

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5146827/> (Дата обращения: 5.03.2020)

4. Liu, Xuefeng et al. ROCK Inhibitor and Feeder Cells Induce the Conditional Reprogramming of Epithelial Cells /The American Journal of Pathology//. – 2012. – V. 180(2) – P. 599 – 607

УДК 616-006.699

**Нуркиев А.Р., Шамшурина Е.О.  
СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА  
КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ДВУХ СЛУЧАЕВ КАРЦИНОМ  
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии  
Уральский государственный медицинский университет  
Екатеринбург, Российская федерация

**Nurkiev A.R., Shamshurina E.O.  
COMPARATIVE MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF CULTURED  
CELLS IN TWO CASES OF BREAST CARCINOMAS**

Department of histology, cytology and embryology  
Ural state medical University  
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: nurkievalex@mail.ru

**Аннотация.** В статье рассмотрены закономерности изменения морфологических характеристик клеток двух образцов карцином молочных желёз на протяжении нескольких пассажей культивирования.

**Annotation.** The article considers the regularities of changes in the morphological characteristics of cells of two samples of breast carcinomas during several stages of cultivation.

**Ключевые слова:** карцинома молочной железы, культивирование, морфология клеток.

**Key words:** carcinoma of the breast, cultivation, morphology of cells.

**Введение**

Рак молочной железы (РМЖ) – наиболее частое злокачественное заболевание у женщин, характеризующееся значительной внутриопухолевой морфологической гетерогенностью, которая влияет как на изменение преобладающей формы клеток в каждом пассаже [3,5,6], так и ряд биологических процессов, таких, как пролиферация, миграция, гибель опухолевых клеток, а так же на чувствительность опухоли к химиотерапии [2,4].

Для изучения свойств опухоли широко используются различные методы исследования, основанные, в том числе, на определении экспрессии клеточных рецепторов [4]. При этом используются существующие модели иммортализованных клеточных линий, длительное культивирование которых приводит к появлению субпопуляций, изменяющих изначальные характеристики опухоли [1,2]. В связи с этим, в настоящее время требуется создание экспериментальной модели - персонифицированной первичной клеточной культуры с последующим выделением и поддержанием клеточных линий опухоли конкретной пациентки.

**Цель исследования** - сравнить морфологические особенности клеточных линий двух образцов карцином молочных желёз при культивировании опухолевых в рамках отработки методики создания персонифицированной экспериментальной культуральной модели.

#### **Материалы и методы исследования**

Образцы онкотрансформированных тканей двух пациенток интраоперационно помещались в стерильную транспортировочную среду, содержащую раствор антибиотиков-антимикотиков для доставки в лабораторию, где образцы максимально очищали от соединительной ткани и сосудов, а затем измельчали хирургическим скальпелем. Полученные фрагменты промывали буферным раствором и переносили в среду для диссоциации (4 мг/мл коллагеназы, 1 мг/мл гиалуронидазы, 0,1% трипсина, DMEM:F-12) и инкубировали при стандартных условиях 15-17 часов. После инкубации образцы центрифугировали в течение 30 секунд при 80g, надосадочную жидкость удаляли, осадки промывали буферным раствором и центрифугировали в течении 3 минут при 200g. Далее полученные осадки ресуспендировали с питательной средой Epi-Cult-B с добавлением 5% FBS и переносили для культивирования на предварительно покрытый коллагеном культуральный пластик. После 24-х часовой инкубации образцов при стандартных условиях, меняли среду на бессывороточную.[3] Рост клеточной культуры контролировали под микроскопом, смену среды осуществляли раз в 4-5 дней.

Для морфологического исследования клетки окрашивали по Паппенгейму и гематоксилином-эозином. Клетки в культурах оценивались по форме, размерам, особенностям строения цитоплазмы, способности формировать монослой. Подсчитывалось процентное соотношение различных морфологических форм клеток на 1000 клеток на стекле. Иммуногистохимические исследования проводились на автостейнере "Ventana", USA [4].

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

В результате исследований клеточного состава культуры, полученной из первого образца карциномы молочной железы выявлены 4 популяции эпителиоподобных клеток: округлые мелкие клетки с чёткими границами, интенсивнобазофильным ядром, окружённым узким ободком плотной

гомогенной цитоплазмы, расположенные в мазке диффузно; средние округлые клетки, расположенные в мазке диффузно или группами без клеточных контактов, с чёткими границами, слабобазофильным эксцентрично расположенным ядром и цитоплазмой с большим количеством мелких вакуолей в эндоцитоплазме; округлые двухъядерные клетки с чёткими границами, характеризующиеся наличием двух слабобазофильных ядер в плотной вакуолизированной цитоплазме, расположенных на стекле группами без межклеточных контактов и крупные полигональные клетки с чёткими границами, слабобазофильным ядром, плотной гомогенной эндоцитоплазмой и вакуолизированной экзоцитоплазмой, так же расположенных группами.

