

УДК: 611.714/716.068.013

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.18

ОСОБЛИВОСТІ ІДЕНТИФІКАЦІЇ
РІЗНИХ ТИПІВ ТКАНИН ПІД ЧАС
3D-РЕКОНСТРУКЦІЇ МІКРОСКОПІЧНИХ
СТРУКТУР ЛЮДИНИ*Р. Р. Дмитренко, О. А. Коваль,
Л. А. Андрущак, І. С. Макаручук,
О. В. Цигикало*Буковинський державний медичний університет
(м. Чернівці, Україна)**Резюме**

3D-реконструювання є інформативним, об'єктивним методом морфологічного дослідження, який полягає у перетворенні серії послідовних зрізів (гістологічних, макроскопічних, анатомічних розпилів, комп'ютерних томограм тощо) у віртуальне об'ємне (цифрове) зображення, яке можна вивчати в різних проєкціях та вимірювати об'єм, площу, діаметри, кути, зберігати, копіювати, редагувати.

Мета дослідження – порівняти ефективність методик 3D-реконструювання різних тканин та мікроскопічних анатомічних структур організму в пренатальному періоді розвитку людини.

Матеріал і методи дослідження. Нами досліджено 6 серій послідовних гістологічних зрізів зародків людини віком від 4 до 6 тижнів внутрішньоутробного розвитку, 15 препаратів органокомплексів голови, кінцівок та тулуба передплідів людини віком від 7 до 12 тижнів внутрішньоутробного розвитку, плодів людини віком 4-9 місяців ВУР методом виготовлення гістологічних (5), а також гістотопографічних зрізів (10) безпосередньо з парафінового блоку та їх оцифровки, та 14 КТ плодів людини віком від 4 до 9 місяців ВУР.

Дослідження проводилося відповідно до основних положень Резолюції Першого національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (2001), ICH GCP (1996), Конвенції Європейського Союзу про права людини та біомедицину (1997), а також Гельсінської декларації про етичні принципи медичних досліджень із залученням людей (1964-2008), Директив ЄС № 609 (1986), Наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009, № 944 від 14.12.2009, № 616 від 03.08.2012.

Робота виконується в рамках ініціативної науково-дослідної роботи кафедри гістології, цитології та ембріології закладу вищої освіти «Буковинський державний медичний університет» «Структурно-функціональні особливості тканин і органів в онтогенезі, закономірності варіантної, конституційної, статеві-вікової та порівняльної морфології людини». Державний реєстраційний номер: 0121U110121. Терміни виконання: 01.2021-12.2025.

Результати дослідження. 3D-реконструювання серії послідовних гістологічних зрізів ефективно для дослідження препаратів зародків, органокомплексів передплідів та певних мікроскопічних структур плодів людини завдяки легкій ідентифікації гістологічних структур, однак потребує удосконалення способів зіставлення гістологічних зрізів у природній позиції. 3D-реконструювання гістотопографічних зрізів доцільно застосовувати при дослідженні препаратів органокомплексів передплідів та плодів людини. 3D-реконструювання серійних КТ-зрізів – ефективний та високоточний інструмент дослідження рентгенконтрастних анатомічних структур у плодovому періоді ВУР (кісткової тканини, контрастованих кровоносних судин), дозволяє при використанні певного алгоритму дослідження виявляти та вимірювати осередки скостеніння та синтопію кровоносних судин з кістками.

Висновки. Для широкого застосування в морфології метод 3D-реконструювання вимагає технічного удосконалення програмно-апаратного комплексу для реконструювання, а саме: автоматизації етапів реконструкції, зокрема, сегментації зрізів, а також удосконалення методик поліхромного маркування структур анатомічного препарату для їхнього чіткого диференціювання.

Ключові слова: 3D-реконструювання; дослідження кісткової тканини; пренатальний розвиток людини; плоди людини.

Вступ

Тривимірне (3D) комп'ютерне реконструювання анатомічних структур в останні десятиліття стало класичним методом морфологічного дослідження [1-3]. Метод використовується для відтворення та вивчення форми досить малих структур у тих випадках, коли препарування не ефективно або неможливе через малі розміри структур або ж через тісну їх синтопію [4]. До початку ери комп'ютерних технологій отримання та обробки зображень вчені анатоми використовували графічне та об'ємне (пластичне, або воскове) реконструювання [5]. Відомо про перші реконструкційні моделі мікроскопічних анатомічних структур, які були створені з серійних гістологічних зрізів вченим Вогн G. (1876, 1893). Подальше удосконалення методики реконструювання вченими Гаурр E. (1893); Туркевич M. Г.

(1967), Kuhn H.-J. (1971) включило графічне реконструювання до комплексу методів морфологічного дослідження [6, 7].

Відомо, що вперше тривимірне комп'ютерне реконструювання було виконане у 1984 році завдяки розвитку комп'ютерних технологій [8, 9]. Із тих пір анатоми, гістологи, топографо-анатоми, ембріологи включили його до комплексу методів морфологічного дослідження як досить інформативну та об'єктивну методику [10, 11]. Крім того, ця технологія відповідає основним принципам сучасної діагностичної медичної візуалізації, тому сприяє удосконаленню інтерпретації неінвазивних діагностичних методик [12].

Отже, 3D-реконструювання є інформативним, об'єктивним методом морфологічного дослідження, який полягає у перетворенні серії послідовних зрізів

(гістологічних, макроскопічних, анатомічних розпилів, комп'ютерних томограм тощо) у віртуальне об'ємне (цифрове) зображення, яке можна вивчати в різних проєкціях та вимірювати об'єм, площу, діаметри, кути, зберігати, копіювати, редагувати [13]. Отже, реконструкція є основою для створення навчального навчального приладдя, моделювання анатомічних варіантів будови, перебігу патологічного процесу, вікових змін, рухів органа тощо [14, 15].

Сучасні методи медичної діагностичної візуалізації (КТ, МРТ, УЗД) ґрунтуються на отриманні об'ємного зображення із серії послідовних «віртуальних» зрізів, які звісно що не передбачають руйнування тканин. Їх інтерпретація вимагає точних знань про їхню реальну анатомічну будову, особливо для об'єктивного моніторингу внутрішньоутробного розвитку (ВУР) плода [16, 17].

3D-реконструювання мікроскопічних структур є цінним методом морфологічного дослідження раннього періоду онтогенезу людини і тварин [18, 19, 20]. Мікроскопічні, порівняно з дорослим організмом, розміри органів і структур плодів, забезпечують технічну можливість залити їх в один парафіновий блок і реконструювати за серійними зрізами в анатомічній безперервності для вивчення форми та синтопії. Подібний метод дослідження надзвичайно важко здійснити технічно для дорослого організму, оскільки такий же органокomплекс, як і взятий у плода, у якого до 4-го місяця розвитку вже визначилися всі варіанти будови та топографії структур, має значно більші розміри, що унеможлиблює дослідження синтопії.

