

DOI 10.31718/2077-1096.20.1.186

УДК 616-073.7-085

**Шерстюк О.О., Свиницкая Н.Л., Р.Л., Устенко Р.Л.,  
Пилюгин А.В., Каценко А.Л., Литовка В.В.****СТЕРЕОМОРФОЛОГИЯ: ИСТОРИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЕ РАЗВИТИЯ  
ДЛЯ ТЕОРИИ И ПРАКТИКИ МЕДИЦИНЫ**

Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава

*В статье показано, что от развития науки и качества подготовки квалифицированных специалистов, которые обеспечивают современный научный процесс, зависит не только здоровье нации, но и судьбы народов, населяющих Землю, и будущее самой планеты. В статье освещены этапы научной анатомии, результаты и перспективы ее развития. Выделены цели, задачи, методы и результаты собственных исследований на основе стереоморфологического метода изучения полых и паренхиматозных внутренних органов и желез. В статье приведена уникальная методика, позволяющая получать трехмерное представление о сосудах тела человека, способствующая пространственному восприятию архитектоники экстра- и интраорганного кровеносного русла - инъекционно-коррозионный метод, разработанный голландским ученым Рюйшем. Отмечено, что «изюминкой» музея кафедры анатомии человека Украинской медицинской стоматологической академии является богатая коллекция инъекционно-коррозионных препаратов внутренних органов человека и животных. Этот классический метод с учетом индивидуальных модификаций позволяет получить точную высококачественную объемную копию кровеносного русла внутреннего органа или отпечатка (слепка) стенок полого органа, пригодных для дальнейшего проведения морфологических исследований. На примере инъекционно-коррозионных препаратов кровеносного русла желудка человека были изучены особенности его стереоангиоархитектоники. В статье освещена разработанная на кафедре анатомии человека Украинской медицинской стоматологической академии методика стереоморфологического исследования предстательной, больших и малых слюнных и слезной желез, которая имеет свое отображение в ряде научных работ сотрудников профессорско-преподавательского состава. В частности, рассмотрены результаты пластического трехмерного реконструирования на примере эпителиальных структур предстательной железы и малых слюнных, слезных желез человека*

Ключевые слова: анатомия, морфология, стереоморфология, инъекционно-коррозионный метод, многослойная пластическая реконструкция.

Наука сегодня – это нервная система современного урбанистического общества. От ее развития и качества подготовки ученых, которые обеспечивают научный процесс, зависит не только здоровье людей, но и судьбы народов, населяющих Землю, и будущее самой планеты. Наиболее перспективные разработки в настоящее время осуществляются именно в биологии, а значит - в анатомии человека, в частности. Традиционно этап научной анатомии принято отсчитывать от эпохи Андрея Везалия (XVI в.), и этот этап продолжается до настоящего времени. В нем различают макроскопическую (описательную) анатомию - это эпоха Возрождения (XVI-XVII в.), микроскопическую (эволюционно-функциональную XVII-XX в.) и ультрамикроскопическую анатомию (молекулярную XX-XXI в.). Практически во все эти периоды времени описание учеными макро- и микробиологических объектов стремилось к их исследованию с позиций трехмерности пространства, дающее нам стереоскопическое (3D) наиболее полное и правильное восприятие объекта, свойственное основному анализатору человека – органу зрения. Однако, в микроанатомии (гистологии) исследования проводились практически на двухмерных (2D) изображениях – гистологических срезах и их микрофотографиях, у которых толщина среза не сопоставима с его длиной и шириной. Для интерпретации данных на всех этапах развития

морфологии (анатомии) использовались арифметика, математика, высшая математика, кибернетика, геометрия, морфометрия, компьютерное моделирование и др.

В результате такого симбиоза методик постепенно появлялись соматоскопия, соматометрия, антропометрия, компьютерная морфометрия, стереология, стереоморфология.

