

## ГЛАВА 4

### ОРГАНОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

В настоящем разделе излагаются методы сбора информации, используемой при объемной реконструкции органа и построении его количественно-пространственных моделей. Орган может рассматриваться как многоуровневая иерархическая система, в которой между всеми морфологическими уровнями имеются строгие структурно-функциональные взаимоотношения. Эти взаимоотношения не могут быть определены, если информация о принципах структуры органа на том или ином уровне исследования будет утрачена. Результаты органомерического исследования необходимы для установления общих параметров всех его структурно-функциональных элементов, регистрируемых от органного до субклеточного уровней изучения. Например, общее число клеток, органелл клетки, их общий объем, поверхность, длина и другие количественные оценки могут быть установлены только при знании величины изучаемого органа и его компонентов.

Органомерический анализ имеет два аспекта. Данные органомерического исследования могут быть использованы для определения общей картины наблюдаемого явления, поскольку, согласно системным представлениям, любой из «выходов» системы определяет ее «вход». Примером этому могут служить работы по изучению роста почки на основе определения ее линейных размеров, оценка влияния гиподинамики на эндокринный аппарат, когда системному анализу подвергаются только такие параметры, как, например, масса и объем надпочечника, масса и объем гипофиза и корреляции между массой двух указанных желез. Кроме того, органомерический анализ является этапом полного системного исследования, когда устанавливаются морфологические соотношения между структурно-функциональными компонентами одного уровня исследования с последующим определением межуровневых связей.

Объем органа, объемы его структурных составляющих (для плоскостного органа, кроме того, площадь поверхности), а также его массу считают достаточными параметрами для макроскопической оценки, на основании использования которых могут быть реконструированы количественно-пространственные взаимоотношения входящих в орган структурных элементов (см. Приложение I). Для проведения межуровневых линейных корреляций, т.е. корреляций между линейными характеристиками, когда в качестве одной линейной величины выступает общий размер органа, предпочтительнее использовать корень кубический из его объема, а не какой-либо линейный размер, например длину, высоту, ширину и т.п. В объеме органа отражены интегральные параметры всех возможных для измерения линейных параметров, а поэтому такая линейная характеристика, как корень кубический из объема органа, будет более стабильной, чем какие-нибудь другие оценочные величины. Способ определения объема, массы, а также площади поверхности органа не вызывает затруднений. Объем органа можно установить по количеству вытесненной воды, массу определить взвешиванием, а для оценки площади поверхности следует использовать палетку. Сложнее оценка удельных и абсолютных объемов таких структурных составляющих органа, которые можно дифференцировать на макроскопическом уровне исследования, но которые не могут быть подвергнуты прямым замерам вследствие отсутствия способа их вычленения из данного органа. Эта проблема может быть успешно решена на основе использования метода «полей» А.А. Глаголева (1941), планиметрического метода, в основу которого положен принцип взвешивания зарисовок (Салтыков С.А., 1976) либо же метода линейного интегрирования (Weibel E., 1963).

Из всех указанных способов остановимся только на методе «полей», который не только наиболее объективен, но и наиболее информативен и эффективен. Оценка доли той или иной структурной составляющей органа на макроскопическом уровне исследования с использованием метода взвешивания зарисовок дает ряд погрешностей случайного и систематического порядка, которые связаны с разной плотностью бумаги даже в одном листе, с погрешностями в выполнении зарисовок, их вырезания и взвешивания. Эти ошибки плохо поддаются учету, вследствие чего трудно установить величину необходимых поправок. Метод линейного ин-

тегрирования, несмотря на свою простоту, не имеет четкого математического обоснования, а для применения требует специального оборудования. Указанных недостатков лишен метод «полей». Он выводится из основных положений теории вероятностей и математической статистики, поэтому результаты всегда могут быть проконтролированы и доведены до нужной степени точности. Для использования этого метода на практике нет нужды в каком-либо специальном оборудовании, а необходимые тестовые сетки с равномерно удаленными точками могут быть изготовлены самостоятельно. Метод полей эффективен и экономичен, при хорошем навыке на весь процесс исследования, включая и статистическую обработку материала, для одного случая обычно затрачивается не более 20 мин (Салтыков А.И., 1978). Только в тех случаях, когда доля анализируемой структурной составляющей органа очень низка, затраты времени возрастают.