Мета дослідження. Мета цієї публікації – порівняти ефективність методик 3D-реконструювання різних тканин та мікроскопічних анатомічних структур організму в пренатальному періоді розвитку людини.

Матеріал і методи дослідження. Нами досліджено 6 серій послідовних гістологічних зрізів зародків людини віком від 4 до 6 тижнів внутрішньоутробного розвитку, 15 препаратів органокomплексів голови, кінцівок та тулуба передплідів людини віком від 7 до 12 тижнів ВУР, плодів людини віком 4-9 місяців ВУР методом виготовлення гістологічних (5), а також гістотопографічних зрізів (10) безпосередньо з парафінового блоку та їх оцифровки, та 14 КТ плодів людини віком від 4 до 9 місяців ВУР.

Гістологічні препарати зародків людини фарбували гематоксиліном і еозинном, оцифровували за допомогою фотографічного пристрою, який складався з мікроскопу МБР-1 з об'єктивом Will Wetzlar 4/0.10, адаптера М42 – М4/3, цифрової камери Olympus PEN E-P11. Поверхню зрізів парафінових блоків з залитими препаратами передплідів людини фотографували за допомогою фотокамери Canon G7, макролінзи (об'єктив Індустар-100У 4/110), закріплених на механізмі подачі об'єктотримача мікротому. Цифрові фотографії гістологічних препаратів зставляли, орієнтуючи у природню позицію, за допомогою графічного редактора. У якості спрямовуючих орієнтирів використовували протяжні структури, наприклад зачаток хребтового стовпа, магістральні кровоносні судини та найбільш об'ємні органи (шлунок, печінку, серце тощо). Сегмен-

тацію та рендерінг віртуальних 3D-реконструкцій як з цифрових мікрофотографій, так і з DICOM-файлів КТ здійснювали за допомогою програмного забезпечення 3D-DOCTOR (Able Software Corporation).

Дослідження проводилося відповідно до основних положень Резолюції Першого національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (2001), ІСН GCP (1996), Конвенції Європейського Союзу про права людини та біомедицину (1997), а також Гельсінської декларації про етичні принципи медичних досліджень із залученням людей (1964-2008), Директив ЄС № 609 (1986), Наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009, № 944 від 14.12.2009, № 616 від 03.08.2012.

Робота виконується в рамках ініціативної науково-дослідної роботи кафедри гістології, цитології та ембріології закладу вищої освіти «Буковинський державний медичний університет» «Структурно-функціональні особливості тканин і органів в онтогенезі, закономірності варіантної, конституційної, статеві-вікової та порівняльної морфології людини». Державний реєстраційний номер: 0121U110121. Терміни виконання: 01.2021-12.2025.

Результати дослідження та їх обговорення. За технологією отримання та підготовки цифрових зображень серії послідовних зрізів, які завантажуються в програмне забезпечення для подальших етапів створення 3D-реконструкції, ми розділили матеріал на три групи: 1) мікрофотографії серії послідовних гістологічних зрізів; 2) серії мікрофотографій поверхні парафінового блоку; 3) DICOM-файли КТ плодів.

Етапами виготовлення 3D-реконструкцій з серійних гістологічних зрізів є такі: 1) підготовка препарата (ін'єкція кровоносних судин, трубчастих і порожнистих органів, введення спрямовуючих орієнтирів); 2) отримання серії послідовних зрізів (мікротомія); 3) оцифрування зрізів (фотографування); 4) зів'язання зображень гістологічних зрізів серії у правильному анатомічному положенні; 5) відбір зрізів для реконструювання за діапазоном, кількістю та кроком; 6) калібрування морфометричного блоку програмного забезпечення для реконструювання; 7) сегментація (ручне окреслення контурів анатомічних структур, які досліджуються); 8) рендерінг (побудова реконструкційної моделі, використовуючи інформацію про об'єм або контури об'єкта); 9) вивчення, морфометрія та анімування реконструкційної моделі для демонстрації.

Виготовлення **3D-реконструкцій із серії послідовних гістологічних зрізів**. Беззаперечною перевагою використання гістологічних препаратів для 3D-реконструювання є їх висока інформативність і деталізація, яка дозволяє легко ідентифікувати різні тканини та органи (рис.) відповідно їх класичному опису і вигляду, який наводиться в атласах з цитології, ембріології та гістології. Для диференціації кровоносних судин використали ін'єкцію кровоносних судин та порожнистих органів поліхромними та рентген-контрастними сумішами (рис. 1). Цю методику можна застосовувати під час гістологічного дослідження органокomплексів плодів людини, починаючи з 4-го місяця ВУР (рис. 2).

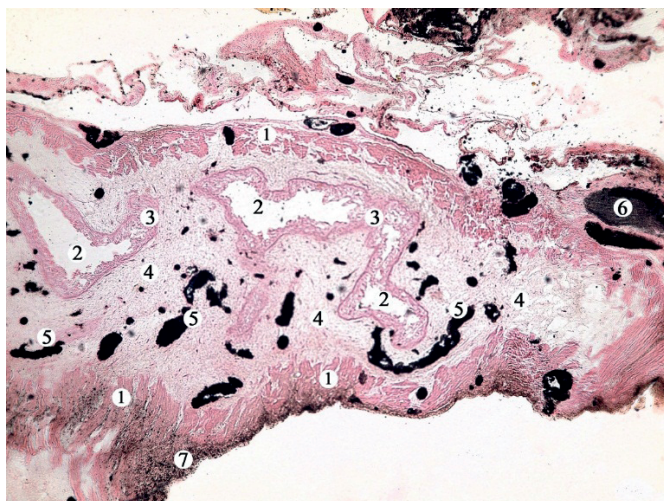


Рис. 1. Поздовжній зріз міхурової протоки 5-місячного плода людини (235,0 мм ТПД). Ін'єкція веннозної системи свинцевим сурик ом. Гематоксилін-еозин. Мікрофото. Зб. 40х: 1 – м'язова оболонка; 2 – просвіт; 3 – слизова оболонка; 4 – підслизова основа; 5 – венозне сплетення; 6 – гілка жовчноміхурової вени