В термине «стереоморфология» включены 2 слова – одно из них «морфология» (его в науку ввел Гете, великий немецкий поэт и натуралист). Морфология – это наука о форме объектов и их свойствах, зависящих от формы. Стереология – это система методов, разработанная на основе аналитической геометрии и математики (теории вероятности), которые предназначены для исследования 3D структур по их двумерным изображениям. В настоящее время в анатомии и гистологии ими служат парафиновые тонкие срезы (4-5 мкм), эпоксидные полутонкие (1-2 мкм) и ультратонкие срезы (до 0,2 мкм), а также эпоксидные шлифы костных тканей. Другими словами, современная стереология – наука математическая, ветвь прикладной математики. Ее основу составляют теория геометрических вероятностей и аналитическая геометрия (стереометрия). Стереометрия и стереология, примененная для исследования биологических объектов, получила название «стереоморфология».

Таким образом, стереоморфология – это от-

носителю молодая область знания, дающая нам возможность изучать и анализировать трехмерные объекты на основании их изображений меньшей размерности - 2D, или 1D.

Основная задача стереоморфологии – сделать математически точные выводы о форме, распределении объектов в трехмерном пространстве, исходя из неполных наблюдений двумерных и одномерных многообразий в этом пространстве. Другими словами, помочь исследовать структуру тел, когда известны только их сечения.

Трудно не назвать некоторых ученых, стоявших у истоков стереологии и стереоморфологии. Так, 19 июля 1932 года советский математик А.А. Глаголев подал заявку на изобретение о новом микроскопическом анализе горных пород методом точек. Этот метод через 30 лет стал классическим в стереоморфологии. Другой исследователь, С.А. Салтыков, в 1938 году применил метод точек в изучении и анализе структуры металлов под микроскопом. Им были созданы количественные критерии в описании микроструктур металлов, влияющих на их свойства. В 1950 году появилась написанная им книга «Стереометрическая металлография», которая переведена на многие языки. В 1959 году академик Г.М. Франк в институте биофизики поставил перед молодыми сотрудниками цель автоматизировать исследования стереоморфологии биологических объектов и их микроструктур. Была создана целая линейка приборов, разработаны машины и стереологические алгоритмы. Известная и сегодня английская фирма «Metal-research» приступила к аналогичным проектам в Великой Британии лишь через несколько лет.

В 1960 году на международном конгрессе анатомов в Нью-Йорке американский морфолог Ганс Элиас и европейский морфолог Вейбель выяснили, что оба, исследуя гистологические срезы трехмерных биоструктур, используют количественные статистическо-геометрические методы. Однако они применительно к биологическим объектам развиты слабо, из-за чего возникает ряд трудностей с их применением в морфологии. Написав и опубликовав статьи в нескольких научных журналах, ученые предложили заинтересованным исследователям собраться 11 мая 1962 года в Шварцвальде (Германия). Приехало всего 11 ученых. На этом симпозиуме появился термин «стереоморфология» и было создано Международное стереологическое общество. Молодая наука нашла почитателей, а стереологическое общество объединило деятелей таких, казалось бы, разных областей знаний, как биология, минералогия, металлография, математика и даже различных видов искусств. В Швейцарии появился новый научный журнал «Стереология». А научный журнал «Микроскопия» Лондонского Королевского общества ввел у себя раздел по стереоморфологии.

Одним из наиболее старых трехмерных методов изучения человеческого тела и его органов на макроуровне являлось трехмерное моделирование. Так как вскрытия были запрещены или разрешались только в определенное время в году и в небольшом количестве, то на основе методов соматометрии в обучении студентов использовали уменьшенные в несколько раз трехмерные модели, например, торса человека и его органов. В коллекции кафедры анатомии человека Украинской медицинской стоматологической академии (УМСА) есть такой эксклюзивный препарат, которому около 140 лет, изготовлен он из мякиша черного хлеба, бумаги, ниток и клея. На нем аннотированы 216 анатомических образований, о чем свидетельствует сохранившаяся опись. Смоделированы практически все органы и их части, фасции, мышцы. На основе таких моделей и теперь изготавливаются аналогичные анатомические пособия.

В то же время появляется еще одна интересная методика, позволяющая получать трехмерное представление о сосудах тела человека, способствующая пространственному восприятию архитектоники экстра- и интраорганного кровеносного русла - инъекционно-коррозионный метод, разработанный голландским ученым Рюйшем.

Под инъекцией (лат. *infectio* – впрыскивание, вбрасывание) понимают наполнение кровеносных и лимфатических сосудов разнообразными массами. Выбор способа инъекции и инъекционной массы зависит от: а) объекта исследования; б) цели инъекции; в) способа дальнейшего исследования.

