

Для химиопрофилактики применяют антагонисты эстрогена (тамоксифен, релоксифен). Плацебо контролируемые исследования тамоксифена показали снижение числа случаев РМЖ в группе риска на 40–50% по сравнению с плацебо.

Профилактическая мастэктомия контралатеральной молочной железы с одномоментной реконструктивной операцией является наиболее эффективным методом снижения риска развития РМЖ, так как уменьшает риск его развития до 96%. А одномоментное выполнение реконструктивной операции положительно сказывается на психоэмоциональном состоянии женщин. Анжелина Джоли – известная кинозвезда – перенесла двухстороннюю мастэктомию, чтобы предотвратить развитие рака этой локализации [1].

Патологические аллели генов BRCA1/2 определяют наследственную предрасположенность к РМЖ. Мутации в генах BRCA1/2 приводят к нарушению синтеза ER и функционирования репаративных систем, что значительно повышает риск развития РМЖ у женщин и в меньшей степени, раков других локализаций (рак поджелудочной железы, рак желудка и рак головы и шеи, и т.д.). У мужчин риск развития РМЖ в десятки раз ниже, чем у женщин.

Наличие эффекта основателя значительно упрощает проведение масштабного генетического скрининга.

Своевременный генетический скрининг позволяет:

1. Оценить риск развития РМЖ у пациента и подобрать наиболее эффективные профилактические меры (наблюдение, химиопрофилактика, мастэктомия).
2. Составить предварительные сведения о структуре, локализации и злокачественности РМЖ (в большинстве случаев преобладает РМЖ инфильтративно-протокового типа с высокой степенью злокачественности).
3. Подобрать эффективную схему лечения, так как мутации генов BRCA1/2 делают геном раковых клеток нестабильным и уязвимым к DSB.
4. Определить вероятность передачи мутантных аллелей по наследству.

Из современных методов молекулярно-генетической диагностики для проведения генетического скрининга можно выделить: ПЦР в режиме реального времени, NGS, технологию ДНК-микрочипов. С точки зрения эффективности привлекательно выглядит метод NGS позволяющий определить полную нуклеотидную последовательность генов BRCA1/2 и сравнить с имеющимися в базе данных вариантами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Смолянка, И. И. Профилактическая мастэктомия: взгляд на проблему / И. И. Смолянка // Клиническая онкология. – 2013. – №2. – С. 68–70.
2. Prakash, R. Homologous Recombination and Human Health: The Roles of BRCA1, BRCA2, and Associated Proteins / R. Prakash [et al.] // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. – 2015. – № 7. – P. 1–27.
3. Lakhani, S. R. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype / S. R. Lakhani [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2005. – № 11 – P. 5175–5180.
4. Ходорович, О. С. BRCA-ассоциированный рак молочной железы. Особенности хирургической профилактики и лечения / О. С. Ходорович [и др.] // Исследования и практика в медицине : материалы Второго Национального конгресса «Онкология репродуктивных органов: от профилактики и раннего выявления к эффективному лечению», Москва, 11–13 мая 2017 г. : тез. докл. / ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения России; ред.: Каприн А. Д. [и др.] – Москва, 2018. – 95 с.
5. Сорокинов, И. В. Диагностические тесты в онкологии: от маркеров к сложным тест-системам / И. В. Сорокинов // Современная организация лекарственного обеспечения. – 2013. – № 3. – С. 28–38.

ПРИМЕНЕНИЕ МУЛЬТИСПЕКТРАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ВКЛЮЧЕНИЙ

APPLICATION OF MULTISPECTRAL MICROSCOPY FOR VISUALIZATION INTRACELLULAR INCLUSIONS

С. В. Глушен, А. В. Максимович, Е. А. Маслюков, М. Мятеева
S. Gloushen, A. Maksimovich, E. Masluykov, M. Matiyeva

Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Беларусь
massl2001@yandex.by

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Belarus

Мультиспектральная микроскопия представляет собой сочетание спектрального анализа и компьютерной обработки изображений. Нами с помощью данного метода исследованы спектры пропускания цитологических препаратов рака шейки матки, окрашенных гематоксилином и эозином. В видимой области (400–700 нм) содержащиеся в препаратах клеточные ядра и цитоплазма эпителиальных клеток, а также эритроциты демонстрируют однотипные спектры пропускания, которые отличаются лишь соотношением

компонентов. Показано, что разделение компонентов спектра интерференционными фильтрами с последующей компьютерной обработкой позволяет улучшить визуализацию внутриклеточных включений.