Метод «полей» как и всякий другой планиметрический метод, за исключением прямого планиметрирования плоскостных препаратов (Автандилов Г.Г., 1960) не дает сведений об абсолютной величине длины, площади поверхности или объема изучаемой структурной составляющей данного органа; он только показывает, какая доля препарата приходится на исследуемую структуру. Когда такой коэффициент доли структуры в величине органа установлен, абсолютная величина доли определяется из соотношения

$$V_A = V \cdot V_V, \quad (29)$$

где  $V_A$  — абсолютная величина данной структуры;  $V$  — абсолютная величина органа;  $V_V$  — коэффициент, показывающий, какая часть органа приходится на данную структуру, т. е. коэффициент долевого вклада.

Принципиальную схему метода можно продемонстрировать следующим образом. Принимаем орган за множество попарно непересекающихся подмножеств его структурных коэффициентов, дифференцируемых на макроскопическом уровне исследования. Тогда его объем (поверхность и др.) можно представить в виде:

$$V = \bigcup_{k=1}^n V_k, \quad (30)$$

где  $V$  — объем органа,  $V_k$  — абсолютный объем его структурной составляющей;  $n$  — число структурных составляющих органа, дифференцируемых на органометрическом уровне исследования.

Предположим, что в объеме органа случайно взвешена пространственная решетка с равноудаленными друг от друга точками. Тогда можно считать, что объем органа соответствует общему числу точек такой пространственной решетки  $N$ , а объем  $V_k$  структурной составляющей — числу приходящихся на нее точек  $n_i$ :

$$N = \bigcup_{i=1}^p n_i. \quad (31)$$

Замена объема органа решеткой с равноудаленными друг от друга точками приводит к следующим соотношениям:

$$\frac{u_1}{V} = \frac{n_1}{N}; \frac{u_2}{V} = \frac{n_2}{N}, \dots, \frac{u_n}{V} = \frac{n_p}{N}$$

или в общем виде:

$$\frac{u_k}{V} = \frac{n_i}{N}. \quad (32)$$

Отсюда следует, что отношение:

$$u_k = \frac{n_i}{N} V \quad (33)$$

дает коэффициент взаимнооднозначного соответствия между объемом органа и объемом данной структурной составляющей.

Метод «полей» состоит в «замене» объема (поверхности) органа соответствующим числом точек пространственной или плоскостной решетки, с одновременной заменой объема данного структурного компонента соответствующим ему числом точек взвешенной в органе пространственной решетки, с последующей оценкой доли всех точек решетки, которые приходятся на данный структурный компонент.

Анализ на плоскостных препаратах проводят следующим образом. На поверхность органа накладывают сетку с решеткой, имеющей равноудаленные точки (рис. 12) и производят дифференцированный подсчет числа точек, приходящихся отдельно на каждую структурную составляющую органа. Получаемые цифровые показатели обрабатывают методами альтернативной статистики с расчетом дисперсии, среднего квадратического отклонения и ошибки. В случае, когда поставлена задача определения долевого вклада в величину плоского органа с очагами патологии, то такой очаг принимают за один из структурных составляющих органа и дифференцированно устанавливают число приходящихся на него точек. Нужного числа подсчетов точек для получения достоверных данных в 95% доверительном интервале достигают либо увеличением плотности точек в решетке, уменьшая расстояния между ними, либо же повторными наложениями одной и той же решетки на объект исследования. Второму способу следует отдать предпочтение, особенно в тех случаях, когда увеличение плотности точек в планиметрической решетке грозит повышением нагрузки на зрительный аппарат со снижением производительности труда.

