содержание их в надземной фитомассе. Среди рассматриваемых ТУЭ наибольшее значение удельной активности приходится на <sup>241</sup>Am.

При оценке дозовой нагрузки необходимо отметить, что суммарная мощность эквивалентной дозы от ТУЭ в надземных и подземных органах исследуемых растений в 4–33 раза меньше, чем значение мощности эквивалентной дозы от <sup>137</sup>Cs. Наибольшая дозовая нагрузка приходится на подземные органы, при этом основной вклад среди ТУЭ вносит <sup>241</sup>Am.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.

 Алексахин, Р. М. Дозы облучения человека и биоты в современном мире: состояние и некоторые актуальные проблемы |
Р. М. Алексахин // Медицинская радиология и радиационная безопасность. — 2009. — Т. 54, № 4. — С. 25–31.

2. Конопля, Е. Ф. Радиация и Чернобыль: Трансурановые элементы на территории Беларуси / Е. Ф. Конопля, В. П. Кудряшов, В. П. Миронов. — Гомель: РНИУП «Институт радиологии», 2007. — 128 с.

3. Вдовенко, В. М. Химия урана и трансурановых элементов / Акад. наук СССР. Радиевый ин-т им. В. Г. Хлопина. — Л.; М.: Ид-во Акад. наук СССР, 1960. — 700 с. 5. ГОСТ 17.4.3.01-83 Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб = Nature protection. Soils. General requirements for sampling. — Введ. 01.07.84. — М.: Изд-во стандартов, 1984. — 8 с.

6. МВИ. МН 1892-2003. Методика определения активности стронция-90 и трансурановых элементов в биологических объектах. — Минск, 2003. — 17 с.

7. *Моисеев, А. А.* Справочник по дозиметрии и радиационной гигиене / А. А. Моисеев, В. И. Иванов. — М.: Энергоатомиздат, 1984. — 292 с.

8. *Taranenko, V.* Absorbed dose rate conversion coefficients for reference biota for external photon and internal exposures / V. Taranenko, G. Prohl, J. M. Gomez-Ros // Journal of radiological protection. — 2004. — № 24. — P. 35–62.

9. *Chambers, B.* Choosing an alpha radiation weighting factor for doses to non-human biota / B. Chambers, R. V. Osborne, A. L. Garva // Journal of Environmental Radioactivity. — 2006. — № 87. — P. 1–14.

10. Шошина, Р. Р. Анализ неопределенностей при оценке доз на биоту в условиях хронического радиационного воздействия / Р.Р. Шошина, Г.В. Лаврентьева // Радиобиология: «Маяк», Чернобыль, Фукусима: матер. междунар. науч. конф. (Гомель, 24–25 сент. 2015 г.) / ред. кол.: А. Д. Наумов (гл. ред.) [и др.]. — Минск: Ин-т радиологии, 2015. — С. 270–273.

Поступила 09.10.2017

# УДК 616-076:[547.281.1+615.2] УСКОРЕНИЕ ФИКСАЦИИ ОПЕРАЦИОННОГО И БИОПСИЙНОГО МАТЕРИАЛА

# А. Ю. Крылов<sup>1</sup>, В. В. Янченко<sup>2</sup>, А. Н. Млявый<sup>3</sup>, Ю. В. Крылов<sup>3</sup>

# <sup>1</sup>Институт повышения квалификации и переподготовки кадров Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь, г. Минск, <sup>2</sup> Витебский государственный ордена

## Дружбы народов медицинский университет», г. Витебск <sup>3</sup>Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро, г. Витебск

Цель: разработать способ ускорения фиксации биопсийного материала добавлением в формалин димексида.

*Материал и методы.* Методом добавления пищевого красителя E124 (понсо 4R) (1 мг/мл) в забуференный формалин изучали его проникновение в биопсийный материал лейомиом, доставленных на срочное гистологическое исследование. В опытной группе в качестве ускорителя проникновения красителя в структуры биопсийного материала добавляли димексид в конечной концентрации 20 %. Материал оценивался морфометрически в процентах площади окрашенных красителем участков.

*Результаты.* Полное прокрашивание всех образцов опытной серии с добавлением димексида наблюдалось уже через 12 часов фиксации, а в контрольной – только в трех кусочках из шести. В остальных трех образцах было прокрашено 75, 76 и 86 %. В двух наблюдениях рака молочной железы на 12 часах фиксации с добавлением в формалин димексида 20 % концентрации их экспрессия соответствовала 24 часам фиксации обычным способом.

