

# DYSPERSJA PÓL POWIERZCHNI OBIEKTÓW WYSTĘPUJĄCYCH W PŁYNIÉ MÓZGOWO-RDZENIOWYM

## DISPERSION OF THE OBJECTS SURFACES IN CEREBROSPINAL FLUID

Waldemar Staroń\*

Uniwersytet Szczeciński, Wydział Matematyczno-Fizyczny, Instytut Fizyki  
70-451 Szczecin, ul. Wielkopolska 15

\* e-mail: staron@wmf.univ.szczecin.pl

### STRESZCZENIE

Praca dotyczy badania mikroskopowego techniką kontrastu fazowego niebarwionego płynu mózgowo-rdzeniowego. Określano liczbę obiektów występujących w płynie i ich pola powierzchni w trzech grupach pacjentów: kontrolnej, z poszerzonym układem komorowym oraz z wodogłowiem wewnętrznym. Wyniki przedstawiono w postaci rozkładów dyspersyjnych pól powierzchni obiektów występujących w analizowanych grupach płynu. Wyznaczono miary pozycyjne (pierwszy kwartył, mediana, trzeci kwartył,) szeregów rosnących pól powierzchni obiektów, które wynosiły w grupie: kontrolnej: 2,71  $\mu\text{m}^2$ , 5,48  $\mu\text{m}^2$ , 12,16  $\mu\text{m}^2$ ; w poszerzonym układem komorowym: 3,73  $\mu\text{m}^2$ , 29,68  $\mu\text{m}^2$ , 41,32  $\mu\text{m}^2$  oraz w wodogłowiu wewnętrznym: 3,45  $\mu\text{m}^2$ , 18,89  $\mu\text{m}^2$ , 40,92  $\mu\text{m}^2$ . Szeregi poddano testowaniu statystycznemu na podobieństwo na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ . Badania wykazały, że istnieją podobieństwa, jak i różnice między badanymi grupami płynu. Różnice są na tyle istotne statystycznie, że istnieją przesłanki ku temu, aby analiza rozkładów pól powierzchni obiektów w płynie mózgowo-rdzeniowym stała się w przyszłości metodą wspomagającą różnicowanie płynu.

**Słowa kluczowe:** płyn mózgowo-rdzeniowy, dyspersja pól powierzchni obiektów, miary pozycyjne szeregów

### ABSTRACT

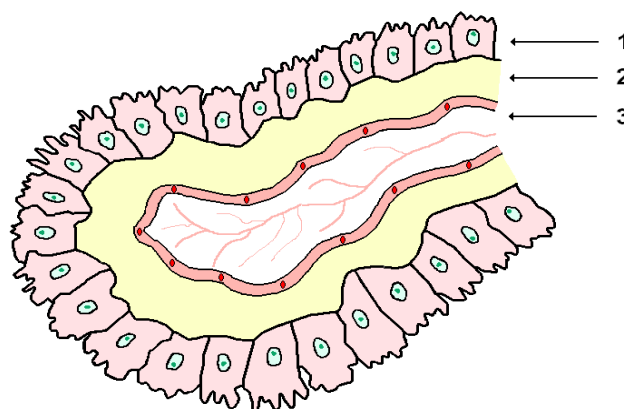
This work describes microscopic examination with a phase contrast technique of unstained cerebrospinal fluid CSF. The count of suspended objects and their specific surface areas were determined for the following patients groups: the reference group, patients with ventricular hydrocephalic enlargement and with internal hydrocephalus. The results are presented as dispersion distributions of the specific surface areas of the objects in the unstained CSF of each group. The first quartile, median, the third quartile of ascending surface areas series are as follows: reference group – 2.71  $\mu\text{m}^2$ , 5.48  $\mu\text{m}^2$ , 12.16  $\mu\text{m}^2$ ; ventricular hydrocephalic enlargement – 3.73  $\mu\text{m}^2$ , 29.68  $\mu\text{m}^2$ , 41.32  $\mu\text{m}^2$ ; internal hydrocephalus – 3.45  $\mu\text{m}^2$ , 18.89  $\mu\text{m}^2$ , 40.92  $\mu\text{m}^2$ . The series were subjected to statistical testing of similarity at the significance level of  $\alpha = 0.05$ . There similarities in CSF, as well as differences between the examined groups, are observed. The differences are statistically significant enough to consider the analysis of surface area distribution of objects in CSF as a future complementary diagnostic method for differentiation of CSF.

