

УДК [535.361+535.51]:611.846.018-053.1

**О.В. Собко,****І.Ю. Олійник,****<sup>1</sup>О.Г. Ушенко**Буковинський державний медичний  
університет, м. Чернівці<sup>1</sup>Чернівецький національний  
університет імені Ю. Федьковича**СТОКС ПОЛЯРИМЕТРИЧНЕ  
КАРТОГРАФУВАННЯ КРИСТАЛІЧНОЇ  
ПОБУДОВИ РЕЧОВИНИ  
ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗРІЗІВ ОКОРУХОВИХ  
М'ЯЗІВ ПЛОДІВ ЛЮДИНИ****Ключові слова:** плід, окоруховий м'яз, очна ямка, стокс поляриметр, параметр кристалізації, вектор Стокса, статистичний момент.**Резюме.** Дослідивши особливості кристалічної побудови гістологічних зрізів окорухових м'язів 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 параметра ступеня кристалізації та особливостями часової просторової структуризації речовини окорухових м'язів плода різного періоду розвитку - найбільш чутливими виявився статистичний момент 1-го порядку з наступним діапазоном зміни власних значень  $\{\Delta Z_1(S_j)=2,41$ .**Вступ**

Дослідження є фрагментом планової комплексної міжкафедральної науково-дослідної роботи кафедр анатомії людини імені М.Г. Туркевича (зав. - проф. Б.Г. Макар), анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії (зав. - проф. Ю.Т. Ахтемійчук) Буковинського державного медичного університету "Закономірності перинатальної анатомії та ембріотопографії. Визначення статеві-вікових особливостей будови і топографоанатомічних взаємовідношень органів та структур в онтогенезі людини", № державної реєстрації 0110U003078.

Дослідивши особливості орієнтаційної побудови гістологічних зрізів параорбітальної клітковини та окорухових м'язів [3-4] вважаємо за доцільне провести вивчення особливостей кристалічної побудови гістологічних зрізів окорухових м'язів методом стокс поляриметричного картографування. Дана робота є актуальною в ключі вивчення проблеми зниження перинатальної захворюваності та смертності, враховуючи неможливість її вирішення без поглибленого вивчення періодів ембріогенезу і раннього фетогенезу з використанням сучасних методів дослідження, які в більшості визначають подальший розвиток плода та новонародженого [2]. Важливо встановити морфологічні особливості розвитку і становлення топографоанатомічних взаємозв'язків структур очноямкової ділянки в пренатальному онтогенезі людини як з метою вивчення

фізіологічної норми, так і диференційної діагностики патологічних процесів [1].

**Мета дослідження**

Вивчити особливості кристалічної побудови гістологічних зрізів окорухових м'язів у плодів 5-10 місяців внутрішньоутробного розвитку методом стокс поляриметричного картографування.

**Матеріал і методи**

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 [5-7]. 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 четвертого порядку в точках мікроскопічного зображення біологічного препарату, який несе найбільш повну інформацію про полікристалічну побудову його речовини. Значення  $S_4=1$  відповідають мінімальному ступеню кристалізації. Значення  $S_4=0$  відповідають максимальному ступеню кристалізації. У подальшому параметр  $S_4$  будемо називати "параметром

кристалізації" морфологічної побудови біологічного препарату. Вимірювання координатних розподілів (двовимірні масиви значень у площині зразків) параметрів вектора Стокса виконувалося у розташуванні (рис. 1) стандартного стокс поляриметра [8-11].

промінювання зразків 6 проводилося паралельним ( $\varnothing=2 \times 10^3 \mu\text{m}$ ) 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 чверть хвильової пластинки

3 та поляризатора 4. Зображення зразків 6 за допомогою поляризаційного мікроскопического об'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 -  $7600 \times 6200 \mu\text{m}$ ; чутливість -  $0.05 \text{ f}$ ; динамічний діапазон - 8 bit; SNR - 9 bit, відхилення фоточутливої характе-

