

Для цитирования: Плотникова Е.А., Морозова Н.Б., Рябова А.В., Трунова Г.В., Хохлова В.А., Лощенов В.Б., Панкратов А.А., Каприн А.Д. Асцитно-солидная модель рака предстательной железы и ее морфологическая характеристика. Сибирский онкологический журнал. 2023; 22(4): 65–73. – doi: 10.21294/1814-4861-2023-22-4-65-73

For citation: Plotnikova E.A., Morozova N.B., Ryabova A.V., Trunova G.V., Khokhlova V.A., Loschenov V.B., Pankratov A.A., Kaprin A.D. Ascite-solid model of prostate cancer and its morphological characteristics. Siberian Journal of Oncology. 2023; 22(4): 65–73. – doi: 10.21294/1814-4861-2023-22-4-65-73

АСЦИТНО-СОЛИДНАЯ МОДЕЛЬ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЕЕ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Е.А. Плотникова^{1,3}, Н.Б. Морозова¹, А.В. Рябова², Г.В. Трунова¹,
В.А. Хохлова¹, В.Б. Лощенов², А.А. Панкратов^{1,3}, А.Д. Каприн¹

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия¹

Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр-д, 3. E-mail: plotnikovaekaterina62@gmail.com¹

ФГБУН ФИЦ «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук», г. Москва, Россия²

Россия, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, 38²

ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет», Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия³

Россия, 119571, г. Москва, пр. Вернадского, 86³

Аннотация

Подходы, основанные на принципах таргетной терапии и иммунотерапии, рассматриваются как перспективное направление для создания новых методов, способных увеличить эффективность лечения больных раком предстательной железы (РПЖ). **Цель исследования** – получение и характеристика подкожной и асцитно-солидной моделей РПЖ TRAMP-C2 у мышей C57Bl/6j для изучения специфической противоопухолевой активности молекул-кандидатов таргетных лекарственных средств и корректировки стратегий иммунотерапии. **Материал и методы.** Объект исследования – подкожная и асцитная модели рака предстательной железы мыши, полученные с использованием клеток TRAMP-C2. Для исследования тканей опухолей использованы методы гистологического и иммуногистохимического анализов. **Результаты.** Показана высокая способность клеток TRAMP-C2 к росту *in vivo* при подкожной и внутрибрюшинной инокуляции мышам C57Bl/6j. Данные опухоли характеризуются высокой воспроизводимостью и уровнем экспрессии PSMA. При гистологическом исследовании показано, что подкожные и канцероматозные опухолевые узлы TRAMP-C2 имеют солидное строение, морфологически соответствующее низкодифференцированному образованию, при цитоморфологическом анализе мазков – в перитонеальной жидкости содержится большое количество округлых опухолевых клеток, макрофагов и эритроцитов. **Заключение.** Полученные подкожная и асцитно-солидная модели TRAMP-C2 могут быть полезны для разработки новых способов эффективного лечения РПЖ, в том числе таргетной и иммунотерапии, а также при экспериментальном изучении биотерапевтических воздействий, использующих PSMA в качестве мишени, и фотоиндуцированных эффектов.

Ключевые слова: рак предстательной железы, клеточная линия TRAMP-C2, простатический специфический мембранный антиген, асцитно-солидная модель рака предстательной железы.

ASCITE-SOLID MODEL OF PROSTATE CANCER AND ITS MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS

**E.A. Plotnikova^{1,3}, N.B. Morozova¹, A.V. Ryabova², G.V. Trunova¹,
V.A. Khokhlova¹, V.B. Loschenov², A.A. Pankratov^{1,3}, A.D. Kaprin¹**

P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia¹

3, 2nd Botkinsky proezd, 125284, Moscow, Russia.

E-mail: plotnikovaekaterina62@gmail.com¹

A.M. Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia²

38, Vavilova St., 119991, Moscow, Russia²

Russian Technological University – MIREA, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow, Russia³

86, Vernadskogo Ave., 119571, Moscow, Russia³

Abstract

Targeted therapy and immunotherapy are considered promising novel therapies capable of increasing the efficacy of prostate cancer (PCa) treatment. **The purpose of the study** was to obtain and characterize TRAMP-C2 subcutaneous and ascite-solid models of prostate cancer in C57Bl/6j mice to study specific anti-tumor activity of the candidate molecules of targeted drugs and adjust immunotherapy strategies in an evidence-based manner. **Material and Methods.** We used cultured TRAMP-C2 cells in subcutaneous and ascites mouse prostate cancer models. Histological and immunohistochemical methods were used to study the tumor tissues. **Results.** The high *in vivo* growth ability of TRAMP-C2 cells was demonstrated in subcutaneous and intraperitoneal inoculation of C57Bl/6j mice. These tumors are characterized by a high reproducibility and level of PSMA expression. Histological study showed that subcutaneous and carcinomatous TRAMP-C2 tumor nodules had solid structure morphologically corresponding to low differentiated neoplasm, cytomorphological analysis of smears showed that peritoneal fluid contained a large number of rounded tumor cells, macrophages and erythrocytes. **Conclusion.** The obtained subcutaneous and ascite-solid models of TRAMP-C2 can be useful for the development of new ways to effectively treat cancer, including targeted and immunotherapy, as well as for the experimental study of biotherapeutic effects using PSMA as a target, and photoinduced effects.

Key words: prostate cancer, TRAMP-C2 cell line, prostate specific membrane antigen, ascite-solid prostate cancer model.

Введение

Как в России, так и в мире рак предстательной железы (РПЖ) занимает 5-е место в общей структуре онкологической заболеваемости и 2-е место – в структуре заболеваемости и смертности, обусловленных злокачественными новообразованиями у мужчин [1, 2]. Для лечения РПЖ применяются хирургическое вмешательство [3], гормональная терапия [4], радио- и лучевая терапия [5], а также химиотерапия [6]. Все указанные методы обладают широким спектром побочных эффектов, которые негативно сказываются на состоянии пациентов. С учетом этого актуальной является разработка методов лечения рака предстательной железы с узким спектром неблагоприятных побочных реакций. Такими методами могут быть таргетная терапия и иммунотерапия.

