

УДК 616-073.55:576.72

Марценяк І.В.¹, Олійник І.Ю.¹, Ушенко О.Г.²**Дослідження м'яких тканин щічної ділянки людини у пренатальному онтогенезі методами лазерної поляриметрії**¹ – ВДНЗ “Буковинський державний медичний університет”, м. Чернівці, Україна;² – Чернівецький національний університет ім. Ю.Федьковича, м. Чернівці, Україна
e-mail: imarcenyak@mail.ru, olijnyk@list.ru

Резюме. З метою встановлення об'єктивних критеріїв нормального морфогенезу щоки у плодів людини в динаміці пренатального розвитку досліджено зразки гістологічних зрізів м'яких тканин щічної ділянки 12 препаратів плодів віком від 5 до 7 місяців внутрішньоутробного розвитку (220,0–340,0 мм тім'яно-п'яткової довжини). Використовували класичні методи морфологічного дослідження та методи поляризаційної мікроскопії (стокс-поляриметрія, поляриметрія та фазометрія мікроскопічних зображень). Методи поляризаційної мікроскопії тонких зрізів біологічних тканин ґрунтуються на їх властивості поглинати та розсіювати як звичайне світло, так і лазерне випромінювання, що дозволяє отримати результати завдяки формуванню математичної моделі біологічних структур. Оптична схема реалізації методу загальновідома й наведена в [7].

В якості об'єктів дослідження використовувалися оптично тонкі (геометрична товщина $l=15\text{ мкм}-35\text{ мкм}$, коефіцієнт ослаблення $\tau < 0,1$) шари гістологічних зрізів м'яких тканин ЩД плодів різного віку внутрішньоутробного розвитку. Визначалися параметричні показники поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень та їхня порівняльна характеристика у віковій динаміці.

Усі дослідження проведено з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), наказу МОУ України № 690 від 23.09.2009 р. та згідно методичних рекомендацій [3].

Ключові слова: щічна ділянка, поляризаційна мікроскопія, пренатальний розвиток, плід.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

На порівняно невеликій за площею щічній ділянці (ЩД) зосереджені численні анатомічні структури, серед яких термінальний відділ привушної протоки, жирове тіло Біша, кровоносні та лімфатичні судини, нерви. У ЩД міститься також велика маса жирової клітковини, яка в науковій літературі отримала назву щічного клітковинного простору [5, 6]. Низка захворювань, які виникають у щічній ділянці, мають зазвичай ембріональний, інфекційний чи неопластичний етіопатогенез.

Сучасні дані про онтогенез, варіантну та перинатальну анатомію [1], просторово-часові зміни мікроскопічної будови м'яких тканин ЩД є морфологічним підґрунтям для розуміння етіопатогенезу природжених вад та набутих захворювань обличчя [9]. Їхня профілактика, рання діагностика та хірургічна корекція потребують нових науково обґрунтованих морфологічних даних [2]. Актуальним завданням морфологічної науки в цьому напрямку, на нашу думку, може бути комплексне вивчення розвитку та становлення топографії структур ЩД у пренатальному онтогенезі. Для визначення морфофункціональних особливостей біологічних тканин сьогодні є цікавими можливості використання методів лазерної поляриметрії, а одержана нова інформація є базисом для подальшого розвитку дослідження структури складних біологічних об'єктів [4]. Використання лазерної поляриметрії в ембріологічних дослідженнях перебуває на етапі становлення й апробації діагностики оптико-морфологічних властивостей зображення мап біологічних тканин.

Мета дослідження. Встановити об'єктивні критерії нормального морфогенезу щоки у плодів людини в динаміці внутрішньоутробного розвитку з використанням морфологічного дослідження та методів поляризаційної мікроскопії тонких зрізів біологічних тканин, оцінити їхню інформативність.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проведено на 12 препаратах плодів віком від 5 до 7 місяців внутрішньоутробного розвитку (220,0–340,0 мм тім'яно-п'яткової довжини) з використанням традиційних морфологічних (препарування, морфометрія, мікро- та макроскопія) та мікрополяризаційних методів (стокс-поляриметрія, поляриметрія та фазометрія мікроскопічних зображень). Методи поляризаційної мікроскопії тонких зрізів біологічних тканин ґрунтуються на їх властивості поглинати та розсіювати як звичайне світло, так і лазерне випромінювання, що дозволяє отримати результати завдяки формуванню математичної моделі біологічних структур. Оптична схема реалізації методу загальновідома й наведена в [7].

В якості об'єктів дослідження використовувалися оптично тонкі (геометрична товщина $l=15\text{ мкм}-35\text{ мкм}$, коефіцієнт ослаблення $\tau < 0,1$) шари гістологічних зрізів м'яких тканин ЩД плодів різного віку внутрішньоутробного розвитку. Визначалися параметричні показники поляризаційно-неоднорідних мікроскопічних зображень та їхня порівняльна характеристика у віковій динаміці.

