

Я.Г. Муразов, А.Н. Стуков, А.О. Нюганен, А.С. Артемьева

Сравнительная характеристика моделей распространенной карциномы яичника при ортотопической и внутрибрюшинной трансплантации сингенной опухоли

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Цель. Выявить характерные особенности опухолевого роста при ортотопической (ОТ) и внутрибрюшинной трансплантации (ВТ) сингенной карциномы яичника высокой степени злокачественности.

Материал и методы. Двадцать половозрелых крыс-самок Wistar были рандомизированы в две группы по 10 в каждой. Первая группа — животным выполнялась ОТ карциномы яичника под мембрану сумки левого и правого яичника по $4,3 \times 10^6$ клеток; вторая группа — животным выполнялась ВТ опухоли по 1×10^7 клеток. Конечные точки исследования включали оценку общей выживаемости (ОВ) крыс в двух группах, определение индекса перитонеального канцероматоза (ИПК) на аутопсии павших животных, массу асцита. Аутопсийный материал подвергался гистологическому анализу при световой микроскопии после стандартной окраски. Проводилось цитологическое исследование асцитической жидкости.

Результаты. Медиана ОВ составила 29 дней и 21 дней в группе ОТ и ВТ соответственно (логранговый тест, $P = 0,0276$). На аутопсии не выявлено значимых различий в общем ИПК (12,6 против 13,6 в группе ОТ и ВТ соответственно) и массе асцита (78,0 против 65,8 в группе ОТ и ВТ соответственно). Способ трансплантации не влиял на прививаемость опухоли, гистологические характеристики, характер внутрибрюшинного распространения и объем асцита. Следует отметить больший объем опухолевого поражения органов репродуктивной системы (яичники, матки с рогами, парагонадная клетчатка) у крыс из группы ОТ.

Заключение. Оба способа трансплантации позволяют воспроизвести поздние стадии (III–IV стадии) эпителиального рака яичника у женщин. ОТ требует больших временных затрат и условий операционной. ОТ и ВТ могут применяться для решения различных задач фундаментальных и регламентных доклинических исследованиях в онкологии.

Ключевые слова: рак яичника; серозная карцинома high-grade; перитонеальный канцероматоз; асцит; доклинические исследования

Введение

В мире рак яичника занимает седьмое место в структуре онкологической заболеваемости среди женщин и является высоко летальным онкогинекологическим заболеванием [1]. До 90% случаев рака яичника имеют эпителиальное происхождение, остальные — неэпителиальной природы [2]. Серозная карцинома высокой степени злокачественности (СКВСЗ) составляет более 70% всех случаев эпителиального рака яичника (ЭРЯ) и ассоциирована примерно с 90% случаями смерти от этого заболевания. На момент установления диагноза около 85% пациентов имеют распространенную стадию заболевания [3]. Существует несколько механизмов распространения ЭРЯ. Первый заключается в непосредственной инвазии опухоли в соседние органы. Второй реализуется за счет внутрибрюшинной диссеминации опухолевых клеток, отделившихся от первичной опухоли, что сопровождается развитием перитонеального канцероматоза (ПК) и появлением асцита. Этот механизм метастазирования является преобладающим. Лимфогенный и гематогенный пути имеют меньшее значение [4]. Пятилетняя общая выживаемость (ОВ) пациентов с ЭРЯ и ПК не превышает 25–29% [5]. Учитывая неудовлетворительные мировые онкоэпидемиологические показатели при раке яичника, преобладание распространенных форм заболевания, высокую летальность и частоту рецидивов, а также ограниченный арсенал противоопухолевых агентов, применяемых для лечения данной категории пациентов, необходим дальнейший поиск эффективных средств лечения и изучение биологии опухолевого роста данного злокачественного новообразования. Эти задачи возможно решить только при наличии адекватных экспериментальных моделей *in vivo*. Основные

группы моделей рака яичника на лабораторных животных, применяемые в доклинических исследованиях, приведены ниже.

– *Спонтанный канцерогенез* у кур, некоторых линий мышей, крыс Wistar и Sprague-Dawley, у приматов из семейства мартышковых [6-8].

– *Химически индуцированные модели* с использованием канцерогенов: 7,12-диметилбенз[а]антрацена; 20-метилхолантрена; 1,3-бутадиена; 2-[4-(5-нитро-2-фурил)-2-тиазолил] гидразида муравьиной кислоты и N-метил-N-нитрозомочевина [9-12].

– *Генно-инженерные модели* у мышей, основанные на прямом введении онкогенов или инактивации генов-онкосупрессоров непосредственно в яйцеводе (аналог фаллопиевых труб у женщин) [13-15].

– *Трансплантация ксенографтов клеточных линий человека* (линии A2780, OVCAR-3 и SKOV-3) у иммунодефицитных животных (SCID/NOD-мыши) [16, 17].