**Keywords:** cerebrospinal fluid, dispersion of object specific surface area, positional measures of series

## 1. Wstęp

Pierwsze wzmianki dotyczące płynu znajdującego się w ludzkiej czaszce, otaczającego mózg, pochodzą z roku 3000 przed naszą erą z Egiptu [1]. Jednakże historycy medycyny przyjmują, że rokiem odkrycia płynu mózgowo-rdzeniowego jest rok 1764, kiedy to Domenico Cotugno (włoski lekarz) podczas sekcji zwłok zaobserwował płyn otaczający mózg i rdzeń kręgowy [2]. Nazwę dla zaobserwowanego przez Cotugno płynu wprowadził w pierwszej połowie XIX wieku François Magendie, nadając mu nazwę: płyn mózgowo-rdzeniowy. Badania płynu w kolejnych latach XIX wieku pozwoliły uzyskać informacje na temat roli i powstawania płynu mózgowo-rdzeniowego w organizmie człowieka. Wiek XX przynosi uzupełnienie i poszerzenie wiadomości dotyczących płynu.

Obecnie przyjmuje się, że płyn wytwarzany jest przez sploty naczyniówkowe mózgu (p. rys. 1), które wytwarzają go z osocza krwi, oraz przez wyściółkę układu komorowego [3, 4, 5].



Rys. 1. Fragment splotu naczyniówkowego

1 – nabłonek; 2 – płyn mózgowo-rdzeniowy; 3 – drobne naczynia krwionośne (rysunek zmodyfikowany na podstawie [6])

Dobowa produkcja płynu wynosi około 500–600 ml [7, 8, 9]. Jednakże jednorazowo w przestrzeniach ciała może znajdować się około 100–200 ml. Istnieje więc nadprodukcja płynu, która wymusza jego krążenie [10, 11]. Przepływa on z komór bocznych do trzeciej, dalej przez wodociąg mózgu do czwartej komory, z której przez dwa boczne otwory (Luschki) i środkowy (Magendiego) wypływa na zewnątrz mózgowia i opływa rdzeń kręgowy, kierując się do przestrzeni podpajęczynówkowej mózgu, gdzie przedostaje się do krwioobiegu.

Ze względu na przemieszczanie się płynu mózgowo-rdzeniowego w organizmie pełni on trzy funkcje: ochronną, transportową i wydalniczą [5, 12]. Jeżeli jedna z tych funkcji zostanie zachwiana, może to prowadzić do różnorodnych schorzeń. Przebieg procesów związanych z krążeniem oraz wchłanianiem płynu mózgowo-rdzeniowego zależy od właściwości płynu. Skład płynu ma wpływ na jego właściwości. Dlatego w trakcie standardowych badań płynu określa się wartości podstawowych parametrów, takich jak: barwa/mętność, stężenie chlorków, stężenie białka całkowitego i immunoglobulin, stężenie glukozy oraz liczba komórek występujących w płynie.

Białka, komórki i elementy ich rozpadu zawieszony w płynie tworzą ośrodek dyspersyjny, w którym na fazę rozproszoną (złożona z wymieszanych elementów) można scharakteryzować poprzez określenie parametrów geometrycznych obiektów. Jednym z parametrów charakteryzujących obiekty pod względem kształtu jest pole powierzchni obiektu.

## 2. Cel pracy

Celem pracy było wyznaczenie wartości parametrów charakteryzujących szeregi pól powierzchni obiektów występujących w płynie mózgowo-rdzeniowym, w grupie kontrolnej i płynie pochodzącym od pacjentów z rozpoznaniem poszerzonego układu komorowego lub wodogłowiem wewnętrznym.

W pracy podjęto próbę oceny różnic między analizowanymi grupami, uwzględniając parametry rozkładów pól powierzchni obiektów w nich występujących.

