

© Марценяк І. В., *Ушенко О. Г., Олійник І. Ю.

УДК 616-073.55:576.72

Марценяк І. В., *Ушенко О. Г., Олійник І. Ю.

ПОЛЯРИЗАЦІЙНА ХАРАКТЕРИСТИКА МІКРОСКОПІЧНОЇ БУДОВИ ЖИРОВОГО ТІЛА ЩОКИ ПЛОДІВ ЛЮДИНИ

ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет» (м. Чернівці)

***ЧНУ імені Юрія Федьковича (м. Чернівці)**

imarcenyak@mail.ru

olijnyk@list.ru

Дослідження проведено в рамках виконання фрагменту планової комплексної міжкафедральної НДР кафедри анатомії людини імені М. Г. Туркевича, кафедри анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» «Особливості морфогенезу та топографії систем і органів у пренатальному та постнатальному періодах онтогенезу людини», номер державної реєстрації 0115U002769.

Вступ. Морфологічні науки – ембріологія, анатомія, гістологія – вивчають будову та форму тіла людини на різних рівнях структурної організації, у різні вікові періоди, та потребують новітніх об'єктивних методик, які у комплексі з класичними дозволяють ефективніше виявляти варіанти будови, патологічні відхилення від норми вже на ранніх етапах онтогенезу. Вчасне виявлення та хірургічна корекція патологічних змін організму сприяють покращенню рівня здоров'я, зменшенню показників захворюваності та смертності серед населення [3]. Дослідження закономірностей вікових змін органів та тканин людини з використанням новітніх методів морфологічного дослідження дозволяє виявити морфологічні передумови виникнення набутої та вродженої патології [7]. Перспективним методом у морфології є поляризаційна мікроскопія (ПМ) [1, 6]. Перебуваючи на етапі становлення та апробації в ембріології, ця методика діагностики оптико-морфологічних властивостей зображення мап біологічних тканин потребує комплексних досліджень, уточнення поляризаційних критеріїв норми та патології. Методи ПМ 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. Це дає можливість об'єктивно оцінити параметричні ознаки норми та патології, зміни середовища в часовій динаміці, виключити чи звести до мінімуму суб'єктивізм у інтерпретації даних. Однією з анатомічних структур щічної ділянки, яка досить швидко впродовж онтогенезу змінює свою форму та будову, має важливе функціональне значення та синтопічний вплив на суміжні структури, є жирове тіло щоки (ЖТЩ) [5]. У даному дослідженні ми розглядали його як модель для вивчення

основних етапів розвитку та становлення анатомічної будови з використанням ПМ у комплексі методів морфологічного дослідження.

Мета дослідження – встановити закономірності динаміки анатомічних та мікрополяризаційних перетворень жирового тіла щоки у плодовому періоді онтогенезу людини.

Об'єкт і методи дослідження. Досліджено 25 препаратів плодів віком від 5 до 10 місяців внутрішньоутробного розвитку (220,0-480,0 мм тім'яно-п'яtkової довжини) методами препарування, морфометрії, мікроскопічного та мікрополяризаційного дослідження. Досліджувалися препарати ЖТЩ у віковій динаміці жирової тканини та порівняльна характеристика ПМ параметрів ЖТЩ у певні періоди внутрішньоутробного розвитку.

Проведені наукові дослідження відповідають морально-етичним принципам Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964-2000 рр.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997 р.), відповідним положенням ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983 р.) та закону України.

