

УДК 616-091.0

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО КЛАСТЕРА В СТРУКТУРЕ МЕДИЦИНСКОГО НИИ

¹Лазаренко В.А., ¹Липатов В.А., ¹Мишина Е.С., ¹Иванов А.В., ²Зиновкин Д.А.

¹Курский государственный медицинский университет, Курск, e-mail: katusha100390@list.ru;

²Гомельский государственный медицинский университет, Гомель

Результаты морфологических исследований становятся основополагающими при заключениях в экспериментальных исследованиях о системном или местном влиянии новых лекарственных средств или изделий. В современном мире методы морфологических исследований развиваются в соответствии с требованиями доказательной медицины. На данном этапе развития потенциальные возможности нормальной и патоморфологии существенно расширились благодаря новым методам исследования. Это дает возможность диагностировать патологические процессы как на макро-, так и на микроскопическом уровнях, получать новейшие научные факты, выявлять структурные основы патологических процессов на различных уровнях организации живой материи. В связи с этим целью нашего изучения стало выявление взаимосвязи клинической и фундаментальной морфологии и выявление перспектив развития морфологического кластера в структуре медицинского НИИ. Если рассматривать примеры клинической практики, можно проследить принципы коллегиальности и взаимодействия между врачом и патоморфологом. Такие же условия работы должны соблюдаться и в научно-исследовательских лабораториях, где экспертное мнение морфолога должно быть учтено на всех этапах эксперимента. В настоящей статье, на примере лаборатории морфологии и клеточных технологий КГМУ (находящейся в структуре НИИ экспериментальной медицины), описаны современные методы морфологической диагностики, ее роль и место в научном исследовании, недостатки, а также векторы развития данной области.

Ключевые слова: морфология, гистопатология, клеточные технологии, экспериментальное исследование

PROSPECTS FOR THE DEVELOPMENT OF A MORPHOLOGICAL CLUSTER IN THE STRUCTURE OF A MEDICAL RESEARCH INSTITUTE

¹Lazarenko V.A., ¹Lipatov V.A., ¹Mishina E.S., ¹Ivanov A.V., ²Zinovkin D.A.

¹Kursk state medical university, Kursk, e-mail: katusha100390@list.ru;

²Gomel state medical university, Gomel

The results of morphological studies become fundamental in the conclusions in experimental studies about the systemic or local effects of new drugs or products. In the modern world, morphological research methods are developing in accordance with the requirements of evidence-based medicine. At this stage of development, the potential possibilities of normal and pathomorphology have expanded significantly due to new research methods. This makes it possible to diagnose pathological processes both at the macro- and microscopic levels, obtain the latest scientific facts, and reveal the structural foundations of pathological processes at various levels of organization of living matter. In this regard, the purpose of our study was to identify the relationship between clinical and fundamental morphology and to identify the prospects for the development of a morphological cluster in the structure of a medical research institute. If we consider examples of clinical practice, we can trace the principles of collegiality and interaction between a doctor and a pathologist. The same working conditions should be observed in research laboratories, where the expert opinion of a morphologist should be taken into account at all stages of the experiment. In this article, on the example of the laboratory of morphology and cellular technology of KSMU (located in the structure of the Research Institute of Experimental Medicine), modern methods of morphological diagnostics, its role and place in scientific research, shortcomings, as well as development vectors in this area are described.

Keywords: morphology, histopathology, cellular technologies, experimental study

Морфология относится к фундаментальным методам исследованиям ткани при помощи различных способов микроскопии, однако данная дисциплина постоянно развивается, чтобы соответствовать критериям современной науки. Морфологические исследования проводятся как в медицинских учреждениях, так и в научно-исследовательских институтах. Эта сфера научных знаний вносит значительный вклад в определение медицинских нозологий, их патогенетических проявлений и оценку эффективности лечения. Высококачественное

морфологическое исследование необходимо для успешного и доказательного как доклинического, так и клинического испытания разрабатываемых новшеств, углубленного изучения закономерностей развития патологических процессов. Морфологическая служба, как обязательный компонент любого биомедицинского исследовательского центра, является доказательной основой макро- и микроскопических проявлений патологии, позволяет проводить сравнительный анализ реакции тканей на лечебное воздействие. Лишь соединение методов и техноло-

гий, имеющих минимальные погрешности, необходимо использовать для получения достоверных результатов. В связи с вышеизложенным целью нашего изучения стало выявление взаимосвязи клинической и фундаментальной морфологии и выявление перспектив развития морфологического кластера в структуре медицинского НИИ.

