



© CC Коллектив авторов, 2022
УДК [616-006.81 : 57.034]-092.4
DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-2-68-76

Ю. А. Кириллов, М. А. Козлова, Л. А. Макарецца, А. В. Борисов, М. В. Муратова,
Д. А. Арешидзе*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А. П. Авцына», Москва, Россия

ЦИРКАДНЫЕ РИТМЫ И НЕКОТОРЫЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕЛАНОМЫ В16

Поступила в редакцию 15.03.2022 г.; принята к печати 23.05.2022 г.

Резюме

Введение. Меланома является одной из наиболее злокачественных опухолей человека, происходящей из меланин-образующей ткани. В настоящее время среди факторов риска развития злокачественных новообразований, в том числе и меланомы, рассматривается световое загрязнение — воздействие света в ночное время. В свою очередь, нарушение циркадной ритмичности в условиях светового загрязнения нередко приводит к возникновению десинхронозов, которые могут быть причиной развития целого ряда заболеваний, в том числе и злокачественных новообразований. Как правило, световое загрязнение сопровождается снижением выработки эпифизарного мелатонина, обладающего онкостатическим, противоопухолевым и антиоксидантным эффектами.

Цель — изучение морфологических особенностей перевиваемой меланомы В16, установление микроморфометрических параметров клеток опухоли и циркадных ритмов (ЦР) некоторых из них для дальнейшего использования в качестве контрольных показателей при исследовании влияния различных световых режимов и экспериментальной терапии на морфофункциональное состояние организма животных с перевитой меланомой.

Методы и материалы. Исследование проведено на самцах мышей-гибридов линии BDF1. Животные были разделены на две равные группы по 25 особей. Первая служила интактным контролем, мышам второй группы осуществляли трансплантацию меланомы В16/F10. На 15-е сутки после перевивки опухоли животные были выведены из опыта в 9.00, 15.00, 21.00 и 3.00. Определяли массу и объем опухоли, проводили микроскопические, в том числе и микроморфометрические, исследования опухолей. В плазме крови определяли уровень глюкозы. Оценивали суточную динамику изучаемых показателей, для статистического расчета амплитуды и акрофазы циркадных ритмов выполняли косинор-анализ.

Результаты. Исследование циркадного ритма глюкозы позволило выявить его отличие у животных с меланомой от такового в контроле. Изменения суточной ритмичности этого метаболита, комплексно отражающего синхронизацию множества ритмов между собой, позволяют утверждать о значительном изменении циркадного ритмостаза у животных с меланомой. В результате проведенного исследования нами были установлены микроморфометрические показатели, характерные для меланомы В16, на 14-е сутки после перевивки. Установлен циркадный ритм площади ядра и клетки, митотического индекса и отсутствия тактового для ядерно-цитоплазматического отношения. Обнаружено отличие фазово-амплитудных особенностей ЦР площади ядра клеток меланоцитов опухоли от нормальных.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют об изменении ритмостаза у мышей с экспериментальной меланомой В16. Особенности организации ритмичности самой опухоли могут быть использованы при ее таргетной экспериментальной терапии с учетом хронобиологических особенностей. Результаты исследования могут быть использованы для дальнейших исследований влияния различных режимов освещения на морфофункциональное состояние организма животных при исследуемой патологии.

Ключевые слова: меланома В16, микроморфометрия, циркадный ритм

Для цитирования: Кириллов Ю. А., Козлова М. А., Макарецца Л. А., Борисов А. В., Муратова М. В., Арешидзе Д. А. Циркадные ритмы и некоторые морфометрические показатели меланомы В16. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.* 2022;29(2):68–76. DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-2-68-76.

* **Автор для связи:** Давид Александрович Арешидзе, Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А. П. Авцына, 197341, Россия, Москва, ул. Цурюпы, д. 3. E-mail: labcelpat@mail.ru.

Yury A. Kirillov, Maria A. Kozlova, Lyudmila A. Makartseva, Aleksey V. Borisov, Marina V. Muratova, David A. Areshidze*

A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

CIRCADIAN RHYTHMS AND SOME MICROMORPHOMETRIC INDICATORS OF B16 MELANOMA

Received 15.03.2022; accepted 23.05.2022

Summary

Introduction. Melanoma is one of the most malignant human tumors, originating from melanin-forming tissue. Currently, among the risk factors for the development of malignant neoplasms, including melanoma, light pollution is considered — exposure to light at night. In turn, the violation of circadian rhythm under conditions of light pollution often leads to the occurrence of desynchronization, which is the cause of the development of a number of diseases, including malignant neoplasms. As a rule, light pollution is accompanied by a decrease in the production of epiphyseal melatonin, which has oncostatic, antitumor and antioxidant effects.

The **objective** of study was to study the morphological features of transplanted B16 melanoma, to establish the micromorphometric indicators of tumor cells and circadian rhythms of some of them for further use as control indicators in the study of the effect of various light regimes and experimental therapy on the morphofunctional state of the body of animals with transplanted melanoma.

Methods and materials. The study was conducted on male hybrid mice of the BDF1 line. The animals were divided into 2 equal groups of 25 individuals. The first group served as an intact control, the mice of the second group were transplanted with B16/F10 melanoma. On the 15th day after tumor inoculation, the animals were withdrawn from the experiment at 9.00, 15.00, 21.00 and 3. The mass and volume of the tumor were determined, microscopic, including micromorphometric studies of tumors were performed. Glucose levels were determined in blood plasma. The daily dynamics of the studied parameters was assessed, and for the statistical calculation of the amplitude and acrophase of circadian rhythms, a cosinor analysis was performed.

Results. The study of the circadian rhythm of glucose made it possible to reveal its difference in animals with melanoma from that in the control. Changes in the daily rhythmicity of this metabolite, which comprehensively reflects the synchronization of many rhythms with each other, allows us to state a significant change in circadian rhythm in animals with melanoma. As a result of the study, we have established micromorphometric indicators characteristic of B16 melanoma on the 14th day after transplantation. The circadian rhythm of the area of the nucleus and cells, the mitotic index and the absence of a clock for the NCR were established. The difference between the phase-amplitude features of the CR of the area of the nucleus of melanocyte cells from the normal ones was found.

