

ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА ИММУНОГИСТОХИМИИ В БИМЕДИЦИНЕ

С 1 по 2 ноября в Воронеже состоялась II международная конференция «Постгеномные технологии в медицине: от теории к практике», организатором которой выступило Агентство по инновациям и развитию Воронежской области. Соорганизаторами стали ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, ВГУ и НИИ постгеномных технологий. Первый день конференции был посвящен вопросам молекулярной генетики и проходил в Воронежском государственном университете. Второй день конференции состоялся в старейшем медицинском вузе Черноземья - Воронежском государственном медицинском университете имени Н.Н.Бурденко. Alma mater многих тысяч практикующих врачей и известных ученых стала инициатором и организатором научной секции под названием «Теория и практика иммуногистохимии в биомедицине». В представленных докладах исследования проводились с помощью иммуноморфологических методов, соединяющих воедино структуру и функцию и позволяющих на молекулярном уровне интерпретировать получаемые данные.

Мгновения открытия

На открытии второго дня конференции ректор ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, профессор Игорь Есауленко подчеркнул ее актуальность в настоящее время как для развития фундаментальной науки, так и медицинской практики. Он отметил, насколько важное значение в деятельности ВГМУ им. Н.Н. Бурденко отводится научной сфере. Объявление 2016-2017 уч.г. годом науки в Воронежском государственном медицинском университете имени Н.Н.Бурденко сочетается с обновлением парка научных приборов, открытием лаборатории молекулярной морфологии и иммуногистохимии, лаборатории постгеномных технологий, научными стажировками сотрудников вуза в организации с передовым опытом применения молекулярных методов исследования. Но самое главное, отметил Игорь Эдуардович, конференция позволяет ученым обмениваться идеями, что дает возможность с новых точек зрения оценивать морфогенетические процессы, патогенез болезней, адаптивные возможности живых систем.

Проректор по науке Воронежского государственного университета, профессор Василий Попов в своем приветственном слове отметил особенности молекулярной генетики в процессе развития персонифицированной медицины и отметил пользу сотрудничества ученых различного профиля в постгеномных исследованиях.

Проректор по науке и инновационной деятельности ВГМУ им.Н.Н.Бурденко, профессор Андрей Будневский обратил внимание, что в плоскости практики здравоохранения довольно часто возникают сложности в сопоставлении современных данных, получаемых учеными на передовых рубежах. Это связано, с одной стороны, с чрезвычайной специализацией технологий, требующих участия в исследовательском процессе узких специалистов, имеющих соответствующее образование и прошедших специальную подготовку. С другой стороны, «сложности перевода» также связаны и с недостаточным количеством конференций такого плана, где специалисты, работающие в области молекулярной биологии, могли бы обсуждать с представителями практического здравоохранения актуальные проблемы здоровья человека со стороны различных механизмов и патомолекулярных трендов.

Вначале – молекулярная генетика

Перед иммуноморфологической секцией были заслушаны доклады по молекулярной генетике. О наследственных опухолевых синдромах выступил д.м.н., профессор Евгений Имянитов, руководитель лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, заведующий кафедрой медицинской генетики Санкт-Петербургской Педиатрической академии, профессор кафедры онкологии, д.м.н. (Санкт-Петербург, РФ). Александр Маслов - выпускник ВГМУ им.Н.Н.Бурденко, работавший на кафедре биологии alma mater, а ныне являющийся профессором медицинского колледжа Альберта Эйнштейна (Нью-Йорк, США), выступил с докладом «Обнаружение соматических мутаций в нормальных клетках с помощью секвенирования нового поколения: применение в исследовании старения».

