

ЗАКОНОМЕРНОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ СТ-26 В ХОДЕ ЕСТЕСТВЕННОГО РОСТА

УДК 616.35.001.6–006–092

Поступила 10.03.2015 г.



С.С. Кузнецов, д.м.н., зав. патологоанатомическим отделением¹; профессор кафедры

патологической анатомии²; ведущий научный сотрудник³;

Л.Б. Снопина, д.б.н., доцент, зав. отделом морфологии ЦНИЛ²;

М.М. Карабут, младший научный сотрудник лаборатории изучения оптической структуры биотканей

НИИ биомедицинских технологий²; аспирант кафедры биофизики³;

М.А. Сироткина, к.б.н., научный сотрудник лаборатории индивидуальной химиотерапии рака

НИИ биомедицинских технологий²;

Н.Л. Буянова, младший научный сотрудник научной лаборатории изучения оптической структуры биотканей

НИИ биомедицинских технологий²;

Т.И. Калганова, к.б.н., научный сотрудник лаборатории регенеративной медицины НИИ биомедицинских

технологий²;

В.В. Елагин, научный сотрудник лаборатории высокоразрешающей микроскопии и генных технологий

НИИ биомедицинских технологий²;

И.В. Сенина-Волжская, к.м.н., доцент кафедры стоматологии ФПКВ²;

Л.Н. Барбашова, студент биологического факультета³;

А.В. Шумилова, студент биологического факультета³;

Е.В. Загайнова, д.м.н., директор НИИ биомедицинских технологий²;

A. Vitkin, PhD M-CCPM, Senior Scientist, Division of Biophysics and Bioimaging,

Ontario Cancer Institute / Princess Margaret Cancer Centre; Professor, Department of Medical Biophysics⁴;

Н.Д. Гладкова, д.м.н., профессор, зам. директора по науке НИИ биомедицинских технологий²

¹Нижегородский областной онкологический диспансер, Н. Новгород, 603126, ул. Родионова, 190;

²Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

³Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Н. Новгород, 603950, проспект Гагарина, 23;

⁴University of Toronto, 610 University Avenue, Toronto, Ontario, M5G 2M9, Canada

Цель исследования — установление оптимальных сроков и морфологических параметров привитой опухоли СТ-26 для проведения оценки эффективности противоопухолевого лечения на основе морфологического и морфометрического изучения динамики естественного роста опухоли с выделением спектра возникающих структурных изменений по дням.

Материалы и методы. Закономерности морфологических изменений экспериментальных опухолей в ходе естественного роста оценивались у мышей линии Balb/c на модели аденокарциномы кишечника мышей СТ-26, привитой на внешней стороне ушной раковины мыши (n=20). Прививочная доза во всех случаях составляла 200 тыс. клеток. Животных выводили из эксперимента путем дислокации шейных позвонков на 4, 8, 11, 17–19 и 20–22-й дни после прививки. В каждой группе было по 4 животных. Удаленная опухоль подвергалась макроскопическому и гистологическому исследованию: на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином и пикрофуксином по методу Ван-Гизона, изучены количественный состав клеток, площадь стромы и паренхимы опухоли, объемная площадь сосудистого русла, площадь некрозов и гемодинамических расстройств, митотическая активность опухолевых клеток.

Результаты. Изучение закономерностей морфологических изменений экспериментальных опухолей СТ-26 в ходе естественного роста показало, что рост опухоли определяется не только митотической активностью клеток, но и степенью развития сосудистого русла, его способностью в полном объеме выполнять необходимую функциональную нагрузку.

Установлено, что ангиогенез в опухоли представляет собой волнообразный процесс, в определенной степени связанный с состоянием опухолевых клеток. Формирование сосудистого русла в виде синусоидных капилляров начинается с 4-го дня прививки и продолжается с нарастанием до 11-го дня. На 17–19-й день после прививки отмечается снижение доли сосудов в ткани опухоли, но уже к 20–22-му дню происходит ее увеличение с формированием не только синусных капилляров, но и сосудов более крупного калибра (до 200 мкм).

Проявления спонтанного патоморфоза характеризуются появлением клеток с необратимыми повреждениями ядра и цитоплазмы, параллельным снижением их митотической активности и возникновением мозаично расположенных участков спонтанного некроза. Спонтанный регресс также отражают наблюдаемые гемодинамические и гемореологические нарушения — полнокровие (гиперемия), стаз, сладж-феномен, диапедезные кровоизлияния. При этом прослеживается связь между выраженностью спонтанных регрессивных изменений и объемом опухоли в сочетании со степенью развития сосудистого русла.

При небольшом размере опухоли и хорошо развитой сосудистой сети, как это видно на 11-й день, спонтанный регресс проявляет-

Для контактов: Кузнецов Сергей Станиславович, e-mail: zunek@mail.ru

ся лишь в возникновении необратимых клеточных изменений в небольшом числе опухолевых клеток; в то же время большой размер опухоли с низким содержанием сосудов, что отмечается на 17–19-й день, характеризуется ощутимо высоким числом погибающих клеток (85%). Опухоли крупных размеров, наблюдаемые в сроки 20–22 дня после прививки, несмотря на более развитую сеть кровеносных сосудов, отличаются высоким уровнем спонтанного регресса, что позволяет сделать вывод о неадекватности уровня ангиогенеза потребностям пролиферирующих паренхиматозных элементов.