Conclusion. The obtained data indicate a change in rhythm in mice with experimental B16 melanoma. The features of the organization of the rhythmicity of the tumor itself can be used in its targeted experimental therapy, taking into account chronobiological features. The results of the study can be used for further studies of the effect of various lighting modes on the morphofunctional state of the animal organism in the pathology under study.

Keywords: B16 melanoma, micromorphometry, circadian rhythm

For citation: Kirillov Yu. A., Kozlova M. A., Makartseva L. A., Borisov A. V., Muratova M. V., Areshidze D. A. Circadian rhythms and some micromorphometric indicators of B16 melanoma. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2022;29(2):68–76. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-2-68-76.

* **Corresponding author:** David A. Areshidze, A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia, адрес. E-mail: labcelpat@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Меланома является одной из наиболее злокачественных опухолей человека, происходящей из меланинообразующей ткани. Чаще всего она развивается в коже, но может локализоваться и в области пигментной оболочки глаз, мозговых оболочек и слизистых оболочек тела [1].

Меланоме присущи все признаки злокачественных опухолей: проявление тканевого и клеточного атипизма, инфильтрирующий характер роста, агрессивное течение, регионарное и отдаленное метастазирование, рецидивы заболевания. Примерно в 90 % случаев диагноз меланомы устанавливается на ранних стадиях, когда меланома представлена локализованной опухолью. Выживаемость пациентов в таких случаях в течение 10 лет достигает 85 %.

Меланома кожи метастазирует преимущественно лимфогенным и гематогенным путем. При на-

личии метастазов прогноз считается неблагоприятным. Десятилетняя выживаемость пациентов с метастазами в регионарные лимфоузлы составляет 20–40 %, а отдаленные метастазы сокращают выживаемость до 6–9 месяцев в зависимости от степени вовлеченности внутренних органов и агрессивности опухоли [2, 3].

В настоящее время среди факторов риска развития злокачественных новообразований, в том числе и меланомы, рассматривается световое загрязнение — воздействие света в ночное время [4]. Рабочая группа Международного агентства по изучению рака признала сменную работу возможно канцерогенной для человека [5]. В первую очередь, в группу риска по этому фактору попадают работники ночных смен, хотя световое загрязнение в том или ином виде присутствует в повседневной жизни практически всех жителей крупных городов. В основе увеличенного риска возникновения

рака в таких условиях лежат нарушение циркадной ритмичности и снижение выработки мелатонина [6, 7].

Нарушение циркадной ритмичности в условиях светового загрязнения нередко приводит к возникновению десинхронозов, которые могут быть причиной развития целого ряда заболеваний [8 – 12].

Как правило, световое загрязнение сопровождается снижением выработки эпифизарного мелатонина, обладающего онкостатическим, противоопухолевым и антиоксидантным эффектами.

Реализация вышеперечисленных эффектов гормона обусловлена его влиянием на гомеостаз и циркадные ритмы, воспаление, кооперацию иммуноцитов и продукцию цитокинов в микроокружении опухоли, экспрессию генов и сигнальные пути, связанные с ангиогенезом, пролиферацией и метастазированием, метаболизм, гипоксию и оксидативный стресс, апоптоз и резистентность к химио- и лучевой терапии. Вместе с тем механизмы противоопухолевого действия мелатонина до конца не изучены. Описано его влияние на активацию Т-хелперов-1, увеличение продукции ряда цитокинов (IL-2, IFN- γ , интерлейкина-6), снижение экспрессии VEGF-рецептора, активацию апоптоза в опухолевых клетках, уменьшение активности теломеразы. Этим объясняется большое внимание, уделяемое применению мелатонина в клинических исследованиях с целью повышения эффективности лекарственного лечения у пациентов с различными злокачественными опухолями [13, 14].

Использование мелатонина при экспериментальной перевиваемой меланоме приводит к снижению уровня малонового диальдегида и активности каталазы в сыворотке крови и гомогенатах опухолевой ткани экспериментальных животных, увеличению продолжительности жизни экспериментальных животных [15].

Целью исследования является изучение морфологических особенностей перевиваемой меланомы B16: установление микроморфометрических параметров клеток опухоли и циркадных ритмов некоторых из них для дальнейшего использования в качестве контрольных показателей при исследовании влияния различных световых режимов и экспериментальной терапии на морфофункциональное состояние организма животных с перевитой меланомой.

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Исследование проведено на самцах мышей-гибридов линии BDF1 (n = 50) в возрасте 8 недель, массой 21 – 22 г, полученных из УНУ «Питомник и виварий ИПХФ РАН». Работу с животными проводили в соответствии с требованиями, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных», и приказом Минздрава

России № 267 от 19 июня 2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

Животные были разделены на две равные группы по 25 особей. Первая служила интактным контролем, мышам второй группы осуществляли трансплантацию меланомы B16/F10 путем стандартного подкожного введения иглой 1,2×40 в область левого бока животного ближе к спине по 0,5 мл взвеси опухолевой ткани в среде 199 при разведении 1:10 по весу [16].

Животные содержались в пластиковых клетках при свободном доступе к питью и пище в течение 14 суток при естественном освещении, температуре 20 – 22 °С и относительной влажности воздуха 60 – 70 %.

На 15-е сутки после перевивки опухоли животные были выведены из опыта в 9.00, 15.00, 21.00 и 3.00 путем дислокации шейных позвонков. После умерщвления проводили забор крови для гематологических и биохимических исследований и эвисцерацию. У животных экспериментальной группы изымали опухоль, у мышей контрольной группы – кожный лоскут.

Определяли массу и объем опухоли по формуле:

$$V = \pi/6 \cdot \Delta_1 \cdot \Delta_2 \cdot \Delta_3,$$

где Δ_1 – длина; Δ_2 – ширина; Δ_3 – высота опухоли, см.

Опухоль и кожу фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине с дальнейшей проводкой через спирты возрастающей концентрации (50°, 60°, 70°, 80° и 96°) и ксилол с последующей заливкой в гистологическую среду «Гистомикс» («БиоВитрум», Россия). Приготавливали серийные гистологические срезы толщиной 5 – 6 мкм на роторном микротоме. Окраску гематоксилин и эозин осуществляли по общепринятой методике. Для выявления гемосидерина осуществляли реакцию Персла по общепринятой методике.

