

СТОКС ПОЛЯРИМЕТРИЧНЕ КАРТОГРАФУВАННЯ ОРІЄНТАЦІЙНОЇ ПОБУДОВИ ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗРІЗІВ ПАРАОРБІТАЛЬНОЇ КЛІТКОВИНИ ПЛОДІВ ЛЮДИНИ

Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці)

*Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича

(м. Чернівці)

Дослідження є фрагментом планової комплексної міжкафедральної НДР кафедр анатомії людини ім. М. Г. Туркевича (зав. – проф. Б. Г. Макара), анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії (зав. – проф. Ю. Т. Ахтемійчук) Буковинського державного медичного університету „Закономірності перинатальної анатомії та ембріотопографії. Визначення статевих особливостей будови і топографічних взаємовідношень органів та структур в онтогенезі людини”, № державної реєстрації 0110U003078.

Вступ. Однією з перспектив вивчення анатомії в XXI столітті вказана необхідність і актуальність проведення морфологічних досліджень пренатального та постнатального морфогенезу зі створенням серйозного уявлення про особливості анатомії людини у перинатальному періоді розвитку [1]. Тому, 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, інформаційних технологій в медицині суттєво розширює можливості традиційних підходів при вивченні анатомії живої людини; дозволяє отримувати нову інформацію про об'єкт дослідження [3]. Потреба в з'ясуванні морфологічних особливостей розвитку і становлення топографічних взаємозв'язків структур очною ділянкою у пренатальному онтогенезі людини є актуальною як з метою вивчення фізіологічної норми, так і диференційної діагностики патологічних процесів [2].

Мета дослідження. Вивчити особливості орієнтаційної побудови гістологічних зрізів параорбітальної клітковини у плодів 5-10 місяців внутрішньоутробного розвитку.

Об'єкт і методи дослідження. Для описання топографічної структури класичних мікроскопічних зображень зрізів параорбітальної клітковини плодів 5-10 місяців внутрішньоутробного розвитку ми використали поляризоване лазерне випромінювання з наступним обчисленням набору параметрів математичного вектора Стокса, який найбільш інформативно повно характеризує орієнтаційну та полікристалічну побудову біологічних препаратів [8-10]. 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, який в 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 [4-7].

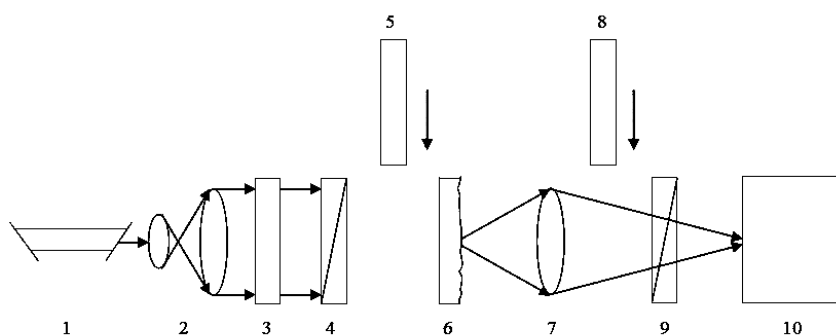


Рис. 1. Оптична схема стокс поляриметра. Пояснення у тексті.

Опромінювання зразків 6 проводилося паралельним ($\text{Ш}=2 \times 10^3 \mu\text{m}$) слабко інтенсивними ($W=5,0 \text{ mW}$) пучками He-Ne ($\lambda_1 = 0.6328 \mu\text{m}$) і He-Cd ($\lambda_2 = 0.405 \mu\text{m}$) 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 – 4x) проектувалося у площину світлочутливої площинки CCD-камери 10 (The Imaging Source DMK 41AU02. AS, monochrome 1/2» CCD, Sony ICX205AL (progressive scan); роздільна здатність – $m \times n = 1280 \times 960$; розмір світлочутливої площинки – $7600 \times 6200 \text{ мкм}$; чутливість – 0,05 lx; 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:

$$S_2 = I_0 - I_{90}$$

Тут $I_{0;90}$ – інтенсивності перетвореного об'єктом випромінювання, що пройшло крізь лінійний поляризатор 9 з кутом повороту площини пропускання

$$\theta = 0^\circ; 90^\circ.$$

Як основний аналітичний інструмент 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 [4]

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

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

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

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

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 досліджень та їх обговорення. Аналіз експериментальних результатів дослідження статистичної структури координатних розподілів набору орієнтаційних параметрів S_2 , які характеризують ступінь впорядкованості речовини гістологічних зрізів параорбітальної клітковини очної ямки на різних етапах розвитку плода виявив:

