

Методические особенности стереологического анализа дистракционного регенерата

М.М. Щудло

Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова, г. Курган
(Генеральный директор — академик РАМТН, д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ В.И. Шевцов)

Рассмотрены особенности дистракционного регенерата, диктующие соответствующие методические подходы при его стереологическом анализе. Так, неоднородность компонентов регенерата по тканевому составу и рентгеновской плотности позволяют использовать в качестве его двумерных эквивалентов как гистологические срезы, так и рентгенограммы или компьютерные томограммы. Преимущественно продольная ориентация структур регенерата как следствие влияния однонаправленной дистракции требует строго поперечного среза длинной оси кости расположения плоскостей гистологических и томографических срезов и достаточного их количества для обеспечения репрезентативности. Отмечена зависимость между толщиной срезов и размерами анализируемых структур, а также предпочтительность использования относительных количественных параметров перед абсолютными величинами.

Ключевые слова: кость, дистракционный регенерат, стереологический анализ

Дистракционный регенерат - новообразующийся в условиях искусственно созданного дозированного растяжения участок кости - в каждый конкретный момент времени имеет определенный объем, в котором тем или иным образом распределены составляющие его компоненты. Как и подавляющее большинство других биологических объектов, дистракционный регенерат непрозрачен для световых лучей, и потому внутреннее его строение не может быть изучено при обычном осмотре. Соответственно, к регенерату применимы принципы стереологического анализа, ориентированные на получение средних, статистически достоверных математических характеристик (число интересующих структур, их объем, площадь поверхностей и т.д.) пространственной организации трехмерного объекта по его двумерным изображениям (шлифам, срезам, проекциям и т.п.). Для такого исследования требуется применение специальных технических приемов и оборудования, позволяющих разложить объект на тонкие до прозрачности срезы, в которых различные тканевые компоненты контрастированы соответствующим образом (например, дифференциальной окраской). В зависимости от цели и способа исследования толщина срезов может быть различной: для макро-микроскопического морфологического описания нужны срезы большой площади (гистотопограммы), они могут иметь толщину >10 микрометров; для гистологического изучения пригодны целлоидиновые (7-10 мкм) либо парафиновые (5-7 мкм) срезы площадью до 1 см^2 ; для цитологических исследований и морфометрии на светооптическом уровне предпочтительны полутонкие (0,5-1,0 мкм), а на электронномикроскопическом - ультратонкие

(толщиной $< 0,1$ мкм) срезы. Толщина срезов должна быть меньше размеров измеряемых структур, иначе результаты будут сильно искажены в следствие затенения светлых компонентов темноокрашенными.

Изучение отдельных срезов позволяет получить лишь отрывочную, случайную информацию о регенерате; для достоверной характеристики необходима серия срезов, и чем эта серия более полная (чем меньше интервалы между срезами), тем более она репрезентативна - достаточна для получения объективной информации о трехмерном объекте по его двумерным эквивалентам.

Особо следует подчеркнуть, что репрезентативность серии определяется не только количеством, но и правильно выбранной ориентацией срезов. Для изоморфных объектов она может быть случайной. Но дистракционный регенерат, формирующийся под действием однонаправленных сил, обладает, как известно, выраженной анизоморфностью - составляющие его компоненты ориентированы строго по вектору растяжения; в таких случаях репрезентативны лишь те срезы, плоскость которых перпендикулярна направлению расположения большинства структур объекта. При другой ориентации часть структур просто выпадает из поля зрения (как, например, питательная артерия в большинстве продольных срезов кости), при замерах остальных возникает существенная погрешность. Иными словами, при удлинении конечности для стереологической характеристики дистракционного регенерата необходима достаточно полная серия его поперечных срезов.

Такую серию можно изготовить посмертно при работе с экспериментальным материалом.

В клинике для аналогичных, но прижизненных исследований дистракционного регенерата в качестве его двумерных эквивалентов могут быть использованы поперечные компьютерные томограммы, в крайнем случае - стандартные рентгенограммы как двумерные проекции объекта. Благодаря различной рентгеновской плотности структур регенерата их тени, формирующие изображение, соответственно отличаются по оптической плотности и могут быть измерены.

При этом можно рассчитывать любые стереологические параметры, в том числе и наиболее интересный для дистракционного регенерата - объемные отношения (V_v) составляющих его компонентов, которым соответствуют отношения площадей (AA) следов этих структур в гистологических срезах или рентгеновских изображениях. С этой целью можно применить

метод точко-счетной объемометрии, основанный на "принципе Делессе": $V_v = AA$, как в ручном, так и компьютерном вариантах. Необходимо особо подчеркнуть предпочтительность именно относительных показателей, которые позволяют устранить влияние индивидуальных особенностей, таких, например, как различная исходная толщина диафиза, неизбежно проявляющихся при работе с абсолютными величинами.

Пробный анализ рентгенограмм по этому параметру даже на небольшом экспериментальном материале продемонстрировал его высокую информативность и позволил вскрыть ранее неизвестные зависимости, достаточные, в частности, для прогнозирования продолжительности этапа фиксации («Гений Ортопедии», 1996, № 1, С. 6-13).

Рукопись поступила 14.07.97 г.