

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-314

НОВЫЕ МЕТОДЫ ДЛЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ***NEW METHODS FOR MORPHOLOGICAL DIAGNOSTICS**В. В. Гусельникова, О. В. Кирик, И. А. Никитина, В. А. Разенкова,
Е. А. Федорова, В. С. Павлова, Д. Э. Коржевский*Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург*

V. V. Guselnikova, O. V. Kirik, I. A. Nikitina, V. A. Razenkova, E. A. Fedorova, V. S. Pavlova, D. E. Korzhevskii

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg

✉ Guselnikova.Valeriia@yandex.ru

Аннотация

Работа посвящена разработке новых и совершенствованию существующих методов и подходов для морфологических медико-биологических исследований. Применение предложенных разработок может способствовать выяснению механизмов патогенеза и повышению точности диагностики ряда социально значимых заболеваний, таких как амилоидная кардиомиопатия, болезнь Альцгеймера, инфаркт миокарда, фиброз печени.

Abstract

The work is devoted to the development and improvement of methods and approaches for morphological biomedical research. The use of this methods can help clarify the pathogenetic mechanisms and improve diagnostic accuracy of socially significant diseases, such as amyloid cardiomyopathy, Alzheimer's disease, myocardial infarction, and liver fibrosis.

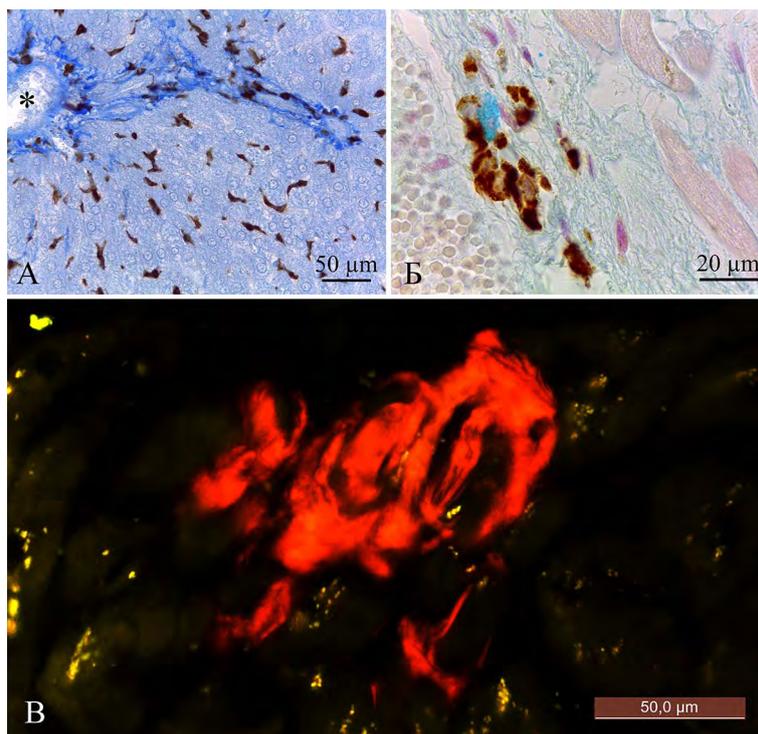
Среди современных научно-исследовательских и клинико-диагностических методов морфологические методы по праву занимают одно из ключевых мест благодаря своей высокой информативности и диагностическому значению. В Отделе общей и частной морфологии ФГБНУ «ИЭМ» нами ведется работа по разработке новых и совершенствованию существующих методов и подходов для морфологических медико-биологических исследований.

Нами был разработан **новый комбинированный метод выявления клеток Купфера и коллагеновых волокон соединительной ткани** на гистологических срезах печени (заявка на патент № 2024118992 от 16.07.2024). Клетки Купфера являются резидентными макрофагами печени и выполняют защитную функцию, фагоцитируя чужеродные частицы, молекулы эндотоксинов, поврежденные эритроциты и апоптотические гепатоциты. Доказанная способность клеток Купфера влиять на состояние коллагеновых волокон соединительной ткани, а также ключевая роль этих двух компонентов печени в развитии фиброза делает высоко актуальным их совместный анализ. Разработанный нами комбинированный метод основан на использовании иммуногистохимической реакции на кальций-связывающий белок Iba1 для идентификации клеток Купфера и последующей гистохимической окраски препаратов раствором красителя анилинового синего для выявления коллагеновых волокон соединительной ткани. При проведении световой микроскопии иммунопозитивные клетки, локализованные в синусоидах печени, являются клетками Купфера (см. рисунок, А, коричневый цвет); коллагеновые волокна соединительной ткани окрашены в насыщенный синий цвет (см. рисунок, А, синий цвет).

С целью визуализации и оценки структурно-функционального состояния тучных клеток и макрофагов сердца в норме и при развитии сердечно-сосудистой патологии нами был разработан **новый метод одновременного выявления макрофагов и тучных клеток в миокарде** (заявка на патент № 2022121803/14 от 09.08.2022). Тучные клетки и макрофаги являются важными регуляторами тканевого гомеостаза, а также ключевыми участниками воспалительных реакций, вносящими существенный вклад в патогенез сердечно-сосудистых заболеваний. Предложенный нами метод основан на использовании иммуногистохимической реакции на специфический маркер макрофагов CD68 и последующей гистохимической окраске препаратов раствором красителя альцианового синего для визуализации тучных клеток. При проведении световой микроскопии препаратов клетки, окрашенные в коричневый цвет, являются макрофагами, тучные клетки и их гранулы окрашиваются в насыщенный бирюзовый цвет (см. рисунок, Б).

* Исследование выполнено за счет средств государственного задания ФГБНУ «ИЭМ» № 075-03-2024-598.

© В. В. Гусельникова, О. В. Кирик, И. А. Никитина, В. А. Разенкова, Е. А. Федорова, В. С. Павлова, Д. Э. Коржевский, 2024



Результаты применения разработанных методов и подходов
в лабораторной практике

Для улучшения качества морфологической диагностики амилоидозов нами была предложена **новая технология выявления амилоида в тканях**, основанная на использовании нового флуоресцентного зонда ДСНАФ (динатриевая соль 2,7-(1-амино-4-сульфо-2-нафтилазо)флуорена) (патент на изобретение № 2673815 от 30.11.2017). Амилоидозы представляют собой гетерогенную группу заболеваний, связанных с отложением в тканях неправильно сложенных белков — амилоидов. Наиболее надежным способом диагностики амилоидозов в настоящее время считается биопсия с последующим гистологическим исследованием образцов тканей с использованием красителя Конго красного. Синтезированный на основе флуорена аналог Конго красного — ДСНАФ — по специфичности и интенсивности окрашивания амилоида сопоставим с Конго красным, а по интенсивности флуоресценции при связывании с амилоидными фибриллами значительно его превосходит (рис. В, красная флуоресценция). Это особенно важно для идентификации малых скоплений амилоида в тканях человека, что актуально при исследовании биопсийного материала.

Все представленные методы и подходы отличаются высокой селективностью, относительной простотой реализации, экономичностью и доступностью. Они могут быть использованы для исследования как только подготовленного, так и архивного материала, хранящегося в парафиновых блоках. Методы эффективны при работе с тканями лабораторных животных и человека. Использование предложенных разработок в практике научно-исследовательских, патоморфологических и клинико-диагностических лабораторий может способствовать выяснению механизмов патогенеза и повышению точности диагностики ряда социально значимых заболеваний, таких как амилоидная кардиомиопатия, болезнь Альцгеймера, инфаркт миокарда, фиброз печени. Это обуславливает важность представленных разработок для медико-биологической отрасли.