Заключение. Развитие карциномы характеризуется двумя параллельно идущими процессами: формированием опухоли как морфологического субстрата и развитием в ней спонтанных регрессивных изменений. Состояние опухолевых клеток и степень развития спонтанных регрессивных изменений зависят от размера опухоли, а также уровня развития и функционирования сосудистой сети. Результаты исследования позволяют утверждать, что для оценки эффективности противоопухолевого лечения могут быть использованы опухоли СТ-26, привитые на ухо мышей, со сроком развития не более 11 дней, так как начиная с этого периода времени в опухоли отмечаются отчетливые проявления спонтанного патоморфоза.

Ключевые слова: экспериментальная опухолевая модель; аденокарцинома кишечника мышей СТ-26; естественный рост опухоли; спонтанный регресс опухоли; опухолевый ангиогенез.

English

Features of Morphological Changes in Experimental CT-26 Tumors Growth

S.S. Kuznetsov, MD, DSc, Head of Pathological Anatomy Department¹; Professor, Department of Pathological Anatomy²; Leading Researcher³;

L.B. Snopova, DSc, Associate Professor, Head of the Morphological Department, Central Scientific Research Laboratory²;

M.M. Karabut, Junior Researcher, Laboratory of Study of Optical Structure of Biotissue, Institute of Biomedical Technologies²; PhD Student, Department of Biophysics³;

M.A. Sirotkina, PhD, Researcher, Laboratory of Individual Chemotherapy of Cancer, Institute of Biomedical Technologies²;

N.L. Buyanova, Junior Researcher, Laboratory of Study of Optical Structure of Biotissue, Institute of Biomedical Technologies²;

T.I. Kalganova, PhD, Researcher, Laboratory of Regenerative Medicine, Institute of Biomedical Technologies²;

V.V. Elagin, Researcher, Laboratory of High Resolution Microscopy and Genetic Technologies, Institute of Biomedical Technologies²;

I.V. Senina-Volzskaya, MD, PhD, Associate Professor, Department of Stomatology, Postgraduate Faculty²;

L.N. Barbashova, Student, Faculty of Biology³;

A.V. Shumilova, Student, Faculty of Biology³;

E.V. Zagaynova, MD, DSc, Director of Institute of Biomedical Technologies²;

A. Vitkin, PhD M-CCPM, Senior Scientist, Division of Biophysics and Bioimaging, Ontario Cancer Institute / Princess Margaret Cancer Centre; Professor, Department of Medical Biophysics⁴;

N.D. Gladkova, MD, DSc, Professor, Vice Director for Science, Institute of Biomedical Technologies²

¹Nizhny Novgorod Regional Oncologic Hospital, 190 Rodionova St., Nizhny Novgorod, 603126, Russian Federation;

²Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation;

³Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation;

⁴University of Toronto, 610 University Avenue, Toronto, Ontario, M5G 2M9, Canada

The aim of the investigation was to determine the optimal dates and morphological parameters of inoculated CT-26 tumors for evaluating the effectiveness of anti-cancer therapy. This was undertaken on the basis of morphological and morphometric investigations of the tumor growth dynamics by identifying the daily structural changes which were occurring.

Materials and Methods. The features of morphological changes in experimental tumors growth were evaluated on Balb/c mice using the mouse colon CT-26 adenocarcinoma inoculated onto the external side of mouse ear auricles (n=20). The inoculation dose in all cases was $2 \cdot 10^5$ cells. The animals were removed by cervical dislocation on days 4, 8, 11, 17–19 or 20–22 after the inoculation. Each group consisted of four animals. The excised tumor was exposed to macroscopic and histological investigation. The specimens were stained by hematoxylin and eosin and picro-fuchsin using the Van-Gieson method. There were examined the quantitative composition of the cells the areas of the stroma and tumor parenchyma, the volume of the vascular bed, the area of necrosis and the presence of hemodynamic disruptions, the mitotic activity of the tumor cells.

Results. The study of the features of morphological changes in experimental tumors growth showed that tumor growth is determined not only by the mitotic activity of the cells, but also by the degree of the vascular bed development and its capacity for performing its required functional load to the full.

It was found that tumor angiogenesis is a fluctuating process which is, to a certain degree, connected with the state of the tumor cells. The formation of the vascular bed in the form of sinusoidal capillaries begins on day 4 after inoculation and it increases continuously until day 11. Between days 17–19 after inoculation there is a decrease in the proportion of vessels in the tumor tissue, but by days 20–22 this has increased again with the formation not only of sinusoidal capillaries, but also of vessels of larger diameters (to 200 μm).

The manifestations of spontaneous tumor regression are characterized by the occurrence of cells with irreversible damage to their nuclei and cytoplasm with a parallel decrease in their mitotic activity, and by the appearance of mosaically located areas of spontaneous necrosis. Spontaneous regression is also reflected in the observation of hemodynamic and hemorheologic disorders — plethora (hyperemia), stasis, the sludge-phenomenon and diapedetic hemorrhage. Here there is a connection between the severity of the changes associated with spontaneous regression and the relationship of the tumor volume to the degree of the vascular bed development.

