

Yakhno, D. R. Shtulman. - M: Medicine. - 2003; 1: 231-302.

4. Шмидт Е.В. Классификация сосудистых заболеваний головного и спинного мозга / Е.В. Шмидт // Журн. невропатол. Психиат. 1985; 9: 1281-1288.

Shmidt E.V. Classification of vascular diseases of the brain and spinal cord / E.V. Schmidt // Journal of Neuropathol. Psychiat. - 1985; 9: 1281-1288.

5. Эпидемиология инсульта в России / Е.И.

Гусев, В.И. Скворцова, Л.В. Стаховская [и др.] // Consiliummedicum 2003; 5-7.

Gusev E.I., Skvortsova V.I., Stakhovskaya L.V., etc. Epidemiology of stroke in Russia // Consiliummedicum. - 2003; 5-7, [3, 7].

6. Argentine C., Prencipe M. The Burden of stroke: a need for prevention. In: Prevention of Ischemic Stroke. Eds. C.Fieschi, M.Fischer. London: Martin Dunitz. - 2000; 1-5.

7. O'Leary D.H., Polak J.F., Kronmal R.A. et

al. Distribution and correlates of sonographically detected carotid artery disease in the Cardiovascular Health Study. The CHS Collaborative Research Group. Stroke. - 1992; 23: 12: 1752-1760.

8. Touboul P.J., Elbaz A., Koller C. et al. Common carotid artery intima-media thickness and brain stroke: the Etude du Profil Genetique de l'Infarctus Cerebral (GENIC) case-control study. The GENIC Investigators. Circulation. - 2000; 102: 313.

О.И. Кит, Е.В. Вереникина, М.В. Миндарь, Е.А. Лукбанова, Е.М. Непомнящая, А.П. Меньшенина, М.Л. Адамян, М.М. Кечерюкова, А.Ю. Арджа

СОЗДАНИЕ МОДЕЛИ РАКА ЯИЧНИКОВ НА ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ МЫШАХ ЛИНИИ BALB/C NUDE

DOI 10.25789/YMJ.2021.74.04

УДК 618.11-089.87: 57.084.1

Целью данной работы являлось создание *in vivo* модели рака яичников, которая позволила бы обеспечить возможность контроля динамики роста опухоли и получение адекватных данных о ее размерах. Для создания модели использовали мышей линии Balb/c Nude. Выведение яичника мыши с имплантированным в него фрагментом опухоли под кожу облегчило визуализацию и возможность контроля динамики роста ксенографта.

Ключевые слова: рак яичников, PDX-модель, patient derived xenograft, Balb/c Nude, ксенографт, модели *in vivo*.

The purpose of this study was to create an *in vivo* model of ovarian cancer allowing control of the dynamics of tumor growth and adequate data on its size. As a model Balb/c Nude mouse lines were used. Removal of the mouse ovary with an implanted tumor fragment under the skin made it easier to visualize and to control the dynamics of xenograft growth.

Keywords: ovarian cancer, PDX model, patient-derived xenograft, Balb/c Nude, xenograft, *in vivo* models.

Введение. Рак яичников (РЯ) является злокачественным новообразованием, занимающим пятое место среди онкологических заболеваний женского населения в возрасте от 55 до 69 лет и четвертое место среди возрастной категории от 40 до 54 лет. В соответствии с данными о мировой заболеваемости, РЯ регистрируется в 9,1 случаев заболевания на 100 тыс. женского населения. По статистике Росстата, в 2016 г. в среднем было зарегистрировано 17,8 случая на 100 тыс. женского населения. Рак яичников является одной из лидирующих причин смертности от онкологических заболеваний женской репродуктивной

системы в России: в 2018 г. от данного заболевания умерло 7 616 женщин [6].