Усі дослідження проведено з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), наказу МОУ України № 690 від 23.09.2009 р. та згідно методичних рекомендацій [3].

Результати дослідження та їх обговорення

Пошарова будова м'яких тканин ЩД включає шкіру, підшкірно-жирову клітковину, поверхневу фасцію лица, жирове тіло щоки, мімичні м'язи, глибоку фасцію лица (привушно-жувальну фасцію), слизову оболонку. Особливістю будови ЩД є наявність великої маси жирової клітковини. Щоки є першою ділянкою, де на лиці після 14 тижнів внутрішньоутробного розвитку (ВУР) з'являється жирова тканина. Пренатальне формування жиру може бути поділено на декілька морфогенетичних стадій від моменту появи мезенхімальних структур, які складаються із аморфної основної речовини та сполучнотканинних волокон, до диференціювання їх у сформовані жирові часточки, оточені мезенхімою, що поступово ущільнюється, утворюючи внутрішньочасточкові перегородки [8].

З фізичної точки зору більшість гістологічних зрізів біологічних тканин людини являють собою оптично-анізотропні недеполяризуючі середовища, які змінюють значення азимуту та еліптичності поляризації, і формують таким чином поляризаційно-неоднорідні мікроскопічні зображення.

На серії рис. 1 – рис. 3 приведені мікроскопічні зображення гістологічних зрізів м'яких тканин ЩД, одержані для різних орієнтацій площини пропускання поляризаційного фільтру.

Порівняльний аналіз поляризаційно-відфільтрованих мікроскопічних зображень, які наведені на серії рис. 1 – рис. 3 не виявив суттєвих відмінностей між ними. Даний факт вказує на переважно аморфну побудову речовини всіх зразків, що узгоджується із особливостями морфологічної будови щічної ділянки – наявністю великої кількості жирової тканини та збільшенням її маси у віковій динаміці. Кількісно це підтверджує і вимірювання координатних розподілів параметрів вектора Стокса у межах таких зображень гістологічних зрізів – рис. 4 – рис. 6.

Як відображено на рис. 4 – рис. 6, серія вектор-параметричних мікроскопічних зображень зразків також дуже близька за координатними розподілами власних значень. Вихо-

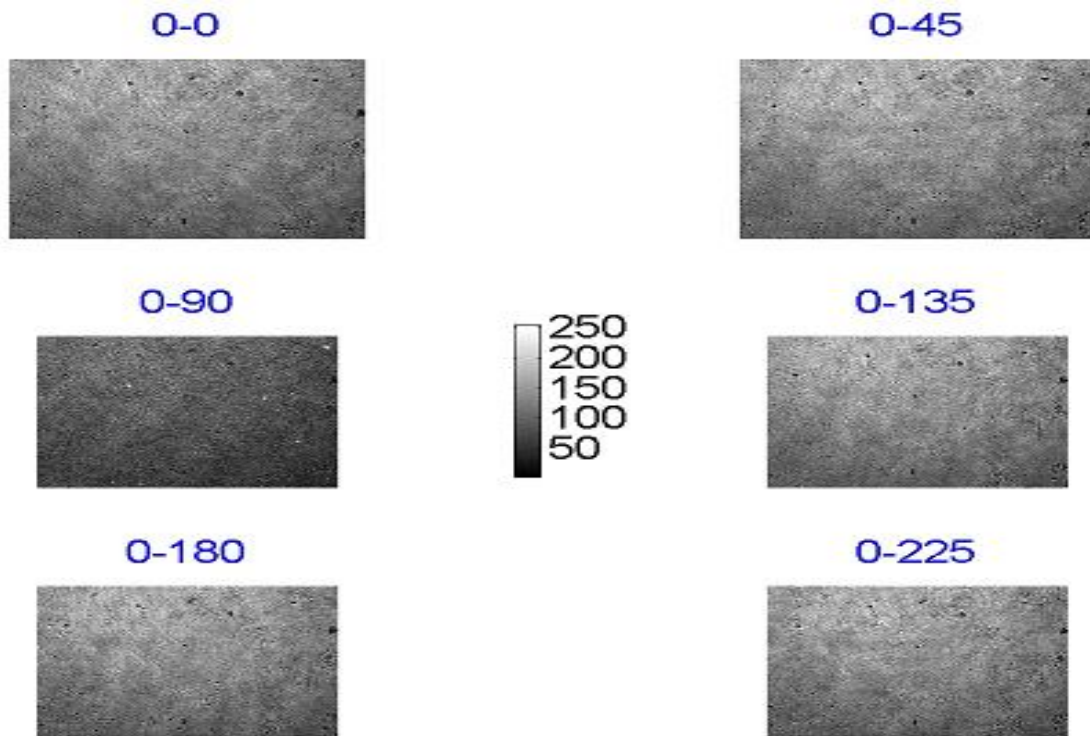


Рис. 1. Поляризаційно-відфільтровані мікроскопічні зображення гістологічного зрізу м'яких тканин ЩД плода людини 5 місяців ВУР (245 мм ТПД)

