

© Ковешніков В.Г., Кащенко С.А., Маврич В.В.

УДК 615.37:591.471.42/44:599.323.4

### МЕТОД МОРФОМЕТРИЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ОЦІНКИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ КІСТОК

*В.Г.Ковешніков, С.А.Кащенко, В.В.Маврич*

*Кафедра нормальної анатомії людини (зав. – проф. В.Г.Ковешніков) Луганського державного медичного університету*

---

Останнім часом збільшилась кількість морфологів, які вивчають мікро- та макроскопічну будову кісток скелета. Ця зацікавленість зумовлена поширенням кісткової патології в усьому світі, зокрема поширенням такої хвороби як остеопороз. На думку експертів ВООЗ, остеопороз посідає третє місце після серцево-судинних захворювань та діабету в рейтингу основних медико-соціальних проблем сучасності [1]. Це пов'язано з великою частотою його клінічних ускладнень – переломів стегнової та променевої кісток і хребців, які призводять до частоті інвалідації та страждань літніх людей.

У практиці морфологів широко застосовуються математичні методи, які дозволяють визначати кількісні характеристики об'єктів. Системний аналіз структурної перебудови тканинних елементів дає переконливий матеріал для доказів характеру морфологічних змін та пов'язаних з ними порушень. Медична морфометрія аналізує групові властивості морфологічних об'єктів та їх взаємозв'язків як у здоровому, так і хворому організмі й включає елементи антропометрії, органо-метрії, стереометрії, гістометрії та цитометрії [2-4].

Остеометричні методики наведені нами в попередній публікації [5].

Гістоморфометрія – єдиний метод прямого, точного аналізу росту кісток у довжину та в ширину, процесів ремоделювання кістки на тканинному та клітинному рівнях. Цей метод дозволяє отримати інформацію про: мікроархітекtonіку кісткової тканини;

механізми, які спричиняють втрату кісткової маси; дію екзогенних та ендогенних чинників на процес ремоделювання кістки [6, 7]; диференційну діагностику деяких захворювань [8, 9].

На сучасному етапі можливо використовувати такі засоби гістоморфометричного аналізу, як автоматизовані, напівавтоматизовані та оптиковізуальні (за допомогою спеціальних окулярних вставок у мікроскоп).

Особливість автоматизованих способів полягає в тому, що гістологічну картину демонструють на екрані монітора, а зображення отримують за допомогою відеокамери. Далі проводять комп'ютерний аналіз відтінків сірого кольору (чорний – мінералізована кісткова тканина; сірий – остеод; білий – кістковий мозок) за допомогою спеціальних морфометричних програм. До переваг цього способу належать зручність, швидкість та висока точність. Недоліком є те, що не розрізняються артефакти [10].

У напівавтоматизованих способах до оптичної системи мікроскопа введено зображення курсора, що рухається за допомогою цифрового планшета, ним обводять структури, які слід виміряти. Проте ці дії трудомісткі і потребують тривалого часу.

Оптиковізуальний спосіб морфометрії найбільш поширений, у процесі вимірювання якісний показник не буває поза увагою (як у деяких випадках при застосуванні комп'ютеризованих способів). У процесі вимірювання можна використовувати різноманітні окуляри, проте слід враховувати, що

кожен окуляр придатний для вимірювання певного структурного компонента.

Морфометричні підходи потребують стандартизації, відбору зразків, їх обробки, математичного аналізу результатів вимірювань. Морфометричні дані обробляють методами параметричної та непараметричної статистики (наприклад, для перевірки розбіжностей між середніми величинами вимірювань використовують параметричний критерій  $t$  Стьюдента та непараметричний критерій  $U$  Вілкоксона). Результати вимірювань подають у вигляді таблиць, графіків та за допомогою формул регресійного аналізу.

На кафедрі нормальної анатомії людини Луганського державного медичного університету аналіз гістоморфометричних показників кісток проводять за допомогою комп'ютерного комплексу, який створений на базі мікроскопа Olympus BX 41, цифрового фотоапарата Olympus C 5050 Z (Японія), фотоадаптерів, плати цифрового кодування відеосигналів та комп'ютера. Лінійні показники (ширина епіфізарного хряща, його зон, товщина кісткових трабекул та ін.) реєструють за допомогою створення об'єкта-відстані між двома точками (рис. 1). Показники, які характеризують периметр та площину об'єкта (клітини проліферативної зони, частка клітин та міжклітинної речовини), вимі-

