

DOI: 10.26693/jmbs02.04.040

УДК 611.813.8.013-053.15:004.94

Хмара Т. В.¹, Ризничук М. О.¹, Комшук Т. С.²

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ 3D РЕКОНСТРУЮВАННЯ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ ПРЕНАТАЛЬНОГО МОРФОГЕНЕЗУ ШЛУНОЧКОВОЇ СИСТЕМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

¹Вищий державний навчальний заклад України
«Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці

²Ківерцівський медичний коледж, Ківерці, Волинська область

khmara.tv.6@gmail.com

У статті висвітлено особливості становлення ембріотопографії шлуночків головного мозку у зародковому періоді онтогенезу людини. Показано доцільність та переваги використання методу тривимірного комп'ютерного реконструювання при вивченні шлуночкової системи головного мозку на ранніх стадіях пренатального періоду онтогенезу людини. Встановлено, що формоутворення бічних шлуночків відбувається під безпосереднім впливом розвитку самих півкуль та диференціюванням їх внутрішніх структур. У зародків 6,5-8,0 мм тім'яно-куприкової довжини (ТКД) внаслідок потовщення бічних стінок проміжного мозку порожнина III шлуночка має келихоподібну форму, у зародків 9,0-10,0 мм ТКД III шлуночку притаманна еліпсоподібна форма, а наприкінці 6-го тижня ембріогенезу (зародки 11,0-13,0 мм ТКД) його порожнина звужується і поступово набуває ромбоподібної форми. IV шлуночку головного мозку властива циліндрична форма. Наприкінці зародкового періоду (кінець 6-го тижня внутрішньоутробного розвитку) спостерігається формування судинного сплетення III шлуночка головного мозку.

Ключові слова: головний мозок, 3D реконструкція, шлуночкова система, зародок, морфогенез.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження є фрагментом планової комплексної міжкафедральної теми кафедр анатомії людини ім. М.Г. Туркевича (зав. – проф. В.В. Кривецький) і кафедри анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії (зав. – проф. О.М. Слободян) ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» «Особливості морфогенезу та топографії систем і органів у пре- та постнатальному періодах онтогенезу людини», № державної реєстрації 0115U002769.

Вступ. Анатомія людини впродовж багатьох років, навіть століть, використовувала ті ж методи дослідження та підходи, які використовували її за-

сновники. Наприкінці 20-го століття з появою цифрових обчислювальних машин і автоматизованих систем управління інформацією анатоми отримали можливість зробити видатний внесок у розвиток морфології і медичної освіти [3, 9]. Використання 3D-технологій – істотний прорив у галузі медицини, що має великі перспективи у вдосконаленні та модернізації медичних технологій [4, 10]. Технології 3D-моделювання використовуються для розробки інтерактивних навчальних додатків, моделей об'єктів наукових досліджень, штучно створених елементів скелета та внутрішніх органів [5, 6].

3D технології на даний час міцно увійшли в життя сучасного суспільства і знайшли застосування як в повсякденному житті, так і в медичній практиці, будучи одним з напрямків наукових досліджень, які динамічно розвиваються [7, 8]. В останні роки на кафедрі анатомії людини ім. М.Г. Туркевича широко використовують метод виготовлення 3D реконструкційних моделей за серійними гістологічними зрізами для з'ясування особливостей розвитку і становлення топографії органів і структур упродовж онтогенезу людини. Зазначимо, що вивчення особливостей ембріогенезу шлуночкової системи головного мозку є морфологічною основою для розуміння механізмів виникнення варіантів та вад її розвитку, а також для антенатальної профілактики ряду захворювань, які виявляються після народження. Враховуючи органоспецифічні особливості головного мозку та пов'язану з ними складність візуалізації лікворної системи, високий рівень природженої патології центральної нервової системи стає зрозумілим актуальність дослідження ембріотопографії вентрикулярної системи людини.