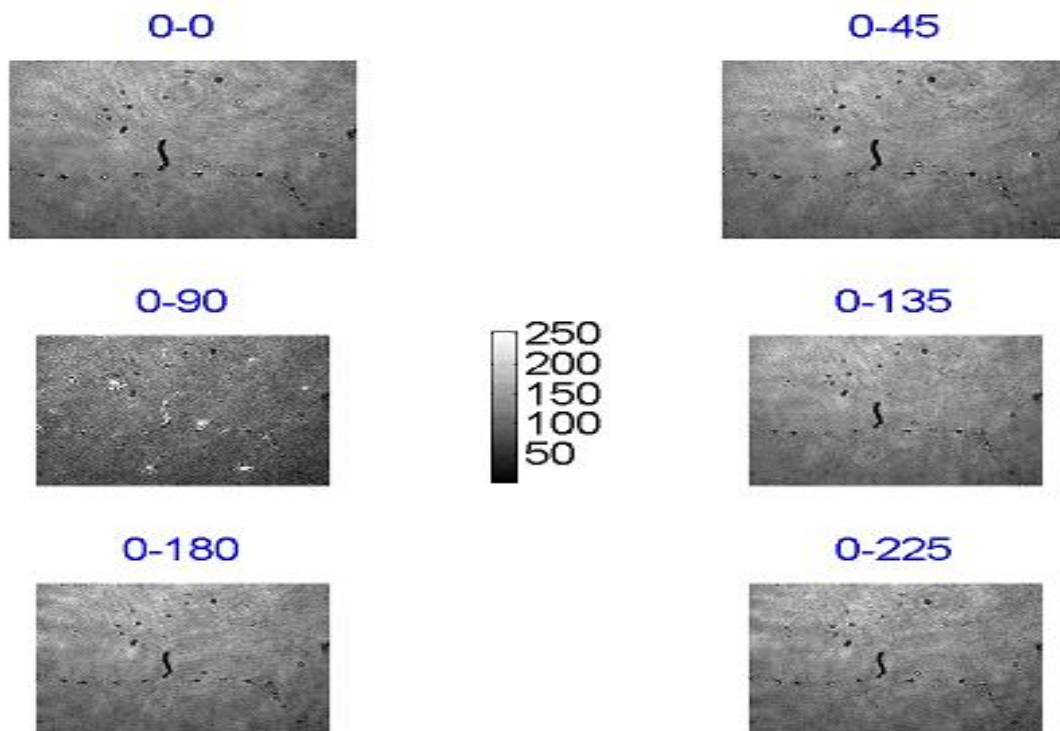


Рис. 2. Поляризаційно-відфільтровані мікроскопічні зображення гістологічного зрізу м'яких тканин ЩД плода людини 6 місяців ВУР (280 мм ТПД)