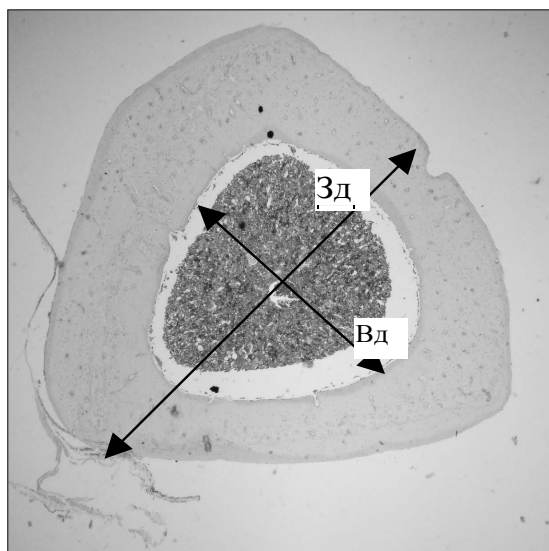


Рис. 1. Поперечний зріз середини діяфіза великогомілкової кістки лабораторного щура. Вд – внутрішній діаметр, Зд – зовнішній діаметр. Гематоксилін-еозин. Зб.  $\times 162$ .

рюють за допомогою способу “накладання кольорової маски” для виділення досліджуваного фрагмента. Всі цифрові дані безпосередньо обробляють за допомогою морфометричної програми "Morpholog Light", яка створена співробітниками кафедри.

Основні гістоморфометричні показники кісткової тканини, які ми використовуємо в наукових дослідженнях:

1. Кількісні показники: об'єм трабекулярної кісткової тканини (%), загальний об'єм кортикальної та губчастої речовини (%), товщина кортикального шару (мкм) [8, 9].

2. Показники, які характеризують мікроархітектоніку кісткової тканини: товщина та довжина трабекул (мкм), ширина кістково-мозкових просторів (мкм), кількість трабекул на  $1 \text{ мм}^2$  зрізу (рис. 2). Крім того, для оцінки структурно-функціонального стану губчастої кісткової тканини визначають кількість з'єднань (місць трабекулярних розгалужень) на одиниці площі зрізу і заповнюють такими показниками: відстань між центрами суміжних з'єднань, відстань від центру з'єднання до вільного кінця трабекули, відстань між вільними кінцями кісткових трабекул, відношення кількості з'єднань до кількості вільних кісткових трабекул (показник ступеня з'єднання) [8].

3. Показники, які характеризують стан

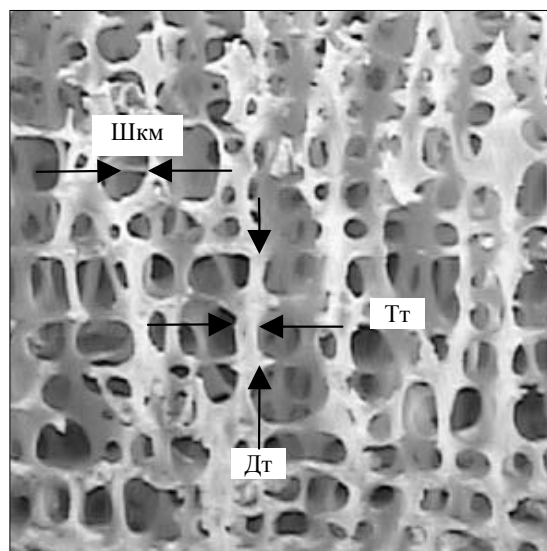


Рис. 2. Фронтальний зріз тіла поперекового хребця людини. Дт – довжина трабекули, Тт – товщина трабекули, Шкм – ширина кістково-мозкового простору. Гематоксилін-еозин. Зб.  $\times 162$ .

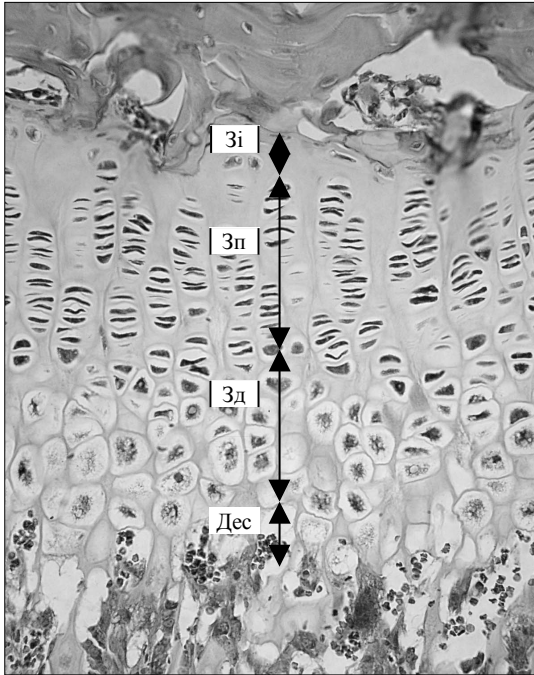


Рис. 3. Проксимальний епіфізарний хрящ великогомілкової кістки лабораторного щура. Zi – зона індиферентного хряща, Zп – зона проліферуючого хряща, Zd – зона дефінітивного хряща, Дес – зона деструктивних хондроцитів. Гематоксилін-еозин. Зб. x162.