– *PDX-модели* (patient-derived xenograft) у иммунодефицитных животных (SCID/NOD-мыши) [18,19].

– *Сингенные модели на крысах и мышах* [20-22].

Трансплантация иммунодефицитным животным ксенографтов (опухолей, асцита, полученных от пациента, или клеточных линий человека) сегодня считается основным способом моделирования ЭРЯ в эксперименте, хотя сопряжена с высокими временными и финансовыми затратами. Кроме того, использование иммунодефицитных животных не позволяет моделировать взаимодействие опухоли с ее микроокружением в контексте развития иммунного ответа, воспаления, взаимодействия со стромальными компонентами [23]. Сингенные модели, напротив, позволяют изучать развитие противоопухолевого иммунного ответа, эпителиально-стромальные взаимодействия, процессы васкуляризации опухоли. Использование иммунокомпетентных животных обеспечивает низкую частоту инфекционных осложнений в сравнении с иммунодефицитными животными. Эти модели позволяют не только провести разведочный анализ фармакологических свойств тестируемых агентов, но и тестировать новые подходы к локальному (внутрибрюшинному) лечению диссеминированных форм ЭРЯ, изучать биологию опухолевого роста, ее взаимодействие с микроокружением.

Для трансплантации ксенографтов и сингенных штаммов используются три пути введения: подкожный (эктопический), внутрибрюшинный и ортотопический (в яичниковую сумку). Каждый из путей имеет свои преимущества и недостатки [24]. Подкожные трансплантаты обычно не метастазируют, рост опухоли ограничен ме-

стом перевивки, а опухоль развивается в нехарактерной анатомической области и микроокружении. Внутрибрюшинная трансплантация (ВТ) адекватно воспроизводит процессы диссеминации опухоли, обеспечивает развитие внутрибрюшинных метастазов, метастазов в диафрагму с формированием асцита. При этом динамику роста опухоли можно наблюдать *in vivo* с помощью флюоресцентных и люминесцентных методов. Ортотопическая трансплантация (ОТ) предполагает введение опухолевых клеток непосредственно под мембрану сумки яичников грызунов. Сумка яичника является анатомической особенностью грызунов. Она отделяет яичники от брюшины. Яичники человека, напротив, расположены в брюшной полости и не заключены в сумку, что делает возможным пассивное метастазирование опухолевых клеток, которые переносятся перитонеальной жидкостью в брюшину и сальник. Это анатомическое различие не позволяет при ОТ точно воспроизвести процессы метастазирования, характерные для рака яичников у человека [25]. Тем не менее, с учетом того, что ЭРЯ возникает из поверхностного эпителия яичника или из эпителия фаллопиевых труб, ортотопические модели остаются востребованными в доклинических исследованиях. В первую очередь это объясняется возможностью изучения влияния микроокружения на опухолевый рост и метастатический потенциал перевиваемых опухолей [26].

Цель данной работы — выявить характерные особенности опухолевого роста при ОТ и ВТ сингенной карциномы яичника крыс (штамм ОЯ).

Материал и методы

Дизайн эксперимента. День трансплантации опухоли был принят за нулевой день. Животные были разделены на две группы: первая группа (n=10) — животным выполнялась ОТ клеток сингенной карциномы яичника под мембрану сумки левого и правого яичника; вторая группа (n=10) — животным выполнялась ВТ клеток сингенной карциномы яичника.

Животные. В качестве животных-реципиентов использовали 20 половозрелых крыс-самок Wistar (ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово», Ленинградская область, Россия) с медианой начальной массы тела 305 г (min-max: 280-365 г). Содержание, уход и все манипуляции с животными выполнялись в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123); Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС по охране животных, используемых в научных целях. Животные содержались в конвенциональном виварии в полипропиленовых клетках при температуре воздуха 20–24°C, относительной влажности 50–60% с 12-часовым циклом светлого/темного времени суток. Крысы получали полнорационный брикетированный комбикорм производства компании «Лабораторкорм» (Москва, Россия) и водопроводную питьевую воду без ограничений.



Рис. 1. Процедура ОТ опухоли (25 мкл) под мембрану сумки левого яичника

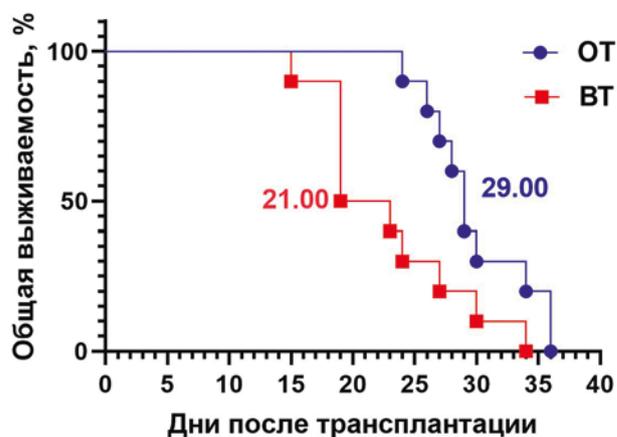


Рис. 2. Кривые Каплана-Мейера ОБ животных в двух группах. Различия в ОБ статистически значимы; логранговый критерий, $P=0,0276$

