

3. Королева Е. В. Производные изоксазола в синтезе прогестероидов : Автореферат дис. д-ра хим. наук. М., 1998.
4. Конопля Н. А., Залеская Н. И., Голиков А. Е., Кузьмицкий Б. Б. Некоторые аспекты изыскания противоаллергических средств среди синтетических аналогов простагландинов // Синтез и исследование простагландинов: Тез. Всесоюзного симпозиума, 1986. С.128–129.
5. Сорокин Л. В., Кадышева Л. В., Грачева Е. В., Домбровский В. А. Связь между структурой и функцией некоторых аналогов простагландинов // Химико-фармацевтический журнал. 1990. Т.24 № 10. С.64–65.
6. Breyer R. Prostaglandin EP₁ receptor subtype selectivity takes shape // Molecular pharmacology. 2001. V.59. № 6. P.1357–1359.
7. Peterso G. L. Determination of total protein // Methods enzymol. 1983. V.91. № 1. P.95–119.
8. Port J. D., Hadcock J. R., Malbon C. C. Cross-regulation between G-protein-mediated pathways // J. of Biol. Chem. 1992. V.267. № 12. P.8468–8472.
9. Ungrin M. D., Carriere M. C., Denis D. et al. Key structural features of prostaglandin E₂ and prostanoid analogs involved in binding and activation of the human EP₁ prostanoid receptor // Mol. Pharmacol. 2001. V.59. № 6. P.1446–1456.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОФИЛЯ ФРАКТАЛЬНОЙ ПЛОЩАДИ ЯДРА В ЦИТОМЕТРИИ ОПУХОЛЕЙ

М. А. Иванова, Е. В. Котова

В последнее время с целью повышения диагностических возможностей и объективизации цитологического исследования опухолей все большее распространение получают методы компьютерного цитометрического анализа. Эти методы основаны на цифровых изображениях клеток в качестве базы для получения набора параметров, позволяющих оценить характер перерождения. Из-за низкой сохранности цитоплазмы клеток объектом исследования в большинстве случаев является клеточное ядро. Наиболее часто используемыми параметрами в цитометрии опухолей являются морфометрические (описывающие геометрию клеточного ядра), денситометрические (характеризующие оптическую плотность, плоидность ядер) и текстурные параметры (оценивающие статистики распределения яркости изображения). В последнее время предложена новая группа параметров – топологические, оценивающие связность структур хроматина [1].

Целью данной работы являлось изучение информативности одного из топологических параметров, а именно профиля фрактальной площади (ПФП) клеточного ядра, а также возможности его применения для диагностики и классификации опухолей. Исследование проводилось на препаратах клеток фолликулярной аденомы и папиллярной карциномы щитовидной железы, полученных из цитологической лаборатории Респуб-

ликанского эндокринологического центра. Было исследовано 35 цитологических препаратов щитовидной железы, из которых 17 имели верифицированный диагноз «фолликулярная аденома» и 18 – «папиллярный рак».

ПФП представляет собой кривую зависимости суммарной длины периметров, ограничивающих участки с одинаковыми значениями оптической плотности, от уровня яркости и отражает различия в распределении хроматина в ядре, зависящие от степени малигнизации клетки (рис. 1). Представляя плоское цифровое изображение в виде трехмерного массива, в котором Z-координатой является величина оптической плотности, или яркости, пикселей, можно вычислить периметр образующихся «пику» и «хребтов» для каждого уровня яркости. Суммарная длина таких периметров, называемая изофотами, будет зависеть от степени связности компонентов хроматина и наличия у них общих границ. Отдельные пики, соответствующие гранулам гетерохроматина, имеют небольшой периметр и показаны в начале кривой. Участок В–С соответствует «хребтам», или связям между гранулами, а точка С (максимум) соответствует уровню перехода гетерохроматина в эухроматин. Участок С–Е, в свою очередь, представляет эухроматиновую компоненту графика, постепенно снижающуюся до уровня общего периметра ядра.

Расчет интеграла на сегментированных отрезках ПФП дает значения фрактальных площадей компонентов хроматина. В предшествующих работах показана статистическая значимость различий этих параметров для

