Уральский медицинский журнал. 2023;22(5):66–76
Ural Medical Journal. 2023;22(5):66–76

Научная статья
УДК 615.277.3-092.9
http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-5-66-76

Сравнительный анализ использования моделей меланомы B16 и эпидермоидной карциномы легкого Льюис для проведения доклинических исследований соединений с предполагаемым противоопухолевым действием

М. А. Додохова[1] ✉, М. А. Акименко[2], О. В. Воронова[3], М. С. Алхусейн-Кулягинова[4], Е. М. Котиева[5], В. В. Трепель[6], В. М. Котиева[7], А. Б. Альникин[8], И. М. Котиева[9]

[1–9] Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия
[2, 3] Клиническая больница «РЖД-Медицина», Ростов-на-Дону, Россия
✉ dodohova@mail.ru

Аннотация

Введение. Поиск новых соединений с предполагаемым противоопухолевым действием и разработка на их основе противоопухолевых и антиметастатических лекарственных средств являются приоритетными задачами для специалистов в области медицинской химии, экспериментальной патофизиологии и фармакологии. Меланома B16 и эпидермоидная карцинома легкого Льюис (*англ*. Lewis Lung Carcinoma, LLC) являются универсальными моделями для оценки влияния соединений с предполагаемым противоопухолевым действием на первичный очаг опухолевого роста и процесс диссеминации опухолевых клеток. **Цель работы –** определить целесообразность использования моделей солидного опухолевого роста и активности метастазирования эпидермоидной карциномы легкого Льюис и меланомы B16 для проведения доклинических исследований противоопухолевой и антиметастатической фармакологической активности гибридных оловоорганических соединений в зависимости от экспериментальных задач. **Материалы и методы.** Экспериментальная часть была выполнена на мышах (самках) C57B1/6. Введение гибридных оловоорганических соединений производили пятикратно, внутрибрюшинно. Начало лечения – через 48 ч. после перевивки опухолевых клеток в одинаковых режимах применительно к обеим моделям. В данной работе были использованы максимально эффективные (375 мг/кг и 250 мг/кг соответственно) и токсические (500 мг/кг и 375 мг/кг соответственно) дозы лидерных гибридных оловоорганических соединений Me3 (бис(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат)диметилолова) и Me5 ((3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат)трифенилолова). **Результаты.** На всех этапах эксперимента на обеих моделях опухолевого роста были получены аналогичные результаты, характеризующие фармакологическую активность тестируемых соединений: умеренный противоопухолевый и высокий антиметастатический эффект. Темпы роста и развития опухолевого процесса являются сопоставимыми и удобными для планирования доклинических исследований *in vivo* и могут быть взаимозаменяемыми. **Обсуждение.** При проведении поискового анализа фармакологической активности в широком диапазоне доз более высокой степенью удобства для интерпретации данных (количество метастатических очагов в легких) обладает модель эпидермоидной карциномы легкого Льюис. При изучении патогенетических особенностей метастазирования под действием соединений с предполагаемым противоопухолевым действием за счет возможностей контрастного иммуногистохимического окрашивания опухолевых клеток преимуществом обладает модель меланомы B16. В нашем эксперименте при иммуногистохимическом окрашивании на Мелан-А четко отслеживается гематогенный путь метастазирования по кровотоку. **Заключение.** Для поисковых скрининговых исследований по отбору перспективных кандидатов для углубленного изучения целесообразно использовать модель эпидермоидной карциномы легкого Льюис. При углубленном изучении соединений, доказавших свою эффективность, большей информативностью обладает модель меланомы B16.

Ключевые слова: доклинические исследования, иммунгогистохимическое исследование, меланома B16, эпидермоидная карцинома легкого Льюис, гибридные оловоорганические соединения

Для цитирования: Додохова М.А., Акименко М.А., Воронова О.В. с соавт. Сравнительный анализ использования моделей меланомы B16 и эпидермоидной карциномы легкого Льюис для проведения доклинических исследований соединений с предполагаемым противоопухолевым действием. *Уральский медицинский журнал.* 2023;22(5)66–76. http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-5-66-76

© Додохова М. А., Акименко М. А., Воронова О. В., Алхусейн-Кулягинова М. С., Котиева Е. М., Трепель В. В., Котиева В. М., Альникин А. Б., Котиева И. М., 2023
© Dodokhova M. A., Akimenko M. A., Voronova O. V., Alkhusein-Kuliaginova M. S., Kotieva E. M., Trepel V. V., Kotieva V. M., Alnikin A. B., Kotieva I. M., 2023

Original article

Comparative analysis of the use of B16 melanoma and epidermoid Lewis lung carcinoma models for preclinical studies of compounds with a putative antitumor effect

M. A. Dodokhova[1]✉, M. A. Akimenko[2], O. V. Voronova[3], M. S. Alkhuseyn-Kuliaginova[4], E. M. Kotieva[5], V. V. Trepel[6], V. M. Kotieva[7], A. B. Alnikin[8], I. M. Kotieva[9]

[1–9] Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia
[2, 3] Clinical Hospital "RZD Medicine", Rostov-on-Don, Russia
✉ dodohova@mail.ru

Abstract

Introduction The search for new compounds with putative antitumor effects and the development of domestic anticancer and antimetastatic drugs based on them is a priority task for specialists in the field of medical chemistry, experimental pathophysiology and pharmacology. Melanoma B16 and Lewis lung epidermoid carcinoma are universal models for evaluating the effect of compounds with putative antitumor action on the primary focus of tumor growth and the process of tumor cells dissemination. **The aim of the work** is to determine the feasibility of using models of solid tumor growth and metastasis activity of Lewis lung epidermoid carcinoma and B16 melanoma for preclinical studies of antitumor and antimetastatic pharmacological activity of hybrid organotin compounds depending on experimental objectives. **Materials and methods** The experimental part was performed on C57B1/6 mice (females). Hybrid organotin compounds were administered five times, intraperitoneal, the beginning of treatment – 48 hours after tumor cells transplantation in the same regimes for both models. In this work, the most effective (375 mg/kg and 250 mg/kg, respectively) and toxic (500 mg/kg and 375 mg/kg, respectively) doses of the leader hybrid organotin compounds Me3 (bis(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenylthiolate) dimethytin) and Me5 ((3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenylthiolate)triphenyltin) were used. **Results** At all stages of the experiment on both models of tumor growth we obtained similar results characterizing the pharmacological activity of the tested compounds: moderate antitumor and high antimetastatic effect. The rates of growth and tumor process development are comparable and convenient for planning preclinical studies *in vivo* and can be interchangeable. **Discussion** The Lewis lung model of epidermoid carcinoma has a higher degree of convenience for data interpretation (number of metastatic foci in the lungs) when conducting exploratory analysis of pharmacological activity in a wide range of doses. When studying pathogenetic peculiarities of metastasis under the action of compounds with presumed antitumor action due to the possibilities of contrast immunohistochemical staining of tumor cells, the B16 melanoma model has an advantage. In our experiment with immunohistochemical staining for Melan A the hematogenic pathway of metastasis through the bloodstream is clearly traced. **Conclusion** For exploratory screening studies to select promising candidates for in-depth study it is reasonable to use the Lewis lung epidermoid carcinoma model. The B16 melanoma model is more informative for in-depth study of compounds that have proven to be effective.