Тому **метою** даного **дослідження** було встановлення особливостей закладки та розвитку шлуночків головного мозку у зародковому періоді онтогенезу людини.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на 7 серіях послідовних гістологічних

зрізів зародків людини 4,0-13,0 мм тим'янокуприкової довжини (ТКД) і 4 тривимірних комп'ютерних реконструкційних моделях шлуночків головного мозку зародків різного віку. Виготовлення серійних гістологічних зрізів завтовшки 15 мкм із парафінових блоків проводили в трьох площинах тіла ембріона – сагітальній, горизонтальній та фронтальній, що при зіставленні одержаних даних дозволило всебічно дослідити будову і топографію шлуночків головного мозку та їх взаємовідношення. Для диференційованого поліхромного забарвлення різних тканин застосовували додаткове фарбування зрізів на скельцях гематоксиліном і еозином, борним карміном та за методом Ван-Гізона. Три комп'ютерні реконструкції лікворної системи головного мозку зародків виготовлені із восьми серій гістотопографічних зрізів.

Із кожної серії гістотопографічних зрізів для їх тривимірної реконструкції та морфометрії використовували запропонований морфологами спосіб [1, 2]. Для цього за загальноприйнятою методикою виготовляли парафіновий блок із препаратом, закріплювали його в об'єктотримачі мікротом, 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.

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 морфометричного модуля комп'ютерної програми для реконструкції 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 тривимірної комп'ютерної 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, корелятивні взаємовідношення, відносні розміри тощо. Крім того, є можливість досить точно проводити морфометрію – визначати розміри, кути, площу, об'єм.

Робота була проведена відповідно до вимог «Інструкції про проведення судово-медичної експертизи» (наказ МОЗ України №6 від 17.01.1995),

відповідно до вимог і норм, типовим положенням з питань етики МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р

Результати досліджень та їх обговорення.

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

- оцифрування зрізів;
- завантаження серії файлів у комп'ютерну програму для реконструювання;
- калібрування серії (визначення розміру пікселя та вокселя);
- сегментація (обведення на кожному зрізі структур, які вивчаються);
- рендерінг – створення просторової моделі.

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 файлу.

Якщо ширина кожного графічного файлу послідовної серії, яка підлягає реконструюванню, дорівнює 1200 пікселів, що, відповідно до мікрометричної лінійки, є тотожним 19 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.

Найкращі результати отримані під час обробки серії з 60-80 файлів. Для цього відбирався кожен третій чи четвертий файл та перераховувався розмір вокселя. Із 350 файлів-зрізів, виготовлених із препарату товщиною 4 мм, відбирається кожен 5-й зріз, тобто 70 файлів. У такому разі розмір вокселя дорівнює 0,058 (4:70).

Під час дослідження серії гістологічних зрізів препаратів головного мозку використовувався один із видів тривимірної комп'ютерної реконструкції – об'ємний рендерінг. 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 тривимірної реконструкції дозволяє вивчати форму контрастованих 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: простота виготовлення послідовної серії цифрових зображень анатомічного препарату; вирішення проблеми

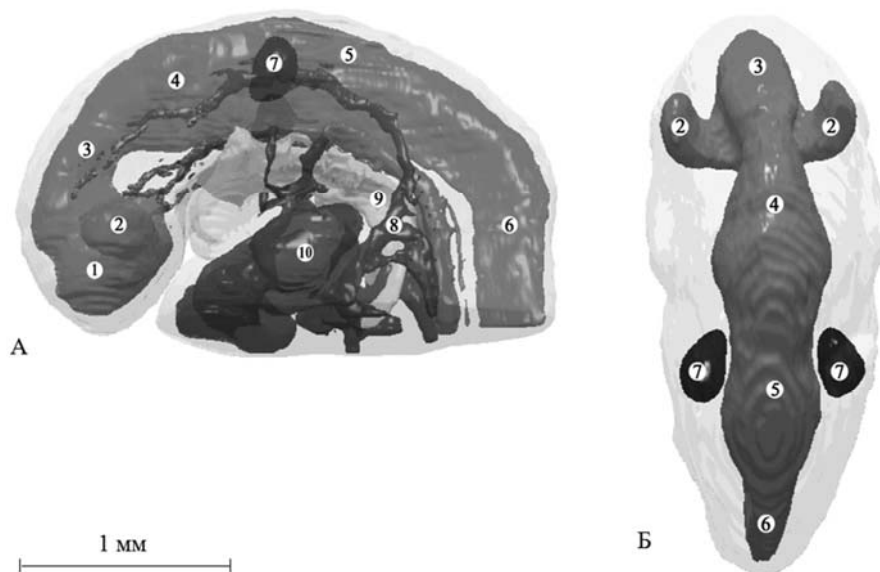


Рис. 1. Тривимірна комп'ютерна реконструкція серії гістологічних зрізів голови зародка 4,5 мм ТКД:

А – ліва проекція, Б – верхня проекція:

- 1 – закладка кінцевого мозку; 2 – бічні шлуночки; 3 – третій шлуночок; 4 – зачаток водопроводу мозку; 5 – четвертий шлуночок; 6 – центральний канал спинного мозку; 7 – зачаток очного яблука; 8 – злиття прекардинальних та посткардинальних вен; 9 – передня кишка; 10 – зачаток серця

дотримання послідовності та точного зіставлення зображень; можливість точно вимірювати кути між анатомічними структурами та їх розміри в потрібних площинах.

На **рис. 1** чітко видно, що на 4-му тижні ембріонального розвитку (зародки 4,0-5,0 мм ТКД) головний мозок складається з трьох мозкових міхурів. Нервова трубка має розширення в ділянці

переднього та заднього міхурів та звуження в ділянці згину середнього мозкового міхура. У зв'язку з інтенсивним ростом вентральної стінки мозкових міхурів утворюється вентральна мозкова складка. В ембріонів 5-го тижнів (6,0-8,0 мм ТКД) вона коротка і проходить майже горизонтально.

На **рис. 2** за допомогою методу 3D-реконструкції представлено закладку IV шлуночка головного мозку. Останній має циліндричну форму і формується у зародків 5,0-5,9 мм ТКД з порожнини ромбоподібного мозку.

У зародків 6,0-7,0 мм ТКД за допомогою 3D зображення вентрикулярної системи головного мозку можна чітко побачити як утворюються бічні випини переднього мозкового міхура – теленцефалічні міхурці, з яких у подальшому розвиваються півкулі кінцевого мозку. Порожнини теленцефалічних міхурців мають наближену півмісяцеву форму. У серединних відділах вони широко з'єднуються як між собою, так і з дорсальною частиною порожнини переднього мозкового міхура, яка в подальшому стає III шлуночком. Зазначимо, що з даної стадії ембріогенезу починається поступове перетворення цієї надзвичайно простої структури в складну систему, що являє собою бічний шлуночок (**рис. 3**).

У зародків 6,5-8,0 мм ТКД внаслідок утворення очної ямки відбувається розмежування кінцевого та проміжного мозку, започатковується розвиток III шлуночка, а також спостерігається утворення міжшлуночкових отворів, які з'єднують III та бічні

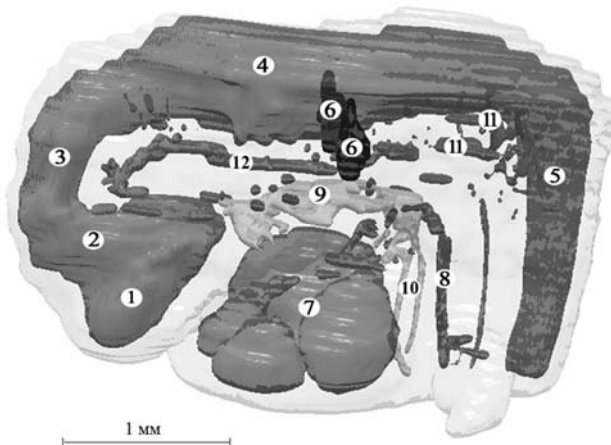


Рис. 2. Тривимірна комп'ютерна реконструкція серії гістологічних зрізів голови зародка 5,0 мм ТКД.