Микроскопию гистологических препаратов проводили на цифровом микроскопе Leica Microsystem DM 2500 с использованием окуляров ×10, ×15, объективы ×4, ×10, ×20, ×40, ×100. С каждого исследованного препарата выполняли по десять цифровых снимков случайно выбранных полей зрения при увеличении ×400, ×1000, на которых в дальнейшем осуществляли кардио- и цитометрию. Для морфометрических исследований использовали программный комплекс «Fiji», построенный на базе программы «ImageJ v2» с соответствующими плагинами [17]. Измерения проводили в микрометрах после предварительной геометрической калибровки по оцифрованной с тем же увеличением шкале объект-микрометра.

В контрольной группе, ввиду невозможности цитометрии сомы меланоцита из-за его сложного отростчатого строения, проводили только кардио-метрические, а в экспериментальной группе – кардио- и цитометрические исследования.

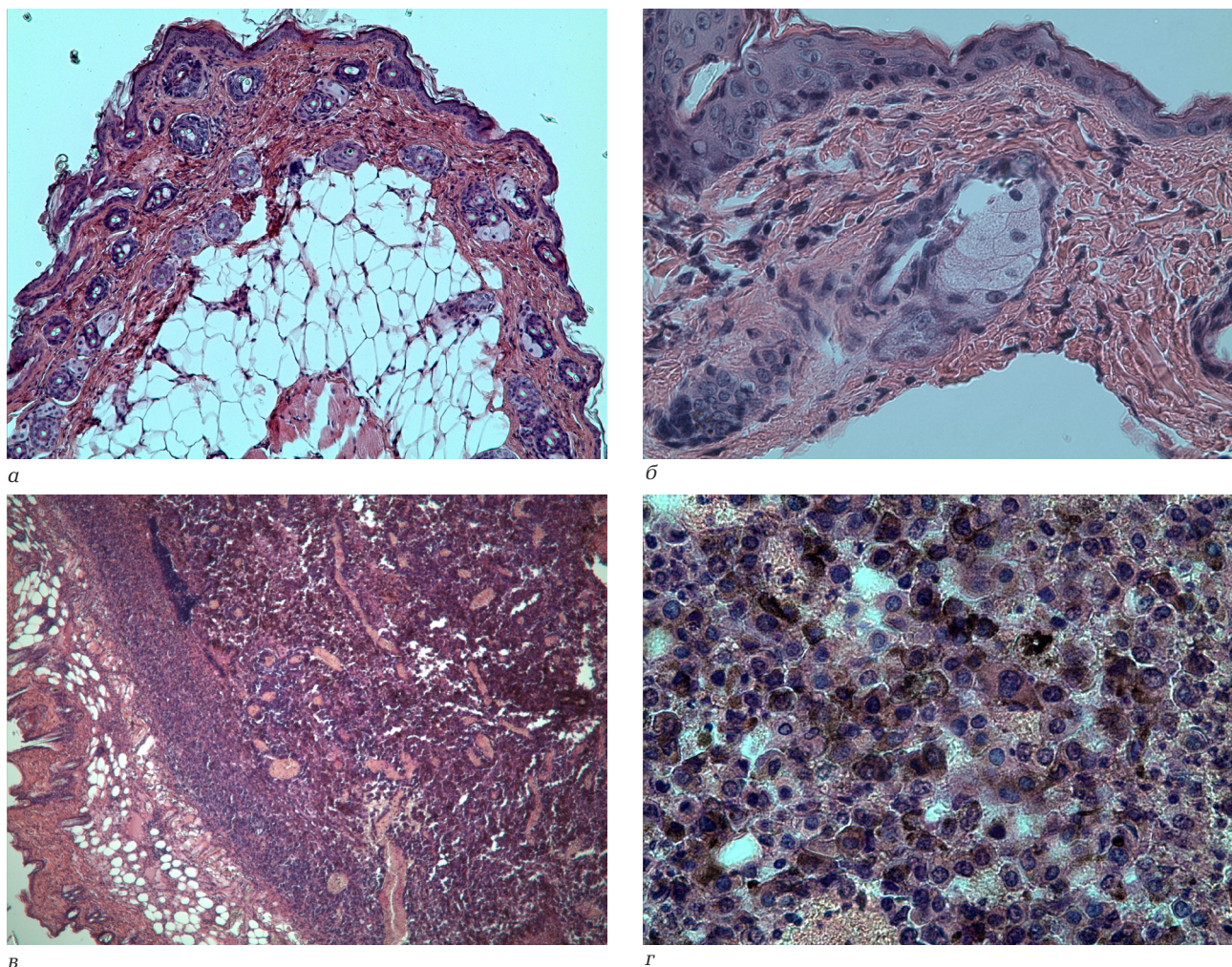


Рис. 1. Кожа intactных животных (а, б) и меланома (в, г). Окраска гематоксилин-эозином: а и в – $\times 100$; б и г – $\times 400$
 Fig. 1. Skin of intact animals (a, б) and melanoma (в, г). Hematoxylin-eosin staining: a and в – $\times 100$; б and г – $\times 400$

С помощью программы «ImageJ» определяли площадь поперечного сечения ядра, его короткий и длинный диаметры, периметр, площадь поперечного сечения клетки, ее короткий и длинный диаметры. С применением соответствующих формул вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО), средний диаметр ядра, объем ядра, объем клетки, индекс удлиненности ядра, коэффициент формы ядра, индекс контура ядра [18, 19].

Пролиферативную активность опухолевых клеток в меланоме В16 оценивали путем подсчета в гистологических срезах фигур митоза на 1000 клеток.

В плазме крови с помощью анализатора StatFax-3300 (США) с соответствующими наборами «Spinreact» (Испания) определяли уровень глюкозы.