Keywords: preclinical studies, immunohistochemical study, melanoma B16, epidermoid carcinoma lung Lewis, hybrid organotin compounds

For citation: Dodokhova MA, Akimenko MA, Voronova OV et al. Comparative analysis of the use of B16 melanoma and epidermoid Lewis lung carcinoma models for preclinical studies of compounds with a putative antitumor effect. *Ural Medical Journal.* 2023;22(5):66–76. (In Russ.). http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-5-66-76

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на большие успехи в диагностике и лечении злокачественных новообразований на современном этапе развития медицины, онкологические заболевания остаются социально значимой патологией в России и в мире в целом [1]. Поиск новых соединений с предполагаемым противоопухолевым действием и разработка на их основе противоопухолевых и антиметастатических лекарственных средств являются приоритетными задачами для специалистов в области медицинской химии, экспериментальной патофизиологии и фармакологии.

По данным годового отчета «Фармацевтический рынок России 2020», около 16 тысяч наименований соединений, перспективных кандидатов в лекарственные средства, находятся на данный момент на этапах доклинических и клинических исследований, около 40 % их них тестируются как противоопухолевые и антиметастатические средства. Несмотря на большое количество работ, посвященных расчетным методам компьютерного изучения новых фармакологически активных молекул и оценке антипролиферативной эффективности на моделях *in vitro*, решающую роль в медико-биологи-

ческих исследованиях играет изучение биологической активности на животных [2, 3].

Первыми и наиболее широко используемыми в настоящее время экспериментальными моделями злокачественного роста являются перевиваемые опухоли. В 1875 г. М. А. Новинскому впервые удалось перевить опухоль от одного животного на другое. Разработка метода перевивок опухолей положила начало экспериментальной онкологии [4, 5]. Многочисленные сведения, полученные при изучении перевиваемых опухолей, сыграли исключительно важную роль в развитии современного представления о сущности опухолевого роста [6]. Общепринятой является классификация, включающая три вида экспериментальных моделей: спонтанные, индуцированные и перевиваемые.

Применение перевиваемых опухолей для проведения доклинических исследований является наиболее рациональным. Они делают возможной постановку массовых экспериментов, так как легко и быстро могут быть получены в большом количестве. Другое преимущество перевиваемых опухолей – относительное постоянство их строения и биологических свойств [6]. В настоящее время в список обязательных моделей для тестирования новых соединений с предполагаемым противоопухолевым действием входят пять видов перевиваемых опухолей мышей: лимфолейкоз P388, лимфолейкоз L1210, меланома B16, эпидермоидная карцинома легкого Льюис (*англ*. Lewis Lung Carcinoma, LLC), аденокарцинома молочной железы Ca755 [2, 3].

На современном этапе развития экспериментальной фундаментальной медицины для получения максимально полной информации о новом соединении с предполагаемым противоопухолевой активностью необходимо использовать модели злокачественного процесса. На данных моделях можно проследить изменения роста первичного опухолевого очага и диссеминацию опухолевых клеток в процессе метастазирования [7].

В работах под руководством З. П. Софьиной изучен характер метастазирования пяти штаммов трансплантируемых опухолей мышей при традиционной подкожной инокуляции: лимфолейкоза P388, лимфолейкоза L1210, меланомы B16, эпидермоидная LLC, аденокарцинома молочной железы Ca755. Наиболее интенсивно метастазировали эпидермоидные LLC и меланомы B16 с метастазами в легкие [5].

На стадии планирования доклинических исследований гибридных оловоорганических соединений нами были выбраны две экспериментальные модели опухолевого роста со спонтанным метастазированием: эпидермоидная LLC и меланома B16. Они являются наиболее часто используемыми моделями доклинических исследований, но методологические особенности их использования, в зависимости от задач эксперимента, описаны не полно.

Цель работы – определить целесообразность использования моделей солидного опухолевого роста и активности метастазирования эпидермоидной карциномы легкого Льюис и меланомы B16 для проведения доклинических исследований противоопухолевой и антиметастатической фармакологической активности гибридных оловоорганических соединений в зависимости от экспериментальных задач.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть выполнена на мышах (самках) C_{57}B1/6. Поддержание опухолевого штамма и перевивку для испытания гибридных оловоорганических соединений производили на двух моделях солидного роста опухолей: меланоме B16 (подкожно); эпидермоидной LLC (внутримышечно и подкожно). Штамм получен из банка опухолевых материалов Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина. Введение гибридных оловоорганических соединений производили пятикратно, внутрибрюшинно. Начало лечения – через 48 ч. после перевивки опухолевых клеток в одинаковых режимах применительно к обеим моделям. Гибридные оловоорганические соединения синтезированы по методике Е. М. Мухатовой с соавт. [8]. В данной работе были использованы максимально эффективные (375 мг/кг и 250 мг/кг соответственно) и токсические (500 мг/кг и 375 мг/кг соответственно) дозы лидерных гибридных оловоорганических соединений Me3 (бис(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат) диметилолова) и Me5 ((3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат) трифенилолова) [9, 10]. Животным контрольной группы вводили 1 %-й водно-желатиновый раствор (носитель) в аналогичных объемах и режимах. Каждая группа состояла из 12 мышей. Согласно методическим рекомендациям по испытанию соединений с предполагаемой противоопухолевой фармакологической активностью [3], исследование было проведено в три этапа:

1) поисковое изучение фармакологической активности на используемых моделях в широком диапазоне вводимых доз;

2) основное изучение противоопухолевой и антиметастатической активности при введении максимально эффективной и токсической доз;

3) поиск патогенетических мишеней реализации обнаруженного эффекта.