При таргетной терапии лекарственные агенты блокируют сигналы, которые способствуют неконтролируемому росту и размножению малигнизированных клеток; вызывают их гибель путем индукции апоптоза и стимуляции иммунной

системы или специфически направляют химиотерапевтические препараты к опухолевым клеткам, минимизируя гибель нормальных клеток и частоту нежелательных эффектов [7].

За последние десять лет иммунотерапия добилась значительного прогресса и в настоящее время является важным компонентом лечения солидных злокачественных опухолей на поздних стадиях [8]. Иммунотерапия направлена на ингибирование опухолевого роста и стимуляцию противоопухолевого иммунного ответа [9, 10]. Недавние открытия, касающиеся активации противоопухолевого иммунитета, привели к развитию иммунотерапии в качестве метода лечения РПЖ, особенно его кастрационно-резистентной формы. Комбинация индивидуальной иммунотерапии и блокаторов контрольных точек иммунитета с традиционными цитотоксическими агентами и терапией, нацеленной на рецепторы андрогенов, должна обеспечить прогресс в этом разделе клинической онкологии [11].

Иммunosuppressивное микроокружение опухоли делает РПЖ сложной мишенью для большинства

иммунотерапевтических средств [12], поэтому для изучения механизмов действия иммунопрепаратов и поиска способов повышения их эффективности необходимы экспериментальные модели, которые отражают развитие противоопухолевого иммунного ответа [13]. Таковыми могут стать модели рака предстательной железы мышей, которые будут играть ключевую роль в открытии и разработке новых методов лечения. Их можно разделить на две категории: модели генетически модифицированных мышей и модели ксенотрансплантатов. Ранее [14] были охарактеризованы подкожные ксенотрансплантаты РПЖ человека 22Rv1 и PC-3, которые использовались для изучения эффективности конструкций, нацеленных на простатический специфический мембранный антиген (PSMA). Модели канцероматоза брюшины у мышей как платформа для тестирования, улучшения и/или прогнозирования соответствующих терапевтических вмешательств у пациентов имеют решающее значение для достижения медицинских успехов [15].

Целью исследования явились получение и характеристика солидной и асцитно-солидной моделей РПЖ TRAMP-C2 у мышей линии C57Bl/6j для изучения специфической противоопухолевой активности молекул-кандидатов таргетных лекарственных средств и корректировки стратегий иммунотерапии.

Асцитная модель очень удобна для изоляции иммунокомпетентных клеток в микроокружении опухоли, а также дальнейших манипуляций с ними *ex vivo*, например, методами конфокальной микроскопии, проточной цитофлуорометрии и другими методами клеточного анализа. Линия клеток аденокарциномы предстательной железы мышей TRAMP-C2 первоначально была получена из предстательной железы трансгенных мышей (TRAMP), у которых спонтанно развился РПЖ, который точно может имитировать развитие болезни у человека [16].

Материал и методы

В работе использовали клеточную линию аденокарциномы предстательной железы человека TRAMP-C2 (ATCC коллекция, США). Клетки культивировали в стандартных условиях (в увлажненной атмосфере при температуре 37 °С и 5 % содержания CO₂) во флаконах с площадью поверхности 75 см² (Costar, США) на среде ДМЕМ (ПанЭко, Россия) с добавлением 4 mM L-глутамина (ПанЭко, Россия), 0,005 мг/мл бычьего инсулина, 10 нМ дегидроизоандростерона, 5 % эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США) и 5 % Nu-сыворотки IV (Corning, США).

В работе использовали половозрелых мышей линии C57Bl/6j, самцов, возраст 8–12 нед. Животные получены из ЦКП «SPF-вивария» ИЦиГ СО РАН г. Новосибирска. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с национальными и международными стандартами, регламентирующими

использование экспериментальных животных в научных целях [17–19].

Для инокуляции животным использовали клетки 6–10 пассажей. Непосредственно перед трансплантацией мышам клетки снимали с флаконов раствором Версена (ПанЭко, Россия), отмывали в среде и готовили клеточную суспензию с концентрацией 3×10⁶, 5×10⁶ и 10×10⁶ клеток в 0,1 мл среды ДМЕМ для подкожной и с концентрацией 1×10⁶, 10×10⁶ и 50×10⁶ в 0,5 мл среды ДМЕМ для внутрибрюшинной инокуляции. Клеточный материал при подкожной трансплантации вводили мышам на внешнюю сторону бедра. На этапе подбора количества вводимых клеток экспериментальные группы состояли из 5 мышей, на этапе характеристики – от 5 до 8 животных в группе.

Размеры подкожных опухолевых узлов регистрировались в 3 взаимно перпендикулярных проекциях с использованием электронного цифрового кроциркуля STORM_{TM} 3C301 «Central» 2 раза в неделю. Объем опухоли рассчитывали по формуле $V=d_1 \times d_2 \times d_3 \times 0,52$, где d_1 , d_2 и d_3 – три взаимно перпендикулярных диаметра опухоли. Вес животных после внутрибрюшинной инокуляции опухолевых клеток регистрировали на весах (AND HT-500 A&D Co LTD, Япония) каждые 3–4 дня. Эвтаназию мышей проводили, помещая мышей в ингаляционную CO₂-камеру (ZOONLAB GmbH, Германия).

Образцы тканей, полученные при аутопсии животных на 17–20-е сут после подкожной инокуляции клеток и на 28–32-е сут после внутрибрюшинной инокуляции клеток, фиксировали в нейтральном забуференном 10 % формалине и после стандартной гистологической проводки заключали в парафин. Готовили серийные срезы тканей толщиной 4 мкм. Для гистологического анализа срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Для выявления экспрессии PSMA использовали поликлональные кроличьи антитела Ab58779 (Abcam, Великобритания) в разведении 1:100. Далее проводили исследование по методике, описанной ранее [20].

