

Комплекс для фрактальной морфометрии микроциркуляторного русла *in vivo*

Д.Г. Луценко¹, Н.В. Марченко², В.С. Марченко¹, И.В. Слєта¹

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

²Национальный технический университет «ХПИ», г. Харьков

После появления в 1977 году работы Мандельброта [6] физиологи и врачи обратили внимание на наличие в животном организме большого количества фракталоподобных образований в нервной системе, в дыхательных путях, в кровеносной системе и т.д. [3, 4] С развитием вычислительной техники появилась возможность количественно анализировать хаотичность динамических процессов и фрактальные свойства биологических структур. Это позволило разрабатывать более тонкие методы анализа различных нарушений функций организма. Больших успехов в применении фрактального анализа достигнуто как раз в изучении сердечно-сосудистой системы [3].

Фрактальная размерность D является одним из интегральных показателей, позволяющих оценивать структуру и динамическое состояние микроциркуляторного русла. Для получения фрактальной размерности микроциркуляторного русла нами создан комплекс, позволяющий наблюдать микроциркуляторные изменения в органах и тканях *in vivo*, фиксировать наблюдаемую картину фото- и видеграфическим способом, анализировать полученные фото – и видео материалы.

Комплекс состоит из микроскопа «Люмам К-1», снабженного средствами фото- и видео регистрации (рис.1). При видеорегистрации изображение с объектива проецировалось на черно-белую телекамеру Panasonic VC 45 BSHRX-12, при этом размеры поля зрения составляли 10% того поля, которое фиксировалось на фотопленке. Данная телекамера имеет высокую разрешающую способность (600 твл) и высокую чувствительность (восприятие освещенности до 0,02 люкс). Захваченные телекамерой видеоматериалы и фотоизображения с использованием платы видеозахвата «AverMedia EZCapture 2.3» и соответствующего программного обеспечения (AverMedia Studia, Pinnacle Studia 9.0.5) вводились непосредственно в компьютер в режиме on-line. Максимальный размер захватываемого видеофайла составлял не более 4 Гб (около 15 мин непрерывной записи

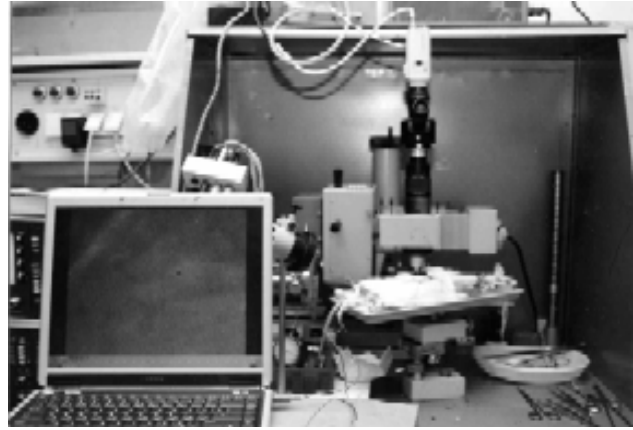


Рис. 1. Установка для исследования микроциркуляции органов *in vivo*.

без компрессии – для сохранения всех захватываемых кадров). Это ограничение связано со следующими причинами: а) на данный момент максимальный объем хранимого файла, с которым удобно работать, ограничивается объемом, который может быть целиком записан на DVD-носитель (4,7 Гб) или на USB Flash Drive (до 4 Гб); б) очень мало программ для видеоредактирования позволяет без проблем работать с файлами больше 4 Гб; в) ограничения, накладываемые конфигурацией подключенного в систему компьютера (процессор Celeron 800 Гц, ОЗУ 256 Мб, емкость винчестера 20 Гб). В большинстве случаев размер захватываемого видеофайла составлял не более 700 Мб (около 1,5 мин непрерывной записи без компрессии), чтобы его можно было записать на стандартный CD-носитель.

Комплекс может быть использован для проведения всех традиционных измерений микроциркуляторного русла, которые обычно оцениваются методом прижизненного микроскопирования: измерение диаметров кровеносных сосудов, изучение структуры потока крови, измерение скорости кровотока в различных органах и тканях [2, 5, 8, 9], а также для расчета фрактальной размерности D как интегрального показателя морфофункционального состояния системы микроциркуляции.