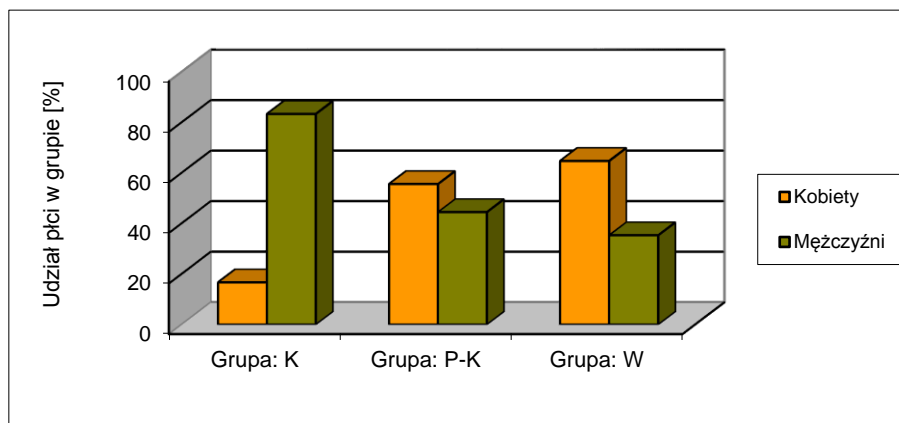
### 3. Materiał i metodyka badań

Materiał badawczy stanowiły próbki płynu mózgowo-rdzeniowego pochodzące od pacjentów Oddziału Neurochirurgii Samodzielnego Publicznego Wojewódzkiego Szpitala Zespołowego w Szczecinie. Płyn pobierany był od pacjentów w ramach standardowych procedur diagnostycznych.

Uzyskany płyn podzielono na dwie grupy. Grupę kontrolną (K) stanowili pacjenci, u których stwierdzono wadę wrodzoną (torbiel szyszynki), niepowodującą zaburzeń krążenia płynu. Grupę badaną stanowili pacjenci z zaburzeniami krążenia płynu mózgowo-rdzeniowego. W grupie badanej ze względu na rozpoznanie kliniczne wyodrębniono dwie podgrupy: P-K – pacjenci z poszerzonym układem komorowym oraz W – pacjenci z wodogłowiem wewnętrznym. W tabeli 1 przedstawiono liczebności grup oraz przedziały wiekowe pacjentów w tych grupach, a na rysunku 2 pokazano procentowy udział płci w poszczególnych grupach.

Tabela 1. Charakterystyka grupy

Grupa	Liczebność grupy	Przedział wiekowy (lata)	Mediana (lata)
Kontrolna: K	6	11–61	57
Poszerzony układ komorowy: P-K	9	34–81	56
Wodogłowie wewnętrzne: W	17	31–79	59



Rys. 2. Rozkład badanych grup ze względu na płeć

Badaniom poddano 32 próbki niebarwionego płynu mózgowo-rdzeniowego, wykorzystując do tego „Zintegrowany system analizy obrazu” składający się z mikroskopu optycznego Nikon Eclipse E600, kamery cyfrowej oraz komputera. W mikroskopie zastosowano technikę kontrastu fazowego, która umożliwia obserwację obiektów biologicznych w niebarwionym ośrodku [13]. Dla każdej próbki płynu mózgowo-rdzeniowego wykonano dwadzieścia zdjęć o wymiarach 100x100  $\mu\text{m}$ . Otrzymane obrazy analizowano pod kątem liczby obiektów występujących w płynie oraz ich pól powierzchni.