Multispectral microscopy is a combination of spectral analysis and computer image processing. With the help of this method we investigated the transmittance spectra of cervical tissue cells colored with hematoxylin and eosin. In the visible area (400-700 nm) nuclei and cytoplasm of epithelial cells as well as red blood cells have almost the same transmittance spectra, which differ only in the ratio of components. It is shown that separation of spectrum components by interference filters with the following computer processing allows improving visualization of intracellular inclusions.

Ключевые слова: мультиспектральная микроскопия; клеточные включения; анализ изображений.

Key words: multispectral microscopy; intracellular inclusions; image analysis

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-211-214>

Мультиспектральная микроскопия (**MultiSpectralImaging, MSI**) представляет собой комбинацию двух технологий: спектрального анализа вещества путем измерения интенсивности поглощаемого или испускаемого им света в зависимости от длины волны, и компьютерного анализа изображений, позволяющего оценить морфологию микроскопических структур и их пространственное расположение. В биологии и медицине мультиспектральная микроскопия применяется для решения таких задач как выделение, классификация и распознавание микроструктур, квантификация и стандартизация методов их окрашивания, количественная характеристика патологических изменений клеток и тканей, совершенствование методов диагностики опухолей и прогноза их развития [2,3].

В данном сообщении представлены результаты применения мультиспектральной микроскопии для решения одной из задач патологии клетки – визуализации и морфометрии внутриклеточных включений.

Исследование проводилось с помощью микроскопа Eclipse 50i (Nikon, Japan), который был дополнительно оборудован спектрометром USB2000-FL (OceanOptics, USA), телекамерой A102f (Basler, Germany), а также турелью с набором интерференционных фильтров. К спектрометру был подсоединен гибкий световод с зондом диаметром 50 мкм, что обеспечило в сочетании с объективом микроскопа 60x/0.85 регистрацию спектров поглощения с площади в 0.7мкм². Для управления телекамерой использовали программное обеспечение Pylon x64 4.2.2.5468 (Basler). Спектры получали с помощью программы SpectraSuite (OceanOptics) и обрабатывали в программе SpecWin32 (F.Menges). Для обработки и анализа изображений применяли программу ImageJ[1].

Общий вид участка препарата, выбранного для демонстрации метода, показан на рис. 1. Как видно на микрофотографии, клетки представлены двумя типами: преобладают равномерно окрашенные эозином эритроциты, между которыми располагаются эпителиальные клетки с интенсивно окрашенным гематоксилином клеточным ядром. На большом увеличении микроскопа можно заметить, что в цитоплазме эпителиальных клеток содержатся мелкие базофильные включения предположительно вирусной природы.



Рисунок 1 – Общий вид исследованного участка цитологического препарата рака шейки матки. Объектив 20x/0.40, гематоксилин-эозин

Первоначально была предпринята попытка разделить изображение препарата на отдельные спектральные составляющие, которые можно было бы ассоциировать с исследуемыми структурами. Для этого были получены спектры поглощения ядер и цитоплазмы эпителиальных клеток, а также эритроцитов. Дополнительно регистрировался спектр фона препарата (рис. 2).

Однако, как следует из сопоставления полученных спектров, все они, за исключением спектра фона, имеют сходную форму и состоят из двух компонентов. Максимум первого компонента приходится примерно на 500 нм, тогда как максимум второго – на 570 нм. Таким образом, спектральные различия исследуемых микроструктур являются преимущественно количественными.