Для компьютерной обработки и вычисления фрактальных размерностей фрагментов микроциркуляторного русла анализировались видео-

Адрес для корреспонденции: Луценко Д.Г., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-30-07, факс: +38 (057) 373-30-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

изображения и фотографии, сделанные обычным фотоаппаратом с того же объекта. Видеофайлы предварительно обрабатывались в видеоредакторах Pinnacle Studio 9.0.5 или Virtualdub 1.5.9., затем из них выделялись отдельные стоп-кадры или же готовился видеофрагмент для анализа. Фотографии сканировали с высоким разрешением (600 dpi) и сохраняли файлы изображений в формате *.bmp. Подготовленные изображения в графическом редакторе Adobe Photoshop 7.0 приводили к равномерному распределению по яркости и контрастности. Для каждого изображения в среде Power Point выбирали траекторию и время перемещения по экрану монитора изображения анализируемой области кадра (например, частая синусоида, 5 секунд). Используя программу захвата движущегося изображения SnagIt 5.2.0, создавали видеофайл с параметрами: частота – 50 кадров в секунду, размер сканирующего кадра – 0,1 сканируемого изображения, который сохраняли в формате *.bmp с помощью программы ACDSee 7.0 или Virtualdub 1.5.9. В результате анализируемое изображение разбивалось на n кадров ($n=600\div 1000$), каждый из которых с помощью разработанной нами программы FRAM (авторы Марченко В.С. и Марченко Н.В.) [7] переводили в цифровые матрицы и, используя известный математический аппарат [1], рассчитывали фрактальные размерности.

Для характеристики мультифрактального множества используют так называемую функцию мультифрактального спектра $f(\beta)$ (спектр сингулярности мультифрактала) [1]. Одной из основных характеристик мультифрактала является набор вероятностей p_i , показывающих относительную заселенность ячеек, которыми мы покрываем это множество. Для самоподобных множеств зависимость от размера ячейки имеет степенной характер

$$p_i(\varepsilon) \approx \varepsilon^{\alpha_i} \quad (1),$$

где α_i представляет собой некоторый показатель степени (разный, вообще говоря, для разных ячеек i). Известно, что для однородного фрактала все показатели степени одинаковы и равны фрактальной размерности D

$$p_i = 1/N(\varepsilon) \approx \varepsilon^D \quad (2).$$

Однако для мультифрактала вероятности заполнения ячеек p_i неодинаковы, и показатель степени α_i для разных ячеек может принимать различные значения. Физический смысл функции $f(\beta)$ заключается в том, что она представляет собой хаусдорфову размерность однородного фрактального подмножества из исходного множе-

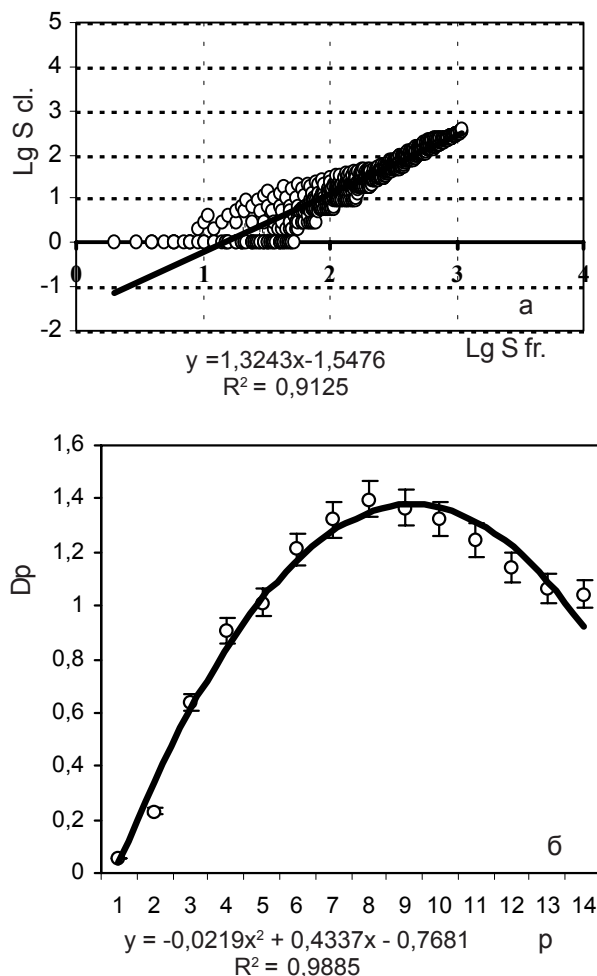


Рис. 2. а) расчет фрактальной размерности для светло-серой области. Ось Y – логарифм площади (в пикселях) изображения заданной интенсивности (250–245) окраски объекта. Ось X – логарифм площади ячейки, в которой находится участок изображения. Фрактальная размерность D равна наклону аппроксимирующей прямой $y(x)$. R^2 – оценка достоверности аппроксимации; б) спектр фрактальных размерностей от белой–оттенков серого до чёрной области изображения.