Статистическая обработка полученных результатов выполнена с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., США). Для всех количественных данных вычислены групповое среднее арифметическое (M) и стандартная ошибка среднего (m). Для оценки достоверности различий между группами, в зависимости от характера распределения признака в группах, применены t-критерий Стьюдента или U-критерий Манна – Уитни. Различия между группами считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Подкожная модель рака предстательной железы мыши TRAMP-C2

На первом этапе исследовали способность клеток TRAMP-C2 к росту *in vivo* при подкожной

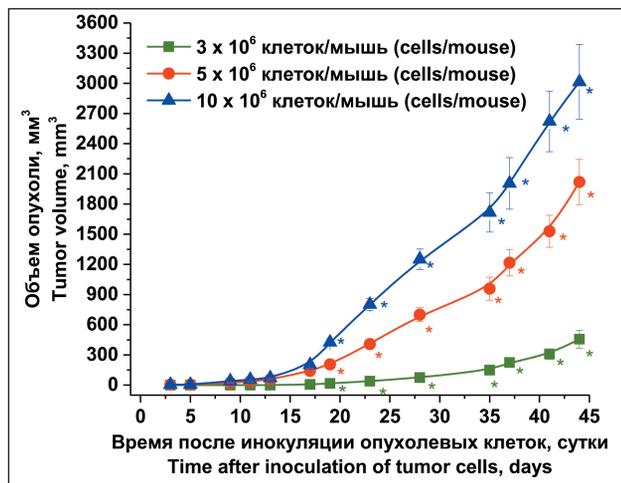


Рис. 1. Динамика роста опухоли TRAMP-C2 после подкожной инокуляции клеток мышам C57Bl/6j в зависимости от прививочной дозы (* – p≤0,05)

Fig. 1. Changes in the TRAMP-C2 tumor growth after subcutaneous cell inoculation in C57Bl/6j mice depending on the inoculation dose (* – p≤0.05)

инокуляции мышам C57Bl/6j на внешнюю поверхность бедра. Оценивали влияние количества инъецированных опухолевых клеток на приви-

ваемость, формирование первичного опухолевого узла, динамику его роста и гистологические особенности. Независимо от количества клеток, инъецированных подкожно (3×10⁶, 5×10⁶ и 10×10⁶ клеток/мышь) TRAMP-C2, их прививаемость составила 100 %. По визуальной оценке формирование опухолевого узла начиналось на 3-и сут после инокуляции опухолевых клеток при использовании прививочных доз 5×10⁶ и 10×10⁶ клеток/мышь и на 9-е сут – после инокуляции 3×10⁶ клеток/мышь. Рост опухолевых узлов зависел от прививочной дозы (рис. 1), начиная с 19-х сут объемы опухолевых узлов статистически достоверно отличались между группами (p≤0,05).

На 17-е сут роста опухоли при аутопсии у 3 животных из каждой группы были иссечены опухолевые узлы TRAMP-C2 для морфологического анализа (рис. 2). Результаты проведенного морфологического анализа показали, что к 17-м сут образуется крупный узел, окруженный соединительнотканной капсулой, содержащей умеренное количество воспалительного инфильтрата (рис. 2a, b). Узел образован низкодифференцированными клетками веретеновидной формы, которые формируют тяжи, располагающиеся хаотично.

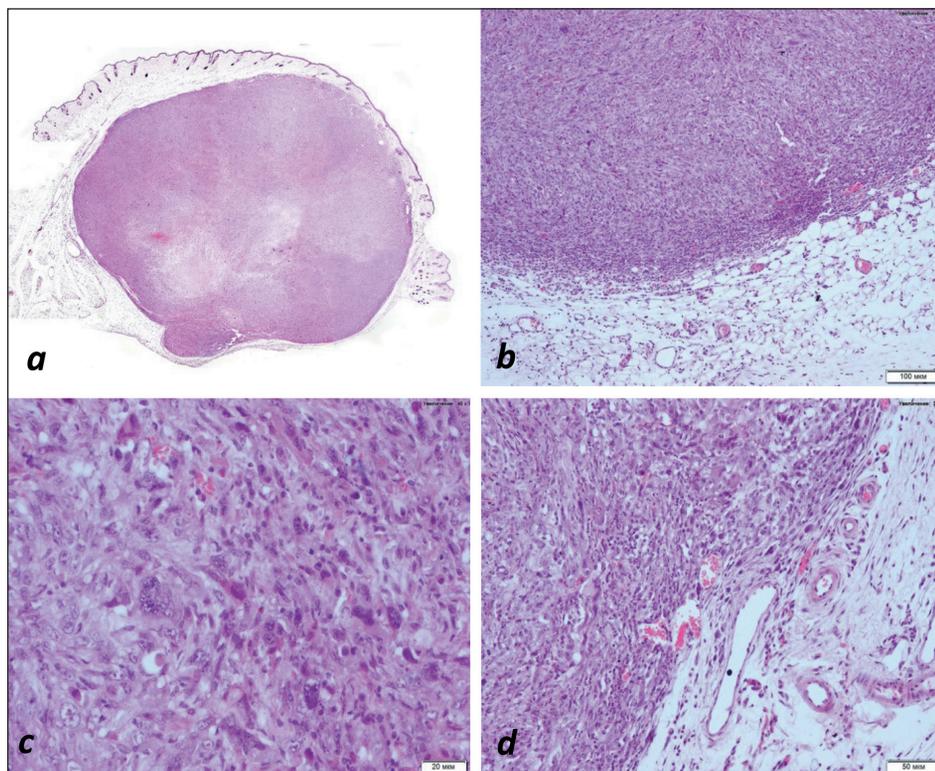


Рис. 2. Гистологическое строение опухолевого узла TRAMP-C2 после подкожной инокуляции 10×10⁶ клеток мышам C57Bl/6j (17-е сут):