На 7 и 18 сутки (модель меланомы B16) и 21 сутки (эпидермоидная LLC) после эвтаназии животных на гильотине определяли массу опухоли (*M*, г), среднее количество метастатических узлов в легких на одно животное (*q*), частоту метастазирования (ЧМ, %). Данные выражены как *M±m*. Нормальность распределения первичных данных (масса опухоли и количество метастазов на одну мышь) оценивали по критерию Андерсона – Дарлинга, а для сравнения экспериментальных групп с контрольной когортой использовали *t*-критерий Стьюдента. Различия >95 % считали статистически значимыми. Относительные показатели активности тестируемых соединений (торможение размера опухоли по массе и индекс ингибирования метастазирования) выводили после описанного статистического анализа первичных данных.

На 7 сутки развития опухолевого процесса на модели меланомы В16 было произведено иммуногистохимическое (ИГХ) исследование (маркер Мелан-А), а также на 18 сутки (меланома В16) и 21 сутки (эпидермоидная карцинома Льюис) с маркером опухолевой прогрессии трансформирующего фактора роста бета (*англ*. Transforming Growth Factor beta 1, TGF-β1). Образцы ткани печени для световой микроскопии и иммуногистохимического исследования фиксировали 10 %-м забуференным нейтральным формалином и заключали в парафин по классической методике [11]. Микроскопию и фотосъемку образцов осуществляли на автоматической системе со светодиодной подсветкой Leica DM4000 B LED (Германия). Результаты ИГХ-реакций оценивали по интенсивности окрашивания каждого из маркеров.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На всех этапах эксперимента на обеих моделях опухолевого роста мы получили аналогичные результаты, характеризующие фармакологическую активность тестируемых соединений: умеренный противоопухолевый и высокий антиметастатический эффект (рис. 1, 2).

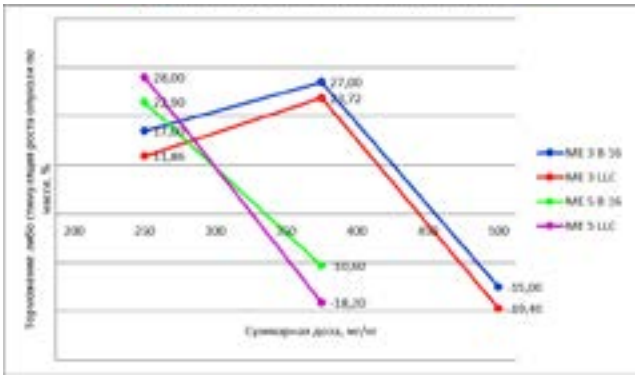

Рис. 1. Сравнительный анализ противоопухолевой активности Me3 и Me5 на двух моделях опухолевого роста

При проведении поискового изучения фармакологической активности в широком диапазоне доз на обеих моделях частота метастазирования составила 100 %, то есть все животные с опухолями имели метастазы в легкие. Наиболее эффективными оказались суммарные дозы 375 мг/кг (Me3) и 250 мг/кг (Me5), введение которых обеспечивало умеренный противоопухолевый и высокий антиметастатический эффект. Дальнейшее увеличение доз привело к противоположному результату, активации процесса диссеминации опухолевых клеток [8, 9]. Обе модели метастазируют гематогенно в легкие, дают хорошо визуализируемые в легких очаги вторичного роста [12, 13]. Количество метастатических узлов в легких во всех группах животных с перевитой эпидермоидной LLC – от 10 до 30 штук, при меланоме В16 – 4–16 штук. Модель карциномы имеет более высокую степень удобства для интерпретации данных изменения метастазирования.

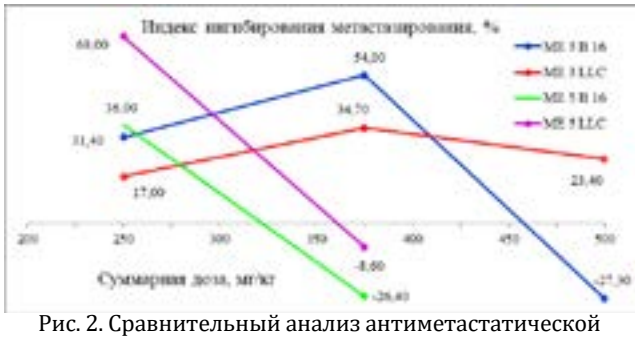

Рис. 2. Сравнительный анализ антиметастатической активности Me3 и Me5 на двух моделях опухолевого роста

Привычным органом для метастазирования обеих модельных систем являются легкие. Печень имеет гипоксическую микросреду, что затрудняет метаболическую адаптацию метастатических клеток. Гипоксическая микросреда в печени вынуждает метастатические опухолевые клетки подвергаться усиленному энергетическому метаболизму и усиливает характеристики эффекта Варбурга [14, 15]. С одной стороны, мигрирующим клеткам необходимо адаптироваться к метаболическому микроокружению вторичной среды, чтобы выживать и размножаться. С другой — раковые клетки, которые не могут адаптироваться к первичному метаболическому микроокружению, покидают исходное место и колонизируют микроокружение, которое лучше подходит для их метаболических потребностей [16].

Дополнительную информацию о механизмах действия тестируемых соединений можно получить, используя иммуногистохимический метод исследования органов экспериментальных животных [17].

Маркер TGF-β1 — один из наиболее важных тканевых факторов, секретируемых при развитии опухолей. Трансформирующий фактор роста бета представляет собой сложный полипептид, который оказывает существенное влияние на регуляцию клеточного цикла, рост и развитие, дифференцировку, синтез внеклеточного матрикса (ВКМ), гемопоэз, хемотаксис и иммунный ответ [18]. Он существует в виде пяти изоформ, три из которых экспрессируются в нормальных тканях млекопитающих и обозначаются как β1, β2 и β3 [19]. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что увеличение концентрации данного маркера сопряжено с неблагоприятным прогнозом [20]. Маркер в канцерогенезе может выполнять двоякую роль (парадокс TGF-β): переключение от опухолевой супрессии к онкогенной активности [21].

