

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ФАЗОВИХ МАП МІКРОСКОПІЧНИХ ЗОБРАЖЕНЬ ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗРІЗІВ ЩІЧНОЇ ДІЛЯНКИ ПЛОДА В ДИНАМІЦІ МОРФОГЕНЕЗУ

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

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича (м. Чернівці)

imarcenyak@mail.ru

olijnyk@list.ru

Дане дослідження є фрагментом 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», № державної реєстрації 0115U002769.

Вступ. На сучасному етапі розвитку при вивченні анатомії людини морфологічна наука потребує високоточної інформації про об'єкт дослідження, що можливо за використання новітніх методів дослідження, інформаційних технологій у медицині. Морфологи все частіше співпрацюють з науковцями та клініцистами різного профілю та спрямування наукових інтересів. Такий підхід має інтегруючий характер, створює передумови до особливого стану наукового мислення, яке можна назвати «взаємодоповнюваність» або «міжпредметність» [5].

Для визначення морфофункціональних особливостей біологічних тканин за різних умов сьогодні є цікавими та актуальними можливості методів лазерної поляриметрії [3,4]. З фізичної точки зору більшість гістологічних зрізів біологічних тканин людини являють собою оптично-анізотропні недеполяризуючі середовища, які можуть або поглинати або розсіювати лазерне випромінювання як і звичайне світло.

Активно вивчаються можливості використання методів лазерної поляриметрії для дослідження морфогенезу та вікових змін біологічних тканин, у томі числі в ембріології та морфології індивідуального розвитку [6]. Ряд авторів стверджують, що лазерну поляризаційно-чутливу діагностику зображень мап біологічних тканин доцільно й перспективно використовувати для аналізу анатомічних структур у пренатальному періоді онтогенезу людини в нормі, патології та у динаміці розвитку [1]. А вже вирішення проблеми зниження перинатальної захворюваності і смертності неможливе без глибокого та детального вивчення процесів ембріогенезу і раннього фетогенезу, які багато в чому визначають подальший розвиток плоду і новонародженого.

Щічна ділянка являє собою комплекс м'яких тканин, особливістю є велика кількість жирової клітковини у структурі, яка в науковій літературі отримала назву щічного клітковинного простору. Щоки є першою ділянкою лица, де з'являється жирова тканина в період внутрішньоутробного розвитку (ВУР) плода. У процесі пренатального формування жиру можна виділити декілька морфогенетичних періодів [7].

До 14-го тижня вагітності майбутній жир представлений недиференційованою сполучною тканиною, яка складається з аморфної основної речовини та сполучнотканинних волокон. Формування жирових часточок або лобулогенез починається наприкінці 1-го періоду і триває упродовж усіх наступних періодів адипогенезу. Залежно від того, де вони сформовані, можна визначити три типи часточок. На 15-у тижні ВУР визначаються первинні жирові структури у глибоко розміщеній ділянці щоки, з яких пізніше формується глибоко розміщене жирове тіло щоки. З початку 17-го тижня поверхнево у підшкірній тканині з'являються вторинні часточки, які формують неперервний підшкірний шар жиру. Третинні часточки розміщуються глибоко навколо цибулин волоссяних фолікулів.

Жирове тіло щоки Біша – особливий вид жирової тканини, яка відрізняється від підшкірної жирової клітковини морфологічною будовою [7].

Мета дослідження. Виявити взаємозв'язок критеріїв нормального морфогенезу м'яких тканин щічної ділянки з використанням методів морфологічного дослідження та лазерної поляриметрії з проведенням аналізу фазової структури мікроскопічних зображень слабо анізотропних (аморфних) біологічних шарів.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на 35 плодах людини (з них 17 – чоловічої статі та 18 – жіночої) 225,0-490,0 мм тім'яно-п'яtkової довжини (ТПД); 5-10 місяців ВУР. Анамнестично причини, які призвели до перинатальної смертності, не були пов'язані з патологією органів голови та, зокрема, щічної ділянки.

Застосовано комплекс методів морфологічного дослідження (антропометрія, морфометрія, макроскопія, мікроскопія серій послідовних гістологічних

зрізів), статистичний аналіз, метод лазерної поляриметрії – фазометрію мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин. Фазометрія – вимірювання розподілу фазових зсувів $\varphi(m \cdot n)$ між ортогональними складовими амплітуди лазерного випромінювання у межах сукупності пікселів світлочутливої площадки цифрової камери. Координатні розподіли $\varphi(m \cdot n)$ у лазерній поляриметрії одержали назву фазових мап [9].