РЯ представлен несколькими гистологическими и молекулярными подтипами. Основную группу злокачественных эпителиальных опухолей яичников составляют серозные карциномы. Серозная карцинома низкой степени злокачественности состоит из кистозного, папиллярного и солидного компонентов [11,13]. Ввиду отсутствия возможности ранней диагностики и недостаточной эффективности терапии рака яичников актуально изучение природы данного заболевания и разработки способов его лечения, с применением различных биологических моделей [7,8].

На сегодняшний день одной из задач исследователей при создании животных опухолевых моделей различных нозологий является воспроизведение сложности микросреды опухоли. У различных экспериментальных моделей есть свои преимущества и недостатки, которые могут повлиять на последующие результаты трансляционных исследований новых препаратов для химио- и иммунотерапии [9].

Разработка PDX-моделей (patient derived xenograft – ксенотрансплантат, полученный от пациента) для исследова-

ний онкологических заболеваний основывается на предположении, что эти модели приближены к исходным донорским опухолям. Раковые клетки или ткани можно имплантировать гетеротопически или ортотопически, и каждый из способов имеет свои преимущества и недостатки. Так, гетеротипический способ характеризуется простотой имплантации и точным мониторингом размера опухоли. Ортотопическая имплантация является более сложной с технической точки зрения и часто требует ультразвукового исследования или исследовательской лапаротомии для контроля динамики роста опухолевого узла; однако преимуществом данного способа является сохранение микросреды опухолей человека. [3]. Сходство микроокружения и туморогенеза ксенографта с тканью донора обеспечивает возможность оценки эффективности исследуемых препаратов, с помощью определения уровня торможения роста опухоли, путем изучения динамики опухолевого роста [2]. Одной из основных сложностей в создании адекватной PDX-модели РЯ является визуализация опухоли. При невозможности прижизненной визуализации опухоли некоторые исследователи по окончании

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» МЗ РФ: **КИТ Олег Иванович** – д.м.н. генеральный директор, m.v.mindar@gmail.com, **ВЕРЕНИКИНА Екатерина Владимировна** – к.м.н. зав. отделением, **МИНДАРЬ Мария Вадимовна** – м.н.с., **ЛУКБАНОВА Екатерина Алексеевна** – н.с., **НЕПОМНЯЩАЯ Евгения Марковна** – д.м.н., врач-патологоанатом, **МЕНЬШЕНИНА Анна Петровна** – к.м.н., в.н.с., **АДАМЯН Мери Людвиговна** – к.м.н., н.с., **КЕЧЕРЮКОВА Мадина Мажитовна** – аспирант, **АРДЖА Анна Юрьевна** – к.м.н., врач-онколог.

эксперимента проводили некропсию и измеряли выделенные фрагменты ксенографтов [10,15]. Такой способ измерений не дает возможности зарегистрировать индивидуальную динамику роста ксенографтов.

Поэтому **целью** данной работы являлось создание *in vivo* модели РЯ, которая позволила бы обеспечить возможность контроля динамики роста опухоли и получение адекватных данных о ее размерах.

Материалы и методы исследования. Перед проведением эксперимента было получено разрешение этического комитета ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России от 30.06.2020 г. № 4/82.

Опухолевый материал. Донором опухолевого материала была пациентка В. с диагнозом серозная карцинома яичников в стадии Gx T2-3NxM0. От больной было получено письменное согласие на передачу биологического материала. При хирургическом удалении опухоли яичников ее фрагмент помещали в питательную среду RPMI с добавлением антибиотика гентамицин (5%), после чего очищали полученный материал от элементов некротических масс и соединительной ткани и разделяли на фрагменты объемом 8 мм³. Время от момента резекции опухолевого материала до момента его трансплантации не превышало 20 мин, что является важным условием для успешного приживания трансплантата.