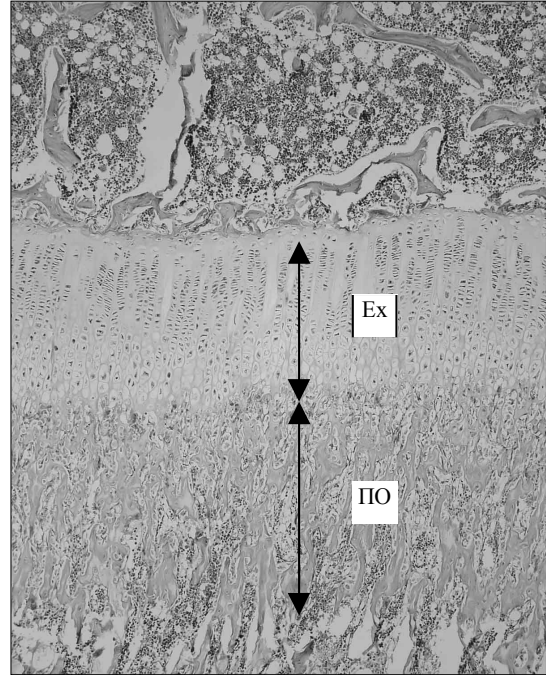


Рис. 4. Проксимальний епіфізарний хрящ великогомілкової кістки лабораторного щура. Ex – епіфізарний хрящ, ПО – зона первинного остеогенезу. Гематоксилін-еозин. Зб. x162.

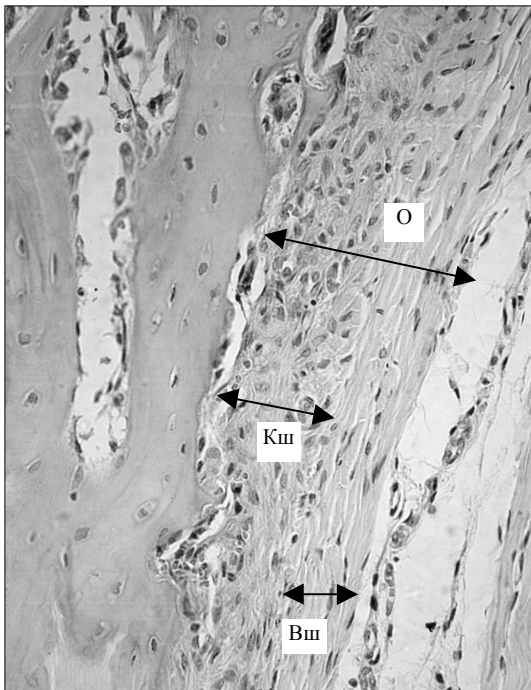


Рис. 5. Окістя на рівні проксимального метафіза великогомілкової кістки лабораторного щура. О – окістя, Кш – камбіальний шар окістя, Вш – волокнистий шар окістя. Гематоксилін-еозин. Зб. x162.

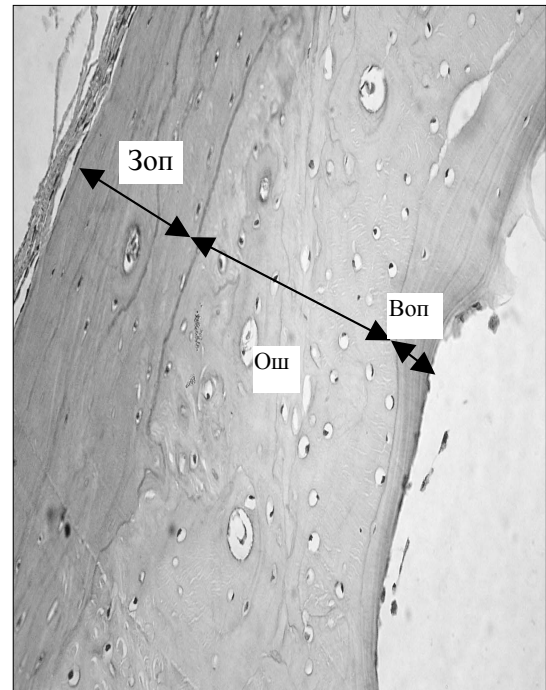


Рис. 6. Середина діафіза великогомілкової кістки лабораторного щура. Зоп – зовнішні прилеглі пластинки, Ош – остеонний шар, Воп – внутрішні прилеглі пластинки. Гематоксилін-еозин. Зб. x162.