When the tumor is small and the vascular network is well-developed, as is seen on day 11, spontaneous regression is revealed only by irreversible cell changes in a small number of tumor cells, while, by contrast, the bigger tumor size with a small number of vessels, as is registered on days 17–19, is characterized by a considerably greater number of dead cells (85%). The tumors of larger sizes observed on days 20–22 after inoculation, despite their more developed network of blood vessels, are characterized by a high level of spontaneous regression, which leads us to the conclusion that there is a mismatch between the level of angiogenesis in relation to the needs of the proliferating parenchymal elements.

Conclusion. The development of this carcinoma is characterized by two parallel processes: the formation of the tumor as a morphological substrate and the development of spontaneous regressive changes within it. The state of the tumor cells and the degree of development of spontaneous regressive changes depend on both the size of the tumor and on the level of development and functioning of the vascular network. These findings suggest that when using CT-26 tumors inoculated into mouse ears for evaluating the effectiveness of anti-cancer therapy periods of greater than 11 days should be avoided, as from this time there are evident manifestations of spontaneous pathomorphism in the tumor.

Key words: experimental tumor model; CT-26 colon adenocarcinoma of mice; tumor growth; spontaneous tumor regression; tumor angiogenesis.

На протяжении не одного десятилетия в качестве модели опухолевого роста и как объект изучения эффективности вновь разработанных терапевтических воздействий на опухоль среди многочисленных вариантов используется экспериментальная модель колоректальной аденокарциномы СТ-26. В ходе ее изучения описаны морфологические особенности новообразования, митотическая активность, неоангиогенез. Кроме того, раскрыты некоторые стороны динамики опухолевого роста [1–3].

В проведенных исследованиях СТ-26 характеризуется как инкапсулированная анапластическая опухоль, состоящая из клеток, варьирующих по размеру и величине ядерно-цитоплазматического соотношения; отмечено высокое содержание митотически делящихся элементов (до 5 в поле зрения), но в то же время отсутствует информация о стромально-паренхиматозных взаимоотношениях и нет данных о процессах, отражающих спонтанный регресс опухоли [4]. Характеристика ее сосудистой сети сводится к описанию мозаично расположенных сосудов — капилляров синусоидного типа со средним диаметром, колеблющимся в пределах от 10 до 19 мкм, при этом нет сведений о возможных гемореологических и гемодинамических расстройствах в опухолевом узле [5]. Авторы [6] указывают, что кровеносные сосуды, видимые в пределах опухолевого узла в начале роста карциномы, являются собственной сосудистой сетью органа, в который привита опухоль, но нет ясности в вопросе о начале неоангиогенеза в экспериментальных новообразованиях. Приводятся разные сроки появления сосудов: от 72 ч со дня прививки [7] до 2 нед [4], однако эта информация основана на использовании разных по локализации моделей СТ-26.

В ходе разработки инновационных прижизненных

методов ранней инструментальной диагностики новообразований перед нами встал круг задач, для решения которых имеющейся литературной информации оказалось недостаточно либо она вообще отсутствует. К их числу относится определение основных закономерностей развития структурных изменений экспериментальной опухоли СТ-26, оценка динамики становления микроциркуляции экспериментальной опухоли в ходе естественного роста и, в итоге, выбор оптимальной модели экспериментальной опухоли для оценки эффективности противоопухолевого лечения.

Цель исследования — установление оптимальных сроков и морфологических параметров привитой опухоли СТ-26 для проведения оценки эффективности противоопухолевого лечения на основе морфологического и морфометрического изучения динамики естественного роста опухоли с выделением спектра возникающих структурных изменений по дням.

Материалы и методы. Закономерности морфологических изменений экспериментальных опухолей в ходе естественного роста оценивались у мышей линии Balb/c с моделью аденокарциномы кишечника мышей СТ-26, привитой на внешней стороне ушной раковины мыши. При работе с животными руководствовались правилами для проведения работ с использованием экспериментальных животных [8] и Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных [9], неукоснительно соблюдали этические принципы, установленные Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.). Эксперименты на животных в рамках исследования были разрешены Этическим комитетом НижГМА.

Прививку опухоли осуществляли внутрикожно в ушную раковину согласно работе [10]. Прививочная доза во всех случаях составляла 200 тыс. клеток. Опухоль была привита 26 мышам, опухолевые узлы сформировались у 20 животных. Через 4 сут после прививки и далее на 8, 11, 17–19, 20–22-е сутки животных выводили из эксперимента путем дислокации шейных позвонков. В каждой группе с различными сроками наблюдения было по 4 животных. Удаленную опухоль измеряли, а затем помещали в 10% раствор нейтрального формалина для фиксации, где она находилась в течение 24 ч. Из фиксированного материала вырезали кусочки для последующего гистологического исследования. С этой целью проводили заливку их в парафин (использовалась среда Histomix-extra, «БиоВитрум», Россия) с последующей монтировкой парафиновых блоков. На ротационном микротоме Leica 450RM (Leica Microsystems, Германия) с полученных блоков изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и пикрофуксином по Ван-Гизону. Гистологические препараты изучали в световом микроскопе Leica DM1000 (Leica Microsystems, Германия), микрофотографии получали с помощью цифровой видеокамеры Leica DFC290 (Leica Microsystems, Германия). Помимо микроскопического описания новообразования выполнены морфометрические исследования количественного состава клеток, площади стромы и паренхимы опухоли, объемной площади сосудистого русла, площади некрозов, гемодинамических расстройств, митотической активности опухолевых клеток, основу которых составили методики точечного счета и полей, предложенные Г.Г. Автандиловым [11].