Построение графиков и статистическую обработку результатов выполняли в программе «GraphPad Prism v8.41» (США). Для выявления нормальности распределения использовали тест Д'Агостино – Пирсона. При нормальном распределении использовали t-тест Стьюдента для сравнения двух групп. При ненормальном распределении использовали тест Манна – Уитни для

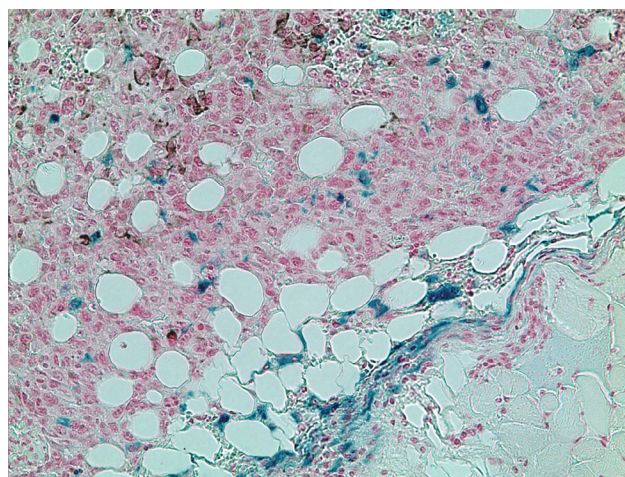


Рис. 2. Меланома. Реакция Перлса. $\times 200$
 Fig. 2. Melanoma. Perls reaction. $\times 200$

сравнения двух групп. Статистически значимыми считали различия при уровне статистической значимости (α) или вероятности ошибки отклонения от нулевой гипотезы или ниже 5 % ($p < 0,05$). Силу различий обозначали: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,005$; *** – $p < 0,0005$.

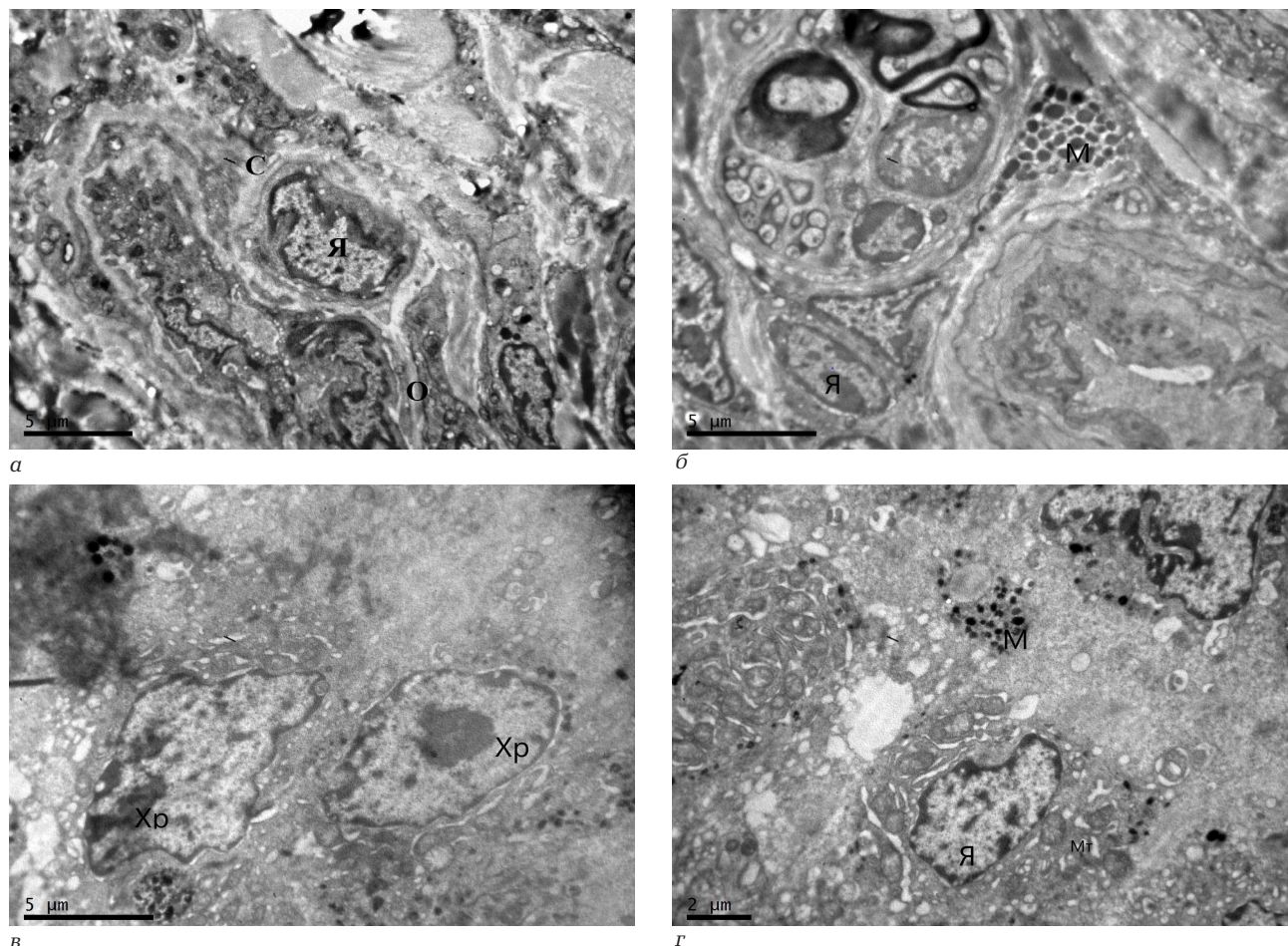


Рис. 3. Электронограмма меланоцитов интактных животных (а, б) и клеток меланомы (в, г): а, б и в – $\times 6700$; г – $\times 10000$; С – сома меланоцита; О – отросток меланоцита; М – меланин; Хр – хроматин; Мг – митохондрия

Fig. 3. Electronograms of melanocytes of intact animals (a, b) and melanoma cells (v, г): a, б and в – $\times 6700$; г – $\times 10000$; С – melanocyte soma; О – melanocyte outgrowth; М – melanin; Хр – chromatin; Мг – mitochondrion

