

Chem. – 1951. – V. 193, № 1. – P. 265 – 275. 12. *Shilling N.P., Lindenmayer G.E.* Voltage-sensitive calcium flux promoted by vesicles in an isolated cardiac sarcolemma preparation // *J. Membr. Biol.* – 1984. – V. 79, № 2. – P. 163-173. 13. *Spedding M.* Activators and inactivators of Ca⁺⁺ Channels: New perspectives // *J. Pharmacol.* – 1985. – V. 16, № 4. – P. 319-343.

THE CONTRACTILE ACTIVITY OF THE HEART AND POTENTIAL-DEPENDENT TRANSPORT OF CALCIUM IN MYOCARDIAL SARCOLEMMAS UNDER THE INFLUENCE OF PHENYLALCALAMINE AND DEHYDROPYRINE DERIVATIVES

Z.D. Vorobets, R.G. Shykula, M.D. Kursky

Abstract. The effect of calcium antagonists on the contractility of perfused heart and potential-dependent passive calcium transport in vesiculated preparations of myocardial sarcolemma during polarisation and depolarisation were studied. It was shown that verapamil, fenigidine and carbobenzipiride inhibited passive transport of a calcium in myocardial sarcolemma during polarisation by 77%, and 22%. A direct correlation between the effect of these preparations on the activity of Ca⁺⁺-channels of sarcolemma and the contractility of perfused heart.

Key words: heart, sarcolemma, calcium, perfusion.

Danylo Halytskyi State Medical University (Lviv)

УДК 616-091.8-073

І.С.Давиденко

НАПІВАВТОМАТИЧНИЙ КІЛЬКІСНИЙ КОМП'ЮТЕРНИЙ АНАЛІЗ МІКРОСКОПІЧНОГО ЗОБРАЖЕННЯ В ГІСТОПАТОЛОГІЇ

Кафедра патологічної анатомії та судової медицини (зав. – проф. В.С.Прокопчук)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Наводиться власна методика напівавтоматичного кількісного комп'ютерного аналізу мікроскопічного зображення на основі сучасних технічних засобів та програмного забезпечення. Методику випробувано при гістопатологічних дослідженнях.

Ключові слова: кількісний комп'ютерний аналіз, мікроскопічне зображення, гістопатологічні дослідження.

Вступ. Кількісна патологічна анатомія за останні роки виділилася в окремий розділ патології [1]. Ідея перекласти аналіз мікроскопічного зображення на комп'ютерну техніку є привабливою, проте на сьогодні неможлива її реалізація в універсальній і повністю автоматизованій формі. У той же час комп'ютерні засоби дозволяють у напівавтоматичному режимі отримати високоточні, об'єктивні та відтворювані дані у цифрах, які можна легко інтегрувати з кількісними показниками неморфологічних (біохімічних, біофізичних, імунологічних, функціональних тощо) досліджень. Незважаючи на те, що перший аналізатор зображення (“Квантимет”) з'явився ще в 1965 році [2], цей тип апаратури не набув широкого застосування.

Мета дослідження. Розробити методику кількісного комп'ютерного аналізу мікроскопічного зображення на основі сучасних, порівняно доступних технічних засобів та програмного забезпечення.

Матеріали та методи. Використовували для випробувань гістологічні зрізи плаценти людини та нирок щурів, забарвлені гематоксиліном й еозином, а також гістологічні зрізи з проведеними гістохімічними реакціями, що відрізняються стехіометричністю (є пряма відповідність між інтенсивністю забарвлення та кількістю речовини): реакція на білок з бромфеноловим синім, PAS-реакція, реакція на вільні аміногрупи білків з нінгідрином. Випробувано різні типи оптичних системи для одержання збільшення зображення, три типи відеокамер, різне програмне забезпечення.

Результати дослідження та їх обговорення. Основні етапи запропонованої нами методики організації комп'ютерного аналізу мікроскопічного зображення схематично наведено на рис. 1.

Наш досвід підбору засобів для отримання і цифрового перетворення мікроскопічного зображення свідчить про те, що основною вимогою до них є