Животные. Эксперимент проводился в соответствии с руководством по содержанию и использованию лабораторных животных [1]. Для создания ортотопической модели рака яичников было использовано 20 самок мышей линии Balb/c Nude. Ключевой особенностью данной линии является наличие частичного иммунодефицита у животных [5]. Возраст мышей составлял 5 нед, средняя масса 22-24 г. Животные содержались в SPF виварии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, в индивидуально вентилируемых клетках при t 21-23 °С, в условиях свободного доступа к корму и воде.

Создание PDX-модели РЯ. Перед имплантацией фрагмента опухоли животных вводили в наркоз. Данная процедура состоит из двух этапов – премедикация ксилазином (вводили в дозе 1,5 мл/кг массы тела мышей Balb/c Nude) и наркотизация золетилом (вводили в дозе 67,5 мг/кг массы тела мышей Balb/c Nude) [4]. После того, как мышь вошла в хирургическую стадию наркоза, ее располагали на операционном столе в положении на

животе. Далее рассекали кожу животного параллельно позвоночнику, ниже реберной дуги, для удобства манипулирования делали второй разрез кожи, длиной 10 мм, перпендикулярный первому. Приподнимали лоскут кожи и визуализировали яичник (рис. 1, А), который находился между селезенкой, поджелудочной железой (располагались выше яичника) и почкой (располагалась ближе к позвоночнику).

Далее рассекали брюшную стенку параллельно позвоночнику и выводили яичник в операционную рану, после чего надсекали скальпелем серозную оболочку по краю, противоположному сосудистой ножке, на протяжении 2 мм в зоне имплантации. Яичник фиксировали сверху к брюшине лигатурой, оставляя его, таким образом, между брюшной стенкой и кожей. Фрагмент опухоли имплантировали в разрез яичника, подшивая его при помощи лигатуры 6-0 под контролем операционного микроскопа (рис. 1, Б). Брюшную стенку и кожу ушивали скорняжным швом, лигатурой 4-0.

Подкожный рост опухоли наблюдали в течение 8 нед. после ксено-трансплантации, замеры проводили дважды в неделю, с использованием

штангенциркуля (GRIFF,Россия). Далее была проведена некропсия. Рецидивированный яичник исследовали гистологически.

Гистологическое исследование. Опухолевые фрагменты фиксировали в 10%-ном растворе формалина, в течение 24 ч, после чего проводили через батарею спиртов и ксилола с целью обезвоживания. Далее опухоль заключали в парафин, изготавливали микропрепараты. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологические препараты изучали в световом микроскопе. Проведено гистологическое исследование первичной опухоли, PDX и интактного яичника мыши.

Результаты и обсуждение. В ходе наблюдения за мышами с имплантированным раком яичника отмечали рост опухоли у 17 из 20 прооперированных мышей, что составило 85% приживляемости ксенографта (рис. 2). Спустя 8 нед. с момента имплантации определялись опухолевые узлы, объем которых составил от 130,43 до 170,1 мм³.

При некропсии опухоль была отделена от яичника с целью создания последующих пассажей. При гистологическом исследовании было выявлено,



А

Б

Рис. 1. Хирургические манипуляции при создании модели. А – визуализация под брюшиной яичника мыши линии Balb/c Nude; Б – имплантация опухолевого материала в яичник иммунодефицитной мыши.

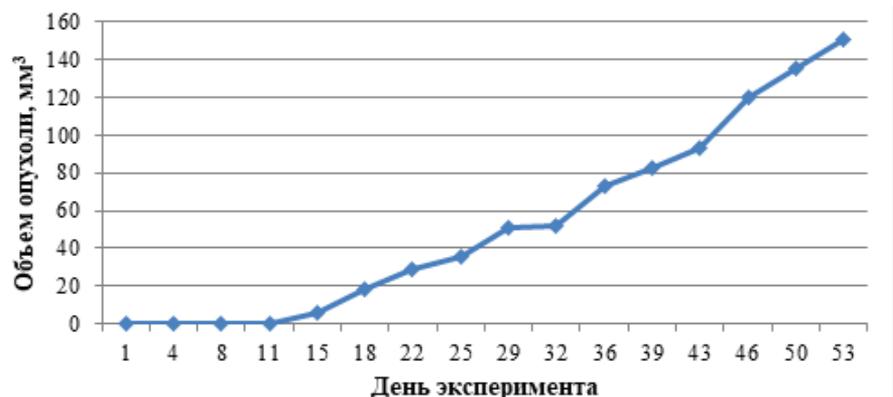


Рис. 2. Динамика роста ортотопического ксенографта рака яичника в течение 8 нед. наблюдения. Данные представлены в виде средних.