Експериментальні дослідження координатних розподілів фазових зсувів мікроскопічних зображень гістологічних зрізів жирового тіла щоти (ЖТЩ) та підшкірної жирової клітковини (ПЖК) з щічної ділянки виконувалися у розташуваних стоках-поляриметра за стандартною оптичною схемою [8]. Опромінювання дослідних зразків проводилося за допомогою синього лазера з довжиною хвилі $\lambda_2 = 0,405 \mu\text{m}$.

Обчислення значень фазових зсувів у кожному пікселі цифрової камери проводилося за алгоритмами, а статистичний аналіз розподілів фаз у площині поляризаційно-відфільтрованого мікроскопічного зображення здійснювався з використанням співвідношень, які детально описані О.Г. Ушенко (2010) [3].

Досліджували оптично тонкі (геометрична товщина $l = 15 \mu\text{m} - 35 \mu\text{m}$, коефіцієнт ослаблення $\tau < 0,1$) шари гістологічних зрізів ЖТЩ та ПЖК.

Усі роботи виконувалися 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 МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. та згідно методичних рекомендацій [2].

Результати досліджень та їх обговорення. На рис. 1-4 наведено серію координатних мап (фрагменти вгорі) і гістограм (фрагменти внизу) розподілів фазових зсувів у площині мікроскопічних зображень гістологічних зрізів ЖТЩ та ПЖК з щічної ділянки плодів людини у різні терміни ВУР.

Аналіз експериментальних результатів дослідження статистичної структури координатних розподілів фаз $\delta(m \cdot n)$ у площині сукупності пікселів цифрової камери, що реєструє мікроскопічні зображення, які характеризують ступінь структурованості (кристалізації) речовини гістологічних зрізів ЖТЩ (А) та ПЖК щічної ділянки (Б) у різні терміни ВУР плода виявив широкий діапазон $(-0,5\pi < \delta < 0,5\pi)$ зміни випадкових значень δ у межах площини поляризаційно-відфільтрованих мікроскопічних зображень (див. рис. 1-4, верхній і нижній фрагменти). Найбільш імовірними у координатних розподілах фазових зсувів $\delta(m \cdot n)$ цифрових поляризаційно-відфільтрованих мікроскопічних зображень є зна-

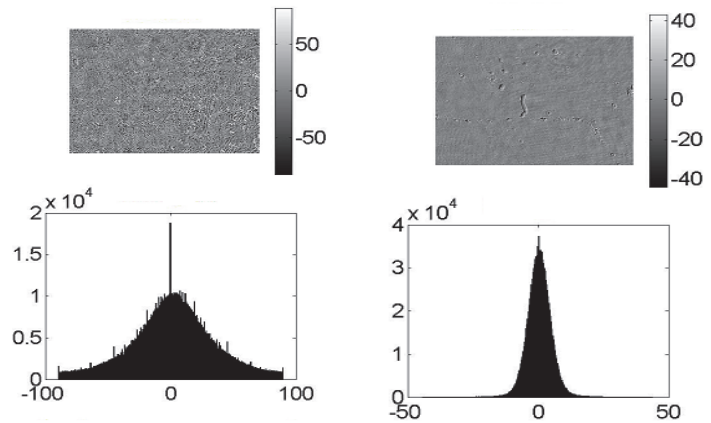


Рис. 1. Двовимірна фазова мапа і гістограма розподілу гістологічного зрізу ЖТЩ (А) та ПЖК (Б) щічної ділянки плода людини 5 місяців ВУР (245 мм ТПД).

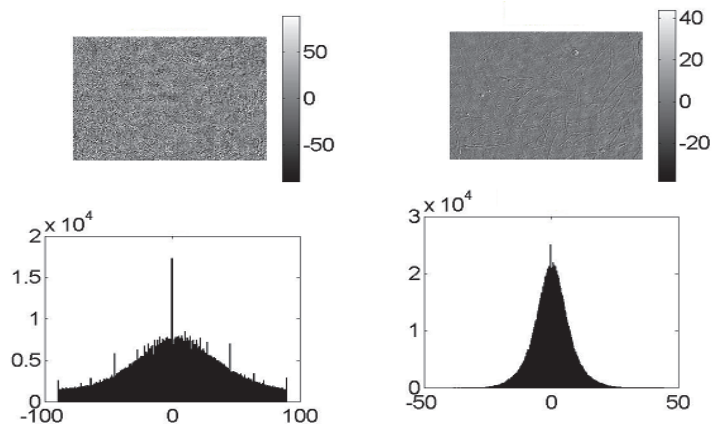


Рис. 2. Двовимірна фазова мапа і гістограма розподілу гістологічного зрізу ЖТЩ (А) та ПЖК (Б) щічної ділянки плода людини 6 місяців ВУР (280 мм ТПД).