Результаты и обсуждение. Исследование начиналось с изучения опухоли на 4-й день после прививки. Уже в этот, достаточно ранний, срок мы видели формирование опухоли как субстрата с образованием узла со средним объемом 0,8–1,0 мм³. Опухоли на раннем сроке развития не располагались вплотную к эпидермису, между опухолевыми клетками и его базальным слоем обнаруживался тонкий слой дермы с полнокровными

сосудами. Карцинома имела гистиоидный тип строения и по микроскопической картине относилась к недифференцированному раку с IV степенью злокачественности (G) (рис. 1, а). Стромальный компонент, как и следовало ожидать в гистиоидных опухолях, был скудным и составлял 0,35±0,20% площади новообразования; 99,6±0,3% приходилось на долю паренхимы. В глубоких отделах опухоли удавалось обнаружить единичные синусоидного типа полнокровные капилляры диаметром от 7 до 20 мкм, составлявшие 0,15±0,05% от площади опухолевого узла, и мелкие артериолы, являвшиеся собственными сосудами дермы, которые оказались в пределах карциномы вследствие ее инфильтративного роста (в объеме площади сосудистого компонента опухоли они не учитывались). Опухоль отличалась высокой пролиферативной активностью, на что указывало значительное количество митозов в клетках — от 9 до 11 в поле зрения, патологии деления не отмечалось (рис. 1, б).

На 8-й день после прививки опухоли достигали объема 7,1–8,4 мм³. Они вплотную подрастали к эпидермису, но без инвазии в него (рис. 2, а). Структура опухоли оставалась типовой с высокой митотической активностью и синусоидными сосудами до 21 мкм в диаметре, суммарная площадь которых составляла 0,10±0,03%. В части сосудов отмечалось полнокровие (рис. 2, б).

Наблюдения этой группы показали, что, несмотря на увеличение объема опухоли, содержание сосудистого компонента оставалось неизменным. Это позволяет говорить об отставании ангиогенеза от темпов нарастания опухолевой массы.

На 11-й день после прививки опухоль достигала объема 11,2–12,4 мм³. В эпидермисе отмечаются фокусы некроза, пропитанные фибрином, лейкоцитами, изъязвления из-за инфильтративного роста опухоли. Клетки опухоли значительно варьируют по форме и размеру, в 8,5% клеток видны необратимые изменения ядер (кариопикноз, кариорексис и кариолизис). Митозов насчитывалось до 10 в поле зрения, большая их часть были патологические. Сосудистый компонент составил 1,5±0,1% площади новообразования. Все опухолевые

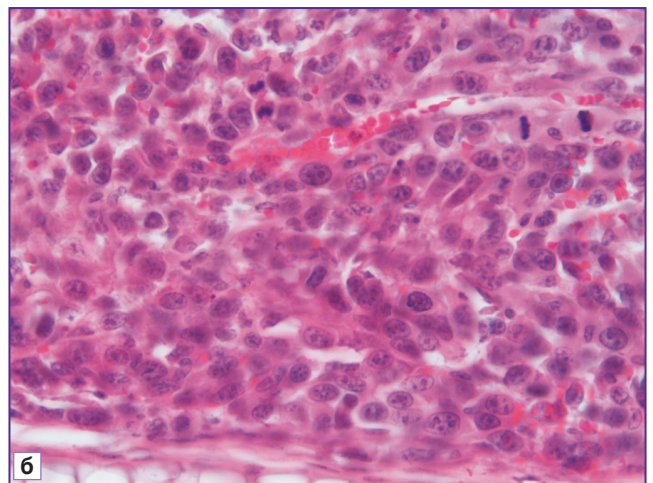
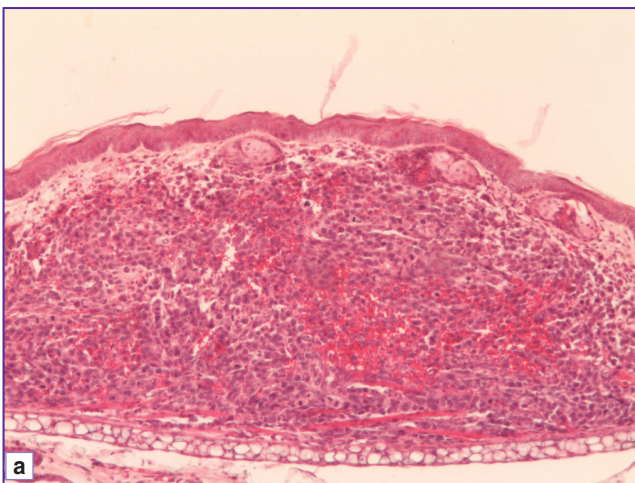


Рис. 1. Естественный рост опухоли СТ-26, 4-й день развития; окраска гематоксилином и эозином; а — об. ×10; б — об. ×40