a – крупный опухолевый узел, расположенный в подкожной жировой клетчатке, ×40; b – периферическая зона опухоли, капсула узла умеренно инфильтрирована лимфоцитами и макрофагами, ×100; c – паренхима опухоли состоит из низкодифференцированных веретеновидных клеток, образующих разнонаправленные тяжи, ×400; d – периферическая зона узла хорошо васкуляризована, ×200. Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 2. Histological structure of TRAMP-C2 tumor nodule after subcutaneous inoculation of 10×10⁶ cells into C57Bl/6j mice (17 days): a – large tumor nodule located in subcutaneous fatty tissue, ×40; b – peripheral zone of the tumor, the nodule capsule is moderately infiltrated with lymphocytes and macrophages, ×100; c—tumor parenchyma consists of low differentiated spindle-shaped cells forming multidirectional strands, ×400; d—peripheral zone of the nodule is well vascularized, ×200. Hematoxylin and eosin staining

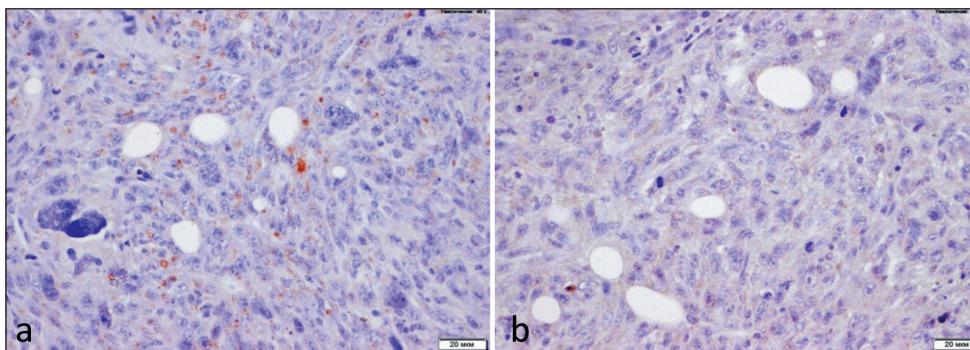


Рис. 3. Экспрессия PSMA в клетках опухоли предстательной железы TRAMP-C2 у мышей C57Bl/6j: а – при окраске кроличьими антителами к PSMA выявляется слабая цитоплазматическая реакция, $\times 400$;

б – окрашивание контрольными неспецифическими иммуноглобулинами кролика, $\times 400$. Докрашивание гематоксилином

Fig. 3. PSMA expression in TRAMP-C2 prostate tumor cells of C57Bl/6j mice:

a – weak cytoplasmic reaction is revealed by staining with rabbit antibodies to PSMA; b – staining with control non-specific rabbit immunoglobulins, $\times 400$. Additional staining with hematoxylin

Опухолевые клетки обладают выраженным полиморфизмом: значительно отличаются по размерам, содержат ядра различного размера и формы, встречаются многоядерные клетки (рис. 2с). Ядра клеток содержат 1–3 крупных ядрышка и грубодисперсный хроматин. Цитоплазма клеток развита умеренно, иногда содержит крупные светлые вакуоли. Ядерно-цитоплазматическое соотношение сдвинуто в сторону ядра. Митозы встречаются часто. В центре узла располагается зона некроза, содержащая клеточный детрит, участки разрушенных микрососудов и очаг кровоизлияния. Клетки, гибнущие путем апоптоза, встречаются редко. Тонковолокнистая соединительнотканная опухолевая строма равномерно распределена между клетками и составляет основу тяжелой. Периферическая зона узла хорошо васкуляризирована (рис. 2d). Цен-

тральные области содержат заметно меньшее количество профилей щелевидных микрососудов.

При иммуногистохимическом исследовании гистологических срезов опухолевых узлов выявлено специфическое окрашивание антителами к PSMA, локализованное в цитоплазме клеток (рис. 3а, б).

Таким образом, для разработки новых способов эффективного лечения РПЖ на модели солидной опухоли целесообразно использовать аденокарциному предстательной железы TRAMP-C2 в прививочных дозах $5,0 \times 10^6$ и $10,0 \times 10^6$ клеток/мышь при подкожной инокуляции на бедро. Культивирование данной клеточной культуры в системе *in vitro* проводится в стандартных условиях и позволяет нарастить клетки для прививки животным в необходимом количестве.

Асцитно-солидная модель рака предстательной железы мыши TRAMP-C2

На втором этапе исследований оценивали способность клеток TRAMP-C2 к росту *in vivo* при внутрибрюшинной инокуляции мышам C57Bl/6j. В ходе разработки данной модели оценивали влияние количества инъецированных опухолевых клеток на прививаемость, формирование перитонеальной жидкости, образование вторичных опухолевых узлов, развивающихся в брюшной полости, и цитологические особенности.

Для внутрибрюшинной инокуляции мышам использовали три прививочные дозы: 1×10^6 , 10×10^6 и 50×10^6 клеток/мышь. Накопление асцитической жидкости визуально зафиксировали только при использовании прививочных доз 10×10^6 и 50×10^6 клеток/мышь (рис. 4а). Вес мышей интенсивно увеличивался начиная с 24-х суток наблюдения, и к 28-м сут прирост веса составил $1,9 \pm 0,5$ и $2,7 \pm 0,7$ г, соответственно (рис. 5). Различия между контрольной и опытными группами по весу животных были незначимыми ($p > 0,05$).