чення $\delta = 0$. Іншими словами, для гістологічних зрізів як ЖТЩ, так і ПЖК найбільш характерною є розупорядкована аморфна структура. Проте, хронологічна (5-10 місяці ВУР) динаміка зміни (кристалізації речовини) такої морфологічної структури відрізняється. Ці відмінності у процесі морфологічної еволюції ЖТЩ та ПЖК у межах статистичного підходу ілюструють гістограми розподілів випадкових значень фазових зсувів δ , які наведено на нижніх фрагментах серії рис. 1-4.

Найбільш імовірні значення гістограм $N(\delta)$ поляризаційно-відфільтрованих цифрових мікроскопічних зображень зразків гістологічних зрізів обох біологічних тканин локалізовані у ділянці $\delta = 0$. Це вказує на переважну аморфну побудову речовини.

Проте, розкид випадкових значень фазових зсувів δ від їх середнього значення $\delta \rightarrow 0$, який визначається дисперсією $Z_2(\delta)$ і характеризує полікристалічну складову морфологічної будови ПЖК як іншу, порівняно з ЖТЩ.

Нижче наведені хронологічні залежності значень статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли фаз, визначених для серії гістологічних зрізів ЖТЩ та ПЖК плодів різного терміну ВУР (табл.).

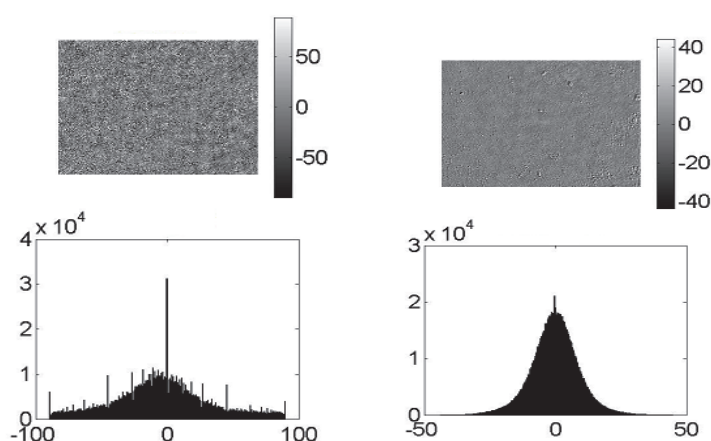


Рис. 3. Двовимірна фазова мапа і гістограма розподілу гістологічного зрізу ЖТЩ (А) та ПЖК (Б) щічної ділянки плода людини 8 місяців ВУР (380 мм ТПД).

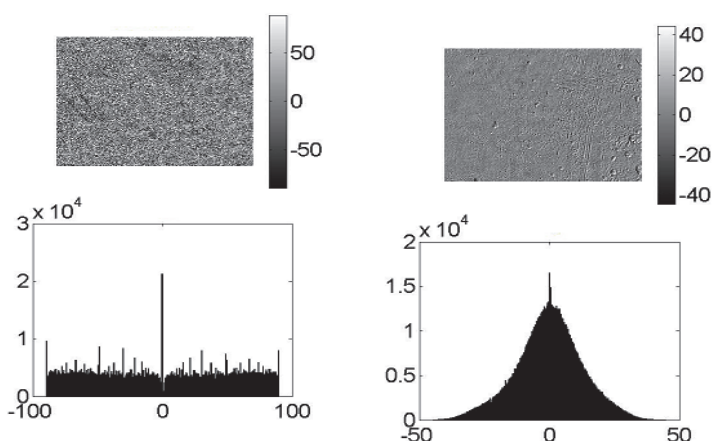


Рис. 4. Двовимірна фазова мапа і гістограма розподілу гістологічного зрізу ЖТЩ (А) та ПЖК (Б) щічної ділянки плода людини 10 місяців ВУР (490 мм ТПД).

