

Чонкоев Д.А., Халилов И.З.

## ГИСТОЛОГИЯЛЫК ПРЕПАРАТТАРДЫ ВИЗУАЛИЗАЦИЯЛООНУН ЖАНА ТАЛДООНУН ЖАҢЫ ЫКМАЛАРЫ

Чонкоев Д.А., Халилов И.З.

## НОВЫЕ МЕТОДЫ ВИЗУАЛИЗАЦИИ И АНАЛИЗА ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

D. Chonkoev, I. Khalilov

## NEW METHODS FOR VISUALIZATION AND ANALYSIS OF HISTOLOGICAL PREPARATIONS

УДК: 61.615.071/616-018

Бул макалада гистологиялык препараттарды изилдөөнүн заманбап ыкмалары, алардын уникалдуулугу жана клиникалык практикада колдонуу мүмкүнчүлүктөрү сүрөттөлөт. Акыркы жылыдары дүйнөлүк практикада иштелип чыккан гистологиялык изилдөөлөрдүн негизги инновациялык технологиялары камтылган. Заманбап медицинада гистологиялык препараттарды визуалдаштыруу жана талдоо ыкмаларын өркүндөтүүнүн маанилүүлүгү белгиленет. Макада гистологиядагы жаңы изилдөө ыкмаларын жана технологияларынын маңызын ачып берүүчү обзордук мүнөздө. Гистология тармагындагы заманбап тенденциялар менен таанышуу өтө актуалдуу маселе болуп саналат, анткени дүйнөлүк илим бир жерде токтобой, тынымсыз прогреске бара жатат. Бул медициналык практикага оң таасирин тийгизет, анткени изилдөө процесси алда канча тезирээк, деталдуу жана так талдоонун натыйжаларына алып келет.

**Негизги сөздөр:** гистология, анализ, визуализация, ткандардын үлгүлөрү, онкология, микроскопиялык изилдөө, нано-КТ, 3D микроскоп, санарип гистология.

В данной статье описываются современные методы исследования гистологических препаратов, их уникальность и возможности применения в клинической практике. Освещены основные инновационные технологии гистологического исследования, разработанные в мировой практике за последние годы. Отмечается значимость совершенствования методов визуализации и анализа гистологических препаратов в современной медицине. Статья носит обзорный характер, раскрывающий сущность новых методов и технологий исследования в гистологии. Ознакомление с современными тенденциями в области гистологии достаточно актуальный вопрос, поскольку мировая наука не стоит на месте и постоянно движется в сторону прогресса. Это положительно отражается в медицинской практике, поскольку процесс исследования намного ускоряется и приводит к более детальным и точным результатам анализа.

**Ключевые слова:** гистология, анализ, визуализация, тканевые образцы, онкология, микроскопическое исследование, нано-КТ, 3D-микроскоп, цифровая гистология.

This article describes modern methods for studying histological preparations, their uniqueness and possibilities for use in clinical practice. The main innovative technologies for histological research developed in world practice in recent years are covered. The importance of improving methods of visualization and analysis of histological preparations in modern medicine is noted. The article is in a review style, revealing the essence of new research methods and technologies in histology. Familiarization with modern

trends in the field of histology is quite a pressing issue, since world science does not stand still and is constantly moving towards progress. This has a positive effect on medical practice, since the research process is much faster and leads to more detailed and accurate analysis results.

**Key words:** histology, analysis, visualization, tissue samples, oncology, microscopic examination, nano-CT, 3D microscope, digital histology.

Исследование гистологических препаратов – это изучение образцов тканей тела посредством микроскопа, являющийся достаточно распространенным методом в современной медицине и позволяющий точно диагностировать некоторые виды заболеваний, прежде всего онкологического характера. Данный способ исследования зачастую оказывается единственным верным при выявлении классификации опухоли, обнаруженной в результате исследований лучевым методом – УЗИ, КТ, МРТ или эндоскопии.

Следует отметить, что в клинической практике гистологические исследования проводятся очень давно и постоянно совершенствуются с открытием инновационных методов изучения образцов тканей. Внедрение цифровизации в процессы визуализации и анализа гистологических препаратов позволили в значительной степени повысить качество изображений и ускорить передачу результатов исследований в другие медицинские учреждения. Стремительный прогресс в молекулярной биологии и генетики отразился на доступности иммуногистохимических анализов, исследований хромосом и последовательности генетического кода.