Таблица 1

Некоторые микроморфометрические показатели меланоцитов мышей

Table 1

Some micromorphometric indicators of mouse melanocytes

Показатель	Контроль	Эксперимент
Площадь поперечного сечения ядра, $\mu\text{м}^2$	(18,32 \pm 4,36)	(28,74 \pm 2,99)***
Объем ядра, $\mu\text{м}^3$	(61,64 \pm 21,49)	(110,6 \pm 26,34)***
Отношение объема ядра к площади ядра (V/A-коэффициент)	(3,35 \pm 0,82)	(3,83 \pm 0,73)*
Периметр ядра, $\mu\text{м}$	(17,41 \pm 1,99)	(19,57 \pm 3,56)*
Длинный диаметр ядра, $\mu\text{м}$	(5,43 \pm 0,60)	(6,39 \pm 0,55)***
Короткий диаметр ядра, $\mu\text{м}$	(4,25 \pm 0,60)	(5,46 \pm 0,54)***
Средний диаметр ядра, $\mu\text{м}$	(4,84 \pm 0,59)	(5,92 \pm 0,48)***
Индекс удлиненности ядра	(1,29 \pm 0,13)	(1,18 \pm 0,10)**
Коэффициент формы	(0,76 \pm 0,17)	(1,09 \pm 0,66)*
Индекс контура	(4,12 \pm 0,43)	(3,66 \pm 0,66)**
Площадь поперечного сечения клетки, $\mu\text{м}^2$		(76,45 \pm 21,22)
Объем клетки, $\mu\text{м}^3$		(516,2 \pm 226,1)
ЯЦО		(0,39 \pm 0,070)
Митотический индекс, %		(7,28 \pm 2,69)

Примечание: здесь и далее * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,005$; *** – $P \leq 0,0005$ – в сравнении показателями животных контрольной группы.

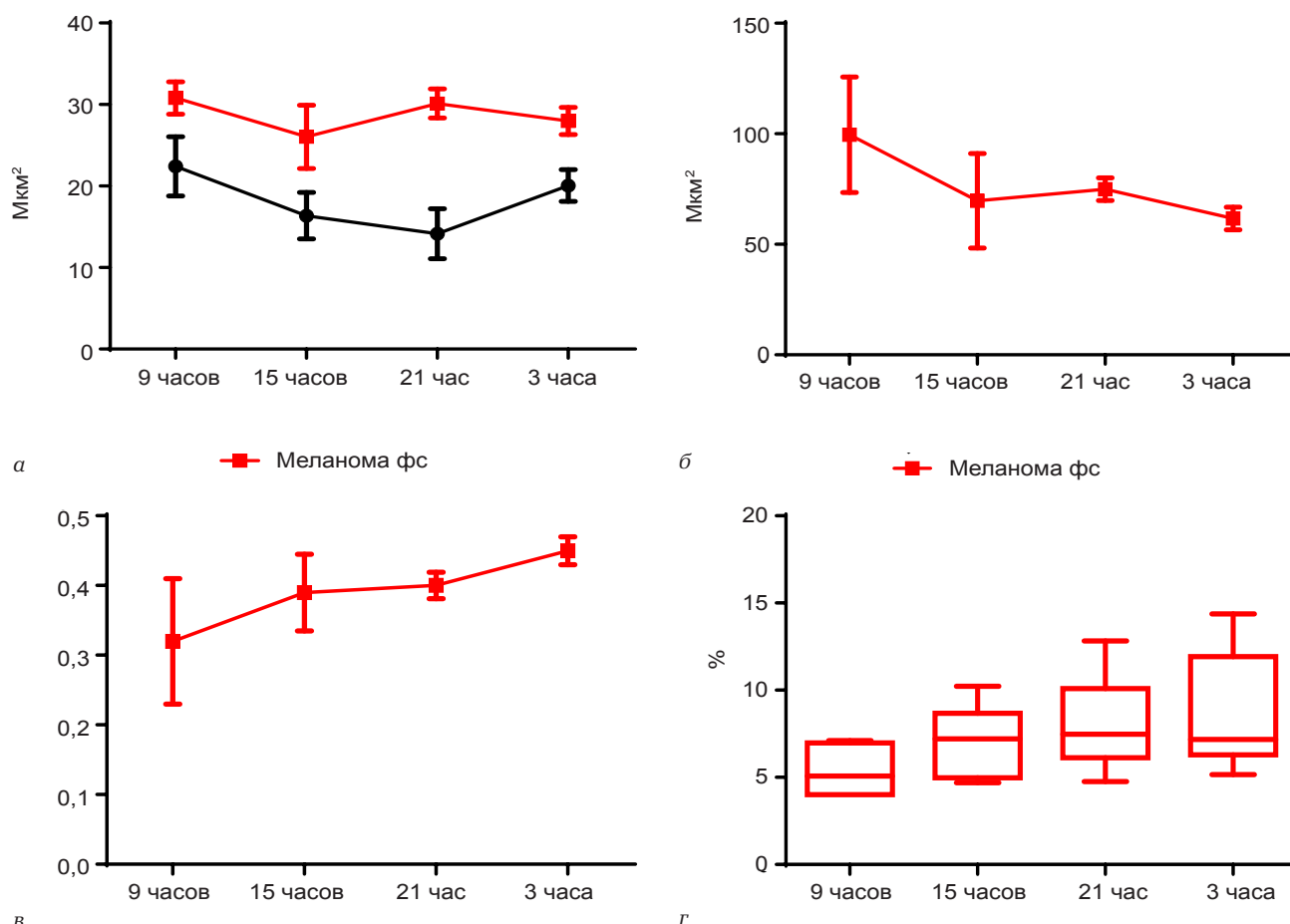


Рис. 4. Суточная динамика некоторых показателей меланоцитов мышей: а – площади ядра; б – площади клетки; в – ЯЦО; г – митотического индекса

Fig. 4. Daily dynamics of some indicators of mouse melanocytes: а – nuclear area; б – cell area; в – NCR; г – mitotic index

Суточную динамику изучаемых показателей оценивали по хронограммам. Для статистического расчета амплитуды и акрофазы ЦР выполняли косинор-анализ, являющийся международным, общепризнанным методом унифицированного исследования биологических ритмов, с использованием программы «CosinorEllipse2006-1.1».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологические особенности перевиваемой меланомы В16. В результате проведенного исследования установлено, что масса контрольных животных составляет $(20,97 \pm 1,55)$ г, а у животных с перевиваемой меланомой достоверно выше – $(22,04 \pm 1,88)$ г, при этом масса опухоли составляет $(5,17 \pm 1,48)$ г, а ее объем – $(5,88 \pm 1,86)$ см³.

Строение кожи интактных животных соответствовало норме (рис. 1, а, б; рис. 3, а, б).