Мелан-А является одним из наиболее часто используемых в дерматопатологических лабораториях иммуногистохимических маркеров для выявления наличия меланоцитов и определения их распределения [22]. Цитоплазматическое окрашивание выявляет специфический для меланоцитов цитоплазматический белок, участвующий в формировании меланосом стадии II [23].

При иммуногистохимической визуализации (антитела TGF-β1) в экспериментах на двух экспериментальных моделях злокачественных неоплазий получены сопоставимые результаты (рис. 3–6).

Экспериментальная модель меланомы B16. В гепатоцитах выявлены умеренная дискретная экспрессия TGF-β1 и максимальная в эндотелии сосудов ядерная экспрессия в опухолевых клетках (рис. 3), выраженная диффузная экспрессия TGF-β1 и максимальная в эндотелии сосудов ядерная экспрессия в опухолевых клетках (рис. 4).

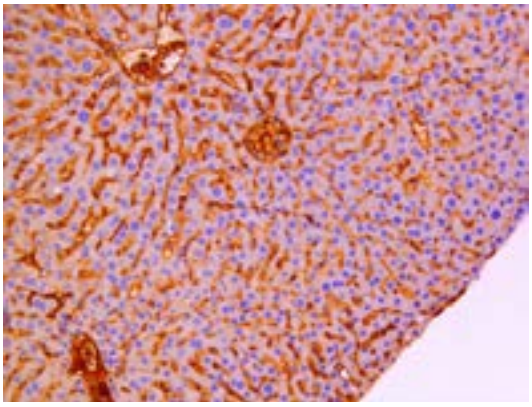

Рис. 3. Иммуновизуализация (иммуногистохимический анализ – антитела TGF-β1) в печени при введении Me3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг; животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16, ×200

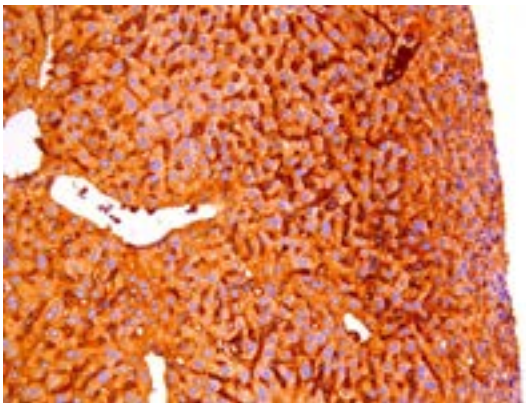

Рис. 4. Иммуновизуализация (иммуногистохимический анализ – антитела TGF-β1) в печени при введении Me3 в токсической суммарной дозе 500 мг/кг; животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16, ×200

в гепатоцитах, эндотелии синусоидов определяется умеренная дискретная экспрессия TGF-β1 и в эндотелии более крупных сосудов, в опухолевых клетках – высокая ядерная экспрессия (рис. 5). В гепатоцитах и эндотелии синусоидов визуализируется выраженная диффузная экспрессия TGF-β1, в опухолевых клетках – ядерная экспрессия (рис. 6).

Экспериментальная модель эпидермоидной LLC. Регистрируются умеренная диффузная экспрессия TGF-β1 в гепатоцитах, эндотелии синусоидов и высокая в эндотелии более крупных сосудов (рис. 7). В гепатоцитах, эндотелии синусоидов, опухолевых клетках – максимальная диффузная экспрессия TGF-β1 (рис. 8).

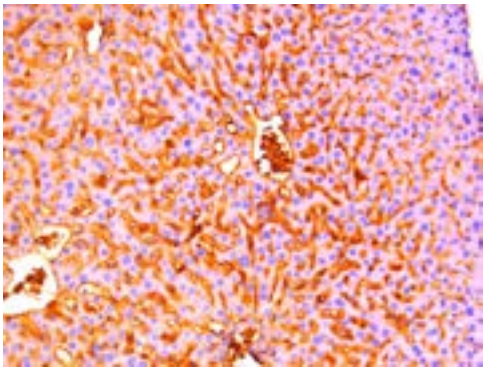

Рис. 5. Иммуновизуализация (иммуногистохимический анализ – антитела TGF-β1) при введении Me5 в эффективной суммарной дозе 250 мг/кг; животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16, ×200

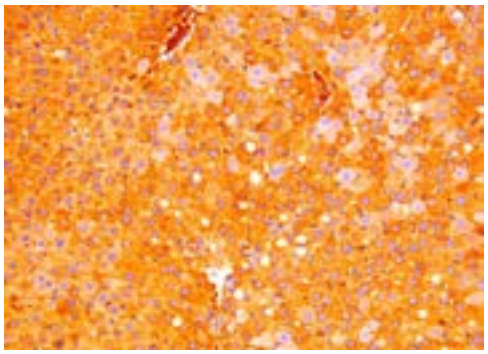

Рис. 6. Иммуновизуализация (иммуногистохимический анализ – антитела TGF-β1) при введении Me5 в токсической суммарной дозе 375 мг/кг; животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16, ×200

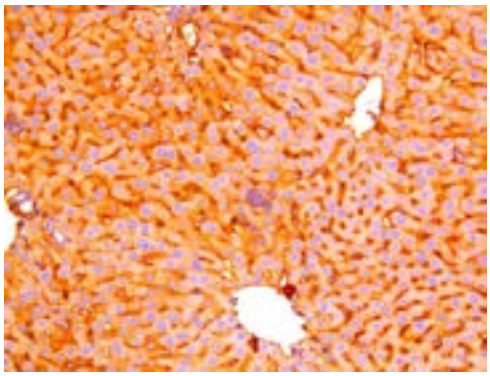

Рис. 7. Иммуновизуализация (иммуногистохимический анализ – TGF-β1) в печени при введении Me3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг; животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной LLC, ×200

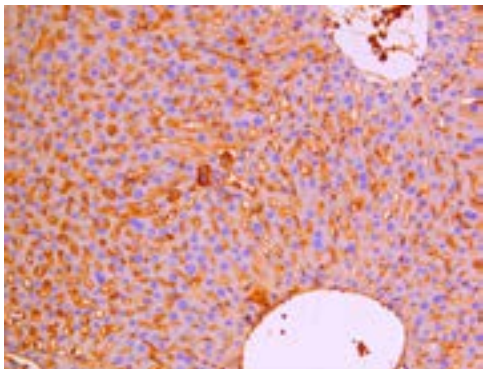

Рис. 8. Иммуновизуализация (иммуногистохимический анализ – TGF-β1) в печени при введении Me3 в токсической суммарной дозе 500 мг/кг, животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной LLC, ×200

Визуализируется умеренная дискретная экспрессия TGF-β1 в гепатоцитах, эндотелии синусоидов и высокая в эндотелии крупных сосудов, в опухолевых клетках – выраженная ядерная экспрессия (рис. 9). В гепатоцитах, эндотелии синусоидов – диффузная экспрессия TGF-β1 и максимальная в эндотелии крупных сосудов, в опухолевых клетках – ядерная экспрессия (рис. 10).