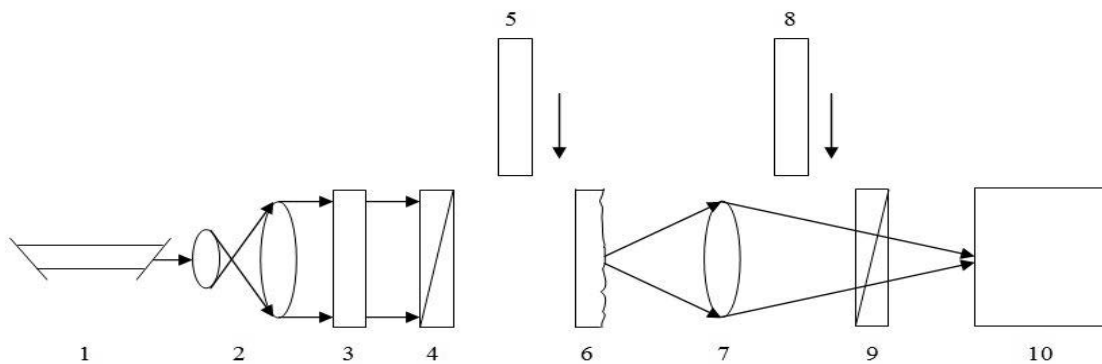


Рис. 1. Оптична схема стокс поляриметра. Пояснення у тексті

ристики від лінійної не більше 15 %). Поляризаційний аналіз зображень зразків 6 відбувався за допомогою чверть хвильової пластинки 8 та поляризатора 9.

Обчислення параметру кристалізації  $S_4$  у межах кожного пікселя цифрової камери 10 відбувалось за допомогою формули  $S_4 = I_{\odot} - I_{\ominus}$  (1). Тут  $I_{\odot, \ominus}$  - інтенсивності перетвореного об'єктом випромінювання, що пройшло крізь право ( $\odot$ ) і ліво ( $\ominus$ ) циркулярно поляризований фільтр 8, 9 [5].

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 [8]

$$\begin{aligned} Z_1 &= \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N q_j; \\ Z_2 &= \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (q_j^2)}; \\ Z_3 &= \frac{1}{Z_2^3} \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (q_j^3); \\ Z_4 &= \frac{1}{Z_2^4} \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (q_j^4), \end{aligned}$$

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.

### Обговорення результатів дослідження

На рис.2 - рис.4 приведено результати досліджень координатних дво- (фрагменти (1)) та тривимірних (фрагменти (2)) розподілів і гістограм (фрагменти (3)) розподілів параметру кристалізації поляризаційно відфільтрованих мікроскопічних зображень гістологічних зрізів окорухових м'язів плодів на різних етапах розвитку. У

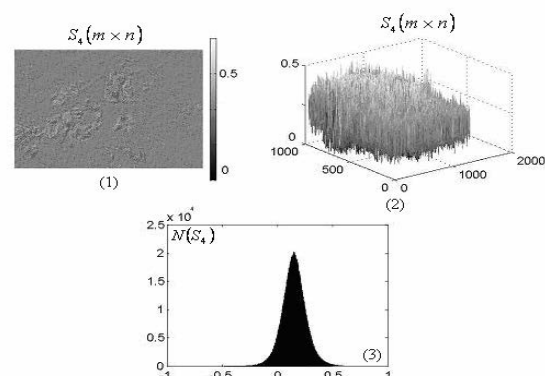


Рис. 2. Дво- (фрагмент (1)) та тривимірних (фрагмент (2)) розподілів і гістограма (фрагмент (3)) розподілів параметру кристалізації  $S_4$  гістологічних зрізів окорухового м'яза (5 місяців). Пояснення в тексті

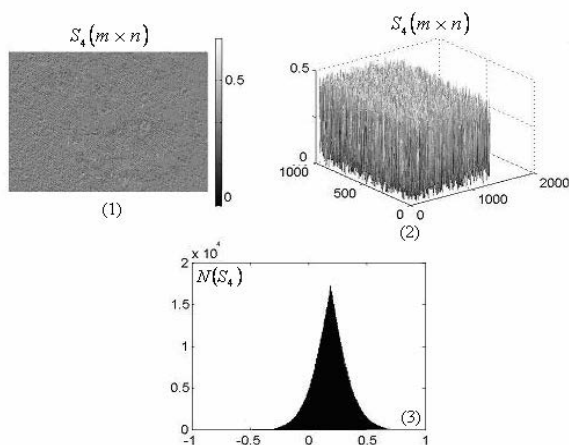


Рис. 3. Дво- (фрагмент (1)) та тривимірних (фрагмент (2)) розподілів і гістограма (фрагмент (3)) розподілів параметру кристалізації  $S_4$  гістологічних зрізів окорухових м'язів (7 місяців). Пояснення в тексті табл. наведені дані часового моніторингу хронологічних залежностей величини статистичних моментів 1-го - 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли параметру кристалізації  $S_4$ , визначеного для серії гістологічних зрізів окорухових м'язів плодів різного періоду розвитку.