При макроскопическом исследовании меланомы установлено, что опухоль имеет вид узла округло-овальной формы (узловая меланома), серо-черного цвета (белесовато-серого вида), мягкой (дряблой, тестоватой) консистенции. В 50 % случаев кожа, покрывающая опухолевый узел, изъязвлена. На разрезе опухоль крошащаяся, за

счет реализовавшихся в ней вторичных изменений имеет пестрый вид, представлена чередованиями участков черного цвета, небольших фокусов некроза в виде белесоватых вкраплений и мелкоочечных кровоизлияний.

Меланома преимущественно сосредоточена в дерме, распространяясь диффузно как в направлении эпидермиса, так и в жировую ткань, в большинстве наблюдений прорастая последнюю. Опухоль в основном имеет строение эпителиоидноклеточной пигментной меланомы. Представлена скоплениями круглых, овальных и в небольшом количестве полигональных клеток с крупным, эксцентрично расположенным ядром. Отдельные ядра однородно гиперхромны, в прочих хроматин распределен поразному. В клетках опухолевых гнезд присутствуют ядра с диффузным, глыбчатым, а также маргинальным распределением хроматина. Во всех случаях хорошо визуализируется ядрышко. Местами меланома приобретает черты саркомоподобной, состоящей из гнезд и пучков веретеновидных клеток. В обоих вариантах часть клеток содержит то или иное количество меланина. Опухоль содержит большое количество сосудов, ее строма сформирована крайне слабо, местами вовсе не идентифицируется. Вторичные изменения опухоли представлены

Таблица 2

Результаты косинор-анализа некоторых микроморфометрических показателей меланоцитов мышей

Table 2

Results of cosinor analysis of some micromorphometric indicators of mouse melanocytes

Показатель	Акрофаза	Амплитуда
Площадь поперечного сечения ядра, контроль, мкм ²	7 ²⁴	1,48
Площадь поперечного сечения ядра, эксперимент, мкм ²	4 ¹²	4,52
Площадь поперечного сечения клетки, эксперимент, мкм ²	19 ³⁵	10,07
ЯЦО, эксперимент,	Нет достоверного ЦР	
Митотический индекс, %	21 ⁵⁴	1,54

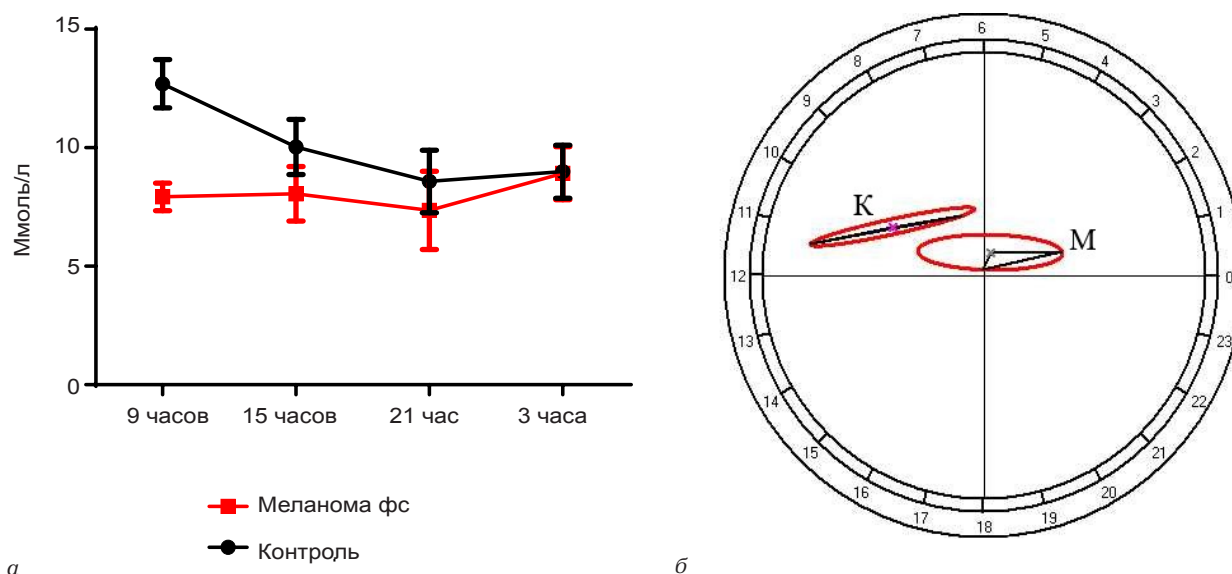


Рис. 5. Суточная ритмичность (а) и результаты косинор-анализа ритма (б) содержания глюкозы в крови мышей: К – контроль; М – экспериментальная группа

Fig. 5. Daily rhythmicity (a) and results of cosinor analysis of the rhythm (b) of glucose in the blood of mice: К – control; М – experimental group

различными по площади фокусами кровоизлияний и участками некроза, расположенными как в самом узле опухоли, так и на его периферии, в участках, граничащих с эпидермисом, жировой клетчаткой и мышечной тканью. При этом в некротическом детрите также видны скопления меланина, а в фокусах кровоизлияний – гемосидерина (рис. 1, г, е; рис. 2; рис. 3, г, г).

Микроморфометрические параметры клеток перевиваемой меланомы В16 и суточная ритмичность некоторых из них. Проведенные микроморфометрические исследования позволили установить значения ряда показателей, характерных для клеток меланомы, а также установить отличия в кариометрических показателях меланоцитов опухоли от клеток контрольной группы (табл. 1). В частности, атипичные меланоциты характеризуются достоверно большими размерами ядра при снижении его индексов удлиненности и контура при увеличении коэффициента формы.

Суточные колебания размеров ядра в обеих группах характеризовались максимумом в утренние часы, однако минимум отмечался у интактных

мышей в вечерние, а у экспериментальных – в дневные часы (рис. 4, а). По данным косинор-анализа, в обеих группах ритмичность носила достоверный циркадный характер, с акрофазой ритма в 7²⁴ в контроле и 4¹² в эксперименте при амплитудах 1,48 и 4,52 мкм² соответственно (табл. 2).

Максимального размера атипичные меланоциты достигали утром, постепенно уменьшаясь до минимума в ночные часы (рис. 4, б), ЦР характеризовался акрофазой в 19³² и амплитудой 10,07 мкм².

Обратная картина была отмечена в динамике ЯЦО – максимум наблюдали в ночные часы, минимум – в утренние (рис. 4, в), но, по данным косинор-анализа, для этого параметра циркадная ритмичность не была достоверна.