Співставлення хронологічних даних в обох випадках виявило зростання величини дисперсії ($Z_2 \uparrow$) на більш пізніх етапах розвитку плода.

Установлений аналітичний об'єктивний сценарій зміни набору статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують двовимірні розподіли фазових мап $\delta(m \cdot n)$ залежно від часової зміни морфологічного стану структур щічної ділянки, які досліджувалися, за аналізом проявів кристалізації (структурованості) її речовини – ($Z_1 \uparrow$), ($Z_2 \uparrow$), ($Z_3 \uparrow$), ($Z_4 \downarrow$). Проте, як свідчать дані таблиці, часова динаміка змін у обох об'єктів – різна.

Порівняльний аналіз одержаних даних про трансформацію статистичних розподілів випадкових фазових зсувів мікроскопічних зображень гістологічних зрізів структур щічної ділянки плода в динаміці розвитку також виявив відмінності в діагностичній чутливості статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують ступінь кристалізації морфологічної побудови речовини ЖТЩ та ПЖК.

Установлено наступні часові кількісні відмінності між значеннями статистичних моментів $\bar{Z}(q)$, які характеризують фазові мапи, для розглянутого часо-

вого (5 місяців – 10 місяців ВУР) інтервалу розвитку ЖТЩ (А) та ПЖК щічної ділянки (Б) плодів людини:

А	Б
$\begin{cases} \Delta Z_1(S_2) = 3,9; \\ \Delta Z_2(S_2) = 2,1; \\ \Delta Z_3(S_3) = 3,17; \\ \Delta Z_4(S_4) = 2,85. \end{cases}$	$\begin{cases} \Delta Z_1(S_2) = 3,2; \\ \Delta Z_2(S_2) = 2,2; \\ \Delta Z_3(S_3) = 2,05; \\ \Delta Z_4(S_4) = 2,4. \end{cases}$

Найбільш чутливими до зміни ступеня впорядкованості речовини плоду різного періоду розвитку виявилися всі статистичні моменти 1-го – 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли фазових зсувів у поляризаційно-відфільтрованих цифрових мікроскопічних зображеннях відповідних біологічних препаратів щічної ділянки плодів людини.

Порівняльний аналіз результатів дослідження мап вейвлет-коефіцієнтів координатних розподілів фаз поляризаційно-відфільтрованих мікроскопічних зображень гістологічних зрізів ЖТЩ виявив виразні відмінності між ними на рівні малих масштабів a_{\min} МНАТ функції. На даний факт вказує більша глибина модуляції “дрібно-масштабних” залежностей $C_{a=15,b}$, які характеризують ступінь кристалізації.

Даний факт можна пов'язати з тим, що морфологічні зміни ЖТЩ порівняно з ПЖК щічної ділянки плода людини відбуваються не на великомасштабному, а на дрібномасштабному рівні. За рахунок цього зростає глибина модуляції амплітуд вейвлет-коефіцієнтів на малих a_{\min} масштабах сканування вейвлет-функції $\Omega_{a,b}$ фазових мап.

Кількісно це виявляється у зростанні дисперсії $M_{i=2}(C_{a=15,b}(\Delta f))$ та статистичних моментів вищих порядків $M_{i=3,4}(C_{a=15,b}(\Delta f))$ (див. табл.).

Висновки

1. Методи лазерної поляриметрії є інформативними для дослідження фазової структури мікроскопічних зображень слабо анізотропних (аморфних) біологічних шарів у динаміці розвитку, а також виявлення критеріїв нормального морфогенезу структур щічної ділянки плода.

2. Порівняльний аналіз поляризаційно-відфільтрованих мікроскопічних зображень ЖТЩ та ПЖК щічної ділянки показав, що вони відрізняються оптичними властивостями, а отже – структурою жирової тканини та особливостями її морфогенезу в динаміці розвитку плода.

Перспективи подальших досліджень

Вважаємо перспективним подальше дослідження з використанням методів лазерної поляриметрії фазової структури мікроскопічних зображень м'яких тканин інших ділянок тіла людини у динаміці плодового періоду пренатального онтогенезу людини.

