УДК 616-053.15-018:[535.361:535.51]

Собко О. В.

СТОКС ПОЛЯРИМЕТРИЧНЕ КАРТОГРАФУВАННЯ ОРІЄНТАЦІЙНОЇ ПОБУДОВИ РЕЧОВИНИ ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗРІЗІВ ЗОРОВОГО НЕРВА ПЛОДІВ ЛЮДИНИ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Дослідивши особливості орієнтаційної побудови гістологічних зрізів зорового нерва плодів людини 5–10 місяців внутрішньоутробного розвитку методом стокс поляриметричного картографування нами вперше запропоновано метод стокс-поляриметричного статистичного аналізу мікроскопічних зображень їх гістологічних зрізів. Вивчено основні взаємозв'язки між змінами набору статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли орієнтаційного параметру та особливостями часової просторової структуризації речовини зорового нерву плода різного періоду розвитку – найбільш чутливими виявилися статистичні моменти 3-го і 4-го порядків з наступним діапазоном зміни власних значень $\begin{cases} \Delta Z_3(S_3) = 3{,}16; \\ \Delta Z_4(S_4) = 2{,}72. \end{cases}$

Ключові слова: плід, зоровий нерв, очна ямка, стокс-поляриметр, орієнтаційний параметр, вектор Стокса, статистичний момент.

Дослідження є фрагментом планової комплексної міжкафедральної НДР кафедри анатомії людини імені М.Г.Туркевича (зав. – проф. Б.Г.Макар) Буковинського державного медичного університету „Закономірності перинатальної анатомії та ембріотопографії. Визначення статево-вікових особливостей будови і топографоанатомічних взаємовідношень органів та структур у онтогенезі людини", № державної реєстрації 0110U003078.

Вступ

З огляду останніх течій щодо вивчення анатомії на сучасному етапі, перспективним напрямком вказана необхідність і актуальність проведення морфологічних досліджень пренатального та постнатального морфогенезу зі створенням детальної картини про особливості анатомії людини у пренатальному періоді розвитку [1]. Надзвичайно важливою є розробка основ перинатальної анатомії, оскільки проблема зниження перинатальної захворюваності та смертності не може бути остаточно вирішена без поглибленого вивчення періодів ембріогенезу і раннього фетогенезу, які в більшості визначають подальший розвиток плода та новонародженого. Використання сучасних методів дослідження, впровадження інформаційних технологій у медицині суттєво розширює можливості традиційних підходів при вивченні анатомії живої людини, дозволяє отримувати нову та більш детальну інформацію про об'єкт дослідження. Потреба в з'ясуванні морфологічних особливостей розвитку і становлення топографоанатомічних взаємозв'язків структур очноямкової ділянки в пренатальному онтогенезі людини є актуальною як з метою вивчення фізіологічної норми, так і диференційної діагностики патологічних процесів [2]. Дослідивши особливості орієнтаційної побудови гістологічних зрізів параорбітальної клітковини та окорухових м'язів [3, 4], вважаємо за доцільне вивчити особливості орієнтаційної побудови гістологічних зрізів зорових нервів плодів людини методом стокс поляриметричного картографування.

Мета дослідження

Вивчити особливості орієнтаційної побудови гістологічних зрізів зорового нерва у плодів 5–10 місяців внутрішньоутробного розвитку (ВУР).

Матеріали і методи дослідження

Дослідження проведено на 30 плодах людини (згідно з періодизацією Г.А. Шмідта, 1972 [5]) віком 5–10 місяців ВУР 136,0–375,0 мм тім'яно-куприкової довжини (ТКД) із музею препаратів кафедри анатомії людини імені М.Г. Туркевича Буковинського державного медичного університету та особисто набраного матеріалу відповідно двосторонньої Угоди про наукову співпрацю (2013) з вивченням плодів масою понад 500,0 г безпосередньо в Чернівецькій обласній комунальній медичній установі "Патологоанатомічне бюро". Забір матеріалу 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 МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. та згідно методичних рекомендацій [6].

