

РАЗДЕЛ 2 – МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ PART 2 – MORPHOLOGICAL METHODS

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАВИСИМОСТИ РАЗМЕРОВ ИЗМЕРЯЕМЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ ОТ ПОЛОЖЕНИЯ ПЛОСКОСТИ СРЕЗА

Луньков А.Е., Гладилин Ю.А., Ибрагимова К.Е.

Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов, Россия, e-mail: aelunkov@mail.ru

THE STUDY OF THE DEPENDENCE OF SIZES OF MEASURED MICROSCOPIC OBJECTS AT THE POSITION OF THE SLICE PLANE

Lun'kov AE, Gladilin UA, Ibragimova KE

Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russia, e-mail: aelunkov@mail.ru

Для цитирования:

Луньков А.Е., Гладилин Ю.А., Ибрагимова К.Е. Исследование зависимости размеров измеряемых микроскопических объектов от положения плоскости среза// Морфологические ведомости.- 2019.- Том 27.- № 4.- С. 55-60. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.19\(27\).04.55-60](https://doi.org/10.20340/mv-mn.19(27).04.55-60)

For the citation:

Lun'kov AE, Gladilin UA, Ibragimova KE. The study of the dependence of sizes of measured microscopic objects at the position of the slice plane. *Morphologicheskie Vedomosti – Morphological Newsletter*. 2019;27(4):55-60. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.19\(27\).04.55-60](https://doi.org/10.20340/mv-mn.19(27).04.55-60)

Резюме: Для микроскопических объектов в виде сфер разных радиусов рассчитана функция распределения радиусов сечений, учитывающая зависимость от положения плоскости среза. С учетом этой зависимости рассчитывались функции распределения радиусов сечений сфер, радиусы которых задавались нормальным законом распределения при варьировании его параметров. Установлено, что различие заданной функции распределения радиусов сфер и функции распределения их сечений в плоскости среза зависит от отношения стандартного отклонения к среднему значению радиусов. В зависимости от этого отношения предложено два простых алгоритма восстановления функции распределения радиусов объектов по функции распределения радиусов их сечений. Показано, что эти алгоритмы можно применять и для коррекции экспериментальной кривой распределения размеров микроскопических объектов в виде эллипсоида.

Ключевые слова: морфометрия, сфера, эллипсоид, плоскость среза, размеры сечений

Summary: For microscopic objects in the form of spheres of different radii have been calculated the functions of distribution of the cross sections radii, taking into account the dependence on the position of the plane of the slice. Taking into account this dependence, the distribution functions of the cross sections radii of the spheres whose radii were given by the normal distribution law with the variation of its parameters were calculated. It is found that the difference between the given distribution function of the radii of spheres and the distribution function of their sections in the plane of the slice depends on the ratio of the standard deviation to the mean value of the radii. Depending on this relation, two simple algorithms are proposed to reconstruct the distribution function of the radii of objects by the distribution function of the radii of their sections. It is shown that these algorithms can be used to correct the experimental curve of the size distribution of micro-objects in the form of ellipsoid.

Key words: *morphometry, sphere, ellipsoid, cut plane, section sizes*

Введение. Появление цифровых микроскопов существенно повысило возможности обработки изображений за счет разделения процедуры получения изображений и их анализа, а также сохранения изображений в виде компьютерных файлов. Однако новые возможности обработки изображений не решают проблем, связанных с их получением. Одной из таких проблем в морфометрии является зависимость наблюдаемых размеров микроскопических объектов от положения плоскости среза. За счет случайного изменения положения плоскости среза получают различные сечения объекта, размеры которых отличаются от истинных поперечных размеров исследуемых объектов. Решения этой задачи в медицинской морфометрии, в основном заимствованные из стереометрической металлургии [1-3], наиболее подробно представлены в работе [4].