Анализ процентного соотношения клеток в трёх пассажах показал изменение морфологических свойств клеток (Рис. 1.) В первом пассаже (P1) наблюдались только мелкие округлые клетки, расположенные на стекле диффузно, тогда как во втором пассаже (P2) количество этих клеток снизилось до 2,8% и к третьему пассажу (P3) наблюдалось незначительное, до 8,7%, повышение доли этих клеток. Основную популяцию клеток P2(82,3% клеток) составили округлые средние клетки, расположенные на стекле группами, но без формирующихся клеточных контактов, доля которых увеличилась в P3 до 85%. В мазках P2 появились крупные клетки – полигональные (13,6%) и двухъядерные (1,4%), доля которых на третьем пассаже снизилась до 6% полигональных и 0,3% двухъядерных соответственно.

При определении биологического подтипа карциномы молочной железы результаты иммуногистохимического исследования образца показали, что экспрессия рецепторов к прогестерону и эстрогену не выявлена, уровень экспрессии рецепторов HER-2/neu составил 2+. При исследовании образца методом FISH амплификации гена не выявлено. Степень пролиферации опухолевых клеток по уровню экспрессии Ki-67 составила около 10%.

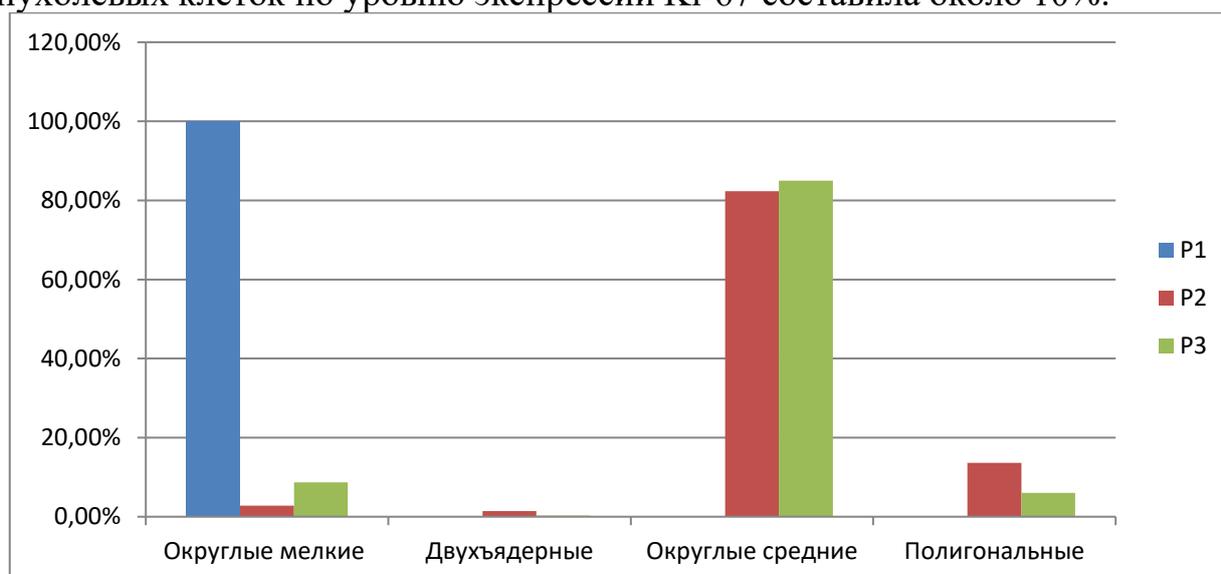
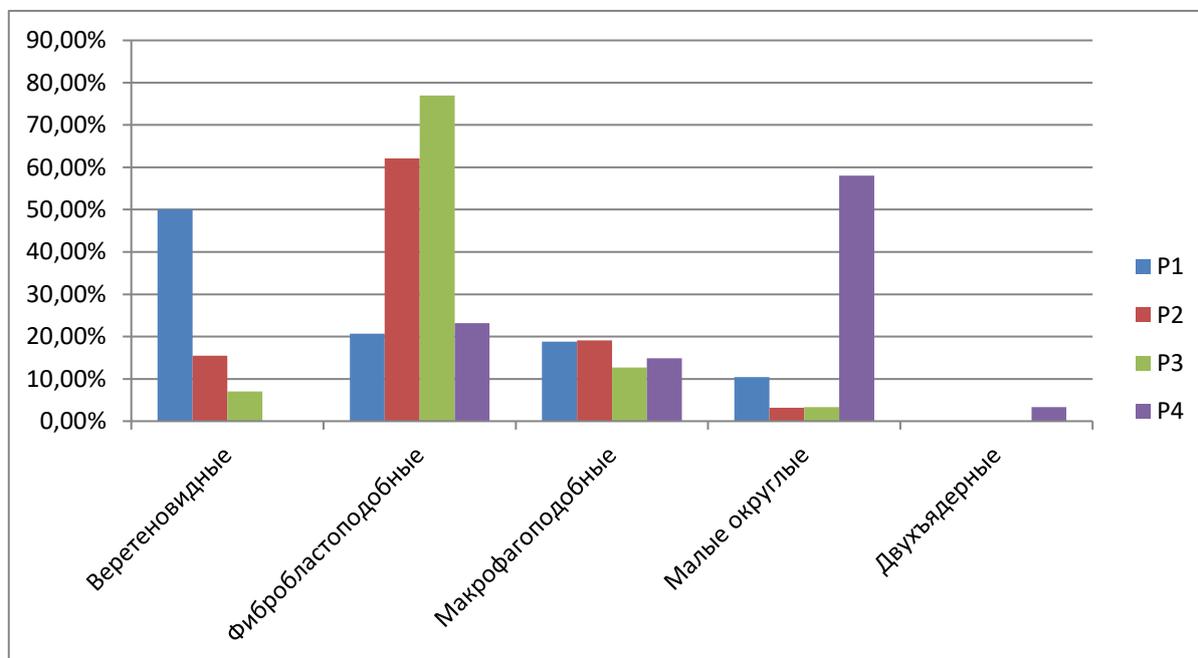