Метод коррозии (лат. *corrosio* – разъедание) – разрушение окружающих мягких тканей изучаемого органа, вызываемое химическими процессами, а именно лизирование кислотами. Для получения коррозионных препаратов в настоящее время используют современные быстротвердеющие стоматологические пластические массы [16].

«Изыюминкой» музея кафедры анатомии человека УМСА является богатая коллекция инъекционно-коррозионных препаратов внутренних органов человека и животных. Этот классический метод с учетом индивидуальных модификаций позволяет получить точную высококачественную объемную копию кровеносного русла внутреннего органа или отпечатка (слепка) стенок полых органов, пригодных для дальнейшего проведения морфологических исследований.

На примере инъекционно-коррозионных препаратов кровеносного русла желудка человека были изучены особенности его стереоангиоархитектоники [17,19,21,22]. Необходимо принять в расчет, что желудочные и желудочно-сальниковые артерии и вены, сопровождая друг друга, пролегают по малой и большой кривизне желудка, они, в свою очередь, формируют замкнутые (кольцевые) венечные дуги. С гидроди-

намической точки зрения такая конструкция кольцевого анастомозирования весьма эффективна, так как способна оптимально обеспечивать полноценное наполнение кровеносного русла желудка под необходимым давлением за счет нескольких встречно направленных потоков крови.

Учитывая кольцевую конструкцию начальных звеньев кровеносного русла желудка, при заполнении его инъекционной массой мы избрали противоточно-перекрестный способ. Он состоял в канюлировании двух артерий и вен, которые выбирались в каждом индивидуальном случае таким образом, чтобы они оказались перекрестно противоположными друг к другу по большой и малой кривизне желудка. Например, одним из вариантов могла быть левая желудочно-сальниковая и правая желудочная артерии. На все остальные противоположные одноименные сосуды накладывалась лигатура с проведением ушивания кровеносных сосудов в области малого сальника, желудочно-ободочной связки и коротких сосудов фундальной части желудка [20].

Предложенный метод очень удобен для исследования сосудистого русла, так как на полученных препаратах возможно проведение морфометрического исследования отдельных сосудистых звеньев поверхностного кровеносного русла исследуемого органа [5]. При этом ученый получает целостное представление о трехмерном пространственном взаиморасположении элементов сосудистого русла: анастомозов, мельчайших сосудов, диаметр которых соответствует диаметру молекулы пластической массы, в частности, «Протакрил-М». Данный метод позволяет проследить варианты разветвления сосудов, углы их отхождения, длину сосудов, измерить их внутренний диаметр (рис. 1).



Рис. 1. Поверхностное кровеносное русло задней стенки интактного желудка человека (мужчина 54 лет). Монохромная инъекция пластической массой «Протакрил – М» с последующей коррозией в кислоте.

Несомненно, данные методы имеют историческое значение, хотя новые инъекционно-коррозионные материалы позволяют получать и визуализировать интересные научные факты на макро- и микроуровнях доселе неизвестные. Необходимо сказать, что весь спектр микро-

уровня при использовании этого метода не доступен, ибо препятствием к нему служит диаметр полимеризующейся молекулы пластмассы.

При попытках интерпретировать то, что можно увидеть на гистологических препаратах возникает два главных затруднения. Во-первых, препарат — это всего один срез, у которого, как мы уже говорили, практически нет толщины и ею можно пренебречь. По одному срезу всю структуру не изучить, не понятна ее форма и истинный размер. Мало того, единичный срез может ввести в заблуждение исследователя, тем более, если вы никогда не видели этот микрообъект. Поэтому, морфологам приходится получать целые серии последовательных срезов данного микрообъекта. Каждый из них нумеруется, анализируется и в дальнейшем служит для воссоздания трехмерной реконструкции в кратном масштабном увеличении.