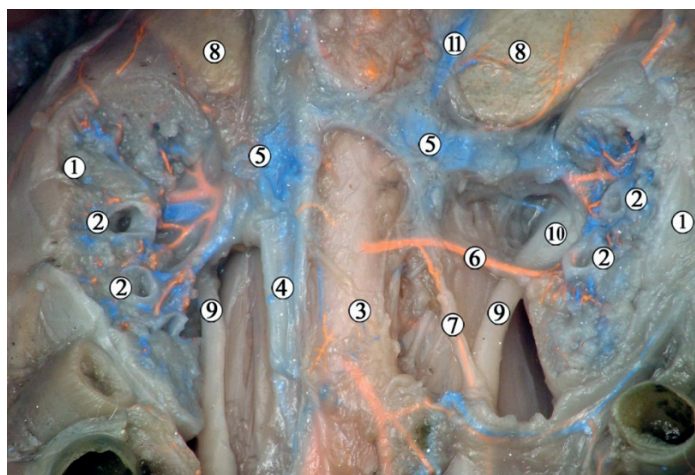


Рис. 2. Органи заочеревинного простору 6-місячного плода людини (180,0 мм ТКД). Поліхромна ін'єкція кровоносних судин. Фото макропрепарату. Зб. х2: 1 – нирки; 2 – великі ниркові чашечки; 3 – черевна аорта; 4 – нижня порожниста вена; 5 – ниркові вени; 6 – аберантна ліва нижня ниркова артерія; 7 – ліва яєчникова артерія; 8 – надниркові залози; 9 – сечоводи; 10 – ліва ниркова миска; 11 – ліва надниркова вена

Серед анатомічних структур зародків і передплодів людини під час їх сегментації ідентифікуються пласти епітелію, скелетні м'язи та серце, хрящова тканина та осередки скостеніння, залози, кровоносні судини, нервова тканина, порожнисті та паренхіматозні органи, прошарки мезенхіми. Це дозволяє отримувати деталізовані 3D-реконструкції для вивчення особливостей мікроскопічної будови органоконструкцій у ВУР (рис. 3).

Якість реконструкцій із серії гістологічних зрізів залежить від низки факторів: 1) зміни тканини під час збереження, фіксації, зневоднення, просвітлення та заливки у парафін; 2) спотворення тканин внаслідок мікротомії (зазвичай гістологічний зріз вкорочується у напрямку руху мікротомного леза, що частково або повністю усувається під час розправлення зрізів у водяній бані; 3) точ-

ність формування серії у правильній послідовності зрізів; 4) точність вирівнювання (зіставлення) зрізів у їх природній орієнтації; 5) якість генерації поверхні, яка залежить від точності ручного окреслення контурів анатомічних структур.

Гістологічне дослідження препаратів передплодів та органоконструкцій плодів людини має певні технологічні обмеження, які характерні для класичної гістотехніки: 1) максимальний розмір парафінового блоку із залитим органоконструкцією не повинен перевищувати у ширину або довжину 15 мм внаслідок труднощів з мікротомією та отриманням неякісних зрізів; 2) потрібне більш тривала флотажія зрізів у водяній бані для повного їх вирівнювання та уникнення деформації, яка виникає під час мікротомії; 3) необхідна автоматизація фарбування гістологічних зрізів внаслідок їх великої кількості, тобто є потреба у використанні стейнера або касет для 10-20 предметних скелець; 4) можливі

помилки у маркуванні чи правильній послідовності розміщення зрізів на скельцях, що призводить до спотворень 3D-реконструкційної моделі, до спотворень у вигляді ефекту сходинки може призводити також зміщення об'єктотримача під час перезапуску механізму його подачі; 5) промислові мікроскопи із вмонтованими цифровими камерами зазвичай не захоплюють великі площі гістологічних зрізів, тому у випадку фотографування зрізів розмірами понад 5,0x5,0 мм використовували мікроскоп з об'єктивами x2-x4 та адаптером з бездзеркальною фотокамерою, яка встановлювалась на місце кріплення тубусу з окуляром,

при цьому зображення з мікрооб'єктиву проектувалось безпосередньо на фотоматрицю без додаткових оптичних елементів. Слід зауважити, що фотоматриця цифрових дзеркальних або бездзеркальних фотоапаратів, у яких є можливість від'єднання об'єктиву, має набагато більші фізичні розміри, ніж CCD-камери мікроскопів, що дозволяє вмістити в кадр більше структур або навіть всю поверхню парафінового блоку. Це важливо для дослідження органокомплексів плодів людини, частин тіла передплідів або цілих ембріонів, де є потреба у захопленні мікрооб'єктивом відносно великих площ праперата.

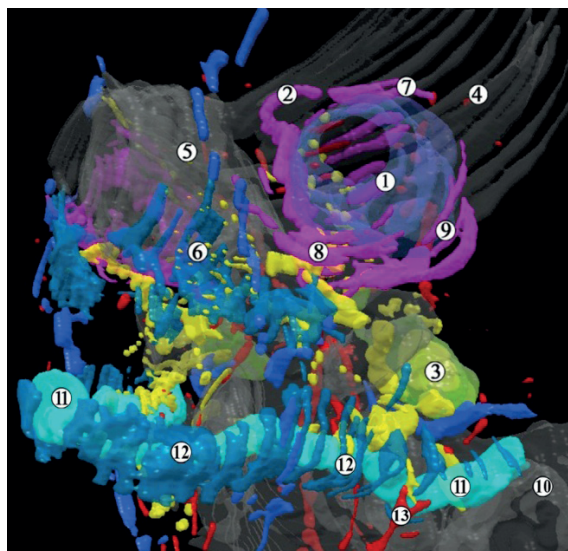


Рис. 3. 3D-реконструкція голови 7-тижневого зародка людини (19,0 мм ТКД). Ліва передньо-бічна проекція. Зб. 25х: 1 – зачаток очного яблука; 2 – верхній косий м'яз; 3 – трійчастий вузол; 4 – зачаток лобової кістки; 5 – носова капсула; 6 – осередки скостеніння верхньої щелепи; 7 – верхній прямий м'яз; 8 – нижній прямий м'яз; 9 – бічний прямий м'яз; 10 – вушна капсула; 11 – хрящ Меккеля; 12 – осередки скостеніння нижньої щелепи

Виготовлення 3D-реконструкції із серії послідовних зображень поверхні парафінового блоку. Ця методика передбачає створення 3D-реконструкцій органокомплексів передплідів і плодів людини шляхом

фотографування поверхні парафінового блоку після здійснення кожного мікротомного зрізу. Фактично оцифровуються гістотопографічні зрізи за допомогою спеціального фотографічного устаткування (рис. 4, 5).