кісткоутворення: ширина епіфізарного хряща (мкм) та його зон за класифікацією В.Г.Ковешнікова (1980) – зона індіферентного хряща, проліферуючого хряща, дефінітивного хряща, зона деструкції та первинного остеогенезу (рис. 3), об'ємна частка первинної спонгіози (рис. 4) та міжклітинної речовини. Додатково у зоні проліферуючого хряща досліджують розміри хондроцитів (мкм) – площину, більший та менший діаметри, периметр клітин. Крім того, вимірюють загальну ширину окістя та його шарів (камбіально-го та волокнистого) в зоні метафіза та середини діафіза (мкм) (рис. 5), розміри остеобластів та їх попередників (мкм).

4. Кількісні показники діафіза довгих трубчастих кісток: площа кістко-мозкової порожнини та компактної речовини (мм<sup>2</sup>),

ширина зони зовнішніх та внутрішніх генеральних пластинок (мкм), ширина остеонного шару (мкм) та щільність розташування остеоцитів у ній (на 1 мм<sup>2</sup>), діаметр остеонів та їх каналів (мкм) (рис. 6).

5. Показники остеорезорбції: кількість остеокластів на одиницю площини кісткової тканини (у.о.) [8].

Отже, за допомогою гістоморфометрії кісткової тканини можна визначати кількісні структурно-функціональні зміни кісток скелета, що має велике практичне та теоретичне значення.

Запропоновані методи дослідження можна використовувати для експериментальних, теоретичних та клінічних розробок у галузі морфології та патоморфології кісткової тканини.

### Література

1. Johnell O. The socioeconomic burden of fractures: today and in the 21<sup>st</sup> century // *Am. J. Med.* – 1997. – V. 8, № 18. – P. 20-25.
2. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия: Руководство. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
3. Guo X.E., Kim C.H. Mechanical consequence of trabecular bone loss and its treatment: a three-dimensional model simulation // *Bone*. – 2002. – № 30. – P. 404-411.
4. Hildebrand T., Laib A., Muller R. et al. Direct three-dimensional morphometric analysis of human cancellous bone: microstructural data from spine, femur, iliac crest, and calcaneus // *J. Bone Miner. Res.* – 1999. – № 14. – P. 1167-1174.
5. Ковешніков В.Г., Маврич В.В., Кащенко С.А. Алгоритм морфометрического исследования // *Бук. мед. вісник*. – 2003. – Т. 7, № 3. – С. 180-186.
6. Рожинская Л.Я. Системный остеопороз. – М.: Издатель Мокеев, 2000. – 195 с.
7. Франке Ю., Рунге Г. Остеопороз: Пер. с нем. – М.: Медицина, 1995. – 304 с.
8. Григоровский В.В., Магомедов С. Сравнительная динамика морфометрических и биохимических показателей поражения длинной кости при экспериментальной асептической остеотомии // *Ж. Акад. мед. наук України*. – 1998. – Т. 4, № 4. – С. 691-705.
9. Ревелл П.А. Патология кости: Пер. с англ. – М.: Медицина, 1993. – 368 с.
10. Риггз Б.Л., Мелтон Л.Дж. Остеопороз: Пер. с англ. – М.-СПб.: ЗЛО "Изд-во БИНОМ": "Невский диалект", 2000. – 558 с.

### МЕТОД МОРФОМЕТРИЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ОЦІНКИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ КІСТОК

*В.Г.Ковешніков, С.А.Кащенко, В.В.Маврич*

**Резюме.** У статті наведені методичні прийоми гістоморфометричного дослідження кісткової тканини, завдяки яким можливо вивчити мікроархітектоніку, механізми втрати маси, оцінити дію лікарських препаратів на процес ремоделювання кістки.

**Ключові слова:** морфометрія, трубчаста кістка, періост, хребець.

### A METHOD OF A MORPHOMETRIC RESEARCH AND EVALUATION OF THE STRUCTURAL-FUNCTIONAL STATE OF BONES

*V.G.Koveshnicov, S.A.Kashchenko, V.V.Mavrych*

**Abstract.** The paper deals with methodical modes of a histomorphometric research of the osseous tissue owing to which it is possible to study the microarchitectonics, mechanisms, mass losses, to evaluate the action of medicinal preparations on the process of bone remodelling.

**Key words:** morphometry, tubular bone, periosteum, vertebra.

State Medical University (Lugansk)

Надійшла в редакцію 10.03.2004 р.