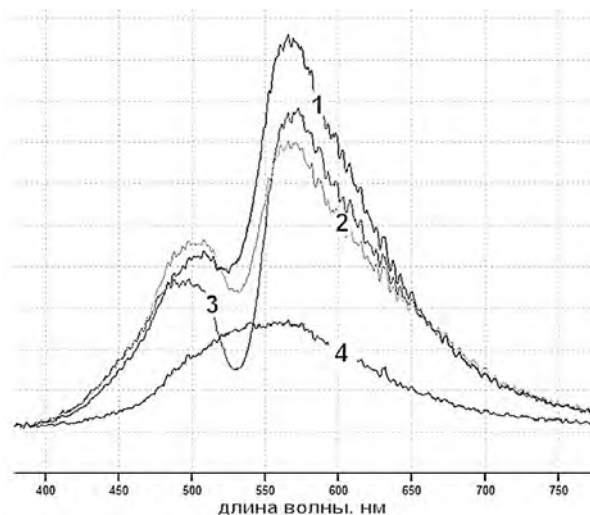


Рисунок 2 – Спектры пропускания микроструктур препарата:

1 – эритроциты, 2 – ядра эпителиальных клеток, 3 – цитоплазма эпителиальных клеток, 4 – фон

Поскольку спектры поглощения препарата имеют только два компонента, основная визуальная информация будет представлена в изображениях, полученных с использованием каждого из них. Первый спектральный компонент был выделен с помощью интерференционного фильтра, который имеет полосу пропускания 450-500 нм. Второй компонент выделяли с помощью порогового интерференционного фильтра, пропускающего после 550 нм. Затем на основе полученных таким способом изображений было сформировано новое изображение, яркость которого кодируется как отношение яркостей исходных. В результате у эпителиальных клеток ядра потеряли контраст, тогда как контраст содержащихся в них цитоплазматических включений остался высоким. В результате последние стали более доступными для компьютерной обработки. Средний диаметр внутриклеточных включений составил 0.98 ± 0.28 мкм (рис. 3).

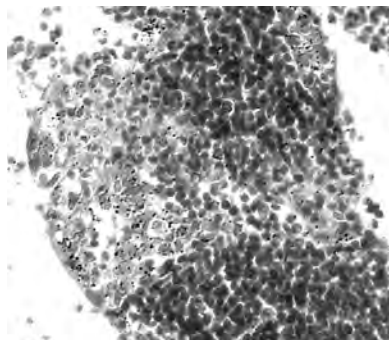


Рисунок 3 – Изображение, яркость которого представляет собой соотношение первого и второго компонентов спектра поглощения

Дифференциальное окрашивание клеточных ядер, цитоплазмы и межклеточного вещества является основным методом исследования в гистологии, причем для этого наиболее часто используют сочетание красителей гематоксилина и эозина. Клеточные ядра окрашиваются гематоксилином в темно-синий цвет, тогда как цитоплазма клеток окрашивается эозином в различные оттенки красного. Принято считать, что такое распределение красителей отражает плотность отрицательных и положительных зарядов в препарате.

Несмотря на то, что гематоксин и эозин по-разному окрашивают клеточные структуры, их спектры поглощения в значительной степени перекрываются. Это обстоятельство препятствует измерению оптической плотности каждого из них для последующего определения их концентрации в соответствии с законом Ламберта-Бера [5].

Для решения данной проблемы используются следующие подходы:

- применение красителей, спектры поглощения которых не перекрываются;
 - использование узкополосных интерференционных фильтров для селективного измерения поглощения в тех областях спектра, где нет перекрытия;
 - программная трансформация цветового пространства для получения ортогонального разделения спектров.
- Практика применения этих подходов свидетельствует, однако, что ни один из них не является оптимальным и приводит к потерям содержащейся в препарате информации [5].

Связи с этим в данном сообщении предлагается альтернативный подход, который состоит в разделении компонентов суммарного спектра поглощения гематоксилина и эозина, а не в разделении их спектров поглощения или пропускания. Такой прием не позволяет решить проблему определения концентрации каждого из красителей, однако он может улучшить визуализацию изучаемых микроструктур, что представляет, на наш взгляд, не меньшую ценность.