До настоящего времени, представления морфологов о пространственной организации биологических объектов (структурных единиц органов, клеточных ансамблей, комплексов внеклеточных структур и внутриклеточных компонентов) базируются на двух принципиально разных подходах. Первый основан на создании трехмерной реконструкции микрообъекта с помощью серий срезов. На нашей кафедре одними из первых для этой цели использовались тонкие парафиновые, а также полутонкие эпоксидные серии гистологических срезов. Несомненно, что этот метод достаточно трудоемкий, требует неукоснительного соблюдения некоторых правил и определенных мануальных навыков. По своей природе указанный метод позволяет получить реконструкции, которые представляют собой «штучную продукцию», но не позволяющий быстро и одновременно исследовать большое количество объектов. Поэтому он не популярен у части морфологов, хотя и дает наглядное достаточно точное трехмерное представление об исследуемых микрообъектах, которое при определенном увеличении, как ранее упоминалось, приспособлено к пространственному восприятию органом зрения.

Второй метод реконструкции был развит и обоснован с помощью статистических методов, позволяющих проведение исследования на одном срезе или электронной микрофотографии с помощью стандартных тест – систем. Данный стереологический принцип реконструкций более математичен и абстрактен, но позволяет одновременно изучать большое количество объектов. Однако и он имеет свои ограничения. Не уменьшая его значимости, необходимо отметить, что второй метод не смог полностью вытеснить первый, но стал предтечей нового метода – компьютерного реконструирования.

Этапы классического метода реконструирования биологических микрообъектов на основе серийных срезов состоят в следующем:

1. Получение тонких парафиновых (4 мкм)

срезов образца ткани.

Количество срезов зависит от толщины исследуемого образца, в которой зафиксирован исследуемый микрообъект и абсолютных размеров микроструктур, которые подлежат реконструкции. Потеря срезов в серии допускается до 3 %.

2. Фотографирование необходимых микроструктур каждого среза на едином увеличении.

3. Создание графических двухмерных фото-реконструкций исследуемых микрообъектов в пределах исследуемой серии срезов.

4. Выделение контуров исследуемых структур, а также добавочных координат.

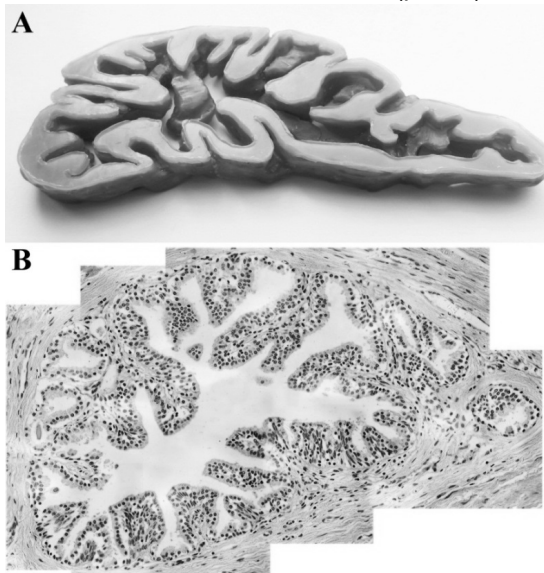
5. Перенос контуров исследуемых структур и добавочных координат на полупрозрачные восковые пластины толщиной 2 мм.

6. Изготовление восковых пластин-шаблонов исследуемых структур и добавочных координат (позволяющих выполнить правильную укладку).

7. Получение объемной первичной модели в результате укладки серии восковых пластин-шаблонов. На этом этапе работы также производят удаление с каркаса добавочных координат.

8. Оформление окончательной трехмерной восковой модели.

На кафедре анатомии человека УМСА разработана методика стереологического исследования предстательной, больших и малых слюнных и слезной желез, имеющая свое отображение в ряде научных работ. В частности, рассмотрим результат пластического трехмерного реконструирования на примере эпителиальных структур предстательной железы человека (рис. 2).



*Рис. 2. Пластическая реконструкция концевого отдела железы центральной зоны простаты человека. А – пластическая трехмерная реконструкция, линейное увеличение 400 раз. В – один из серийных срезов, на основе которых выполнена трехмерная реконструкция. Окраска гематоксилин и эозин. Ув.: об. 40<sup>х</sup>, ок. 10<sup>х</sup>.*

На основе полученных таким образом наглядных пластических трехмерных реконструкций, а также предварительно проанализирован-

ных серий срезов, были установлены особенности пространственного строения концевых отделов и системы протоков простатических желез, подробно описаны интралюминальные микроструктуры железистых компонентов, а именно – эпителиальные складки и инвагинации стенки [2,26]. Показано, что складки железистого эпителия и интралюминальные инвагинации могут «перекрывать» просветы трубчатых альвеолярных единиц простаты до 2/3 их ширины, предавая внутреннему просвету сложный извилистый контур, влияющий на ламинарный ток жидкости [23,24,25,27].

