

## ГЛАВА 7

### ПЕРСПЕКТИВЫ АВТОМАТИЗАЦИИ СТЕРЕОМЕТРИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И МЕТОДОВ ОБРАБОТКИ ИХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Интерес к методам количественной морфологии в последние годы настолько возрос, что в настоящее время трудно уследить за всеми публикациями по этой проблеме. Между тем анализ литературы методического порядка, посвященных изучению количественно-пространственной организации биологических объектов в норме и патологии, показывает значительный разрыв между методическим арсеналом стереологии и практическим выходом. Причины такого разрыва между методическими возможностями и количеством выполненных исследований связаны прежде всего с большой трудоемкостью стереометрических исследований. При реконструкции стереометрической организации только одного биологического образца от органного до ультраструктурного уровня исследований даже при машинной обработке получаемого материала на основе специально разработанных статистических программ необходимо затратить много времени.

Из сказанного следует вывод, что в количественных морфологических исследованиях одной из наиболее важных проблем является решение задач автоматизации анализа микрообъектов.

Проблема автоматизации количественных морфологических исследований интенсивно разрабатывается, особенно в последние годы (Иваницкий Г.Р. и др., 1967; Гиндилис В.М., Иваницкий Г.Р., 1970; Ермолаев М.М., 1970; Швирст Э.М., 1970; Автандилов Г.Г., 1973; Naug H., 1962; Simon H., 1975). Выпущен ряд промышленных образцов анализаторов микрообъектов, которые идентифицируют структуры и находят их размерные параметры с описанием статистических параметров распределения. Развиваются методы текстурного анализа, проекционного и других способов регистрации стереометрических параметров.

Существующие системы для автоматического исследования микрообъектов могут быть разделены в основном на две группы, отличающиеся по принципу опознавания объектов и выполнению измерений. Первые — кондуктометрические — основаны на измерении разницы в электрическом сопротивлении объекта и среды. В основу способов второй группы положен принцип фотоэффекта. При действии падающей световой волны на микрообъект изменяются ее параметры, которые регистрируются с помощью специального датчика. В системах второй группы могут применяться фазово-контрастные, люминесцентные, интерференционные и поляризационные микроскопы или же информация считывается с негативов, фотоотпечатков и зарисовок. Кроме того, в литературе появились сообщения о перспективах использования систем для автоматического количественного анализа микрообъектов, построенных на принципах голографии.

В настоящее время используются полуавтоматические и автоматические анализаторы микрообъектов, которые производят идентификацию и измерения их на основе разных световых характеристик. Из систем такого рода наиболее перспективны те, которые сканируют методом развертки, «узкой строкой», когда ширина зонда значительно меньше величины измеряемых микрообъектов. При таком способе получения информации видеосигнал содержит сведения не только о данной микрочастице в целом, но и о ее внутреннем строении (Барилко Ш.И., Кутыленко А.П., 1970; Быков Ю.М., Трояновский В.М., 1970).

Принципиальная схема анализаторов, основанных на фотоэффекте, примерно одинакова. Для анализа микрообъектов по их статистическим характеристикам используют установки, состоящие из источников света и датчика оптической плотности, между которыми располагают исследуемый образец, амплитудного анализатора, блоков вычисления автокорреляционной и взаимокорреляционной функции, гармонического анализатора, сравнивающего устройства, блока памяти и блока выдачи результатов. Последний соединяется в ЭВМ. Несмотря на разнообразие анализаторов такого рода, с их помощью выделяют, идентифицируют и измеряют различные микрообъекты по их оптическим характеристикам.

Широкое применение находят телевизионные анализаторы изображений. Преобразование оптического изображения в видеосигнал осуществляется в телевизионных трубках с помощью устройства для сканирования. Оптическая плотность каждой сканируемой точки объекта и интегральное значение оптической плотности всего объекта определяются в специальном блоке и после дисплея и согласующего — коммутирующего — устройства эти данные поступают в классификатор объектов, идентифицирующий объект по интегральной оптической плотности или по геометрическим параметрам.

