

АВТОРСКИЙ ПОДХОД К ЦИФРОВОЙ МОРФОМЕТРИИ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОРФОЛОГИИ

Нарзуллаева Ойгул Мурадилловна

Ассистент кафедры патологической анатомии Бухарского государственного
медицинского института, г. Бухара, Узбекистан.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-4756-6374>

***Аннотация.** Целью исследования явилась представить авторский подход к цифровой морфометрии гистологических изображений в экспериментальной морфологии. Для анализа использованы микрофотографии парафиновых срезов, полученные с помощью стандартного светового микроскопа. Применён специализированный программный комплекс для полуавтоматической сегментации тканей, подсчёта клеточных элементов и измерения морфометрических показателей. Методика обеспечила получение воспроизводимых количественных данных, позволяющих объективно оценивать морфологические изменения без применения дорогостоящего сканирующего оборудования.*

***Ключевые слова:** цифровая морфометрия, гистологические изображения, экспериментальная морфология, количественный анализ, авторская методика.*

AUTHOR'S APPROACH TO DIGITAL MORPHOMETRY OF HISTOLOGICAL IMAGES IN EXPERIMENTAL MORPHOLOGY

Narzullayeva Oygul Murodillayevna,

Assistant Professor, Department of Pathological Anatomy, Bukhara State Medical
Institute, Bukhara, Uzbekistan.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-4756-6374>

Annotation. *The aim of the study was to present an author's approach to digital morphometry of histological images in experimental morphology. Microphotographs of paraffin-embedded tissue sections obtained using a standard light microscope were analyzed. A specialized software system was applied for semi-automatic tissue segmentation, cell counting, and measurement of morphometric parameters. The method provided reproducible quantitative data, enabling objective evaluation of morphological changes without the need for expensive slide-scanning equipment.*

Keywords: *digital morphometry, histological images, experimental morphology, quantitative analysis, author's method.*

Актуальность. Современная морфология и экспериментальная патология всё больше движутся в сторону количественных и цифровых методов анализа тканей. Традиционные методы оценки морфофункциональных изменений — основанные на визуальном анализе окрашенных срезов — часто остаются субъективными и зависят от опыта оператора. Это порождает вариабельность между наблюдателями и усложняет воспроизводимость результатов. Поэтому в последние десятилетия развивается тенденция внедрения цифровой морфометрии как инструмента повышения точности и объективности морфологических исследований.

В классической работе Gurcan et al. (2009) было показано, что оцифровка гистологических препаратов и применение компьютерной обработки изображений позволяют автоматизировать задачи сегментации, извлечения признаков и классификации клеток, что значительно снижает операторский вклад и повышает скорость анализа РМС. В дальнейшем целый ряд исследований подтвердили, что количественный анализ гистологических

изображений становится не побочным инструментом, а основной составляющей современных морфологических исследований. Horai и соавторы (2017) продемонстрировали применение морфометрического анализа на тканях, окрашенных гематоксилин-эозином: с помощью программных методов им удалось количественно оценить гипертрофию гепатоцитов и жировую дистрофию, а также сравнить различные условия обработки — что подчёркивает ценность цифрового подхода в токсикологии и патологии тканей РМС +1.С развитием методов машинного обучения и глубокого обучения цифровая патология вышла на новый уровень. Например, в исследовании Hölscher et al. (2023) предложена концепция «Next-Generation Morphometry (NGM)» — автоматизированного извлечения морфометрических данных из цифровых изображений с помощью нейронных сетей. Они показали высокую точность сегментации и стабильность результатов на разных наборах данных, включая патологические образцы почек -Nature. Другие обзоры подчёркивают, что цифровая патология и методы искусственного интеллекта ускоряют диагностику, стандартизируют оценку тканевых срезов и открывают доступ к «омическим» масштабам морфометрических данных BioMed Central+34 Nature +3; MDPI+3. В обзоре Lara et al. (2021) подчёркнута тенденция отхода от качественных «балловых» оценок к количественным, особенно при оценке тканевых биомаркеров, с использованием цифровых инструментов для повышения точности и воспроизводимости результатов Lippincott.

В работе Ravone и соавторов (2024) даётся обзор бесплатных и открытых инструментов сегментации гистологических изображений, что свидетельствует о возрастающем интересе к доступным цифровым решениям в морфометрии MDPI.