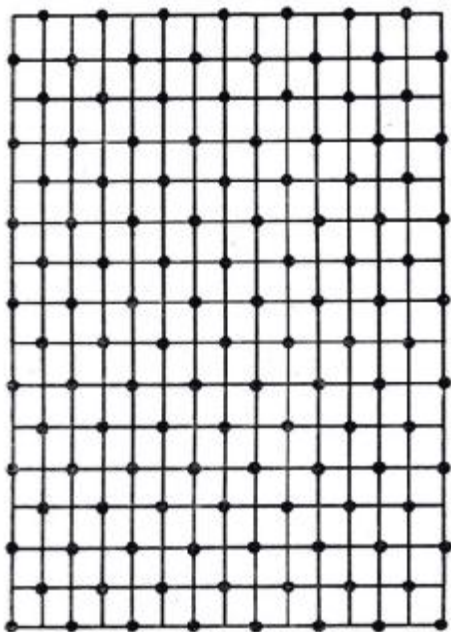


Рис. 12. Сетка с равноудаленными точками стереометрических макроскопических исследований органов, фотоснимков и и электронных фотографий.

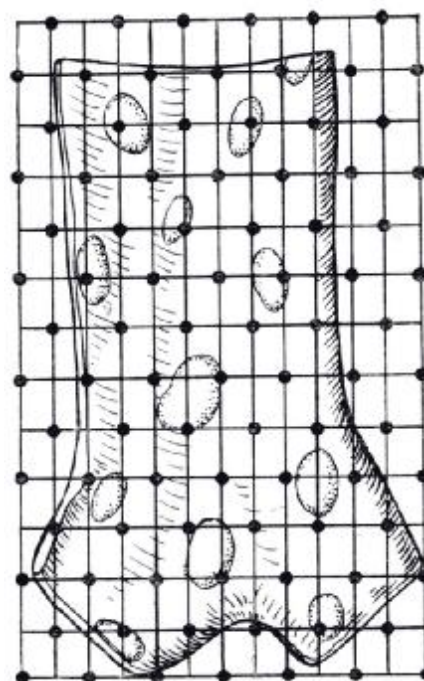


Рис. 13. Наложение решетки для планиметрических исследований на интиму продольно вскрытой брюшной аорты человека (на рисунке из 50 точек 10 приходятся на атеросклеротические бляшки — 20% поражения)

В том случае, когда необходимого числа подсчетов точек достигают повторными наложениями решетки, общее число точек находят из соотношения:

$$N = n_j m, \quad (34)$$

где  $n_1$  — число точек решетки, приходящихся на орган при наложении решетки;  $m$  — число наложений решетки на орган, а число точек, приходящихся на данный структурный компонент, устанавливают соотношения:

$$\bar{q} = \sum_{j=1}^m q_j, \quad (35)$$

где  $q$  — число точек, пришедшихся на данный компонент после  $j$ -го наложения решетки.

Например, на интиму продольно вскрытой аорты наложена решетка с равноудаленными точками для определения доли площади аорты, занятой атеросклеротическими бляшками (рис. 13). На интиму аорты приходится 50 точек, а на атеросклеротические бляшки — 10, т.е. 0,2 от всех точек решетки. Устанавливаем, что для получения достоверных данных необходимо подсчитать не менее 1600 точек (по аналогии с формулой 31):

$$n = \frac{400(1 - 0,2)}{0,2} = 1600.$$

Учитывая, что после первого наложения на интиму аорты сетки подсчитали только 50 точек и допуская, что при последующих наложениях решетки общее число попавших на нее точек окажется таким же, заключаем, что нам необходимо провести подсчеты при 32 наложениях решетки ( $1600:50 = 32$ ). Только после того, как будет подсчитано число точек, приходящихся на бляшки (не менее 32 раз), можно провести обработку результатов методами альтернативной статистики.

При изучении органов, имеющих объем, исследователь лишен возможности непосредственно в нем установить пространственную решетку, в связи с чем без проведения соответствующих подготовительных операций анализ методом «полей» не может быть проведен. Поэтому, чтобы применить метод «полей», орган следует рассечь на параллельные друг другу пластины равной толщины (наиболее оптимальна толщина около 5 мм). Плоскость сечений должна проходить перпендикулярно ходу сосудов, нервов, протоков (рис. 14), так как в противном случае могут возникнуть систематические погрешности, которые обычно трудно оценить.