Морфология в современной науке. Результатами работы морфологической лаборатории является представление о биологии ткани и механизмах заболевания, а также практические знания о работе с тканями и требованиях к проведению исследования, таких как получение тканей, сроки выполнения эксперимента и выбора метода оценки [1]. Воспроизводство исследований *in vivo* с использованием лабораторных животных зависит от многих факторов, включая выбор животного, дизайн и сроки эксперимента. Морфологи часто являются конечным звеном таких исследований, и у ученого-гистолога возникают вопросы к точности проведенного эксперимента и качеству оцениваемого материала. Отсутствие учета экспертизы морфолога в планировании и выполнении исследования *in vivo* приводят к сомнительным результатам и выводам [2]. Таким образом, участие морфолога необходимо на всех этапах экспериментальных исследований и клинических испытаний, от разработки концепции и дизайна исследования до проведения испытаний, анализа и интерпретации результатов.

Методы микроскопии развивались, чтобы должным образом решать задачи биомедицинских наук, тем самым превращая гистологию из чисто фундаментальной дисциплины, которая играла вспомогательную роль в традиционных «основных» науках, таких как анатомия, в современную экспериментальную науку, способную управлять прогрессом знаний в биологии и медицине [3]. Гистопатология – это исследование заболеваний на тканевом и клеточном уровнях. Несмотря на давнюю практику, гистопатология в современную научную эпоху сохранила за собой один из существенных разделов изучения болезней в медицине. В течение нынешнего молекулярного века в эту практику были внесены некоторые улучшения. Ранней модификацией гистопатологии является введение иммуногистохимии, которая играет невероятную роль в диагностике опухолей. Новые разработки, в том числе цифровая патология, мультиплексная иммуногистохимия, иммунофлуоресценция, и создание искусственных нейронных сетей, подчеркивают новые технологии и почти

изменили прежние обычные методы диагностики. Приобретенная сегодня техника делает возможными компьютеризированную гистоморфометрическую диагностику и прогноз, и теперь результаты более достоверны и воспроизводимы. Наука считается крупной, когда гипотезы проверяются экспериментальным путем, т.е. объективными определениями изменений, вызываемых в изучаемом предмете применяемыми раздражителями. В идеале стимулы и изменения должны иметь количественную корреляцию, другими словами, каждый стимул должен вызывать положительное или отрицательное изменение, пропорциональное его интенсивности. Развитие количественной микроскопии, наконец, превратило гистологию в основную науку, предоставив возможность количественной оценки морфологических изменений, вызванных стимулом у наблюдаемого субъекта [4-6].

Телемедицина, внедряющаяся в клиническую практику, помогает научному сообществу, позволяя обмениваться гистологическими фотографиями и получать сторонние мнения о полученных результатах. Эта практика облегчит изучение всего предметного стекла и позволит оперативно распространять изображения для ранней диагностики и детального изучения процесса заболевания.

Ошибки и проблемы морфологии. Большая часть существующих проблем, которые необходимо решать лабораториям, связана с отсутствием важных качественных химикатов, реагентов и инструментов, а именно: недоступность микротомов для тонких срезов и электронных микроскопов для исследования тканей и т.д., а также отсутствие различных очень распространенных тестов, включая иммуногистохимию. Различные учебные и научно-исследовательские институты не имеют такого оборудования и сосредоточены только на гематоксилине и эозине. Другой проблемой является отсутствие квалифицированных кадров, прежде всего лаборантского состава [8]. Концепция окрашивания ткани заключается в четкой визуализации ее микроструктуры, для получения которой необходимо четкое соблюдение всех этапов пробоподготовки и стандартизация методов. Эта практика требует много времени, однако в современную эпоху в такой протокол были внесены некоторые улучшения [9]. Новые разработки в современных новых технологиях улучшили более ранние традиционные процедуры диагностики заболеваний, что сделало возможным быстрое применение такой практики. Ручной протокол заменяется автоматизированными машинами. Необхо-