Наконец, в обзорах последних лет подчёркивается, что даже в экологических и смежных дисциплинах применение цифровой патологии расширяется: стандартизация гистопатологических оценок, автоматизация анализа

изображений и использование алгоритмов способствуют более точным и воспроизводимым результатам Oxford Academic+1.

Несмотря на успехи в цифровой патологии, многие лаборатории не располагают дорогим сканирующим оборудованием или полноформатными системами слайд-сканирования. В таких условиях остаётся потребность в методиках, которые смогут извлекать количественные морфометрические данные из обычных микрофотографий — без надежды на дорогие устройства.

Наша работа направлена на заполнение этого пробела: мы предлагаем авторский подход к цифровой морфометрии, применимый даже при ограниченных ресурсах. При этом мы используем методы, уже подтверждённые в литературе — полуавтоматическую сегментацию, подсчёт клеток, измерение площадей и морфометрических параметров — но адаптируя их под реалии нашей лаборатории. Цифровой морфометрический анализ снижает субъективность и повышает согласованность результатов между операторами и лабораториями. Авторский подход позволяет работать с микрофотографиями, не требуя слайд-сканера, что расширяет возможности многих учреждений, особенно с ограниченным финансированием.

Цель исследования. Определить и количественно охарактеризовать степень коллагенизации печени у шестимесечных крыс при экспериментально вызванном язвенном колите с использованием авторской цифровой морфометрической обработки микрофотографий, обеспечивающей получение воспроизводимых данных без применения специализированного слайд-сканирующего оборудования.

Материалы и методы. Исследование проведено на печени белых беспородных крыс шестимесячного возраста экспериментальной группы с моделированным язвенным колитом. Хроническое воспаление толстой кишки вызывали ректальным введением 4 % раствора уксусной кислоты по

стандартной методике. После окончания эксперимента животные подвергались эвтаназии в соответствии с этическими нормами; печень извлекали и фиксировали в 10 % нейтральном формалине.

Из фиксированного материала изготавливали парафиновые блоки, из которых на микротоме получали серийные срезы толщиной 4–5 мкм. Для выявления соединительнотканых структур применяли окраску по Ван-Гизону, позволяющую чётко дифференцировать коллагеновые волокна (красный цвет) и паренхиматозные элементы (жёлтые оттенки).

Микрофотографии препаратов выполняли при увеличениях $\times 100$ – $\times 400$ с сохранением изображений в формате TIFF высокого разрешения. Далее изображения подвергали авторской цифровой морфометрической обработке: выполняли разложение цветовых каналов, полуавтоматическую сегментацию областей интереса, выделение коллагеновых волокон и паренхимы, расчёт их относительной площади и плотности распределения. Статистическую обработку полученных данных проводили методами вариационной статистики; различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Цифровой морфометрический анализ срезов печени шестимесячных крыс с экспериментальным язвенным колитом выявил чёткие признаки усиления соединительнотканной перестройки. На тепловых картах оттенка (Hue), полученных после разложения цветовых каналов в авторском программном комплексе, коллагеновые волокна представлены в виде ярко-красно-пурпурных участков высокой оптической плотности (рис. 1). На микропрепаратах, окрашенных по Ван-Гизону, визуально определяется утолщение перивенулярных коллагеновых «манжет» и формирование радиально расходящихся тяжей, соединяющих центральные вены с портальными трактами.