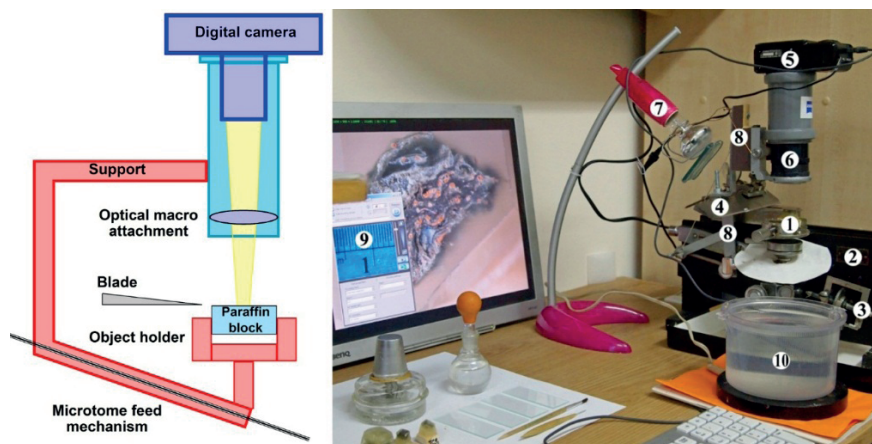


Рис. 4. Схема (зліва) та програмно-апаратний комплекс (справа) для 3D-реконструювання мікроскопічних структур за серією мікротомних зрізів: 1 – парафіновий блок з препаратом; 2 – мікротом; 3 – механізм подачі; 4 – мікротомне лезо; 5 – цифрова фотокамера; 6 – макроскопічна фотонасадка; 7 – освітлювач з теплофільтром

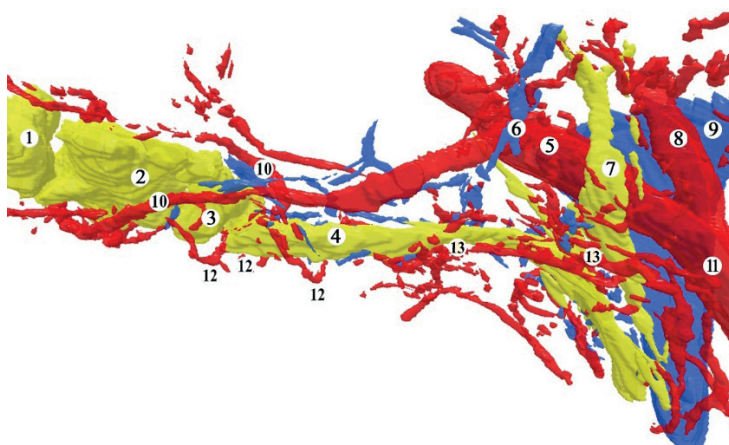


Рис. 5. 3D-реконструкція серійних фронтальних гістотопографічних зрізів плода людини (130,0 мм ТКД). Передня проекція. Зб. 30х: 1 – слизова оболонка дна жовчного міхура, 2 – слизова оболонка тіла жовчного міхура, 3 – сумка Хартмана та шийка жовчного міхура, 4 – міхурова протока, 5 – права гілка власної печінкової артерії, 6 – міхурові артерія і вена, 7 – загальна печінкова протока, 8 – ліва гілка власної печінкової артерії, 9 – ворітна вена, 10 – гілка міхурової артерії, 11 – власна печінкова артерія, 12 – спіральні артерії міхурової протоки, 13 – анастомози (артеріальне коло) міхурової протоки

Цей метод 3D-реконструювання має певні переваги, але не позбавлений недоліків. Серед переваг наступні:

1. Так як фотографічний пристрій жорстко закріплений на механізмі подачі санного мікротому, це унеможливує зміщення оптичної осі, тим самим забезпечується точне зіставлення зрізів, чого практично неможливо досягти при фотографуванні гістологічних препаратів.

2. Паралельно виготовляються також гістологічні препарати з мікротомних парафінових зрізів.

3. Є змога використовувати парафінові блоки з відносно великими органокомплексами – до 40 мм у довжину і до 25 мм у ширину (при використанні звичайного санного мікротому).

4. Фотографування здійснюється за допомогою спеціального штативу, макролінзи та цифрової компактної фотокамери Canon G7/G9 в напівавтоматичному режимі з дистанційним керуванням за допомогою відповідного програмного забезпечення та персонального комп'ютера.

Головний недолік метода 3D-реконструювання гістотопографічних зрізів полягає в низькій чіткості та деталізації отриманих зображень, що ускладнює ідентифікацію гістологічних структур та вимагає володіння професійними знаннями ембріології, гістології та анатомії. Для покращення якості і чіткості зображень зазвичай проводиться їх пакетна обробка у графічному редакторі. Попри недоліки, ця методика дозволяє ідентифікувати мікроскопічні анатомічні структури (див. рис. 5), вивчати їх форму та синтопію, проводити морфометрію.

Суттєвою перевагою метода є можливість автоматичної сегментації контрастованих фарбниками кровоносних судин (рис. 6), що здійснюється засобами програми 3D-DOCTOR та подібних. Під час ручної сегментації добре ідентифікуються, крім порожнистих та паренхіматозних органів, також нервова, хрящова, кісткова тканини, м'язи, залози. Під час вивчення розвитку кісток, вдається чітко визначити зовнішні контури хрящових зачатків кісток та осередки остеогенезу (рис. 7, 8).

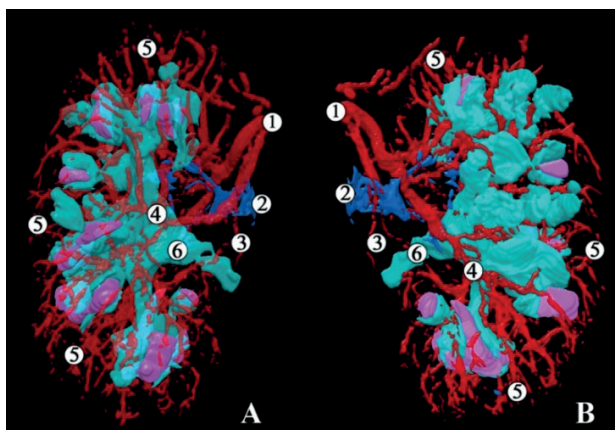


Рис. 6. 3D-реконструкція лівої нирки 7-місячного плода людини 260,0 мм ТКД. Поліхромна ін'єкція артерій. А – задня проекція; Б – передня проекція. Рожевим кольором відтворено сосочкові частини ниркових пірамід. Зб. 7х: 1 – ниркова артерія; 2 – ниркова вена; 3 – мискові та сечовідні гілки; 4 – міжчасткові артерії; 5 – дугоподібні та міжчасточкові артерії; 6 – ниркова миска