димо наличие современного оборудования, а также квалифицированных специалистов, которые могут получить образцы, обработать их, окрасить и определить повреждения. В настоящее время большинство недостатков устраняется, и предполагается, что неизбежный архетип гистопатологии в ближайшем будущем станет цифровым [10]. Таким образом, гистопатологи будут подтверждать диагноз с помощью анализа виртуальных изображений на компьютерах вместо обычной морфометрии, а оцифрованная ткань может быть классифицирована по различным гистологическим грациям для количественного анализа, что обеспечивает быстрые и улучшенные перспективы для диагностики и постановки заключения.

Связь лаборатории морфологии с другими лабораториями. Основное изменение и обновление гистопатологии связано с использованием иммуногистохимических методов. Это метод определения маркеров клеток после классической гистологической проводки. В настоящее время произошли революции в молекулярной биологии и в технологии определения генов, облегчая исследователям поиск новых и быстрых маркеров для диагностики патологических состояний. Таким образом, молекулярный диагноз патологических поражений можно было бы получить до подготовки парафинированных срезов. Микроматричный анализ ДНК и протеомика объясняют, как комплексная экспрессия генов приводит к тканевой неоплазии и помогает в диагностике. Эти тесты проводятся в сочетании с предшествующей гистопатологией для получения более достоверных результатов. Продуктивный переход от визуального морфологического объяснения к малопонятной молекулярной науке может быть отсроченным, но в конечном счете произойдет, когда молекулярные методы будут применяться к поражениям до их парафинизации, а эксперты-гистопатологи заранее узнают, что изучать в срезах.

Помимо диагностики аутопсийного и биопсийного материала, большинство патологий изучают и моделируют в лабораториях с помощью культуральных методов. Клеточные линии используют в качестве экспериментальных моделей для изучения закономерностей опухолевого роста, межклеточных взаимодействий, морфологических и других особенностей клеток различных опухолей, влияния препаратов химического и биологического происхождения на опухолевые и нормальные клетки. Эти исследования осуществляют с применением современных методов культивирования, клонирования клеток и их трансдукции разными генами, а также иммунологических, вирусологических, биохимических, морфологических и цитогенетических методов. Благодаря наличию этих клеточных моделей осуществляется создание и тестирование активности новых противоопухолевых средств, антиангиогенных, иммуномодулирующих и противовирусных препаратов. Таким образом, имея в структуре НИИ лабораторию генетики и возможность работы с клеточными культурами, ученые-морфологи реализуют многоуровневый подход в своих исследованиях – от молекулярного до тканевого (рис. 1).

Морфологическая лаборатория в КГМУ. Морфологическая лаборатория располагается на базе научно-исследовательского института экспериментальной медицины, который является структурным подразделением КГМУ. Научными задачами лаборатории являются выполнение морфологических исследований для научных подразделений КГМУ и сторонних организаций, обеспечение морфологического сопровождения исследований, выполняемых докторантами, аспирантами и студентами КГМУ, выполнение морфологических и гистологических исследований при проведении доклинических исследований лекарственных препаратов [11].