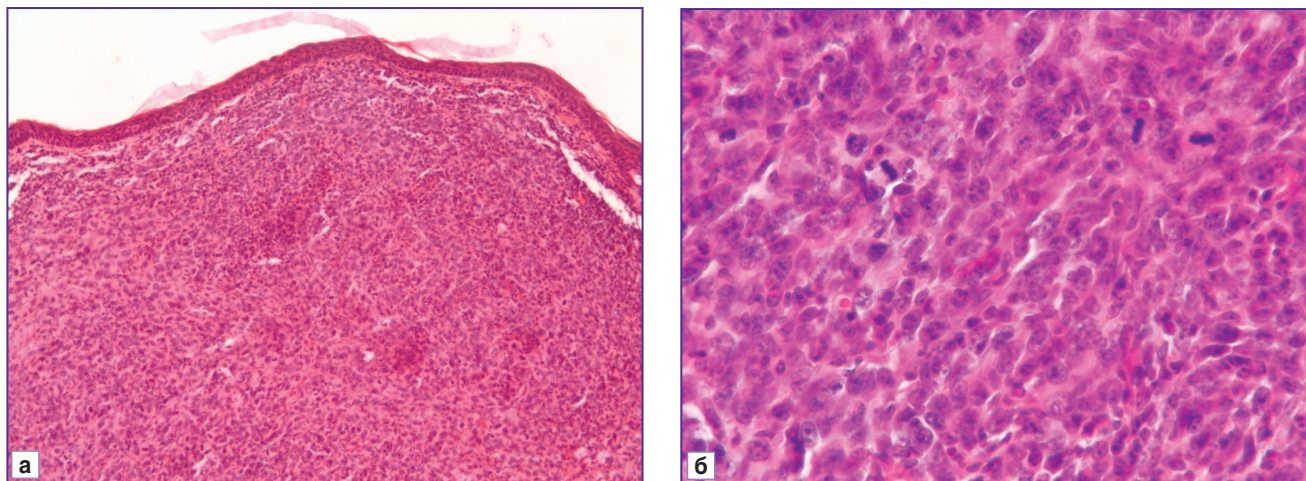


Рис. 2. Естественный рост опухоли СТ-26, 8-й день развития; окраска гематоксилином и эозином; а — об. $\times 10$; б — об. $\times 40$

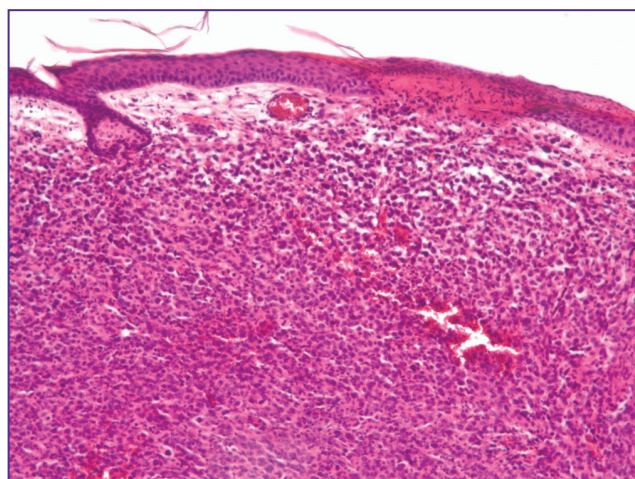


Рис. 3. Естественный рост опухоли СТ-26, 11-й день развития; окраска гематоксилином и эозином; об. $\times 10$

сосуды представляли собой капилляры синусоидного типа с диаметром просветов от 7 до 21 мкм, все отличались полнокровием. Помимо этого в опухоли были видны редкие, мелкие диапедезные кровоизлияния, располагающиеся диффузно, без четкой топографии. Наблюдаемые изменения клеток и гемодинамические расстройства следует отнести к началу спонтанных регрессивных изменений (рис. 3).

На 17–19-й день после прививки морфологическая картина уже заметно отличалась от предыдущей. Объем опухолей достигал 16,8–20,3 мм³. Опухоль прорастала в эпидермис, в ее структуре наблюдались явления спонтанного некроза, располагающегося как поверхностно, так и в глубине узла (рис. 4, а). В пределах новообразования определялись кровеносные сосуды синусного типа до 20 мкм в диаметре с полнокровием, мелкими диапедезными кровоизлияниями, стазом и сладж-феноменом. Обращало на себя внимание низкое содержание сосудистого компонента — $0,6 \pm 0,2\%$. Очагового разрушения общей анатомической струк-

туры опухоли не возникло (рис. 4, б), при этом в 85% клеток зафиксированы цитоплазматические повреждения, а в 25% из них — необратимые повреждения ядер. Проллиферативная активность упала, митозов обнаружено до 5 в поле зрения, причем все они патологические (рис. 4, в). На наш взгляд, низкое содержание сосудистого компонента в опухоли может служить отражением торможения ангиогенеза, возникающего в промежутки времени с 11-го по 17-й день. Этот факт позволяет сделать заключение о реализации клеточно-сосудистых взаимоотношений по принципу обратной связи. В свою очередь большое количество погибающих клеточных элементов в данном случае (85%) подтверждает отставание ангиогенеза от пролиферативных потенций и вызывает ослабление системы жизнеобеспечения опухолевых клеток.