что донорская опухоль имела строение серозной карциномы с наличием псаммомных тел. В опухоли определялись участки солидного строения. Очаги некроза обнаружены не были (рис. 3, А).

При исследовании фрагмента ксенографта наблюдали единичные опухолевые клетки и их скопления различной величины и формы, инфильтрующие строму яичника. Малигнизированные клетки характеризовались наличием четких мелких ядрышек и умеренным ядерным полиморфизмом. В ткани отмечены очаги клеток с кариорексисом и кариолизисом, а также довольно обширные некротические участки. Данные были получены при использовании метода световой микроскопии и исходя из них было определено, что в созданной PDX-модели была воспроизведена опухоль, идентичная донорской. В экспериментально воспроизведенной опухоли гистологическая картина соответствовала серозной карциноме и в ней определялись сосочковые и солидные структуры. Кроме того, в солидном компоненте имелись мелкие псаммомные тела (рис. 3, Б, В).

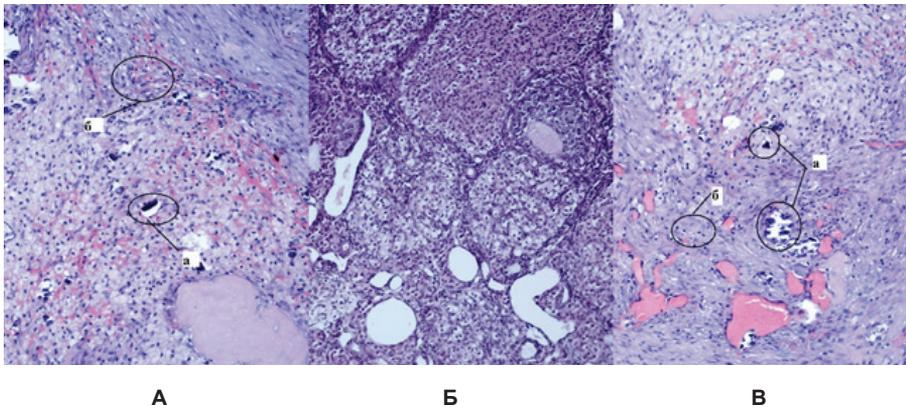


Рис. 3. Гистологические препараты опухоли пациента, контрольной ткани яичника и ксенотрансплантата: А – серозная карцинома яичника (донор): а – псаммомные тельца, б – опухолевые клетки; Б – нормальная ткань яичника мыши (контроль); В – ткань ксенографта рака яичника после первого пассажа в животном-реципиенте при подкожном расположении яичника с опухолью: а – псаммомные тельца, б – опухолевые клетки. Окр. гематоксилин-эозин. Ув.: x200.

Одной из главных отрицательных сторон создания ортотопической модели рака яичника является сложность визуализации роста опухолевого узла [14]. В нашей работе для решения этой проблемы был использован новый подход создания модели РЯ, при котором яичник был выведен под кожу животного. Возможность доступа нашей лаборатории к резецированным донорским опухолям обеспечила своевременную доставку биологического материала. Это давало возможность приживления ксенографта в 85% слу-

чаев. Согласно данным литературы, приживление ксенографта рака яичника в организме животного-реципиента зависит от типа опухоли, сайта трансплантации и линии иммунодефицитных мышей и в среднем составляет от 2 до 4 мес., а приживаемость трансплантата в среднем составляет около 50% [3,12]. В нашем эксперименте отмечался высокий процент приживаемости ксенографта и уже по истечении 8 нед. опухолевый узел достигал средних размеров, достаточных для последующей трансплантации, что позволило создать модель рака яичников с адаптированным ростом для дальнейшего использования ее в экспериментальных исследованиях.

