JOSAA.3.001032
6. Александров Е. Б., Бонч-Бруевич А. М. // Журн. техн. физ. 1967. Т. 64, № 2. С. 360–369.
7. Leendertz J. A. // J. Phys. E: Sci. Instrum. 1970. V. 3, No. 3. P. 214–218. https://doi.org/10.1088/0022-3735/3/3/312
8. Fomin N. A. Speckle photography for fluid mechanics measurements. Berlin : Springer Verlag, 1998. 244 p.
9. Yamaguchi I., Fujita T. // Proc. SPIE. 1990. V. 1 162. P. 213–216. https://doi.org/10.1117/12.962748
10. Kirkpatrick S. J., Cipolla M. J. // J. Biomedical Opt. 2000. V. 5. P. 62–71. https://doi.org/10.1117/1.429970
11. Dynamic Laser Speckle and Applications / ed. by H. J. Rabal, R. A. Braga. Boca Raton : CRC Press, 2008. 282 p.
12. Oulamara A., Tribillon G., Duvernoy J. // J. Mod. Opt. 1989. V. 36. P. 165–179. https://doi.org/10.1080/09500348914550221
13. Briers J. D. // Opt. Applicata. 2007. V. 37, No. 1–2. P. 139–152.
14. Ansari M. Z., Humeau-Heurtier A., Offenhauser N., et al. // Microvascular Res. 2016. V. 107. P. 106–109. https://doi.org/10.1016/j.mvr.2016.06.003
15. Владимиров А. П. // Изв. вузов. Радиофизика. 2014. Т. 57, № 8–9. С. 632–545.
16. Владимиров А. П., Каманцев И. С., Друкаренко Н. А. и др. // Оптика и спектроскопия. 2019. Т. 127, № 11. С. 870–880. https://doi.org/10.21883/OS.2019.11.48530.165-19
17. Михайлова Ю. А., Владимиров А. П., Бахарев А. А. и др. // Российский журнал биомеханики. 2017. Т. 21, № 1. С. 64–73.
18. Vladimirov A. P., Malygin A. S., Mikhailova Y. A., et al. // Biomed. Engin. 2014. V. 48, No. 4. P. 178–181. https://doi.org/10.1007/s10527-014-9447-9
19. Vladimirov A. P. // Opt. Eng. 2016. V. 55, No. 12. Art. no. 121727. https://doi.org/10.1117/1.OE.55.12.121727
20. Пикалов В. В., Преображенский Н. Г., Трашкеев С. И. //Оптика и спектроскопия. 1985. Т. 58, № 6. С. 1 357–1 358.
21. Левин Г. Г., Вишняков Г. Н. Оптическая томография. М. : Радио и связь, 1989. 224 с.
22. Charriere F., Marian A., Montfort F., et al. // Opt. Lett. 2006. V. 31, No. 2. P. 178–180. https://doi.org/10.1364/OL.31.000178
23. Lin Y., Chen H., Tu H., et al. // Opt. Lett. 2017. V. 42, No. 7. P. 1 321–1 334. https://doi.org/10.1364/OL.42.001321
24. Choi W., Fang-Yen C., Badizadegan K., et al. // Nat. Methods. 2007. V. 4, No. 9. P. 717–719. https://doi.org/10.1038/nmeth1078
25. Fu R., Su Y., Wang R., et al. // Biomed. Opt. Express. 2019. V. 10, No. 6. P. 2 757–2 767. https://doi.org/10.1364/BOE.8.005507
26. Belashov A. V., Zhikhoreva A. A., Belyaeva T. N., et al. // JOSA (A). 2020. V. 37, No. 2. P. 346–352. https://doi.org/10.1364/JOSAA.382135
27. Мухина И. В. // XXXI Международная школа-симпозиум по голографии, когерентной оптике и фотонике. 30 сентября–4 октября 2019 г., Екатеринбург : УрФУ, 2019. С. 22–23.
28. Пугачёв В. С. Теория случайных функций и её применение к задачам автоматического управления. М. : Гос. изд-во физ.-мат. лит-ры, 1962. 887 с.
29. Vladimirov A. P., Baharev A. A., Malygin A. S., et al. // Proc. SPIE. 2015. V. 9529. Art. no. 95291F.

https://doi.org/10.1117/12.2184605

30. Малыгин А. С., Бебенина Н. В., Владимиров А. П. и др. // Приборы и техника эксперимента. 2012. № 3. С. 124–127.

Поступила в редакцию 12 мая 2020 г.; принята в печать 31 августа 2020 г.

SPECKLE TOMOGRAPHY OF THE LIVING-CELL FUNCTIONS

A. P. Vladimirov

This work is aimed at creation of the theoretical basis of the method allowing one to layer-by-layer reconstruct the parameters, which characterize the processes underway in small areas of living cells. The problem of the speckle dynamics on the object-image plane, which is caused by random variations in the optical paths of the waves in various layers inside the cell, is theoretically solved for a model of the cell in the form of a thin phase object located near the phase screen. On the assumption that the random variations Δu in the differences of the optical paths of the wave pairs are independent, the expressions for the time averaged radiation intensity $\tilde{I}$ at an arbitrary point of the image plane and for the time autocorrelation function $\eta(t_1, t_2)$ of this intensity are obtained. The relationships relating the parameters, which characterize the processes underway (the cell functions), with the quantities $\tilde{I}$ and η are obtained. The average value and variance of the quantity Δu, which are obtained by averaging over the region whose dimensions are equal to the linear resolution of the lens and the layer thickness and by time, are such parameters in the formula for $\tilde{I}$. The average values and the variances of the quantity Δu at the time instants t_1 and t_2, as well as the time autocorrelation function $\eta(t_1, t_2)$ of the quantity Δu, which are additionally averaged over the ensemble of the objects, are the functional parameters of the segments in the formula for $\eta(t_1, t_2)$. It is theoretically shown that the above-mentioned parameters, which are obtained by the averaging over the cell thickness, are the sums of the similar parameters in the cell layers. The correspondence of the formula for $\eta(t_1, t_2)$ to the physical processes occurring in the cells is shown using living cells, which are located on a glass substrate after defrosting. Assuming that four processes, which are independently changing the wave phases, are observed in the cells, a very good agreement between the theory and experiment is obtained.