### 4. Wyniki pomiarów i dyskusja

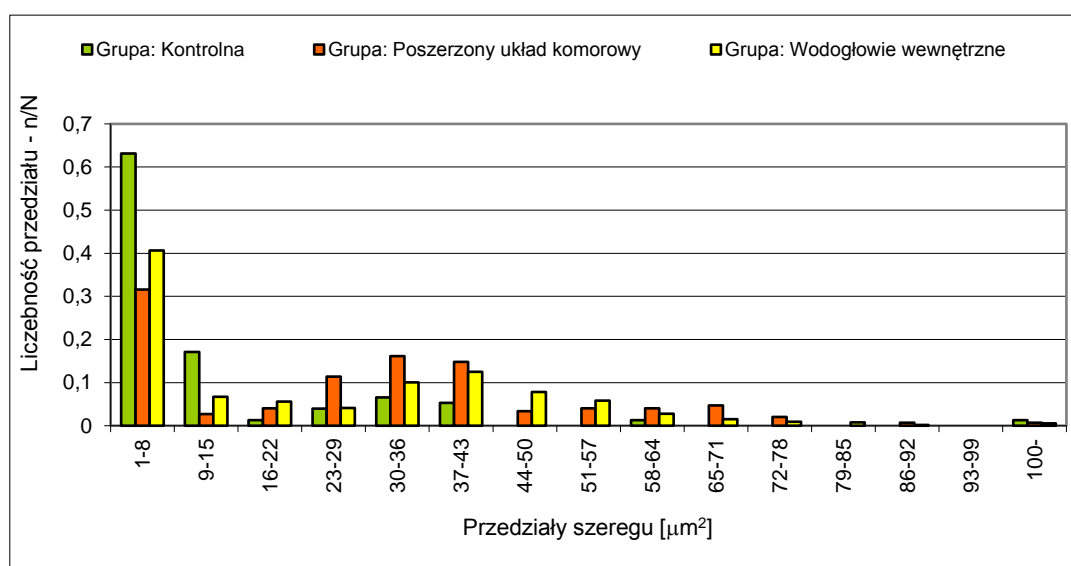
Otrzymane wyniki pomiarów pól powierzchni obiektów, występujących w poszczególnych grupach płynu mózgowo-rdzeniowego, uporządkowano w rozdzielcze szeregi rosnące o szerokości przedziałów 7  $\mu\text{m}^2$ . Najmniejszą wartość powierzchni obiektu zaobserwowano w grupie W (wodogłowie wewnętrzne) i wynosiła ona 0,78  $\mu\text{m}^2$ , natomiast największy obiekt wystąpił w grupie P-K (poszerzony układ komorowy) i posiadał powierzchnię 361,09  $\mu\text{m}^2$ . Najczęściej występującą wartością powierzchni w szeregu K (kontrola) i w P-K była wartość 1,04  $\mu\text{m}^2$ , a w przypadku szeregu W – powierzchnia ta miała wartość 1,82  $\mu\text{m}^2$ . Dla każdego z szeregów wyznaczono miary pozycyjne: pierwszy kwartył (Q1), medianę i trzeci kwartył (Q3) (p. tab. 2).

Tabela 2. Miary pozycyjne szeregów rosnących pól powierzchni obiektów w analizowanych grupach

Miary pozycyjne szeregów	Grupa kontrolna	Grupa badana (poszerzony układ komorowy)	Grupa badana (wodogłowie wewnętrzne)
Pierwszy kwartyl – Q1	2,71 $\mu\text{m}^2$	3,73 $\mu\text{m}^2$	3,45 $\mu\text{m}^2$
Mediana	5,48 $\mu\text{m}^2$	29,68 $\mu\text{m}^2$	18,89 $\mu\text{m}^2$
Trzeci kwartyl – Q3	12,16 $\mu\text{m}^2$	41,32 $\mu\text{m}^2$	40,92 $\mu\text{m}^2$

Miary pozycyjne szeregów z grup: poszerzony układ komorowy oraz wodogłowie wewnętrzne różnią się od miar szeregu grupy kontrolnej, jednak już między samymi szeregami badanych grup różnice są znacznie mniejsze. Istotna różnica występuje w przypadku mediany, gdzie różnica między wartością pola w płynie pochodzącym od pacjentów z poszerzonym układem komorowym a płynem pochodzącym od pacjentów z wodogłowiem wewnętrznym wynosi 10,79  $\mu\text{m}^2$ .

W celu dokładniejszej analizy płynu mózgowo-rdzeniowego, rozkłady pól powierzchni obiektów występujących w poszczególnych grupach przedstawiono na rysunku 3.