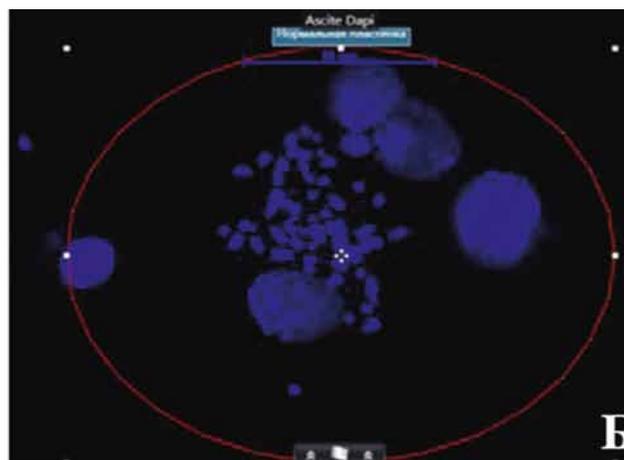
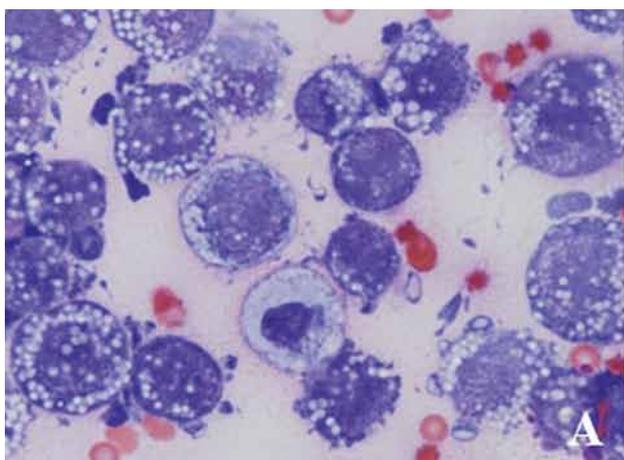


Рис. 3. Цитологическое исследование асцитической жидкости и метафазная пластинка опухолевой клетки.
 А — мазок асцитической жидкости. Окраска по Паппенгейму, ув. $\times 1000$;
 Б — метафазная пластинка. Окраска 4',6-диамидно-2-фенилиндолом (DAPI), флуоресцентная детекция

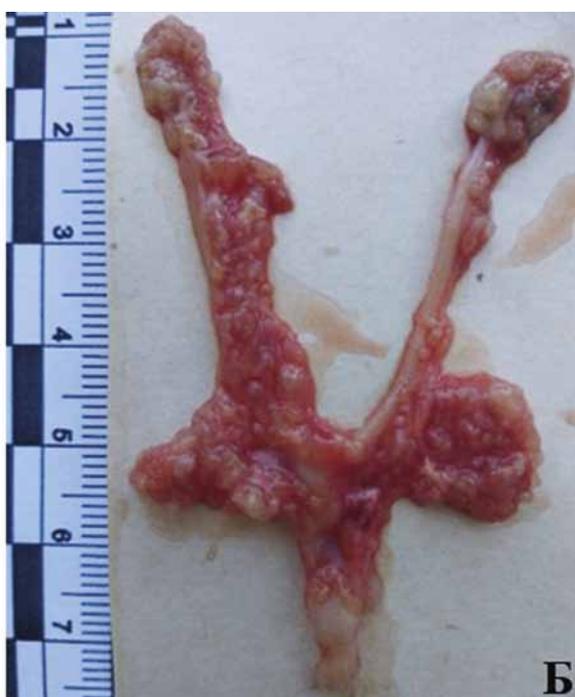


Рис. 4. Макроскопическая картина на аутопсии павших животных из группы ОТ. А — опухоль размером 2,2 см в наибольшем измерении одного из яичников; Б — опухоль яичника с распространением на тело матки, рога матки, парагонадную клетчатку



Рис. 5. Макроскопическая картина на аутопсии павших животных из группы ВТ. А — ПК и геморрагический асцит (асцит частично эвакуирован); Б — ПК: поражение брыжейки кишечника, яичников, тела и рогов матки, парагонадной клетчатки, большого сальника и купола диафрагмы