Использовать в патологии изображения, которые представляют собой соотношение изображений, сформированных в различных участках спектра поглощения, было предложено ранее Ornberg и др. [4]. Однако эти авторы при выборе участков спектра поглощения ориентировались на максимальные различия между красителями, тогда как в нашем случае применялся подход, основанный на выделении общих компонентов спектра проп

На кафедре генетики Белорусского государственного университета оборудован микроскоп, предназначенный для проведения количественных исследований цитологических и гистологических препаратов методом мульти-спектральной микроскопии. Он состоит из светового микроскопа Eclipse 50i (Nikon), снабженного телекамерой A102f (Basler) и спектрометром USB2000-FL (OceanOptics). Диаметр зонда в световоде составляет 50 мкм, что позволяет при использовании объектива с увеличением 100х снимать спектры поглощения с участка 0.5 мкм. Выделение участков спектра производится интерференционными фильтрами, установленными в турели под конденсором. Такая конфигурация микроскопа позволяет получать микрофотографии клеток, полученные путем дифракции на них полосовых участков светового излучения в диапазоне 400-1000 нм.

С помощью данного микроскопа выполнено исследование спектров пропускания основных типов микроструктур цитологического препарата рака шейки матки, окрашенного гематоксилином и эозином. Установлено, что в видимой области спектра клеточные ядра и цитоплазма эпителиальных клеток, а также эритроциты демонстрируют однотипные спектры пропускания, которые отличаются соотношением компонентов.

Показано, что разделение компонентов спектра пропускания соответствующими интерференционными фильтрами позволяет получать изображения, которые можно использовать для улучшения визуализации внутриклеточных включений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Collins, T. J. ImageJ for microscopy / T.J. Collins. BioTechniques. – 2007, 43. – P. S25-S30.
2. Fereidouni, F. Multispectral analysis tools can increase utility of RGB color images in histology / F. Fereidouni, C. Griffin, A. Todd, R. Levenson. J. Opt., 2018, 20(4). – P. 1-19.
3. Li, Q. Review of spectral imaging technology in biomedical engineering: achievements and challenges / Q. Li, X. He, Y. Wang, H. Liu, d. Xu, f. Guo. – Journal of Biomedical Optics. – 2013, 18(10). – P.1-28.
4. Ornberg, R. L., Woerner, B. M., Edwards, D. A. Analysis of stained objects in histological sections by spectral imaging and differential absorption / R. L. Ornberg, B. M. Woerner, D. A. Edwards. – J. Histochem. Cytochem., 1999, 47(10). – P. 1307-1313.
5. Ruifrok, A. C., Johnston, D. A. Quantification of histological staining by color deconvolution. Anal. Quant. Cytol. Histol. – 2001, 23. – P. 291-299.

МОНИТОРИНГ ОТДЕЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА ОБУЧАЮЩЕЙСЯ МОЛОДЕЖИ НА ОСНОВЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ПОЧЕРКА

MONITORING OF INDIVIDUAL INDICATORS OF PSYCHOLOGICAL EMOTIONAL STATE OF STUDENTS BASED ON HANDWRITTING

О. А. Иванова¹, О. Н. Аблековская²

V. Ivanova¹, O. Ablekovskaja²

¹Белорусский государственный университет, ФФСН,
г. Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
volha.a.ivanova@gmail.gov.by

¹Belarusian State University, PPSS, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

В ходе проведенного исследования получены данные, указывающие на возможность использования графологического анализа как проективного метода психологической диагностики повышенной тревожности на основе классификации признаков рукописного текста, что делает возможным его использование в больших группах, а также без ведома диагностируемого и непосредственного контакта с психологом. Своевременная диагностика психоэмоциональной напряженности первокурсников в ходе их адаптации к новым условиям обучения в комплексе с негативными изменениями социально-экономического развития страны и современными экологическими условиями может в дальнейшем предотвратить серьезные отклонения в состоянии здоровья обучающейся молодежи.