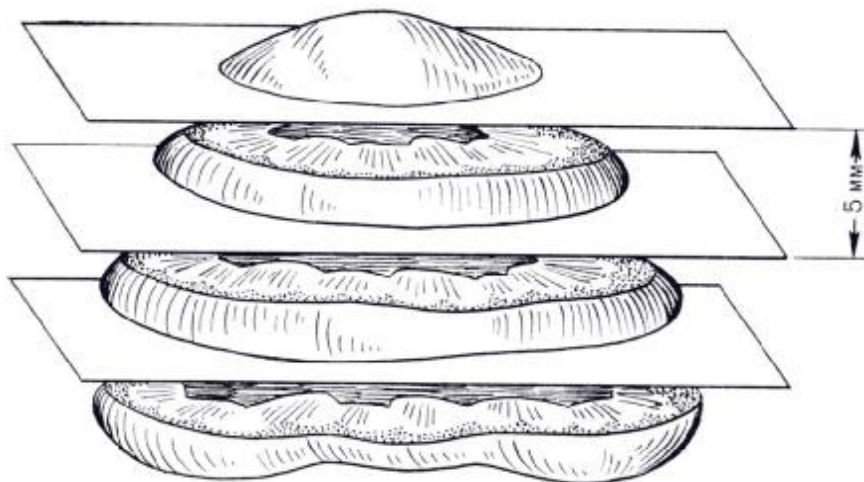


Рис. 14. Рассечение органа на ряд параллельных друг к другу блоков толщиной в 5 мм в плоскости, перпендикулярной к оси ориентации крупных сосудистых стволов.

Полученные пластины укладывают на плоскость плотно одна к другой (рис. 15). Затем накладывают на их поверхность сетку с равноудаленными точками. При этом мы получаем образ объемной организации органа с расположенной в нем объемной решеткой, которая для удобства развернута нами на плоскости (рис. 16, 17). С использованием этой решетки будем проводить дифференцированный подсчет точек, приходящихся на все изучаемые типы структурных составляющих органа, таким образом как и при выполнении планиметрического анализа методом «полей» на плоскостных препаратах.

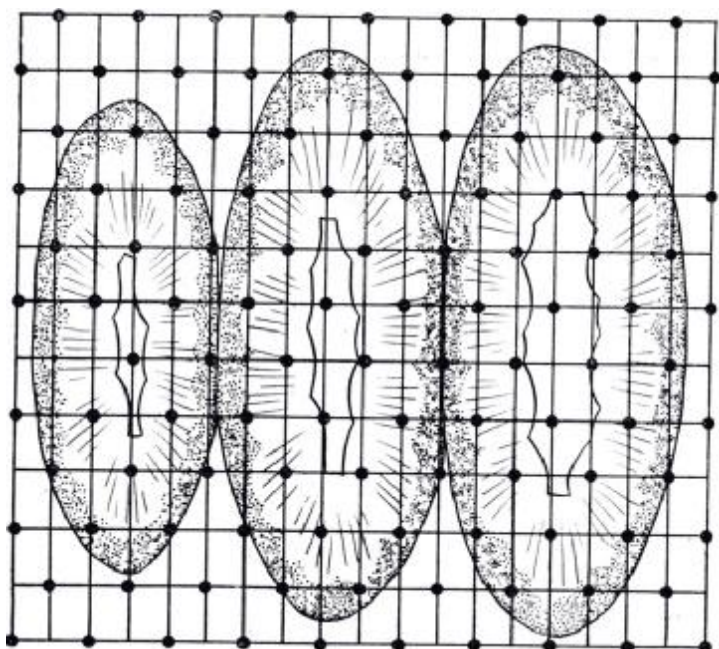


Рис. 15. Наложение сетки с равноудаленными точками на плоскостные срезы почки собаки. Проводится подсчет числа точек, приходящихся отдельно на корковое и мозговое вещество, сосуды, лоханку и жировой компонент.