Заключение. В ходе работы была создана PDX-модель рака яичника с ортотопической трансплантацией опухолевого материала. Новизна данной работы состоит в нестандартном решении, заключающемся в выведении яичника мыши с фрагментом опухоли под кожу экспериментального животного, что обеспечило наблюдение за развитием ортотопического ксенографта без необходимости проведе-

ния лапаротомии и использования дополнительного дорогостоящего оборудования. Данное достижение способствует применению такой модели во многих исследованиях.

Литература

1. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. 8-е изд. / Гарбер Д. С., Барби Р., Билицки Д.Т. [и др.] – М.: «ИРБИС», 2017. -304.
2. Guidelines for keeping and laboratory animals / Garber D. S., Barbi R., Bilitski D.T. [et al.] // 8th edition Moscow: IRBIS. - 2017; 304.

2. О расширении вариантов использования мышей balb/c nude для экспериментального изучения злокачественных опухолей человека in vivo / Жукова, Г.В., Шихлырова, А.И., Сагакянц, А.Б. [и др.] // Южно-российский онкологич. журнал. - 2020; 1: 28-35

On expanding the options for using balb / c nude mice for experimental study of human malignant tumors in vivo / Zhukova, G.V., Shikhlyrova, A.I., Sagakyants, A.B., [et al.] // South-Russian journal of oncology. 2020; 1: 28-35. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-2-4.

3. Особенности роста пациентоподобных подкожных и ортотопических ксенографтов кардиоэзофагеального рака человека на иммунодефицитных мышах / Кит С.О., Максимов А.Ю., Гончарова А.С., [и др.] // Современ. проблемы науки и образования.- 2020; 2.

Growth features of patient-like subcutaneous and orthotopic xenografts of human cardioesophageal cancer in immunodeficient mice / Kit S.O., Maksimov A.Yu., Goncharova A.S., [et al.] // Modern problems of science and education. 2020; 2. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29573> DOI: 10.17513/spno.29573.

4. Способ проведения наркоза у мышей Balb/c Nude при оперативных вмешательствах / Колесников Е.Н., Лукбанова Е.А., Ванжа Л.В., [и др.]: Патент на изобретение РФ №2712916. // Бюлл. от 03.02.2020.

Method of carrying out anesthesia in Balb/c Nude mice during surgical interventions / Kolesnikov E.N., Lukbanova E.A., Vanzha L.V., [et al.]: RF patent for invention №2712916// Bulletin from 03.02.2020.

5. Значение иммунодефицитных мышей для экспериментальных и доклинических исследований в онкологии / Миндарь М.В., Лукбанова Е.А., Кит О.С., [и др.] // Сибирский науч. медицин. журнал. -2020; 40: 10-20.

The value of immunodeficient mice for experimental and preclinical research in oncology / Mindar' M.V., Lukbanova E.A., Kit O.S., [et al.] // Siberian Scientific Medical Journal. - 2020; 40: 10-20. DOI: 10.15372/SSMJ20200302.

6. Румянцев А. А. Современные возможности первой линии терапии рака яичников: фокус на поддерживающей терапии/ А.А. Румянцев // Медицинский совет. -2020; 20: 62-68.

Rumyantsev A. A. Modern first-line treatment options for ovarian cancer: focus on supportive care. // Medical advice.- 2020; 20: 62-68. DOI: 10.21518/2079-701X-2020-20-62-68.

7. Некоторые усовершенствования лекарственной терапии рака яичников / Сухих Г.Т., Ашрафян Л.А., Киселев В.И., [и др.] // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. 2019;7(1):6-15.