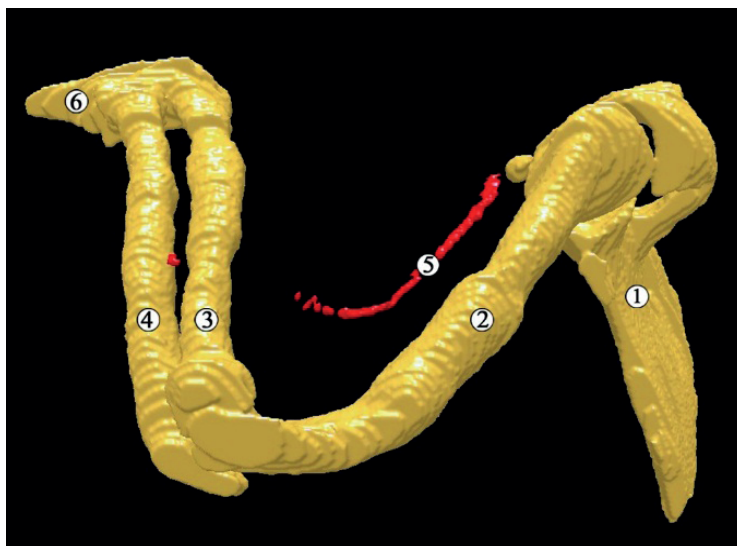


Рис. 7. 3D-реконструкція хрящових зачатків лівої верхньої кінцівки 8-тижневого передплода людини (30,0 мм ТКД). Ліва бічна проекція. Зб. 30х: 1 – лопатка; 2 – плечова кістка; 3 – променева кістка; 4 – ліктьова кістка; 5 – плечова артерія; 6 – зачаток кісток зап'ястка

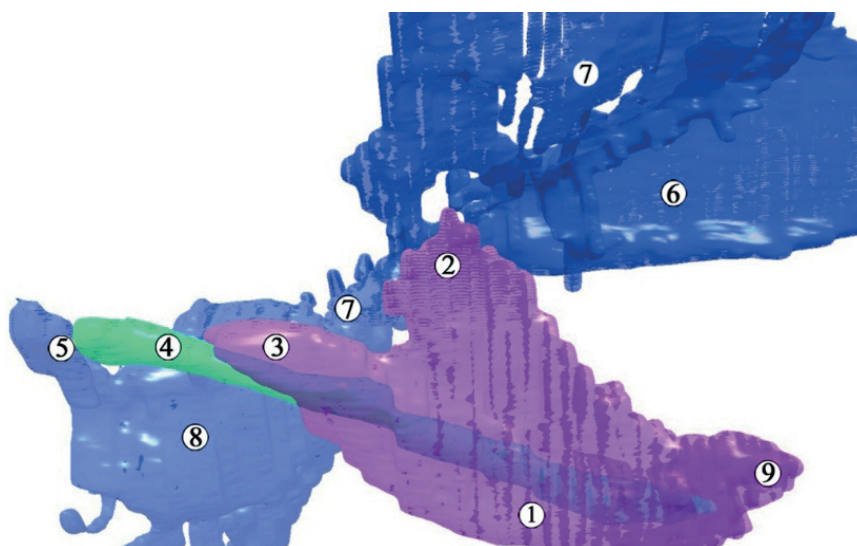


Рис. 8. Тривимірна комп'ютерна реконструкція структур лицевого відділу голови 11-тижневого передплода людини (55,0 мм ТКД). Права проекція. Зб. 25х: 1 – тіло нижньої щелепи; 2 – вінцевий відросток; 3 – виростковий відросток нижньої щелепи; 4 – хрящ Меккеля; 5 – головка молоточка; 6 – носова перегородка; 7 – зачатки кісток основи черепа; 8 – вушна капсула; 9 – підборідний симфіз

Виготовлення 3D-реконструкції із серії DICOM-файлів КТ. Під час КТ дослідження створюється серія зображень стандарту DICOM PACS, яка несе інформацію про кожен віртуальний зріз анатомічного препарата. Роздільна здатність сучасних комп'ютерних томографів дозволяє ідентифікувати структури із роздільною здатністю до 0,5 мм. Тому цей метод доцільно застосовувати на відносно великих макропрепаратах плодів людини під час вивчення форми, будови та синтопії рентгеноконтрастних органів та органоконструкцій. На КТ препаратів плодів людини, контрастованих сумішшю на основі свинцевого сурику, можна вивчати не тільки кісткову тканину, а й кровоносні судини. Крім спеціалізованого програмного забезпечення для вивчення комп'ютерних томограм та автоматизованого створення 3D-реконструкцій, наприклад RadiAnt Dicom Viewer

(Medixant), ми використовували 3D-DOCTOR, яка має можливість роботи з DICOM-файлами. Інтерактивна сегментація різних за рентгенологічною щільністю структур плода дозволяє визначати контрастовані структури (рис. 9) просторову форму зачатків кісток, а також локалізацію та форму осередків скостеніння (рис. 10). Програма автоматично окреслює контури зачатків кісток за градієнтами шкали Гаунсфілда, що дозволяє візуалізувати та провести морфометрію як всього зачатка кістки, так і осередків скостеніння.

Серед переваг методу 3D-реконструювання із серії DICOM-файлів КТ є точність зіставлення, автоматичне калібрування зрізів, деталізація структур з високою рентген-щільністю, інтерактивність, а отже і швидкість рендерінгу. Серед недоліків ті, які характерні для рентгенологічних методик.

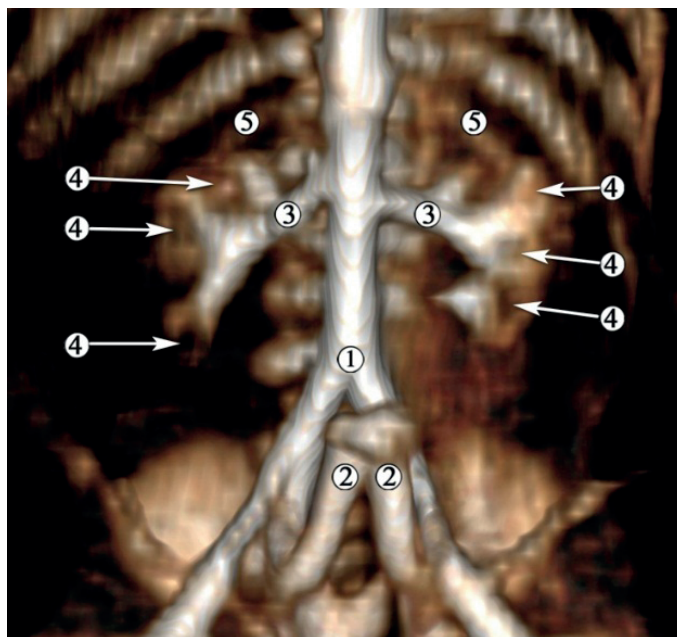


Рис. 9. Комп'ютерна томограма 5-місячного плода людини (155,0 мм ТКД). Ін'єкція артеріальної системи сумішшю із свинцевим суриком. Передня проекція. Зб. 3х: 1 – роздвоєння аорти; 2 – пупкові артерії; 3 – ниркові артерії; 4 – контури малих ниркових чашечок; 5 – XII ребро