Rys. 3. Porównanie rozkładów pól powierzchni obiektów występujących w płynie mózgowo-rdzeniowym w grupach: kontrolnej (K), poszerzony układ komorowy (P-K) i wodogłowie wewnętrzne (W)

Analizując dane przedstawione na rysunku 3, możemy zauważyć zarówno pewne podobieństwa jak i różnice w przebiegu rozkładów pól powierzchni obiektów występujących w omawianych grupach płynu mózgowo-rdzeniowego. Rozkłady odbiegają kształtem od rozkładu normalnego. Potwierdzają to wartości statystyki W wyznaczonej na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  w trakcie badania zgodności rozkładów z rozkładem normalnym (test Shapiro-Wilka) [14]. W każdym z przypadków wartość współczynnika W była mniejsza od wartości tablicowej, co pozwoliło odrzucić hipotezę, że rozkłady są rozkładami normalnymi.

Maksymalne wartości w każdym rozkładzie przypadają na dwa przedziały. Pierwsze maksimum w przypadku grup: kontrolnej oraz z poszerzonym układem komorowym i wodogłowiem wewnętrznym przypada na przedział wartości od 1 do 8  $\mu\text{m}^2$ , a drugie maksimum dla grupy kontrolnej i wodogłowia wewnętrznego znajduje się w przedziale od 30 do 36  $\mu\text{m}^2$ . Natomiast w grupie z poszerzonym układem komorowym w przedziale 37 do 43  $\mu\text{m}^2$ . Tego typu rozkłady świadczą o dużym zróżnicowaniu obiektów wewnątrz struktury. W oparciu o pierwszy i trzeci kwartyl rozkładów wyznaczono współczynnik zmienności struktury, który odpowiednio wynosi: dla płynu kontrolnego – 0,63, dla płynu w grupie z poszerzonym układem komorowym – 0,83 i dla płynu grupy z wodogłowiem wewnętrznym – 0,84. W przypadku płynu pochodzącego od pacjentów z rozpoznaniem poszerzonego układu komorowego i wodogłowiem wewnętrznym wartość współczynnika zmienności struktury obiektów różni się o 0,01. Świadczy to o tym że, zróżnicowanie obiektów wewnątrz grupy w obu przypadkach jest praktycznie takie same, występują małe i duże obiekty. Jednak współczynnik zmienności struktury

nie informuje nas o różnicach dotyczących liczebności obiektów w poszczególnych przedziałach.

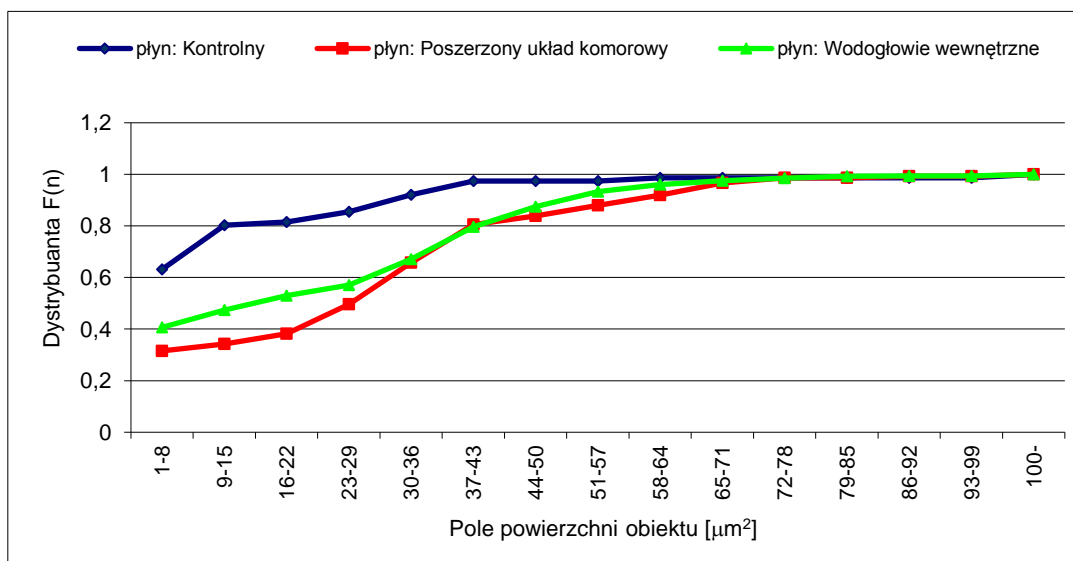
Jeżeli rozpatrzmy przedziały, w których występują maksymalne wartości liczebności obiektów, to dla pierwszego maksimum w płynie mózgowo-rdzeniowym pochodzącym od pacjentów z rozpoznaniem wodogłowiem wewnętrznym (W) liczebność obiektów była większa niż w przypadku płynu pochodzącego od pacjentów z rozpoznaniem poszerzonym układem komorowym (P-K). Natomiast w przypadku drugiego maksimum liczebność obiektów w płynie P-K była wyższa niż w płynie W. Ze względu na tę różnicę wyznaczono względny wskaźnik podobieństwa struktur.