До переліку методів ПМ відносяться: 1. *Стокс-поляриметрія* мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин, яка включає вимірювання координатних у межах світлочутливої площадки ($m \times n = 1280 \times 960$ пікселів) цифрової камери параметрів вектора Стокса $S_i(m \times n)$ мікроскопічного зображення гістологічного зрізу [2, 4, 6]. Такі координатні розподіли вичерпно повно характеризують поляризаційно-неоднорідні мікроскопічні зображення і називаються стокс-параметричними зображеннями. 2. *Поляриметрія* мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин – експериментальне вимірювання координатних розподілів значень азимута $\alpha(m \times n)$ та еліптичності $\beta(m \times n)$ поляризації у пікселях цифрового мікроскопічного зображення. Одержані розподіли $\alpha(m \times n)$ та $\beta(m \times n)$ називають поляризаційними мапами [4]. 3. *Фазометрія* мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин – вимірювання розподілу фазових зсувів $\phi(m \times n)$ між ортогональними складовими амплітуди лазерного випромінювання у межах сукупності пікселів світло-

чутливої площадки цифрової камери. Координатні розподіли $\phi(m \times n)$ у лазерній поляриметрії одержали назву фазових мап [8]. Досліджували оптично тонкі (геометрична товщина $l = 15 \text{ мкм} - 35 \text{ мкм}$, коефіцієнт ослаблення $\tau < 0,1$ шари гістологічних зрізів ЖТЩ. Статистичний аналіз поляризаційних, мюллер-матричних, поляризаційно-кореляційних та аутофлуоресцентних мап оптично анізотропних мереж біологічних кристалів дозволив установити найбільш чутливі до змін оптичної анізотропії об'єктивні параметри – статистичні моменти 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли значень вектор-параметричних і мюллер-матричних зображень, та кореляційний момент 4-го порядку автокореляційних функцій таких розподілів.

Результати досліджень та їх обговорення.

Аналіз отриманих результатів показав, що морфогенез жирового тіла відбувається безперервно з моменту закладки після 14 тижня внутрішньоутробного розвитку, але носить фазний характер. Першою ознакою появи жирового тіла можна вважати скупчення мезенхімальних клітин, які поступово ущільнюються та диференціюються в зірчасті преадипоцити. Скупчення мезенхімальних клітин, які на ранніх етапах не містять жирових включень, мають чітку прив'язку до розвитку судинних структур і візуалізуються як мезенхімальні часточки. Пізніше в цитоплазмі клітин з'являються жирові вакуолі, які збільшуються як в розмірі, так і кількісно. Щільно розташовані навколо капілярів жирові клітини формують жирові часточки. На заключному етапі утворюються міжчасточкові перегородки, що сприяє формуванню строми, швидкому ущільненню та прогресивному потовщенню жирового тіла.

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

Методи традиційної лазерної поляриметрії матеріалу з щільної ділянки лица у плодів різного терміну внутрішньоутробного розвитку не виявили суттєвих відмінностей між зразками, що вказує на переважно аморфну побудову їх речовини. Більш чутливий метод – фазометрія полікристалічної будови речовини таких об'єктів, який виявив збільшення рівня кристалізації тканини ЖТЩ у хронологічній (5-10 місяців) динаміці. Встановлена закономірність може бути пов'язана із тим, що поряд із розупорядкованими жировими клітинами формуються більш масштабні скупчення жирових клітин, які групуються в основному в упорядковані кластери. На пізніх етапах розвитку частка таких кристалітних кластерів зростає і жирова клітковина набуває більш яскравих кристалітних властивостей.

Результати обчислення, які характеризують координатні розподіли фаз

Таблиця 1.

Статистичні моменти $Z_{i=1;2;3;4}$, що характеризують координатні розподіли фазових мап $\delta(m \times n)$ серії гістологічних зрізів ЖТЩ плодів

| Параметри | 5 міс. | 6 міс. | 7 міс. | 8 міс. | 10 міс. |
|-----------|--------|--------|--------|--------|---------|
| Z_1 | 0,06 | 0,09 | 0,13 | 0,16 | 0,23 |
| Z_2 | 0,14 | 0,17 | 0,21 | 0,24 | 0,33 |
| Z_3 | 0,11 | 0,16 | 0,24 | 0,29 | 0,39 |
| Z_4 | 0,46 | 0,37 | 0,28 | 0,23 | 0,14 |

$\delta(m \times n)$ у точках поляризаційно-відфільтрованих цифрових мікроскопічних зображень гістологічних зрізів ЖТЩ плодів 5-10 місяців наведено у **табл. 1**.

