

УДК 611.738.14.018-053.15/31:001.8

А.В. Васильчишина, Т.В. Хмара, О.В. Цигикало*

*Кафедра анатомії людини імені М.Г. Туркевича (в.о. зав. – проф. В.В. Кривецький) ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”, *кафедра здоров'я людини, рекреації та фітнесу (зав. – доц. Ю.Ю. Мосейчук) Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича*

НАУКОВА МЕТОДОЛОГІЯ ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУР СІДНИЧНОЇ ДІЛЯНКИ В ПЕРИНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ ЛЮДИНИ

Резюме. У роботі висвітлена раціональність алгоритму методів морфологічного дослідження топографоанатомічних взаємовідношень складових структур сідничної ділянки в перинатальному періоді онтогенезу людини. Послідовність і адекватність поєднання класичних і сучасних методів морфологічного дослідження: антропометрії, ін'єкції судин, рентгенографії, макромікроскопії, виготовлення гістотопографічних зрізів, морфометрії, тривимірного комп'ютерного реконструювання і статистичної обробки цифрових даних забезпечує високу репрезентативність отриманих результатів щодо типової і варіантної анатомії м'язів, фасціально-клітковинних просторів і судинно-нервових утворень сідничної ділянки у плодів і новонароджених людини.

Ключові слова: сіднична ділянка, методи, онтогенез, людина.

Дослідження особливостей будови, з'ясування варіантної анатомії та топографоанатомічних взаємовідношень складових структур сідничної ділянки в динаміці перинатального розвитку потребують застосування відповідного комплексу методів морфологічного дослідження. У вивченні анатомічних особливостей сідничної ділянки людини у віковому аспекті вагоме значення набувають методологія морфологічного дослідження, раціональність алгоритму задіяних методик, адекватність їх поєднання та наукова результативність зіставлення класичних методів досліджень із сучасними методами медичної діагностичної візуалізації [1-3]. Виконання етапів наукового дослідження в раціональній послідовності забезпечує не тільки високу репрезентативність і статистичну цінність отриманих результатів, але й раціональне використання матеріалу [4].

Мета дослідження: винайти та апробувати методи морфологічного дослідження складових утворень сідничної ділянки в перинатальному періоді онтогенезу людини.

Матеріал і методи. Дослідження типової і варіантної анатомії м'язів, фасціально-клітковинних просторів і судинно-нервових пучків сідни-

чної ділянки проведено на 82 препаратах плодів 6-10 місяців 186,0-375,0 мм тім'яно-куприкової довжини (ТКД) і 10 новонароджених людини без зовнішніх ознак анатомічних відхилень чи аномалій розвитку. Дослідження препаратів плодів масою 500,0 г і більше, а також новонароджених проведено у Чернівецькій обласній комунальній медичній установі “Патологоанатомічне бюро” з дотриманням основних положень біоетики та згідно з договором про співпрацю. Окрім цього, для дослідження анатомічної будови структур сідничної ділянки використані препарати плодів і мертвонароджених людини з колекції музею кафедри анатомії людини імені М.Г. Туркевича Вищого державного навчального закладу “Буковинський державний медичний університет”. Для з'ясування особливостей розвитку, перинатальної динаміки анатомічних змін та становлення топографії сідничної ділянки застосовано комплекс методів морфологічного дослідження, які для дотримання наукової методології досліджувалися в такій послідовності: 1) антропометрія; 2) ін'єкція судин; 3) рентгенографія; 4) макромікроскопія; 5) виготовлення гістотопографічних зрізів; 7) морфометрія; 8) тривимірне комп'ютерне реконструювання; 9)

© А.В. Васильчишина, Т.В. Хмара, О.В. Цигикало, 2015

статистична обробка цифрових даних. Послідовність препарування м'язів, фасціально-клітковинних просторів і судинно-нервових утворень сідничної ділянки у плодів і новонароджених людини здійснювали за запропонованою нами методикою [5]. Використана послідовність препарування сідничної ділянки максимально зберігає натуральність співвідношень між об'єктами дослідження.