Заключение. Добавление димексида в забуференный формалин в конечной концентрации 20 % позволило существенно ускорить фиксацию, при этом не искажая результаты иммуногистохимеского исследования экспрессии маркеров, входящих в стандартную панель иммуногистохимеского исследования (Er, Pg, Ki-67, HER2).

<u>Ключевые слова:</u> димексид, пищевой краситель, скорость фиксации, качество фиксации.

## ACCELERATION OF THE FIXATION OF SURGICAL AND BIOPSY MATERIAL

A. Yu. Krylov<sup>1</sup>, U. V. Yanchenko<sup>2</sup>, A.N. Mlyaviy<sup>3</sup>, Yu.V. Krylov<sup>3</sup>

## <sup>1</sup>Institute for Advanced Training and Retraining of Personnel of the State Committee of Forensic Expertise of the Republic of Belarus, Minsk, <sup>2</sup>Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, <sup>3</sup>Vitebsk Regional Clinical Pathoanatomical Bureau, Vitebsk

*Objective:* to develop a method for accelerating the fixation of biopsy material by adding dimexide to formalin. *Material and methods.* The method of adding food coloring E124 (ponso 4R) (1 mg/ml) to buffered formalin was used to study its penetration into biopsy material by leiomyomas delivered for an urgent histological study. In the test group, dimexide was added to the structure of the biopsy material as a dye penetration accelerator at a final concentration of 20 %. The material was evaluated morphometrically in percents of the area of the stained areas.

**Results.** The complete staining of all the samples of the experimental series with the addition of dimexide was observed after 12 hours of the fixation, and in the control sample only in three pieces out of six. In the remaining three samples, 75; 76 and 86 % were painted. In two observations of breast cancer the expression of the fixation with the addition of 20 % dimexide concentration to formalin after 12 hours corresponded to 24 hours of the fixation in the usual way.

*Conclusion.* The addition of dimexide to buffered formalin at a final concentration of 20 % made it possible to substantially accelerate the fixation without distorting the results of IGH examining the expression of markers included in the standard panel of IHC studies (Er, Pg, Ki-67, HER2).

Key words: dimexide, food color, fixation rate, quality of fixation.

# Введение

В настоящее время высокоэффективные таргетные лекарственные средства в онкологии назначаются по результатам иммуногистохимеского (ИГХ) исследования. В свою очередь их результаты во многом зависят от качества фиксации исследуемого материала [1]. В наших предыдущих исследованиях для оценки скорости и полноты фиксации мы использовали забуференный формалин с добавлением водорастворимого пищевого красителя E124 (понсо 4R), проникающий в фиксированные ткани и визуализирующий зафиксированные участки биопсийного материала путем прямого видимого окрашивания в красный цвет (заявка на патент № а20160264 от 07.07.2016 г.). Важно отметить, что в процессе обезвоживания материала краситель вымывается и не влияет на качество гистологических препаратов и ИГХисследований. Этим методом на материале срочных биопсий лейомиом больших размеров проведен анализ скорости и полноты фиксации [2], а также мониторинг качества фиксации тканей рака молочной железы (РМЖ) поступивших на исследование в отделение онкоморфологии УЗ «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро» [3].

#### Цель исследования

Разработать способ ускорения фиксации биопсийного материала добавлением в формалин димексида.

#### Материал и методы

Объектом исследования являлся операционный материал (матка — 3 случая), доставленный на срочное гистологическое исследовании после операции резекции матки по поводу лейомиомы больших размеров. Были отобраны 70 образцов ткани размером  $1 \times 1 \times 0.4$  см для контрольной и опытной групп. В контрольной и опытной сериях в формалин добавлялся пищевой краситель E124 (понсо 4R) (1 мг/мл), окрашивающий ткани в красный цвет. В фиксирующий раствор для образцов опытной группы дополнительно добавлялся 100 % раствор димексида в соотношении 1:4 для приготовления 20 % раствора конечной концентрации. Для оценки скорости и полноты фиксации проведен морфометрический анализ площади прокрашивания кусочков в процентах (полученные данные документированы микрофотографиями с использованием цифровой системы считывания и ввода (ДСМ51), а также программного обеспечения по вводу и предобработки ScopPhoto) в 43 образцах ткани контрольной и 27 образцах опытной группы, полученных при срочном исследовании операционного материала с учетом процента площади прокрашенных участков.