1) широкий діапазон зміни випадкових значень орієнтаційного параметру S_2 у межах площини гістологічного зрізу параорбітальної клітковини – $-1\pi S_2 \pi 1$ (рис. 2 – рис. 4, фрагменти (1),(2)). Даний факт вказує на структурну неоднорідність побудови даної речовини, так як значення $S_2 = \pm 1$ відповідають максимальному ступеню впорядкованості. Значення $S_2 = 0$ відповідають максимальному ступеню розупорядкованості структури. Разом з тим найбільш ймовірними у координатних розподілах орієнтаційного параметру S_2 є величини $S_2 = 0$. Іншими словами, для гістологічного зрізу параорбітальної клітковини очної ямки найбільш характерним станом є розупорядкована аморфна структура.

2) часова (від 5 місяців до 10 місяців) динаміка зміни такої структури виявляється у формуванні більшого рівня структурованості речовини параорбітальної клітковини очної ямки. Такий ефект ілюструє зростання ймовірності значень орієнтаційного параметру S_2 , які відмінні від нуля – $S_2 \neq 0$ (рис. 2 – рис. 4, фрагменти (2)). Виявлена закономірність може бути пов'язана із тим, що весь простір, не зайнятий кристалітними структурами (зоровий нерв, окоруховий м'яз) заповнений пухкою сполучною тканиною та острівцями скупчень жирових клітин, які групуються в основному навколо судин. З оптичної точки зору такий стан відповідає аморфній речовині ($S_2 \rightarrow 0$) у яку вкраплено кристалітні кластери ($S_2 \neq 0$) сполучної тканини. На пізніх етапах розвитку внесок кристалітних кластерів зростає і жирова клітковина, яка заповнює внутрішньоконусний простір, утворює прошарки між всіма вищезазначеними структурами у вигляді невеликих часточок, які обмежені тонкими сполучнотканинними оболонками

3) у межах статистичного підходу кількісно процеси морфологічної еволюції параорбітальної клітковини ілюструють гістограми розподілів випадкових значень орієнтаційного параметру S_2 , які наведено на фрагментах (3) серії рис. 2 – рис. 4. Екстремуми гістограм $N(S_2)$ зразків гістологічних зрізів параорбітальної клітковини локалізовані у ділянці $S_2 = 0$. Даний факт вказує на найбільш ймовірну аморфну побудову речовини. Разом з тим, значний розкид (дисперсію Z_2 – співвідношення (2)) значень орієнтаційного параметру S_2 від середнього $S_2 = 0$ вказує на наявність полікристалічної складової, зумовленої наявністю структурованої сполучної тканини. Причому, для більш пізніх етапів величина дисперсії зростає ($Z_2 \uparrow$) за рахунок прояснення структуризації полікристалічних кластерів сполучної тканини. За рахунок цього зростає асиметрія

МЕТОДИ І МЕТОДИКИ

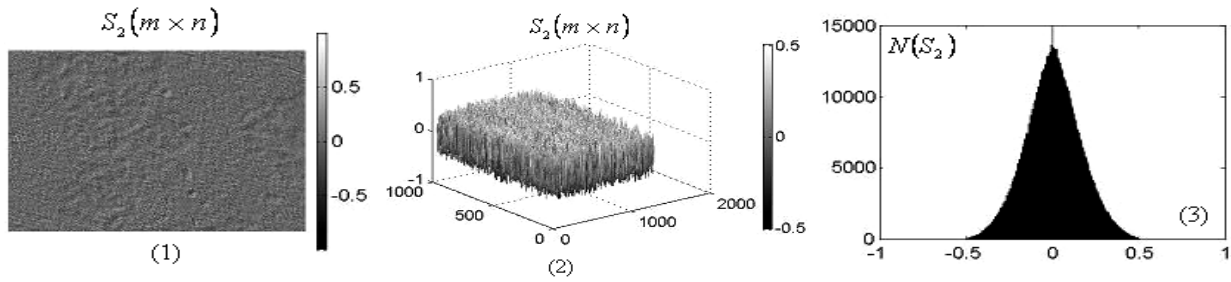


Рис. 2. Дво- (фрагменти (1)) та тривимірних (фрагменти (2)) і гістограм (фрагменти (3)) розподілів орієнтаційного параметру S_2 гістологічного зрізу параорбітальної клітковини (5 місяців). Пояснення у тексті.