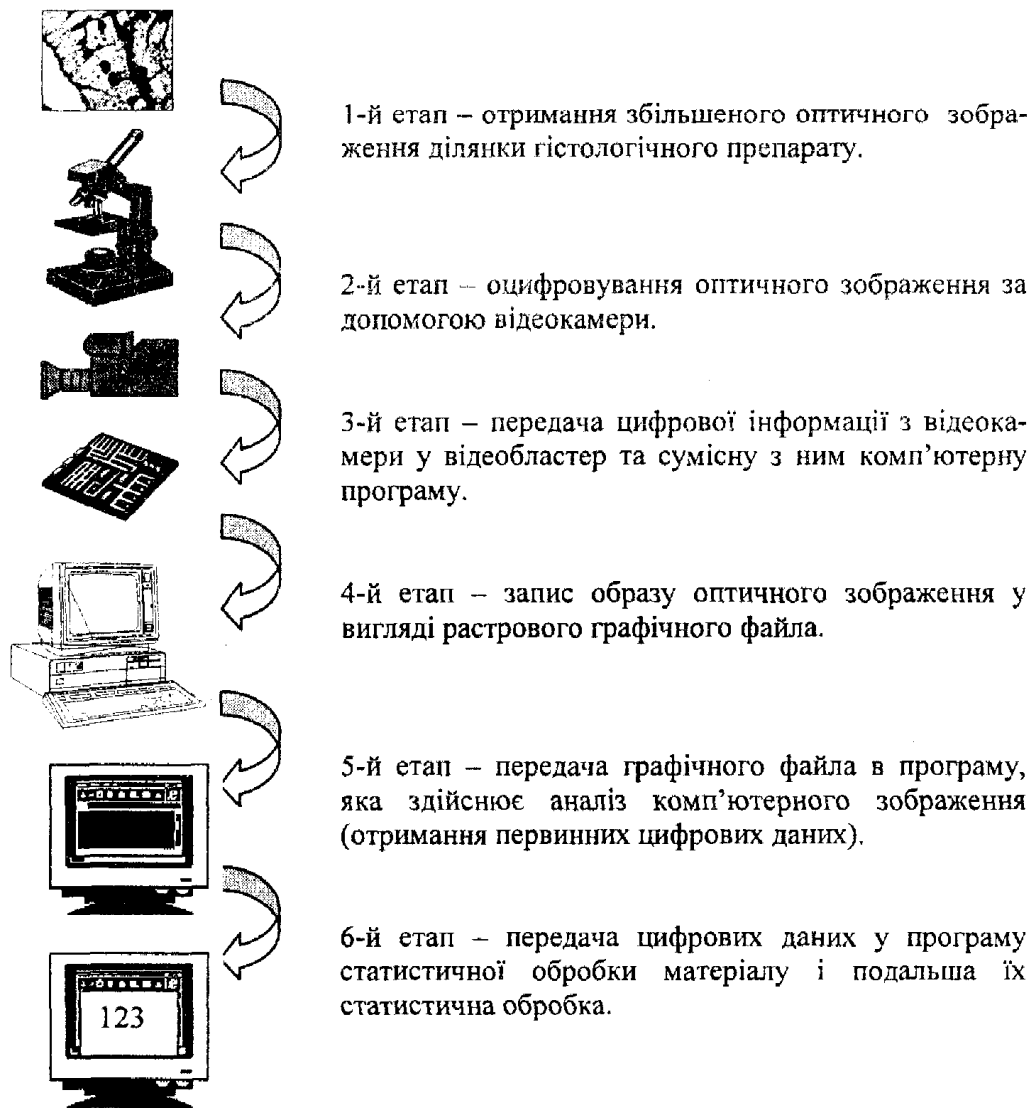


Рис. 1. Принципова схема організації комп'ютерного аналізу мікроскопічного зображення.

взаємна сумісність кожної пари (передатчик-приймач) засобів, за допомогою яких передається інформація.

Найбільш вдалою з тих оптичних систем, що були нам доступні, є мікроскоп МБР-15 (ЛОМО). Особливістю його використання є застосування щільного білого матового фільтру (замість широко вживаного блакитного), просвітленого окуляра, а також насадки, яка захищає об'єктиві відеокамери від пошкодження і водночас створює затемнений канал для світлового потоку з оптичної системи мікроскопа. Застосування спеціальних окулярних реверсних адаптерів [3] є, на наш погляд, невиправданим, оскільки вони дають небажану для морфометричних досліджень сферичну аберацію.

Випробувано два типи відеокамер фірми Panasonic та один – фірми Sony. Найбільш якісне зображення на моніторі комп'ютера з описаною оптичною системою отримано за допомогою відеокамери фірми Panasonic, що генерує відеосигнал із характеристиками: кольоровий узгоджений PAL 1,0 Vp-p, 75 Ом.

Для переведення відеосигналу, що дає на виході відеокамера, в обчислювальну систему комп'ютера нами використано електронну плату, що вставляється в стандартний 16-бітний ISA або 32-бітний EISA слоти системної плати: відеобластер M400 (KetramTech). На панелі цього відеобластера міститься гніздо для штекера стандартного відеокабелю. Вказана системна плата поставляється виробником разом із програмним забезпеченням, яке дозволяє продивлятися на моніторі комп'ютера картину зображення у реальному відеорежимі, тобто динамічно. Таким чином, досягається високий ступінь зручності вибору місць захоплення зображення – дослідник може дивитися тільки на екран монітора. Ця ж програма дозволяє “заморозити” зображення і записати його у одному з розповсюджених форматів растрових графічних файлів. Кількість таких записів файлів обмежена тільки об'ємом носіїв електронної інформації, тобто може сягати десятків тисяч і більше. Якість зображення є достатньо високою: можна отримати зображення у 16,7 млн кольорів із максимальним розв'язуванням 1024x768 пікселів (величиною у весь екран монітора комп'ютера).