Результати дослідження та їх обговорення.

Важливим етапом анатомічного дослідження є антропометрія, яка дозволяє визначити вік плода і новонародженого. Усі трупи плодів та новонароджених до фіксації вимірювали для визначення віку. Віковий склад об'єктів дослідження визначали за зведеними таблицями Б.М. Пэттенa [6], А.Г. Кнорре [7], Б.П. Хватова і Ю.Н. Шаповалова [8] на підставі визначення за допомогою сантиметрової стрічки ТКД. Поперечні розміри (відстань між передніми верхніми клубовими остями тощо) – за допомогою штангельного чи товстотного циркулів; кути – за допомогою транспортирів, гоніометрів чи спеціальних кутомірів [9-11]; обводи тіла та кінцівок – за допомогою сантиметрової стрічки.

Ін'єкцію судин виконували для подальших макромікроскопічного і рентгенологічного досліджень, тривимірного комп'ютерного реконструювання. Трубочасті структури, заповнені поліхромними ін'єкційними сумішами, значно легше ідентифікувати після фіксації під час препарування та реконструювання. Застосування поліхромних рентгенконтрастних речовин (суміш для ін'єкції артерій складається із свинцевого сурику, спирту та гліцерину; суміш для ін'єкції вен складається з барію, гліцерину, спирту та метиленового блакитного), полімерів у складі ін'єкційних мас, дозволяє використовувати декілька методів дослідження на одному препараті (макромікроскопію, рентгенографію, реконструювання тощо) [4, 12].

Ін'єкцію судин артеріальної системи здійснювали через катетер, введений у грудну частину аорту з боку лівої плевральної порожнини через задньобічний доступ у 6-му міжребровому просторі. Ін'єкцію судин венозної системи здійснювали на нефіксованих трупах плодів та новонароджених. Заповнення сумішами дрібних кровоносних судин контролювали за допомогою лапароскопа [13-14]. У 6 місячних плодів рентгеноконтрастну суміш вводили через катетер, введений у проксимальну частину нижньої порожнистої вени. Доступ – передньобічна торакотомія справа в шостому міжребер'ї. Із плевральної порожнини розтинали перикард та праве передсердя, через яке вводили катетер у нижню порожнисту вену на 1,0-1,5 см нижче діафрагми і закріплювали

його лігатурою з боку осердної порожнини. У плодів старших шести місяців та в новонароджених рентгенконтрастні суміші вводили через пупкову вену.

Для вивчення особливостей скелетотопії, синтопії, ангіоархітектоніки та кровопостачання сідничної ділянки в плодів та новонароджених застосовували метод рентгенографічного дослідження [4]. Після ін'єкції судин рентгеноконтрастними сумішами на основі сірчаноокислого барію, свинцевого чи залізного сурика препарати фіксували впродовж 20 діб, а потім проводили оглядову рентгенографію на апараті ER-750В. При цьому напруга на трубі становила 40-50 кВ, сила струму – 25-50 мА, фокусна відстань – 90 см, експозиція – 25-34 с. Для вивчення скелетотопії, синтопії верхніх і нижніх сідничних судин використовували контрастні мітки та апікаційну суміш на основі барію сірчаноокислого та клею БФ-2. Після виготовлення препарату рентгенографію повторювали для чіткої візуалізації дрібних судин. Для вивчення артерій і вен одночасно на одному препараті рентгенконтрастні суміші готували на основі рентгенконтрастної речовини та барвника.

Мікромаскопію здійснювали під контролем збільшувальної оптики на фіксованих за нашою методикою препаратах [15]. Для фіксації готували три види розчинів формаліну: 5%, 10% та забуферений нейтральний розчин (формалін (40% розчин формальдегіду) – 100 мл, однозаміщений натрію фосфат – 4 г, безводний двоаміщений натрію фосфат – 6,5%, вода дистильована – до 1000 мл).