Иммуногистохимия: теоретические и практические аспекты

В работе секции приняли участие и направили свои доклады ведущие специалисты по молекулярной диагностике социально-значимых заболеваний с использованием технологии иммунной гистохимии. Модераторами секции выступили Вера Делекторская (д.б.н., зав. лабораторией гистохимии и электронной микроскопии Российского онкологического научного центра имени Н.Н.Блохина), Иван Мошуров (д.м.н., главный врач Воронежского областного клинического онкологического диспансера) и Андрей Будневский (д.м.н., проректор по НИД ВГМУ им.Н.Н.Бурденко).

Поскольку работа секции проходила в актовом зале, порадовало не только качество представленных докладов, но и многочисленная аудитория как в начале конференции, так и при ее завершении. При этом следует обратить внимание, что мест в актовом зале более 200! Действительно, участникам секции было чему удивиться, поучиться и даже вдохновиться на будущие научные изыскания. И вот почему.

Историческое вступление

Нет настоящего и будущего в науке без прошлого – великих мыслителей, ученых, опередивших свое время на много лет. Именно этой мыслью задала тон секции доцент кафедры гистологии, к.м.н. Виктория Шишкина, которая совместно с д.м.н. Наталией Алексеевой, зав.кафедрой нормальной анатомии человека представила доклад о вкладе нобелевского лауреата Пауля Эрлиха в становление и развитие гистологии, гистохимии и иммуногистохимии. Неизвестные факты о жизни, терниях и достижениях великого ученого никого не оставили равнодушным, открыв неизвестные страницы его биографии, научного гения и мужества преодоления. А главное, стало ясно то огромное наследие, которое оставил потомкам Пауль Эрлих. До сих пор его методы используются в гистологии, патоморфологии и иммуногистохимии. Идея Пауля Эрлиха о «волшебной пуле» только сегодня приобретает реальные перспективы благодаря развитию иммунотерапии онкологических заболеваний.

Иммуноморфология в онкологии

Начальник Воронежского областного патологоанатомического бюро Ирина Шапошникова показала важную роль иммуногистохимии (ИГХ) в патологоанатомической практике как дополнительного метода исследования, ее уникальные возможности, сложности ИГХ-диагностики и указала на будущие перспективы иммуноморфологии как в диагностике, так и таргетной терапии онкологических болезней.

Передовым опытом молекулярной диагностики онкозаболеваний в морфологических исследованиях поделились представители ФГБУ «Российский онкологический центр имени Н.Н.Блохина» Минздрава России. Заведующая лабораторией гистохимии и электронной микроскопии РОНЦ им.Н.Н.Блохина, д.м.н., профессор Вера Делекторская сообщила о значении ИГХ-исследования в диагностике нейроэндокринных опухолей. Она представила богатый собственный опыт исследования диффузной нейроэндокринной системы. Благодаря использованию современных методов исследования, в том числе иммуногистохимии, многие пептиды и биогенные амины, продуцируемые апудоцитами желудочно-кишечного тракта, легких, печени, почек, мочеполовой системы и др., где они функционируют как гормоны, обнаруживаются и в различных отделах нервной системы – головном и спинном мозге, нервных окончаниях, нервных ганглиях, играя роль нейрогормонов или нейротрансмиттеров. Важно, что для дифференциальной диагностики эндокринных опухолей и новообразований другого генеза иммунная гистохимия играет решающую роль, используя моноклональные антитела к хромогранину А, синаптофизину, CD56, неспецифической эналазе, антитела против отдельных гормонов. В то же время, только электронная микроскопия позволяет выявить эндокринные единичные гранулы, находящиеся ниже порога чувствительности иммуногистохимических подходов. Прекрасные фотографии, уникальные научные сведения и ясность изложения сделали доклад Веры Владимировны доступным и понятным каждому в аудитории, что особое значение имело для практических онкологов и онкоморфологов.