Анализ работ, посвященных данной проблеме, приводит к следующим выводам. В качестве исходных данных использовались выборки измеренных размеров сечений исследуемых объектов, представленные в виде гистограмм их распределений. Задача определения размеров самих микроскопических объектов решалась для их геометрических эквивалентов в виде сферы. Известные способы ее решения связывают средние диаметры наблюдаемых сечений сфер, зависящих от положения плоскости сечения, со средними

диаметрами сфер [3-4]. Известен также способ получения функции распределения диаметров сферических микроскопических объектов по экспериментальной функции распределения диаметров их сечений, использующий достаточно трудоемкий алгоритм графической коррекции экспериментальной гистограммы измеренных диаметров сечений [5]. В литературе отсутствуют данные прямого сопоставления заданного закона распределения диаметров микроскопических объектов с наблюдаемыми распределениями диаметров их сечений. Последняя задача и явилась главной целью настоящего исследования, поскольку ее решение дает самую объективную информацию о возможности по наблюдаемому в плоскости среза распределению диаметров получить истинное распределение диаметров исследуемых микроскопических объектов.

Цель исследования - рассчитать функции распределения радиусов сечений сфер, радиусы которых описываются законом нормального распределения при варьировании его параметров.

Материалы и методы исследования. В качестве метода исследования использовалось численное моделирование в среде MS Excel, основанное на использовании аналитических зависимостей. Рассмотрим распределение радиусов сечений r сфер радиусов R в зависимости от положения плоскости сечения h . Эта зависимость следующий имеет вид:

$$(1) \quad r = R \sqrt{1 - \left(\frac{h}{R}\right)^2}$$

Для каждого значения R среднее значение меняющихся радиусов сечений находится как интегральное среднее функции (1) [6].

$$(2) \quad r_{cp} = \frac{1}{R} \int_0^R \sqrt{R^2 - h^2} dh = R \frac{\pi}{4} = 0,785R$$

Этот результат, приведенный в работе [7], не вызывает никаких сомнений и отражается на конечном итоге анализа, приводимого ниже.

На практике значения радиусов объектов R могут меняться в соответствии с тем или иным законом распределения $F(R)$. В силу этого функция распределения радиусов сечений в исследуемой плоскости среза в общем случае будет иметь вид

$$(3) \quad f(r) = R \sqrt{1 - \left(\frac{h}{R}\right)^2} \cdot F(R)$$

Нахождение $f(R)$ проводилось в два этапа. На первом этапе задавалось изменение R от 0,1 до 1 с шагом 0,1 и рассчитывалось распределение сечений r , вызванное изменением положения плоскости сечения, то есть, h/R . С этой целью для каждого значения R при всех значениях h/R от 0 до 0,95 с шагом 0,05 по формуле (3) находились значения r . Затем с использованием функции Excel ЧАСТОТА рассчитывалось число значений r , попавших в каждый из интервалов: 0-0,1; 0,1-0,2; 0,2-0,3; и т.д. до 0,9-1. Результаты расчетов сведены в таблицу 1. Нижняя строка таблицы 1 дает итоговое распределение радиусов сечений r , которое имеет место при равновероятном распределении значений радиусов сфер R в данном интервале. Итоговые значения показывают, что при этом распределение радиусов сечений остается практически равномерным до $r=0,5R$. С приближением значений r к R их количество плавно уменьшается на 35-40%.

Задание R в относительном виде позволяет использовать результаты для соответствующего диапазона изменения абсолютных значений, которые получаются умножением относительных значений на максимальное значение наблюдаемых радиусов.