У нашій роботі ми скористалися наступним алгоритмом досліджень. Для описання топографічної структури класичних мікроскопічних зображень ми використали поляризоване лазерне випромінювання з наступним обчисленням набору параметрів математичного вектора Стокса, який найбільш інформаційно повно характеризує орієнтаційну та полікристалічну побудову біологічних препаратів [7–10]. Для об'єктивної характеристики координатних розподілів у площині біологічного препарату параметрів вектора Стокса обчислювалися за стандартною програмою MATLAB 6 статистичні моменти 1-го – 4-го порядків. Серед набору параметрів вектора Стокса ми обрали координатний розподіл значень другого параметру вектора Стокса (S_2), який у точках мікроскопічного зображення біологічного препарату несе найбільш повну інформацію про орієнтаційну побудову його речовини. Значення

$S_2 = \pm 1$ відповідають максимальному ступеню впорядкованості. Значення $S_2 = 0$ відповідають максимальному ступеню розупорядкованості фібрилярної структури. Надалі параметр S_2 будемо називати "орієнтаційним параметром" морфологічної побудови біологічного препарату.

Вимірювання координатних розподілів (двовимірні масиви значень у площині зразків) параметрів вектора Стокса виконувалося в розташуванні (рис. 1) стандартного стокс поляриметра [10–13].

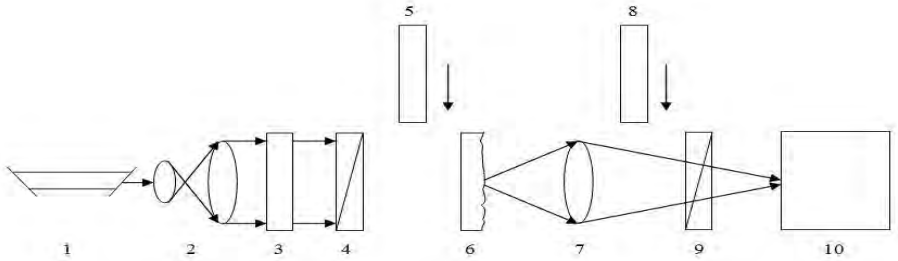

Рис. 1. Оптична схема стокс поляриметра. Пояснення у тексті.

Опромінювання зразків 6 проводилося паралельними (Ш= $2\times10^3\,\mu m$) слабко інтенсивними (W=5,0 mW) пучками He-Ne ($\lambda_1 = 0.6328\mu m$) і He-Cd ($\lambda_2 = 0.405\mu m$) лазерів 1. Поляризаційний опромінювач складався з чвертьхвильової пластинки 3 та поляризатора 4. Зображення зразків 6 за допомогою поляризаційного мікрооб'єктиву 7 (Nikon CFI Achromat P, фокусна відстань – 30 мм, апертура – 0.1, збільшення – 4^x) проектувалося у площину світлочутливої площинки CCD-камери 10 (The Imaging Source DMK 41AU02.AS, monochrome 1/2" CCD, Sony ICX205AL (progressive scan); роздільна здатність – $m\times n$ = 1280x960; розмір світлочутливої площинки – 7600x6200мкм; чутливість – 0.05; динамічний діапазон – 8 bit; SNR – 9 bit, відхилення фоточутливої характеристики від лінійної не більше 15%). Поляризаційний аналіз зображень зразків 6 відбувався за допомогою чвертьхвильової пластинки 8 та поляризатора 9. Обчислення орієнтаційного параметру S_2 у межах кожного пікселя цифрової камери 10 відбувалось за допомогою формули