## Результаты и обсуждение

Полученные результаты представлены в таблице 1.

Время	Размер	Контрольная группа (фиксатор, краситель)	Опытная группа (фиксатор,
фиксации, ч	кусочков, см		краситель, димексид-20 %)
3	$1 \times 1 \times 0,4$	Полное прокрашивание 2-х кусочков, 3	Полное прокрашивание 2-х кусоч-
		кусочка прокрашены на 53, 40 и 37,5 %	ков, 1 кусочек прокрашен на 16,5 %
6	$1 \times 1 \times 0,4$	Полное прокрашивание 2-х кусочков, три	Полное прокрашивание 2-х кусоч-
		кусочка прокрашены на 72; 77,5 и 87 %	ков, 1 кусочек прокрасился на 57 %
9	$1 \times 1 \times 0,4$	Полное прокрашивание 2-х кусочков, 4 ку-	Полное прокрашивание 2-х кусоч-
		сочка прокрашены на 53, 60, 73,5, 74 %	ков, 1 кусочек прокрасился на 57 %
12	$1 \times 1 \times 0,4$	Полное прокрашивание 3-х кусочков, три	Полное прокрашивание 3-х ку-
		кусочка прокрашены на 75, 76,5 и 86,5 %	сочков
18	$1 \times 1 \times 0,4$	Полное прокрашивание 4-х кусочков, 2 ку-	Полное прокрашивание 2-х ку-
		сочка прокрашены на 84,5 и 85 %	сочков
24	$1 \times 1 \times 0,4$	Шесть кусочков прокрашены на 32, 57,	Полное прокрашивание 8 кусочков
		77, 92, 93,5 и 95,5 %	
48	$1 \times 1 \times 0,4$	Полное прокрашивание 4-х кусочков, 2	Полное прокрашивание 5 кусочков
		кусочка прокрашены на 87 и 90 %	
72	$1 \times 1 \times 0,4$	Полное прокрашивание 3-х кусочков	

Таблица 1 — Время фиксации и площадь окрашенных участков биоптатов в процентах

Анализ данных таблицы 1 показывает, что, полное прокрашивание всех образцов опытной серии с добавлением димексида наблюдалось уже через 12 ч фиксации (рисунок 1а), а в контрольной — только в 3-х кусочках из 6. В остальных 3-х образцах было прокрашено 75, 76 и 86 %, что иллюстрируют микрофотографии на рисунке 16.



Рисунок 1 — Степень прокрашивания образцов через 12 ч фиксации с 20 % димексидом: а) полное (опытная серия); б) светлые, непрокрашенные зоны (контрольная серия)

В 2-х наблюдениях РМЖ был проведен морфологический анализ для выяснения влияния димексида на экспрессию маркеров, входящих в стандартную панель ИГХ-исследования (Er, Pg, Ki-67, HER2). При этом на 12 часах фиксации (рисунок 2a) с добавлением в формалин димексида 20 % концентрации экспрессия соответствовала 24 ч фиксации обычным способом, в качестве примера приведена экспрессия эстрогенов (рисунок 2б).



Рисунок 2 — Инфильтративная дольковая карцинома. Экспрессия рецепторов эстрогенов в ткани опухоли (ув. ×400). а) фиксации 12 ч раствором с добавлением димексида в конечной концентрации 20 %. Выраженная ядерная экспрессия рецепторов эстрогена в 90 % клеток (коричневое окрашивание); б) фиксация 24 ч с использованием 10 % нейтрального забуференного формалина. Выраженная ядерная экспрессия рецепторов эстерогена в 90 % клеток (коричневое окрашивание)

Нами также был проведен анализ почасовой фиксации в соотношении 100 % димексид: раствор формалина 1:9 (10 % раствор диметилсульфоксида) и 1:18 (5 % раствор диметилсульфоксида), который выявил прямую зависимость скорости и глубины проникновения фиксатора от конечной концентрации димексида. Так, фиксация с конечной концентрацией димексида 5 % позволяла получить результаты, аналогичные контрольной серии, уже на 18 ч фиксации. Данное обстоятельство с экономической точки зрения подлежит дальнейшему изучению с учетом разнообразия материала, поступающего на исследование.

## Выводы

Добавление димексида в забуференный формалин в конечной концентрации 20 % позволило существенно ускорить фиксацию, при этом не искажая результаты ИГХ-исследования экспрессии маркеров, входящих в стандартную панель ИГХ-исследования (Er, Pg, Ki-67, HER2).