Митотическая активность меланоцитов, будучи минимальной в утренние часы, увеличивалась в течение суток до максимума в ночные, а ЦР ее характеризовался акрофазой в 21⁵⁴ и амплитудой 1,54 % (рис. 4, г).

Содержание глюкозы и его суточная ритмичность у мышей при перевиваемой меланоме В16. В крови мышей с меланомой было установлено достоверное

снижение среднесуточного содержания глюкозы с $(10,01 \pm 1,96)$ в контроле до $(8,02 \pm 1,19)$ ммоль/л.

Суточная ритмичность глюкозы в контроле характеризовалась максимумом в утренние часы с минимумом в вечерние, в то время как у животных экспериментальной группы при минимуме вечером максимальное содержание глюкозы было отмечено в ночные часы (рис. 5, а).

Результаты косинор-анализа позволили установить наличие достоверного ЦР содержания глюкозы в крови животных обеих групп. В контроле он характеризовался акрофазой в 10^{06} с амплитудой 2,14 ммоль/л, а в экспериментальной группе акрофаза приходилась на 4^{54} , амплитуда составила 0,5 ммоль/л (рис. 5, б).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования нами были установлены микроморфометрические показатели, характерные для меланомы В16, на 14-е сутки после перевивки.

Определен циркадный ритм площади ядра и клетки, митотического индекса и отсутствие тактового для ЯЦО. Установлено отличие фазово-амплитудных особенностей ЦР площади ядра клеток атипичных меланоцитов от нормальных меланоцитов в коже животных контрольной группы.

Исследование ЦР глюкозы позволило выявить отличие ритма этого вещества у животных с меланомой от такового в контроле. Изменения ритма этого метаболита, комплексно отражающего синхронизацию множества ритмов между собой, позволяют утверждать о значительном изменении циркадного ритмостаза у животных с меланомой.

Полученные данные свидетельствуют об изменении ритмостаза у мышей с экспериментальной меланомой В16. Особенности организации ритмичности самой опухоли могут быть использованы при ее таргетной экспериментальной терапии с учетом хронобиологических особенностей. Результаты исследования могут быть использованы для дальнейших исследований влияния различных режимов освещения на морфофункциональное состояние организма животных при исследуемой патологии.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования, Государственного задания (№ АААА-А19119071890015-6).

Financing

The study was carried out within the framework of state budget financing, within the framework of the State task (№ АААА-А19119071890015-6).

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов. Исследование одобрено Биоэтической комиссией ФГБНУ НИИ МЧ (Протокол № 28 (4) от 27 октября 2021 г.).

Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information. The study was approved by the Bioethical Commission of the A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology (Protocol № 28 (4) of October 27, 2021).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ostrowski S. M., Fisher D. E.* Biology of Melanoma // *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* – 2021. Vol. 35, № 1. – P. 29–56. Doi: 10.1016/j.hoc.2020.08.010.
2. *Малишевская Н. П., Соколова А. В., Демидов Л. В.* Современное состояние заболеваемости меланомой кожи в Российской Федерации и федеральных округах // *Мед. совет.* – 2018. – № 10. – С. 161–165.
3. *Garbe C., Peris K., Hauschild A. et al.* Diagnosis and treatment of melanoma: European consensus-based interdisciplinary guideline // *European journal of cancer.* – 2010. – Vol. 46, № 2. – P. 270–283.
4. *Anisimov V. N.* Light pollution, reproductive function and cancer risk // *Neuro Endocrinol Lett.* – 2006. – Vol. 27, № 1–2.
5. *Straif K., Baan R., Grosse Y. et al.* WHO International Agency For Research on Cancer Monograph Working Group. Carcinogenicity of shift-work, painting, and fire-fighting // *Lancet Oncol.* – 2007. – Vol. 8, № 12. – P. 1065–1066. Doi: 10.1016/S1470-2045(07)70373-X.
6. *Pauley S. M.* Lighting for the human circadian clock: recent research indicates that lighting has become a public health issue // *Med Hypotheses.* – 2004. – Vol. 63, № 4. – P. 588–596. Doi: 10.1016/j.mehy.2004.03.020.
7. *Stevens R. G.* Light-at-night, circadian disruption and breast cancer: assessment of existing evidence // *Int J Epidemiol.* – 2009. – Vol. 38, № 4. – P. 963–970. Doi: 10.1093/ije/dyp178.
8. *Jasser S. A., Blask D. E., Brainard G. C.* Light during darkness and cancer: relationships in circadian photoreception and tumor biology // *Cancer Causes Control.* – 2006. – Vol. 17, № 4. – P. 515–523.
9. *Fonken L. K., Workman J. L., Walton J. C. et al.* Light at night increases body mass by shifting the time of food intake // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2010. – Vol. 107, № 43. – P. 18664–18669.
10. *Leng Y. et al.* Association between circadian rhythms and neurodegenerative diseases // *The Lancet Neurology.* – 2019. – Vol. 18, № 3. – P. 307–318.
11. *Verlande A., Masri S.* Circadian clocks and cancer: timekeeping governs cellular metabolism // *Trends in Endocrinology & Metabolism.* – 2019. – Vol. 30, № 7. – P. 445–458.
12. *Anisimov V. N.* Light desynchronization and health // *Light & Engineering.* – 2019. – Vol. 27, № 3. – P. 36–48.
13. *Сморodin E. П.* Актуальность дальнейших клинических исследований применения мелатонина в адъювантной онкотерапии // *Рос. биотерапевт. журн.* – 2021. – Т. 20, № 1. – С. 24–32.