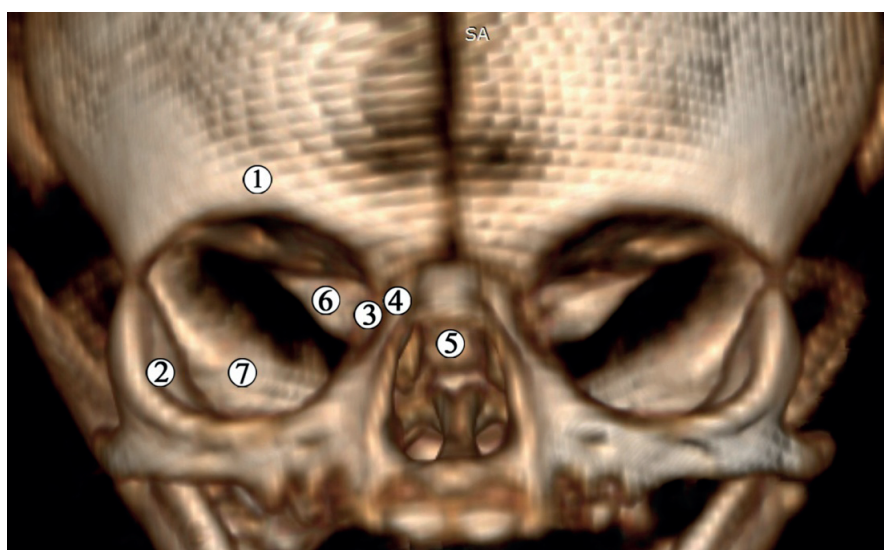


Рис. 10. Комп'ютерна томограма голови 6-місячного плода людини (200,0 мм ТКД). Передня проекція. Зб. 3х: 1 – лобова кістка; 2 – вилична кістка; 3 – решітчаста кістка; 4 – лобовий відросток верхньої щелепи; 5 – тіло клиноподібної кістки; 6 – мале крило клиноподібної кістки; 7 – велике крило клиноподібної кістки

Найскладнішим етапом 3D-реконструювання є окреслення контурів анатомічних структур, які вивчаються. Цей процес вимагає витрат часу, професійних знань та навичок, графічного маніпулятора-пера або спеціального комп'ютера із сенсорним екраном. Цей етап є найскладнішим під час 3D-реконструювання серії послідовних зображень поверхні парафінового блоку. Завершальним етапом створення 3D-реконструкції є рендеринг (застосування алгоритму візуалізації). Виконується автоматично засобами програмного забезпечення. Створена реконструктивна модель вивчається у різних проекціях та вимірюються її окремі елементи. Подальшим етапом роботи з 3D-реконструкцією може бути її 3D-друк [18].

Перспективи удосконалення методів 3D-реконструювання, на нашу думку, полягають у наступному: 1) 3D-реконструювання серії послідовних гістологічних зрізів потребує використання ефективних спрямовуючих орієнтирів для правильного зіставлення зрізів; 2) 3D-реконструювання серії послідовних зображень поверхні парафінового блоку вимагає застосування тотального забарвлення препарату до заливки його у парафіновий блок для більш контрастного зображення органів і гістологічних тканин; 3) 3D-реконструювання серії DICOM-файлів КТ потребує збільшення роздільної здатності (товщини КТ-зрізів менше 1,0 мм). Зважаючи на те, що трасування анатомічних структур залишається найбільш складним етапом виготовлення 3D-рекон-

струкції, доцільно й далі розвивати програмне забезпечення з використанням елементів штучного інтелекту, зокрема, для ідентифікації та автоматизації сегментації зрізів певних анатомічних структур і тканин [21-26].

Враховуючи всі переваги та недоліки застосованих методик 3D-реконструювання, їх можна представити у вигляді таблиці за ступенем об'єктивності та автоматичності виконання.

Таблиця

Порівняльна характеристика методів 3D-реконструювання

Етапи	Зіставлення зрізів	Калібрування зрізів (визначення розмірів пікселя і вокселя)	Розпізнавання мікроструктур	Сегментація (виділення контурів мікроструктур)	Деталізація	Точність морфометрії
3D-реконструювання серійних гістологічних зрізів	-	-	+	-	+	+
3D-реконструювання серійних зображень поверхні парафінового блоку	+	-	-	-	-	-
3D-реконструювання серійних КТ	+	+	-	+	-	+

Примітки: (+) – об'єктивний фактор, автоматичне виконання; (-) – суб'єктивний фактор, ручне виконання.

Висновки

1. 3D-реконструювання серій послідовних гістологічних зрізів ефективно для дослідження препаратів зародків, органокомплексів передплідів та певних мікроскопічних структур плодів людини завдяки легкій ідентифікації гістологічних структур, однак потребує удосконалення способів зіставлення гістологічних зрізів як в правильній послідовності серії, так і в природній позиції у двовимірній системі координат.

2. 3D-реконструювання гістотопографічних зрізів (зображень поверхні парафінового блоку) доцільно застосовувати при дослідженні препаратів органокомплексів передплідів та плодів людини, дозволяє ідентифікувати окремі паренхіматозні та порожнисті органи та кровоносні судини, особливо якщо виконана їх ін'єкція перед фіксацією препарата.

3. 3D-реконструювання серійних КТ-зрізів – ефективний та високоточний інструмент дослідження рентгенконтрастних анатомічних структур у плодовому періоді ВУР людини (кісткової тканини, контрастованих кровоносних судин), дозволяє при використанні певного алгоритму дослідження виявляти та вимірювати осередки скостеніння та синтопію кровоносних судин з кістками.