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК:

Рак молочной железы. Практическое руководство для врачей / Ю. Ю. Андреева [и др.]; под ред. Г. А. Франк, Л. Э. Завалишиной, К. М. Пожарисского. — М.: Практическая медицина, 2014. — 176 с.

2. Оценка скорости и полноты фиксации биопсийного материала добавлением в формалин пищевого красителя / А. Ю. Крылов [и др.] // Журнал «Судебная экспертиза Беларуси». — 2017. — № 1 (4). — С. 52–54.

 Оценка скорости и качества фиксации биопсийного материала при раке молочной железы / А. Ю. Крылов [и др.] // Охрана материнства и детства». — 2016. — № 2(28). — С. 13–15. Поступила 09.10.2017

## УДК 618.19-006.6:53.086 ПАРАМЕТРЫ АРХИТЕКТОНИКИ АСМ-КАРТ ПОВЕРХНОСТИ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ МСГ-7

## М. Н. Стародубцева

### Гомельский государственный медицинский университет Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Гомель

В связи с расширением использования атомно-силовой микроскопии (ACM) в медико-биологической науке актуальным становится нахождение параметров, количественно характеризующих распределение значений различных свойств поверхности клеток на наномасштабном уровне. Целью исследования являлось выявление особенностей поведения параметров шероховатости ( $R_q$ ) и фрактальной размерности ( $D_F$ ), оцененных для ACM-изображений поверхности фиксированных глутаровым альдегидом эпителиальных клеток карциномы молочной железы MCF-7 при изменении разрешения изображения, размеров области сканирования и участков поверхности клеток. Показано, что величина  $D_F$  ACM-карт ограничена минимально достижимым шагом сканирования. Совместный анализ  $R_q$  и  $D_F$  ACM-изображений выявил различие возможностей этих параметров и преимущество использования параметра зависимости  $D_F$  от коэффициента масштабирования по оси Z ( $D_F = f(t)$ ) для характеристики тонкой структуры распределения значений локальных параметров карт топографии и механических свойств по поверхности клеток. Применяя зависимость  $D_F = f(t)$  к ACM-изображения, можно количественно охарактеризовать различные по структурным свойствам части клеток и переходная область различные по структурным свойствам части клеток и переходная область).

<u>Ключевые слова</u>: атомно-силовая микроскопия, клетки карциномы молочной железы МСF-7, шероховатость, фрактальная размерность.

# THE ARCHITECTONICS PARAMETERS OF AFM MAPS OF THE EPITHELIAL CELL SURFACE OF MCF-7 BREAST CARCINOMA

### M. N. Starodubtseva

### Gomel State Medical University, Institute of Radiobiology of NAS of Belarus, Gomel

Due to the wide application of atomic force microscopy (AFM) in medical and biological sciences, the finding of parameters qualitatively characterizing the distribution of the values of various cell surface properties at the nanoscale level is becoming topical. The aim of the study was to reveal the features of the behavior of the parameters of roughness ( $R_q$ ) and fractal dimension ( $D_F$ ) assessed for AFM images of the surface of glutaraldehyde-fixed breast carcinoma cells (MCF-7 cells) with changing of the image resolution, the scanning area size, and the regions of the cells. It has been proved that the value of  $D_F$  for AFM images is limited by the minimal achieved scanning step. The mutual analysis of  $R_q$  and  $D_F$  of AFM images has revealed some difference in the prospects of these parameters and the advantage of the application of the parameter  $D_F = f(t)$  (dependence of the fractal dimension on the scale coefficient along the axis Z) to characterize the fine structure of the spatial distribution of the local topographic parameters and parameters of mechanical properties on the cell surface. The application of the dependence of the parameter  $D_F = f(t)$  on AFM images, makes it possible to quantitatively characterize the different cell regions (the leading edge, central area over the nucleus, transitional (middle) area).

Key words: atomic force microscopy, MCF-7 breast carcinoma cells, roughness, fractal dimension.

#### Введение

В связи со стремительным развитием исследований клеток и клеточных структур на наномасштабном уровне, ускоренным, в свою очередь, созданием атомно-силовой микроскопии, актуальным в медико-биологической науке становится нахождение параметров, количественно характеризующих распределение значений различных свойств поверхности клеток на исследуемых участках [1]. Атомно-силовая микроскопия позволяет получать трехмерные карты не только рельефа участка натуральной поверхности, то есть характеристику его неровностей в вертикальном и горизонтальном