14. *Schadendorf D., van Akkooi A. C., Berking C. et al. Melanoma // The Lancet. – 2018. – Vol. 392, № 10151. – P. 971–984.*

15. *Киреева Г. С., Губарева Е. А., Майдин М. А. и др. Обзор исследований взаимосвязи циркадианных ритмов и канцерогенеза, выполненных на экспериментальных моделях // Сибир. онколог. журн. – 2021. – Т. 20, № 3. – С. 134–143.*

16. *Трещалина Е. М., Жукова О. С., Герасимова Г. К. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 642–657.*

17. *Broeke J., Pérez J. M. M., Pascau J. Image processing with ImageJ. – Packt Publishing Ltd, 2015. – 269 p.*

18. *Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.*

19. *Smitha T., Sharada P., Girish H. Morphometry of the basal cell layer of oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma using computer-aided image analysis // J. Oral Maxillofac. Pathol. – 2011. – Vol. 15, № 1. – P. 26–33.*

REFERENCES

1. *Ostrowski S. M., Fisher D. E. Biology of Melanoma // Hematol Oncol Clin North Am. 2021; 35(1):29–56. Doi: 10.1016/j.hoc.2020.08.010.*

2. *Malishevskaya N. P., Sokolova A. V., Demidov L. V. Sovremennoe sostoyanie zabolevaemosti melanomoy kozhi v Rossijskoj Federacii i federal'nyh okrugah // Medicinskij sovet. 2018;(10):161–165. (In Russ.).*

3. *Garbe C., Peris K., Hauschild A., Saiag P., Middleton M., Spatz A., Eggermont A. Diagnosis and treatment of melanoma: European consensus-based interdisciplinary guideline // European journal of cancer. 2010;46(2): 270–283.*

4. *Anisimov V. N. Light pollution, reproductive function and cancer risk // Neuro Endocrinol Lett. 2006;27(1–2).*

5. *Straif K., Baan R., Grosse Y., Secretan B., El Ghissassi F., Bouvard V., Altieri A., Benbrahim-Tallaa L., Coglianov V. WHO International Agency For Research on Cancer Monograph Work-ing Group. Carcinogenicity of shift-work, painting, and fire-fighting // Lancet Oncol. 2007;8(12):1065–1066. Doi: 10.1016/S1470-2045(07)70373-X.*

6. *Pauley S. M. Lighting for the human circadian clock: recent research indicates that lighting has become a public*

health issue // Med Hypotheses. 2004;63(4):588–596. Doi: 10.1016/j.mehy.2004.03.020.

7. *Stevens R. G. Light-at-night, circadian disruption and breast cancer: assessment of existing evidence // Int J Epidemiol. 2009;38(4):963–970. Doi: 10.1093/ije/dyp178.*

8. *Jasser S. A., Blask D. E., Brainard G. C. Light during darkness and cancer: relationships in circadian photoreception and tumor biology // Cancer Causes Control. 2006;17(4):515–23.*

9. *Fonken L. K., Workman J. L., Walton J. C., Weil Z. M., Morris J. S., Haim A., Nelson R. J. Light at night increases body mass by shifting the time of food intake // Proc Natl Acad Sci USA. 2010;107(43):18664–18669.*

10. *Leng Y. et al. Association between circadian rhythms and neurodegenerative diseases // The Lancet Neurology. 2019;18(3):307–318.*

11. *Verlande A., Masri S. Circadian clocks and cancer: timekeeping governs cel-lular metabolism // Trends in Endocrinology & Metabolism. 2019;30(7):445–458.*

12. *Anisimov V. N. Light desynchronization and health // Light & Engineering. 2019;27(3):36–48.*

13. *Smorodin E. P. Aktual'nost' dal'nejshih klinicheskikh issledovaniy primeneniya melatonina v adyuvantnoj onkoterapii // Rossijskij bioterapevticheskij zhurnal. 2021;20(1):24–32. (In Russ.).*

14. *Schadendorf D., van Akkooi A. C., Berking C., Griewank K. G., Gutzmer R., Hauschild A., Ugurel S. Melanoma // The Lancet. 2018;392(10151):971–984.*

15. *Kireeva G. S., Gubareva E. A., Majdin M. A., Panchenko A. V., Tyndyk M. L., Fedoros E. I., Anisimov V. N. Obzor issledovaniy vzaimosvyazi cirkadiannyh ritmov i kancero-geneza, vypolnennyh na eksperimental'nyh modelyah // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2021;20(3):134–143.*

16. *Treshchalina E. M., Zhukova O. S., Gerasimova G. K., Andronova N. V., Garin A. M. Rukovo-dstvo po provedeni-yu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennyh sredstv. Ch. 1. Moscow, Grif i K, 2012:642–657.*

17. *Broeke J., Pérez J. M. M., Pascau J. Image processing with ImageJ. Packt Publishing Ltd, 2015:269.*

18. *Avtandilov G. G. Osnovy kolichestvennoj patologicheskoj anatomii. Moscow, Medicina, 2002:240. (In Russ.).*

19. *Smitha T., Sharada P., Girish H. Morphometry of the basal cell layer of oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma using computer-aided image analysis // J Oral Maxillofac Pathol. 2011;15(1):26–33.*

Информация об авторах

Кириллов Юрий Александрович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А. П. Авцына (Москва, Россия), ORCID: 0000-0003-3555-0902; **Козлова Мария Александровна**, научный сотрудник, Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А. П. Авцына (Москва, Россия), ORCID: 0000-0001-6251-2560; **Макарцева Людмила Андреевна**, младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А. П. Авцына (Москва, Россия), ORCID: 0000-0002-1882-8848; **Борисов Алексей Викторович**, соискатель, Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А. П. Авцына (Москва, Россия), ORCID: 0000-0002-6161-7456; **Муратова Марина Владимировна**, клинический ординатор, Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А. П. Авцына (Москва, Россия), ORCID: 0000-0003-1183-1398; **Арешидзе Давид Александрович**, кандидат биологических наук, зав. лабораторией патологии клетки, Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А. П. Авцына (Москва, Россия), ORCID: 0000-0003-3006-6281.

Information about authors

Kirillov Yury A., Dr. of Sci. (Med.), Leading Research Fellow, A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology (Moscow, Russia), ORCID: 0000-0003-3555-0902; **Kozlova Maria A.**, Research Fellow, A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology (Moscow, Russia), ORCID: 0000-0001-6251-2560; **Makartseva Lyudmila A.**, Junior Research Fellow, A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology (Moscow, Russia), ORCID: 0000-0002-1882-8848; **Borisov Aleksey V.**, Candidate, A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology (Moscow, Russia), ORCID: 0000-0002-6161-7456; **Muratova Marina V.**, Clinical Resident, A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology (Moscow, Russia), ORCID: 0000-0003-1183-1398; **Areshidze David A.**, Cand. of Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Cell Pathology, A. P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology (Moscow, Russia), ORCID: 0000-0003-3006-6281.