Заключительным этапом исследования послужило изучение опухоли на 20–22-й день после прививки. В первую очередь, новообразования отличались крупными размерами — от 21,8 до 24,5 мм³ при типичной

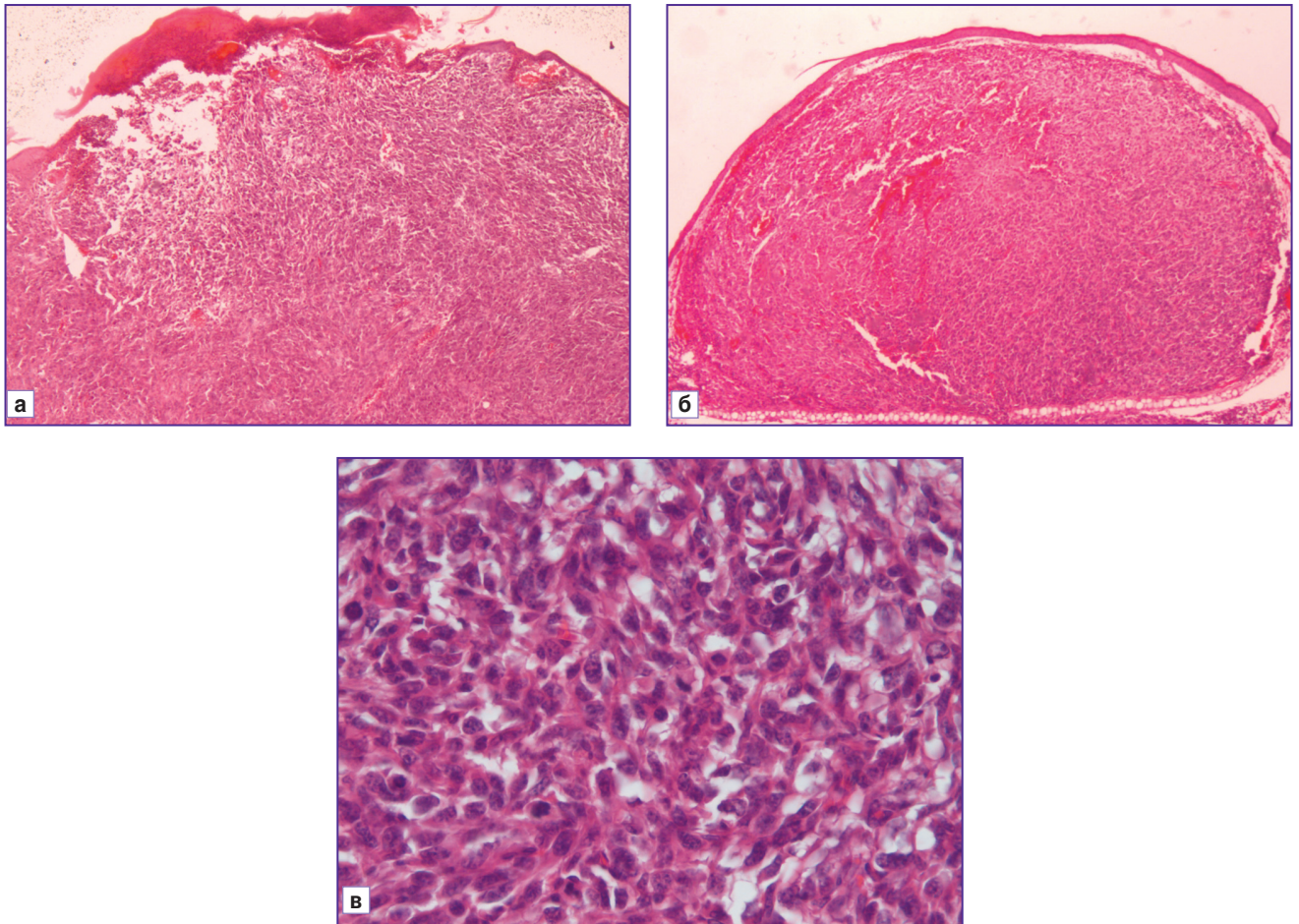


Рис. 4. Естественный рост опухоли СТ-26, 19-й день развития; окраска гематоксилином и эозином; а, б — об. $\times 4$; в — об. $\times 40$

для СТ-26 структуре. Хорошо были видны мозаично расположенные очаги спонтанного некроза, которые отмечались как у поверхности, так и в глубине и занимали в отдельных случаях до 97% площади. Вне полей некроза наблюдались опухолевые клетки с ядерными изменениями и коагуляцией цитоплазмы (15%). Кроме этого были обнаружены беспорядочно расположенные сосуды синусоидного типа и мелкие артериолы диаметром от 10 до 200 мкм, находящиеся в глубинных отделах карциномы. Сосудистый компонент составил $1,5 \pm 0,3\%$ площади опухоли. В кровеносных сосудах отмечалось полнокровие, а в единичных — эритроцитарные тромбы, стаз и диапедез эритроцитов (рис. 5). В то же время можно было видеть небольшие участки опухоли без регрессивных изменений. В них количество митозов достигало 4 в поле зрения.