Ліва проекція:

- 1 – передній мозковий міхур; 2 – третій шлуночок; 3 – зачаток водопроводу мозку; 4 – четвертий шлуночок; 5 – зачаток спинного мозку; 6 – зачаток очного яблука; 7 – зачаток серця; 8 – посткардинальні вени; 9 – зачаток ротової порожнини; 10 – зачаток бронхів; 11 – хребтові артерії; 12 – основна артерія

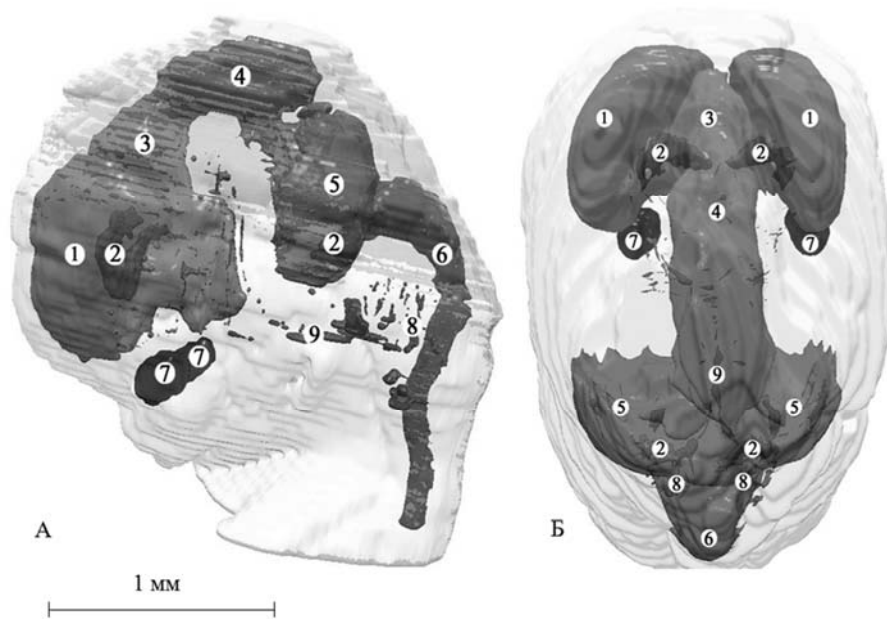


Рис. 3. Тривимірна комп'ютерна реконструкція серії гістологічних зрізів голови зародка 7,0 мм ТКД:

А – ліва проекція, Б – верхня проекція:

- 1 – бічні шлуночки; 2 – судинні сплетення; 3 – третій шлуночок; 4 – водопровід мозку; 5 – четвертий шлуночок; 6 – зачаток спинного мозку; 7 – зачаток очного яблука; 8 – хребтова артерія; 9 – основна артерія

шлуночки. Внаслідок потовщення бічних стінок проміжного мозку порожнина III шлуночка набуває келихоподібної форми. Ці потовщення є початком утворення таламусів.

У зародків 9,0-10,0 мм ТКД III шлуночок має еліпсоподібну форму, його поздовжній розмір становить $1,4 \pm 0,1$ мм, поперечний – $0,2 \pm 0,06$ мм. У зародків 9,0-12,0 мм ТКД визначаються контури довгастого мозку, що є продовженням спинного мозку. При цьому центральний канал спинного мозку утворює порожнину IV шлуночка, яка має форму ромба.

У зародків 11,0-13,0 мм ТКД порожнина III шлуночка звужується і поступово набуває ромбоподібної форми. Поздовжній розмір III шлуночка становить $1,8 \pm 0,4$ мм, поперечний – $0,3 \pm 0,05$ мм. Міжшлуночкові отвори зменшуються в діаметрі. Довжина пластинки покрівлі проміжного мозку дорівнює $3,4 \pm 0,5$ мм, її ширина в передній частині становить $0,5 \pm 0,1$ мм, а в задній – $0,2 \pm 0,01$ мм, товщина пластинки досягає $6,0 \pm 1,5$ мм. У цей період відбувається формування судинного сплетення III шлуночка.

Спостерігається тісний взаємозв'язок між розвитком порожнини головного мозку, зокрема його шлуночків, та морфогенезом відповідних частин мозку. В процесі ускладнення будови шлуночків головного мозку, а саме в період утворення судинного сплетення, можуть відбуватися порушення, які спричиняють виникнення вад на подальших

етапах онтогенезу. На підставі вище зазначеного, цей період (6-й тиждень ембріонального розвитку) можна віднести до критичних.

Наприкінці зародкового періоду відмічається прискорений розвиток кінцевого та заднього мозку, що зумовлює швидке диференціювання частин головного мозку та їх порожнин, і уповільнений ріст ділянки середнього мозку. Формоутворення бічних шлуночків відбувається під безпосереднім впливом розвитку самих півкуль та диференціюванням їх внутрішніх структур.