На 28-е сутки наблюдения при аутопсии у мышей из брюшной полости была извлечена асцитическая

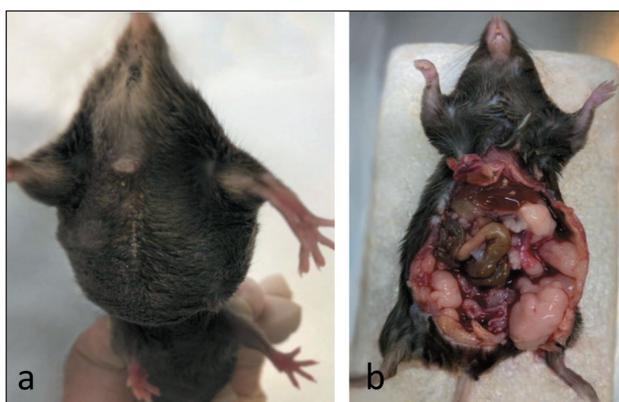


Рис. 4. Фотографии мыши с асцитно-солидной опухолью TRAMP-C2 на 28-е сут после внутрибрюшинной инокуляции; мыши-самцы линии C57Bl/6, прививочная доза 50×10^6 клеток на мышь: а – перед аутопсией; б – в процессе аутопсии после удаления перитонеальной жидкости

Fig. 4. Photographs of a mouse with TRAMP-C2 ascitic-solid tumor on day 28 after intraperitoneal inoculation; mice, males of the C57Bl/6 line, inoculation dose 50×10^6 cells per mouse; a – before autopsy, b – during autopsy after removal of peritoneal fluid

жидкость в объеме $4,0 \pm 0,5$ мл, затем проведены вскрытие брюшной полости и макроскопическая оценка состояния внутренних органов и тканей (рис. 4b). При макроскопической оценке состояния брюшной полости выявлены множественные очаговые образования в виде солидных узлов различного размера: перитонеальный канцероматоз; опухолевые узлы были локализованы в области желудка, поджелудочной железы, кишечника, брыжейки, предстательной железы и семенников (рис. 4b). Также опухолевые очаги выявлены и в грудной полости (в области тимуса и сердца). При аутопсии асцитическая жидкость и опухолевые узлы изъяты и подготовлены для морфологического анализа. На рис. 6 в качестве примера представлена гистологическая картина канцероматозных узлов с инвазией в поджелудочную железу.

Проведенный морфологический анализ показал, что к 28-м сут после внутрибрюшинной инокуляции клетки линии TRAMP-C2 формируют диссеминированные перитонеальные канцероматозные опухолевые образования, имеющие вид небольших плотных узлов (рис. 6). Опухолевые узлы состоят из низкодифференцированных, преимущественно веретеновидных клеток, образующих разнонаправленные тяжи. Опухолевые клетки имеют выраженный полиморфизм. Среди них встречаются как очень мелкие с одним ядром округло-овальной либо неправильной формы, так и гигантские многоядерные клетки, ядра в которых могут резко отличаться по форме и размерам. Ядра клеток содержат несколько ядрышек различного размера и грубодисперсный хроматин. Цитоплазма клеток развита умеренно. В очень крупных многоядерных клетках цитоплазма занимает значительную часть клетки и содержит множество мелких вакуолей. Фигуры митоза и патологические формы митоза встречаются часто. К указанным срокам после перевивки в опухолевых

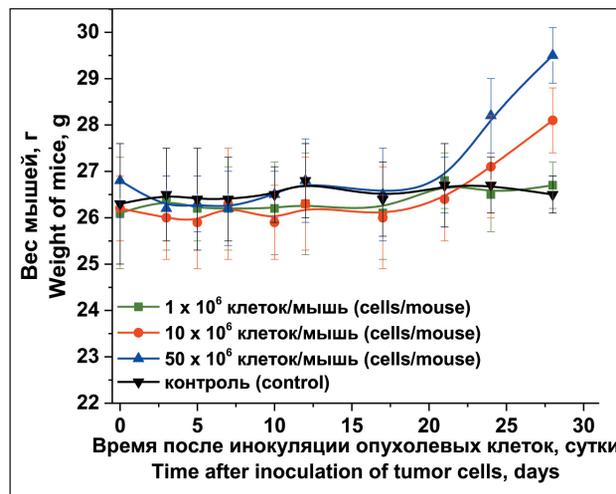


Рис. 5. Динамика изменения веса мышей после внутрибрюшинной инокуляции опухолевых клеток TRAMP-C2 мышам C57Bl/6j в зависимости от прививочной дозы
 Fig. 5. Dynamics of mouse weight changes after intraperitoneal inoculation of TRAMP-C2 tumor cells into C57Bl/6j mice depending on the inoculation dose

узлах наблюдаются единичные микроочаги некроза и немногочисленные гибнущие многоядерные клетки с морфологическими признаками апоптоза. Опухолевые клетки окружены тонковолокнистой соединительнотканной стромой. Канцероматозные узлы хорошо васкуляризированы, особенно по периферии.

При микроскопическом исследовании асцитической жидкости выявлены опухолевые клетки в количестве $2,5-3,5 \times 10^6$ клеток в 1 мл. Результаты проведенного цитоморфологического анализа мазков показали, что в асцитической жидкости содержится большое количество округлых опухолевых клеток, лежащих отдельно и группами (рис. 7). Клетки отличаются полиморфизмом: анизоцитоз и анизокариоз сильно выражены, встречаются