Перед фіксацією забирали матеріал для гістологічного дослідження і фіксували його в забуференому нейтральному формаліні. Для запобігання забруднення розчину кров'ю, меконієм, фрагментами плодових оболонок, ін'єкційними сумішами і розчинниками, свіжий препарат ретельно промивали і, обережно розітнувши порожнини тіла невеликими розрізами, поміщали в 5% формалін для "проміжної" фіксації при 5-10°C на 3 доби. У порожнини тіла плода вводили іригатори. Для іммобілізації кінцівок плодів у фронтальній площині їх тіл застосовували каркас власної конструкції. Завдяки цьому надалі значно полегшувалися рентгенографічне та макроскопічне дослідження. Перед заключною фіксацією робили оглядові рентгенівські знімки таза з використанням контрастних міток та апікаційних сумішей. Остаточна фіксація і зберігання препаратів між етапами дослідження тривали в 10% формаліні.

Під контролем збільшувальної оптики (2^x-3^x) відпрепарували структури сідничної ділянки. Заповнені сумішшю судини набагато легше іден-

тифікувати і виділяти з прилеглих тканин без порушення їхньої цілісності. Усі етапи дослідження фотодокументували [16].

Дані вимірювань структур сідничної ділянки та виявлені топографоанатомічні особливості заносили в протокол, а згодом систематизували в електронні таблиці для математичної та статистичної обробки.

Із кожної серії гістотопографічних зрізів виготовляли тривимірні комп'ютерні реконструкції для вивчення просторової будови та топографії сідничної ділянки. Для їх тривимірного реконструювання та морфометрії використовували запропоновані способи [12, 17-19]. Для цього за загальноприйнятою методикою виготовляли парафіновий блок із препаратом, закріплювали його в об'єктиві мікротома, задавали товщину виконання послідовних зрізів (8 мкм). На штативі закріплювали цифрове мікрофотографічне устаткування, фокусували оптичну систему на поверхні блока (оптична вісь її повинна бути перпендикулярною до площини руху мікротомного леза), кадрували зображення, моделювали освітлення. Поліхромна ін'єкція кровоносних судин, яку ми виконували плодам і новонародженим, значно полегшує ідентифікацію артерій і вен.

Після кожного робочого руху мікротомного леза фотографували поверхню парафінового блоку з препаратом. На перший кадр фотографували мікрометричну шкалу в площині зрізу з метою масштабування та калібрування морфомет-

ричного модуля комп'ютерної програми для реконструювання та морфометрії. З окремих зрізів виготовляли гістологічні препарати. Із серії отриманих цифрових зображень за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення (Virtual Anatomist) виготовляли тривимірну комп'ютерну модель досліджуваної анатомічної структури, виконували морфометрію.

Для побудови тривимірного комп'ютерного зображення виконували вручну, за допомогою графічного маніпулятора Wacom, поверхневий рендерінг. Він передбачає окреслення анатомічної структури на кожному зрізі певним кольором, що дозволяє чітко уявити їх форму, взаєморозміщення, відносні розміри тощо. Крім того, є можливість досить точно проводити морфометрію – визначати розміри, кути, площу, об'єм.

Алгоритм виготовлення тривимірної комп'ютерної реконструкції одночасно з гістологічними препаратами має таку послідовність операцій (рисунок):

1. Оцифрування зрізів (отримання серії послідовних зрізів у вигляді графічних файлів);
2. Завантаження серії файлів у комп'ютерну програму для реконструювання;
3. Калібрування серії (визначення розміру пікселя та вокселя);
4. Сегментація (обведення на кожному зрізі структур, які вивчаються);
5. Рендерінг (об'ємний чи поверхневий) – створення просторової моделі.