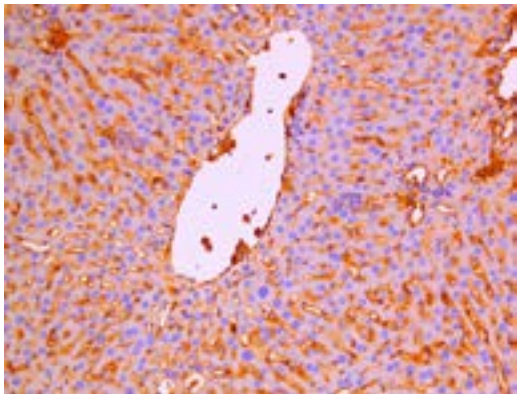

Рис. 9. Иммуновизуализация (иммуногистохимический анализ – антитела TGF-β1) в печени при введении Me5 в максимально эффективной суммарной дозе 250 мг/кг; животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной LLC, ×200

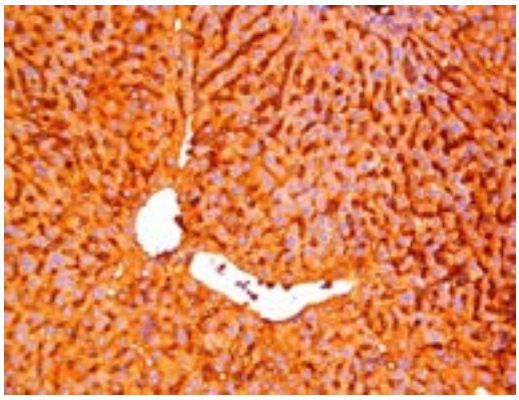

Рис. 10. Иммуновизуализация (иммуногистохимический анализ – антитела TGF-β1) в печени при введении в токсической суммарной дозе 375 мг/кг; животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной LLC, ×200

Для выяснения некоторых механизмов патогенетического действия тестируемых соединений в токсической суммарной дозе 500 мг/кг (Me3) и 375 мг/кг (Me5), а также активности метастазирования в нетипичный орган (печень) была произведена иммуновизуализация на модели меланомы B16 на раннем сроке развития опухолевого процесса [24]. Рост и развитие последнего через 7 суток после перевивки опухолевых клеток теоретически не исключает возможность микродиссеминации опухолевого процесса.

У всех животных через 7 суток после перевивки на месте введения опухолевой взвеси пальпаторно были обнаружены первичные узелки.

На представленных микрофотографиях (рис. 11–14) выявлена четкая экспрессия Мелан-А в опухолевых клетках меланомы B16 в синусоидных капиллярах и центральных венах печени.

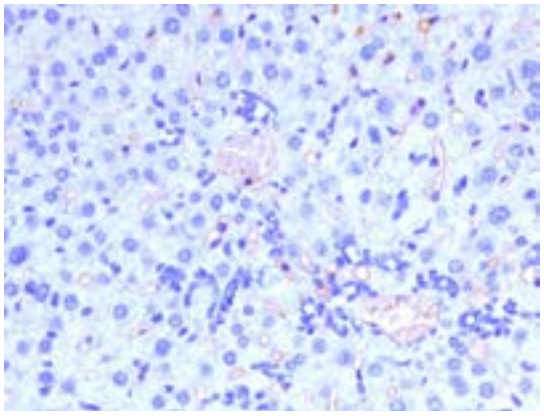

Рис. 11. Иммуновизуализация маркера антитела Мелан-А (иммуногистохимический анализ) в печени при введении Me3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг; животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16, ×400. Негативная реакция

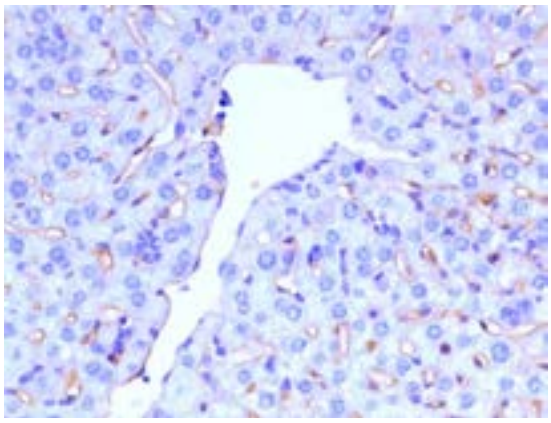

Рис. 12. Иммуновизуализация маркера антитела Мелан-А (иммуногистохимический анализ) в печени при введении Me3 в токсической суммарной дозе 500 мг/кг; животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16, ×400. Экспрессия в единичных опухолевых клетках, регистрируемых в синусоидных капиллярах печеночной дольки

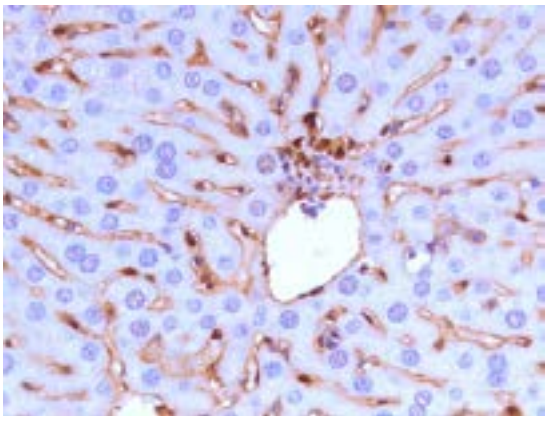

Рис. 13. Иммуновизуализация маркера антитела Мелан-А (иммуногистохимический анализ) в печени при введении Me5 в максимально эффективной суммарной дозе 250 мг/кг, животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16×400. Экспрессия в группах опухолевых клеток, регистрируемых в синусоидных капиллярах печеночной дольки

