

сечения. Не уступает по частоте и имплантация плодного яйца в углу матки – было выявлено у 3 женщин (30±0,017%). А также 2 случая локализации в рудиментарном роге (20±0,014%) и 1 случай в шеечно-перешеечной области (10±0,009%).

После перенесенных внематочных беременностей был проведен дополнительный анализ статистики, где мы выявили, что у 3 женщин вновь наступила беременность (30±0,017%). Из них у 2 были срочные роды (20±0,014%). А у 1 женщины неразвивающаяся беременность (10±0,009%), закончившаяся прерыванием.

### **ОБСУЖДЕНИЕ**

Таким образом, в данном исследовании были рассмотрены случаи последующих беременностей, после перенесенных редких форм внематочных беременностей. Анализ данных показал, что количество благоприятных исходов составило 30±0,017%. У 2 из 3 женщин были срочные роды (20±0,014%). А у 1 женщины неразвивающаяся беременность (10±0,009%), закончившаяся прерыванием. Полученные нами данные согласуются с данными литературы. [1, 3]

### **ВЫВОДЫ**

1.30±0,017% женщин из нашего исследования, перенесшие различные формы внематочной беременности, имеют шанс реализовать свою репродуктивную функцию.

### **СПИСОК ИСТОЧНИКОВ**

1. Клинические рекомендации МЗ РФ “Внематочная (эктопическая) беременность” Рубрикатор КР (minzdrav.gov.ru).
2. Эктопическая беременность в рубце на матке после операции кесарева сечения: клинический случай статья Пермский медицинский журнал – 2021. – том XXXVIII № 5. – С. 153-160. Л.И. Коротовских, М.В. Коваль, А.М. Богданова и др. Эктопическая беременность в рубце на матке после операции кесарева сечения: клинический случай – тема научной статьи по клинической медицине читайте бесплатно текст научно-исследовательской работы в электронной библиотеке КиберЛенинка (cyberleninka.ru).
3. Якубова Олтиной Абдуганиевна, Назарова Сайера Мукиджоновна ЭТИОПАТОГЕНЕЗ ВНЕМАТОЧНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ // Re-health journal. 2023. №3 (19). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/etiopatogenez-vnematochnoy-beremennosti>.
4. Козаченко И.Ф., Аракелян А.С., Фархат К.Н., Адамян Л.В. Клинический случай эктопической беременности в рудиментарном роге матки (описание случая). Проблемы репродукции. 2016;22(3):129-135. <https://www.mediasphera.ru/issues/problemy-reproduktivnoy/2016/3/1102572172016031129>.
5. Федоров А.А., Сопова Ю.И., Попов А.А., Беспалова А.Г., Коваль А.А., Чечнева М.А., Лысенко С.Н., Барина И.В. Диагностика и лечение эктопической интрамуральной беременности: клинический случай. Российский вестник акушера-гинеколога. 2020;20(5):74-78.
6. Носова, К. Е. Неклассическое течение внематочной беременности / К. Е. Носова, Е. Н. Веркина. — Текст : непосредственный // Новые задачи современной медицины : материалы VI Междунар. науч. конф. (г. Казань, май 2019 г.). — Казань : Молодой ученый, 2019. — С. 17-19.
7. Фетищева Л.Е., Ушакова Г.А. Редкие формы внематочной беременности. Проблемы диагностики, лечения и восстановления фертильности. Российский вестник акушера-гинеколога. 2017;17(4):11-19.

### **Сведения об авторах**

К.Г. Алексанян\* - студент

А.М. Богданова - кандидат медицинских наук, ассистент кафедры анатомии, топографической анатомии и оперативной хирургии, врач гинекологического отделения №1 ГБУЗ СО ЦГБ № 7 г. Екатеринбург

А.В. Ураков – заведующий гинекологическим отделением №1 ГБУЗ СО ЦГБ № 7 г. Екатеринбург

### **Information about the authors**

K.G. Aleksanyan\* – student

A.M. Bogdanova - Candidate of Sciences (Medical), Department of anatomy, topographic anatomy and operative surgery, gynecological department doctor

A.V. Urakov - is the head of the gynecological department Central City Hospital №7

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

kristinaaleksanyan122@mail.ru

УДК:616-006.81

## **ПОДБОР ОПТИМАЛЬНОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ**

Белогазова Елизавета Павловна<sup>1</sup>, Мадиярова Оксана Владимировна<sup>2</sup>, Могиленских Анна Сергеевна<sup>1,2</sup>, Дерюгин Михаил Игоревич<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра гистологии

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

### Аннотация

**Введение.** Правильный выбор питательной ростовой среды определяет успех культивирования клеток, выбранных в качестве модельной системы опухоли. От ростовой среды зависит возможность клеточной культуры активно пролиферировать в искусственно созданных условиях, а также поддерживать жизнеспособность клеток долгое время. На рынке очень много разнообразных питательных сред, готовых к использованию или необходимых к дополнению различными компонентами, такими как сыворотка, гормоны, факторы роста и пр. Подбор оптимальной питательной среды для культивирования является основным фактором для поддержания клеток необходимыми элементами питания, регуляторными веществами и факторами. **Цель исследования** - подбор оптимальной питательной среды для культивирования клеток меланомы. **Материал и методы.** В эксперименте культивировали клетки меланомы на трех питательных средах на коллагеновом покрытии и без него. Через 5 дней клетки фиксировали и окрашивали флуоресцентным красителем DAPI. Проводили подсчет количества клеток с помощью программы ImageG. **Результаты.** Значимое увеличение клеток наблюдалось в среде MEM, DMEM/F-12 на коллагеновом покрытии и DMEM/F-12 без коллагенового покрытия. Наименьшее количество клеток в культуре было в среде MEM и RPMI без коллагенового покрытия и RPMI с коллагеновым покрытием. **Выводы.** Установлено, что среда MEM и DMEM/F-12 на коллагеновом покрытии и DMEM/F-12 без коллагенового покрытия является наиболее подходящей питательной средой для культивирования клеток меланомы.

**Ключевые слова:** меланома, питательная среда, RPMI, DMEM/F-12, MEM.

## SELECTION OF OPTIMUM NUTRIENT MEDIUM FOR CULTIVATION OF MELANOMA CELLS

Beloglazova Elizaveta Pavlovna<sup>1</sup>, Madiyarova Oksana Vladimirovna<sup>2</sup>, Mogilenskikh Anna Sergeevna<sup>1,2</sup>, Deryugin Mikhail Igorevich<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Department of Histology

Ural State Medical University

<sup>2</sup>Institute for Medical Cell Technologies

Yekaterinburg, Russia

### Abstract

**Introduction.** The correct choice of nutrient growth medium determines the success of culturing the cells chosen as a tumor model system. The ability of a cell culture to actively proliferate in artificially created conditions, as well as to maintain cell viability for a long time, depends on the growth medium. There are a lot of different nutrient media on the market that are ready for use or need to be supplemented with various components, such as serum, hormones, growth factors, etc. Selection of the optimal nutrient medium for cultivation is the main factor for maintaining cells with the necessary nutrients, regulatory substances and factors. **The aim of this study** selection of optimal nutrient medium for culturing melanoma cells. **Material and methods.** In the experiment, we cultured melanoma cells in three nutrient media with and without a collagen coating. After 5 days, the cells were fixed and stained with the fluorescent dye DAPI. The number of cells was counted using the ImageG program. **Results.** A significant increase in cell number was observed in MEM, DMEM/F-12 with collagen coating, and DMEM/F-12 without collagen coating. The lowest number of cells in culture was in MEM and RPMI medium without collagen coating and RPMI with collagen coating. **Conclusion.** It was found that MEM and DMEM/F-12 media on a collagen coating and DMEM/F-12 without a collagen coating are the most suitable nutrient media for culturing melanoma cells.

**Keywords:** melanoma, nutrient medium, RPMI, DMEM/F-12, MEM.

## ВВЕДЕНИЕ

Злокачественная меланома кожи характеризуется агрессивным течением заболевания, ранним метастазированием и является самой летальной формой злокачественных образований кожи. В Российской Федерации наблюдается рост заболеваемости меланомой [1]. Несмотря на улучшение показателей выживаемости пациентов, что связано с появлением и внедрением в клиническую практику препаратов новой эры [2], смертность от меланомы кожи остаётся высокой, а также у некоторых пациентов опухоль приобретает резистентность к современным препаратам таргетной терапии или терапии ингибиторами контрольных точек.

Для продолжения изучения возможностей терапии злокачественной меланомы кожи необходимы модели опухоли *in vitro*. Иммутизированные клеточные линии давно применяются для этих целей благодаря низкой стоимости, простоте эксплуатации и быстрому росту, однако они не всегда достоверно отражают гетерогенность опухоли. Решением может

стать использование полученных от пациента первичных клеточных культур, где фенотип клеток сопоставим с опухолевыми и сохранены компоненты микроокружения, благодаря чему могут быть изучены механизмы приобретения резистентности.

**Целью нашего исследования** является подбор оптимальной питательной среды для культивирования клеток меланомы с целью дальнейшего определения активности противоопухолевых препаратов.

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Хирургический образец был доставлен в стерильных условиях в лабораторию клеточных культур в течение 3-4 часов в растворе Эрла и 1% раствора антибиотиков. Опухолевую ткань промывали в растворе Эрла на чашке Петри и измельчали с помощью хирургического скальпеля. Фрагменты образца вновь промывали раствором Эрла и инкубировали в 50-ти мл пробирке, в растворе коллагеназы/гиалуронидазы с Хэнксом (1:9) в течение 17 часов на вращающемся шейкере в инкубаторе при 37 °С без CO<sub>2</sub>. После инкубации образец фильтровали с использованием сита для клеток 100 мкм. Затем суспензию клеток центрифугировали при 80g в течение 30 секунд, супернатант сливали, осадок ресуспендировали в 1 мл трипсина в течение 5 минут и растворяли в растворе Хэнкса с 10% FBS (HF). Далее супернатант центрифугировали при 200g в течение 3-х минут, надосадочную жидкость сливали и в осадок добавляли 1 мл трипсина с раствором HF. После оставшиеся осадки ресуспендировали в 1 мл диспазы и 50 мкл ДНКазы и центрифугировали при 350g в течение 5 минут. Надосадочную жидкость сливали, клеточную культуру ресуспендировали в разных питательных средах и рассаживали в 24-луночные планшеты. Для эксперимента использовали первый осадок. Полученные клетки культивировали в трех видах питательных сред, часть лунок была покрыта коллагеном 1 типа 1:45 (Таблица 1). Контроль за состоянием клеточной культуры проводили с помощью микроскопа Eclips TS100 (Nikon, Япония).

После 5 дней культивирования клетки фиксировали 2,5% глутаровым альдегидом и окрашивали флуоресцентным красителем DAPI (Thermo Fisher). Материал фотографировали с помощью флуоресцентного микроскопа Axio Lab.A1 FL (Carl Zeiss, Германия). Для подсчета количества клеток использовали программу ImageG (Wayne Rasband, NIH, США). Данные обрабатывали в программе Microsoft Excel. Для статистической обработки полученных данных применяли U-критерий Манна – Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

Таблица 1.

Схема эксперимента

RPMI К	DMEM К	MEM К	RPMI	DMEM	MEM
- RPMI, -10% эмбриональная телячья сыворотка, -0,01% гентамицин, - 1% L-глутамин.	-DMEM/F-12, -10% эмбриональ- ная телячья сыворотка, - 0,01% гентамицин, - 1% L- глутамин.	- MEM, -10% эмбриональ- ная телячья сыворотка, -0,01% гентамицин, - 1% L- глутамин	- RPMI, -10% эмбриональная телячья сыворотка, -0,01% гентамицин, - 1% L- глутамин.	-DMEM/F-12, -10% эмбриональ- ная телячья сыворотка, - 0,01% гентамицин, - 1% L- глутамин.	- MEM, -10% эмбриональ- ная телячья сыворотка, -0,01% гентамицин, - 1% L- глутамин

\* К – поверхность, покрытая коллагеном (1:45)

### **РЕЗУЛЬТАТЫ**

При исследовании морфологии большее количество клеток визуально определялось при культивировании на среде MEM с коллагеновым покрытием, наименьшее в среде MEM без коллагена и RPMI с коллагеном и без (Рис.1).

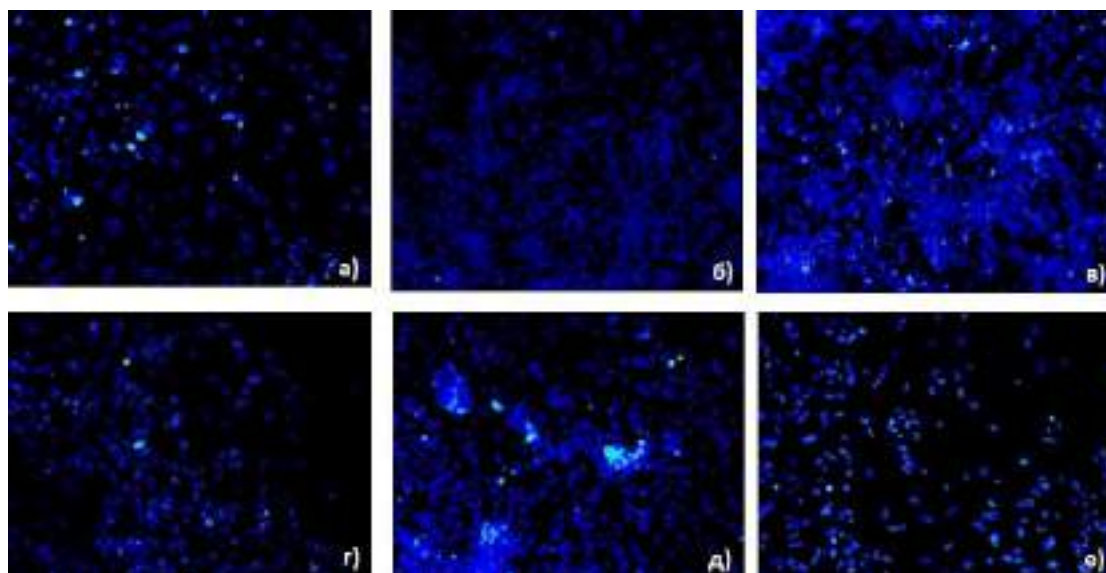


Рис. 1. Визуализация клеток в различных питательных средах. Окраска DAPI, ув. x100, флуоресцентная микроскопия, а) RPMI К, б) DMEM К, в) MEM К, г) RPMI, д) DMEM, е) MEM.

Согласно результатам проведенного анализа (Рис. 2) среднее количество клеток в среде RPMI К составило  $234 \pm 58$  (ДИ 104 – 364), в RPMI  $290 \pm 71$  (ДИ 130 – 450); в среде DMEM К –  $543 \pm 152$  (ДИ 202 – 883), DMEM  $511 \pm 110$  (ДИ 264 – 758); в MEM К –  $775 \pm 252$  (ДИ 213 – 1337), MEM –  $268 \pm 93$  (ДИ 59 – 476). Наименьшее количество клеток в культуре было в среде MEM без коллагенового покрытия и RPMI с коллагеновым покрытием и без него. Наибольшее количество клеток наблюдалось в среде MEM с коллагеновым покрытием. MEM на коллагеновом покрытии превышал количество клеток в 2 раза по сравнению с MEM без коллагена, также достоверно значимые различия были со средой RPMI с коллагеновым покрытием и без коллагена. Достоверные различия наблюдались и в среде DMEM с коллагеновым покрытием и без него по сравнению с RPMI с коллагеном и без коллагена и MEM без коллагена ( $p < 0,05$ ).

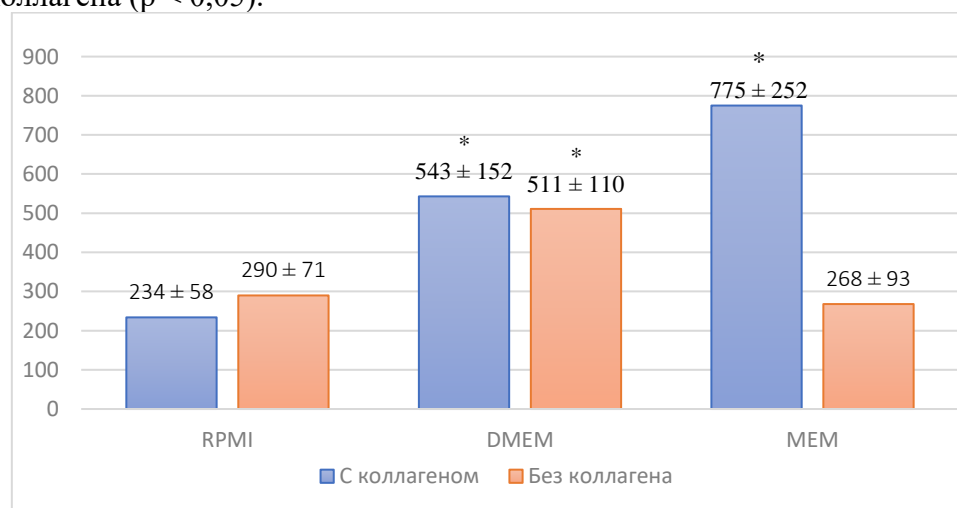


Рис. 2. Сравнение количества клеток в разных средах с коллагеном и без, \* значимые отличия,  $p < 0,05$ .

## ОБСУЖДЕНИЕ

В исследованиях для культивирования клеток меланомы используются различные питательные среды. Так, GP. Luyten с соавт. использовали среду DMEM, обогащенную 10% бычьей сывороткой (FBS) и 0,1% антибиотика пенициллин/стрептомицин для клеточных культур, выделенных как из первичного очага (16 культур), так и из метастазов (4 культуры) [3]. Другие авторы также используют DMEM при получении первичной культуры клеток меланомы [4-5]. Помимо среды DMEM, используются и другие среды: RPMI и MEM. M. Angi и др. сравнивали эти среды между собой и, согласно их результатам, наиболее подходящими

средами оказались RPMI и MEM [6]. В нашем исследовании оптимальной средой для культивирования клеток стала среда MEM и DMEM.

В настоящее время существует мало исследований, посвященных изучению влияния коллагена на адгезию клеток меланомы. Однако известно, что обработка поверхности коллагеном может увеличивать скорость прикрепления клеток и их пролиферацию [7]. Мы обнаружили значимые различия при культивировании клеток в среде MEM с коллагеном и без.

## ВЫВОДЫ

Наиболее подходящими для культивирования меланомы оказались питательные среды MEM и DMEM/F-12. Покрытие коллагеном в сочетании с использованием среды MEM значимо влияет на увеличение количества клеток.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году / под редакцией А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. – илл. – 239 с.
2. Pembrolizumab versus ipilimumab for advanced melanoma: final overall survival results of a multicentre, randomised, open-label phase 3 study (KEYNOTE-006) / J. Schachter, A. Ribas, G.V. Long [et al.] // *Lancet*. – 2017. – Vol. 390(10105). – P. 1853-1862
3. Establishment and characterization of primary and metastatic uveal melanoma cell lines / G.P. Luyten, N.C. Naus, C.M. Mooy [et al.] // *Int J Cancer*. – 1996. – Vol. 66(3). – P. 380-7.
4. Establishment of Two Dimensional (2D) and Three-Dimensional (3D) Melanoma Primary Cultures as a Tool for In Vitro Drug Resistance Studies / N. Cruz Rodríguez, J. Lineros, C.S. Rodríguez [et al.] // *Methods Mol Biol*. – 2019. – Vol. 1913. – P. 119-131.
5. Гетерогенность хромосомных аномалий в культивируемых клетках меланомы кожи человека / С. Н. Колюбаева, А. Б. Данилова, И. А. Балдуева [и др.] // *Вопросы онкологии*. – 2014. – Т. 60, № 5. – С. 596-601.
6. Angi, M. Culturing Uveal Melanoma Cells / M. Angi, M. Versluis, H. Kalirai // *Ocul Oncol Pathol*. – 2015. – Vol. 1(3). – P. 126-32.
7. Создание клеточных линий карциномы молочной железы / А.С. Могиленских, С.В. Сазонов // *Гены и клетки*. – 2021. – Т. 1, № 16. – С. 15-23.

## Сведения об авторах

Е.П. Белоглазова\* – студент лечебно-профилактического факультета  
О.В. Мадиярова – младший научный сотрудник  
А.С. Могиленских – научный сотрудник, ассистент кафедры гистологии  
М.И. Дерюгин – ассистент кафедры гистологии

## Information about the authors

E.P. Beloglazova\* – Student of the faculty of treatment and prevention  
O.V. Madiyarova – Researcher  
A.S. Mogilenskikh – Researcher, assistant at the department of histology  
M.I. Deryugin – Assistant at the department of histology

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):  
len168288@gmail.com

УДК: 572.512: 611.018

## МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ КОНСТИТУЦИОНАЛЬНОЙ ТИПОЛОГИИ

Богданова Наталья Андреевна<sup>2</sup>, Семенов Алексей Анатольевич<sup>1,2</sup>, Никонорова Варвара Геннадьевна<sup>4</sup>, Криштоп Владимир Владимирович<sup>1</sup>, Гайворонский Иван Васильевич<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup>ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны России

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

<sup>3</sup>НМИЦ им. В.А. Алмазова

<sup>4</sup>ГНИИИ Военной медицины Минобороны России

Санкт-Петербург, Россия

## Аннотация

**Введение.** Формирование соматотипа происходит на нескольких уровнях: генетическом, клеточном, тканевом, органном и системном. Однако, комплексное влияние конституции на микроскопические уровни строения тела человека не определено, исследования в данной области носят разрозненный характер. **Цель исследования** – провести анализ научных работ, изучающих взаимосвязь конституциологии и морфологической организации органов и тканей человека. **Материал и методы.** Исследование проведено на основании материалов баз данных: eLibrary, PubMed, Medline за последние 25 лет. **Результаты.** Проведенный анализ литературы позволил определить, что взаимосвязь морфологических характеристик тканей с типами телосложения человека имеет место для тканей экто-, энто- и мезодермального происхождения. Предрасположенности к определенным морфологическим особенностям в зависимости от соматотипа выявлены для минерального компонента костной