Найбільш чутливими до зміни ступеня впорядкованості речовини ЖТЩ плодів різного терміну внутрішньоутробного розвитку є всі статистичні моменти 1-го – 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли фазових зсувів поляризаційно-відфільтрованих цифрових мікроскопічних зображень препаратів ЖТЩ.

Порівняльний аналіз результатів дослідження мап вейвлет-коефіцієнтів координатних розподілів фаз поляризаційно-відфільтрованих мікроскопічних зображень гістологічних зрізів тканини ЖТЩ виявив виразні відмінності між ними на рівні малих масштабів α_{\min} МНАТ-функції.

На даний факт вказує більша глибина модуляції «дрібномасштабних» залежностей $C_{a=15,b}$, які характеризують ступінь кристалізації. Це можна пов'язати з тим, що морфологічні зміни ЖТЩ відбуваються не на великомасштабному, а на дрібномасштабному рівні. Кількісно це виявляється у зростанні дисперсії $M_{i=2}(C_{a=15,b}(\Delta f))^\uparrow$ та статистичних моментів вищих порядків $M_{i=3;4}(C_{a=15,b}(\Delta f))^\uparrow$ – **табл. 2**.

Таблиця 2.

Статистичні моменти 1-го – 4-го порядків, які характеризують розподіли $C_{a=15,b}$ і $C_{a55,b}$ вейвлет-коефіцієнтів фазових мап гістологічних зрізів ЖТЩ

| α | 5 міс. | 6 міс. | 8 міс. | 10 міс. |
|----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| $\alpha_{\min} = 15$ | $0,05 \pm 0,009$ | $0,11 \pm 0,010$ | $0,19 \pm 0,001$ | $0,28 \pm 0,002$ |
| | $0,08 \pm 0,052$ | $0,19 \pm 0,065$ | $0,26 \pm 0,038$ | $0,35 \pm 0,051$ |
| | $0,21 \pm 0,041$ | $0,57 \pm 0,054$ | $0,81 \pm 0,032$ | $1,22 \pm 0,240$ |
| | $0,28 \pm 0,029$ | $0,52 \pm 0,034$ | $0,97 \pm 0,130$ | $1,39 \pm 0,170$ |
| $\alpha_{\max} = 55$ | $0,04 \pm 0,007$ | $0,05 \pm 0,001$ | $0,07 \pm 0,006$ | $0,09 \pm 0,008$ |
| | $0,11 \pm 0,036$ | $0,15 \pm 0,043$ | $0,22 \pm 0,031$ | $0,29 \pm 0,044$ |
| | $0,54 \pm 0,072$ | $0,43 \pm 0,094$ | $0,31 \pm 0,018$ | $0,19 \pm 0,028$ |
| | $0,97 \pm 0,120$ | $0,78 \pm 0,150$ | $0,59 \pm 0,110$ | $0,36 \pm 0,140$ |

Метод вейвлет-аналізу розподілів фаз мікроскопічних зображень гістологічних зрізів ЖТЦ у 2-3 рази більш чутливий, ніж пряма фазометрія, що суттєво розширює функціональні можливості часової диференціації таких об'єктів.

Висновок. Засоби багатовимірної поляризаційної мікроскопії є інформативними для аналізу морфологічної структури жирового тіла щоки. Встановлено взаємозв'язок між морфологічними особливостями жирового тіла у плодовому періоді онтогенезу людини та оптико-геометричними

параметрами досліджуваних у поляризаційних зображеннях гістологічних зрізів.

Перспективи подальших досліджень

Вважаємо перспективним подальше дослідження фазової структури мікроскопічних зображень м'яких тканин щічної ділянки (наприклад, підшкірної жирової клітковини) з використанням методів лазерної поляриметрії для встановлення змін морфологічної та полікристалічної їхньої будови у динаміці плодового періоду пренатального онтогенезу людини.