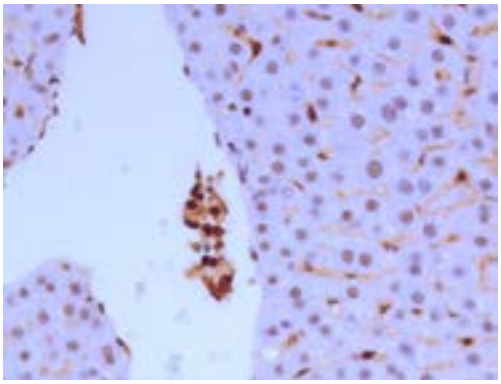

Рис. 14. Иммуновизуализация маркера антитела Мелан-А (иммуногистохимический анализ) в печени при введении Me5 в токсической суммарной дозе 375 мг/кг; животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16, ×400. Экспрессия в группах опухолевых клеток, регистрируемых в центральной печеночной вене и синусоидных капиллярах печеночной дольки

ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка лекарственного средства представляет собой поэтапный исключающий отбор, на каждом этапе которого отсеиваются вещества, признанные по результатам соответствующих исследований не обладающими потенциалом стать лекарственным препаратом, польза от применения которого будет превышать риски [25]. На этапе скринингового мониторинга фармакологической активности соединений с предполагаемым противоопухолевым действием необходимо проанализировать большое количество веществ для выявления наличия или отсутствия противоопухолевой и антиметастатической активности. На этот этап допускаются только соединения, обладающие определенными характеристиками общей токсичности (IV, V класс токсичности по согласованной на глобальном уровне системе классификации и маркировки химических веществ). Для этого этапа, на наш взгляд, наиболее целесообразным является использование модели эпидермоидной LLC.

Следующим этапом разработки новых противоопухолевых лекарственных средств является выявление патогенетических механизмов действия соединений с фармакологической активностью в отношении злокачественных неоплазий. Согласно механизму метаболической адаптации метастазирования злокачественных новообразований, разные опухолевые клетки, метастазирующие в один и тот же орган, имеют сходные метаболические характеристики [26]. Иммуновизуализация маркера Мелан-А позволяет в эксперименте проследить этапы метастатического пути в нетипичные локализации, оценить действие гибридных оловоорганических соединений на опухолевую клетку и ее микроокружение. Помимо степени агрессии опухоли активность образования вторичных очагов зависит от метаболического состояния органов-мишеней метастатического поражения [27]. Предпочтительными органами для формирования вторичных очагов являются легкие и печень [28]. При введении токсических доз гибридных оловоорганических соединений [29] отмечена трансформация отдаленного метаболического микроокружения печени, что представляет собой процесс формирования предметастатической ниши в несвойственном для типичного метастазирования используемых моделей органов [30, 31]. Из этого следует, что разработка терапевтических мишеней для этих метаболических характеристик может дать выполнена на более удобной для этого модели – меланоме B16.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Меланома B16 и эпидермоидная LLC являются универсальными моделями для оценки влияния соединений с предполагаемым противоопухолевым действием на первичный очаг опухолевого роста и процесс диссеминации опухолевых клеток.

Доклинические исследования новых противоопухолевых агентов целесообразно разделить на два больших блока: поисковый (скрининговый) и углубленный. Основной задачей скрининговой экспериментальной части доклинических исследований соединений с предполагаемым противоопухолевым действием является отбор субстанций-лидеров из большой линейки тестируемых соединений по принципу наибольшей эффективности. При проведении поискового изучения фармакологической активности в широком диапазоне доз более высокой степенью удобства для интерпретации данных (количество метастатических очагов в легких) обладает модель эпидермоидной LLC.

На этапе углубленного изучения соединений, квалифицированных как лидеры и имеющих наибольшую перспективу стать кандидатом в противоопухолевые лекарственные средства, необходимо охарактеризовать механизм реализации фармакологической активности. При изучении патогенетических особенностей роста первичной опухоли и метастазирования под действием соединений с предполагаемым противоопухолевым действием за счет возможностей контрастного иммуногистохимического окрашивания опухолевых клеток неоспоримым преимуществом обладает модель меланомы B16. В нашем эксперименте при иммуногистохимическом окрашивании на Мелан-А четко отслеживается гематогенный путь метастазирования по кровотоку.

Конфликт интересов
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования
Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере.

Этическая экспертиза
Исследование одобрено локальным этическим комитетом Ростовского ГМУ.

Информированное согласие не применимо.

Conflicts of interests
The authors declare no conflicts of interests.

Funding source
The research was carried out with the financial support of the Foundation for Assistance to Small Innovative Enterprises in the Scientific and Technical Sphere.

Ethics approval
The study was approved by the local ethical committee of Rostov State Medical University.