На втором этапе анализа рассчитывалось распределение $f(r)$ с учетом заданного рас-

Таблица 1

Вклады сфер разных радиусов R в распределение радиусов их сечений r

R	Распределение r по интервалам									
	0-0,1	0,1-0,2	0,2-0,3	0,3-0,4	0,4-0,5	0,5-0,6	0,6-0,7	0,7-0,8	0,8-0,9	0,9-1
0,1	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,2	2	17	-	-	-	-	-	-	-	-
0,3	1	4	14	-	-	-	-	-	-	-
0,4	-	2	4	13	-	-	-	-	-	-
0,5	-	1	3	4	11	-	-	-	-	-
0,6	-	1	1	3	3	11	-	-	-	-
0,7	-	-	1	2	3	3	10	-	-	-
0,8	-	-	1	1	2	2	4	9	-	-
0,9	-	-	1	1	1	2	2	3	9	-
1	-	-	-	1	1	2	1	3	3	8
Сумма	22	25	25	25	21	20	17	15	12	8

пределения радиусов F(R), в качестве которого использовался нормальный закон распределения в виде

$$F(R) = e^{-\frac{(R_{\text{срд}} - R)^2}{2\sigma^2}} \quad (4)$$

где R_{срд} – среднее значение R, σ – стандартное отклонение. Разные варианты F(R) задавались изменением R_{срд} и σ. Значения R_{срд}, как и значения R, брались в относительных единицах (0,1; 0,2; 0,3 и т.д.).

Для нахождения f(r) каждая строка таблицы 1 умножалась на соответствующее значение заданной функции F(R), что изменяло распределение радиусов r по интервалам. Итоговые суммы по столбцам нормировались относительно максимальной суммы для удобства сопоставления с заданной функцией F(R). Примеры сопоставления функций приведены на рис.1, где F(R) – пунктирные линии, а f(r) – сплошные.

При получении графиков функций F(R) и f(r) использовалась возможность компьютерного моделирования, позволяющая автоматически получать новый вид графиков при изменении параметров функции F(R). Для этого значения R_{срд} и σ вводились в расчетные формулы в виде адресов ячеек, что при вводе в них новых числовых значений сразу давало новые значения в таблицах и новый вид кривых, построенных по данным этих таблиц. Эта возможность позволила быстро перебрать множество сочетаний параметров функции F(R) с наглядным сопоставлением ее с функцией распределения радиусов сечений f(r), которая на практике отражает распределение радиусов, непосредственно измеряемых на срезах.

Результаты исследования и обсуждение. Проведенный анализ показал, что различие функций F(R) и f(r) зависит только от отношения σ/R_{срд} и проявляется в двух вариантах, отображенных на рис. 1. При σ/R_{срд}<0,2 функция f(r) имеет отрицательную (левостороннюю) асимметрию при практически полном совпадении правых сторон функций f(r) и F(R) (рис.1, правая пара кривых). Этот результат согласуется с данными работы [5], представленными также в работе [4], в которых рассматривается метод графической коррекции экспериментальной гистограммы распределения диаметров сечений, также имеющей левостороннюю асимметрию. Для σ/R_{срд}>0,3 функция f(r) становится симметричной, но происходит смещение ее максимума в сторону меньших значений радиусов (см. рис. 1, левая пара кривых). В этом случае положение максимумов

функций $f(r)$ и $F(R)$ всегда отвечает соотношению $r_{\max}=0,785R_{\max}$, совпадающему с соотношением (2).