$$S_2 = I_0 - I_{90}. \qquad (1)$$

Тут $I_{0;90}$ - інтенсивності перетвореного об'єктом випромінювання, що пройшло крізь лінійний поляризатор 9 з кутом повороту площини пропускання 9 $\Theta = 0^0;90^0$. У якості основного аналітичного інструменту для оцінювання розподілів орієнтаційного параметру $S_2(m\times n)$ використовувалися статистичні моменти першого (Z_1), другого (Z_2), третього (Z_3) і четвертого (Z_4) порядків, які обчислювалися за такими алгоритмами [10]

$$Z_1 = \frac{1}{N}\sum_{j=1}^{N} q_j;$$

$$Z_2 = \sqrt{\frac{1}{N}\sum_{j=1}^{N}\left(q^2\right)_j};$$

$$Z_3 = \frac{1}{Z_2^3}\frac{1}{N}\sum_{j=1}^{N}\left(q^3\right)_j;$$

$$Z_4 = \frac{1}{Z_2^4}\frac{1}{N}\sum_{j=1}^{N}\left(q^4\right)_j, \qquad (2)$$

де N - кількість елементів дискретизації, що визначається числом пікселів світлочутливої площадки CCD-камери. Під статистичним моментом першого порядку будемо розуміти середнє значення випадкових величин координатних розподілів параметрів вектора Стокса. Під дисперсією (статистичний момент другого порядку) випадкової величини будемо розуміти міру розкиду даної випадкової величини, тобто її відхилення від математичного очікування. Асиметрією називають величину (статистичний момент третього порядку), яка характеризує відхилення від нормального розподілу випадкової величини Під ексцесом (статистичний момент четвертого порядку) будемо розуміти міру гостроти "піку" розподілу випадкової величини.

Результати та їх обговорення

На рис. 2 – рис. 4 наведено серію координатних дво- (фрагменти (1)) та тривимірних (фрагменти (2)) розподілів і гістограм (фрагменти (3)) розподілів орієнтаційного параметру S_2 гістологічного зрізу зорового нерва. У табл. наведені хронологічні залежності значень статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли орієнтаційного параметру S_2, визначеного для серії гістологічних зрізів зорового нерва плодів різного періоду розвитку.