Some improvements in drug therapy for ovarian cancer / Sukhikh G.T., Ashrafyan L.A., Kiselev V.I., [et al.] // Obstetrics and Gynecology: News, Opinions, Training. 2019; 7 (1): 6-15. DOI: 10.24411/2303-9698-2019-11001

8. PDX-модель высокодифференцированной нейроэндокринной опухоли поджелудочной железы на иммунодефицитных мышах линии Balb/c Nude / Трифанов В.С., Максимов А.Ю., Гончарова А.С., [и др.] // Альманах клинич. медицины. - 2020; 48(2): 117-124.

PDX-model of highly differentiated neuroendocrine pancreatic tumor in immunodeficient Balb / c Nude mice / Trifanov V.S., Maksimov A.Yu., Goncharova A.S., [et al.] // Almanac of Clinical Medicine. 2020; 48(2): 117-124. DOI: 10.18786/2072-0505-2020-48-026.

9. Mouse Models of Peritoneal Carcinomatosis to Develop Clinical Applications / Bella Á., Di Trani C.A., Sendin M.F., [et al.] // Cancers. 2021; 13: 963. DOI: 10.3390/cancers13050963.

10. Epithelial/mesenchymal heterogeneity of high-grade serous ovarian carcinoma samples correlates with miRNA let-7 levels and predicts tumor growth and metastasis / Chirshv E., Hojo N., Bertucci A., [et al.] // *Molecular oncology*. 2020; 14: 2796–2813. DOI: 10.1002/1878-0261.12762.

11. Revising the WHO classification: female genital tract tumours / Cree I.A., White V.A., In-dave B.I., [et al.] // *Histopathology*. 2020; 76:151-156. DOI: 10.1111/his.13977.

12. Patient-derived xenograft models of epithelial ovarian cancer for preclinical studies / Heo, E.J., Cho, Y.J., Cho, W.C., [et al.] // *Cancer research and treatment: official journal of Korean Cancer Association*. 2017; 49: 915. DOI: 10.4143/crt.2016.322.

13. Karakashev S., Zhang R. G. Mouse models of epithelial ovarian cancer for preclinical studies. *Zoological Research*. 2021: 1-8 . DOI: 10.24272/zj.issn.2095-8137.2020.382

14. Tumor xenograft animal models for esophageal squamous cell carcinoma / Lee N.P., Chan C.M., Tung L.N., [et al.] // *Journal of biomedical science*. 2018; 25: 66.

15. Preclinical assessment of the VEGFR inhibitor axitinib as a therapeutic agent for epithelial ovarian cancer / Paik E.S., Kim T.H., Cho Y.J., [et al.] // *Scientific reports*. 2020;10:1-9. DOI: 10.1038/s41598-020-61871-w.

К.О. Пашинская, А.В. Самодова, Л.К. Добродеева

ВЗАИМОСВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ ТРАНСФЕРРИНА, ЭРИТРОЦИТОВ С ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ У ЖИТЕЛЕЙ ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРА РФ

DOI 10.25789/YMJ.2021.74.05

УДК 613.11:[577.151.45]:612.017.1

Изучена взаимосвязь содержания трансферрина, эритроцитов с функциональной активностью лейкоцитов периферической венозной крови у жителей Европейского Севера РФ. Установлено, что у 49,21% обследованных лиц содержание трансферрина увеличивается на фоне снижения уровня количества клеток с мембранным рецептором к трансферрину (CD71+), что отражает известные конкурирующие взаимоотношения рецептора, уровня его шеддинга и субстрата (транспорта). Увеличение содержания трансферрина ассоциировано с повышением концентрации циркулирующих иммунных комплексов IgG в 44,21% случаев. При увеличении концентрации трансферрина в крови в 27,95% снижается содержание тромбоцитов и в 24,08% - концентрация гемоглобина, преимущественно у мужчин с увеличением возраста. У 8,06 % обследованных лиц повышение уровня трансферрина взаимосвязано с увеличением концентрации реагинов. В 5,12 % случаев повышение содержания трансферрина ассоциировано с активизацией клеточно-опосредованной цитотоксичности, которая поддерживается преимущественно провоспалительным цитокином IL-6. Не установлено взаимосвязи увеличения транспортного белка с концентрацией IL-10.

