

© МЕНЬШИКОВ В.В., 2014

УДК 616-076.5:008

Меньшиков В.В.

ИННОВАЦИОННЫЙ ПОДХОД К ПОВЫШЕНИЮ ТОЧНОСТИ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНТРАСКОПИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ

ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Приведена информация о разработке американскими специалистами устройства Cell-CT™ для проведения цитологических исследований трехмерных изображений клеток с использованием технологии компьютерной томографии (КТ) при помощи видимых фотонов, а не рентгеновских лучей, поскольку плотность одиночной клетки недостаточна для исследования рентгеновскими лучами. Изотропное разрешение Cell-CT™ позволяет получить высококонтрастное, четко отделяющее сигнал от шума изображение структур клетки в диапазоне 200 нм. При анализе и классификации клеток устройство способно использовать математический аппарат КТ.

V.V. Menshikov

THE INNOVATIVE APPROACH TO IMPROVEMENT OF ACCURACY OF CYTOLOGICAL ANALYSIS: APPLICATION OF INTRASCOPIC TECHNOLOGY

The I.M. Sechenov first Moscow medical university of Minzdrav of Russia, 119992, Moscow, Russia

The article presents information concerning development of device Cell-CT™ by the American specialists to implement cytological analysis of 3D images of cells using technology of computer tomography by means of visible photons and not x-rays beams. Since density of single cell is insufficient for x-ray analysis. The isotropic resolution of Cell-CT™ permits receiving highly contrast and neatly separating signal from noise image of cell structures in 200 nm range. The device is able to apply mathematical apparatus of computer tomography under analysis and classification of cells.

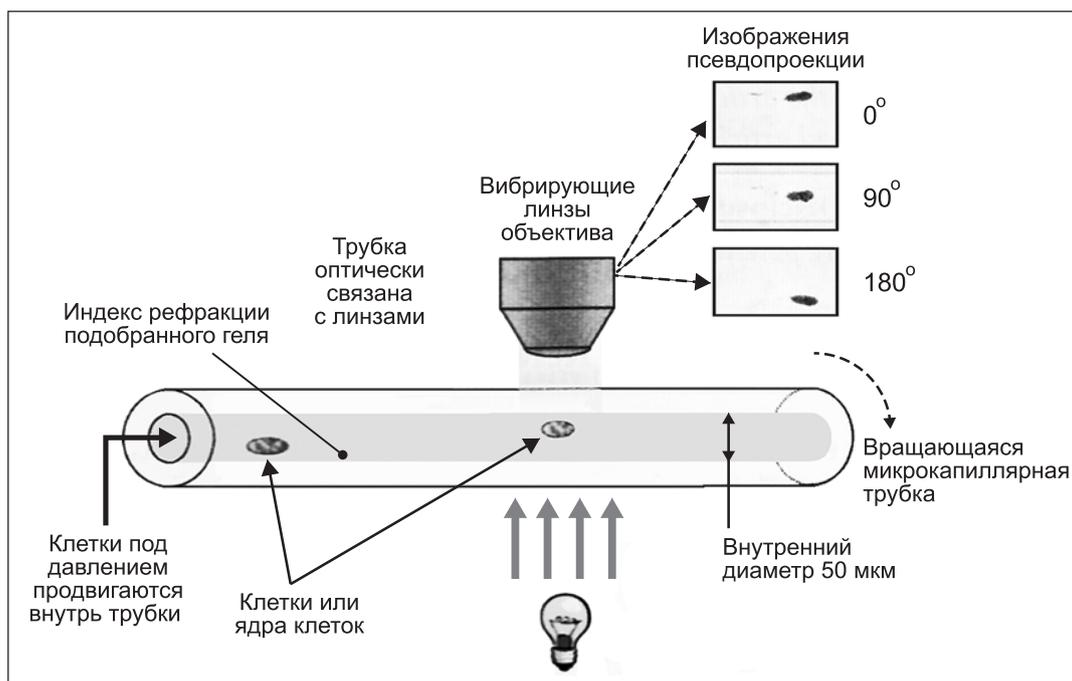
Проблема повышения точности результатов различных видов лабораторных исследований решается различными способами. Одной из ведущих является тенденция разработки более совершенных аналитических технологий за счет применения наиболее специфичных и чувствительных воздействий физических, химических или биологических факторов на аналит, позволяющих получить четкий сигнал реакции без отклоняющих влияний других компонентов матрицы и возможных интерферентов. Другая тенденция основана на использовании все более совершенных технических устройств, позволяющих уменьшить долю непосредственного участия оператора в выполнении всего комплекса процедур, составляющих процесс клинического лабораторного исследования. Эта тенденция воплощается в создании автоматических устройств, выполняющих как операции пробоподготовки, так и собственно лабораторный анализ и расчет его результатов. Это направление развития средств лабораторного анализа все в большей мере использует возрастающие возможности информатики.

Автоматические устройства получили наиболее широкое применение в тех разделах лабораторной медицины, в которых результат может быть представлен в числовой форме как итог биохимической или иммунологической реакции или подсчета числа клеток. Более сложно применить этот способ оказалось в тех видах лабораторных исследований, в которых необходимо оценить изображение — в гематологических и цитологических. Обычная практика в этих разделах медицины состоит в накоплении специалистом личного опыта наблюдения изображений клеток, их оценки на основе данных литературы, в том числе иллюстрированных альбомов с сотнями изображений клеток с различными более или менее характерными отклонениями, обучение путем параллельного исследования одних и тех же объектов обучающимся и опытным специалистом. Считается, что для приобретения необходимого опыта цитологу необходимо просмотреть

и оценить не менее 5 тыс. изображений клеток. Тем не менее и в этой сфере была предпринята разработка автоматических систем, которые независимо от оператора осуществляли бы оценку изображений клеток, основываясь на заранее подготовленной базе данных. Наибольший прогресс был достигнут в сфере гематологии, в частности в онкогематологии, также при анализе клеток иммунной системы. Разработаны и постоянно совершенствуются системы проточной флуоресцентной цитометрии.

