

АДЕНОКАРЦИНОМА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Ca755 В КАЧЕСТВЕ МОДЕЛИ ОПУХОЛИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

А.А. Липенгольц^{1,2,3}, А.А. Черепанов¹, В.В. Первова³, В.Н. Кулаков²,
Е.Ю. Григорьева¹, И.Н. Шейно²

¹ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

² Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна
ФМБА России, Москва

³ Национальный исследовательский ядерный университет “МИФИ”, Москва

Разработка новых и совершенствование существующих методов лучевой терапии невозможны без использования адекватных опухолевых моделей. Данные о радиочувствительности и скорости роста в выбранной модели необходимы для корректного планирования экспериментов по оценке противоопухолевой эффективности новых технологий лучевой терапии. Были изучены кинетические свойства и радиочувствительность мышинной аденокарциномы молочной железы Ca755, а также воздействие рентгеновского излучения в дозах от 7,5 до 20 Гр на скорость роста мышинной аденокарциномы молочной железы Ca755. Показано, что достоверно регистрируемое торможение роста опухоли начинается с дозы 7,5 Гр. Доза 20 Гр оказывает сильно выраженное противоопухолевое действие, приводящее к задержке роста опухоли в течение 24–31 сут и к полной регрессии опухоли у 30 % животных.

Ключевые слова: *радиочувствительность, опухолевая модель, Ca755, мышцы, торможение роста опухоли, аденокарцинома*

Введение

Несмотря на значительный прогресс современной радиологии в лечении онкологических заболеваний, смертность от рака остается по-прежнему второй по распространенности в мире после кардиологических заболеваний. Поэтому разработка новых и совершенствование существующих методов лучевой терапии является важной задачей [1]. Разработка новых методов, а также оптимизация существующих методов, невозможны без использования адекватных опухолевых моделей [2, 3]. Корректный выбор опухолевой модели является залогом успешных экспериментальных исследований.

В данной работе приводятся результаты исследования характеристик аденокарциномы молочной железы Ca755, необходимых для использования ее в качестве адекватной модели опухоли в экспериментальной радиологии. Аденокарцинома молочной железы Ca755 была получена в 1936 году от спонтанной опухоли у мыши самки линии С57В1 [4]. Данная опухоль не образует метастазов, имеет четкую локализацию и границы при подкожной перевивке, что важно для экспериментальной лучевой терапии. В рекомендациях по доклиническим испытаниям лекарственных средств [5] данная модель входит в список обязательных моделей для оценки противоопухолевого воздействия лекарствен-

ных средств. В данной работе исследованы кинетические свойства роста данной опухолевой модели после подкожной трансплантации ее мышам (длительность латентного периода и время удвоения объема опухоли T_d) и радиочувствительность опухоли в диапазоне доз излучения, оказывающих противоопухолевый эффект от слабовыраженного, до терапевтического, приводящего к полному исчезновению опухоли.

Материал и методы

В работе использовались мыши самки С57В1/6 с трансплантированной в заднюю правую голень аденокарциномой Ca755. Животные были получены из питомника Филиал “Столбовая” ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Все животные имели ветеринарное свидетельство по форме 1. Опухолевый штамм был получен из банка опухолевых культур РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Трансплантация опухоли осуществлялась подкожной инъекцией 0,2 мл 10 % суспензией опухолевых клеток в питательной среде. На 8–9 сут по достижению объема опухолей 0,2±0,1 см³ животных облучали рентгеновским излучением с напряжением на трубке 200 кВ. Мощность дозы в позиции облучения составляла 1,3 Гр/мин. Было проведено исследование радиочувствительности аденокарциномы Ca755 для следующих доз рентгеновского излучения: 7,5, 10, 15 и 20 Гр. Дальнейшее увеличение поглощенной дозы не производилось в связи с появлением радиационных повреждений кожи у животных. Работа с лабораторными животными, включая их содержание и трансплантацию опухолевых клеток, проводилась в соответствии с международными правилами.