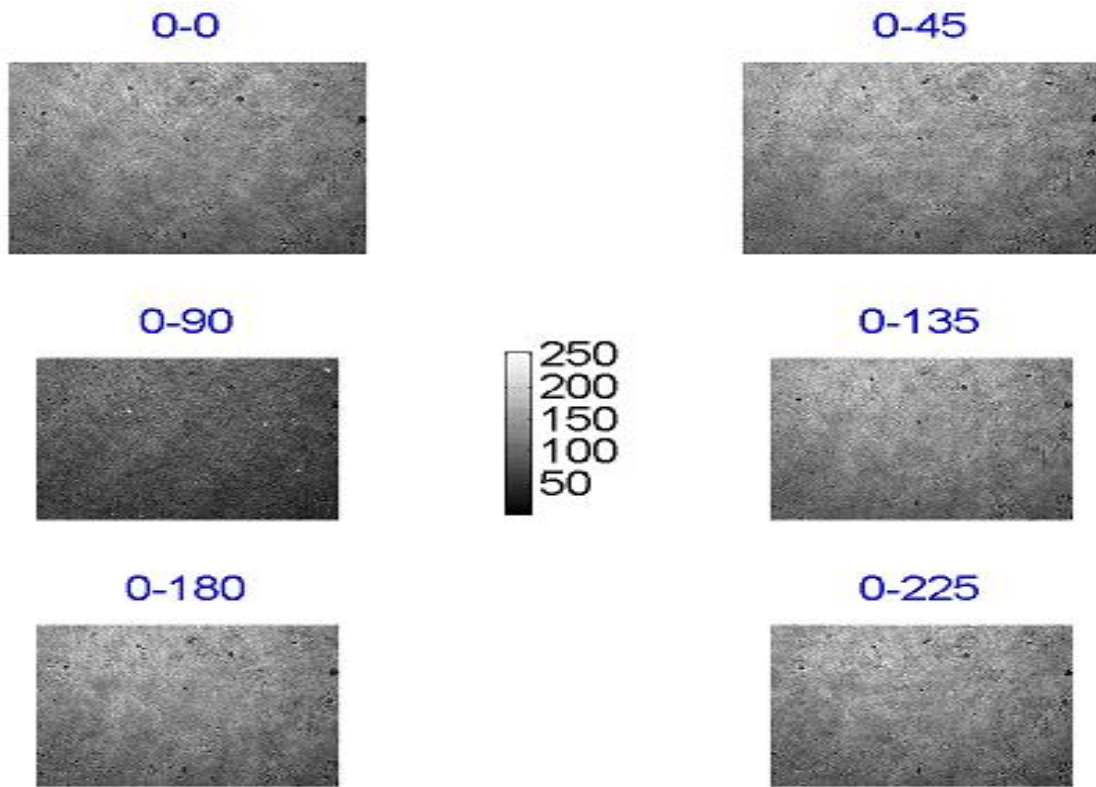


Рис. 3. Поляризаційно-відфільтровані мікроскопічні зображення гістологічного зрізу м'яких тканин ЩД плода людини 7 місяців ВУР (320 мм ТПД)

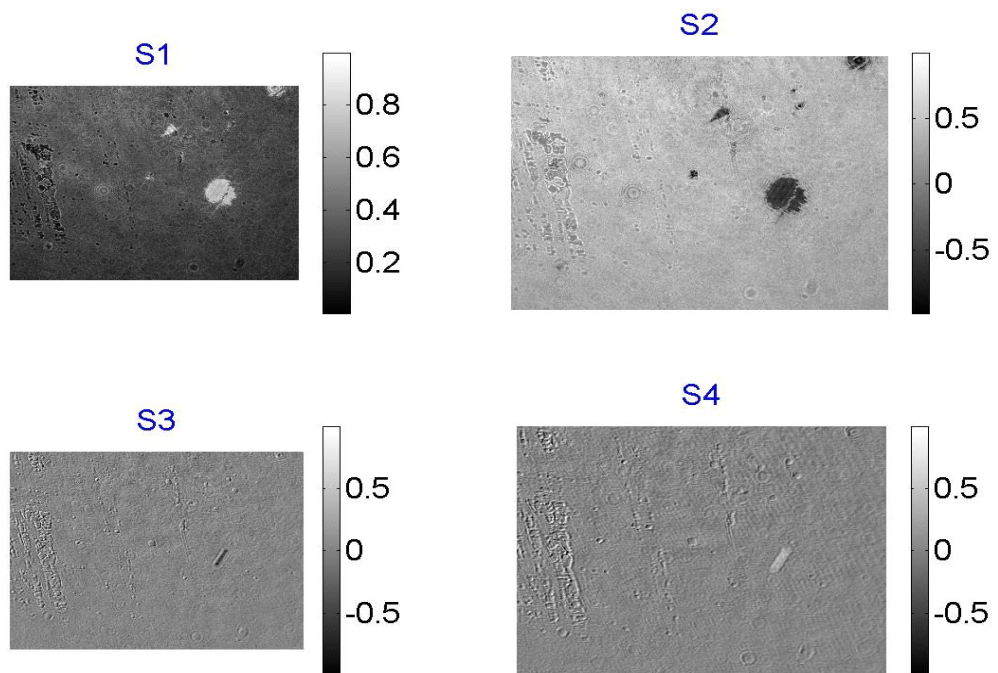


Рис. 4. Координатні розподіли параметрів вектора Стокса мікроскопічного зображення гістологічного зрізу м'яких тканин ЩД плода людини 5 місяців ВУР (245 мм ТПД)