Порівняльний аналіз стокс поляриметричного вимірювання параметру  $S_4$  серії поляризаційно відфільтрованих мікроскопічних зображень гістологічних зрізів окорухових м'язів (рис. 2 - рис. 4) виявив наступні особливості динаміки зміни ступеня кристалізації на різних етапах розвитку плода:

- На всіх етапах розвитку плода високі значення параметру кристалізації  $S_4$ , визначеного шляхом поляризаційної фільтрації мікроскопічних

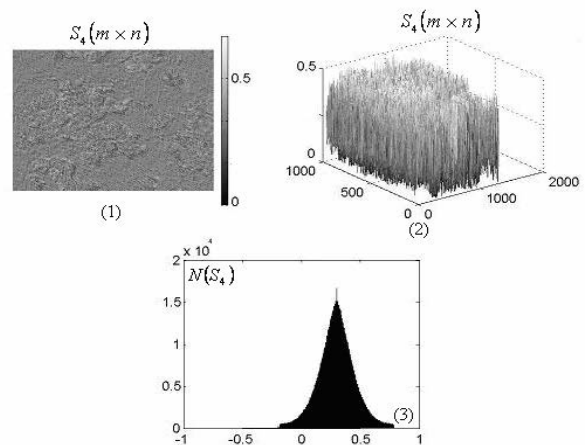


Рис. 4. Дво- (фрагмент (1)) та тривимірних (фрагмент (2)) розподілів і гістограма (фрагмент (3)) розподілів параметру кристалізації  $S_4$  гістологічних зрізів окорухового м'яза (9 місяців). Пояснення в тексті

зображень (співвідношення (1)) у межах площини гістологічних зрізів окорухових м'язів (рис. 2 - рис. 4, фрагменти (1),(2)). Даний факт вказує на максимальну кристалізацію речовини даної біологічної тканини. Експериментально це впливає з того, що найбільш імовірними значеннями до періоду розвитку 5-6 місяців є значення  $S_4=0.2$ , які відповідають значному рівню кристалізації.

- Більш пізній етап (від 8 місяців до 10 місяців) трансформації фібрилярних мереж окорухових м'язів виявив формування максимального рівня кристалізації. Таке твердження ілюструє зростання величини середнього статистичного моменту 1-го порядку розподілу випадкових значень параметру кристалізації  $S_4=0.15$  і  $S_4=0.45$  (див. рис. 2 - рис. 4, фрагменти (2)). Вияв-

#### Таблиця

**Статистичні  $Z_{i=1,2,3,4}$  параметри, що характеризують координатні розподіли параметра кристалізації  $S_4(m \times n)$  гістологічних зрізів окорухових м'язів плодів різного періоду розвитку**

Параметри	5 місяців	6 місяців	7 місяців	8 місяців	9 місяців	10 місяців
$Z_1$	0,17	0,21	0,28	0,33	0,37	0,41
$Z_2$	0,23	0,21	0,19	0,17	0,16	0,14
$Z_3$	0,29	0,33	0,39	0,41	0,43	0,49
$Z_4$	0,58	0,66	0,73	0,75	0,79	0,83

лена тенденція статистичної трансформації координатних розподілів ступеня кристалізації підтверджує зростання просторового впорядкування фібрилярних сіток окорухових м'язів.

- У межах статистичного аналізу поляризаційно відфільтрованих мікроскопічних зображень еволюцію морфологічного впорядкування

побудови фібрилярної сітки окорухових м'язів ілюструють гістограми розподілів випадкових значень параметру кристалізації  $S_4$ , які наведено на серії рис. 2 - рис. 4, фрагменти (3). Порівняльний аналіз таких залежностей виявив тенденцію зсуву локалізації екстремумів гістограм  $N(S_4)$  зразків гістологічних зрізів окорухового

м'яза в ділянці більших значень  $S_4$ . На ранніх етапах (5-7 місяців) головні екстремуми локалізовані в ділянці  $S_4 = 0.35 \div 0.2$ . На пізніх етапах (8-10 місяців) розвитку плода зсуваються у ділянці  $S_4 = 0.35 \div 0.45$ . Даний факт підтверджує значну кристалізацію речовини окорухових м'язів.