Література

1. Олійник І. Ю. Обґрунтування доцільності лазерного поляриметричного дослідження біологічних тканин у пренатальному онтогенезі щічної ділянки / І. Ю. Олійник, І. В. Марценяк, О. Г. Ушенко // Природничі читання: II-а науково-практична конференція БДМУ з міжнародною участю (Чернівці, 14-17 травня 2015 р.): матеріали конф. – Чернівці: Медуніверситет, 2015. – С. 233-238.
2. Поляризационно-фазовая визуализация и обработка когерентных изображений фрактальных структур биотканей / О.В. Ангельский, А. Г. Ушенко, А. Д. Архелюк [и др.] // ЖПС. – 2000. – Т. 67. – № 5. – С. 664-667.
3. Природжені вади розвитку людини. Загальні положення тератології: навчальний посібник / Т. М. Бойчук, І. Ю. Олійник, О.П. Антонюк, В. С. Пикалюк. – Чернівці, Медуніверситет, 2015. – 361 с.
4. Ушенко Ю. А. Вейвлет-анализ поляризационной структуры полей биоспектров статистических и мультифрактальных фазово-неоднородных слоев / Ю. А. Ушенко, Д. Н. Бурковец // Оптика и спектроскопия. – 2002. – Т. 93. – № 6. – С. 1040-1047.
5. A review of the gross anatomy, functions, pathology, and clinical uses of the buccal fat pad / S. Yousuf, R. S. Tubbs, C. T. Wartmann [et al.] // Surg. Radiol. Anat. – 2010. – Vol. 32. – № 5. – P. 427-436.
6. Diagnostics of Structure and Physiological State of Birefringent Biological Tissues: Statistical, Correlation and Topological Approaches / Y. A. Ushenko, T. M. Boychuk, V. T. Bachynsky, O. P. Mincer // Handbook of Coherent-Domain Optical Methods: Biomedical Diagnostics, Environmental Monitoring, and Materials Science. – 2013. – P. 107-148.
7. Kahn J. L. Anatomy and imaging of the deep fat of the face / J. L. Kahn, R. Wolfram-Gabel, P. Bourjat // Clinical Anatomy. – 2000. – Vol. 13. – № 5. – P. 373-382.
8. Ushenko Yu. A. A New Method of Mueller-Matrix Diagnostics and Differentiation of Early Oncological Changes of the Skin Derma / Yu. A. Ushenko, A. P. Peresunko, B. Adel Baku // Advances in Optical Technologies. – 2010. – P. 1-9.

УДК 616-073.55:576.72

ПОЛЯРИЗАЦІЙНА ХАРАКТЕРИСТИКА МІКРОСКОПІЧНОЇ БУДОВИ ЖИРОВОГО ТІЛА ЩОКИ ПЛОДІВ ЛЮДИНИ

Марценяк І. В., Ушенко О. Г., Олійник І. Ю.

Резюме. З метою визначення закономірностей динаміки анатомічних та мікрополяризаційних перетворень жирового тіла щоки у плодовому періоді онтогенезу людини методами препарування, морфометрії, мікроскопічного та мікрополяризаційного дослідження вивчено 25 препаратів плодів віком від 5 до 10 місяців внутрішньоутробного розвитку (220,0-480,0 мм тім'яно-п'яtkової довжини). Результати традиційної лазерної поляриметрії матеріалу з щічної ділянки лиць у плодів вказують на переважно аморфну побудову її речовини. Фазометрія полікристалічної будови речовини жирового тіла щоки виявила зростання рівня кристалізації його тканини з віком плодів. Метод вейвлет-аналізу розподілів фаз мікроскопічних зображень гістологічних зрізів жирового тіла щоки у 2-3 рази чутливіший, ніж пряма фазометрія, що суттєво розширює функціональні можливості часової диференціації таких об'єктів. Засоби багатовимірної поляризаційної мікроскопії є інформативними для аналізу морфологічної структури жирового тіла щоки. Встановлено взаємозв'язок між морфологічними особливостями жирового тіла щоки у плодовому періоді онтогенезу людини та оптико-геометричними параметрами досліджуваних поляризаційних зображень гістологічних зрізів.