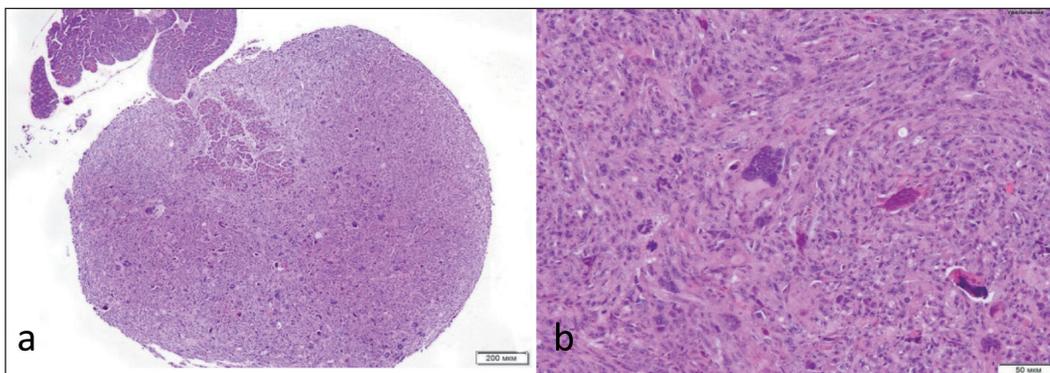


Рис. 6. Гистологическое строение канцероматозных узлов мышинной карциномы предстательной железы линии TRAMP на 28-е сут после внутрибрюшинной инокуляции суспензии опухолевых клеток мышам-самцам C57Bl/6j: а – инвазия в поджелудочную железу, $\times 40$; б – паренхима опухоли состоит из низкодифференцированных веретеновидных клеток, образующих разнонаправленные тяжи, многоядерные клетки, $\times 200$. Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 6. Histological structure of carcinomatous nodules of murine prostate carcinoma of TRAMP line 28 days after intraperitoneal inoculation of tumor cell suspension in C57Bl/6j male mice: а – invasion into the pancreas, $\times 40$; б – tumor parenchyma consists of poorly differentiated spindle-shaped cells forming multidirectional strands, multinucleated cells, $\times 200$. Hematoxylin and eosin staining

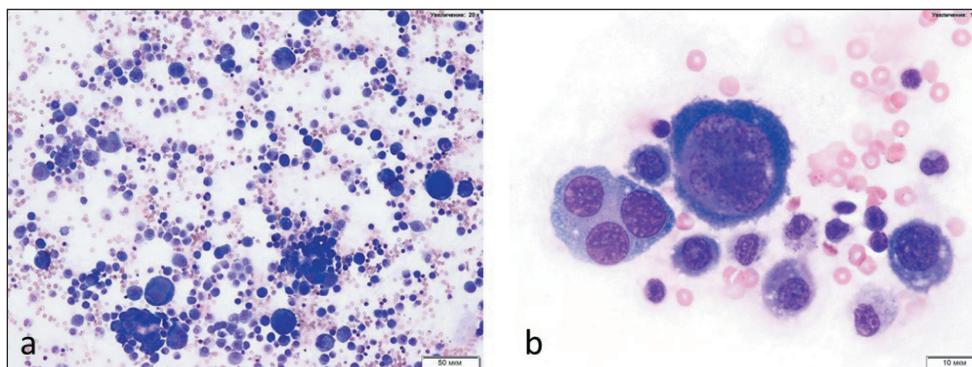


Рис. 7. Цитологическое исследование перитонеальной жидкости на 28-е сут после внутрибрюшинного введения мышам-самцам C57Bl/6j суспензии клеток карциномы предстательной железы линии TRAMP-C2:

а – одиночные и сгруппированные опухолевые клетки в мазке, $\times 200$;

б – небольшая группа опухолевых клеток, среди которых две крупные многоядерные клетки, $\times 1000$. Окраска по Романовскому

Fig. 7. Cytological examination of the peritoneal fluid on day 28 after intraperitoneal injection of TRAMP-C2 prostate carcinoma cell suspensions into C57Bl/6j male mice: а – single and clustered tumor cells in the smear, $\times 200$;

б – small group of tumor cells, including two large multinucleated cells, $\times 1000$, Romanowsky staining

гигантские клетки, содержащие до 10 ядер, которые часто деформированы соседними ядрами. Базофильная цитоплазма у большинства клеток умеренно развита и иногда содержит вакуоли. Ядерно-цитоплазматическое соотношение сдвинуто в сторону ядра. Форма ядер округло-овальная, встречаются ядра неправильной формы. Ядерный хроматин грубодисперсный. Ядра содержат множественные ядрышки, которые могут отличаться по размеру в пределах одного ядра. Фон представлен многочисленными макрофагами и эритроцитами.

Для дальнейшего поддержания асцитной формы рака предстательной железы неразбавленную выпотную жидкость, полученную от мышей-доноров, инокулировали мышам внутрибрюшинно по 0,5 мл. Количество прививаемых клеток составило $1,25\text{--}1,75 \times 10^6$ на мышь. На 15–17-е сут наблюдения у мышей в брюшной полости образовывалась асцитическая жидкость, которая была помещена в криобирки с 10 % содержанием DMSO, подвергнута стандартной процедуре заморозки и оставлена на хранение в жидком азоте при температуре -196°C .

Следует отметить, что после размораживания и трансплантации животным асцитической жидкости после хранения в жидком азоте в течение 2–6 мес мы наблюдали аналогичную картину развития асцитно-солидной опухоли у мышей.

Таким образом, для разработки новых способов эффективного лечения РПЖ у мышей с асцитно-

солидной формой развития опухоли возможно использование клеток линии аденокарциномы предстательной железы TRAMP-C2 в прививочной дозе $50,0 \times 10^6$ на мышь при внутрибрюшинной инокуляции. Однако наиболее целесообразно и экономично для получения асцитно-солидной модели использование клеток, полученных от мышей-доноров «0» – «5» генераций при инокуляции 0,5 мл на мышь, что соответствует $1,2\text{--}2,2 \times 10^6$ клеток.