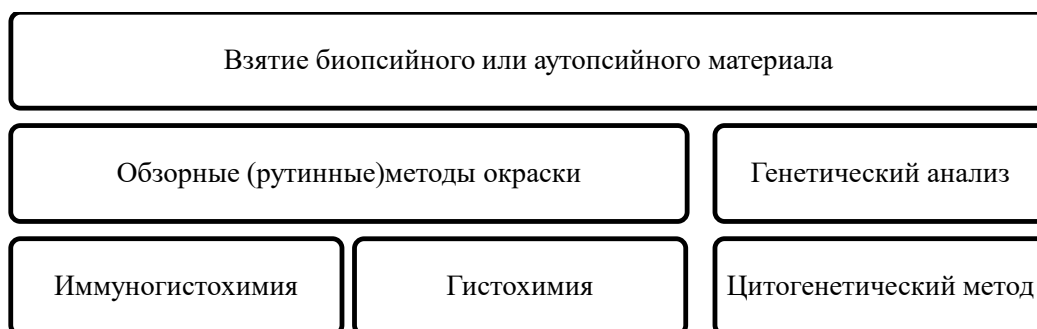


Рис. 1. Схема проведения современных морфологических исследований

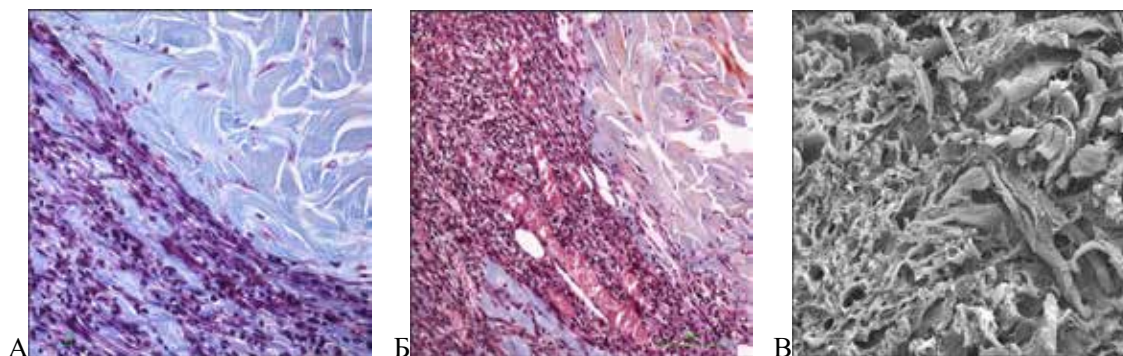


Рис. 2. Микрофотографии примеров различных метод исследования для изучения волокнистого компонента соединительной ткани.
 А – световая микроскопия. Окр. по методу Маллори. Ув. x200.
 Б – световая микроскопия. Окр. по Ван Гизону. Ув. x200.
 В – сканирующая электронная микроскопия. Ув. x1000

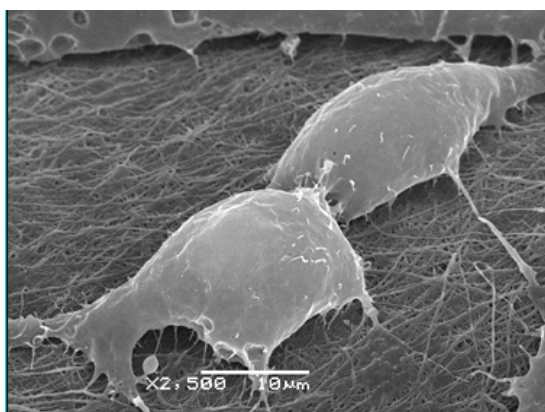


Рис. 3. Микрофотография фибробласта на коллагеновой матрице.
 Сканирующая электронная микроскопия.
 Ув. x2500

Лаборатория оснащена современным оборудованием, позволяющим производить изготовление различных срезов и световую и люминесцентную микроскопию с использованием различных видов окраски: гематоксилином и эозином, по Ван Гизону, окраска эластических волокон орсеином, красителем «Фенаф», окраска альциановым синим+ШИК-реакция, по Романовскому-Гимзе, толуидиновым синим с гистохимическими контролями, окраска основным коричневым, галлоцианином по Эйнарсону, реакция Фельгена, реакция Перлса, окраска по Шиката, реакция Шморля, диазореакция с диазолом розовым, импрегнация по Гримелиусу, импрегнация для выявления нервных элементов органов, импрегнация по Лили, Паскуалю, окраска азур-эозином, судаковыми красителями, окраска по Рего, импрегнация для выявления белков ядрыш-

ковых организаторов, реакция на щелочную фосфатазу, реакция на кислую фосфатазу, реакция на АТФ-азу, реакция на сукцинат-дегидрогеназу, люминесцентная микроскопия (рис. 2).

В 2022 г. в состав лаборатории вошел кластер «Клеточные технологии и тканевая инженерия». Основными направлениями работы являются технологии культивирования (получения, хранения) клеточных линий, создание банков клеток (хранение, идентификация, управляемость), клеточная трансплантология, тканевая инженерия, регенеративная медицина (рис. 3).

Совместно с другими лабораториями, входящими в структуру НИИ ЭМ, перед морфологами КГМУ стоят следующие задачи.