- Моніторинг часової зміни статистичних моментів 1-го - 4-го порядків, які характеризують розподіли ступеня кристалізації гістологічних зрізів окорухових м'язів виявив зростання всіх параметрів -  $Z_1 \uparrow$ ,  $Z_2 \uparrow$ ,  $Z_3 \uparrow$ ,  $Z_4 \uparrow$ , які характеризують серію гістограм - табл.

Порівняльний аналіз одержаних даних про координатні розподіли параметра кристалізації  $S_4$  гістологічних зрізів окорухових м'язів плодів різного періоду розвитку (див. табл.) виявив такі кількісні відмінності між значеннями статистичних моментів  $Z_1(q)$  для розглянутого часового (5 місяців - 10 місяців) інтервалу розвитку окорухових м'язів плода.

$$\begin{cases} \Delta Z_1(S_4) = 2,41; \\ \Delta Z_2(S_4) = 1,64; \\ \Delta Z_3(S_4) = 1,69; \\ \Delta Z_4(S_4) = 1,43. \end{cases}$$

Як видно, структуризація та формування орієнтаційної узгодженості фібрилярної мережі окорухових м'язів взаємопов'язані із зростанням значень всіх статистичних моментів 1-го - 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли параметра кристалізації досліджених гістологічних зрізів.

Найбільш чутливими до зміни ступеня кристалізації речовини окорухових м'язів плодів різного періоду розвитку виявився статистичний момент 1-го порядку, який характеризує координатні розподіли параметра поляризаційно відфільтрованих мікроскопічних зображень відповідних біологічних препаратів очної ямки.

### Висновки

Вперше запропоновано метод стока поляриметричного статистичного аналізу мікроскопічних зображень гістологічних зрізів окорухових м'язів 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 - параметр ступеня кристалізації. Експериментально досліджено координатні розподіли параметра ступеня кристалізації гістологічних зрізів окорухових м'язів

плодів різного періоду розвитку. Виявлено основні взаємозв'язки між змінами набору статистичних моментів 1-го - 4-го порядків, які характеризують координатні розподіли параметра ступеня кристалізації та особливостями часової просторової структуризації речовини окорухових м'язів плодів різного періоду розвитку - найбільш чутливими виявився статистичний момент 1-го порядку з наступним діапазоном зміни власних значень  $\{\Delta Z_1(S_4) = 2.41$ .

### Перспективи подальших досліджень

Вважаємо за доцільне дослідити гістологічні зрізи зорового нерва плодів 5-10 місяців внутрішньоутробного розвитку для встановлення їх орієнтаційної та 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: Всеукр. мед. ж. молодих вчених. - Чернівці: Мед-університет, 2013. - Вип. 15. - С. 210. 3. Собко О.В. Стокс поляриметричне картографування орієнтаційної побудови гістологічних зрізів параорбітальної клітковини плодів людини / О.В. Собко, І.Ю. Олійник, О.Г. Ушенко // Вісн. проблем біол. і медицини. - Полтава, 2014. - Вип. 3, том 3 (112). - С. 229-234. 4. Собко О.В. Стокс поляриметричне картографування орієнтаційної побудови гістологічних зрізів окорухових м'язів плодів людини / О.В. Собко, І.Ю. Олійник, О.Г. Ушенко // Вісн. проблем біол. і медицини. - Полтава, 2014. - Вип. 4, том 1 (113). - С. 189-194. 5. 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. 6. 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. 7. Polarization phase reconstruction of biological tissue architectonics: Part 3. Polarization-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. 8. 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. 9. Ushenko A.G. Polarization introscopy of phase-inhomogeneous layers / A.G. Ushenko // Proc SPIE. - 2002. - Vol. 4900. - P. 1323-1326. 10. 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. 11. 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.

### СТОКС ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКОЕ КАРТОГРАФИРОВАНИЕ КРИСТАЛЛИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ВЕЩЕСТВА ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ СРЕЗОВ ГЛАЗОДВИГАТЕЛЬНЫХ МЫШЦ ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА

О.В. Собко, И.Ю. Олійник, А.Г. Ушенко

**Резюме.** Исследованы особенности ориентационного строения гистологических срезов глазодвигательных мышц плодов человека 5-10 месяцев внутриутробного развития методом стока поляриметрического картографирования нами впервые предложен метод стока-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 параметра степени кристаллизации и особенностей временной пространственной структуризации вещества глазодвигательных мышц плодов разных периодов развития - наиболее чувствительным оказался статистический момент 1-го порядка со следующим диапазоном изменения собственных значений  $\{\Delta Z_1(S_4)=2.41$ .