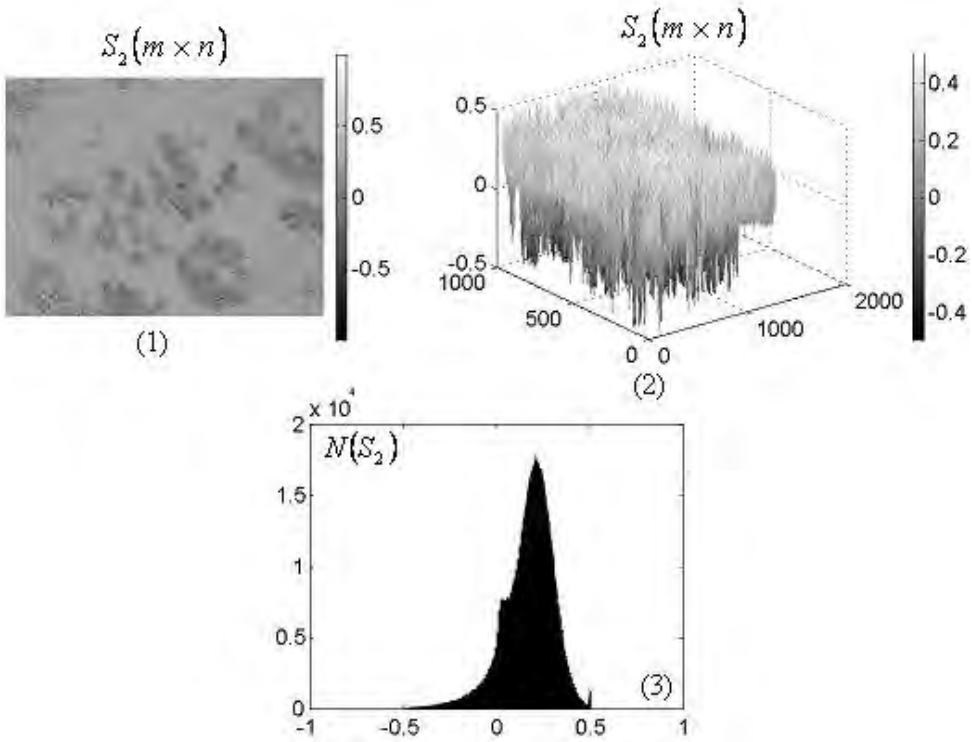

Рис. 2. Дво- (фрагмент (1)) та тривимірні (фрагмент (2)) розподіли і гістограма (фрагмент (3)) розподілів орієнтаційного параметру S_2 гістологічних зрізів зорового нерва (плоди 5 місяців ВУР). Пояснення у тексті

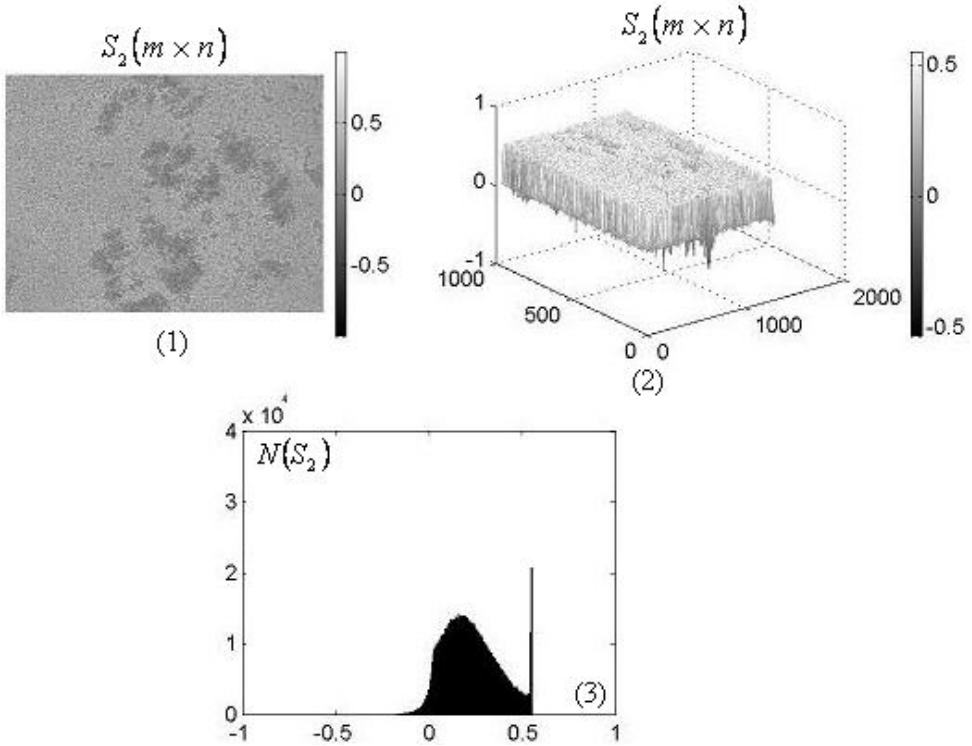

Рис. 3. Дво- (фрагмент (1)) та тривимірні (фрагмент (2)) розподіли і гістограма (фрагмент (3)) розподілів орієнтаційного параметру S_2 гістологічного зрізу зорового нерву (плоди 7 місяців ВУР). Пояснення у тексті