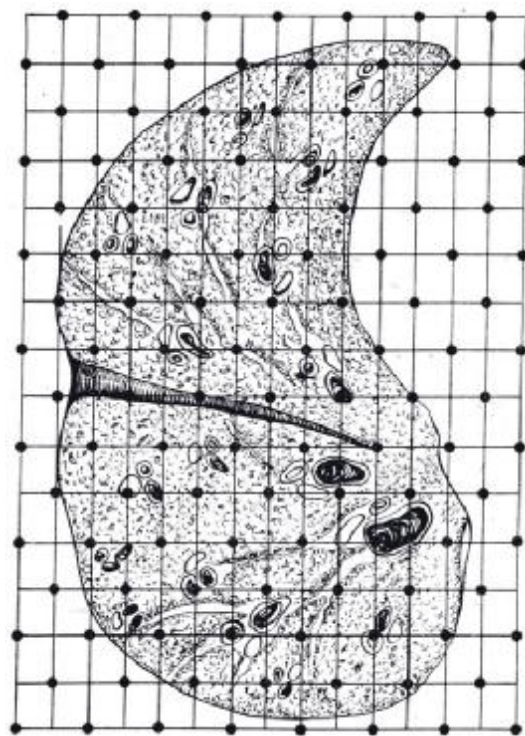


Рис. 16. Наложение сетки на срез легкого собаки.

Абсолютная величина изучаемых на органомеретрическом уровне исследования структурных компонентов органа определяется следующим образом. При плоскостной форме органа  $A$  его общую площадь поверхности  $S$  умножают на удельную площадь  $S_S$  данного структурного компонента, что дает его абсолютную величину, т.е.

$$S_A = S \cdot S_S. \quad (36)$$

При объемной форме органа его объем  $V$  умножают на объемную плотность  $V_V$  изучаемого структурного компонента и устанавливают абсолютный объем компонента:

$$V_A = V \cdot V_V. \quad (37)$$

В обоих случаях (при плоскостной и объемной форме органа) статистики для  $S_A$  и  $V_A$  получают из этих формул путем подстановки вместо  $S_S$  и  $V_V$  соответствующих статистик, которые, как отмечалось, при планиметрическом анализе методом «полей» устанавливаются с использованием формул для альтернативной статистики (23—26).

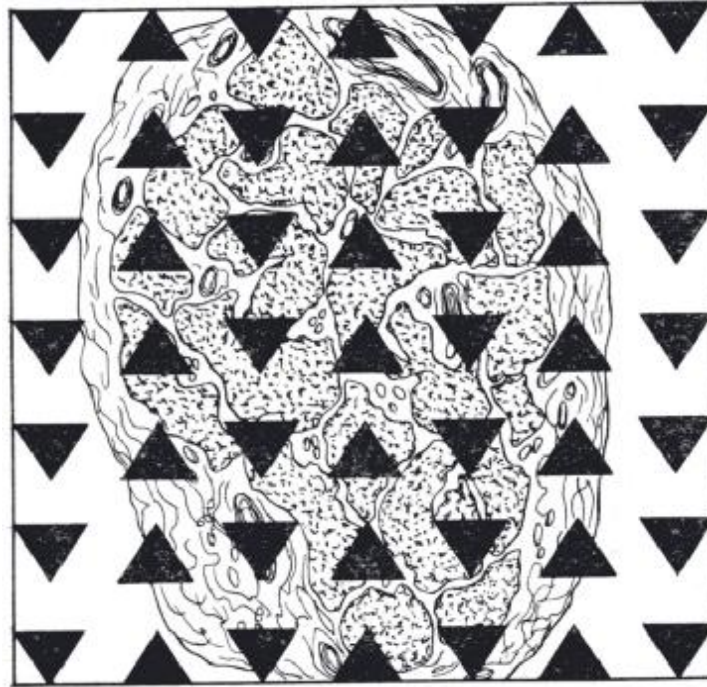


Рис. 17. Наложение сетки С точками нулевой толщины на поперечный срез поджелудочной железы собаки.