**Ключевые слова:** плод, глазодвигательная мышца, глазная ямка, сток поляриметр, параметр кристаллизации, вектор Стокса, статистический момент.

#### STOKES POLARIMETRIC MAPPING OF THE CRYSTAL STRUCTURE OF THE SUBSTANCE IN THE HISTOLOGICAL SECTIONS OF OCULOMOTOR MUSCLES OF THE HUMAN FETUSES

*O.V. Sobko, I.Y. Oliinyk, I.O.G. Ushenko*

**Abstract.** Objective. It is impossible to solve the problem of perinatal morbidity and mortality without advanced study of embryogenesis and early fetogenesis periods. Having examined the features of orientation structure of paraorbital tissue of histological sections [3, 4], we consider it expedient to study the features of crystal structure of histological sections in the oculomotor muscles of 5-10 months old human fetuses at their Stokes polarimetric mapping.

**Material and methods of research.** To describe the topographic structure of classical microscopic images of oculomotor muscles sections in 5-10 months old fetuses, we used polarized laser radiation with the following calculation of mathematical Stokes vector parameters, which characterize position finding and polycrystalline structure of biologicals in the most informative and complete way. Within the stokes vector parameters we have chosen the coordinate distribution of values  $S_4$  (of the 4<sup>th</sup> order), in the dots of microscopic image of biological preparation, which bears the most complete information about polycrystalline structure of its substance. The values  $S_4=\pm 1$  correspond to the minimum crystallization degree. The values  $S_4=0$  correspond to the maximum crystallization degree. We measured coordinate distributions (two-dimensional file masses of values in the samples plane) of Stokes vector parameters in the location of a standard Stokes polarimeter.

**Results.** The comparative analysis of the findings concerning to coordinate distribution of crystallization parameter  $S_4$  of the substance in histological sections of the fetal oculomotor muscles at different stages of growth detected the following quantitative differences

between the values of statistical moments  $Z_1(q)$  for the time (5-10 months) period of the fetal oculomotor muscles growth:

$$\begin{cases} \Delta Z_1(S_4) = 2,41; \\ \Delta Z_2(S_4) = 1,64; \\ \Delta Z_3(S_4) = 1,69; \\ \Delta Z_4(S_4) = 1,43. \end{cases}$$

As it is seen, the structurization and formation of the position finding coordination of oculomotor muscles tissue fibrillar net and are interrelated with an increase of values of all statistical moments of the 1<sup>st</sup> - 4<sup>th</sup> orders, which characterize the coordinate distributions of the crystallization  $S_4$  parameter of the histological sections under study.

The statistical moment of the first order, which characterizes the coordinate distributions of  $S_4$  parameter of the filtered microscopic images of the corresponding biologicals of the eye pit by means of polarization proved to be the most sensitive to the change of the crystallization degree in the substance of the fetal oculomotor muscles at different stages of growth.

**Conclusions.** We were the first to suggest the method of Stokes polarimetric statistical analysis of histological sections of microscopic images of eye pit oculomotor muscles in the fetuses at different stages of their growth and to use objectively statistical analysis (calculation of the 1<sup>st</sup> - 4<sup>th</sup> orders statistical moments) of coordinate distributions of the Stokes vector parameters. For the first time analytical parameter for evaluation of the morphological structure of biologicals in the fetal eye pit at different stages of growth - the parameter of crystallization degree. Was suggested we have explored by means of an experiment the parameter coordinate distributions of crystallization degree in the fetal oculomotor muscles histological sections at different stages of growth. We have revealed the main interrelations between the changes in statistical moments of the 1<sup>st</sup> - 4<sup>th</sup> orders, characterizing coordinate distributions of the crystallization degree parameter, and the features of the spatial structure of the tissue substance in the fetal oculomotor muscles at different periods of the development - the statistical moments of the 1<sup>st</sup> order, with the consequent range of values change  $\{\Delta Z_1(S_4)=2,41$  proved to be the most sensitive.

**Key words:** fetus, oculomotor muscle, eye pit, Stokes polarimeter, crystallization parameter, Stokes vector, statistical moment.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

<sup>1</sup>Yu. Fedkovych National University (Chernivtsi)

*Clin. and experim. pathol.* - 2014. - Vol.13, №3 (49). - P.171-175.

Надійшла до редакції 01.08.2014

Рецензент – проф. В.Т. Бачинський

© О.В. Собко, І.Ю. Олійник, О.Г. Ушенко 2014