В основном направление на проведение гистологического анализа возникает при выявлении подозрения на злокачественную опухоль. Трансформация нормальной клетки в раковую начинается с нарушений на молекулярном уровне. Возникают определенные мутации в генах, вследствие чего изменяется структура соответствующих белков, либо происходит их излишняя выработка. Как следствие, видоизменяется внешняя форма клеток, структура ткани, обнаружение которых возможно при микроскопическом исследовании биоматериала. Гистологический

анализ позволяет определить окончательный диагноз болезни, установить вид злокачественной опухоли, степень заболеваемости и назначить соответствующее лечение.

Современные методы, используемые в гистологии для визуализации белков в тканях, дают возможность обнаружить локализацию более ста маркеров одновременно, что имеет большое значение, прежде всего, в онкологии при исследовании опухолевых клеток в естественной среде обитания. Инновационная микроскопия является основой в гистологическом исследовании, так как с помощью него возможно проводить детальное изучение и анализ структуры ткани, наблюдать особенности развития и наличие опухолей различного характера.

Исследование гистологических препаратов под микроскопом достаточно длительный процесс, требующий высокой квалификации специалиста-гистолога. На современном этапе развития гистологического исследования актуальным становится внедрение методов компьютерного зрения и искусственного интеллекта. Уникальные компьютерные технологии позволяют автоматически определять различные типы клеток, рассчитать их количество, выявить насколько повреждена ткань. Соответственно, это ускоряет процесс анализа и сокращает вероятность возникновения ошибочных результатов.

Безусловно, качество анализа гистологического препарата во многом зависит от этапа его подготовки и окрашивания. Также немаловажное значение при получении результата гистологического исследования имеет зависимость от правильности фиксации, заливки в парафин, нарезки срезов и т.д. В этой связи, постоянно ведется разработка новых составов фиксирующих жидкостей, позволяющие сохранять структуры различных типов тканей. Улучшаются протоколы проводки и заливки образцов, позволяющие сокращать артефакты.

До недавних пор гистологический анализ тканевых образцов предусматривало их разрезание на тонкие слои. Следует отметить, что в данной сфере ожидаются кардинальные изменения вследствие инновационного метода окрашивания, которая была разработана мультидисциплинарной группой в Мюнхенском техническом университете (МТУ).

Уникальная методика гистологического анализа была разработана под руководством доктора наук Франца Пфайффера и врача-химика Мадлен Буссе специалистами кафедры биомедицинской физики МТУ и Мюнхенской школы биоинженерии в 2018 году. Этот метод предполагает исследование трехмерных образцов тканей с применением системы нано-КТ (компьютерная томография нанометрового разрешения), также являющейся разработкой в дан-

ном университете. Безусловно, разрешение классических томографов недостаточно для решения такой задачи, а система нано-СТ обеспечивает разрешение до 100 нанометров и приемлемо для применения в обычных лабораториях [1].

В США учеными Колумбийского университета был изобретен 3D-микроскоп со стреловидным конфокально выровненным плоскостным возбуждением (SCAPE), позволяющий получение изображений живых тканей. Данная технология может иметь высокую значимость в хирургических операциях, поскольку позволяет выявлять структуру тканей без гистологических исследований или биопсии. К примеру, в хирургии данный микроскоп может применяться для рассмотрения границ опухоли прямо во время проведения хирургической операции без необходимости в гистологическом исследовании образцов ткани.

Технология также позволяет врачам и исследователям перемещаться по ткани с помощью этого устройства, а затем преобразовывать полученные данные в трехмерную визуализацию структуры ткани, не повреждая при этом изображенные структуры [2].

В 2021 году ученые из России нашли метод, заменяющий гистологию мягких тканей 3D-визуализацией на основе компьютерной микротомографии (микро-КТ). Данная методика была разработана председателем объединения молодых ученых «Биомедицина» Донского государственного технического университета (ДГТУ) Игорем Поповым и м.н.с. лаборатории механики биосовместимых материалов НОЦ «Материалы» ДГТУ Евгением Садыриным. Совместно с другими учеными ДГТУ, Южного федерального университета, Ростовского государственного медицинского университета и НМИЦ онкологии (Ростовна-Дону) были проведены сравнительные исследования, подтверждающие возможность визуализировать ткань с помощью микро-КТ с точностью до единиц микрометров [3].

Ученые лаборатории биофотонической визуализации в Институте передовых наук и технологий Бекмана (США) в 2022 году предложили методы визуализации, которые позволяют исследовать ткани без применения каких-либо окрашиваний или меток. Разработанная инновационная методика с использованием лазерного источника позволяет охватывать больше информации о ткани в отличие от обычных методов визуализации. Данная система обеспечивает наивысшую степень визуализацию внеклеточных везикул, связанных с онкологией, в особенности, с клетками рака молочной железы.