Недавно в литературе появилась информация о том, что для повышения точности цитологических исследований применены возможности способа объективной диагностики, казалось бы, совершенно иного рода, широко применяемой в настоящее время эффективной интраскопической технологии компьютерной томографии (КТ).

А. Нельсон, профессор кафедры биоинженерии и физики Университета штата Аризона (США), разработал платформу Cell-CT™, позволяющую получить трехмерные изображения клеток [1]. Подготовка проб осуществляется вручную с использованием обычных методов фиксации и окраски, однако автор проекта планирует в ближайшее время разработать и применить автоматическое устройство и для подготовки проб. Проба в виде суспензии под давлением вносится в сменный картридж, содержащий вращающуюся микрокапиллярную пробирку. Встроенная в устройство камера сканирует пробирку, получая 500 микроизображений (с бесконечной глубиной фокуса) при каждом повороте пробирки и каждой клетке на 360° (см. рисунок). Как и при проточной цитометрии, Cell-CT™ анализирует одну клетку в данный момент, расходуя примерно 20 мин на анализ пробы одного пациента. В отличие от проточного цитометра, мониторирующего флуоресценцию, новая система может использовать при исследовании изображения характеристики как абсорбции, так и флуоресценции. Система оснащена специальными линзами, которые снижают возможную дифракцию света,



Система Cell-CTM.

"возвращая дифрактированные фотоны обратно в изображение, которое становится возможным видеть более четко", как указывает автор устройства.

Существенной новацией является применение для исследования клеток радиологического метода КТ. Индивидуальные изображения проекции клетки используются подобно стандартной рентгенограмме, представляя всю "анатомию" клетки. VisionGate-метод, создавая трехмерное изображение из множества проекций, использует радиологическую томографическую реконструкцию с помощью видимых фотонов, а не рентгеновских лучей, поскольку плотность одиночной клетки недостаточна для исследования рентгеновскими лучами. Изотропное разрешение Cell-CTTM позволяет получить высококонтрастное, четко отделяющее сигнал от шума изображение структур клетки в диапазоне 200 нм. Полученное изображение одиночной клетки система может анализировать и классифицировать. Симулирование изображения, подобного рентгенологическому, позволяет использовать все возможности математического обеспечения КТ.

Идея использования КТ для изучения клеток при цитологических исследованиях основана на значительном прогрессе данной технологии, позволяющей оценивать свойства клеток при проведении интраскопического исследования на пациенте. Позитронная эмиссионная томография позволяет обнаружить опухоль на уровне клеток. Полученные с ее помощью трехмерные изображения органов с чрезвычайно высоким разрешением в реальном масштабе времени выявляют патологические образования размером до 2 мм. Применение этой методики создало возможность раннего выявления поражений мозга при болезни Альцгеймера и Паркинсона, обнаружения нестабильных атеросклеротических бляшек, способных вызвать инфаркт миокарда.

Судя по имеющейся информации, система Cell-CTTM уже использовалась для исследования клеток при некоторых локализациях рака. Первые тесты с применением платформы Cell-CTTM А. Нельсон провел на неинвазивных пробах мокроты с целью раннего скрининга рака легких. По мнению автора, обычное цитологическое исследование этого материала имеет низкую диагностическую точность в связи с малым содержанием клеток опухоли в мокроте. Данный метод позволяет обнаружить клетки при их малой концентрации.

Группа сотрудников Университета Аризоны провела с помощью Cell-CTTM исследование проб эпителиальных клеток молочной железы [2]. Авторы отметили как преимущество метода возможность использовать обычную окраску гематоксилином и эозином, что облегчает сопоставление результатов новой технологии с методами, применяемыми в практической гистологии и цитологии. Были обнаружены уникальные вариации в ядрах, сочетающиеся со злокачественностью ядер нормальных клеток, а также разница соотношения — ядро/цитоплазма между нормальными и злокачественными клетками. Высказано предположение, что новая технология может привести новые параметры в цитопатологию. Более того, авторы изобретения А. Нельсон и Э. Зейбель полагают, что использование в клинических лабораториях нового устройства и реализованной в нем технологии способно полностью трансформировать практику патоморфологии подобно тому, как это произошло в свое время в области радиологии после внедрения КТ.

Смелые ожидания авторов и полученные первые результаты применения Cell-CTTM подлежат проверке на более обширном материале, взятом из различных органов, при проведении рандомизированного исследования и сравнении с обычно применяемыми цитологическими методами. Но уже сейчас можно признать инициативу авторов изобретения весьма перспективной и высказать предположение, что принципиально новая технология проявит себя в клинической цитологической практике столь же успешно, как и сходное по новизне применение метода масс-спектрометрии в микробиологической диагностике, которое также в значительной мере опирается на использование информационных технологий и разработку достаточно широкой базы данных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kumar V.S., Webster M. The Automated Pathologist. *Clin. Chem.* 2013; 59 (9): 1418—20.
2. Nandakumar V., Kelbauskas L., Hernandez K.F., Lintecum K.M., Senechal P., Bussey K.J. et al. Isotropic 3D nuclear morphometry of normal, fibrocystic and malignant breast epithelial cells reveals new structural alterations. *PLoS ONE.* 2012; 7: e29 230.

Поступила 18.04.14
Received 18.04.14