Оценка противоопухолевого эффекта осуществлялась по динамике объема опухолей. Измерение объема опухолей осуществляли путем измерения поперечных размеров опухоли штангенциркулем в трех взаимно перпендикулярных плоскостях. Объем опухоли рассчитывали по формуле объема эллипсоида $V=(\pi/6) \times a \times b \times c$, где a, b, c – поперечные размеры опухоли в трех взаимно перпендикулярных плоскостях. Количественную оценку противоопухолевого эффекта производили по двум критериям [6]: максимальному за время наблюдения коэффициенту торможения роста опухоли (ТРО), определяемому по формуле (1) и логарифму погибших клеток (lgN), рассчитываемого по формуле (2):

$$ТРО \% = (V_t - V_c) / V_c \times 100 \%, \tag{1}$$

где V_t и V_c – средние объемы опухоли в опытной и контрольной группах,

$$lgN = (t_r - t_c) 0,301 / T_d, \tag{2}$$

где t_r и t_c – время достижения опухолью объема 1000 мм³ в опытной и контрольных группа соответственно, T_d – время удвоения объема опухоли в контрольной группе в экспоненциальной фазе роста.

Для удобного сравнения противоопухолевого эффекта, создаваемого различными величинами поглощенной дозы, использовалась шкала условной противоопухолевой активности. Соответствия условной шкалы противоопухолевой активности и значений ТРО и lgN приведены в табл. 1. Статистическая достоверность результатов оценивалась по U-критерию Манна–Уитни при $p < 0,05$.

Таблица 1

Соответствия условной шкалы противоопухолевой активности значениям ТРО и lgN

ТРО, %	Противоопухолевая активность по ТРО	lgN	Противоопухолевая активность
0–20	0	<0,5	–
20–50	±		
51–80	+	0,5–0,8	+
81–90	++	0,9–1,5	++
91–100, ПР* < 50 %	+++	1,6–2,6	+++
91–100, ПР* > 50 %	++++	> 2,6	++++

* ПР – доля животных в %, у которых наблюдалась полная регрессия опухоли

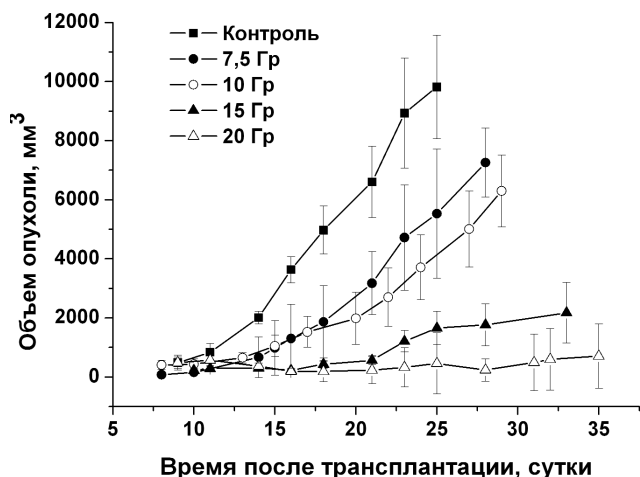


Рис. 1. Кинетические кривые объема опухоли для: контрольной необлученной группы (■), группы, облученной в дозе 7,5 Гр (●), группы, облученной в дозе 10 Гр (○), группы, облученной в дозе 15 Гр (▲), группы, облученной в дозе 20 Гр (△)

Результаты

По результатам наблюдения динамики объема опухоли во всех исследуемых группах животных были построены кинетические кривые роста опухолей (рис. 1). Время удвоения опухоли в контрольной группе (без облучения) в экспоненциальной фазе роста составило $2,5 \pm 0,1$ сут, латентный период 7–8 сут, а время достижения опухолью объема 1 см^3 – 11 ± 1 сут. По кинетическим кривым роста опухоли, для разных значений величины поглощенной дозы рентгеновского излучения были рассчитаны количественные параметры противоопухолевого эффекта (ТРО и lgN). Значения параметров приведены в табл. 2. В группе, облученной в дозе 20 Гр, у 30 % животных наблюдалась полная регрессия опухолей.

Обсуждение результатов

Аденокарцинома молочной железы Ca755 является удобной моделью для проведения радиобиологических экспериментов в экспериментальной онкологии. Опухоль характеризуется прививаемостью 100 % и сравнительно небольшим латентным периодом (7–8 сут). В экспоненциальной фазе характеризуется высокой скоростью роста (время удвоения $2,5 \pm 0,1$ сут), что позволяет в течение первых семи дней оценить результат терапии.