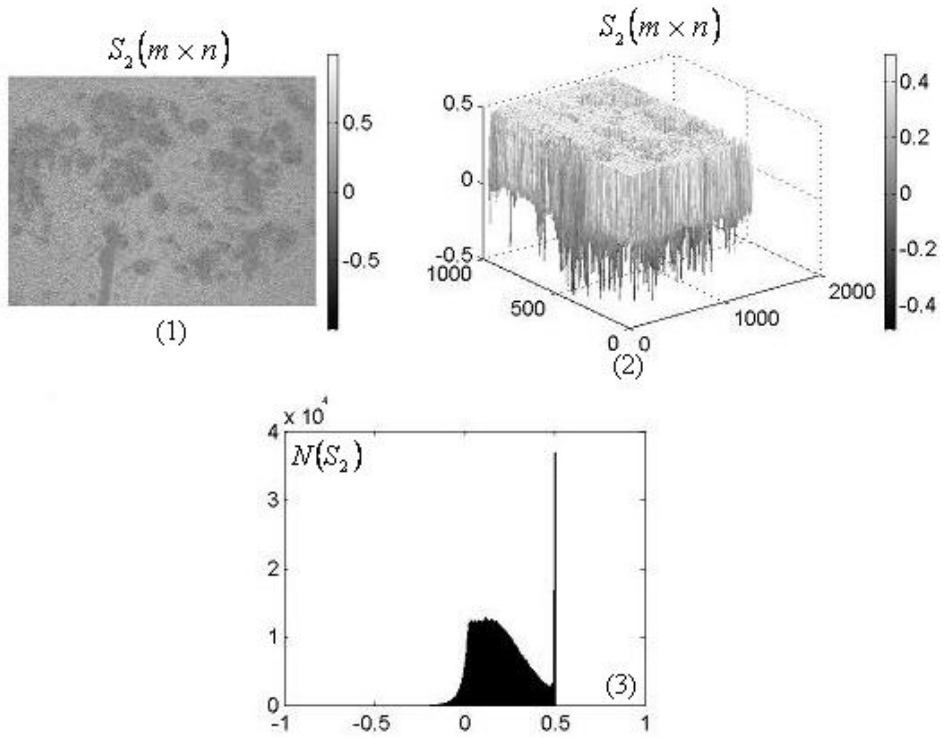

Рис. 4. Дво- (фрагмент (1)) та тривимірні (фрагмент (2)) розподіли і гістограма (фрагмент (3)) розподілів орієнтаційного параметру S_2 гістологічного зрізу зорового нерву (плодів 10 місяців ВУР) . Пояснення у тексті

З оптичної точки зору в циклі досліджень структури нервової тканини [8–13] виявлено, що такі об'єкти володіють яскраво окресленою впорядкованістю структури. Тому, аналіз експериментальних даних дослідження статистичної структури координатних розподілів набору орієнтаційних параметрів S_2, які характеризують ступінь впорядкованості речовини гістологічних зрізів зорового нерва очної ямки на різних етапах розвитку плода виявив нові результати:

- діапазон зміни випадкових значень орієнтаційного параметру S_2 у межах площини гістологічного зрізу зорового нерва перерозподіляється у бік більших значень $-0{,}5 \prec S_2 \prec 0{,}6$ (див. рис. 2 – рис. 4, фрагменти (1),(2)). Виявлений факт вказує на значну орієнтаційну однорідність побудови даної речовини. Це випливає з того, що значення $S_2 \sim 0{,}3 - 0{,}5$ відповідають високій ступені впорядкованості порівняно із $S_2 = 0$ - максимальна ступінь розупорядкованості або аморфність структури. Іншими словами, для гістологічного зрізу зорового нерва ділянки очної ямки найбільш характерним станом є впорядкована полікристалічна структура;

- часовий моніторинг різних етапів розвитку плода (від 5 місяців до 10 місяців ВУР) об'єктивно виявляється в послідовному формуванні більшого рівня структурованості речовини зорового нерва очної ямки. Зазначений процес ілюструє зростання ймовірності значень орієнтаційного параметру S_2, які відмінні від нуля - $S_2 \neq 0$ у ділянці $S_2 \sim 0{,}5$ (рис. 2 – рис. 4, фрагменти (2)). Установлена тенденція може бути пов'язана із тим, що у процесі розвитку плода структура зорового нерва геометрично масштабується та впорядковується. З оптичної точки зору такий стан відповідає полікристалічній побудові речовини, а кількісним індикатором є зростання значень орієнтаційного параметру ($S_2 \uparrow$). На пізніх етапах розвитку вплив кристалічних структур зростає і тому має місце тенденція до загального збільшення значень даного об'єктивного параметру;