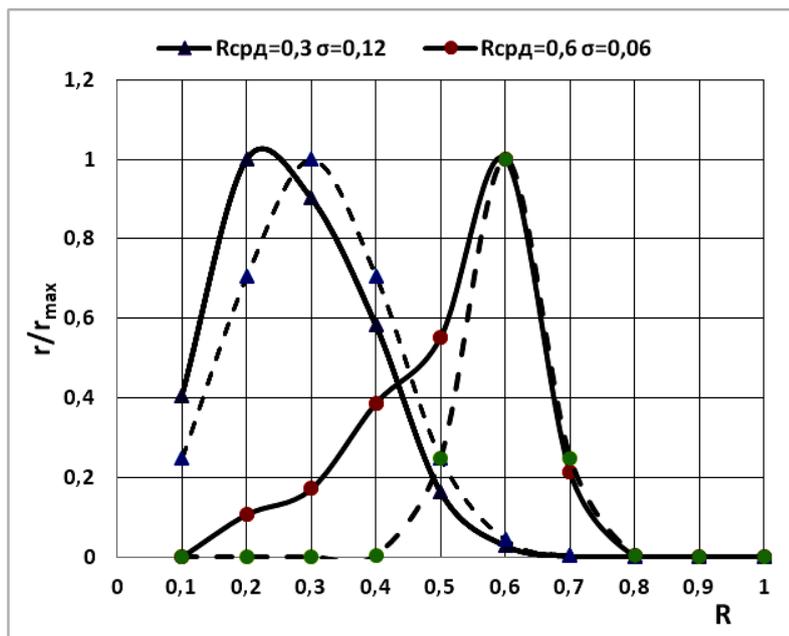


Рис. 1. Распределение радиусов сечений r (сплошные линии) в зависимости от заданного распределения радиусов объектов R (пунктирные линии)

иначе связана с отношением $\sigma / R_{\text{срд}}$. Как следует из соотношения (3), экспериментальная функция распределения радиусов (или диаметров) сечений $f(r)$ формируется взаимодействием функции распределения радиусов сфер $F(R)$ и зависимости от положения плоскости сечения, то есть отношения h/R . Если $F(R)$ имеет небольшой разброс ($\sigma / R_{\text{срд}} < 0,2$), то $r_{\max} \approx R_{\max}$ и за счет вклада радиусов сечений сфер, у которых $R < R_{\max}$, функция распределения сечений $f(r)$ приобретает левостороннюю асимметрию. При размытой функции распределения радиусов сфер ($\sigma / R_{\text{срд}} > 0,3$) больший вес приобретает зависимость от положения плоскости среза (h/R) и характерное для нее соотношение (2).

Из проведенного анализа следуют простые практические рекомендации по коррекции экспериментальных распределений измеренных на срезе радиусов. При явно выраженной левосторонней асимметрии необходимо восстановить симметрию кривой распределения r , симметричным переносом координат правой части кривой на ее левую часть. В случае более размытого и симметричного распределения r необходимо сместить всю кривую вправо, умножив все значения радиусов на $4/\pi=1,274$.

Использованную методику исследования и сами результаты можно перенести и на случай геометрического эквивалента микроскопических объектов в виде эллипсоида на основании следующего доказательства. Из канонического уравнения эллипсоида

$$\frac{x^2}{A^2} + \frac{y^2}{B^2} + \frac{z^2}{C^2} = 1$$

уравнение сечения, полученного плоскостью, перпендикулярной оси OZ на уровне $z=h$ принимает вид

$$\frac{x^2}{a^2} + \frac{y^2}{b^2} = 1, \quad \text{где}$$

$$(5) \quad a = A\sqrt{1 - \frac{h^2}{C^2}} \quad \text{и} \quad b = B\sqrt{1 - \frac{h^2}{C^2}}$$

В работах [2, 8, 9] приводится соотношение между средним диаметром сечений $d_{\text{ср}}$ и диаметром сфер $D_{\text{ср}}$, полученное с использованием соотношений между моментами распределения выборки и производными от них характеристиками распределения диаметров

$$d_{\text{ср}} = D_{\text{ср}} \frac{\pi}{4} \left(1 + \left(\frac{\sigma}{D_{\text{ср}}} \right)^2 \right)$$

Так как средние значения соответствуют максимумам, по этой формуле для левой пары кривых рис. 1 получилось бы, что $r_{\max} = 0,91R_{\max}$.

Наши результаты показывают, что зависимость между средними значениями радиусов сфер и их сечений

Формулы (5) показывают, что отношение полуосей эллипсоида сохраняется у его сечений ($A/B=a/b$). Кроме этого, соотношения между полуосями эллиптического сечения a, b и полуосями эллипсоида A, B аналогичны соотношению (1) между радиусами сферы R и радиусами ее сечений r . В силу этого данные таблицы 1 и весь последующий анализ с его результатами можно перенести на сопоставление распределений $f(a)$ и $F(A)$, а также $f(b)$ и $F(B)$.