Более подробные сведения о принципах и методах автоматического анализа микрообъекта можно получить из специальной литературы (Иваницкий Г.Р. и др., 1967; Автандилов Г.Г., 1973; Кошевой Ю.В. и др., 1977; Simon H. et al., 1975). Только автоматизация процесса анализа микрообъектов позволяет провести обработку огромного количества информации, дающей возможность создать количественно-пространственную модель биоструктур и их патологических изменений. Однако нельзя полагать, что морфолог не должен развивать исследования по количественному анализу морфоструктур, ожидая, когда будут разработаны и запущены в серийное производство специальные автоматические системы. Человека никогда не может заменить машина, и система «автомат — человек» будет участвовать в познании природы всегда, как бы далеко не ушли наши знания.

Настало время решать вопросы синтеза описательных и количественных данных, характеризующих морфологические процессы. Морфология накопила огромное количество информации, которую необходимо упорядочить и представить в виде закономерностей, однако подобная аксиоматизация пока невозможна без достаточно широкого применения математических подходов. В тех случаях, когда можно применить машину, следует широко использовать ее возможности, однако, когда поставленную задачу автоматические анализаторы микрообъектов решить не могут, следует пользоваться обычными стереометрическими методами исследования.

В заключение остановимся на перспективах автоматизации методов обработки результатов стереометрических исследований. В результате стереометрического анализа накапливается огромное количество цифровых данных, нуждающихся в математической обработке на ЭВМ по специальным методам. В связи с этим разрабатываются специальные программы (алгоритмы) для статистической обработки морфометрических данных. Так, например, все виды обычной статистической обработки материала легко выполняются на любых ЭВМ. На ЭВМ «Наири-К» проводят сравнение серий испытаний с помощью распределения Фишера — Снедекора, значимость отклонений среднего арифметического в разных группах наблюдений с использованием метода Стьюдента (Шляпников В.Н., Углов Б.А., 1976; Андреев Б.В. и др., 1977). Большой комплекс математических задач, связанных с системным стереометрическим анализом, решают по специальным программам на ЭВМ «Минск» и «ЕС-1020» (Яблучанский Н.И. и др., 1978, Автандилов Г.Г. и др., 1980).

Создаются универсальные программы для обработки стереометрических данных о любом органе и патологическом процессе, учитывающие всю иерархию структурной организации (Яблучанский Н.И. и др., 1978). В картотеку программы включены известные и достоверно надежные формулы стереометрической обработки данных с учетом области их применения. Поэтому в программе предусматривается расчет по всем возможным для конкретного органа формулам с сопоставлением и усреднением результатов счета. В печатном виде выдаются сведения о тиле структуры (полный паспорт структуры), а также ее стереометрические параметры, установленные по усреднению и по каждой формуле. Это позволяет сразу проверить достоверность результатов. Исходные замеры (хорда, диаметр, длина и т.д.), числа, плотности и другие показатели объекта варьируют в широких пределах и могут быть неодинаковыми для разных структур в одном объекте исследования. Выбор метода и расчета производит машина. Единственный недостаток этой программы — сложный ввод данных. В связи с этим выполнена работа по специальным программам для отдельных органов. Имеются программы на языке «Фортран-IV» для морфологии сердца, легких и печени. В этих программах ввод массива данных упрощен, требуется небольшое число управляющих карт. Все

сведения об ориентировке и форме разных типов структур включены в программу, и после считывания исходных групп массива для конкретной структуры машина производит расчет по специальным формулам.

Для контроля ошибок при вводе данных имеется программа печати массива ввода данных. После идентификации неправильные перфокарты перебиваются и заменяются.

Например, в программе «сердце» предусмотрена обработка основных стереометрических показателей кардиомиоцитов, их ядер, соединительнотканых клеток, капилляров, микрососудов, теток воспалительного очага и периинфарктной зоны. На макроуровне определяется объем свежего и фиксированного сердца, Долевой вклад в процесс левого и правого желудочков, перегородки, инфарктных и периинфарктных зон (точечный счет, линейное интегрирование и т.д.). На гистологических срезах для! «одноосных» очагов (очаг воспаления и т.п.) находят среднюю! длину хорды сечения и число таких хорд на единице длины тестовой линии. В основе этого подхода лежит метод линейного интегрирования. Ввод данных организуется следующим образом. Первая перфокарта указывает число групп сердец, подвергаемых обработке. Она является общей для всех обсчитываемых: групп. Вторая перфокарта — общая для каждой из групп и указывает длительность патологического процесса: предусмотрена регистрация процесса в минутах, часах и сутках. Третья перфокарта — также общая для одной группы сердец, указывает их число в группе, число исследуемых отделов с их идентификацией — левый, правый желудочек, перегородка, инфарктные или периинфарктные зоны, а также число типов структур в них, которое меняется в зависимости от фазы процесса. На этой же перфокарте даны цена деления тестовой линии, ее длина, а также площадь поля зрения микроскопа.