- кількісно процеси морфологічної еволюції зорового нерва ілюструють гістограми розподілів випадкових значень у площині гістологічних зрізів орієнтаційного параметру S_2, які наведено на фрагментах (3) серії рис. 2 – рис. 4. Як видно, екстремуми гістограм $N(S_2)$ зразків гістологічних зрізів зорового нерва зазнають зсуву в ділянку більших значень S_2. На ранніх етапах розвитку плода вони локалізовані у ділянці $S_2 = 0{,}1 - 0{,}2$. На пізніх стадіях зміщуються у ділянку $S_2 = 0{,}5$. Даний факт вказує на зростання ступеня впорядкованості побудови речовини зорового нерву. Разом з тим, розкид або дисперсія Z_2 значень орієнтаційного параметру

S_2 вказує на наявність певного розупорядкування полікристалічної складової речовини зорового нерву. Причому, для більш пізніх етапів величина дисперсії зростає ($Z_2 \uparrow$) за рахунок проявів структуризації полікристалічних кластерів нерву. За рахунок цього суттєво зростає асиметрія ($Z_3 \uparrow$) та гострота піку ($Z_4 \uparrow$) гістограм $N(S_2)$ (рис. 2 – рис. 4, фрагменти (3)) для координатного розподілу значень орієнтаційного параметру S_2 гістологічних зрізів даного об'єкту;

- у межах статистичного підходу такі морфологічні зміни побудови зорового нерва детектуються наступною трансформацією значень набору статистичних моментів 1-го – 4-го порядків $Z_1 \uparrow$, $Z_2 \uparrow$ $Z_3 \uparrow$, $Z_4 \uparrow$, які характеризують гістограми $N(S_2)$, наведені на фрагментах (2) рис. 2 – рис. 4. Результати обчислення набору статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, що характеризують координатні розподіли орієнтаційного параметру $S_2(m \times n)$ гістологічних зрізів зорового нера очної ямки плодів різного періоду розвитку наведено у табл.

Таблиця

Статистичні $Z_{i=1;2;3;4}$ параметри, що характеризують координатні розподіли орієнтаційного параметру $S_2(m \times n)$ гістологічних зрізів зорового нерва плодів різного періоду розвитку

Параметри	5 місяців	6 місяців	7 місяців	8 місяців	9 місяців	10 місяців
Z_1	0,25	0,27	0,29	0,31	0,34	0,36
Z_2	0,15	0,17	0,18	0,21	0,23	0,27
Z_3	0,49	0,68	0,83	0,94	1,32	1,55
Z_4	0,54	0,68	0,77	0,84	1,11	1,47

Порівняльний аналіз одержаних даних про координатні розподіли орієнтаційного параметру S_2 гістологічних зрізів зорового нерва очної ямки плодів різного періоду розвитку (див. табл.) виявив чутливість набору об'єктивних статистичних параметрів, які характеризують ступінь орієнтаційної впорядкованості побудови речовини даного об'єкту. Установлені такі кількісні відмінності між значеннями статистичних моментів $\overline{Z}_i(q)$ для розглянутого часового (5 місяців – 10 місяців ВУР) інтервалу розвитку зорового нерва очної ямки плодів

$$\begin{cases} \Delta Z_1(S_2) = 1{,}44; \\ \Delta Z_2(S_2) = 1{,}8; \\ \Delta Z_3(S_3) = 3{,}16; \\ \Delta Z_4(S_4) = 2{,}72. \end{cases}$$

Як видно, структуризація та формування орієнтаційної узгодженості зорового нерва взаємопов'язано із зростанням значень всіх статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли орієнтаційного параметру S_2 досліджених гістологічних зрізів. Найбільш чутливими до зміни ступеня впорядкованості речовини параорбітальної клітковини очної ямки плодів різного періоду розвитку виявилися статистичні моменти 3-го – 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли орієнтаційного параметру мікроскопічних зображень відповідних біологічних препаратів очної ямки.