Запис полів мікроскопічного зображення у файли з подальшим їх зберіганням у вигляді банків комп'ютерних зображень є, на нашу думку, в більшості випадків більш оптимальним, ніж проведення вимірювань під час безпосередньої роботи з мікроскопом та відеокамерою. Тут має значення і економічна експлуатація відеоапаратури та мікроскопа, і негативний вплив нервового напруження при вимірювальній роботі у динамічному режимі. Основною ж перевагою роботи з попередньо підготовленим банком комп'ютерних зображень є те, що цей банк фактично первинна документація, яка може безстроково зберігатися. При такій організації досліджень завжди можливий повторний комп'ютерний аналіз зображення та перевірка його достовірності та якості. Важливим є також і те, що ці комп'ютерні зображення зручно використовувати у подальшому з демонстраційною метою, відібравши потрібні з них вже після ретельного аналізу.

Наступним етапом є власне кількісний комп'ютерний аналіз зображення. Для цього існують спеціальні програми-аналізатори зображення (ПАЗ). Вони дозволяють професійно провести аналіз зображення за різними параметрами. У нашому розпорядженні є ПАЗ, яка приймає файл і дозволяє на зображенні мікроскопічного об'єкта зробити розмітку: розмістити в необхідних місцях крапки, провести лінії (прямі, ламані та складної форми), позначити плоску фігуру, обвівши її лінією правильної або неправильної форми. Саме в цьому полягає основна участь дослідника у напівавтоматичному кількісному комп'ютерному

аналізі зображення. Серед багатьох можливостей аналізу головними є:

- для **ліній** (прямих, ламаних та будь-якої складної форми): можливість виміру їх довжини, визначення координат початкової та кінцевої крапки, а також координат проміжних крапок. Для прямих ліній можна визначити кут нахилу стосовно горизонтальної осі;

- для **крапок**: можливість визначення їх координат, а також найкоротшої відстані між крапками;

- для **плоских фігур**, оточених замкнутою лінією як правильної (округлої, овальної, прямокутної, квадратної), так і будь-якої неправильної форми: можливість визначення площі, периметра, показників центроїда та окатаності (подібності до кола).

Необхідно зазначити, що точність вимірювання за допомогою комп'ютерних засобів залежить тільки від властивостей конкретної оптичної системи, що використовується. Це важливо, адже відомо, що найбільша похибка при морфометрії мікроскопічних об'єктів виникає саме внаслідок використання фабричних шкал вимірювання з порівняно великими відстанями між поділами на шкалі. Ці відстані принципово неможливо зменшити, бо інакше людське око не зможе розрізнити поділки на шкалі. В ПАЗ можна набагато збільшити зображення мікрооб'єкта, а шкала вимірювання при цьому залишається тією ж самою. Завдяки цьому досягається мала відносна похибка вимірювання, що дає загалом високу точність замірів.

Особливо слід відмітити можливість ПАЗ проводити денситометрію (вимірювання оптичної щільності об'єкта), що може в багатьох випадках замінити мікроспектрофотометричний та цитофотометричний аналіз. Комп'ютерна денситометрія дозволяє об'єктивно визначити інтенсивність гістохімічної реакції. Зробити це можна не менш точно, ніж при використанні мікроспектрофотометра, який є еталоном для приладів, що призначені для кількісного визначення інтенсивності гістохімічної та цитохімічної реакції. Якщо реакція є стехіометричною, то можна визначити в тканині або клітині кількість тієї чи іншої речовини, на яку проводилась реакція.

Результати вимірювання у більшості випадків можна відобразити як у абсолютних, так і у відносних цифрах.

Отримані цифрові дані передають у програму для статистичної обробки, де здійснюють математичні обрахунки з описової статистики та інших статистичних методів. Кореляційний же аналіз дозволяє інтегрувати дані морфометричних досліджень із неморфологічними кількісними даними.

Література. 1. Автандилов Г.Г. Количественная патологическая анатомия - важная основа развития диагностической медицины // 2-й Съезд Международного союза ассоциаций патологоанатомов : Тезисы докладов, Москва, 1999. - С. 7-8. 2. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. - М. : Медицина, 1990. - 384 с. 3. Carlson S. Home movies of an invisible world // Scientific american. - 1998. - Vol. 279, N 4. - P. 90-92.

EXPERIENCE OF ORGANIZATION OF THE SEMI-AUTOMATIC QUANTITATIVE COMPUTER ANALYSIS OF MICROSCOPIC IMAGES OF HISTOPATHOLOGICAL SLIDES

I.S. Davydenko

Abstract. The author has described his own plan of organization of the semi-automatic quantitative computer analysis of microscopic images on the basis of accessible modern devices. The

plan was tested while carrying out histopathological researches.

Key words: quantitative computer analysis, microscopic image, histopathological researches.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)
