

логографическая картина синовиальной жидкости характеризовалась сохранением патологических структур и наличием системных и подсистемных аномалий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кристаллографические характеристики синовиальной жидкости способны отражать состояние синовиальной среды коленного сустава и подвержены динамическим изменениям, соответствующим клиническим проявлениям дегенеративного процесса при остеоартрозе.

Кристаллографические характеристики препаратов для вискозаплиментарной терапии наряду с их молекулярной массой являются важным интегративным показателем для их сравнения и систематизации по отношению к таковым в нормальной синовиальной жидкости. Препараты гиалуроновой кислоты с разной молекулярной массой могут иметь близкие с синовиальной жидкостью кристаллографические характеристики. Приоритетность влияния молекулярной массы «протезов синовиальной жидкости» или кристаллографических характеристик на эффективность их применения и продолжительность достигнутых результатов лечения требует дальнейшего изучения.

Включение вискозаплиментарной терапии в протокол комплексного лечения (хирургического и консервативного) больных с остеоартрозом коленного сустава способствует улучшению его функциональных результатов и показателей качества жизни. Клиническая эффективность указанного лечения проявляется в сравнительно ранние сроки и сохраняется в течение более продолжительного периода времени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шабалин В. Н., Шатохина С. Н. Морфология биологических жидкостей человека. — М.: Хризостом, 2001. — 304 с.
2. Altman R., Brandt K., Hochberg M., et al. // *Osteoarthritis Cartilage*. — 1996. — Vol. 4, № 3. — P. 217—243.
3. American College of Rheumatology Subcommittee on Osteoarthritis Guidelines. 2000 update // *Arthritis Rheum*. — 2000. — № 43. — P. 1905—1915.
4. Bellamy N., Campbell J., Robinson V., et al. // *Cochrane Database Syst Rev*. — 2005. № 2. — CD0055321.
5. Gomis A., Pawlak M., Balazs E. A., et al. // *Arthritis Rheum*. — 2004. — Vol. 50, N 1. — P. 314—326.
6. Jordan K.M., Arden N. K., Doherty M., et al. // *Ann Rheum. Dis*. — 2003. — Vol. 62. — P. 1145—1155.
7. Roman J. A., Chismol J., Morales M., Donderis J. L. // *Clin. Rheumatol*. — 2000. — № 19. — P. 204—206.
8. Weiss C., Band P. // *J Clin Rheumatol*. — 1999. — № 5. — S. 2—11.

А. А. Воробьев, С. В. Поройский, О. О. Привалов, О. А. Засыпкина, А. В. Поройская

Лаборатория моделирования патологии ВНЦ РАМН, кафедра АСОиУ ВолГТУ, кафедра патологической анатомии ВолГМУ

ПРИМЕНЕНИЕ НОВОЙ СИСТЕМЫ АВТОМАТИЗИРОВАННОГО ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ В ДИНАМИКЕ ОПЕРАЦИОННОЙ ТРАВМЫ

УДК 617.55-089:616.381-002:681

На основании предложенного принципиально нового компьютерного алгоритма разработано специализированное программное обеспечение «Система автоматизированного цитологического анализа». Эффективность данной системы подтверждена при исследовании клеточных взаимоотношений перитонеальной жидкости в динамике операционной травмы.

Ключевые слова: перитонеальная жидкость, автоматизированный цитологический анализ.

Перитонеальная жидкость является неотъемлемой частью внутрибрюшной среды, количество и качество которой находится в прямой зависимости от функционального состояния брюшины [1, 3]. Динамика цитологической картины перитонеальной жидкости является зеркалом протекающих процессов воспаления, регенерации, отражает механизмы клеточной кооперации в процессе послеоперационного адгезиогенеза. До настоящего времени основным методом исследования клеточного состава и клеточных взаимоотношений остается микроскопия. На текущем этапе развития микроско-