Informed consent is not applicable.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. М : МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. С. 4–6.
   The state of oncological care to the population of Russia in 2019. Ed. Kaprina AD, Starinsky VV, Shakhzadova AO. Moscow : P.A. Herzen Moscow State Medical Research Institute – branch of the Federal State Budgetary Institution "NMRC of Radiology" of the Ministry of Health of Russia ; 2020. pp. 4–6. (In Russ.)
   URL: https://glavonco.ru/cancer_register/Помощь%202019.pdf (дата обращения: 08.02.2023).
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под общ. ред. чл.-кор. РАМН, проф. Р. У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М : Медицина ; 2005. С. 637–683.
   Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Ed. Khabriev RU. Moscow : Publishing House Medicine ; 2005. pp. 637–683. (In Russ.)
   URL: https://reallib.org/reader?file=756442 (дата обращения: 08.02.2023).
3. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств. Сост. Е. М. Трещалина, О. С. Жукова, Г. К. Герасимова [и др.]. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М : Гриф и К; 2012. С. 642–656.
   Treshchalina EM, Zhukova OS, Gerasimova GK et al. Methodological recommendations for preclinical study of antitumor activity of drugs. In book: Guidelines for preclinical studies of drugs. Part one. Moscow : Publishing House Grif and K ; 2012. pp. 642–656. (In Russ.).
4. Козлов А. М., Софьина З. П. Частота, время и тип метастазирования различных трансплантируемых опухолей у мышей. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1978;86(12):715–718.
   Kozlov AM, Sofina ZP. Frequency, time and type of metastasis of various transplantable tumors in mice. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1978;86(12):715–718. (In Russ.).
5. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. Под ред. З. П. Софьиной, А. Б. Сыркина, А. Голдина, А. Клейна. М : Медицина, 1980. С. 71–107.
   Sofina ZP. Experimental evaluation of antitumor drugs in the USSR and the USA. Moscow : Publishing House Medicine ; 1980. pp. 71–107. (In Russ.).
6. Котиева И.М., Франциянц Е.М., Каплиева И.В. с соавт. Влияние хронической боли на некоторые метаболические процессы в коже самок мышей. *Российский журнал боли*. 2018;4(58):46–54.
   Kotieva IM, Franzyants EM, Kaplieva IV et al. The effect of chronic pain on some metabolic processes in the skin of female mice. *Russian Journal of Pain*. 2018;4(58):46–54. (In Russ.).
7. Додохова М.А., Сафроненко А.В., Котиева И.М. с соавт. Упрощенная методика скринингового исследования оловоорганических соединений с предполагаемым противоопухолевым действием. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(11):20–24.
   Dodokhova MA, Safronenko AV, Kotieva IM et al. Simplified screening method of organo-tin compounds with suspected antitumor effect. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2021;84(11):20–24. (In Russ.).
8. Мухатова Е.М., Осипова В.П., Коляда М.Н. с соавт. Синтез и антиоксидантная активность новых оловоорганических соединений, содержащих фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола. *Доклады Академии наук*. 2013;451(1):46–49. https://doi.org/10.7868/S0869565213190134.
   Mukhatova EM, Osipova VP, Kolyada MN et al. Synthesis and antioxidant activity of new organotin compounds containing a fragment of 2,6-di-tert-butylphenol. *Reports of the Academy of Sciences*. 2013;451(1):46–49. (In Russ.). https://doi.org/10.7868/S0869565213190134.

9. Dodokhova MA, Safronenko AV, Kotieva IM et al. Impact of organotin compounds on the growth of epidermoid Льюис carcinoma. *Research Results in Pharmacology*. 2021;7(4):81–88.
10. Dodokhova MA, Safronenko AV, Kotieva IM et al. Evaluation of the pharmacological activity of hybrid organotin compounds in a B16 melanoma model in the classical and metronomic administration modes. *Research Results in Pharmacology*. 2022;8(1):85–94.
11. Elia I, Doglioni G, Fendt SM. Metabolic hallmarks of metastasis formation. *Trends Cell Biol.* 2018;28(8):673–84. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.04.002.
12. Алдобаев В.Н., Михина Л.В., Презент М.А. Оценка противоопухолевой активности ряда производных 4-аминопиперидина, низкомолекулярных ингибиторов HSP70, на перевиваемых опухолях мышей. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2021;23(1):24–31.
Aldobaev VN, Mikhina LV, Present MA. Evaluation of antitumor activity of a number of 4-aminopiperidine derivatives, low molecular weight HSP70 inhibitors, on transplanted mouse tumors. *Medicine of Extreme Situations*. 2021;23(1):24–31. (In Russ.).
13. Котиева И.М., Кит О.И., Франциянц Е.М. с соавт. Влияние экспериментальной хронической боли на уровень биогенных аминов в коже у мышей в динамике роста меланомы B16/F10. *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки*. 2018;1(197):130–139.
Kotieva IM, Kit OI, Franzyants EM et al. Influence of experimental chronic pain on the level of biogenic amines in the skin of mice in the dynamics of melanoma growth B16/F10. *Proceedings of Higher Educational Institutions. The North Caucasus Region. Series: Natural Sciences*. 2018;1(197):130–139. (In Russ.).
14. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. с соавт. Окислительный стресс, патологические состояния и заболевания. Новосибирск : 2017. С. 17–19.
Menshchikova EB, Zenkov NK, Lankin VZ et al. Oxidative stress, pathological conditions and diseases. Novosibirsk : 2017. pp. 17–19. (In Russ.).
15. МартиновичГ.Г.,МартиновичИ.В.,ВчерашняяА.В.ссоавт.Механизмыредокс-регуляцииихимиорезистентности опухолевых клеток фенольными антиоксидантами. *Биофизика*. 2017;62(6):1142–1152.
Martinovich GG, Martinovich IV, Vcherashnjaja AV et al. Mechanisms of redox regulation of tumor cell chemoresistance by phenolic antioxidants. *Biophysics*. 2017;62(6):1142–1152. (In Russ.).
16. Гайнутдинов П.И., Кожин П.М., Чечушков А.В. с соавт. Обратная зависимость между антиоксидантной активностью синтетических монофенолов структурно взаимосвязанного ряда и их токсичностью в отношении опухолевых клеток. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2018;38(1):22–31.
Gainutdinov PI, Kozhin PM, Chechushkov AV et al. Inverse relationship between the antioxidant activity of synthetic monophenols of structurally interrelated series and their toxicity against tumor cells. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2018;38(1):22–31. (In Russ.).
17. Конышев К.В., Сазонов С.В. Особенности гетерогенности опухоли при регионарном метастазировании рака молочной железы. *Казанский медицинский журнал*. 2021;102(5):716–725.
Konyshev KV, Sazonov SV. Features of tumor heterogeneity in regional metastasis of breast cancer. *Kazan Medical Journal*. 2021;102(5):716–725. (In Russ.).
18. Hata A, Chen Y-G. TGF-β signaling from receptors to smads. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016;8(9):a022061. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022061.
19. Zhang Y, Alexander PB, Wang X-F. TGF-beta family signaling in the control of cell proliferation and survival. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9(4):a022145. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022145.
20. Rahimi RA, Leof EB. TGF-beta signaling: a tale of two responses. *J Cell Biochem*. 2007;102(3):593–608. https://doi.org/10.1002/jcb.21501.
21. Wang J, Xiang H, Lu Y, Wu T. Role and clinical significance of TGF β1 and TGF βR1 in malignant tumors (Review). *Int J Mol Med*. 2021;47(4):55. https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4888.
22. Vincek E, Rudnick E. Melanocytic marker Melan-A detects molluscum contagiosum bodies. *J Histotechnol*. 2022;45(1):36–38. https://doi.org/10.1080/01478885.2021.1964872.
23. Ronchi A, Zito Marino F, Toni G et al. Diagnostic performance of melanocytic markers for immunocytochemical evaluation of lymph-node melanoma metastases on cytological samples. *J Clin Pathol*. 2022;75(1):45–49. https://doi.org/10.1136/jclinpath-2020-206962.
24. Шаманова А.Ю., Казачков Е.Л., Панова И.Е., Ростовцев Д.М. Предиктивные аспекты прижизненного патологоанатомического исследования увеальных меланом. *Вопросы онкологии*. 2022;68(S3):132–133.
Shamanova AYu, Kazachkov EL, Panova IE, Rostovtsev DM. Predictive aspects of lifetime pathoanatomic examination of uveal melanomas. *Questions of oncology*. 2022;68(S3):132–133. (In Russ.).
25. Васильев А.Н., Ниязов Р.Р., Гавришина Е.В. с соавт. Проблемы планирования и проведения доклинических исследований в Российской Федерации. *Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской техники.* 2017;9:6–19.