Статистичні моменти $Z_{i=1;2;3;4}$, що характеризують координатні розподіли фазових мап $\delta(m \cdot n)$ серії мікроскопічних зображень гістологічних зрізів щічної ділянки плода в різні терміни внутрішньоутробного розвитку

Параметри	Жирове тіло щоки					Підшкірно-жирова клітковина				
	5 міс.	6 міс.	7 міс.	8 міс.	10 міс.	5 міс.	6 міс.	7 міс.	8 міс.	10 міс.
Z_1	0,06	0,09	0,13	0,16	0,23	0,07	0,11	0,15	0,19	0,25
Z_2	0,14	0,17	0,21	0,24	0,33	0,09	0,11	0,14	0,17	0,22
Z_3	0,11	0,16	0,24	0,29	0,39	0,11	0,13	0,18	0,22	0,31
Z_4	0,46	0,37	0,28	0,23	0,14	0,34	0,29	0,25	0,21	0,13

Література

1. Лазерна поляриметрия біологічних тканин / О.Г. Ушенко, Ю.Т. Ахтемійчук, О.П. Антонюк, В.О. Баланецька // *Наук. вісн. Ужгородського університету, серія "Медицина"*. – 2010, вип. 38. – С. 153-161.
2. Мішалов В.Д. Дотримання етичних та законодавчих норм і вимог при виконанні наукових морфологічних досліджень / В.Д. Мішалов, Ю.Б. Чайковський, І.В. Твердохліб. – Київ, 2007. – 76 с.
3. Ушенко О.Г. Двохвимірний стоксполариметрія багатощарових біологічних тканин / О.Г. Ушенко, О.Г. Придій // *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.
4. Ушенко О.Г. Поляризаційна корелометрія біологічних тканин людини / О.Г. Ушенко, В.П. Пішак, О.П. Пересунько, Ю.О. Ушенко. – Чернівці: Рута, 2007. – 606 с.
5. Шахламов В.А. Основные направления развития исследований по экспериментальной гистологии и цитологии в третьем тысячелетии / В.А. Шахламов // *Морфология*. – 2002. – Т. 122, № 5. – С. 15-18.
6. Этинген Л.Е. О перспективах изучения анатомии в XXI веке / Л.Е. Этинген // *Морфология*. – 2003. – Т. 133, № 4. – С. 106.
7. 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.
8. 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, № 3. – P. 884-892.
9. 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. Peresunco, B. Adel Baku // *Advances in Optical Technologies*. – 2010. – P. 1-9.

УДК 616–073.55:576.72

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ФАЗОВИХ МАП МІКРОСКОПІЧНИХ ЗОБРАЖЕНЬ ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗРІЗІВ ЩІЧНОЇ ДІЛЯНКИ ПЛОДА В ДИНАМІЦІ МОРФОГЕНЕЗУ

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

Резюме. За використання методів морфологічного дослідження та лазерної поляриметрії проведено аналіз фазової структури мікроскопічних зображень слабо анізотропних (аморфних) біологічних шарів щічної ділянки 35 плодів людини (з них 17 – чоловічої статі та 18 – жіночої), 225,0-490,0 мм тім'яно-п'яtkової довжини (5-10 місяців внутрішньоутробного розвитку).

Встановлено, що для гістологічних зрізів жирового тіла щоки та підшкірно-жирової клітковини найбільш характерною є розупорядкована аморфна структура. Проте хронологічна динаміка зміни (кристалізація речовини) структури об'єктів дослідження відрізняється: полікристалічна складова морфологічної будови підшкірно-жирової клітковини інша порівняно з жировим тілом щоки. Співставлення хронологічних даних в обох випадках виявило зростання величини дисперсії на більш пізніх етапах розвитку плода, часова динаміка змін у цих об'єктів різна.

Дослідження мап вейвлет-коефіцієнтів координатних розподілів фаз поляризаційно-відфільтрованих мікроскопічних зображень гістологічних зрізів вказують на те, що морфологічні зміни жирового тіла щоки в динаміці розвитку плода відбуваються не на великомасштабному, а на дрібномасштабному рівні на відміну від підшкірно-жирової клітковини щічної ділянки, а отже ці структури відрізняються за морфологічною будовою.

Ключові слова: лазерна поляриметрия, щічна ділянка, плід, людина.

УДК 616–073.55:576.72

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФАЗОВЫХ МАП МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ СРЕЗОВ ЩЕЧНОЙ ОБЛАСТИ ПЛОДА В ДИНАМИКЕ МОРФОГЕНЕЗА

Марценяк И. В., Олейник И. Ю., Ушенко А. Г.