Обнаруженные изменения позволяют сделать заключение о разворачивании в опухоли процессов гибели, являющихся проявлением спонтанного патоморфоза. При этом полного регресса опухоли не возникает, а наличие неповрежденных участков с пролиферирующими клетками, высокое содержание сосудистого компонента по сравнению с предыдущими наблюдениями говорят о продолжающемся росте опухоли.

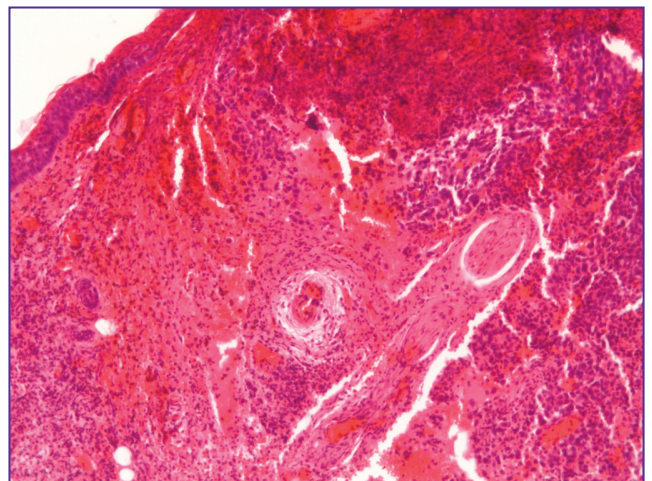


Рис. 5. Естественный рост опухоли СТ-26, 22-й день развития; окраска гематоксилином и эозином; об. $\times 10$

Таким образом, изучение закономерностей морфологических изменений экспериментальных опухолей СТ-26 в ходе естественного роста показало, что увели-

чение опухоли определяется не только митотической активностью клеток, но и степенью развития сосудистого русла, его способностью в полном объеме выполнять необходимую функциональную нагрузку.

Как следует из представленных результатов, ангиогенез в опухоли происходит не равномерно по нарастающей, а представляет собой волнообразный процесс, в определенной степени обусловленный состоянием опухолевых клеток. Формирование сосудистого русла в виде синусоидных капилляров начинается с 4-го дня прививки и далее в целом развивается в сторону увеличения до 11-го дня. На 17–19-й день после прививки наблюдается снижение доли сосудов в ткани опухоли, что, по всей видимости, свидетельствует о замедлении формирования сосудистой сети, которое гистологически вновь становится заметным к 20–22-му дню с появлением не только синусных капилляров, но и сосудов более крупного калибра (до 200 мкм).

Проявления спонтанного патоморфоза характеризуются появлением клеток с необратимыми повреждениями ядра и цитоплазмы, параллельным снижением их митотической активности и возникновением мозаично расположенных участков спонтанного некроза. Наблюдаемые гемодинамические и гемореологические нарушения — полнокровие (гиперемия), стаз, сладж-феномен, диапедезные кровоизлияния — служат компонентом структурных изменений, также отражающих спонтанный регресс. При этом прослеживается связь между выраженностью спонтанных регрессивных изменений и объемом опухоли в сочетании со степенью развития сосудистого русла.

Отчетливые проявления спонтанного регресса опухоли можно было наблюдать на 11-е сутки после прививки в виде мелких диффузно расположенных диапедезных кровоизлияний и небольшой части клеток опухоли с необратимыми изменениями ядра. Максимальной степени выраженности спонтанный патоморфоз достигал на 20–22-й день, где очаги некроза опухоли составляли до 97% площади новообразования.

В ходе сопоставления этих данных с показателями ангиогенеза и размерами опухолей установлено, что при небольшом размере опухоли и хорошо развитой сосудистой сети, как это отмечается на 11-й день, спонтанный регресс проявлялся лишь в возникновении необратимых клеточных изменений в небольшом проценте опухолевых клеток, в то же время большого размера опухоли с низким содержанием сосудов, что регистрируется на 17–19-й день, характеризовались ощутимо высоким процентом погибающих клеток (85%). Опухоли крупных размеров, наблюдаемые в сроки 20–22 дня после прививки, несмотря на более развитую сеть кровеносных сосудов, отличались высоким уровнем спонтанного регресса, что позволяет сделать вывод о неадекватности уровня ангиогенеза потребностям пролиферирующих паренхиматозных элементов.

Не вызывает сомнения, что развивающийся спонтанный патоморфоз может мешать оценке опухолевого ответа на терапию, так как, безусловно, вносит свой вклад в количественные параметры, отражающие ги-

бель структурных элементов новообразования (паренхимы, экстрацеллюлярного матрикса).

Заключение. Морфологическое и морфометрическое изучение динамики естественного роста привитой опухоли СТ-26 свидетельствует, что развитие карциномы характеризуется двумя параллельно идущими процессами: формированием опухоли как морфологического субстрата и развитием в ней спонтанных регрессивных изменений. Состояние опухолевых клеток и степень развития спонтанных регрессивных изменений зависят от размера опухоли, а также уровня развития и функционирования сосудистой сети. Со своей стороны, ангиогенез является процессом, зависимым от состояния опухолевых клеток, увеличение массы которых требует роста кровоснабжения опухоли. Результаты исследования позволяют утверждать, что для оценки эффективности противоопухолевого лечения могут быть использованы опухоли СТ-26, привитые на ухо мышей, со сроком развития не более 11 дней, так как начиная с этого периода времени в опухоли отмечаются отчетливые проявления спонтанного патоморфоза.