Література:

- Raiola M, Sendra M, Torres M. Imaging Approaches and the Quantitative Analysis of Heart Development. J Cardiovasc Dev Dis [Internet]. 2023[cited 2023 Oct 19];10(4):145. Available from: <https://www.mdpi.com/2308-3425/10/4/145> doi: 10.3390/jcdd10040145
- Liu W, Wang X, Wang Y, Wang Y, Zhang J, Shi B, et al. Three-dimensional reconstruction of systematic histological sections: application to observations on palatal shelf elevation. Int J Oral Sci [Internet]. 2021[cited 2023 Oct 19];13(1):17. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41368-021-00122-8> doi: 10.1038/s41368-021-00122-8
- Utsunomiya N, Katsube M, Yamaguchi Y, Yoneyama A, Morimoto N, Yamada S. The first 3D analysis of the sphenoid morphogenesis during the human embryonic period. Sci Rep [Internet]. 2022[cited 2023 Oct 19];12(1):5259. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-08972-w> doi: 10.1038/s41598-022-08972-w
- Tomalty D, Giovannetti O, Velikonja L, Balamane S, Morcos M, Adams MA. Three-dimensional reconstruction of the innervation of the female pelvis: A review of current methods. Clin Anat. 2023;36(5):696-707. doi: 10.1002/ca.24023
- Caon M. Voxel-based computational models of real human anatomy: a review. Radiat Environ Biophys. 2004;42(4):229-35. doi: 10.1007/s00411-003-0221-8
- Haas A, Fischer MS. Three-dimensional reconstruction of histological sections using modern product-design software. Anat Rec. 1997;249(4):510-6. doi: 10.1002/(SICI)1097-0185(199712)249:4<510::AID-AR11>3.0.CO;2-R

4. Вибір методики 3D-реконструювання мікроскопічних структур у пренатальному періоді онтогенезу людини залежить від вікового періоду матеріалу для дослідження, що зумовлене певними технологічними обмеженнями конкретної методики: 3D-реконструювання серій гістологічних зрізів доцільно застосовувати при вивченні зародків та передплідів, а також окремих структур і органів плодів; 3D-реконструювання серій гістотопографічних зрізів – для дослідження органокомплексів передплідів та плодів людини; 3D-реконструювання КТ-зрізів – для вивчення окремих структур плодів людини.

Перспективи подальших досліджень. Удосконалення техніки 3D-реконструювання органокомплексів, залитих у парафіновий блок, потребує розробки методів тотального фарбування препаратів, що значно полегшить як виготовлення серійних гістологічних зрізів, так і окреслення контурів анатомічних структур на зображеннях гістотопографічних зрізів.

Конфлікт інтересів: автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Джерела фінансування: самофінансування.

7. Machin GA, Sperber GH, Ongaro I, Murdoch C. Computer graphic three-dimensional reconstruction of normal human embryo morphogenesis. *Anat Embryol (Berl)*. 1996;194(5):439-44. doi: 10.1007/BF00185991
8. Moons T. 3D Reconstruction from Multiple Images Part 1: Principles. *Foundations and Trends® in Computer Graphics and Vision*. 2008;4(4):287-404. doi: 10.1561/0600000007
9. Nagaoka T, Watanabe S, Sakurai K, Kunieda E, Watanabe S, Taki M, et al. Development of realistic high-resolution whole-body voxel models of Japanese adult males and females of average height and weight, and application of models to radio-frequency electromagnetic-field dosimetry. *Phys Med Biol*. 2004;49(1):1-15. doi: 10.1088/0031-9155/49/1/001
10. Ogoke O, Guiggey D, Mon T, Shamul C, Ross S, Rao S, et al. High resolution, serial imaging of early mouse and human liver bud morphogenesis in three dimensions. *bioRxiv [Internet]*. 2019[cited 2023 Oct 19]:803478. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/803478v3.full> doi: 10.1101/803478
11. Nakano S, Kodama R, Yamaguchi Y, Takakuwa T, Yamada S. MCA-Based Embryology and Embryo Imaging. In: Hashizume M, editor. *Multidisciplinary Computational Anatomy*. Singapore: Springer; 2022. p.121-30. doi: 10.1007/978-981-16-4325-5_14
12. Alomar A, Morales A, Vellvé K, Porras AR, Crispi F, Linguraru MG, et al. Reconstruction of the fetus face from three-dimensional ultrasound using a newborn face statistical shape model. *Comput Methods Programs Biomed [Internet]*. 2022[cited 2023 Oct 19];221:106893. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169260722002759?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.cmpb.2022.106893
13. Spaletta G, Sofroniou M, Barbaro F, di Conza G, Mosca S, Toni R. A Computational Template for Three-Dimensional Modeling of the Vascular Scaffold of the Human Thyroid Gland. *Tissue Eng Part A*. 2023;29(1-2):47-57. doi: 10.1089/ten.TEA.2022.0148
14. Balaya V, Guimiot F, Bruzzi M, El Batti S, Guedon A, Lhuairé M, et al. Feasibility of a fetal anatomy 3D atlas by computer-assisted anatomic dissection. *J Gynecol Obstet Hum Reprod [Internet]*. 2020[cited 2023 Oct 19];49(9):101880. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468784720302312?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.jogoh.2020.101880
15. Fiorentino G, Parrilli A, Garagna S, Zuccotti M. Three-dimensional imaging and reconstruction of the whole ovary and testis: a new frontier for the reproductive scientist. *Mol Hum Reprod [Internet]*. 2021[cited 2023 Oct 19];27(3): gaab007. Available from: <https://academic.oup.com/molehr/article-pdf/27/3/gaab007/36645326/gaab007.pdf> doi: 10.1093/molehr/gaab007
16. Katsube M. Morphometric Analysis for the Morphogenesis of the Craniofacial Structures and the Evolution of the Nasal Protrusion in Humans. In: Hashizume M, editor. *Multidisciplinary Computational Anatomy*. Singapore: Springer; 2022. p. 247-52. doi: 10.1007/978-981-16-4325-5_32
17. Katsube M, Yamada S, Yamaguchi Y, Takakuwa T, Yamamoto A, Imai H, et al. Critical Growth Processes for the Midfacial Morphogenesis in the Early Prenatal Period. *Cleft Palate Craniofac J*. 2019;56(8):1026-37. doi: 10.1177/1055665619827189
18. Azkue JJ. External surface anatomy of the postfolding human embryo: Computer-aided, three-dimensional reconstruction of printable digital specimens. *J Anat*. 2021;239(6):1438-51. doi: 10.1111/joa.13514
19. Takakuwa T. Skeletal System Analysis during the Human Embryonic Period Based on MCA. In: Hashizume M, editor. *Multidisciplinary Computational Anatomy*. Singapore: Springer; 2022. p.113-9. doi: 10.1007/978-981-16-4325-5_13
20. Holroyd NA, Walsh C, Gourmet L, Walker-Samuel S. Quantitative Image Processing for Three-Dimensional Episcopic Images of Biological Structures: Current State and Future Directions. *Biomedicines [Internet]*. 2023[cited 2023 Oct 19];11(3):909. Available from: <https://www.mdpi.com/2227-9059/11/3/909> doi: 10.3390/biomedicines11030909
21. Potrusil T, Heshmat A, Sajedi S, Wenger C, Johnson Chacko L, Glueckert R, et al. Finite element analysis and three-dimensional reconstruction of tonotopically aligned human auditory fiber pathways: A computational environment for modeling electrical stimulation by a cochlear implant based on micro-CT. *Hear Res [Internet]*. 2020[cited 2023 Oct 19];393:108001. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378595520302720?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.heares.2020.108001
22. Salah M, Tayebi L, Moharamzadeh K, Naini FB. Three-dimensional bio-printing and bone tissue engineering: technical innovations and potential applications in maxillofacial reconstructive surgery. *Maxillofac Plast Reconstr Surg [Internet]*. 2020[cited 2023 Oct 19];42(1):18. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7270214/pdf/40902_2020_Article_263.pdf doi: 10.1186/s40902-020-00263-6
23. Gul M, Arif A, Ghafoor R. Role of three-dimensional printing in periodontal regeneration and repair: Literature review. *J Indian Soc Periodontol*. 2019;23(6):504-10. doi: 10.4103/jisp.jisp_46_19
24. Lin K, Sheikh R, Romanazzo S, Roohani I. 3D Printing of Bioceramic Scaffolds-Barriers to the Clinical Translation: From Promise to Reality, and Future Perspectives. *Materials (Basel) [Internet]*. 2019[cited 2023 Oct 19];12(17):2660. Available from: <https://www.mdpi.com/1996-1944/12/17/2660> doi: 10.3390/ma12172660
25. Scheitz CJF, Peck LJ, Groban ES. Biotechnology software in the digital age: are you winning? *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2018;45(7):529-34. doi: 10.1007/s10295-018-2009-5
26. Maroulakos M, Kamperos G, Tayebi L, Halazonetis D, Ren Y. Applications of 3D printing on craniofacial bone repair: A systematic review. *J Dent*. 2019;80:1-14. doi: 10.1016/j.jdent.2018.11.004