Заключение

Получены и охарактеризованы 2 модели рака предстательной железы мышши с использованием клеточной линии TRAMP-C2: подкожная и асцитно-солидная (смешанный рост опухоли). При гистологическом исследовании показано, что подкожные и канцероматозные опухолевые узлы TRAMP-C2 имеют солидное строение, морфологически соответствующее низкодифференцированному образованию. При иммуногистохимическом исследовании выявлено специфическое окрашивание антителами к PSMA, локализованное в цитоплазме клеток. При цитоморфологическом анализе мазков показано, что в перитонеальной жидкости содержится большое количество округлых опухолевых клеток, макрофагов и эритроцитов. Полученные подкожная и асцитно-солидная модели TRAMP-C2 могут быть полезны для разработки новых способов эффективного лечения рака предстательной железы, в том числе таргетной и иммунотерапии.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2020. 250 с. [Malignant tumors in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. Moscow, 2020. 250 p. (in Russian)].
2. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021; 71(3): 209–49. doi: 10.3322/caac.21660.
3. Каприн А.Д., Алексеев Б.Я., Матвеев В.Б., Пушкарь Д.Ю., Говоров А.В., Горбань Н.А., Киричек А.А., Бирюков В.А., Волкова М.И.,

Гулидов И.А., Гуменецкая Ю.В., Крылов В.В., Карякин О.Б., Крашенинников А.А., Мардынский Ю.С., Нишко К.М., Захарова Т.И., Костин А.А., Хмелевский Е.В., Феденко А.А., Болотина Л.В., Фалалеева Н.А., Филоненко Е.В., Невольских А.А., Иванов С.А., Хайлова Ж.В., Геворкян Т.Г. Рак предстательной железы. Клинические рекомендации. Современная онкология. 2021; 23(2): 211–47. [Kaprin A.D., Alekseev B.Ia., Matveev V.B., Pushkar D.Iu., Govorov A.V., Gorban N.A., Kirichek A.A., Biriukov V.A., Volkova M.I., Gulidov I.A., Gumenetskaia Iu.V., Krylov V.V., Kariakin O.B., Krasheninnikov A.A., Mardynskii Iu.S., Niushko K.M., Zakharova T.I., Kostin A.A., Khmelevskii E.V., Fedenko A.A., Bolotina L.V., Falaleeva N.A., Filonenko E.V., Nevolskikh A.A., Ivanov S.A., Khailova Zh.V., Gevorkian T.G. Prostate cancer. Clinical recommendations. Journal of

Modern Oncology. 2021; 23(2): 211–47. (in Russian)]. doi: 10.26442/18151434.2021.2.200959.

4. *Labrie F.* Hormonal Therapy of Prostate Cancer. Progress in Brain Research. 2010; 182: 321–41. doi: 10.1016/S0079-6123(10)82014-X.

5. *Gay H.A., Michalski J.M.* Radiation Therapy for Prostate Cancer. Mo Med. 2018; 115(2): 146–50.

6. *Hurwitz M.* Chemotherapy in Prostate Cancer. Curr Oncol Rep. 2015; 17(10): 44. doi: 10.1007/s11912-015-0468-7.

7. *Joo W.D., Visintin I., Mor G.* Targeted cancer therapy – are the days of systemic chemotherapy numbered? Maturitas. 2013; 76(4): 308–14. doi: 10.1016/j.maturitas.2013.09.008.

8. *Waldman A.D., Fritz J.M., Lenardo M.J.* A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. Nat Rev Immunol. 2020; 20(11): 651–68. doi: 10.1038/s41577-020-0306-5.

9. *Zhou J.* Advances and prospects in cancer immunotherapy. New Journal of Science 2014; 1–13. doi: 10.1155/2014/745808.

10. *Yuzhakova D.V., Shirmanova M.V., Sergeeva T.F., Zagaynova E.V., Lukyanov K.A.* Immunotherapy of malignant neoplasms (review). Modern Technology in Medicine. 2016; 8(1): 173–82. doi: 10.17691/stm2016.8.1.23.

11. *Cha H.R., Lee J.H., Ponnazhagan S.* Revisiting Immunotherapy: A Focus on Prostate Cancer. Advances and Limitations of Immunotherapy in Prostate Cancer. Cancer Res. 2020; 80: 1615–23. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-2948.

12. *Karwacki J., Kielbik A., Szlasa W., Sauer N., Kowalczyk K., Krajewski W., Saczko J., Kulbacka J., Szydelko T., Malkiewicz B.* Boosting the Immune Response-Combining Local and Immune Therapy for Prostate Cancer Treatment. Cells. 2022; 11(18): 2793. doi: 10.3390/cells11182793.

13. *Connolly K.A., Fitzgerald B., Damo M., Joshi N.S.* Novel Mouse Models for Cancer Immunology. Ann Rev Cancer Biol. 2022; 6(1): 269–91. doi: 10.1146/annurev-cancerbio-070620-105523.

14. *Machulkin A.E., Uspenskaya A.A., Zyk N.U., Nimenko E.A., Ber A.P., Petrov S.A., Polshakov V.I., Shafikov R.R., Skvortsov D.A., Plotnikova E.A., Pankratov A.A., Smirnova G.B., Borisova Y.A., Pokrovsky V.S., Kolmogorov V.S., Vanev A.N., Khudyakov A.D., Chepikova O.E., Kovalev S., Zamyatin A.A. Jr, Erofeev A., Gorelkin P., Beloglazkina E.K., Zyk N.V., Khazanova E.S., Majouga A.G.* Synthesis, Characterization, and Preclinical

Evaluation of a Small-Molecule Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Monomethyl Auristatin E Conjugate. J Med Chem. 2021; 64(23): 17123–45. doi: 10.1021/acs.jmedchem.1c01157.

15. *Bella Á., Di Trani C.A., Fernández-Sendin M., Arrizabalaga L., Cirella A., Teijeira Á., Medina-Echeverez J., Melero I., Berraondo P., Aranda F.* Mouse Models of Peritoneal Carcinomatosis to Develop Clinical Applications. Cancers (Basel). 2021; 13(5): 963. doi: 10.3390/cancers13050963.

16. *Foster B.A., Gingrich J.R., Kwon E.D., Madias C., Greenberg N.M.* Characterization of prostatic epithelial cell lines derived from transgenic adenocarcinoma of the mouse prostate (TRAMP) model. Cancer Res. 1997; 57(16): 3325–30.

17. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях.* Под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М., 2010. 358 с. [Guide for the laboratory animals and alternative models in biomedical research. Ed. N.N. Karkishchenko, S.V. Grachev. Moscow, 2010. 358 p. (in Russian)].

18. *Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных.* М., 2017. 336 с. [Guide for the care and use of laboratory animals. Moscow, 2017. 336 p. (in Russian)].