Tabela 3. Wartości względnego wskaźnika podobieństwa struktur rozkładów pól powierzchni obiektów zawieszonych w prawidłowym, niebarwionym płynie mózgowo-rdzeniowym

Porównywane grupy płynu mózgowo-rdzeniowego	Względny wskaźnik podobieństwa struktur
----- Płyn kontrolny ----- Płyn: poszerzony układ komorowy	0,39
----- Płyn kontrolny ----- Płyn: wodogłowiem wewnętrzne	0,52
----- Płyn: poszerzony układ komorowy ----- Płyn: wodogłowiem wewnętrzne	0,66

W oparciu o dane zawarte w tabeli 3 możemy stwierdzić, że zarówno struktura płynu mózgowo-rdzeniowego pacjentów z poszerzonym układem komorowym (P-K), jak i wodogłowiem wewnętrznym (W) różni się od struktury płynu kontrolnego. Struktura płynu P-K różni się bardziej od struktury płynu kontrolnego niż struktura płynu W. Istnieje również znaczna różnica między strukturami płynów pochodzącymi od pacjentów z grup P-K i W. Względny wskaźnik podobieństwa ich struktur wynosi 0,66. Wartość wskaźnika świadczy o tym, że struktury nie są takie same. Ale czy różnice istniejące między nimi są na tyle istotne, że miary pozycyjne analizowanych szeregów pól powierzchni obiektów mogą posłużyć jako wskaźniki różnicujące badane płyny?

Postawiono w związku z tym dwie hipotezy (hipotezę  $H_0$  – rozkłady pól powierzchni obiektów występujących w płynie mózgowo-rdzeniowym w obu grupach są takie same oraz hipotezę alternatywną  $H_1$  – rozkłady pól powierzchni obiektów występujących w płynie mózgowo-rdzeniowym w obu grupach są różne), które zweryfikowano testem statystycznym Smirnowa-Kołmogorowa [15]. Na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  dla badanych szeregów wyznaczono statystyczny parametr  $\lambda$ , który okazał się być większy od wartości tablicowej, co w efekcie pozwoliło odrzucić hipotezę  $H_0$  na rzecz hipotezy  $H_1$ .



Rys. 4. Przebiegi dystrybuant pól powierzchni obiektów występujących w płynie mózgowo-rdzeniowym w grupach: kontrolnej (K), poszerzony układ komorowy (P-K) i wodogłowiem wewnętrzne (W)

Różnicę między rozkładami pól powierzchni obiektów występujących w kontrolnym płynie mózgowo-rdzeniowym a rozkładami w badanych płynach (P-K – poszerzony układ komorowy i W – wodogłowie wewnętrzne) potwierdzają przebiegi dystrybucji pól powierzchni obiektów w poszczególnych grupach. Szczególnie widoczna jest różnica w liczbie obiektów występujących w zakresie pól powierzchni od 1 do 15  $\mu\text{m}^2$ . W wymienionym zakresie największy względny przyrost liczby obiektów zaobserwowano w przypadku płynu kontrolnego, który wynosił 0,8. Dla pozostałych płynów był mniejszy i wynosił 0,34 dla płynu z grupy P-K i 0,47 dla płynu z grupy W. W kolejnych przedziałach następuje wolniejszy przyrost liczby obiektów w płynie grupy W niż w płynie grupy P-K (p. rys. 4).