Рисунок. Алгоритм етапів гістологічного дослідження та тривимірного комп'ютерного реконструювання

Для того, щоб комп'ютерна реконструкція відповідала всім пропорціям оригіналу і для уникнення похибок під час її морфометрії, проводили калібрування кожної серії послідовних графічних файлів. У комп'ютерну програму вводили розміри пікселя (координати X, Y) та розмір вокселя (координата Z) графічного файла. Наприклад, якщо ширина кожного графічного файла послідовної серії, яка підлягає реконструюванню, дорівнює 1200 пікселів, що, відповідно до мікрометричної лінійки, є тотожним 19,0 мм, то розмір одного пікселя дорівнює 0,0158 мм (19:1200). Розмір вокселя – це міра товщини зрізу (координата Z), залежить від товщини препарату та кількості виготовлених з нього зрізів. Наприклад, товщина препарату – 4,0 мм, а кількість виготовлених зрізів (графічних файлів) – 350. У такому випадку розмір вокселя дорівнює 0,0114 мм (4:350). Наш досвід показує, що недоцільно завантажувати в програму для реконструювання всю серію зрізів, оскільки ручна сегментація кількох сотень файлів трудомістка, а їхній рендерінг вимагає колосальних ресурсів комп'ютера. Найкращі результати отримані під час обробки серії з 60-80 файлів. Для цього ми відбирали кожен третій чи кожен четвертий файл та перерахувати розмір вокселя. Наприклад, із 350 файлів-зрізів, виготовлених із препарату товщиною 4,0 мм, ми відібрали кожен 5-й зріз, тобто 70 файлів. У такому разі розмір вокселя дорівнює 0,058 (4:70).

Під час дослідження серії гістологічних зрізів контрастованої судинної системи препарату сідничної ділянки ми застосовували один із видів тривимірного комп'ютерного реконструювання – об'ємний рендерінг. Для цього немає необхідності проводити ручну сегментацію структур, які вивчаються. Слід зазначити, що це можливо лише тоді, коли зображення зрізів побудовано з одного-двох кольорів, тобто є градієнт, який дозволяє комп'ютерній програмі точно визначити межі анатомічних структур. У даному випадку – це межа між контрастом у судині та суміжними тканинами без контрасту. Такий спосіб тривимірного реконструювання дозволяє вивчати форму конт-

растованих трубчастих структур та вимірювати їхній об'єм.

Із серії цифрових зображень за допомогою відповідного програмного забезпечення виготовляли тривимірну реконструкційну модель досліджуваних структур і проводили морфометрію. Головними перевагами способу є: 1) простота виготовлення послідовної серії цифрових зображень анатомічного препарату; 2) вирішення проблеми дотримання послідовності та точного зіставлення зображень; 3) можливість точно вимірювати кути між анатомічними структурами та їх розміри в потрібних площинах.

Вимірювання кутів між структурами сідничної ділянки та їх розмірів здійснювали за допомогою штангенциркуля, транспортиру, окуляра з мікрометром. Морфометрію анатомічних структур на їхніх тривимірних реконструкційних моделях здійснювали за допомогою комп'ютерного програмного забезпечення для реконструювання та морфометрії.

Статистична обробка матеріалів проводилась з використанням обчислювальної техніки з програмним забезпеченням у вигляді математичного апарату електронних таблиць “StatPlus 2005 Professional 3.5.3” (Analyst Soft). Для аналізу отриманих даних використовували загальноприйняті методи описативної статистики.

При обробці результатів, що потрапляли під нормальний розподіл, використовували методи варіаційної статистики з врахуванням середньої арифметичної величини та середньоквадратичної помилки середньої арифметичної. Вірогідність отриманих результатів визначалася за допомогою критерія надійності Ст'юдента (t). Для твердження про вірогідність відмінностей бралася загальноприйнята в медико-біологічних дослідженнях величина рівня вірогідності – $p < 0,05$.

Висновок. Запропонований та апробований комплекс методів морфологічного дослідження структур сідничної ділянки у перинатальному періоді онтогенезу людини забезпечує стандартність одержання даних щодо топографії її м'язів, фасціальних-клітковинних просторів та судинно-нервових утворень.