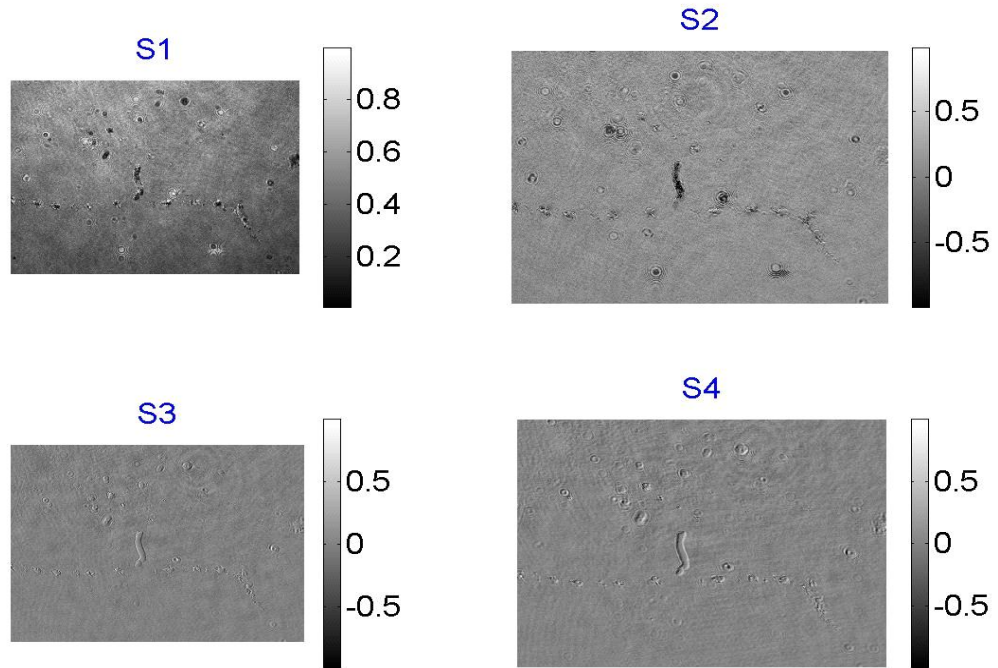


Рис. 5. Координатні розподіли параметрів вектора Стокса мікроскопічного зображення гістологічного зрізу м'яких тканин ЩД плода людини 6 місяців ВУР (280 мм ТПД)

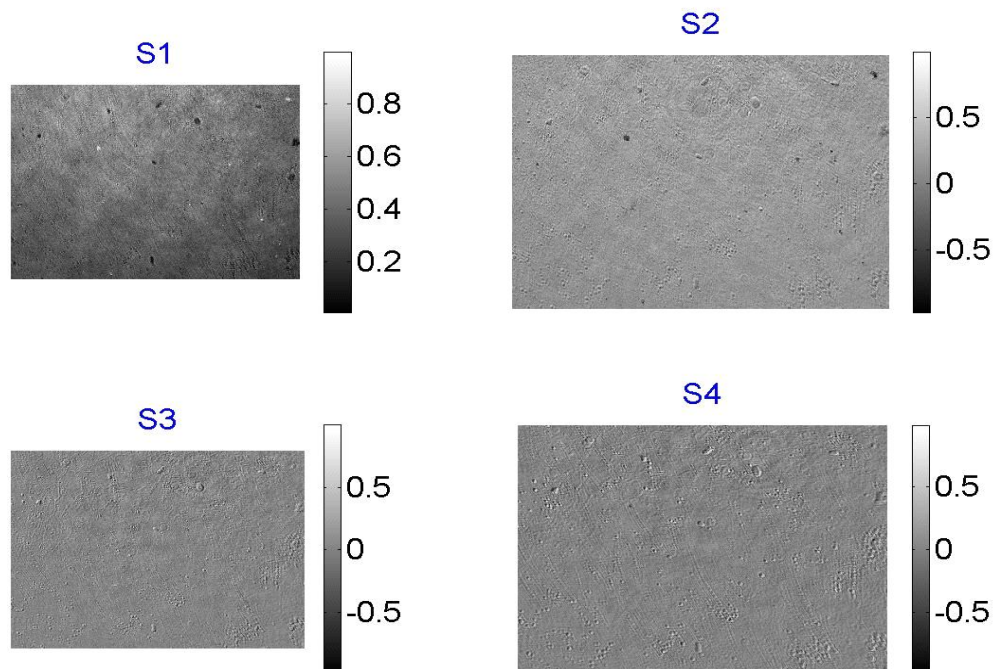


Рис. 6. Координатні розподіли параметрів вектора Стокса мікроскопічного зображення гістологічного зрізу м'яких тканин ЩД плода людини 7 місяців ВУР (320 мм ТПД)