Ключевые слова: трансферрин, эритроциты, гемоглобин, лимфоциты, цитокины, иммуноглобулин E, циркулирующие иммунные комплексы.

The relationship between the content of transferrin and erythrocytes and the functional activity of leukocytes of peripheral venous blood in residents of the European North of the Russian Federation have been studied. It was found that in 49.21% of the examined individuals the content of transferrin increases against the background of a decrease in the level of the number of cells with a membrane receptor for transferrin (CD71+), which reflects the known competing relationships of the receptor, the level of its shedding and substrate (transport). An increase in transferrin content is associated with an increase in the concentration of circulating IgG immune complexes in 44.21% of cases. With an increase in the concentration of transferrin in the blood in 27.95%, the content of platelets decreases and in 24.08% - the concentration of hemoglobin, mainly in men with increasing age. In 8.06% of the examined individuals, an increase in the level of transferrin is interrelated with an increase in the concentration of reagins. In 5.12% of cases, an increase in the transferrin content is associated with the activation of cell-mediated cytotoxicity, which is mainly supported by the pro-inflammatory cytokine IL-6. The relationship between the increase in transport protein and IL-10 concentration has not been established.

Keywords: transferrin, erythrocytes, hemoglobin, lymphocytes, cytokines, immunoglobulin E, circulating immune complexes.

Введение. Функции железотранспортного белка не ограничиваются участием в гомеостазе железа [5]. В физиологических условиях референсный диапазон содержания трансферрина в сыворотке крови составляет 170–340 мг/дл, в кровотоке находится в состоянии апо-, моно-, или бижеле-

зистого трансферрина [15], период полураспада составляет 8-12 дней [4]. В норме трансферрин насыщен железом на 20–30% [14, 16], следовательно, железосвязывающая способность используется всего на 1/3. Железотранспортный белок при частичной насыщенности, являясь компонентом антиоксидантной системы, связывает железо плазмы крови и предохраняет клетки от нарушения структур клеточных мембран, снижения энергообеспечения клеток при усилении процессов перекисного окисления липидов [7]. Помимо этого, железо связывается в комплексы с альбуминами, низкомолекулярными органическими соединениями, образуя пул нетрансферрин-связанного железа [18, 19]. Содержание

железосвязывающего белка взаимосвязано с содержанием клеток с мембранным рецептором к трансферрину [3, 11]. Кроме этого, при связывании с рецепторами на поверхности клеток трансферрин участвует в транспорте металлов: Zn, Co, Ga, Al. Стоит принимать во внимание, что содержание транспортных белков у жителей Севера колеблется в широких пределах в связи с выраженной фотопериодичностью и напряженностью геомагнитного поля [2, 8].

Цель исследования – установить взаимосвязь содержания трансферрина, эритроцитов с функциональной активностью лейкоцитов периферической венозной крови у жителей Европейского Севера РФ.

Институт физиологии природных адаптаций ФГБУН ФИЦКИА им. акад. Н.П. Лаверова УрО РАН, г. Архангельск: **ПАШИНСКАЯ Ксения Олеговна** – аспирант 2 года обучения, м.н.с., nefksu@mail.ru, **САМОДОВА Анна Васильевна** – к.б.н., в.н.с., зав. лаб., annapoletaeva2008@yandex.ru, **ДОБРОДЕЕВА Лилия Константиновна** – д.м.н., проф., гл.н.с., директор, dobrodeevalk@mail.ru.