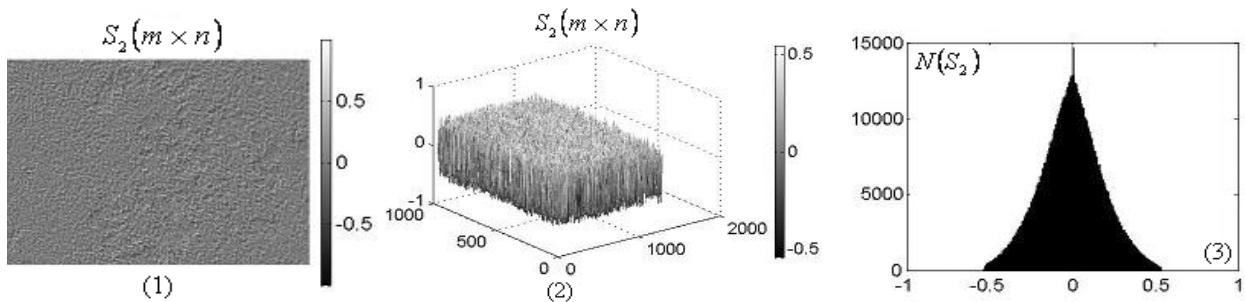


Рис. 3. Дво- (фрагменти (1)) та тривимірних (фрагменти (2)) і гістограм (фрагменти (3)) розподілів орієнтаційного параметру S_2 гістологічного зрізу параорбітальної клітковини (7 місяців). Пояснення у тексті.

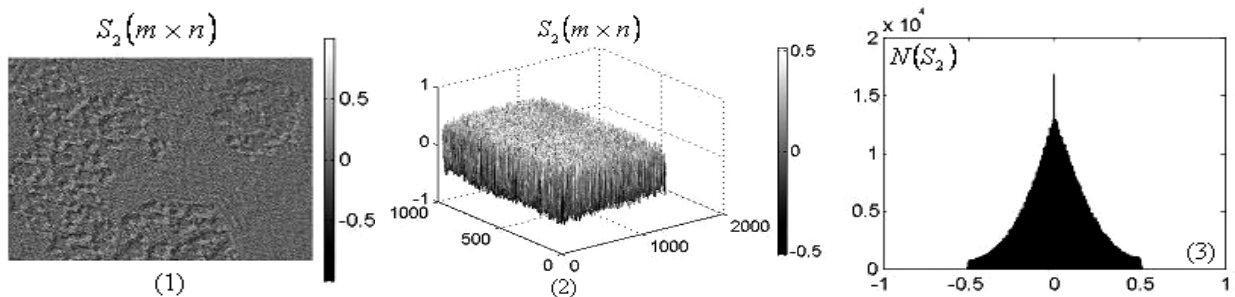


Рис. 4. Дво- (фрагменти (1)) та тривимірних (фрагменти (2)) і гістограм (фрагменти (3)) розподілів орієнтаційного параметру S_2 гістологічного зрізу параорбітальної клітковини (10 місяців). Пояснення у тексті.

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

Параметри	5 місяців	6 місяців	7 місяців	8 місяців	9 місяців	10 місяців
Z_1	0,08	0,09	0,1	0,11	0,12	0,13
Z_2	0,29	0,24	0,21	0,18	0,15	0,13
Z_3	0,12	0,18	0,22	0,27	0,34	0,37
Z_4	0,69	0,77	0,88	1,06	1,24	1,42

($Z_3 \uparrow$) 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 параорбітальної клітковини.

4) статистичним індикатором часової зміни морфологічного стану параорбітальної клітковини за аналізом проявів її структурованості є $Z_1 \downarrow, Z_2 \uparrow, Z_3 \uparrow, Z_4 \uparrow$ гістограм $N(S_2)$.

Результати обчислення набору статистичних моментів 1-го-4-го порядків, параметри, що характеризують координатні розподіли орієнтаційного параметру

$S_2(m \times n)$ гістологічних зрізів параорбітальної клітковини плоду різного періоду розвитку наведено у таблиці.

Порівняльний аналіз одержаних даних статистичної структури розподілів орієнтаційного параметру S_2 параорбітальної клітковини очної ямки плоду різного періоду розвитку (табл.) виявив діагностичну чутливість набору таких об'єктивних статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, які характеризують ступінь впорядкованості морфологічної побудови речовини даного об'єкту.