Рис. 1. Распределение клеток разных морфологических форм в культуре первого образца карциномы молочной железы

Результаты иммуногистохимического исследования второго образца карциномы молочной железы показали отсутствие экспрессии рецепторов к эстрогену (ER), прогестерону (PR) и эпидермальному фактору роста (HER-2/neu). Степень пролиферации опухолевых клеток по уровню экспрессии Ki-67 составила около 50%.

Морфологический анализ клеток в культуре выявил изменение количественного и качественного состава клеток на протяжении 4 пассажей. Так, по данным диаграммы (Рис.2), основную популяцию клеток P1 составляют мелкие веретеновидные клетки с гиперхромным ядром и небольшим количеством плотной базофильной цитоплазмы (50%), доля которых на протяжении последующих пассажей уменьшается до 15,5% (P2), затем до 7% на третьем пассаже. Во всех случаях клетки расположены на стекле как диффузно, так и группами по 2-4 клетки. При анализе культуры на четвёртом



пассаже (P4) клетки данного морфологического типа отсутствуют.

Рис. 2. Распределение клеток разных морфологических форм в культуре второго образца карциномы молочной железы

Вторая популяция клеток в P1 (20,7%) представлена крупными фибробластоподобными, с нечёткими границами и несколькими крыловидными отростками клетками, лежащими на стекле одиночно и группами по 3-6 клеток, светло-базофильная эндоцитоплазма которых имеет мелкую зернистость, а эктоцитоплазма гомогенная, слабоокрашенная. Ядра этих клеток овальные, центральнорасположенные, слабобазофильные с глыбками гетерохроматина и чётко определяемыми 1-2 ядрышками. При исследовании следующих двух пассажах выявлено резкое повышение доли этих клеток до 62,1% (P2) и 77% (P3), тогда как в P4 этот показатель вновь снижается до 23,2%, приближаясь к уровню P1.

18,8% клеток P1 составила популяция диффузно расположенных макрофагоподобных клеток с плотным округлым ядром, резкобазофильной вакуолизированной эндоцитоплазмой с мелкими гранулами и более светлой гомогенной экзоцитоплазмой без включений, имеющих множество толстых коротких отростков. Доля этих клеток в последующих пассажах изменялась незначительно – 19,1% в P2, с дальнейшим снижением показателя до 12,7% (P3) и небольшим подъёмом в P4 до 14,9%.