Вся обработка материала ведется таким образом, чтобы она как можно меньше деформировала форму исследуемого объекта и его величину. Во время заливки ткань в блоке ориентировали в нужной нам плоскости по отношению к его поверхности, что позволило получить серии, где срез идет параллельно к поверхности объекта. При этом в каждый срез попадало максимальное количество деталей. Графические методы реконструкции имеют вспомогательное значение, но они позволяют получить общее представление об объекте исследования. В частности, дают возможность определить границы совокупностей эпителиальных комплексов.

Результаты структурного и пространственного анализа губных и небных слюнных желез человека позволили выделить такие трубчатые эпителиальные компоненты, имеющие прямое отношение к выведению секрета: вставочные выводные протоки; центральные внутридольковые разветвления вплоть до терминальных трубок, связанных со вставочными протоками; дольковые протоки; 2-3 междольковых протока; один общий выводной проток [1, 11, 14].

Данные экскреторные эпителиальные компоненты образуют пространственно сложную ветвистую систему, морфологические особенности строения которой должны способствовать продвижению секрета по протокам (рис. 3).

К таким особенностям можно отнести малый диаметр просвета протоков (явление капиллярности); наличие ампулообразных расширений и резких сужений диаметра протоков; обороты протоков вокруг своей оси; чередование прямолинейного и извитого хода; истончение стенки протоков наряду с тесным взаимоотношением здесь с емкостным звеном кровеносного микроциркуляторного русла.

В слезной железе человека выделяют две части (доли): пальпебральную и орбитальную. «Гроздьевидные железки» пальпебральной части слезной железы состоят из концевых отделов и выводных протоков, напоминающих по размерам и форме дольки малых слюнных желез [7,8,9,10].

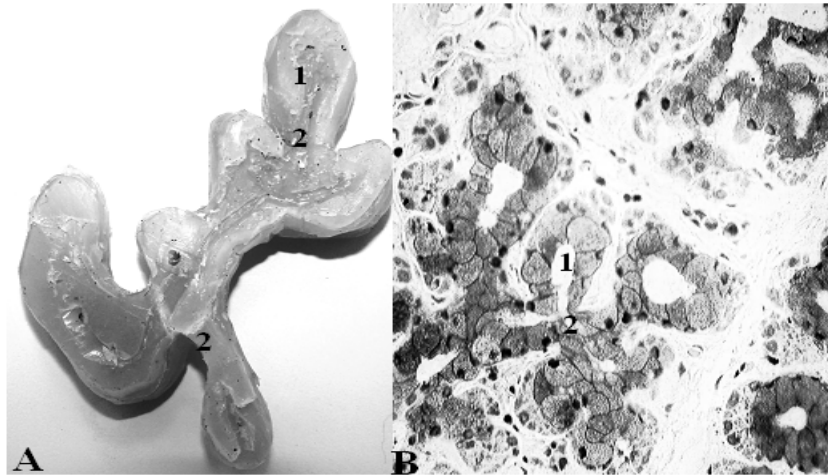


Рис. 3. Субдольковые единицы губной слюнной железы.

А – пластическая реконструкция, линейное увеличение 240 раз. В – один из полутонких срезов, на основе которых выполнена реконструкция. Окраска толуидиновым синим. Объектив, 20. 1 – концевой отдел; 2 – вставочный проток.



Рис. 4. Пластическая реконструкция долики слёзной железы. Линейное увеличение 240 раз. Квинтэссенцией этих классических методов стало моделирование с использованием 3D-принтеров [6].

Поэтому по аналогии с небными и губными слюнными железами было предложено выделять их под названием долек слезной железы. В толще пальпебральной доли они разделяются между собой значительными прослойками жировой ткани. Внутри самой дольки ее концевые отделы и выводные протоки очень плотно прилегают друг к другу [3,12,15]. Это подтверждается узкими интерстициальными пространствами между ними на гистологических срезах и соответствующими им межацинарным щелям на пластических восковых реконструкциях (рис. 4).