Vasiliev AN, Niyazov RR, Gavrishina EV et al. Problems of planning and conducting preclinical research in the Russian Federation. *Remedium. Journal of the Russian Market of Medicines and Medical Equipment*. 2017;9:6–19. (In Russ.).
26. Wang C, Luo D. The metabolic adaptation mechanism of metastatic organotropism. *Exp Hematol Oncol*. 2021;10(1):30. https://doi.org/10.1186/s40164-021-00223-4.
27. Jelic MD, Mandic AD, Maricic SM, Srdjenovic BU. Oxidative stress and its role in cancer. *J Cancer Res Therap*. 2021;17(1):22–28. https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT_862_16.
28. Liu Q, Zhang H, Jiang X et al. Factors involved in cancer metastasis: a better understanding to "seed and soil" hypothesis. *Mol Cancer*. 2017;16(1):176. https://doi.org/10.1186/s12943-017-0742-4.
29, Додохова М.А., Котиева И.М., Сафроненко А.В. с соавт. Гибридные оловоорганические соединения – модуляторы апоптотических процессов в печени при однократном и многократном введении крысам линии Wistar. *Уральский медицинский журнал*. 2021;20(4):18–23. https://doi.org/10.52420/2071-5943-2021-20-4-18-23.
Dodokhova MA, Kotieva IM, Safronenko AV et al. Hybrid organotin compounds – modulators of apoptotic processes in the liver when administered once and repeatedly to Wistar rats. *Ural Medical Journal*. 2021;20(4):18–23. (In Russ.). https://doi.org/10.52420/2071-5943-2021-20-4-18-23.
30. Basnet H, Tian L, Ganesh K et al. Flura-seq identifies organ-specific metabolic adaptations during early metastatic colonization. *Elife*. 2019;8:e43627. https://doi.org/10.7554/eLife.43627.
31. Голубев А.Г. Общие принципы взаимоотношений живых организмов с экосистемой и злокачественных клеток с живым организмом. *Биосфера*. 2022;14(2):61–74.
Golubev AG. General principles of the relationship of living organisms with the ecosystem and malignant cells with a living organism. *Biosphere.* 2022;14(2):61–74. (In Russ.).

Сведения об авторах

Маргарита Авдеевна Додохова
кандидат медицинских наук, доцент,
заведующий Центральной научно-исследовательской лабораторией,
dodohova@mail.ru,
https://orcid.org/0000-0003-3104-827X.

Марина Анатольевна Акименко
ассистент кафедры медицинской биологии,
https://orcid.org/0000-0001-8792-6911.

Ольга Владимировна Воронова
ассистент кафедры судебной медицины,
https://orcid.org/0000-0003-0542-6900.

Маргарита Стефановна Алхусейн–Кулягинова
ассистент кафедры патологической физиологии,
https://orcid.org/0000-0001-5123-5289.

Елизавета Михайловна Котиева
студент лечебно-профилактического факультета,
https://orcid.org/0000-0002-5595-8799.

Валерия Вартановна Трепель
студент лечебно-профилактического факультета,
https://orcid.org/0000-0001-9245-0460.

Виолетта Михайловна Котиева
студент лечебно-профилактического факультета,
https://orcid.org/0000-0003-1783-1073.

Information about the authors

Margarita A. Dodokhova
PhD (Medicine),
Associate Professor,
Head of the Central Research Laboratory,
dodohova@mail.ru,
https://orcid.org/0000-0003-3104-827X.

Marina A. Akimenko
Assistant of the Department of Medical Biology,
https://orcid.org/0000-0001-8792-6911.

Olga V. Voronova
Assistant of the Department of Forensic Medicine,
https://orcid.org/0000-0003-0542-6900.

Margarita S. Alkhusein-Kuliaginova
Assistant of the Department of Pathological Physiology,
https://orcid.org/0000-0001-5123-5289.

Elizaveta M. Kotieva
Student of the Faculty of Medicine,
https://orcid.org/0000-0002-5595-8799.

Valeriya V. Trepel
Student of the Faculty of Medicine,
https://orcid.org/0000-0001-9245-0460.

Violetta M. Kotieva
Student of the Faculty of Medicine,
https://orcid.org/0000-0003-1783-1073.

Александр Борисович Альникин
кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургических болезней №2,
https://orcid.org/0000-0002-6853-766X.

Инга Мовлиевна Котиева
доктор медицинских наук,
профессор кафедры патологической физиологии,
https://orcid.org/0000-0002-2796-9466.

Статья поступила в редакцию 08.02.2023;
одобрена после рецензирования 22.05.2023;
принята к публикации 08.09.2023.

Alexander B. Alnikin
PhD (Medicine), Associate Professor of the Department of Surgical Diseases No. 2,
https://orcid.org/0000-0002-6853-766X.

Inga M. Kotieva
Doctor of Science (Medicine),
Professor of the Department of Pathological Physiology,
https://orcid.org/0000-0002-2796-9466.

The article was submitted 08.02.2023;
approved after reviewing 22.05.2023;
accepted for publication 08.09.2023.