Покажем проведение планиметрического анализа органа методом «полей» на объемном препарате, так как плоскостной препарат может рассматриваться как частный случай объемного, у которого третья ось имеет нулевую толщину. Опыт проведен на легком собаки (Яблучанский Н.И., Кондратенко П.Г., 1977). Поскольку объем легкого является функцией степени его раздувания, предварительно его зафиксируем в одном режиме и после фиксации разрежем легкое на параллельные друг другу пластины толщиной в 1 см в плоскости, перпендикулярной по отношению к ходу главных бронхов. Результаты исследования показали, что общий объем легкого (определен по количеству вытесненной воды) равен 2500 мл, и после проведения стереометрического анализа, гарантирующего получение достоверных данных (в 95% доверительном интервале), установлено, что на бронхи приходится 132, на сосуды — 100 и на паренхиму — 2468 точек. По формуле (23) определим удельный объем всех указанных структурных составляющих легкого с оценкой параметров их распределения. Удельный объем бронхов с соответствующими ему средним квадратическим отклонением и ошибкой составит  $V_v = 0,0486$ ,  $\sigma_v = 0,0476$ ,  $m_v = 0,0009$ ; сосудов, с аналогичными показателями,  $V_v = 0,0368$ ,  $\sigma_v = 0,0361$ ,  $m_v = 0,0007$ ; паренхимы —  $V_v = 0,9146$ ,  $\sigma_v = 0,2795$ ,  $m_v = 0,0054$ . При этом абсолютные объёмы, определяемые по формуле (29), с их средними квадратическими отклонениями и ошибками составят: для бронхов —  $V_1 = 121,50$  мл,  $\sigma_2 = 119$  мл,  $m_2 = 2,25$  мл; для сосудов —  $V_2 = 102,00$  мл,  $\sigma_2 = 90,25$  мл,  $m_2 = 1,725$  мл; для паренхимы —  $V_3 = 2,268,5$  мл,  $\sigma_3 = 698,75$  мл,  $m_3 = 13,5$  мл.

Заметим, что метод «полей» широко апробирован в стереологии и занимает одно из наиболее важных мест среди всех морфо-метрических методов. Этот метод без каких-либо изменений, ограничений или поправок может быть свободно использован на любом уровне морфологического анализа: от органомерического, что следует из настоящего раздела книги, до ультраструктурного (см. ниже). Метод «полей» дает возможность получить сведения о долевого вкладе анализируемой структурой составляющей в общий объем ткани, клетки и т.д. С его помощью одинаково просто определяются объемные, плоскостные и линейные характеристики соответственно для объемных, плоскостных и линейных структур. Эти характеристики всегда имеют одно содержание: они указывают на ту долю величины препарата, которая приходится на изучаемый компонент. Следует обратить внимание на то, что эти параметры при одном содержании получили различные названия. В литературе можно встре-

тить такие обозначения, как «объемная плотность», «долевой вклад», «удельный объем», «вольюметрическая фракция», «объемная часть» и др. Это один и тот же параметр, коэффициент, который отражает долю данной структурной составляющей в общей величине изучаемого объекта. С помощью этого параметра можно установить общую величину данной структурной составляющей. Важным его достоинством является то, что он представляет собой один из наиболее важных стереометрических показателей количественно-пространственной организации морфоструктур, который относят к разряду стереометрических констант.

Проведенные исследования структурной организации различных органов и тканей в норме показали, что для одной генеральной совокупности препаратов этот параметр всегда имеет одно и то же цифровое значение с колебаниями в пределах погрешности измерений и вычислений. Поэтому он может быть использован при изучении особенностей структурной перестройки биологических систем при различных заболеваниях в аспектах требований количественной патоморфологии. Для оценки различий в степени изменений в органе на разных этапах развития патологического процесса используют методы морфологостатистического анализа, например метод Стьюдента. Однако следует помнить о том, что этот показатель характеризует направленность и степень изменений в наблюдаемом образце, но не выявляет причину этих изменений. Уменьшение этого показателя для данной составляющей может быть связано, с одной стороны, с истинным уменьшением его абсолютной величины, а с другой — с абсолютным увеличением размеров другой структурной составляющей препарата. Поэтому один планиметрический метод в описании динамики морфологических изменений, например, в органе при том или ином заболевании недостаточен. Результаты планиметрического исследования должны в обязательном порядке подтверждаться другими количественными методами, а также результатами традиционных исследований описательного характера.

Наиболее рациональный подход, которому посвящена настоящая книга, основан на системном изучении морфологии, когда устанавливаются не только количественные оценки перестройки тех или иных компонентов изучаемого объекта, но определяется связь элементов и создается единая качественно-количественная модель его морфологической структуры, а также развивающегося патологического процесса.