19. *Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union, 20.10.2010.*

20. *Воронцова М.С., Кармакова Т.А., Плотникова Е.А., Морозова Н.Б., Абакумов М.А., Якубовская Р.И., Алексеев Б.Я.* Модели подкожного и ортотопического ксенографтов рака мочевого пузыря человека у мышей nude для исследования воздействий, нацеленных на рецептор эпидермального фактора роста. Российский биотерапевтический журнал. 2018; 17(2): 31–40. [Vorontsova M.S., Karmakova T.A., Plotnikova E.A., Morozova N.B., Abakumov M.A., Yakubovskaya R.I., Alexeev B.Y. Subcutaneous and orthotopic xenograft models of human bladder carcinoma in nude mice for epidermal growth factor receptor-targeted treatment. Russian Journal of Biotherapy. 2018; 17(2): 31–40. (in Russian)]. doi: 10.17650/1726-9784-2018-17-2-31-40.

Поступила/Received 12.12.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 24.07.2023

Принята к публикации/Accepted 10.08.2023

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Плотникова Екатерина Александровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; доцент базовой кафедры «Инженерия клеточных систем», ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет», Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова (г. Москва, Россия). E-mail: plotnikovaeaterina62@gmail.com. SPIN-код: 7344-5138. Researcher ID (WOS): L-7226-2015. Author ID (Scopus): 55416518700. ORCID: 0000-0001-8711-6919.

Морозова Наталья Борисовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1286-6518. Researcher ID (WOS): AAB-4968-2020. Author ID (Scopus): 24473503000. ORCID: 0000-0002-7159-805X.

Рябова Анастасия Владимировна, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН ФИЦ «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 7740-7676. Researcher ID (WOS): N-3902-2013. Author ID (Scopus): 7003565033. ORCID: 0000-0002-0507-2367.

Трунова Галина Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3642-7291. Researcher ID (WOS): AAE-2433-2021. Author ID (Scopus): 6507849630. ORCID: 0000-0003-2917-4496.

Хохлова Варвара Андреевна, младший научный сотрудник, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9647-7576. Researcher ID (WOS): AAE-2204-2021. Author ID (Scopus): 57902411100. ORCID: 0000-0002-0339-2068.

Лощенов Виктор Борисович, доктор физико-математических наук, профессор, заведующий лабораторией, ФГБУН ФИЦ «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 7740-7676. Researcher ID (WOS): N-3902-2013. Author ID (Scopus): 7003565033. ORCID: 0000-0002-0507-2367.

Панкратов Андрей Александрович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; доцент базовой кафедры «Инженерия клеточных систем», ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет», Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5463-3790. Researcher ID (WOS): A-2317-2019. Author ID (Scopus): 24473185200. ORCID: 0000-0001-7291-9743.

Каприн Андрей Дмитриевич, академик РАН, директор, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России

(г. Москва, Россия). SPIN-код: 1759-8101. Researcher ID (WOS): K-1445-2014. Author ID (Scopus): 660270985. ORCID: 0000-0001-8784-8415.

ВКЛАД АВТОРОВ

Плотникова Екатерина Александровна: подготовка и редактирование текста.

Морозова Наталья Борисовна: подготовка и редактирование текста.

Рябова Анастасия Владимировна: разработка концепции исследования, подготовка и редактирование текста.

Трунова Галина Владимировна: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Хохлова Варвара Андреевна: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Лощенко Виктор Борисович: разработка концепции исследования, утверждение окончательного варианта статьи.

Панкратов Андрей Александрович: разработка концепции исследования, утверждение окончательного варианта статьи.

Каприн Андрей Дмитриевич: утверждение окончательного варианта статьи.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант №21-52-12030\22.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina A. Plotnikova, PhD, Senior Researcher, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia; Associate Professor of the Base Department “Cellular Systems Engineering”, Russian Technological University – MIREA, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology (Moscow, Russia). E-mail: plotnikovaekaterina62@gmail.com. Researcher ID (WOS): L-7226-2015. Author ID (Scopus): 55416518700. ORCID: 0000-0001-8711-6919.

Natalya B. Morozova, PhD, Senior Researcher, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAB-4968-2020. Author ID (Scopus): 24473503000. ORCID: 0000-0002-7159-805X.

Anastasia V. Ryabova, PhD, Senior Researcher, A.M. Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): N-3902-2013. Author ID (Scopus): 7003565033. ORCID: 0000-0002-0507-2367.

Galina V. Trunova, PhD, Senior Researcher, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAE-2433-2021. Author ID (Scopus): 6507849630. ORCID: 0000-0003-2917-4496.

Varvara A. Khokhlova, Junior Researcher, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAE-2204-2021. Author ID (Scopus): 57902411100. ORCID: 0000-0002-0339-2068.

Viktor B. Loschenov, Professor, Head of the Laboratory, A.M. Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): N-3902-2013. Author ID (Scopus): 7003565033. ORCID: 0000-0002-0507-2367.

Andrey A. Pankratov, PhD, Head of the Laboratory, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia; Associate Professor of the Basic Department “Cell Systems Engineering”, Russian Technological University – MIREA, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): A-2317-2019. Author ID (Scopus): 24473185200. ORCID: 0000-0001-7291-9743.

Andrey D. Kaprin, MD, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): K-1445-2014. Author ID (Scopus): 660270985. ORCID: 0000-0001-8784-8415.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Ekaterina A. Plotnikova: preparation and editing of the manuscript.

Natalya B. Morozova: preparation and editing of the manuscript.

Anastasia V. Ryabova: study conception, preparation and editing of the manuscript.

Galina V. Trunova: critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Varvara A. Khokhlova: critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Viktor B. Loschenov: study conception, approval of the final version of the manuscript.

Andrey A. Pankratov: study conception, approval of the final version of the manuscript.

Andrey D. Kaprin: approval of the final version of the manuscript.

Funding

This research was funded by Russian Science Foundation grant No. 21-52-12030\22.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.