Висновки

Вперше запропоновано метод стокс поляриметричного статистичного аналізу мікроскопічних зображень гістологічних зрізів зорового нерва плодів різного періоду розвитку та застосовано об'єктивний статистичний аналіз (обчислення статистичних моментів 1-го – 4-го порядків) координатних розподілів параметрів вектора Стокса. Вперше запропоновано аналітичний параметр оцінювання морфологічної побудови набору біологічних препаратів очної ямки плодів різного періоду розвитку – орієнтаційний параметр S_2. Експериментально досліджено координатні розподіли орієнтаційного параметру S_2 гістологічних зрізів зорового нерва плодів різного періоду розвитку. Виявлено основні взаємозв'язки між змінами набору статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли орієнтаційного параметру та особливостями часової просторової структуризації речовини зорового нерва плодів різного періоду розвитку – найбільш чутливими виявилися статистичні моменти 3-го і 4-го порядків з наступним діапазоном зміни власних значень

$$\begin{cases} \Delta Z_3(S_3) = 3{,}16; \\ \Delta Z_4(S_4) = 2{,}72. \end{cases}$$

Перспективи подальших досліджень

Вважаємо за доцільне дослідити гістологічні зрізи зорового нерва плодів 5–10 місяців внутрішньоутробного розвитку для встановлення їх кристалічної побудови.

Література

1. Олійник І.Ю. Обґрунтування лазерного поляриметричного дослідження біологічних тканин у пренатальному онтогенезі очноямкової ділянки людини / І.Ю. Олійник, О.В. Собко // Ключові питання наукових досліджень у сфері медицини XXI ст. : Міжнар. наук.-практ. конф. (Одеса, 1-2 березня 2013): матеріали конф. – Одеса : ГО "Південна фундація медицини", 2013. – С. 89–94.
2. Собко О.В. Про актуальність лазерного поляриметричного дослідження біологічних тканин структур очноямкової ділянки у пренатальному онтогенезі людини / О.В. Собко // Хист: Всеукраїнський медичний журнал молодих вчених. – Чернівці: Медуніверситет, 2013. – Вип. 15. – С. 210.
3. Собко О.В., Олійник І.Ю., Ушенко О.Г. Стокс поляриметричне картографування орієнтаційної побудови гістологічних зрізів параорбітальної клітковини плодів людини / О.В. Собко, І.Ю. Олійник, О.Г. Ушенко // Вісник проблем біології і медицини. – Полтава, 2014. – Вип. 3, том 3. – С. 229–234.
4. Собко О.В. Стокс поляриметричне картографування орієнтаційної побудови гістологічних зрізів параорбітальної клітковини плодів людини / О.В. Собко, І.Ю. Олійник, О.Г. Ушенко // Вісник проблем біології і медицини. – Полтава, 2014. – Вип. 4, том 1. – С. 189–194.
5. Шмидт Г.А. Периодизация эмбриогенеза и послезародышевого онтогенеза у человека и животных / Г.А. Шмидт // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1972. – Т. LXIII, № 8. – С. 17–28.
6. Мішалов В.Д. Дотримання етичних та законодавчих норм і вимог при виконанні наукових морфологічних досліджень / В.Д. Мішалов, Ю.Б. Чайковский, І.В. Твердохліб. – Київ, 2007. – 76 с.
7. Ushenko Yu. A. Statistical structure of polarization-inhomogeneous images of biotissues with different morphological structures / Yu.A. Ushenko // Ukr. J. Phys. Opt. – 2005. – Vol. 6, № 2. – P. 63–70.
8. Ushenko A.G. Laser polarimetry of polarization-phase statistical moments of the objects field of optically anisotropic scattering layers / A.G. Ushenko // Опт. и спектр. – 2001. – Т.91, № 2. – С. 313–317.
9. Ushenko A.G. Polarization introscopy of phase-inhomogeneous layers / A.G. Ushenko / Proc SPIE. – 2002. – Vol. 4900. – P. 1323–1326.
10. Angelsky O.V. Polarization visualization and selection of biotissue image two-layer scattering medium / O.V. Angelsky, A.G. Ushenko, D.N. Burcovets [et al.] // J. Biomed. Opt. – 2005. – Vol. 10, № 1. – P. 014010.
11. Angelskaya A.O. Polarization speckle-reconstruction of biological tissues architectonics: Part 1. Polarization correlometry of birefringence architectonics: singular approach / A.O. Angelskaya, Yu.A. Ushenko, Ye.A. Ushenko [et al.] // Proc. SPIE. – 2007. – Vol. 6635. – P. 66350KP.
12. Angelskaya A.O. Polarization phase reconstruction of biological tissue architectonics: Part 3. Polarizing-correlative processing of images of statistical objects in the problem of visualization and topology reconstruction of their phase heterogeneity / A.O. Angelskaya, A.G. Ushenko, Yu.A. Ushenko [et al.] // Proc. SPIE. – 2007. – Vol. 6635. – P. 66350MP.
13. Angelskaya A.O. Polarization phase reconstruction of biological tissue architectonics: Part 4. Coherent introscopy of phase-inhomogeneous surface and layers / A.O. Angelskaya, A.G. Ushenko, Yu.A. Ushenko [et al.] // Proc. SPIE. – May 08, 2007. – Vol. 6635. – P. 66350N.