Виявлено наступні часові кількісні відмінності між значеннями статистичних моментів $\bar{Z}_i(q)$ для розглянутого часового (5 місяців – 10 місяців) інтервалу розвитку плода

$$\begin{cases} \Delta Z_1(S_2) = 1,63; \\ \Delta Z_2(S_2) = 2,23; \\ \Delta Z_3(S_3) = 3,08; \\ \Delta Z_4(S_4) = 2,06. \end{cases}$$

Найбільш чутливими до зміни ступеня впорядкованості речовини параорбітальної клітковини очної ямки плоду різного періоду розвитку виявилися статистичні моменти 2-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 параорбітальної клітковини очної ямки плоду різного періоду розвитку та застосовано об'єктивний статистичний аналіз (обчислення статистичних моментів 1-го – 4-го порядків) координатних розподілів параметрів вектора Стокса. Вперше запропоновано для об'єктивного оцінювання морфологічної побудови набору біологічних препаратів очної ямки плоду різного періоду розвитку – орієнтаційний параметр S_2 . Експериментально досліджено координатні розподіли орієнтаційного параметру S_2 гістологічних зрізів параорбітальної клітковини очної ямки плоду 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 тканин очної ямки плоду різного періоду розвитку – для параорбітальної клітковини – найбільш чутливими виявилися статистичні моменти 2-го – 4-го порядків з наступним діапазоном зміни власних значень

$$\begin{cases} \Delta Z_2(S_2) = 2,23; \\ \Delta Z_3(S_3) = 3,08; \\ \Delta Z_4(S_4) = 2,06. \end{cases}$$

Перспективи подальших досліджень. Додатково дослідити гістологічні зрізи зорового нерва та окоорухових м'язів плодів 5-10 місяців внутрішньоутробного розвитку для встановлення їх орієнтаційної побудови.

Література

1. Ахтемійчук Ю. Т. Перинатальна анатомія як напрям наукових досліджень / Ю. Т. Ахтемійчук // Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології: 2-й Наук. симпоз. (Чернівці, 20-21 травня 2010 р.): матер. симпозиуму. – Чернівці, 2010. – С. 5-7.
2. 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.
3. 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.
4. Polarization visualization and selection of biotissue image two-layer scattering medium / O. V. Angelsky, A. G. Ushenko, D. N. Burcovets, Yu. A. Ushenko // J. Biomed. Opt. – 2005. – Vol. 10, № 1. – P. 014010.
5. Polarization speckle-reconstruction of biological tissues architectonics: Part 1. Polarization correlometry of birefringence architectonics: singular approach / A. O. Angelskaya, Yu. A. Ushenko, Ye. Ushenko [et al.] // Proc. SPIE. – 2007. – Vol. 6635. – P. 66350KP.
6. 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.
7. 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.
8. Ushenko A. G. Polarization introscopy of phase-inhomogeneous layers / A. G. Ushenko / Proc SPIE. – 2002. – Vol. 4900. – P. 1323-1326.
9. 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.
10. 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.

УДК 616-053. 15-018:[535. 361:535. 51]

СТОКС-ПОЛЯРИМЕТРИЧНЕ КАРТОГРАФУВАННЯ ОРІЄНТАЦІЙНОЇ ПОБУДОВИ ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗРІЗІВ ПАРАОРБІТАЛЬНОЇ КЛІТКОВИНИ ПЛОДІВ ЛЮДИНИ

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

Резюме. Враховуючи важливість розробки основ перинатальної анатомії та можливості сучасних методів дослідження, інформаційних технологій в медицині нами вперше запропоновано метод стокс-поляриметричного статистичного аналізу мікроскопічних зображень гістологічних зрізів параорбітальної клітковини плодів 5-10 місяців внутрішньоутробного розвитку. Встановлено 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 тканин очної ямки плода різного періоду розвитку. Для параорбітальної клітковини найбільш чутливими виявилися статистичні моменти 2-го – 4-го порядків.

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

УДК 616-053. 15-018:[535. 361:535. 51]

СТОКС-ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКОЕ КАРТОГРАФИРОВАНИЕ ОРИЕНТАЦИОННОГО СТРОЕНИЯ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ

СРЕЗОВ ПАРАОРБИТАЛЬНОЙ КЛЕТЧАТКИ ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА

Собко О. В., Олійник І. Ю., Ушенко А. Г.

Резюме. Учитывая важность разработки основ перинатальной анатомии и возможности современных методов исследования, информационных технологий в медицине нами впервые предложен метод стокс-поляриметрического статистического анализа микроскопических изображений гистологических срезов параорбитальной клетчатки плодов 5-10 месяцев внутриутробного развития. Установлены основные взаимосвязи между изменениями набора статистических моментов 1-го – 4-го порядков, которые характеризуют координатные распределения ориентационного параметра и особенностями временной пространственной структуризации вещества тканей глазной ямки плодов человека разных периодов развития. Для параорбитальной клетчатки наиболее чувствительными являются статистические моменты 2-го – 4-го порядков.