Ключові слова: лазерна поляриметрія, жирове тіло щоки, плід, людина.

УДК 616-073.55:576.72

ПОЛЯРИЗАЦИОННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОСКОПИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ЖИРОВОГО ТЕЛА ЩЕКИ У ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА

Марценяк І. В., Ушенко О. Г., Олійник І. Ю.

Резюме. С целью определения закономерностей динамики анатомических и микрополяризационных преобразований жирового тела щеки в плодном периоде онтогенеза человека методами препарирования, морфометрии, микроскопического и микрополяризационного исследования изучены 25 препаратов плодов в возрасте от 5 до 10 месяцев внутриутробного развития (220,0-480,0 мм теменно-пяtkочной длины). Результаты традиционной лазерной поляриметрии материала из щечной области лица у плодов указывают на преимущественно аморфное построение ее вещества. Фазометрия поликристаллического строения вещества жирового тела щеки обнаружила увеличение уровня кристаллизации ткани жирового тела щеки с возрастом плодов. Метод вейвлет-анализа распределений фаз микроскопических изображений

гистологических срезов жирового тела щеки в 2-3 раза чувствительнее, чем прямая фазометрия, что существенно расширяет функциональные возможности временной дифференциации таких объектов. Средства многомерной поляризационной микроскопии являются информативными для анализа морфологической структуры жирового тела щеки. Установлена взаимосвязь между морфологическими особенностями жирового тела в плодном периоде онтогенеза человека и оптико-геометрическими параметрами исследуемых в поляризационных изображениях гистологических срезов.

Ключевые слова: лазерная поляриметрия, жировое тело щеки, плод, человек.

UDC 616-073.55: 576.72

THE POLARIZATIONAL CHARACTERISTICS OF THE MICROSCOPIC STRUCTURE OF THE BUCCAL FAT PAD IN HUMAN FETUSES

Martseniak I. V., Ushenko O. G., Olijnyk I. Yu.

Abstract. A polarizational microscopy is a promising method in the morphology. Being on the stage of formation and testing in embryological studies, this technique of diagnosing optical-and-morphological properties of the map images of biological tissues requires complex studies, a polarizational criteria refinement of the norm and pathology. Methods of polarizational microscopy of thin sections of biological tissue are based on their ability to absorb and dissipate both ordinary light and laser light, that allows obtaining results due to the formation of a mathematical model of the biological structures. This makes it possible to evaluate objectively the parametric features of the norm and pathology, environmental changes through the time, eliminate or minimize subjectivity in the data interpretation.

Objective is to set dynamics patterns of anatomical and micropolarizational changes of a buccal fat pad in the fetal period of human ontogenesis.

Material and methods of research. To achieve the objectives of the research with the help of methods of thin preparation, morphometry, microscopic and micropolarizational study 25 fetuses between the ages of 5 and 10 months of fetal development (220,0-480,0 mm crown-rump length) have been examined.

Results. From a physical point of view, the majority of histological sections of biological tissues are optically anisotropic non-depolarizing images, which change the value of the azimuth and the ellipticity of polarization, and thus form the polarizational-and-inhomogeneous microscopic images.

Results of traditional laser polarimetry of the material from the buccal region in fetuses point to predominantly amorphous structure of its substance. Phasometry of polycrystalline structure of the buccal fat pad substance found a higher level of the buccal fat pad crystallization, which increases with the age of a fetus. Method of wavelet analysis of microscopic images phase distribution of histological sections of the buccal fat pad is 2-3 times more sensitive than the direct phasometry, which significantly expands the functionality of the time differentiation of such objects.

Conclusions. Multidimensional polarizational microscopy tools are informative for the analysis of morphological structure of the buccal fat pad. The relationship between the morphologic characteristics of the fat pad in the fetus period of human ontogenesis and optical-and-geometrical parameters, investigated in the polarization images of histological sections, has been set.

Keywords: laser polarimetry, buccal fat pad, fetus, human.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 18.01.2016 року