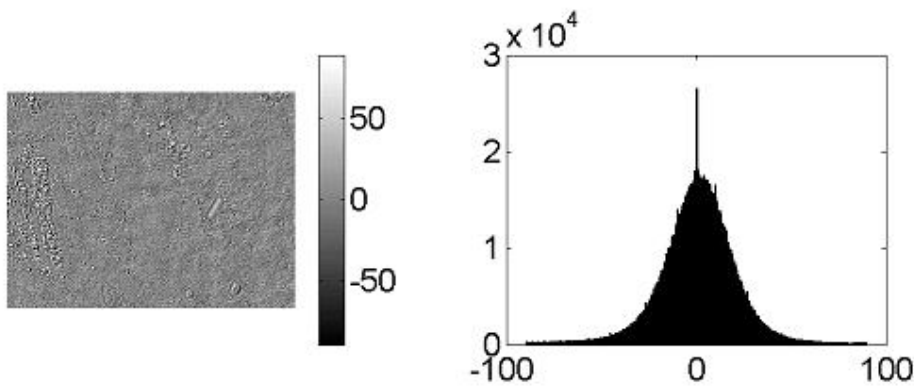


Рис. 7. Фазова мапа мікроскопічного зображення гістологічного зрізу м'яких тканин ЩД плода людини 5 місяців ВУР (245 мм ТПД)

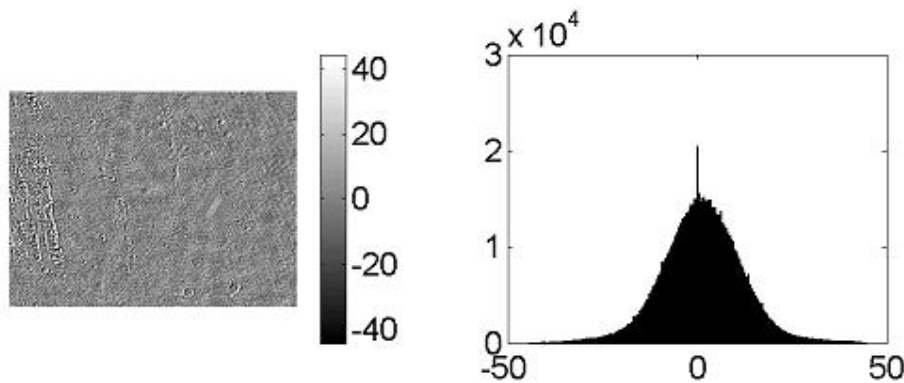


Рис. 8. Фазова мапа мікроскопічного зображення гістологічного зрізу м'яких тканин ЩД плода людини 7 місяців ВУР (320мм ТПД)

дячи з цього стає зрозумілим мала чутливість методів традиційної лазерної поляриметрії до диференціації часових змін морфологічної будови матеріалу з ЩД лица у плодів різного терміну внутрішньоутробного розвитку.

Тому надалі ми використали більш чутливий метод – фазометрію полікристалічної будови речовини таких об'єктів.

На рис. 7 і рис. 8 представлені фазові мапи та гістограми розподілів їх значень у площині мікроскопічних зображень гістологічних зрізів.

Порівняльний аналіз одержаних даних виявив виражені відмінності між статистичними розподілами фаз у площині мікроскопічних зображень гістологічних зрізів препаратів плодів різного віку. Для зображення гістологічного зрізу м'яких тканин ЩД плода людини 7 місяців ВУР (320 мм ТПД), порівняно із препаратами ЩД плода людини 5 місяців ВУР (245 мм ТПД), притаманний дещо більший діапазон зміни значень фази, що можна пов'язати з вищим ступенем кристалізації, а отже зростанням структурованості морфологічної будови його речовини, зумовленої формуванням жирових часточок, розвитком м'язових волокон.

Висновки

Методами поляризаційної мікроскопії виявлений взаємозв'язок між морфологічними особливостями м'яких тканин щічної ділянки у різні терміни внутрішньоутробного розвитку плода людини та оптико-геометричними параметрами досліджуваних у поляризаційних зображеннях гістологічних зрізів. Отримані результати можуть бути застосовані для встановлення параметрів фізіологічної норми, диференційної діагностики патологічних процесів і відхилень від нормального розвитку.

Перспективи подальших досліджень вбачаємо у дослідженні тканин щічної ділянки плода людини із вико-

ристанням більш чутливих методів лазерної поляриметрії (фазометрія полікристалічної будови речовини таких об'єктів з наступним вейвлет-аналізом фазових мап мікроскопічних зображень) для поляризаційного картографування багатошарових біологічних тканин у динаміці пренатального періоду, що може бути застосовано в лабораторіях скринінгу біологічних тканин для оцінки ступеня дозрівання плода та прогнозування життєздатності організму, раннього виявлення морфологічних передумов відхилень від нормального розвитку та виникнення вад лица.

Література

1. Ахтемійчук Ю.Т. Дослідження в галузі перинатальної анатомії – основа перинатальної медицини / Ю.Т.Ахтемійчук // Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології: матеріали 3-го Наукового симпозиуму (Чернівці, 20 квітня 2012 р.) / за редакцією Ю.Т. Ахтемійчука. – 2012. – С. 7–16.