1. Создание тканеинженерных конструкций на основе биodeградируемых матриц или полимерных конструкций для заместительной и регенеративной медицины.

2. Создание кожных эквивалентов для лечения обширных ран, ожогов, трофических язв; предотвращается образование грубых рубцов.

3. Оценка возможности применения культур тканеспецифичных колоний клеток, а также мезенхимальных поливалентных клеток в травматологии и ортопедии для усовершенствования методик замещения дефектов хрящевой ткани крупных суставов, улучшения процессов репарации в зоне переломов трубчатых костей.

4. Изучение канцерогенеза, механизмов развития резистентности к проводимой терапии, тестирование новых соединений для таргетной терапии.

Успехи в методах морфологических исследований позволили расширить наши представления о морфофункциональных

отношениях, близких к молекулярному уровню организации тканей, а также получить достоверные данные не только из фиксированных и, следовательно, статичных биологических образцов, но и живых клеток и тканей. Морфологические методы развивались под влиянием возникающих экспериментальных потребностей, тем самым превращая гистологию из чисто качественной дисциплины, играющей вспомогательную роль, в традиционные «благородные» или «крупные» науки, такие как анатомия, в современную экспериментальную науку, способную стимулировать научный прогресс в биологии и медицине. Это увлекательное преобразование сделало гистологические методы и знания незаменимыми не только для ответов на классические биомедицинские вопросы, но и для разработки новых терапевтических и хирургических стратегий в прикладной медицине.

Список литературы

1. Mazzarini M., Falchi M., Bani D. et al. Evolution and new frontiers of histology in bio-medical research. *Microsc Res Tech.* 2021. Vol. 84. No. 2. P. 217-237. DOI: 10.1002/JEMT.23579.
2. Chapman J.A., Lee L.M.J., Swailes N.T. From scope to screen: The evolution of histology education. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2020 No. 1260. P.75-107. DOI: 10.1007/978-3-030-47483-6_5.
3. Мнихович М.В., Соколов Д.А., Загребин В.Л. От анатомии и гистологии к клинической патологии // *Журнал анатомии и гистопатологии.* 2017. № 5. С. 29-30.
4. Мещерина Н.С., Михайленко Т.С., Хардинова Е.М., Сараев И.А., Леонтьева Т.С. Кардиоваскулярная токсичность, индуцированная химиотерапией и таргетными препаратами: механизмы развития, подходы к диагностике и профилактике // *Человек и его здоровье.* 2021 Т. 24. №4. С. 24-33. DOI: 10.21626/VESTNIK/2021-4/04.
5. Higgins C. Applications and challenges of digital pathology and whole slide imaging. *Biotech Histochem.* 2015. Vol. 90. No. 5 P. 341-347. DOI: 10.3109/10520295.2015.1044566.
6. Jessup J., Krueger R., Warchol S. et al. Scope2Screen: focus+context techniques for pathology tumor assessment in multivariate image data. *IEEE trans vis comput graph.* 2022. Vol. 28. No. 1. P. 259-269. DOI: 10.1109/TVCG.2021.3114786.
7. Weinstein R.S., Descour M.R., Liang C. et al. An array microscope for ultrarapid virtual slide processing and telepathology. Design, fabrication, and validation study. *Hum Pathol.* 2004. Vol. 35. No. 11. P. 1303-1314. DOI: 10.1016/J.HUMPATH.2004.09.002.
8. Hussein I.H., Raad M., Safa R. et al. Once upon a microscopic slide: The story of histology. *J Cytol Histol.* 2015. No. 6. P. 377. DOI:10.4172/2157-7099.1000377
9. Омеляненко Н.П., Ширшин Е.А., Родионов С.А., Мишина Е.С. Микроструктура живых тканей // *Морфология.* 2018. Т. 153. № 3. С. 209-209а.
10. Мнихович М.В., Безуглова Т.В. О создании коллекций патогистологического материала – биобанков // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины.* 2020. Т. 10. № 3. С. 105.
11. Лазаренко В.А., Ткаченко П.В., Липатов В.А., Наимзада М.Д.З. Управление научной лабораторией: лучшие практики и вызовы времени // *Аккредитация в образовании.* 2019. № 4 (112). С. 26-28.