Методы стереологии и стереоморфологии дали возможность визуализировать цепочки ДНК, получить трехмерные модели митохондрий клеток и других их органелл, сыграли видную роль в инженерии новых молекул различных веществ, создании новых лекарств и методов клеточной медицины. Тем не менее, классические методы стереоморфологии используются до настоящего времени, особенно в комбинации с современными модификациями, о чем свидетельствуют многие научные работы, в частности, морфологических кафедр УМСА [4,13,18].

## Литература

1. Hryn VH, Svintsytska NL, Sherstiuk OO et al. The use of morphological study technique for investigation of labial and palatine glands. *Wiadomości Lekarskie*. 2017; 5: 934-7.
2. Hryn VH, Svintsytska NL, Piliuhin AV et al. Report on the study of spatial organization of the human prostate glands. *Wiadomości Lekarskie*. 2017; 6: 1034-6.
3. Hryn VH, Sherstiuk OO, Piliuhin AV et al. Multilayer plastic reconstruction in the three-dimensional study of the human lacrimal gland. *Svit medytsyny ta biolohiyi*. 2018; 1(63): 113-6.
4. Hryn VH, Sherstiuk OO, Svintsytska NL et al. Morphofunctional characteristic of the appendix of newborns and infants. *Health Education*. 2017; 6 (2): 1481-7.
5. Hryn VH, Svintsytska NL, Piliuhin AV et al. The use of injection-corrosive method in the study of extraorganic bloodstream of human intact stomach. *Wiadomości Lekarskie*. 2017; 4: 742-4.
6. Hryn VH, Sherstiuk OO, Kaidashev IP, inventors; Higher State Educational Institution «Ukrainian Medical Stomatological Academy», assignee. Method of the modeling the first human vertebra (atlant) from ABS plastic by 3D sculpting in ZBrush. Ukraine patent 125459. 2018 May 10. (Ukrainian).
7. Katsenko AL, Sherstiuk OA, Svintsytska NL et al. General biological patterns of the structure of human major and minor lacrimal glands and under-researched aspects of their morphology. *Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visnyk Ukrayins'koyi medychnoyi stomatolohichnoyi akademiyi*. 2019; 2: 229-34.
8. Sherstiuk OO, Svintsytska NL, Piliuhin AV. Skorochuval'ni elementy vyvidnykh protok sl'ozovoyi zalozy lyudyny [Contractile elements of the excretory ducts of human lacrimal gland]. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*. 2009; 4: 140-2. (Ukrainian)
9. Sherstiuk OA, Svintsytska NL, Piliuhin AV. Morfolohycheskaya kharakterystyka vyvodnykh protokov sleznoy zhelezy [Morphological characteristics of the excretory ducts of lacrimal gland]. *Svit medytsyny ta biolohiyi*. 2009; 3: 188-90. (Russian)



anatomy, the results and prospects of its development. The goals, objectives, methods and results of our own research are identified on the basis of the stereomorphological method for studying hollow and parenchymal internal organs and glands. The article presents a unique technique that enables to obtain a three-dimensional view of the vessels of the human body, contributing to the spatial perception of the architectonics of the extra- and intraorgan blood channel, the injection-corrosion method, developed by the Dutch scientist F. Ruysch. It has been noted that the originality of the museum of the Department of Human Anatomy, Ukrainian Medical Dental Academy, is in its rich collection of injection and corrosion preparations of the internal organs of humans and animals. This classic technique, taking into account individual modifications, enables to get an accurate high-quality volumetric copy of the bloodstream of the internal organ or casts of the walls of a hollow organ, suitable for further morphological studies. Using the example of injection-corrosive preparations of the bloodstream of the human stomach, the features of its stereo-angioarchitectonics were investigated.

The article highlights the methodology for stereological study of the prostate, large and small salivary and lacrimal glands, used by the researchers of the Department of Human Anatomy, Ukrainian Medical Dental Academy. In particular, the results of three-dimensional plastic reconstruction have been described using the example of human epithelial structures of the prostate gland and small salivary, lacrimal glands.