2. Лаврів Л. П. Морфологічні передумови розвитку природжених вад привушної слинної залози / Л. П. Лаврів, І. Ю. Олійник // Клін. анат. та операт. хірургія. – 2012. – Т. 11, № 1 (39). – С. 91–94.

3. Мішалов В. Д. Дотримання етичних та законодавчих норм вимог при виконанні наукових морфологічних досліджень / В.Д. Мішалов, Ю.Б. Чайковський, І. В. Твердохліб. – Київ, 2007. – 76 с.

4. Ушенко О. Г. Двохвимірна стохастична поляриметрія багатошарових біологічних тканин / О. Г. Ушенко, О. Г. Придід // Основи лазерної поляриметрії. – Част. 1: Біологічні тканини людини: монографія / О. Г. Ушенко, Ю. О. Ушенко, Ю. Я. Томка [та ін.]; під. ред. О. Г. Ушенко. – Чернівці: ЧНУ, 2010. – С. 348–423.

5. A review of the gross anatomy, functions, pathology, and clinical uses of the buccal fat pad / Saad Yousuf, R. Shane Tubbs, Christopher T. Wartmann [et al.] // Surg. Radiol. Anat. – 2010. – Vol. 32. – P.427–436.

6. CT and MR Imaging of the Buccal Space: Normal Anatomy and Abnormalities / H.-C. Kim, M. H. Han, M. H. Moon [et al.] // Chang Korean J. Radiol. – 2005. – Vol. 6, № 1. – P. 22–30.

7. Mueller-Matrix Diagnostics of Optical Properties of Polycrystalline Networks of Human Blood Plasma / Yu. A. Ushenko, V. A. Ushenko, A. V. Dubolazov [et al.] // Optics and Spectroscopy. – 2012. – Vol. 112, № 6. – P. 884–892.

8. Poissonnet C. Growth and development of human adipose tissue during early gestation / C. M. Poissonnet, A. R. Burdi, F. L. Bookstein // Early Human Development. – 1983. – Vol. 8. – P. 1–11.

9. Seelagan D. A pictorial review of the anatomy and common pathology of the buccal space: "The overlooked space" / D. Seelagan, S.E. Noujaim // Applied Radiology. – 2007. – Vol. 36, № 1. – P. 20–28.

Марценяк І.В.¹, Олійник І.Ю.¹, Ушенко А.Г.²

Исследования мягких тканей щечной области человека в пренатальном онтогенезе методами лазерной поляриметрии

¹ – ВГУЗ "Буковинский государственный медицинский университет", г. Черновцы, Украина;

² – Черновицкий национальный университет им. Ю. Федьковича, г. Черновцы, Украина, e-mail: imarcenyak@mail.ru, olijnyk@list.ru

Резюме. С целью установления объективных критериев нормального морфогенеза щеки у плодов человека в динамике пренатального развития исследованы образцы гистологических срезов мягких тканей щечной области 12 препаратов плодов в возрасте от 5 до 7 месяцев внутриутробного развития (220,0–340,0 мм теменно-пяточной длины). Использовали классические методы морфологического исследования и методы поляризационной микроскопии (стокс-поляриметрия, поляриметрия и фазометрия микроскопических изображений) тонких срезов биологических

тканей, представляючих собою с физической точки зрения оптически анизотропные недеполяризующие среды, которые могут рассеивать или поглощать лазерное излучение, и формируют таким образом поляризационно-неоднородные микроскопические изображения. В пределах щечной области сосредоточены многочисленные анатомические структуры, среди которых терминальный отдел околоушного протока, жировое тело Биша, кровеносные и лимфатические сосуды, нервы. Особенностью строения комплекса мягких тканей щечной области является наличие большой массы жировой клетчатки, пренатальное формирование которой имеет фазный характер. Сравнительный анализ поляризационно-отфильтрованных микроскопических изображений гистологических срезов мягких тканей щечной области указывает на преимущественно аморфное построение ее вещества. Полученные данные выявили выраженные различия между статистическими распределениями фаз в плоскости микроскопических изображений гистологических срезов щечной области плодов разного возраста, а также увеличение диапазона изменения значений фазы в возрастной динамике развития, что можно связать с возрастанием степени кристаллизации вещества и структурированности морфологического строения тканей области.

Ключевые слова: щечная область, поляризационная микроскопия, пренатальное развитие, плод.