пии как метода медико-биологического анализа преобладает неавтоматизированный метод исследования, требующий непосредственного участия лаборанта или врача во всех операциях, определенных стадиями процесса. Широкий круг возможностей дает автоматизированная микроскопия, использование которой стало возможным благодаря развитию вычислительной техники и периферийных устройств «захвата» исследуемого изображения [2]. Современные диагностические комплексы включают в себя аппаратные и программные модули для управления сканированием мазков,

предобработки изображения, расчета морфологических признаков исследуемых объектов и их классификации. Некоторые комплексы также оснащены экспертно-советующими системами для отслеживания динамики течения биологических процессов на микроуровне [4, 5]. На текущем этапе развития систем подобного типа их эффективное использование возможно только при соответствии входной информации жестким требованиям, а именно обеспечении исходно высокого качества исследуемых препаратов со стабильной цвето-яркостной картиной. Данное требование накладывает ряд ограничений на применение подобных систем из-за трудностей, связанных с получением стабильных по цвето-яркостным характеристикам изображений исследуемых препаратов. Использование современных систем микроскопии позволяет визуализировать и хранить информацию объекта исследования в цифровом формате. В связи с этим актуальным вопросом становится оптимизация методов получения и интерпретации данных цитологического исследования с использованием новых компьютерных технологий.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработать систему программного автоматизированного цитологического анализа и применить ее для определения клеточных взаимоотношений перитонеальной жидкости в динамике операционной травмы.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент был выполнен на 20 половозрелых самках крыс линии Wistar массой 250—300 г. У животных осуществлялся забор перитонеальной жидкости до и после нанесения стандартной операционной травмы по стандартизированной методике, включающей: лапаролифтинг передней брюшной стенки, введение в брюшную полость в проекции белой линии живота разработанного нами одноразового перфорированного катетера; введение в брюшную полость физиологического раствора в стандартном объеме (2 мл), обратный забор жидкости, приготовление и окраска мазка по стандартной методике для проведения цитологического исследования. До операционной травмы (контрольный забор) забор перитонеальной жидкости осуществлялся в течение 5 дней. На 5-й день после контрольного забора перитонеальной жидкости выполнялась ранее предложенная нами и модифицированная применительно к мелким экспериментальным животным методика нанесения стандартной операционной травмы, включающая: выполнение срединной лапаротомии (длина разреза 2 см), идентификацию илеоцекального угла, нанесение дефектов висцеральной брюшины купола слепой кишки, дистального отдела подвздошной кишки и двух дефектов париетальной брюши-

ны правой боковой стенки живота размером 0,5x0,5 см, ушивание лапаротомной раны 5 капроновыми узловыми швами. Последующий забор перитонеальной жидкости осуществлялся сразу после нанесения операционной травмы, а также в ее динамике через день в течение 30 дней. Длительность эксперимента определялась временем окончательного формирования сращений и заживления дефектов брюшины (Воробьев А. А., Бебуришвили А. Г., 2001; Поройский С. В., 2004; Воробьев А. А. и соавт., 2005). Исследование, описание и фотоархивирование цитологических препаратов проведено с использованием микроскопа «Axiostar plus» (Karl Zeiss), цифровой камеры «Canon».

Для оптимизации процесса исследования нами разработано специализированное программное обеспечение «Система автоматизированного цитологического анализа», которая основана на реализации функции автоматического анализа растрового изображения медико-биологического препарата, полученного в результате «оцифровки», наблюдаемой при микроскопии картины. Под анализом в данном случае понимается методика определения процентного отношения количества объектов, принадлежащих разным классам клеточных популяций. При этом считается, что предварительно исследуемый препарат проходит стадию окраски, обеспечивающую разделение разнотипных объектов по цвето-яркостным характеристикам. В качестве основного алгоритма поиска и выделения на изображении интересующих объектов был использован алгоритм сегментации цветных растровых изображений, ориентированный на специфику микроскопии как предметной области медико-биологических исследований. В данном случае подразумевается отсутствие стабильности по цвето-яркостным характеристикам наблюдаемых изображений. В основе алгоритма лежит метод формирования устойчивой картины сегментации, что позволяет использовать его для обработки совокупности изображений и обобщения результата. Разработанный программный продукт позволил: цитотипировать клетки перитонеальной жидкости, определить соотношение клеток и ядерно-цитоплазматическое соотношение отдельных их представителей, получить графическое изображение цифровых результатов, провести архивирование данных. Разработка нового программного продукта была поддержана и выполнялась в рамках гранта программы «УМНИК» Федерального фонда поддержки малых форм предприятий в научнотехнической сфере, отмечена наградой Саратовского центра «Техноэкспо — 2007».