Метод тривимірного комп'ютерного моделювання шлуночкової системи головного мозку має переваги, що дають можливість побачити сам об'єкт (шлуночки головного мозку), визначити їх форму, розміри та топографо-анатомічні особливості на різних стадіях онтогенезу людини, які не можна отримати за допомогою мікроскопічного методу і методів графічного та пластичного реконструювання.

Висновки. У зародковому періоді онтогенезу людини формоутворення бічних шлуночків головного мозку відбувається під безпосереднім впливом розвитку самих півкуль та диференціюванням їх внутрішніх структур.

Наприкінці зародкового періоду відмічається прискорений розвиток кінцевого та заднього мозку та спостерігається утворення судинного сплетення III шлуночка головного мозку.

Перспективи подальших досліджень. Отримані анатомічні дані можуть бути використані в нейрохірургії, нейрофізіології, неврології та нейроморфології з метою з'ясування ранніх стадій нейроонтогенезу та уточнення зон ураження вентрикулярної системи головного мозку, оптимізації вивчення пренатальної анатомії та становлення взаємозв'язків

шлуночків головного мозку людини з суміжними структурами, а також при виконанні ряду наукових робіт та їх впровадження в навчальний процес. Результати дослідження доповнюють існуючі уявлення про джерела закладки, розвиток і становлення синтопії шлуночків головного мозку на ранніх стадіях пренатального періоду онтогенезу людини.

References

1. Akhtemiychuk YuT, Tsyhykalo OV, Livak DM. Sposib tryvymirnoho rekonstruyuvannya mikroskopichnykh anatomichnykh struktur. Problemy, dostyzhennya u perspektyvy razvytyya medyko-byolohycheskykh nauk u praktycheskoho zdavookhranennya. *Trudy Krymskoho hos med un-ta ym SY Heorhyevskoho*. 2006; 142 (1): 128. [Ukrainian].
2. *Patent 85504 Ukraine*. Sposib tryvymirnoho komp'yuternoho rekonstruyuvannya mikroskopichnykh anatomichnykh struktur / Tsyhykalo OV, Boychuk TM, Antonyuk OP, Kashperuk-Karpyuk IS. (UA); zayavnik i vlasnik patentu Bukovynskiy derzhavnyi medychniy universytet (UA). № u201305497; zayavl. 29.04.2013; opubl. 25.11.2013. Byul. № 22. 2 s. [Ukrainian].
3. Huang Q, Adams B, Wand M. Bayesian surface reconstruction via iterative scan alignment to an optimized prototype. *Proceedings of the Fifth Eurographics Symposium on Geometry Processing*. Barcelona, Spain, 04-06 July, 2007. 2007. p. 213-23.
4. Reidenberg JS, Laitman JT. The new face of gross anatomy. *Anat Rec*. 2012; 1 (35): 29-34.
5. Robert B. Trelese Anatomical Informatics. *Millennial Perspectives on a Newer Frontier*. 2011; 9 (2/11): 269-78.
6. Schenk MP. Going digital: Image preparation for biomedical publishing. *Anat. Rec. (New Anat)*. 2010; 4, (3/5): 78-83.
7. Snezhko EV, Tuzikov AV. External Force Generation for Object Segmentation on 3D Ultrasound Images Using Simplex Meshes. *Proceedings of the Pattern Recognition and Image Analysis International Conference*. 2006; 16: 89-92.
8. Svensson S, Sanniti G di Baja. Using distance transforms to decompose 3D discrete objects. *Image and Vision Computing*. 2002; 20 (8): 529-40. [https://doi.org/10.1016/S0262-8856\(02\)00042-2](https://doi.org/10.1016/S0262-8856(02)00042-2)
9. Perrini P, Tiezzi G, Castagna M, Vannozzi R. Three-dimensional microsurgical anatomy of cerebellar peduncles. *Neurosurg Rev*. 2013; 36 (2): 224-5.
10. Trelease RB. The virtual anatomy practical: A stereoscopic 3D interactive multimedia computer examination program. *Clin Anat*. 2011; 8 (6/55): 65-76.