Доктор Стивен Боппарт – руководитель лаборатории отмечает, что «система визуализации позволяет собирать всю информацию одновременно, поз-

воля увидеть намного больше деталей о ткани, клетках и их функциях, чем современные способы визуализации. Клетки используют внеклеточные везикулы для связи друг с другом даже в нормальных условиях. Опухолевые клетки выделяют их больше по всему организму. По этой причине они могут использоваться в качестве маркеров прогрессирования рака» [4].

На современном этапе развития гистологических исследований разрабатываются инновационные методики интраоперационной визуализации, которые являются альтернативой методам интраоперационной гистопатологической диагностики. В более ранних исследованиях применялись микроскопия плоскостного освещения, флуоресцентная нелинейная микроскопия, микроскопия с УФ-возбуждением поверхности (MUSE) и структурированная световая микроскопия для выявления гистологических изображений при помощи окрашивания Г&Э. Вместе с тем, эти маркерные методы могут потребовать дополнительных флуоресцентных красителей или оптической очистки образца для получения изображения, создать сложности в материально-техническом обеспечении в процессе операции и иметь потенциальный токсический эффект в зависимости от контрастирующего вещества [5].

Необходимо отметить, что гистология, как и многие другие области науки, постоянно совершенствуется с внедрением новых цифровых технологий. Так, приведем несколько инновационных технологий в науке гистологии.

Цифровая гистология является одной из самых интересных инноваций, возможность которого заключается в создании высококачественных цифровых изображений тканей. Это существенно отражается на улучшении визуализации и хранении данных. Кроме того, обеспечивается более доступная и ускоренная возможность обмена информацией между учеными и медицинскими специалистами.

Конфокальная микроскопия – технология, позволяющая создавать трехмерные изображения клеток и тканей на основе их оптических срезов. Таким образом, становится возможным исследовать структуру клеток и тканей с высокой степенью детализации и точности.

Иммуногистохимия – технология, позволяющая изучать выражение определенных белков и молекул в тканях посредством антител и флуоресцентных маркеров. Необходимо отметить, что иммуногистохимия в последнее время становится все более рас-

пространенной в исследованиях и диагностике различных видов заболеваний.

Электронная микроскопия является одной из передовых технологий, позволяющей исследовать структуру клеток и тканей на уровне нанометров. Так, появляются новые возможности для изучения мельчайших деталей организмов и выявления ранее невидимых структур.

Тканевая инженерия – новаторская сфера науки, объединяющая гистологию с инженерией и биотехнологиями. Тканевая инженерия предусматривает создание искусственных тканей и органов для замещения поврежденных или отсутствующих в организме, что в перспективе может оказаться уникальным инновационным методом лечения тяжелых заболеваний.

Мультифотонная микроскопия также является одной из передовых технологий на сегодняшний день, дающая возможность исследовать живые ткани и клетки без их повреждения или окрашивания. Данная технология содержит большую потенциальную значимость для изучения биологических процессов в живых организмах.

Таким образом, следует отметить, что передовые технологии в гистологическом исследовании имеют большую значимость в современной науке, дающие возможность ученым и медицинским специалистам более детально и точно получать данные о структуре и функциях клеток и тканей, что служит предпосылкой к разработке новых методов лечения различных видов заболеваний и совершенствованию изучения живых организмов.

#### Литература:

1. Histology in 3D. New staining method enables Nano-CT imaging of tissue. - URL: <https://www.ph.tum.de/latest/news/histology-in-3D/?language=en>
2. Columbia Scientists Use Andor Camera to Develop 3D Microscope. - URL: [https://www.photonics.com/Articles/Columbia\\_Scientists\\_Use\\_Andor\\_Camera\\_to\\_Develop/a62577](https://www.photonics.com/Articles/Columbia_Scientists_Use_Andor_Camera_to_Develop/a62577)
3. Ученые РФ предложили способ заменить гистологию 3D-визуализацией на базе микро-КТ. - URL: <https://nauka.tass.ru/nauka/12379393>
4. Исследователи разработали новый метод визуализации внеклеточных везикул. - URL: <https://www.izmedic.ru/issledovateli-razrabotali-novyy-metod-vizualizacii-vnekletochnyh-vezikul.html>
5. Photoacoustic Imaging Uses LED Light to Guide Cancer Diagnosis and Therapy. - URL: [https://www.photonics.com/Articles/Photoacoustic\\_Imaging\\_Leverages\\_LED\\_Light\\_to\\_a68104](https://www.photonics.com/Articles/Photoacoustic_Imaging_Leverages_LED_Light_to_a68104)