Поскольку в случае эллипсоидо-подобных микроскопических объектов данные измерений представляют собой выборку сопряженных значений a и b , появляются дополнительные возможности анализа данных. К ним относится получение регрессионного соотношения между a и b , а также возможность сопоставления функций распределения значений большой и малой полуосей $f(a)$ и $f(b)$, полученных отдельно. При таком сопоставлении должны проверяться следующие очевидные условия. Функции $f(a)$ и $f(b)$ в виде, нормированном к максимальному значению, должны быть похожи, а их максимумы должны находиться при средних значениях a и b , связанных полученным регрессионным соотношением. Другие возможности анализа микроскопических объектов в виде эллипсоида можно также найти в работе [4].

Заключение. В результате проведенных исследований предложены простые алгоритмы коррекции распределения размеров сечений микроскопических объектов, измеряемых по срезу, с целью получения функции распределения размеров самих микроскопических объектов. Как и в других, ранее известных способах решения этой задачи, использовались геометрические эквиваленты микроскопических объектов в виде сферы и эллипсоида. Исползованный метод числового компьютерного моделирования позволил наглядно сопоставить функции распределения размеров микроскопических объектов с соответствующими функциями распределения размеров их сечений. Алгоритмы коррекции экспериментальных данных морфометрии, предложенные на основе этого сопоставления, применимы для микроскопических объектов, как сферической формы, так и в форме эллипсоидов.

Авторы сообщают об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования.

Литература

References

1. Saltykov S.A. *Vvedenie v stereometricheskuyu metallurgiyu.*- M.: Metallurgiya, 1950.
2. Spektr A.G. *Statisticheskij analiz struktur s sharoobraznymi zernami// V kn.: Zavodskaya laboratoriya.*- 1955.- № 2.- S. 193-197.
3. Saltykov S.A. *Stereometricheskaya metallografiya.*- M.: Metallurgiya, 1976.- 270s.
4. Ivanitskiy G.R., Shmakov A.K. *Metody statisticheskogo analiza odnorodnykh mnogoslonykh biologicheskikh struktur// V kn.: Metody i tekhnika mashinnogo biologicheskikh struktur.*- M.: Nauka, 1972.- S. 31-54.
5. Elias H, Henning A. *Stereology of the human renal glomerulus.* In Book: *Quantitative Methods in Morphology.* Berlin: Springer-Verlag, 1967.- P. 131.
6. Bronshteyn I.N., Semendyaev K.A. *Spravochnik po matematike.* M.: GIFML, 1962.- 358s.
7. Abercrombie M. *Estimation of nuclear population from microtome sections.* *Anatomical Record.* 1946;94(2):239.
8. Bryukhanov V.M., Emel'yanov F.F., Zvezdin V.P. i dr. *K tekhnike opredeleniya istinnykh razmerov sfericheskikh struktur po dannym gistologicheskogo analiza//Arkhiv patologii.*- 1974.- № 11.- S. 84-85.
9. Avtandilov G.G., Yabluchanskiy N.I., Gubenko V.G. *Sistemnaya stereometriya v izuchenii patologicheskogo protsessa.*- M.: Meditsina, 1981.- 190s.

Авторская справка

Луньков Александр Евгеньевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры медицинской и биологической физики, Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского, Саратов, Россия; e-mail: aelunkov@mail.ru

Гладилин Юрий Александрович, доктор медицинских наук, доцент кафедры анатомии человека, Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского, Саратов, Россия; e-mail: aelunkov@mail.ru

Ибрагимова Камила Евгеньевна, студентка 2 курса лечебного факультета, Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского, Саратов, Россия; e-mail: sama.ibragimova@yandex.ru