Реферат

СТОКС ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКОЕ КАРТОГРАФИРОВАНИЕ ОРИЕНТАЦИОННОГО СТРОЕНИЯ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ СРЕЗОВ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА

Собко О.В.

Ключевые слова: плод, зрительный нерв, глазная ямка, стокс-поляриметр, ориентационный параметр, вектор Стокса, статистический момент.

Исследовав особенности ориентационного строения гистологических срезов зрительного нерва плодов человека 5–10 месяцев внутриутробного развития методом стокс поляриметрического картографирования, нами впервые предложен метод стокс-поляриметрического статистического анализа микроскопических изображений их гистологических срезов. Изучены основные взаимосвязи между изменениями набора статистических моментов 1-го – 4-го порядков, которые характеризуют координатные распределения ориентационного параметра и особенностями временной пространственной структуризации вещества зрительного нерва плода разных периодов развития - наиболее чувствительными оказались статистические моменты 3-го и 4-го порядков с следующим диапазоном изменения собственных значений $\begin{cases} \Delta Z_3(S_3) = 3{,}16; \\ \Delta Z_4(S_4) = 2{,}72. \end{cases}$

Summary

STOKES-POLARIMETRY MAPPING OF ORIENTATION STRUCTURES OF HISTOLOGICAL SECTIONS OF OPTIC NERVE IN HUMAN FETUS

Sobko O.V.

Keywords: human fetus, optic nerve, eye pit, stokes-polarimeter orientation parameter, Stokes vector, statistical moment.

Having studied the characteristic of the orientation structure of optic nerve histological sections of human fetuses aged 5-10 months of gestation by stokes-polarimetry mapping a method of stokes-polarimetric statistical analysis of microscopic images of histological sections was suggested first. Much attention was paid to studying basic correlation between changes in a set of statistical moments of the 1st - 4th multiples, which characterized the coordinate distribution of the orientation parameters and characteristics of temporal spatial structuring of the optic nerve substance of the fetus at different periods of its development. The most sensitive were the statistical moments of the 3rd and 4th multiples with the following range of variation of the eigen values