В приготовленных мазках обнаруживались следующие клеточные элементы: эритроциты, лимфоциты, лейкоциты, эозинофилы, сегментоядерные лейкоциты, моноциты, мезотелий, реже встреча-

лись макрофаги и фибробластоподобные клетки. Цитологическая картина перитонеальной жидкости имела четкую взаимосвязь с операционной травмой. При этом эритроциты в перитонеальной жидкости в большей степени обнаруживались в первый день после нанесения стандартной операционной травмы, что естественно связано с выполненным оперативным вмешательством. В дальнейшем их число снижалось, и к 10-м сут. перитонеальный мазок содержал единично встречающиеся эритроцитарные клетки. Максимальное количество лейкоцитов отмечено после нанесения стандартной операционной травмы, что свидетельствовало о закономерном ответе на операционную травму воспалительным процессом. Дальнейшая динамика характеризовалась снижением цитоза в течение 3—4 сут. с установлением средненормального уровня содержания лейкоцитов перитонеальной жидкости. Аналогичную динамику имели сегментоядерные лейкоциты, отражающие остроту воспалительного процесса. При этом наибольший цитоз определялся в течение 3 дней. Относительное увеличение количества в перитонеальной жидкости клеток моноцитарно-макрофагального ряда обнаруживалось только на 8—10-е сут. после нанесения операционной травмы с последующим восстановлением их контрольного количества. Реакция лимфоцитов на операционную травму была менее выраженной. Относительно небольшое повышение их числа обнаруживалось в первые 5—7 сут., в дальнейшем их уровень соответствовал контрольному значению. Операционная травма стала причиной кратковременного повышения количества эозинофилов в перитонеальной жидкости, наблюдавшегося на 2—3-и сут. При этом уже с 4-х сут. их количество соответствовало таковому в контрольной группе. Изменение количества мезотелиальных клеток в перитонеальной жидкости может быть интерпретировано как показатель репаративного процесса, запускаемого операционной травмой и протекающего на фоне посттравматического асептического воспаления. При этом

увеличение количества мезотелиальных клеток обнаруживалось с 3-го по 15-й день после операционной травмы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом:

- разработана и применена в исследовательском процессе новая программная система автоматизированного цитологического анализа;
- система автоматизированного цитологического анализа позволяет выполнить автоматизированное морфометрическое исследование объекта, осуществить цитотипирование объектов, архивное хранение данных;
- погрешность цитологического исследования с использованием системы автоматизированного цитологического анализа составляет около 4 %, что определяет преимущества ее применения перед классическими методами визуального анализа с применением планиметрических сеток;
- применение системы автоматизированного цитологического анализа при исследовании клеточного состава перитонеальной жидкости позволило выявить особенности клеточных коопераций в динамике операционной травмы;
- система автоматизированного цитологического анализа может быть применена при цитотипировании и морфометрии объектов различных биологических жидкостей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кулаков В. И., Адамян Л. В., Мынбаев О. А. Послеоперационные спайки (этиология патогенез и профилактика). — М.: Медицина, 1998. — 528 с.: ил.
2. Медовый В. С. // Врач и информационные технологии. — 2004. — № 6. — С. 32—37.
3. Пальцев М. А. Иванов А. А. Межклеточные взаимодействия. — М.: Медицина, 1995. — 244 с.
4. Пантелеев В. Г. // Цитологическая диагностика заболеваний легких [Атлас]. — 2005.
5. Поваркова А. В. // Морфология. — 1997. — № 5. — С. 103—106.