УДК 611.813.8.013-053.15:004.94

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА 3D РЕКОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПРЕНАТАЛЬНОГО МОРФОГЕНЕЗА ЖЕЛУДОЧКОВОЙ СИСТЕМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Хмара Т. В., Ризничук М. А., Комшук Т. С.

Резюме. В статье освещены особенности становления эмбриотопографии желудочков головного мозга в зародышевом периоде онтогенеза человека. Показана целесообразность и преимущества использования метода трехмерной компьютерной реконструкции при изучении желудочковой системы головного мозга на ранних стадиях пренатального периода онтогенеза человека. Установлено, что формирование боковых желудочков происходит под непосредственным влиянием развития самих полушарий и дифференцировкой их внутренних структур. У зародышей 6,5-8,0 мм теменно-копчиковой длины (ТКД) вследствие утолщения латеральных стенок промежуточного мозга полость III желудочка имеет бокаловидную форму, у зародышей 9,0-10,0 мм ТКД III желудочку присуща эллипсоидная форма, а в конце 6-й недели эмбриогенеза (зародыши 11,0-13,0 мм ТКД) его полость сужается и постепенно приобретает ромбовидную форму. IV желудочку головного мозга свойственна цилиндрическая форма. В конце зародышевого периода (конец 6-й недели внутриутробного развития) наблюдается формирование сосудистого сплетения III желудочка головного мозга.

Ключевые слова: головной мозг, 3D реконструкция, желудочковая система, зародыш, морфогенез.

UDC 611.813.8.013-053.15:004.94

Implementation of 3D Reconstruction Method in the Study of Prenatal Morphogenesis of Brain Ventricular System

Khmara T. V., Ryznychuk M. A., Komshuk T. S.

Abstract. Current research is a fragment of the comprehensive inter-departmental theme of the M.G. Turkevych Department of Human Anatomy (head prof. V.V. Krivetskii) and the Department of Anatomy,

Topographic Anatomy and Operative Surgery (head prof. O. M. Slobodian), HSEI of Ukraine "Bukovinian State Medical University" "Features of morphogenesis and topography of systems and organs in the pre- and postnatal periods of human ontogenesis ", state registration number 0115U002769.

3D technology has been well established in modern society and has been applied both in everyday life and in medical practice, being a popular topic for the scientific research. In recent years, the method of making 3D reconstruction models on serial histological sections has been widely used to find out the peculiarities of the topography of organs and structures development during human ontogenesis at M.G. Turkevych Department of Human Anatomy.

The purpose of the research was to identify the features of the anlage and development of the brain ventricles in the embryonic period of human ontogenesis.

Materials and methods. We used the method of making serial histological sections of human embryos, which are 15 mm thick, from paraffin blocks. The cuts were done in three planes of the embryo's body – sagittal, horizontal and frontal ones. By using a series of obtained digital images a three-dimensional computer model of the investigated anatomical structure was constructed and morphometry performed by a specialized software (Virtual Anatomist).

Results. The peculiarities of the embryotopography of the brain ventricles development in the embryonic period of human ontogenesis were examined. The expediency and advantages of using the three-dimensional computer reconstruction method have been shown while studying the ventricular system of the brain in the early stages of the prenatal period of human ontogenesis. It was established that the morphogenesis of the lateral ventricles takes place under a direct influence of the hemispheres' development and of their internal structures differentiation. The cavity of ventricle III in the embryo with 6,5-8,0 mm of the crown-rump length (CRL) is goblet-shaped due to the thickening of the lateral walls of the between brain. In those with 9,0-10,0 mm of CRL ventricle III is characterized by an elliptical form, and at the end of the 6th week of embryogenesis (embryos with 11,0-13,0 mm of CRL). Its cavity is narrowed and gradually becomes diamond-shaped. Ventricle IV of the brain is characterized by a cylindrical shape. At the end of the embryonic period (late 6th week of fetal development), the formation of the vascular plexus of the third ventricle of the brain was observed, as well as accelerated morphogenesis of the telencephalon and the hindbrain, which results in a rapid differentiation of the brain parts and their cavities, and a slow growth of the mesencephalon area.

Keywords: brain, 3D reconstruction, ventricular system, morphogenesis, embryo.

Стаття надійшла 19.08.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування