

свинцовую структуру в медицинской химии. Более раннее производное – метиленовый синий, было одним из первых эффективных противомаларийных препаратов. Другие его производные на данный момент используются при лечении заболеваний самых разных систем человеческого организма. Помимо успешного использования в неврологии и психиатрии, фенотиазины активно используются в кардиологии, в оперативной хирургии, в аллергологии, паразитологии, и многих других областях клинической медицины. Говоря о широком спектре применения, использование фенотиазина не ограничивается одной только медициной. Он также уверенно зарекомендовал себя в борьбе с вредителями, в энергетической и топливной промышленности, а также в химической технологии.

Список литературы

1. Гравченко Л.А., Геллер Л.Н. История фармации: учебно-методическое пособие. Иркутск: ИГМУ, 2014.
2. Давыдов А.Т., Крупицкий Е.М., Ремизов М.Л., Загребельный И.А., Котельникова Т.Л., Шабанов П.Д. Особенности клинического использования типичных антипсихотических препаратов в психиатрической и наркологической практике // *Обзоры по клинической фармакологической и лекарственной терапии*. 2007. № 1. С. 43-56.
3. Хаджибаев А.М., Касымова К.Р., Садыков Р.Р. Фенотиазиновые красители – новые возможности в борьбе с хирургической инфекцией // *Вестник экстренной медицины*. 2013. № 2.
4. Данилов Д.С. 60 лет антипсихотическим средствам (к вопросу об их классификации) // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2012. № 4.
5. Ляпунова М.В., Мальков В.С., Бакибаев А.А. Технологический способ получения и выделения фенотиазина // *Вестник Томского государственного университета. Химия*. 2016. № 4 (6).

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИИ КЛЕТОК В КУЛЬТУРАХ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ОБРАЗЦОВ КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ LUMINAL-A ПОДТИПА

¹Самохина В.С., ^{1,2}Могиленских А.С.,
¹Шамшурина Е.О.

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный
медицинский университет», Екатеринбург,
e-mail: S.Vika2003@yandex.ru,
elshamshurina@gmail.com

²ГАЗУ СО «Институт медицинских клеточных
технологий», Екатеринбург, e-mail: annasajer@
yandex.ru

Первичная культура – культура клеток, полученная непосредственно из тканей опухоли пациента до первого пересева. Она обладает характеристиками, более близкими к условиям *ex vivo*, поскольку содержит не только опухолевые клетки, но и включает элементы микроокружения: стромальные компоненты, клетки иммунной системы [1]. Однако, в отличие от иммортализованной клеточной линии, такая культура может проявлять гетерогенность при субкультивировании и изменять морфологию клеточного состава [2-4].

В нашем исследовании мы получили семь первичных культур клеток от пациенток с Luminal A подтипом карциномы молочной железы, и сравнили морфологическую характеристику культур клеток от нулевого пассажа до четвертого, а также определили природу клеток, поскольку эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) является одним из важных признаков агрессивности опухолевого процесса [5]. Имеются данные о морфологии клеток в случае ЭМП, в которых отмечены свойства эпителиальных клеток: полигональная форма, способность создавать плотные контакты между клетками и свойства мезенхимальных клеток: веретенообразная форма и слабые контакты, что обуславливает их способность к миграции и инвазии [6].

Материалы и методы исследования

Материал для исследования был получен от 7 пациенток с определенным Luminal-A иммуногистохимическим подтипом, не получавших адьювантной терапии. Образцы опухоли измельчали, помещали в смесь ферментов коллагеназа-гиалуронидаза. После диссоциации раствор центрифугировали при 0,7 RPM в течение 30 секунд, супернатант сливали. Полученный осадок ресуспендировали ферментами: трипсином и смесью диспаза-ДНКаза. После растворения в каждом ферменте смесь разбавляли HF (раствор Хэнкса с 10% FBS) 1:1 и центрифугировали при 1,4 RPM (5 мин). Супернатант сливали, осадок помещали в питательную среду Mammocult в 5мл флаконы. После образования монослоя дезагрегация клеток осуществлялась с помощью трипсина, при этом часть клеток вновь помещали во флаконы со свежей питательной средой, часть – пересаживали на предметные стекла для анализа. В каждом случае культуру оценивали до 4 пассажа.

Для оценки морфологии клеток производили окрашивание по Паппенгейму. Иммуноцитохимические исследования проводились в автоклавной камере Dako Link. Для определения фенотипа опухоли использовали антитела anti-Pan Keratin (AE1/AE3/PCK26) Primary Antibody (Roche diagnostics, USA). Уровень панцитокератина определялся как процентное соотношение окрашенных клеток к общему количеству в 5 полях зрения.

Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании первичной культуры (нулевой пассаж, P₀) большую часть (90%) составляли мелкие (4-6 мкм) и средние (10-12 мкм) округлые клетки, с четкими границами. Ядро с ровными контурами, плотное, гиперхромное, окружено узким ободком гомогенной цитоплазмы. Вторая группа клеток (10%) – полигональные крупные (16-18 мкм) клетки, чаще треугольной формы, с четкими неровными границами, образованными многочисленными мелкими выпячиваниями плазмолеммы. Ядро расположено центрально, светлоокрашено, с равномерным

рисунком хроматина. Ядрышки не определяются. Эндочитоплазма более плотная, мелкозернистая (предположительно органеллы), эктоцитоплазма светлая, пеннистая.

На первом пассаже (P_1) в культурах определяется 60% мелких и средних (вышеописанных) клеток. В пяти из семи анализируемых культурах появляются средние и крупные клетки овальной и полигональной формы (30%), с неровными границами. Ядро этих клеток округлое, с ровными контурами, светлое, расположено эксцентрично, мелкодисперсный хроматин распределён равномерно, определяются 1-2 ядрышка. Цитоплазмы много, эндочитоплазма более плотная, зернистая – содержит включения (органеллы), эктоцитоплазма светлая, пеннистая, содержит большое количество мелкодисперсных вакуолей. Клетки лежат отдельно, без тенденции к слианию.

Кроме того, 9,8% культуры составляют клетки веерообразной формы – вытянутые, один отросток тонкий длинный, на противоположном конце клетки широкий короткий веерообразный отросток. Ядро расположено в центре, ближе к веерообразному выросту, овальное, окрашено не плотно, рисунок хроматина равномерный, определяется ядрышко. Эндочитоплазма плотная, тёмноокрашена, содержит гранулы, эктоцитоплазма (в веерообразном выпячивании) светлая, пеннистая, с большим количеством крупных вакуолей. Клетки лежат отдельно и группами по 4-7 клеток, в которых контактируют отростками.

В культурах этого пассажа (P_1) так же появляются единичные гигантские клетки округлой формы с неровными границами. Цитоплазмы много, светлоокрашена, эндочитоплазма более плотная, зернистая, эктоцитоплазма светлая, содержит небольшое количество мелких вакуолей. Ядро округлое, с ровными контурами, расположено в центре, светлое, рисунок мелкодисперсного хроматина равномерный, определяется 1 крупное ядрышко.

При исследовании культур второго пассажа (P_2) отмечено, что среди округлых и овальных клеток с ровными чёткими границами и крупным плотным гетерохроматиновым ядром, составляющих 62% клеток культуры, определяются клетки, имеющие фибробластоподобную (16%), веретеновидную (13%) и макрофагоподобную (9%) форму. Фибробластоподобные клетки (10-18 мкм) имеют не чёткие границы, один тонкий, длинный отросток и толстые широкие выпячивания на противоположном полюсе клетки и латерально, заполненные светлой пеннистой эктоцитоплазмой. Эндочитоплазма плотная, содержит гранулы. Ядро овальное, светлое, расположено центрально, рисунок мелкодисперсного хроматина равномерный, определяется ядрышко. Клетки расположены группами по 5 и более клеток, плотно контактируют отростками.

Веретеновидные клетки (12-15 мкм) – вытянутые, с двумя тонкими отростками на противо-

положных полюсах клетки. Ядро расположено в центре, овальное, плотное, тёмноокрашено. Цитоплазмы незначительное количество, плотная. Клетки в культуре лежат как отдельно, так и группами, в которых контактируют отростками.

Также в культурах P_2 отмечаются участки монослоя из клеток полигональной формы с чёткими границами, плотно прилегающих друг к другу. Ядра этих клеток светлые, определяются ядрышки, цитоплазма светлая, пеннистая. На периферии группы клеток формируют выросты плазмолеммы.

На третьем пассаже (P_3) в культурах можно выделить три группы клеток: мелкие (4-6 мкм) – 26%, средние (веретеновидные и фибробластоподобные) – 69%. Появляется 5% гигантских (25-30 мкм) клеток правильной формы, с чёткими ровными границами. Ядро занимает не более 1/3 объёма цитоплазмы, расположено эксцентрично – у одного из полюсов клетки. Форма ядра чаще неправильная (бобовидная, двулопастная). Глыбки мелкодисперсного хроматина расположены рыхло, ядрышко определяется редко. Цитоплазма светлоокрашена, эндочитоплазма более плотная, содержит небольшое количество гранул, эктоцитоплазма – более гомогенная. В этих клетках встречаются фигуры митоза (метафаза, телофаза), так же встречаются двухядерные клетки.

На четвертом пассаже (P_4) доля мелких и средних округлых клеток снижается до 3%, тогда как большую часть клеток, до 82%, составляют фибробластоподобные клетки и увеличивается доля гигантских полигональных клеток (15%).

При оценке уровня панцитокератина в полученных культурах наибольший процент окрашенных клеток, сохраняющих эпителиальную природу, наблюдается на первом и втором пассаже. К четвертому пассажу доля эпителиальных клеток снижается с появлением в культурах клеток, демонстрирующих мезенхимальный фенотип.

Вывод

Таким образом, оценка роста культур и морфологическое исследование клеточных популяций в культуре Luminal A подтипа показали, что клеточные культуры, полученные от разных образцов опухолей, однонаправленно проявляют гетерогенность и полиморфизм популяций культивируемых клеток, при этом в процессе субкультивирования теряется способность клеток сохранять эпителиальный фенотип, что необходимо учитывать при отработке методики создания персонифицированных культур.

Список литературы

1. Могиленских А.С., Сазонов С.В. Создание клеточных линий карциномы молочной железы // Гены и Клетки. 2021. Т. 16. № 1. С. 15-23.
2. Герашенко Т.С., Денисов Е.В., Литвяков Н.В. и др. Внутритропическая гетерогенность: природа и биологическое значение (обзор) // Биохимия. 2013. № 78. С. 1531-1549.

3. Галимова Э.С., Галагудза М.М. Двухмерные и трёхмерные модели культур клеток опухолей *in vitro*. Преимущества и недостатки // Биоллотень сибирской медицины. 2018. № 17 (3). С. 188-196.

4. Могиленских А.С., Шамшурина Е.О. Морфологическая оценка клеток карциномы молочной железы тройного негативного подтипа в культуре // Гены и Клетки. 2020. Т. 15. № S3. С. 104.

5. Богуши Т.А., Каложный С.А., Четыркина М.Р., Ястребова М.А., Щербаков А.М., Мамичев И.А., Каменский А.А. Экспрессия виментина в культурах клеток эпителиальных опухолей человека // Успехи молекулярной онкологии. 2018. Т. 5. № 2. С. 24-30.

6. Ye X., Weinberg R.A. Epithelial-Mesenchymal Plasticity: A Central Regulator of Cancer Progression. Trends Cell Biol. 2015. Vol. 25 No. 11. P. 675-686.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ И ОСЛОЖНЕНИЯ COVID-19 У СТУДЕНТОВ ВГМУ ИМ. Н.Н. БУРДЕНКО

Тарасов А.С., Киселева В.С.

*ФГБОУ ВО «Воронежский государственный
медицинский университет имени Н.Н. Бурденко»,
Воронеж, e-mail: sanuaaaa03@mail.ru*

Инфекционные заболевания берут своё начало ещё с древних времён и возникают по сей день. Человечество находится в вечном противостоянии с миром микроорганизмов [1]. В конце декабря 2019 года в городе Ухань (провинция Хубэй, Китай) были зарегистрированы первые случаи новой коронавирусной инфекции (НКВИ) [2], вызываемой вирусом SARS-CoV-2. Спустя несколько месяцев с момента первого сообщения, новая коронавирусная инфекция COVID-19 достигла масштабов глобальной чрезвычайной ситуации в области здравоохранения [3]. Заболевание погубило множество человеческих жизней, нанесло тяжёлый вред здоровью людей, повлекло большие медицинские и социальные потери в различных странах. Несмотря на строгие ограничительные меры, предпринимаемые странами, COVID-19 распространяется по всему миру [4, с 19]. Человечеству объявлена беспрецедентная глобальная «война», и наш враг – это новое заболевание – коронавирус [5, с 6]. В связи с тем, что COVID-19 помимо общих проявлений инфекционного заболевания вызывает специфические клинические проявления, было принято решение оценить характер болезни у студентов Воронежского Государственного Медицинского Университета имени Н.Н. Бурденко.

Цель исследования: оценить эффективность профилактических мероприятий, выраженность симптомов, клинических проявлений и осложнений новой коронавирусной инфекции у студентов Воронежского Государственного Медицинского Университета имени Н.Н. Бурденко.

Материалы и методы: исследование проведено с помощью разработанной анкеты, состоящей из 18 вопросов. Респондентами стали 52 студента 1-5 курсов лечебного, педиатрического, стоматологического, фармацевтического,

медико-профилактического факультетов ВГМУ им. Н.Н. Бурденко.

Результаты и обсуждения: из 52 опрошенных оказались привитыми против НКВИ порядка 58%, привиты и избежали заболевания 25% респондентов, что соответствует 13 студентам, не прививались и болели – 15% и только 2% учащихся не болели новым коронавирусом при отсутствии вакцинации против COVID-19. При этом, полностью соблюдают профилактические мероприятия по борьбе с COVID-19 63% опрошенных, изредка выполняют рекомендации еще 31%, а категорически не согласны с методами профилактики около 4% опрошенных студентов. Продолжительность болезни у более половины учащихся составила около 2-х недель. Стоит отметить, что большая часть опрошенных не ревакцинированы (около 85%). Первыми симптомами НКВИ у учащихся стали: подъем температуры тела, потеря обоняния и вкуса, кашель, слабость, миалгия, ломота в суставах, головные боли. У некоторых появлялись одышка, боль в горле, насморк, сухость в носу, головокружение, повышенное потоотделение, болезненное движение глаз, эмоциональная нестабильность, диарея. Наиболее часто из признаков COVID-19 у опрошенных наблюдались: повышенная утомляемость (86%), подъем температуры тела (81%), кашель сухой или с небольшим количеством мокроты (порядка 60%), anosmia и гипогевзия (64%), головные боли и головокружения (60%) заложенность носа или умеренная ринорея (50%), боли в суставах и мышцах (50%), боль в горле и озноб (40%). У незначительного количества студентов присутствовали конъюнктивит, высыпания на коже, диарея, тошнота и рвота. Особое внимание хотелось бы уделить психическим расстройствам, которые наблюдались у достаточно большого процента опрошенных. Около 50% студентов испытывали тревожность, ухудшение памяти и снижение способности к обучению, плохую регуляцию эмоций. Угнетённое состояние и раздражительность присутствовали у 34% респондентов, нарушение сна – у 22%, а спутанность сознания беспокоила еще 10% учащихся. Помимо этого, у студентов наблюдались потеря аппетита (51%), ощущение сдавления и заложенности в грудной клетке (17%), тахикардия (14%), а у небольшого числа даже судороги (в 2% случаев). Характерно, что после перенесённого заболевания перечисленные симптомы присутствовали приблизительно у половины опрошенных и лишь 19% человек чувствовали себя хорошо при выздоровлении. Кроме этого, около 44% респондентов отмечают сохраняющиеся по сей день жалобы на anosmia или гипогевзию, слабость и/или утомляемость, одышку, кашель, головные боли, снижение иммунитета, усиленное выпадение волос, тревожность и проблемы со сном, проявления астенического синдрома. Поинтересовавшись у респондентов