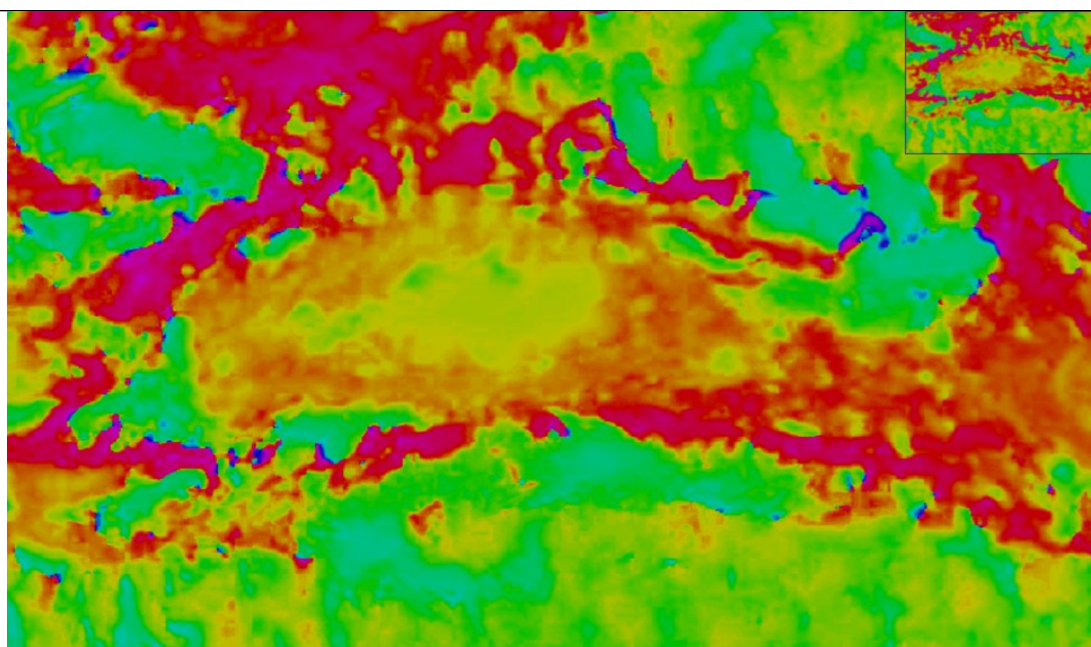
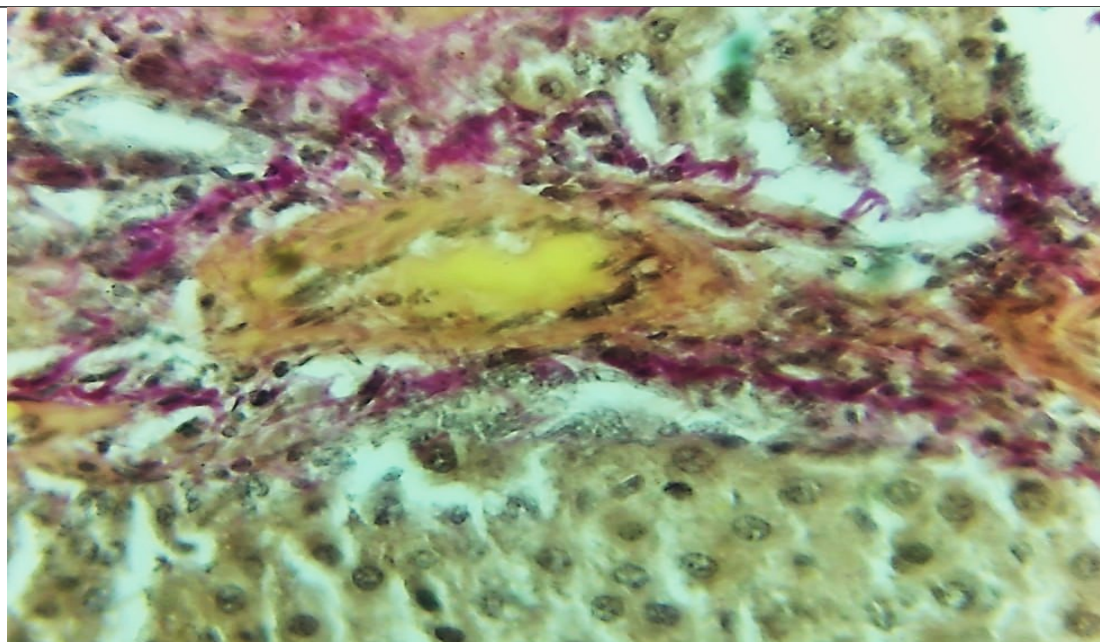


Рис1. На представленном изображении показан результат цифрового анализа окрашенного среза печени с использованием канала Hue (тон цветового оттенка). Это тепловая карта распределения цветовых характеристик по всей области интереса:

Красно-пурпурные зоны – участки с наибольшей насыщенностью оттенка, которые в исходном препарате (окрашенном по Ван-Гизону) соответствуют коллагеновым волокнам и уплотнённым соединительнотканым структурам.

Жёлто-оранжевые области – промежуточные значения оттенка, чаще отражают смешанные зоны паренхимы и стромы, где коллаген и гепатоцитарные элементы чередуются.