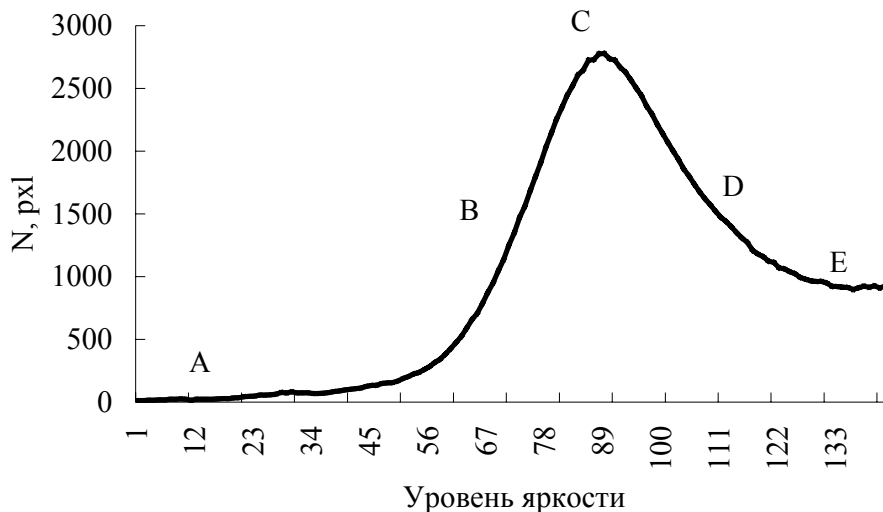


Рис. 1. Профиль фрактальной площади ядра раковой клетки щитовидной железы

клеток аденомы и папиллярной карциномы щитовидной железы [2]. Нормировка значений этих параметров на площадь ядер тироцитов приводит к значительному уменьшению значений статистических критериев различия между клеточными популяциями, что свидетельствует об имеющейся зависимости между геометрией и топологией ядра. Значения рангового коэффициента корреляции R (Спирмена) для большинства топологических и морфометрических параметров колеблется в пределах 0,45–0,6 и для аденомы, и для карциномы, что свидетельствует об умеренной взаимозависимости этих параметров. Измерение ПФП, таким образом, позволяет получить информацию как о морфологии ядер, так и о распределении хроматина внутри ядра, то есть графически объединить морфометрические и топологические параметры. Использование в качестве математического аналога клеточного ядра кривой фрактальной площади, позволяющей проводить статистические операции, недоступные при работе с обычными изображениями, дает принципиально новые возможности в области диагностики и классификации опухолей.

В целях проверки гипотезы о возможности применения ПФП в классификации опухолей щитовидной железы были построены накопительные графики для ядер клеток фолликулярной аденомы и папиллярной карциномы. Отбор клеток, профиль фрактальной площади которых максимально совпадает по форме с накопленным графиком для каждого типа опухолей, позволил выделить группу клеток, обладающих общими свойствами и являющихся «типичными» для своей нозологической группы. Всего из исходной выборки (около 200 тироцитов) было отобрано 8 аденомных клеток и 10 клеток карциномы.

Представительность данной выборки оценивалась на основании сравнения средних значений и дисперсий для 33 морфометрических, топологических и денситометрических параметров исходной и сформированной выборок для аденомы и рака щитовидной железы. Статистически значимое равенство средних обеих групп обнаружено по всем исследованным параметрам (t-критерий Стьюдента, $p > 0.1$). С другой стороны, сравнение дисперсий по большинству рассчитанных параметров показывает статистически значимое уменьшение вариаций (F-критерий Фишера, $p < 0,005$). В среднем по всем параметрам дисперсия для аденомы и карциномы уменьшилась в 5,1 раза, что свидетельствует о значительном увеличении специфичности клеточных ядер как по морфологии, так и по оптической плотности и топологии хроматина.

На основании данных факторного анализа наиболее значимыми для диагностики из рассчитанных 33-х параметров являются параметр фрактальной площади гетерохроматина [ФП (A–C)], отражающий связность

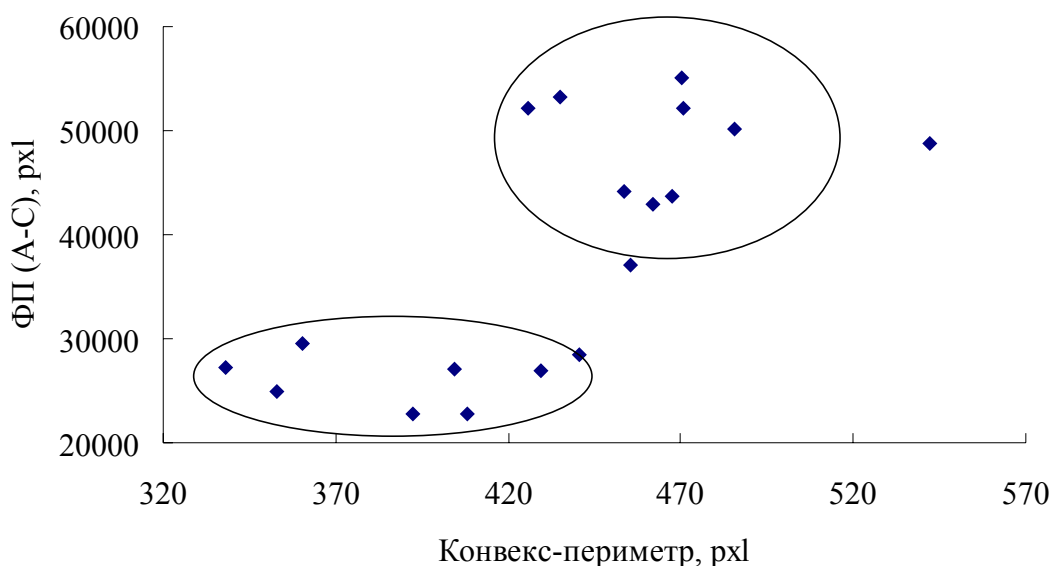


Рис. 2. График рассеяния значений фрактальной площади гетерохроматина и конвекс-периметра для ядер опухолей щитовидной железы

компонентов гетерохроматина, и конвекс-периметр, оценивающий длину описанной вокруг ядра выпуклой кривой. Построение графика распределения отобранной популяции клеток аденомы и карциномы щитовидной железы по этим параметрам показывает формирование двух обособленных классов, соответствующих различным типам опухолей (рис. 2). Клетки аденомы формируют класс с меньшими значениями и ФП (А-С), и конвекс-периметра. Раковые клетки отличаются как большими значениями обоих параметров, так и большей дисперсией значений параметров.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой информативности ПФП и его специфичности при дискриминации новообразований щитовидной железы. Универсальность ПФП клеточного ядра позволяет, по нашему мнению, распространить этот метод и на другие виды опухолей.

Литература

1. *Doudkine A. et al.* Nuclear texture measurements in image cytometry // *Patologica*. 1995. v. 87. P. 286–299.
2. *Глушен С. В.* Модель «ландшафта» и ее применение в цитопатологии // *Достижения современной биологии и биологическое образование* – Мн.: БГУ, 1997. С. 158–164.