## 5. Wnioski

- Przebiegi rozkładów pól powierzchni obiektów w trzech analizowanych grupach płynu mózgowo-rdzeniowego mają kształt dwumodalny.
- Przebiegi rozkładów posiadają maksima o różnych wartościach.
- Analizowane płyny posiadają różne struktury obiektów.
- Istnieje różnica, istotna statystycznie, w kształcie przebiegów rozkładów pól powierzchni obiektów między płynem pochodzącym od pacjentów z poszerzonym układem komorowym a płynem od pacjentów z wodogłowiem wewnętrznym.
- Istnieją podstawy, by analiza rozkładów pól powierzchni obiektów w płynie mózgowo-rdzeniowym mogła w przyszłości zostać metodą wspomagającą różnicowanie płynu.

## LITERATURA

- [1] L. Herbowski: *The Maze of the Cerebrospinal Fluid Discovery*, Anatomy Research International, vol. 2013, article ID 596027, pp.8, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/596027>.
- [2] J.M.S. Pearce: *Cotugno and cerebrospinal fluid*, Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, vol. 75(9), 2004, s. 1299.
- [3] J. Skipor, J. Thiery: *The choroids – cerebrospinal fluid system: Undervalued pathway of neuroendocrine signaling into the brain*, Acta Neurobiologiae Experimentalis, vol. 68(3), 2008, s. 414–428.
- [4] C. Chen, R. Chen, J. Preston: *The influence of ageing in the cerebrospinal fluid concentrations of proteins that are from the choroids plexus, brain, and plasma*, Experimental Gerontology, vol. 47(4), 2012, s. 323–328.
- [5] C.E. Johanson, J.A. Duncan, P.M. Klinge, T. Brinker, E.G. Stopa, G.D. Silverberg: *Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease*, Cerebrospinal Fluid Research, vol. 5, 2008, s.1–32.
- [6] LifeART Collection Images, Lippincott Williams&Wilkins, 1989–2001.
- [7] E.M. Wright: *Transport processes in the formation of the cerebrospinal fluid*, Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Springer-Verlag, vol. 83, 1978, s. 1–34.
- [8] P. Lewczuk, M. Mantur: *Płyn mózgowo-rdzeniowy. Badanie i interpretacja wyników*, Ekonomia i Środowisko, Białystok 2002.
- [9] O. Zaidat, A. Levner: *Neurologia*, Elsevier Urban&Partner, Wrocław 2010.
- [10] M. Hermann, B. Bobek-Billewicz: *Badanie przepływu płynu mózgowo-rdzeniowego i prędkości przepływu krwi w tętnicach domózgowych za pomocą rezonansu magnetycznego*, Polski Przegląd Radiologii, vol. 64(3), 1999, s. 207–209.
- [11] D. Adamek: *Badania płynu mózgowo-rdzeniowego w chorobach rdzenia*, [w] M. Banach, A. Bogucki, P. Liberski, (red.): *Choroby rdzenia kręgowego*, Wydawnictwo Medycyna Praktyczna, Kraków 2006, s. 36–40/163.
- [12] H. Dawson, K. Welch, M.B. Segal: *Physiology and pathophysiology of the cerebrospinal fluid*, Churchill Livingstone, Edynburgh UK, New York 1987.
- [13] N.A. Brunzel: *Diagnostyka Laboratoryjna – Płyn mózgowo-rdzeniowy i inne płyny ustrojowe*, Tom 1, Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2010.
- [14] M. Sobczyk: *Statystyka*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2007.
- [15] M. Sobczyk: *Statystyka – Podstawy teoretyczne*, Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin 1998.

otrzymano / submitted: 04.03.2015  
 wersja poprawiona / revised version: 15.09.2015  
 zaakceptowano / accepted: 20.10.2015