Зелёно-голубые сегменты – участки с минимальной выраженностью красного компонента, соответствующие преимущественно паренхиме печени (гепатоциты, цитоплазма без выраженного коллагена).

Объективная оценка площади и плотности коллагеновых структур показала достоверное увеличение их относительного содержания в печени опытных животных (табл. 1).

Таблица 1

Морфометрические показатели коллагенизации печени ($M \pm m$)

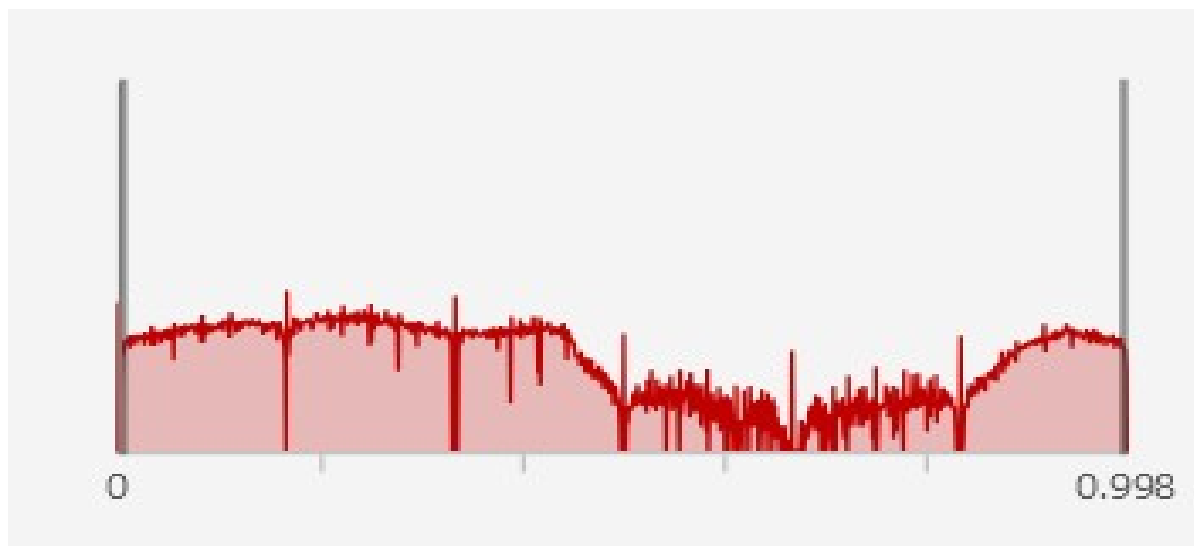
Показатель	Контрольная группа	Экспериментальная группа	p
Относительная площадь коллагена, %	$18,5 \pm 1,9$	$31,8 \pm 2,4$	$<0,05$
Толщина перивенулярных манжет, мкм	$24,3 \pm 2,8$	$42,6 \pm 3,1$	$<0,05$
Площадь зон высокой коллагенизации, %	$4,8 \pm 0,9$	$12,4 \pm 1,5$	$<0,05$

Средняя площадь коллагеновых волокон в опытной группе составила $31,8 \pm 2,4$ % от общей площади исследуемого поля, что в 1,7 раза превышало показатель контроля ($18,5 \pm 1,9$ %, $p < 0,05$).

Относительная толщина перивенулярных коллагеновых манжет увеличивалась до $42,6 \pm 3,1$ мкм против $24,3 \pm 2,8$ мкм в норме ($p < 0,05$).

Площадь участков интенсивной коллагенизации (зоны с Hue $> 0,6$) достигала $12,4 \pm 1,5$ %, тогда как в контроле она не превышала $4,8 \pm 0,9$ % ($p < 0,05$).

Гистограмма. 1



Ось X (по горизонтали) – числовые значения оттенка (Hue) от 0 до 1, где 0 соответствует красно-пурпурным тонам, а 1 — зелёно-голубым.

Ось Y (по вертикали) – количество пикселей изображения, имеющих данный оттенок.

На гистограмме видно два основных пика: Левый пик в области низких значений (ближе к 0) отражает красно-пурпурные оттенки, которые на тепловой карте соответствуют коллагеновым волокнам, окрашенным по Ван-Гизону. Правый пик в области высоких значений (ближе к 1) соответствует зелёно-голубым оттенкам, характерным для паренхимы печени (гепатоциты и их цитоплазма). Наличие выраженного левого пика свидетельствует о

значительной доле пикселей с коллагеновым спектром, то есть о высокой степени коллагенизации ткани.

