

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-257

**МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОГРЕССИИ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО ЛЬЮИС У МЫШЕЙ С РАЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ\*****MOLECULAR-BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF LEWIS LUNG CARCINOMA PROGRESSION IN MICE WITH DIFFERENT HYPOXIA TOLERANCE**

М. А. Маяк, Д. Ш. Джалилова, О. В. Макарова

*НИИ морфологии человека им. акад. А. П. Авцына,  
Российский научный центр хирургии им. акад. Б. В. Петровского, Москва*

M. A. Maiak, D. Sh. Dzhililova, O. V. Makarova

*Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow*

✉ juliajal93@mail.ru

**Аннотация**

В работе с использованием морфологических и молекулярно-биологических методов проведено исследование опухолевой прогрессии карциномы легкого Льюис у животных с разной устойчивостью к недостатку кислорода. Выявлен более выраженный провоспалительный фенотип у низкоустойчивых к гипоксии животных, а у высокоустойчивых — более высокий митотический индекс опухолей. Различий площади метастазов в легких не обнаружено.

**Abstract**

In the present study the features of progression of Lewis lung carcinoma in animals with low and high hypoxia resistance were characterized using morphological and molecular-biological methods. A more pronounced pro-inflammatory phenotype was identified in low resistant to hypoxia animals, a higher mitotic index of primary tumors was found in high resistant to hypoxia animals. There were no differences in metastasis between two groups.

Условия гипоксии играют важнейшую роль на всех этапах развития солидных опухолей, оказывая влияние на пролиферацию, метаболизм опухолевых клеток, ангиогенез, иммунный ответ. Гипоксия в опухоли является фактором неблагоприятного прогноза, так как способствует опухолевой прогрессии, увеличивая метастатический потенциал опухолевых клеток и формируя резистентность к терапии. Ранее нами показано, что течение воспалительных реакций и инициация опухолей зависят от индивидуальной устойчивости к недостатку кислорода [1, 2]. Однако вопрос об особенностях метастазирования опухолей у высокоустойчивых (ВУ) и низкоустойчивых (НУ) к гипоксии животных остается открытым.

Исследование проведено на самцах мышей линии C57BL/6 массой тела 20–22 г, разделенных на ВУ и НУ к гипоксии по «времени жизни» на «высоте» 10 000 м в барокамере. Через месяц после определения устойчивости к гипоксии ВУ (n = 30) и НУ (n = 27) животным подкожно вводили 5 млн клеток карциномы легкого Льюис (LLC) в область правой подмышечной впадины. В ходе эксперимента отслеживали гибель мышей. Животных выводили из эксперимента методом цервикальной дислокации под эфирным наркозом на 21-е (по 12 мышей из каждой группы) и 28-е сутки (14 ВУ и 12 НУ мышей) после введения клеток LLC. Проводили забор крови из шейных вен для лабораторного анализа крови и проточной цитофлуориметрии. Получали первичный опухолевый узел и правое легкое для проведения морфологического исследования. В подкожных опухолях оценивали митотический индекс, в легких на серийных ступенчатых срезах с использованием программного обеспечения ImageJ вычисляли площади, занимаемые метастазами. В тканях печени определяли экспрессию генов *Hif1a*, *Nfkb*, *Tnfa*, *Tgfb*, *Il1*, *Il6*, *Il10* методом ПЦР-РВ относительно уровня экспрессии *Gapdh*.

Гибель ВУ и НУ животных составила 13,4 и 11,2 % соответственно. У 4 ВУ и 2 НУ животных опухоли не обнаружены. На 21-е сутки после трансплантации опухолевых клеток метастазы обнаружены у 4 из 12 ВУ (33,3 %) и у 4 из 12 НУ (33,3 %) к гипоксии животных, а на 28-е сутки — у 9 из 14 ВУ (64,3 %) и 7 из 12 НУ (58,3 %) мышей. Статистически значимых различий по перечисленным показателям между двумя группами не обнаружено. По данным лабораторного анализа крови у ВУ и НУ к гипоксии мышей на 28-е сутки эксперимента по сравнению с контрольными группами обнаружено повышение абсолютного числа лейкоцитов, моноцитов и гранулоцитов,

\* Исследование выполнено в рамках государственного задания № 122030200530-6.  
© М. А. Маяк, Д. Ш. Джалилова, О. В. Макарова, 2024

снижение процентного содержания лимфоцитов, повышение процентного содержания гранулоцитов. У животных обеих групп обнаружено снижение числа эритроцитов и содержания гемоглобина крови по сравнению с контрольными группами: у ВУ животных на 21-е и 28-е, у НУ — только на 28-е сутки эксперимента. По данным проточной цитометрии относительное и абсолютное число цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-хелперов, НК-клеток и В-лимфоцитов в периферической крови ВУ и НУ мышей экспериментальных и контрольных групп не различалось. Обнаружено повышение абсолютного количества CD11b+ моноцитов в крови НУ мышей на 28-е сутки по сравнению с контролем. Как на 21-е, так и на 28-е сутки эксперимента по данным анализа пролиферативной активности первичных подкожных опухолей обнаружен более высокий митотический индекс клеток опухоли у ВУ к гипоксии животных. Статистически значимой разницы по показателю площади метастазов в легких между ВУ и НУ мышами не обнаружено в оба срока эксперимента. Экспрессия мРНК маркера ответа на гипоксию *Hif1a* и воспалительного фактора *Nfkb* в печени на 28-е сутки эксперимента была выше у НУ к гипоксии животных. Только в группе НУ мышей обнаружено повышение экспрессии гена *Nfkb* на 28-е сутки эксперимента по сравнению с 21-ми сутками. У НУ к гипоксии животных обнаружена более высокая по сравнению с ВУ активация экспрессии провоспалительного цитокина *Tnfa* (на 21-е и 28-е сутки эксперимента) и противовоспалительного *Tgfb* (на 28-е сутки). Только у НУ мышей обнаружено повышение экспрессии *Tnfa* и снижение экспрессии *Tgfb* на 21-е сутки эксперимента по сравнению с контрольной группой. Статистически значимых изменений экспрессии *Il1*, *Il6* и *Il10* в печени не выявлено.

Таким образом, прогрессия и метастазирование карциномы легкого Льюис у НУ к гипоксии мышей отличается более выраженным провоспалительным фенотипом: более высокой экспрессией мРНК *Hif1a*, *Nfkb*, *Tnfa*, *Tgfb* в печени. ВУ к гипоксии животные характеризуются более высоким митотическим индексом первичных подкожных опухолей. При этом различий в площади метастазов в легких между группами не выявлено.

### Литература

1. Dzhililova D. Sh., Zolotova N.A., Mkhitarov V.A. et al. Morphological and molecular-biological features of glioblastoma progression in tolerant and susceptible to hypoxia Wistar rats // Scientific Reports. 2023. Vol. 13 (1). P. 12694.
2. Fridman I.A., Ponomarenko E.A., Makarova O.V. et al. Morphological Characteristic of Melanoma B16 Progression in C57BL/6 Mice with High and Low Resistance to Hypoxia // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2020. Vol. 168 (3). P. 390–394.