PECULIARITIES OF THE IDENTIFICATION OF DIFFERENT TYPES OF TISSUES DURING 3D-RECONSTRUCTION OF HUMAN MICROSCOPIC STRUCTURES

R. R. Dmytrenko, O. A. Koval, L. A. Andrushchak, I. S. Makarchuk, O. V. Tsyhykalo

**Bukovinian State Medical University
(Chernivtsi, Ukraine)**

Summary.

3D reconstruction is an informative, objective method of morphological research that consists in transforming a series of successive sections (histological, macroscopic, anatomical sections, computed tomography (CT), etc.) into a virtual three-dimensional (digital) image that can be studied in different projections and measure volumes, areas, diameters, angles, save, copy, edit.

The aim of the study. The aim of this work was to compare the effectiveness of 3D reconstruction methods of various tissues and microscopic anatomical structures of the human body in the prenatal period of development.

Material and methods. The research was carried out on 6 series of consecutive histological sections of human embryos at the age of 4 to 6 weeks of intrauterine development (IUD), 15 samples of organ complexes of the head, limbs and trunk of human fetuses at the age of 7 to 12 weeks of IUD, human fetuses aged 4-9 months of IUD by the method of making histological (5), as well as histotopographic sections (10) directly from the paraffin block and their digitization, and 14 CT of human fetuses aged 4 to 9 months of IUD.

The studies were conducted in accordance with the most important regulations of the resolution of the First National Bioethics Congress «General Ethical Principles of Experiments on Animals» (2001), ICH GCP (1996), the European Union Convention on Human Rights and Biomedicine (April 4, 1997) and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used in Experimental and Other Scientific Research (March 18, 1986). 1997) and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (18.03.1986), the Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects (1964-2008), EU Directives № 609 (24.11.1986), Orders of the Ministry of Health of Ukraine № 690 dated 23.09.2009, № 944 dated 14.12.2009, № 616 dated 03.08.2012.

The work is carried out within the framework of the initiative research work of the Department of Histology, Cytology and Embryology of the Bukovinian State Medical University «Structural and functional peculiarities of tissues and organs in ontogenesis, regularities of variant, constitutional, gender, age and comparative human morphology». State registration number: 0121U110121. Terms of execution: 01.2021-12.2025.

Results. 3D reconstruction of series of consecutive histological sections is effective for the study of embryonic specimens, organ complexes of prefetuses and certain microscopic structures of human fetuses due to easy identification of histological structures, however, it is necessary to improve the methods of alignment of histological sections both in the correct sequence of the series and in the natural position. 3D reconstruction of histotopographic sections is recommended for the study of specimens of organ complexes of human prefetuses and fetuses. 3D reconstruction of CT sections is an effective and highly accurate tool for the study of X-ray contrast anatomical structures in the fetal period of IUD (bone tissue, contrasting blood vessels), allows using a certain research algorithm to detect and measure ossification centers and syntopy of blood vessels with bones.

Conclusions. For wide application in morphology, the method of 3D reconstruction requires technical improvement of the software-hardware complex for reconstruction, namely: automation of segmentation of sections, as well as improvement of methods of polychrome marking of anatomical structures for their clear differentiation.

Key words: 3D Reconstruction; Bone Tissue Research; Human Prenatal Development; Human Fetuses.

Контактна інформація:

Дмитренко Роман Романович – кандидат медичних наук, доцент кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

e-mail: dmytrenko_roman@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1657-0927>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/D-5584-2017>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57206893715>

Коваль Олександр Анатолійович – кандидат медичних наук, докторант кафедри анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

e-mail: koval190488@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9434-8213>

Андрушак Людмила Анатоліївна – доктор філософії, асистент кафедри гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

e-mail: andrushchak.liudmyla@bsmu.edu.ua

ORSID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6408-431X>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57212558699>

Макарчук Ігор Святославович – аспірант кафедри гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

email: neolith.rv@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5209-7287>

Цигикало Олександр Віталійович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

e-mail: tsyhykalo.olexandr@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2302-426X>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57195933570>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/C-3676-2017>

Contact Information:

Roman Dmytrenko – Candidate of Medical Science, Docent, Associate Professor, Department of Dentistry and Maxillofacial surgery of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

e-mail: dmytrenko_roman@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1657-0927>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/D-5584-2017>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57206893715>

Oleksandr Koval – Candidate of Medical Science, Postdoctoral Student of the Department of Anatomy, Clinical Anatomy and Operative Surgery of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

e-mail: koval190488@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9434-8213>

Ludmyla Andrushchak – PhD, Assistant Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

e-mail: andrushchak.liudmyla@bsmu.edu.ua

ORSID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6408-431X>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57212558699>

Ihor Makarchuk – Postgraduate student of the Department of Histology, Cytology and Embryology of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

email: neolith.rv@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5209-7287>

Olexandr Tsyhykalo – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

e-mail: tsyhykalo.olexandr@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2302-426X>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57195933570>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/C-3676-2017>