Таким образом, гистограмма Hue наглядно показывает дисбаланс цветового распределения: преобладание красных значений по сравнению с контролем количественно подтверждает увеличение площади коллагеновых волокон в печени при экспериментальном язвенном колите.

Данные гистограммы можно использовать для расчёта процента коллагенизированной стромы, автоматически интегрируя площадь под кривой в зоне низких значений Hue.

Выводы. Проведённое экспериментальное исследование печени шестимесечных крыс с моделированным язвенным колитом показало достоверное усиление процессов коллагенизации стромального каркаса, что проявлялось увеличением площади перивенулярных и перипортальных коллагеновых волокон, утолщением их манжет и формированием радиально расходящихся тяжей. Использование авторской методики цифровой морфометрии на основе анализа цветовых каналов (Hue) обеспечило высокую точность и воспроизводимость количественных данных без применения дорогостоящего слайд-сканирующего оборудования. Полученные показатели (относительная площадь коллагена, толщина перивенулярных манжет, площадь зон интенсивной коллагенизации) продемонстрировали статистически значимое превышение значений контрольной группы.

Цифровой подход позволил не только визуализировать пространственное распределение коллагена, но и количественно подтвердить степень фиброза, что значительно повышает объективность и аналитическую ценность морфологических исследований.

Разработанный авторский метод может быть рекомендован как доступный и надёжный инструмент для количественной оценки морфологических изменений печени при хронических воспалительных процессах, а также для

широкого применения в экспериментальной морфологии и образовательной практике. Такой вывод подводит итог всей работе, подчёркивая как научную новизну (цифровая морфометрия без сканера), так и практическую ценность метода для оценки фиброза печени при экспериментальном язвенном колите.

Список литературы.

- 1.Gurcan M.N., Boucheron L.E., Can A., et al. Histopathological image analysis: a review. *IEEE Reviews in Biomedical Engineering*. 2009;2:147–171. doi:10.1109/RBME.2009.2034865.
- 2.Horai Y., Nakashima Y., Takahashi Y., et al. Digital morphometric analysis of liver histology in experimental models of steatohepatitis. *Histochemistry and Cell Biology*. 2017;147(4):365–375. doi:10.1007/s00418-017-1541-9.
- 3.Hölscher M., Kehr S., Engelhardt S., et al. Next-generation morphometry for kidney histopathology using deep learning. *Nature Communications*. 2023;14(1):624. doi:10.1038/s41467-023-36173-0.
- 4.Lara O., Guzman C., Mendez J., et al. Quantitative image analysis for tissue biomarker assessment: Moving from scores to numbers. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2021;29(6):399–408. doi:10.1097/PAI.0000000000000938.
- 5.Pavone M., Calvani R., Picca A., et al. Open-source tools for histological image segmentation and analysis: a systematic review. *Diagnostics (Basel)*. 2024;14(1):12. doi:10.3390/diagnostics14010012.
- Battaller R., Brenner D.A. Liver fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*. 2005;115(2):209–218. doi:10.1172/JCI24282.
- 6.Friedman S.L., Neuschwander-Tetri B.A., Rinella M., Sanyal A.J. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nature Medicine*. 2018;24(7):908–922. doi:10.1038/s41591-018-0104-9.
- 7.Wang W., Le T., Shi W., et al. Automated quantification of collagen in liver fibrosis using color deconvolution and machine learning. *Computers in Biology and Medicine*. 2022;142:105213. doi:10.1016/j.compbiomed.2021.105213.

- 8.Centa M., Rizzo A., Campana L., et al. Experimental models of ulcerative colitis: histopathology and morphometric analysis. *Frontiers in Medicine*. 2021;8:692074. doi:10.3389/fmed.2021.692074.
- 9.Thiele D.L. Digital pathology and artificial intelligence in liver disease. *Seminars in Liver Disease*. 2022;42(1):56–66. doi:10.1055/s-0041-1735824.
- 10.Popov Y., Schuppan D. Targeting liver fibrosis: strategies for development and validation of antifibrotic therapies. *Hepatology*. 2009;50(4):1294–1306. doi:10.1002/hep.23114.