Следующие перфокарты уже относятся к каждому конкретному органу соответствующих групп. На четвертой перфокарте указывается объем нефиксированного сердца, объем препарированного сердца, доля от объема сердца левого и правого желудочков, перегородки, инфарктной и периинфарктной зоны. Далее следуют перфокарты микроуровня, в которых возможны комбинации вводимых данных: средняя длина хорды и число хорд на тестовой линии; средняя длина хорды, число хорд на тестовой линии и длинная ось; средняя длина хорды, число хорд на. тестовой линии и число сечений структур в поле зрения микроскопа. Количество этих перфокарт зависит от числа исследуемых отделов и числа идентифицируемых структур в каждом из отделов. Для удобства ввода данных на этапе протоколирования используется не вся емкость перфокарты, а только 70 ячеек, которые разбиты на 10 позиций таким образом, что в каждой позиции содержится по 7 ячеек. После того как результаты измерений перенесены на перфокарты, распечатаны, распечатка идентифицирована с исходным массивом, заменены неправильные карты, производится обработка данных по соответствующей программе.

Вся программа может быть представлена в виде следующей иерархической системы. Ввод и размещение данных, проверка, ввода, вычисление результатов. Результаты расчетов печатаются и одновременно передаются в блок накопления. Печать производится последовательно для каждого пронумерованного типа, структур каждого сердца группы, а в накопителе данные обсчета разных сердец по параметрам суммируются. После того как результаты счета всех сердец, напечатаны, подается сигнал на блок управления, который передает команду на блок накопления. В блоке накопления результаты делятся на число сердец в группе и производится выпечатывание средних данных для всей группы сердец.

После этого подается сигнал на блок управления. Блок управления передает сигнал на блок ввода и размещения данных. Если есть еще группа сердец, то цикл повторяется, если обсчитана последняя группа сердец, то команда с блока ввода.и размещения данных вновь передается на блок управления, который передает сигнал на блок остановки и за этим следует команда «стоп».

Вывод данных написанной программы осуществляется следующим образом. Вначале дается информация общего содержания: число групп сердец, номера каждой группы, далее указывается конкретная группа, длительность эксперимента данной группы сердец, число

сердце в группе, затем дается номер сердца группы, выпечатывается исходный массив данных, если потребуется проверка, после чего выдаются результаты счета. Сначала следуют значения удельных объемов и их стандартных отклонений, а также абсолютных объемов разных камер сердца, включая инфарктные и перинфарктные зоны. Далее печатаются результаты микрометрического уровня исследования. Указывается номер структуры, и в печать поступают ее стереометрические характеристики. Система печати результатов для каждой структуры одинакова. Выдается пятизначное число с показателем степени в одной системе измерений (мл, мл<sup>2</sup>, мл<sup>3</sup>). Печатаются значения диаметров и среднего квадратического отклонения, удельного объема и его стандартного отклонения, абсолютного суммарного объема, число в единице объема и общее число величины площади в единице объема и общей площади, среднего межцентрового расстояния между структурами этого типа и его среднего квадратического отклонения, индивидуального объема, поверхности и длины структуры, среднего квадратического отклонения длины, а также факторы формы. Такая унифицированная система печати позволяет легко ориентироваться при анализе получаемых данных.

Результаты счета характеризуют все основные стереометрические свойства микрообъектов. Программой предусмотрена обработка данных для следующих типов микроструктур: кардиомиоциты, их ядра, фиброциты, капилляры, сосуды; дополнительно для инфарктного и перинфарктного участков: сегментарные и ацидофильные гранулоциты, лимфоциты, плазматические клетки макрофаги, лаброциты, фибробласты. Кроме того, дополнительно выведен резерв для одного типа неучтенных структур. Заметим, что обработка массива указанных стереометрических данных, полученных на 100 объектах на ЭВМ «ЭС-1020», потребовала 5 ч. Приведенных кратких сведений достаточно для демонстрации перспектив применения электронно-вычислительной техники для автоматизации обработки стереометрических данных и моделирования изучаемых патологических процессов.