Отклик опухоли на воздействие рентгеновского излучения позволяет создавать необходимое для целей эксперимента торможение роста опухоли за однократное облучение без радиационного повреждения кожи. В диапазоне доз от 7,5 до 10 Гр наблюдается незначительное торможение роста опухоли (2–3 сут), характеризуемое низким уровнем противоопухолевой активности “+” (см. табл. 2). Доза 20 Гр оказывает серьезное торможение роста опухоли (время задержки роста составляет от 24 до 31 сут), имеющую максимальную степени условной противоопухолевой активности по логарифму погибших клеток “++++”. У 30 % животных, локально облученных в дозе 20 Гр, наблюдается полная регрессия опухолей. Радиационных повреждений кожи, а также других осложнений (снижения массы тела, потребления воды и корма) не наблюдалось.

Список литературы

- Кулаков В.Н., Липенгольц А.А., Григорьева Е.Ю., Шимановский Н.Л. Препараты для дистанционной лучевой терапии и их применение при злокачественных новообразованиях (обзор) // Хим.-фарм. журнал. 2016. Т. 50. № 6. С. 91–97.
- Lipengolts A.A., Cherepanov A.A., Kulakov V.N. et al. Antitumor efficacy of extracellular com-

Таблица 2

Значения количественных параметров ТРО и lgN противоопухолевого эффекта для всех исследованных величин поглощенной дозы

Поглощенная доза, Гр	ТРО, %	lg N	Условная противоопухолевая активность по ТРО/lgN
7,5	63 ± 2	$0,48 \pm 0,02$	+ / -
10	67 ± 2	$0,51 \pm 0,01$	+ / +
15	86 ± 2	$1,35 \pm 0,05$	++ / ++
20	98 ± 2	$3,07 \pm 0,08$	+++ / ++++

- plexes with gadolinium in Binary Radiotherapy // *Appl. Radiat. Isot.* 2015. Vol. 106. P. 233–236.
3. Липенгольц А.А., Черепанов А.А., Шейно И.Н. и соавт. Увеличение эффективности рентгенотерапии злокачественных новообразований при помощи гадолиний-содержащего препарата // *Радиац. биол. Радиоэкология*, 2014. Т. 54. № 5. С. 479–481.
 4. Вершинина С.Ф., Стуков А.Н. *Справочник по экспериментальной терапии опухолей.* – СПб: 2008. 36 с.
 5. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ.* – М.: Медицина. 2005. 832 с.
 6. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств.* Ч. 1. – М.: Гриф и К. 2013. 944 с.
 7. Teicher B.A., Andrews P.A. *Anticancer Drug Development Guide. Preclinical screening, Clinical Trials and Approval.* Humana Press. – New Jersey. 2004. 450 pp.

MAMMARY ADENOCARCINOMA CA 755 AS A TUMOR MODEL FOR EXPERIMENTAL RADIOTHERAPY

A.A. Lipengolts^{1,2,3}, A.A. Cherepanov¹, V.V. Pervova³, V.N. Kulakov², E Yu. Grigorieva¹, I.N. Sheino²

¹ N. N. Blokhin Russian Cancer Scientific Centre, Moscow, Russia

² A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Centre, Moscow, Russia

³ National Research Nuclear University “MEPhI”, Moscow, Russia

Development of new radiotherapy methods for treating cancer and increasing efficacy of the existing ones required proper animal tumor models. Data on radiosensitivity and tumor growth rate are necessary for proper planning of experiments on evaluating antitumor efficacy of new radiotherapy technologies. In this work kinetic properties and radiosensitivity of murine mammary adenocarcinoma Ca 755 were studied. Influence of X-rays in doses from 7.5 Gy to 20 Gy on tumor growth was determined. It was shown that reliable tumor growth suppression can be observed from dose of 7.5 Gy. The dose of 20 Gy caused very strong antitumor effect leading to tumor growth delay of 24–31 days and full tumor regression in 30 % of studied animals.

Key words: radiosensitivity, animal tumor model, Ca755, mice, tumor growth suppression, adenocarcinoma

E-mail: lipengolts@mail.ru