I.V. Marceniak¹, I.Yu. Olijnyk¹, O.H. Ushenko²

Investigation of Soft Tissues of the Buccal Area in Human Prenatal Ontogenesis by Laser Polarimetry Methods

¹ – Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

² – Yurii Fedkovych Chernivtsi National University, Chernivtsi, Ukraine, E-mail: imarcenyak@mail.ru, olijnyk@list.ru

Abstract. In order to establish the objective criteria of normal cheek

morphogenesis of human fetuses in the dynamics of prenatal development, samples of the histological sections of soft tissues of the buccal region of 12 fetuses preparations at the age from 5 to 7 months of fetal development (220.0-340.0 mm crown-rump length) have been investigated. The classical methods of morphological study and methods of polarization microscopy (stokes-polarimetry, polarimetry and microscopic image phasometry) of thin sections of biological tissues have been used. From a physical point of view these tissues are optically anisotropic non-depolarizing medium that can dissipate or absorb laser radiation, and, thus, form inhomogeneous polarization microscopic images. Within the buccal region many anatomical structures, including the terminal part of the parotid duct, the Bisha's fat pad, blood and lymph vessels, and nerves are concentrated. The structure peculiarity of the complex of soft tissues of the buccal region is the large mass of adipose tissue, which prenatal formation has phase character. Comparative analysis of polarization-filtered microscopic images of the histological sections of soft tissues of the buccal region indicates mainly the amorphous construction of its material. The obtained data have showed marked differences between statistical phase distribution in the plane of microscopic images of the histological sections of the fetuses buccal region of all ages, as well as increasing the range of phase value changes in the age dynamics that can be associated with an increase in the degree of material crystallization and structuring of morphological tissues structure of the region.

Keywords: buccal region, polarization microscopy, prenatal development, fetus.

Надійшла 15.02.2016 року.

УДК: 616.379-008.-64-02:616.316.1 +616.1]-092.9

Матешук-Вацеба Л.Р., Блицак Н.Б.

Морфометричний аналіз ангіоархітектоніки піднижньощелепної слинної залози в динаміці перебігу експериментального цукрового діабету

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, м. Львів

E-mail: lvatseba@gmail.com

Резюме. Стаття присвячена проблемі перебудови ангіоархітектоніки піднижньощелепної слинної залози за умов експериментального цукрового діабету. Дослідження проведено на 32 статевозрілих білих щурах-самцях, віком 5,0–7,0 місяців і масою тіла 180–220 г. Застосовано метод ін'єкції судинного русла, морфометричний та статистичний методи дослідження. Морфометричний аналіз ангіоархітектоніки піднижньощелепної слинної залози дозволив оцінити ступінь її васкуляризації впродовж восьмитижневого перебігу стрептозотоніндукованого цукрового діабету. Результати дослідження свідчать про зв'язок між глибиною перебудови ангіоархітектоніки піднижньощелепної слинної залози та змінами морфометричних показників її гемомікроциркуляторного русла внаслідок цукрового діабету. Дані проведеного дослідження можуть бути використані у практичній медицині при діагностиці та лікуванні патології слинних залоз, зумовленої цукровим діабетом.

Ключові слова: піднижньощелепна слинна залоза, гемомікроциркуляторне русло, цукровий діабет, експеримент.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Цукровий діабет на сьогодні займає чільне місце серед актуальних проблем сучасної медицини, оскільки залишається базовою патологією для розвитку складних супутніх захворювань та ускладнень, ранньої інвалідності та смертності [1–5, 12]. У 2000 році кількість хворих на діабет становила 175 млн., згідно з прогнозом міжнародного інституту діабету (Мельбурн) та інших дослідників на 2030 рік ця цифра

складатиме 300 млн. чол. [10]. Щодо України, захворюваність на цукровий діабет, як і в інших країнах світу, щорічно зростає [6].

Проблема морфологічних змін слинних залоз при різних патологічних станах, в тому числі й при цукровому діабеті до сьогодні залишається відкритою та важливою як для морфологів так і для практикуючих стоматологів і гастроентерологів [7–9, 11].

Мета дослідження

Провести морфометричний аналіз стану ангіоархітектоніки піднижньощелепної слинної залози за умов стрептозотоніндукованого цукрового діабету в експерименті.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження виконані на 32 статевозрілих білих щурах-самцях, віком 5,0–7,5 місяців і масою тіла 180–220 г. Контролем слугували білі щури, яким вводили 0,9 % розчин хлориду натрію. При виконанні роботи використовувався метод ін'єкції судинного русла білого щура тушкою. Просвітлення зрізів слинної залози з ін'єктованим судинним руслом проводили у гліцерині з 96 % етиловим спиртом у співвідношенні 1:1 упродовж 3 діб, потім у чистому гліцерині. Для проведення морфометричного аналізу використовували наступні кількісні критерії: діаметр мікросудин, щільність пакування обмінних судин, показник трофічної активності тканини. Терміном “обмінні судини” позначали гемокапіляри. Статистичне опрацювання показників морфометричного