Резюме. С использованием методов морфологического исследования и лазерной поляриметрии проведен анализ фазовой структуры микроскопических изображений слабоанизотропных (аморфных) биологических слоев щечной области 35 плодов человека (из них 17 – мужского пола и 18 – женского), 225,0-490,0 мм теменно-пяточной длины (5-10 месяцев внутриутробного развития).

Установлено, что для гистологических срезов жирового тела щеки и подкожно-жировой клетчатки наиболее характерна разупорядоченная аморфная структура. Однако, хронологическая динамика изменений

(кристаллизации вещества) структуры объектов исследования имеет различия: так, поликристаллическая составляющая морфологического строения подкожно-жировой клетчатки отличается от таковой жирового тела щеки. Сопоставление хронологических данных в обоих случаях показало рост величины дисперсии на более поздних этапах развития плода, а также разную временную динамику изменений этих объектов.

Исследования карт вейвлет-коэффициентов координатных распределений фаз поляризационно-отфильтрованных микроскопических изображений гистологических срезов указывают на то, что морфологические изменения жирового тела щеки в динамике развития плода происходят не на крупномасштабном, а на мелкомасштабном уровне в отличие от подкожно-жировой клетчатки щечной области. Таким образом, эти структуры отличаются своим морфологическим строением.

Ключевые слова: лазерная поляриметрия, щечная область, плод, человек.

UDC 616–073.55:576.72

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF THE PHASE MAP OF THE FETUS BUCCAL REGION HISTOLOGICAL SECTIONS MICROSCOPIC IMAGES IN MORPHOGENETIC DYNAMIC

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

Abstract. Morphologists more often collaborate with scientists and clinicians of different specializations and research interests to obtain precise information about an object during the study of the human being anatomy. That is possible by using the latest research methods and information technologies in medicine.

To determine the morpho- and functional characteristics of biological tissues under different conditions, laser polarimetry methods are an interesting and urgent issue today. From a physical point of view, most of human biological tissues histological sections are optically anisotropic non-depolarizing medium that can either absorb or disperse laser radiation as usual light. Laser polarization sensitive diagnostic of biological tissues maps images can be appropriately and prospectively used for analyzing anatomical structures in the human prenatal ontogenesis under the conditions of the physiological norm, pathology and the development dynamics.

The buccal region is a complex soft tissues. Its feature is a large amount of the subcutaneous fat tissue in its structure, which is called the buccal cellular spatium in the scientific literature. Cheeks are the first part of the face where adipose tissue appears during the fetal development (FD). The process of the fat prenatal formation has a phase character.

Objective. The objective of this study is to identify the interconnection between the criteria of the buccal region soft tissues normal morphogenesis and the usage of morphological research methods and laser polarimetry by analyzing the phase structure of the weakly anisotropic (amorphous) biological layers microscopic images.

Material and methods of research. Using both morphological and laser polarimetry (phase meter) research methods, the structure analysis of the microscopic images of the buccal region weakly anisotropic (amorphous) biological layers in 35 human fetuses (17 of them are male and 18 – female), 225,0–490,0 mm crown-rump length (5–10 months of FD) has been made. Phasemetry is a phase shift distribution $\varphi(m \cdot n)$ measuring between orthogonal components of the laser radiation amplitude within the pixel set of the digital camera photosensitive platform. The coordinate distribution $\varphi(m \cdot n)$ in laser polarimetry is known as phase maps.

Results. It has been established that a disordered amorphous structure is the most typical for the histological sections of the buccal fat pad and subcutaneous fat tissue. However, the chronological dynamics of the objects under the study structure change (substance crystallization) differs: a polycrystalline component of the subcutaneous fat tissue morphological structure alters in comparison with the buccal fat pad. The chronological data correlation in both cases has showed the increase of dispersion values in the later stages of fetal development, the changes in temporal dynamics of these objects are different.

Conclusions. The maps study of the wavelet coefficients of the coordinate phase distribution of the histological sections polarization-filtered microscopic images indicates that the buccal fat pad morphological changes in the fetal development dynamics do not occur on a large scale, but on a small-scale level as opposed to the subcutaneous buccal tissue, and, therefore, these structures differ in morphology.

Keywords: laser polarimetry, buccal region, fetus, human.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 08.03.2016 року