Список використаної літератури

1. Moore K.L. *Color Atlas of Clinical Embryology* / K.L. Moore, T.V.N. Persaud, K. Shiota. – [2nd ed.]. – Philadelphia : Elsevier Science, 2000. – 158 p.
2. Main pancreatic duct, common bile duct and sphincter of Oddi structure visualized by optical coherence tomography: An ex vivo study compared with histology / P.A. Testoni, A. Mariani, B. Mangiavillano [et al.] // *Digestive and Liver Disease*. – 2006. – Vol. 38, № 6. – P. 409-414.
3. Abdominal virtual ultrasonographic images reconstructed by multi-detector row helical computed tomography / M. Hirooka, H. Iuchi, K. Kurose [et al.] // *Eur. J. Radiol.* – 2005. – № 53. – P. 312-317.
4. Ахтемійчук Ю.Т. Методика вивчення топографічної анатомії органокмлексів плодів та новонароджених людини рентгенполіконтрастною ін'єкцією судин та порожнистих органів / Ю.Т. Ахтемійчук,

О.В. Цигикало, С.О. Лісничок // Сучасні проблеми клінічної та теоретичної медицини: наук.-практ. конф. (м. Суми, 20–22 квітня 2005 р.): матер. конф. – Суми, 2005. – С. 42-43. 5. Особливості анатомічного пренапування м'язів, фасціально-клітковинних просторів і судинно-нервових утворень сідничної ділянки у плодів людини / Т.В. Хмара, А.В. Васильчишина, А.О. Лойтра [та ін.] // Укр. мед. альманах. – 2013. – Т. 16, № 1. – С. 105-108. 6. Пэттен Б.М. Эмбриология человека / Б.М. Пэттен. – М.: Медгиз, 1959. – 768 с. 7. Кнорре А.Г. Эмбриональный гистогенез / А.Г. Кнорре. – Л.: Медицина. – 1971. – 432 с. 8. Хватов Б.П. Ранний эмбриогенез человека и млекопитающих / Б.П. Хватов, Ю.Н. Шаповалов. – М.: Медгиз, 1969. – 183 с. 9. Ахтемійчук Ю.Т. Пристрій для вимірювання кутів та розмірів анатомічних структур / Ю.Т. Ахтемійчук, О.В. Цигикало, І.В. Темірко // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: тр. Крымского гос. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского. – 2006. – Т. 142, ч. 1. – С. 128-129. 10. Деклар. патент 13554 (Україна). МПК А 61 В 1/00. Пристрій для вимірювання кутів та розмірів анатомічних структур / Ахтемійчук Ю.Т., Цигикало О.В., Темірко І.В. (Україна). – № и2005 07790; заявл. 05.08.2005; опубл. 17.04.2006. Бюл. № 4. – 2 с. 11. Treckhaus L. A new method of three-dimensional reconstruction of complicated structures by combining an automatic and interactive computer technique / L. Treckhaus, D.W. Liibbers, G. Rager // Microsc. Acta. – 1979. – Vol. 3. – P. 235-240. 12. Ахтемійчук Ю.Т. Спосіб тривимірного реконструювання мікроскопічних анатомічних структур / Ю.Т. Ахтемійчук, О.В. Цигикало, Д.М. Лівак // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: тр. Крымского гос. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского. – 2006. – Т. 142, ч. 1. – С. 128. 13. Цигикало О.В. Лапароскоп для морфологічних досліджень плодів людини / О.В. Цигикало, Ю.Т. Ахтемійчук, П.М. Скорейко // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: тр. Крымского гос. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского. – 2006 – Т. 142, ч. 1. – С. 133-134. 14. Деклар. патент № 12633 Україна. МПК (2006) А61В 17/00, А21Д 8/04. Лапароскоп для морфологічних досліджень плоду людини / Ахтемійчук Ю.Т., Цигикало О.В., Скорейко П.М.; заявник і патентоволодар Буковинський державний медичний університет. – № и200508251; заявл. 22.08.2005; опубл. 15.02.2006. Бюл. № 2. 15. Ахтемійчук Ю.Т. Методика фіксації препаратів плодів людини для комплексного морфологічного дослідження / Ю.Т. Ахтемійчук, О.В. Цигикало, П.М. Скорейко // Сучасні проблеми клінічної та теоретичної медицини: матер. наук.-практ. конф. – Суми, 2005. – С. 42. 16. Ахтемійчук Ю.Т. Фотодокументування морфологічних досліджень / Ю.Т. Ахтемійчук, О.В. Цигикало // Вісн. морфолог. – 2000. – Т. 6, № 2. – С. 327-329. 17. Ахтемійчук Ю.Т. Підготовка серій цифрових зображень для тривимірного комп'ютерного реконструювання анатомічних структур / Ю.Т. Ахтемійчук, О.В. Цигикало // Актуальні проблеми функціональної морфології та інтегративної антропології: наук.-практ. конф., присв. 30-річчю науково-дослідної лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку (м. Вінниця, 20–21 травня 2009 р.): матер. конф. – Вінниця, 2009. – С. 23. 18. Цигикало О.В. Метод контрастного епіскопичного тривимірного реконструювання мікроскопічних анатомічних структур / О.В. Цигикало // Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології: 3-й наук. симпозіум (м. Чернівці, 10 квітня 2012 р.): матер. симпозіуму. – Чернівці: БДМУ, 2012. – С. 52-53. 19. Патент на корисну модель № 85504 (Україна). МПК (2013.01) А61В 5/00. Спосіб тривимірного комп'ютерного реконструювання мікроскопічних анатомічних структур / Цигикало О.В., Бойчук Т.М., Антонюк О.П., Кашиперук-Карпюк І.С.; заявник і патентовласник Буковинський державний медичний університет. – № и201305497; заявл. 29.04.2013; опубл. 25.11.2013. Бюл. № 22.