ства, характеризуемого одинаковыми вероятностями заполнения ячеек.

В первом приближении одинаковым вероятностям заполнения ячеек соответствует одинаковая окраска участка изображения. Поэтому все множество точек изображения можно понимать как некое объединение однородных фрактальных подмножеств разных оттенков цвета. Например, на рисунке 2, а показан расчет фрактальной размерности для светло-серой области изображения (250–245 по 8-битной шкале). Аналогичным образом рассчитывалась размерность D для остальных оттенков окраски (0–255), строился график (рис.2, б) и проводилась аппроксимация полиномом второй степени с оценкой достоверности аппроксимации.

Строилась зависимость площади изображения

анализируемого участка изображения, выраженная в пикселях на дюйм (dpi), состоящего из точек равной интенсивности окраски, от площади ячейки, в которую этот участок попадает. После этого проводилась линейная аппроксимация по 10000 dpi и по наклону аппроксимирующей прямой определялась величина D.

Разработанным нами методом проведена оценка фрактальных размерностей микроциркуляции *in vivo* в подкожной клетчатке, пародонте, мышечных тканях, коре головного мозга, печени, селезенки, поджелудочной железы и т.д. в норме и при различных холодовых воздействиях.

Синхронно с прижизненной видеорегистрацией наш комплекс позволяет регистрировать изменение температуры исследуемых органов и тканей, регистрацию ЭЭГ и ЭКГ. Температура тканей в течение экспериментальных исследований измеряется медь-константановыми термопарами, подключенными к вольтметру универсальному В7-21А. Электрокардиограмма при помощи программного обеспечения фирмы «Нейрософт» вводится в персональный компьютер.

Таким образом комплекс позволяет проводить полноценный физиологический эксперимент с различными физическими и фармакологическими воздействиями с непрерывным мониторингом всех показателей. Например, при работе с крысами при помощи дополнительного устройства существует возможность оказывать ритмические гипо- и гипертермические воздействия на животное, закрепленное под микроскопом. Еще одной особенностью комплекса является то, что при необходимости блок фото- и видеорегистрации довольно быстро может быть установлен на любой другой микроскоп, что даст возможность исследования других биологических фракталоподобных образований.

Литература

1. Божокин С.В., Паршин Д.А. Фракталы и мультифракталы.- Москва, Ижевск: НИЦ «РХД», 2001.- 128 с.
2. Власов Т.Д., Пантелеев В.Г. Программная обработка телевизионного изображения сосудов // Физиол. журн.- 1995.- Т.81, №6.- С. 105-107
3. Голдбергер Э.Л., Ригни Д.Р., Уэст Б.Дж. Хаос и фракталы в физиологии человека //В мире науки.- 1990.- №4.- С.25-32.
4. Кратчфилд Дж.П., Фармер Дж.Д., Паккард Н.Х., Шоу Р.С. Хаос //В мире науки.- 1987.- №2.- С.16-28
5. Левкович Ю.И., Огурцовский Ю.Г., Мальцев Н.А. Кинотелевизионный комплекс для исследования микроциркуляции и прижизненной морфометрии // Физиол. журн.- 1981.- Т.67, №12.- С. 1890-1895
6. Мандельброт Б. Фрактальная геометрия природы М.: Инс-т компьют. исследований.- 2002.- 656 с.
7. Марченко В.С., Бабийчук Г.А., Грищенко В.И., Бабийчук В.Г. К концепции экзистоэнцефалической системы охлажденного мозга. Часть 4. Фрактальная морфометрия

- триггерных структур терморегуляции при холодовом стрессе// Проблемы криобиологии.- 2002.- № 4.- С. 30-40.
8. Мельникова Н.Н. Микроциркуляция в мозге крысы в условиях ишемии при гипотермическом воздействии // Физиология и медицина:Сб. материалов Всерос. конф. молодых исследователей;14-16 апр.2005 г., г. С Пб.- СПб.: [Б.и.],2005.-С.74.- (Вестн. молодых ученых. Сер. Науки о жизни.2005. Прил.).
 9. Московская С.В., Иванов К.П., Левкович Ю.И., Мальцев Н.А. Микроциркуляция в коре головного мозга крыс на разных стадиях глубокой иммерсионной гипотермии // Физиол. журн.- 1995.- Т.81, №6.- С. 95-98.