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

UDC 616-053. 15-018:[535. 361:535. 51]

Stokes-Polarimetric Mapping of Orientation Construction of Histologic Sections of Human Fetuses' Paraorbital Cellular Tissue

Sobko O. V., Olijnyk I. Yu., Ushenko A. G.

Abstract. Objective. An analysis of the available scientific literature shows that at this stage there are not any studies of organs and structures in the orbital area of human prenatal ontogenesis by means of laser polarimetry of biological tissues, which makes this study relevant and timely. In consideration of the importance of developing the base of perinatal anatomy and of capabilities of modern research methods, of information technology in medicine we were the first to propose the method of Stokes-polarimetric statistical analysis of microscopic images of histological sections of human fetuses' paraorbital cellular tissue when fetal growth reached 5-10 months.

Material and methods of research. To describe the topographic structure of classical microscopic images of tissue sections of paraorbital cellular tissue of 5-10 month fetuses, we used polarized laser radiation with subsequent calculation of a set of mathematical parameters of Stokes vector, which is the most informative to describe the orientation and polycrystalline structure of biological preparations. To objectively characterize the coordinate distributions in the plane of biological preparation of Stokes vector parameters, the statistical points of the 1st – 4th order were calculated by a standard software MATLAB 6. Among the set of Stokes vector parameters we chose the coordinate distribution of values of the second Stokes vector parameter (S_2), which has the most complete information about the orientation construction of its material in the dots of the microscopic image.

Results. The analysis of the experimental research results of the statistical structure of coordinate distributions of a set of orientation parameters S_2 which characterize the degree of ordering in the substance of histological sections of paraorbital eyepit cellular tissue at different stages of fetal growth, showed a wide range of variation of random values of orientation parameter S_2 within the plane of histological sections of paraorbital cellular tissue- $1\pi S_2 \pi 1$. Time history (from 5 months to 10 months) of such a structure is found in a more structured material of the eyepit paraorbital cellular tissue. This effect illustrates an increase in the likelihood of orientation parameter values S_2 , that are different from zero – $S_2 \neq 0$. Within the statistical approach, in terms of quantity, the processes of morphological evolution of paraorbital cellular tissue illustrate histograms of the random orientation parameter values S_2 distribution. Extrema of histograms $N(S_2)$ of histological sections samples of paraorbital cellular tissue are localized in the area $S_2 = 0$. Comparative analysis of the obtained data about the statistical structure of the distribution of the paraorbital eyepit cellular tissue orientation parameter S_2 in different periods of fetal development showed diagnostic sensitivity of a

set of the objective statistical moments of the 1st – 4th order, characterizing the degree of order in morphological construction material of the object. Most sensitive to changes in the degree of substance ordering in paraorbital eyepit cellular tissue of a fetus at different stages of growth were found statistical moments of the 2nd – 4th order which characterize the coordinate distributions of the orientation parameter of corresponding eyepit biological preparations microscopic images.

Conclusions. It was for the first time that we proposed the method of Stokes-polarimetric statistical analysis of microscopic sections of the eyepit paraorbital cellular tissue in the fetuses at different stages of their growth and we used an objective statistical analysis (calculation of statistical moments of the 1st-4th order) of the Stokes vector parameters coordinate distributions. It was for the first time that orientation parameter S_2 was suggested for the objective evaluation of the morphological construction of a set of biological preparations in the fetal eyepit at different stages of its growth. Experimentally examined the coordinate distributions of the orientation parameter S_2 in histological sections of the fetal eyepit paraorbital cellular tissue in different periods of its growth. The basic relationship between changes in a set of statistical moments of the 1st – 4th order which characterize the coordinate distributions of the orientation parameter and characteristics of temporal spatial structuring of agents of the fetal eyepit at different stages of its growth was established—as to the orbital cellular tissue, the statistic moments of the 2nd-4th order proved to be the most sensitive with the following range of changes in their values

$$\begin{cases} \Delta Z_2(S_2) = 2,23; \\ \Delta Z_3(S_3) = 3,08; \\ \Delta Z_4(S_4) = 2,06. \end{cases}$$

Keywords: fetus, paraorbital cellular tissue, eyepit, Stokes-polarimeter, orientation parameter, Stokes vector, statistical moment.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 11. 06. 2014 р.