Со вторым докладом от Российского онкологического центра имени Н.Н.Блохина выступила аспирант Светлана Бежанова, которая поделилась опытом работы отдела патологической анатомии опухолей человека в диагностике и дальнейшей терапии онкологических болезней почек. Аудитории была предоставлена современная гистологическая классификация почечноклеточных опухолей, в соответствии с Международной гистологической классификацией почечноклеточных опухолей, сформированная рабочими группами патологов США (штат Миннесота, 1997), Германии (1997) и Франции (Лион, 2002). Цитогенетические и молекулярно-генетические исследования послужили важным составляющим в коррекции некоторых моментов классификации. Прозвучали сведения о факторах прогноза при почечно-клеточном раке и предраковых изменениях в почке.

Интересные доклады были сделаны представителями научной школой профессора Георгия Франка - российского патологоанатома и онколога, члена президиума Российского общества патологоанатомов, правлений Московского общества патологоанатомов и Российского общества онкоурологов, чл.корр. РАН, заслуженного деятеля науки РФ. В первом сообщении к.б.н. Мария Илатовская представила обобщающие сведения по применению ИГХ в диагностике и лечении рака молочной железы. Прежде всего, она затронула вопросы иммуногистохимического анализа маркеров биологических свойств рака молочной железы, значимости экспрессии онкобелка C-ERBB-2 / HER2/NEU, выявлению молекулярно-биологических типов рака молочной железы. Особое место было отведено ИГХ-методам в диагностике метастазов рака молочной железы при невыявленном первичном очаге. Второй доклад, проходивший под курацией д.б.н. Ларисы Завалишиной, профессора кафедры патологической анатомии РМАПО,

ведущего специалиста Центральной референсной лаборатории по HER2-тестированию рака молочной железы и желудка, был посвящен гибридизации *in situ* в диагностике и терапии рака молочной железы с выявлением *in situ* специфических нуклеотидных последовательностей («мишеней») в клетках органа. Обсуждались вопросы высокой специфичности гибридизации *in situ*, более высокая стабильность гибрида зонд-мишень по сравнению с комплексом антитело-антиген, более простой способ получения зондов для данной реакции и уникальных возможностей проведения диагностики на молекулярно-генетическом уровне с обнаружением генетических нарушений в опухолевых клетках. Интересные данные были представлены по сравнению двух методов гибридизации *in situ*: хромогенного и флюоресцентного, отмечены преимущества и недостатки каждого из них по сравнению друг с другом.

Главный врач ГУЗ «Липецкий областной онкологический диспансер» Сергей Шинкарев на клиническом примере показал возможности использования иммуногистохимии в диагностике и выборе тактики лечения рака молочной железы.

Следует отметить, что германские ученые направили свои доклады на секцию, содержащую достижения в области иммуногистохимической практике молекулярной диагностики и терапии в гематологии и патологии молочной железы.

Фундаментальная наука приглашает

Результаты использования иммуногистохимии в фундаментальных биомедицинских исследованиях были представлены сотрудниками ВГМУ им.Н.Н.Бурденко, выполненных на базе научно-исследовательского института экспериментальной биологии и медицины. В частности, о результатах проведенных работ благодаря соглашению о сотрудничестве ВГМУ им.Н.Н.Бурденко и Института гематопатологии Гамбурга (Германия) доложил д.м.н. Дмитрий Атякшин, директор НИИ экспериментальной биологии и медицины, руководитель лаборатории молекулярной морфологии и иммуногистохимии. Проведенное исследование тучных клеток с использованием методов множественного иммуномаркирования и ряда других гистохимических методик позволило обнаружить новые факты в их биологии. Выявленные сведения о профиле тучноклеточной популяции в различных органах человека и животных создали базу для использования определенных популяционных характеристик в развитии адаптивных и патологических процессов, в частности, онкогенеза, ангиогенеза, регуляции состояния внеклеточного матрикса соединительной ткани, в том числе, волокнистого компонента и деятельности других клеток.

Интересный доклад сделал ассистент кафедры общей хирургии Владимир Самойлов по оценке влияния на регенеративные процессы линии степлерного шва желудочной стенки клеевых и неклеевых способов протекции при моделировании рукавной резекции желудка в эксперименте на животных, в котором также использовались иммуноморфологические подходы для оценки восстановления тканей желудка в течение эксперимента.