Финансирование исследования. Исследования финансировались по программе Правительства РФ по договору №14В25.31.0015.

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература

1. Rosenberg D.W., Giardina C., Tanaka T. Mouse models for the study of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2009; 30(2): 183–196, <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgn267>.
2. Taketo M.M., Edelmann W. Mouse models of colon cancer. *Gastroenterology* 2009; 136(3): 780–798, <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2008.12.049>.
3. Tanaka Y., Eda H., Tanaka T., Udagawa T., Ishikawa T., Horii I., Ishitsuka H., Kataoka T., Taguchi T. Experimental cancer cachexia induced by transplantable colon 26 adenocarcinoma in mice. *Cancer Res* 1990; 50(8): 2290–2295.
4. Aulino P., Berardi E., Cardillo V.M., Rizzuto E., Perniconi B., Ramina C., Padula F., Spugnini E.P., Baldi A., Faiola F., Adamo S., Coletti D. Molecular, cellular and physiological characterization of the cancer cachexia-inducing C26 colon carcinoma in mouse. *BMC Cancer* 2010; 10: 363, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2407-10-363>.
5. Chang Y.S., di Tomaso E., McDonald D.M., Jones R., Jain R.K., Munn L.L. Mosaic blood vessels in tumors: frequency of cancer cells in contact with flowing blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(26): 14608–14613, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.97.26.14608>.
6. Kruskal J.B. Can optical imaging assist in characterization of the onset of angiogenesis in developing hepatic metastases in mice livers? *Radiology* 2007; 243(2): 307–308, <http://dx.doi.org/10.1148/radiol.2432061988>.
7. Knighton D., Ausprunk D., Tapper D., Folkman J. Avascular and vascular phases of tumour growth in the chick embryo. *Br J Cancer* 1977; 35(3): 347–356, <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.1977.49>.
8. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 №708н «Об утверждении Правил лабораторной практики в Российской Федерации».

9. Международные рекомендации (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных. 1985.

10. Song H.-W., Lee S.-W., Jung M.-H., Kim K.R., Yang S., Park J.W., Jeong M.-S., Jung M.Y., Kim S. Optical monitoring of tumors in BALB/c nude mice using optical coherence tomography. *Journal of the Optical Society of Korea* 2013; 17(1): 91–66, <http://dx.doi.org/10.3807/josk.2013.17.1.091>.

11. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М: Медицина; 1990.

References

1. Rosenberg D.W., Giardina C., Tanaka T. Mouse models for the study of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2009; 30(2): 183–196, <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgn267>.

2. Taketo M.M., Edelmann W. Mouse models of colon cancer. *Gastroenterology* 2009; 136(3): 780–798, <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2008.12.049>.

3. Tanaka Y., Eda H., Tanaka T., Udagawa T., Ishikawa T., Horii I., Ishitsuka H., Kataoka T., Taguchi T. Experimental cancer cachexia induced by transplantable colon 26 adenocarcinoma in mice. *Cancer Res* 1990; 50(8): 2290–2295.

4. Aulino P., Berardi E., Cardillo V.M., Rizzuto E., Perniconi B., Ramina C., Padula F., Spugnini E.P., Baldi A., Faiola F., Adamo S., Coletti D. Molecular, cellular and physiological characterization of the cancer cachexia-inducing C26 colon carcinoma in mouse. *BMC Cancer* 2010; 10: 363, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2407-10-363>.

5. Chang Y.S., di Tomaso E., McDonald D.M., Jones R., Jain R.K., Munn L.L. Mosaic blood vessels in tumors: frequency of cancer cells in contact with flowing blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(26): 14608–14613, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.97.26.14608>.

6. Kruskal J.B. Can optical imaging assist in characterization of the onset of angiogenesis in developing hepatic metastases in mice livers? *Radiology* 2007; 243(2): 307–308, <http://dx.doi.org/10.1148/radiol.2432061988>.

7. Knighton D., Ausprunk D., Tapper D., Folkman J. Avascular and vascular phases of tumour growth in the chick embryo. *Br J Cancer* 1977; 35(3): 347–356, <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.1977.49>.

8. *Prikaz Minzdravsotsrazvitiya RF ot 23.08.2010 №708n "Ob utverzhdenii Pravil laboratornoy praktiki v Rossiiskoy Federatsii"* [Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation Decree No.708n as of Aug 23, 2010 "On good laboratory practices of the Russian Federation"].

9. *Mezhdunarodnye rekomendatsii (eticheskiy kodeks) po provedeniyu mediko-biologicheskikh issledovaniy s ispol'zovaniem zhivotnykh* [International guiding principles (ethical code) for biomedical research involving animals]. 1985.

10. Song H.-W., Lee S.-W., Jung M.-H., Kim K.R., Yang S., Park J.W., Jeong M.-S., Jung M.Y., Kim S. Optical monitoring of tumors in BALB/c nude mice using optical coherence tomography. *Journal of the Optical Society of Korea* 2013; 17(1): 91–66, <http://dx.doi.org/10.3807/josk.2013.17.1.091>.

11. Avtandilov G.G. *Meditsinskaya morfometriya* [Medical morphometry]. Moscow: Meditsina; 1990.