Одиночные круглые мелкие клетки с чёткими границами, плотным базофильным ядром и узким ободком плотной базофильной цитоплазмы, представляющие четвёртый тип популяций клеток культуры встречаются в каждом поколении выращенных клеток. В мазках P1 их доля составила 10,4%, но в P2 и P3 показатель снижается и остаётся практически равным (3,2% и 3,3% соответственно), тогда как в P4 клетки этого типа составляют основную популяцию (58,6%) клеток пассажа.

Так же в P4 появляются округлые двухъядерные клетки (3,3%).

#### **Выводы:**

1. Результаты исследования клеточного состава культуры первого образца карциномы молочной железы выявили значительные изменения морфологических свойств эпителиоподобных клеток культуры, связанных с повышением пролиферативной активности клеток, обусловленной высоким уровнем экспрессии эпидермального фактора роста (HER-2/neu), играющего ключевую роль в передаче митогенных сигналов.

2. В культуре второго образца карциномы молочной железы, основную популяцию которой составляли фибробластоподобные клетки, так же наблюдается изменение морфологических характеристик и соотношения клеточных популяций в процессе культивирования, сопровождающееся снижением тенденции клеток к формированию монослоя, что может быть связано с высокой экспрессией Ki-67, являющегося одним из основных факторов регуляции клеточной пролиферации.

#### **Список литературы:**

1. Безуглова Т.В. Особенности гетерогенности раковоассоциированных фибробластов рака молочной железы / Безуглова Т.В., Минихович М.В., Кактурский Л.В., Камаль Халави Скафи и др.// Успехи молекулярной онкологии.- 2019. - Т.6. - №4. – С. 41-42

2. Геращенко Т.С. Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность рака молочной железы как фактор, отражающий метастатический потенциал и чувствительность опухоли к химиотерапии. / Т.С. Геращенко, М.В. Завьялова, Е.В. Денисов, Д.Н. Паутова и др.// АСТА NATURAE. - 2017. – т.9. - №1 (32). – С.60-72

3. Сазонов С.В. Опыт культивирования клеток карциномы молочной железы люминального подтипа / Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Бриллиант Ю.М., Демидов С.М.//Сборник научных работ «Клеточные технологии - практическому здравоохранению». – 2018. – С.115-128

4. Сазонов С.В. Обеспечение качества молекулярно-биологических исследований при диагностике инвазивного рака молочной железы / С.В. Сазонов – Екатеринбург: Юника, 2018. – 154с.

5. Шамшурина Е.О. Морфологический анализ культуры клеток рака молочной железы / Е.О. Шамшурина, А.С. Могиленских, С.В. Сазонов// Успехи молекулярной онкологии.- 2019. - Т.6. - №4. – С. 88-89

6. Шамшурина Е.О. Опыт культивирования клеток карциномы молочной железы тройного негативного подтипа. / Е.О. Шамшурина, А.С. Могиленских, С.В. Сазонов, С.М. Демидов // Сборник научных работ «Клеточные технологии – практическому здравоохранению». - 2019г. – С.212-214

УДК 61:001.89

**Орлова Е.А., Миногина Е.В., Пономарев А.С.  
ВЛИЯНИЕ ОСАНКИ И СИММЕТРИЧНОСТИ ТАЗА ЖЕНЩИНЫ НА  
ВЫНАШИВАНИЕ ПЛОДА**

Кафедра анатомии человека  
Уральский государственный медицинский университет  
Екатеринбург, Российская Федерация

**Orlova E.A., Minogina E. V., Ponomarev A.S.  
INFLUENCE OF WOMAN'S POSITION AND SYMMETRICITY OF THE  
PELVIC WOMAN ON FRUIT CARRYING**

Department of human anatomy  
Ural state medical university  
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: yjdsqgjhjkm@yandex.ru

**Аннотация.** В статье рассмотрены анатомические особенности опорно-двигательного аппарата и таза студенток 1 курса Уральского государственного медицинского университета.

**Annotation.** The article discusses the anatomical features of the musculoskeletal system and pelvis of 1-st year students of the Ural state medical university.

**Ключевые слова:** осанка, беременность, вынашивание

**Key words:** posture, pregnancy, gestation

**Введение**

Опорно-двигательная система организма человека способна приводить тело в движение и тесно связана с функционированием отдельных органов и систем органов. Возникшие нарушения в структурно-функциональной системе могут спровоцировать расстройство работы отдельных органов и организма в