НАУЧНАЯ МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРУКТУР ЯГОДИЧНОЙ ОБЛАСТИ В ПЕРИНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА ЧЕЛОВЕКА

Резюме. В работе освещена рациональность алгоритма методов морфологического исследования топографоанатомических взаимоотношений структур ягодичной области в перинатальном периоде онтогенеза человека. Последовательность и адекватность сочетания классических и современных методов морфологического исследования: антропометрии, инъекции сосудов, рентгено-

графии, макромикроскопии, изготовления гистотопографических срезов, морфометрии, трехмерного компьютерного реконструирования и статистической обработки цифровых данных обеспечивает высокую репрезентативность полученных результатов про типичную и вариантную анатомию мышц, фасциально-клетчаточных пространств и сосудисто-нервных образований ягодичной области у плодов и новорожденных человека.

Ключевые слова: ягодичная область, методы, онтогенез, человек.

SCIENTIFIC METHODOLOGY OF STUDYING THE GLUTEAL REGION IN THE PERINATAL PERIOD OF HUMAN ONTOGENESIS

Abstract. The paper deals with the algorithm rationality of the methods of morphological studying topographical and anatomical relationships between constituent structures of the gluteal region in the perinatal period of human ontogenesis. Consistency and adequacy of combination of classical and modern morphological examinations: anthropometry, vascular injection, radiography, macro and microscopy, making histotopographic sections, morphometry, three-

dimensional computed reconstruction and statistical processing of digital data – ensure a high representativeness of the results obtained concerning the typical and variant anatomy of muscles, fascial-cellular spaces and neurovascular gluteal structures in human fetuses and newborns.

Key words: gluteal region, methods, ontogenesis, human being.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Надійшла 24.09.2015 р.

Рецензент – проф. Слободян О.М. (Чернівці)