Научно-практический семинар «Современные методы визуализации и анализа в морфологических исследованиях»

В рамках образовательного семинара состоялись интересные дискуссии, посвященные современным методам изучения и исследования объектов в морфологических исследованиях. Были затронуты вопросы не только

автоматизации ИГХ-окрашивания, но и современное состояние и тенденции лазерной сканирующей микроскопии, преимущества лазерной бесконтактной системы микродиссекции, катапультирования и манипуляции, технология цифровой ПЦР и ее применение для абсолютного количественного анализа. Слушателям открылись не только передовые рубежи в визуальной оценке изучаемых структур на молекулярном, субклеточном, клеточном и тканевом уровнях, но и важные преимущества сочетания морфологического анализа с постгеномными технологиями в частности, полимеразной цепной реакцией.

Большому кораблю – большое плавание!

Состоявшая секция «Теория и практика иммуногистохимии в биомедицине» представляет собой новое направление в фундаментальной науке Воронежского государственного медицинского университета имени Н.Н.Бурденко. Она внесла свою лепту в профессиональное образование как обучающихся медицинских вузов, так и научных сотрудников морфологических лабораторий. Очень важно, что конференция «Постгеномные технологии в медицине – от теории к практике» стала плодотворной площадкой для синтеза полезных взаимосвязей между учеными, владеющими новыми аналитическими и информационными методами в биомедицине и врачами, выполняющими рутинную и исследовательскую работу в клиниках, а также организаторами здравоохранения. Заведующая лабораторией гистохимии и электронной микроскопии РОНЦ им.Н.Н.Блохина, профессор Вера Делкторская подвела итоги работы секции: *« ... конференция прошла на высоком уровне. Приятно было услышать доклады коллег, хорошо подготовленных и убедительно иллюстрированных, содержащих новые данные, результаты большой проведенной работы крупных научных групп. Я считаю, что проведенная сегодня секция является началом доброй традиции, объединяющей вместе ученых различного профиля и научных компетенций в деле служения здоровью человека».*

Большому кораблю - большое плавание!

Краткая справка

Идентифицируя антигены на клеточной мембране, в цитоплазме и на ядерной мембране, методы иммуногистохимии определяют молекулярный профиль опухоли или клетки любого органа, который необходим для использования таргетной терапии.

В настоящее время определено множество верифицированных предиктивных маркеров, позволяющих объективно оценить активность как доброкачественных, так и злокачественных процессов. Появляется возможность говорить о вероятности возникновения опухоли на фоне скрытых, латентных или явно существующих доброкачественных состояний.

Помимо диагностического и практического значения иммуногистохимии в биомедицине имеются широкий спектр ее прикладных возможностей, позволяющих проводить фундаментальные исследования. Среди них – исследование клеточных белков и их роли в онкогенезе, изучение рецепторных белков в неизмененных и опухолевых клетках, биомаркеров клеточного цикла, факторов апоптоза и пролиферации и многих других фундаментальных аспектов биомедицины (молекулярные механизмы клеточной адгезии, ангиогенеза, функционирования внеклеточного матрикса соединительной ткани в норме и при

опухолевой прогрессии, молекулярные механизмы регуляторной роли тучных клеток и др.).

Особыми преимуществами обладает техника множественного иммуномаркирования, позволяющего в одной клетке или срезе ткани идентифицировать одновременно несколько антигенов, что существенно увеличивает информативность исследования молекулярного профиля изучаемых структур.

Соглашение о сотрудничестве Воронежского государственного медицинского университета имени Н.Н.Бурденко и Института гематопатологии Гамбурга (Германия) открывает новые возможности в использовании наиболее перспективного опыта европейских специалистов в молекулярной диагностике патологических процессов, адаптивных механизмов и проведении фундаментальных исследований в биомедицине.