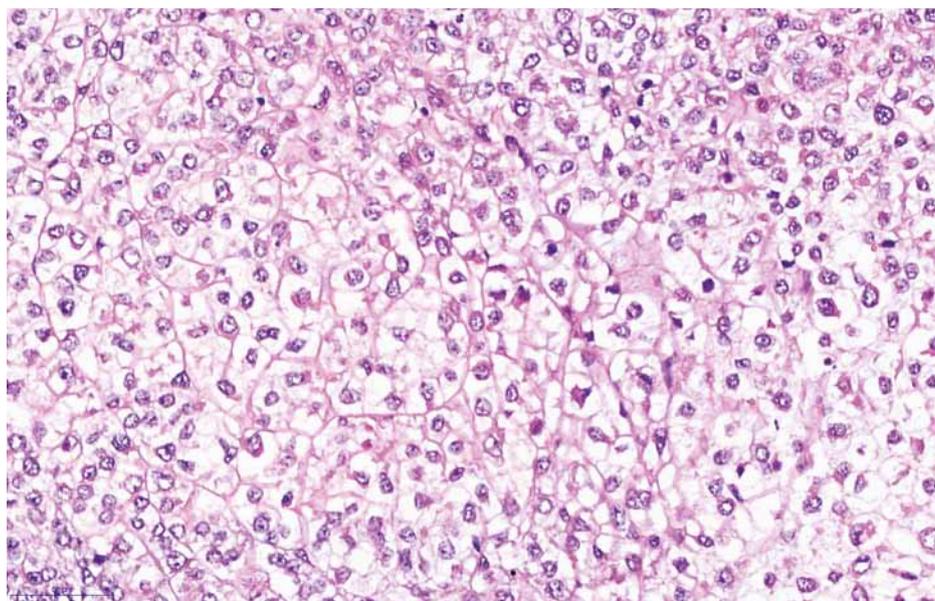


Рис. 6. Фокус high-grade карциномы (СКВС3), гематоксилин и эозин, ув. ×400

Штамм асцитного рака яичников. Опухоль яичника ОЯ была получена в результате трансплацентарного канцерогенеза высоких доз 7,12-диметилбензантрацена (ДМБА) [20]. Исходный гистологический тип опухоли — метастазирующая папиллярная аденокарцинома, в настоящее время — асцитная опухоль. Штамм поддерживается на крысах-самках Wistar. На 7-9 день после внутрибрюшинной перевивки осуществляли забор асцита и трансплантировали ортотопически или внутрибрюшинно экспериментальным животным.

Методика ВТ. Исходный асцит разводили стерильным 0,9% раствором натрия хлорида (ООО «Славянская аптека, Россия) и перевивали внутрибрюшинно в правый нижний квадрант брюшной полости инсулиновым шприцом по 1×10^7 клеток в 0,5 мл 0,9% раствора натрия хлорида на крысу.

Методика ОТ. Для профилактики болевого синдрома за 30 минут до процедуры животным-реципиентам подкожно вводили мелоксикам (ПФК Обновление, Россия) 2 мг/кг (далее 2 раза в сутки с 0 по 2 день после операции). Животным давали ингаляционный наркоз изофлюраном (Эбботт Лэбораториз Лимитед, Великобритания); индукционный — 5%, поддерживающий — 2,5%. Операционное поле подвергали эпиляции и обрабатывали йодно-спиртовым раствором. Выполняли срединную лапаротомию разрезом 6-8 см, отступив 1 см от нижнего края мечевидного отростка. Обеспечивали доступ к обоим яичникам. Трансплантацию асцитической жидкости, содержащей $4,3 \pm 0,5 \times 10^6$ (mean±SD) опухолевых клеток, осуществляли при помощи инсулинового шприца с иглой 29G прямо под мембрану сумки левого и правого яичников (рис. 1). Объем вводимой клеточной суспензии составлял 25 мкл.

После инъекции для предотвращения попадания опухолевых клеток в брюшную полость иглу очень быстро вынимали. Далее переднюю брюшную стенку ушивали непрерывным матрацным швом рассасывающейся нитью (3-0), на кожу накладывали простой узловой шов из нерассасывающегося шовного материала (3-0). Дополнительно рану укрепляли клеем БФ-6 (АО «Вертекс», Россия). Сразу после ушивания раны для профилактики дегидратации подкожно вводили 8 мл физиологического раствора. Внутримышечно

вводили цефепим (ОАО «Синтез», Россия) 60 мг/кг (далее в течение 4 дней раз в сутки). Животное помещали на впитывающую простынь в пластиковой клетке. Под половину клетки с целью профилактики гипотермии подкладывали нагревательную платформу (температура 40°C). Для уменьшения стресса в клетку помещали картонные «норки-домики». Первые пять суток послеоперационную рану обрабатывали мазью диоксометилтетрагидропиримидин + хлорамфеникол (АО «Нижфарм, Россия»).

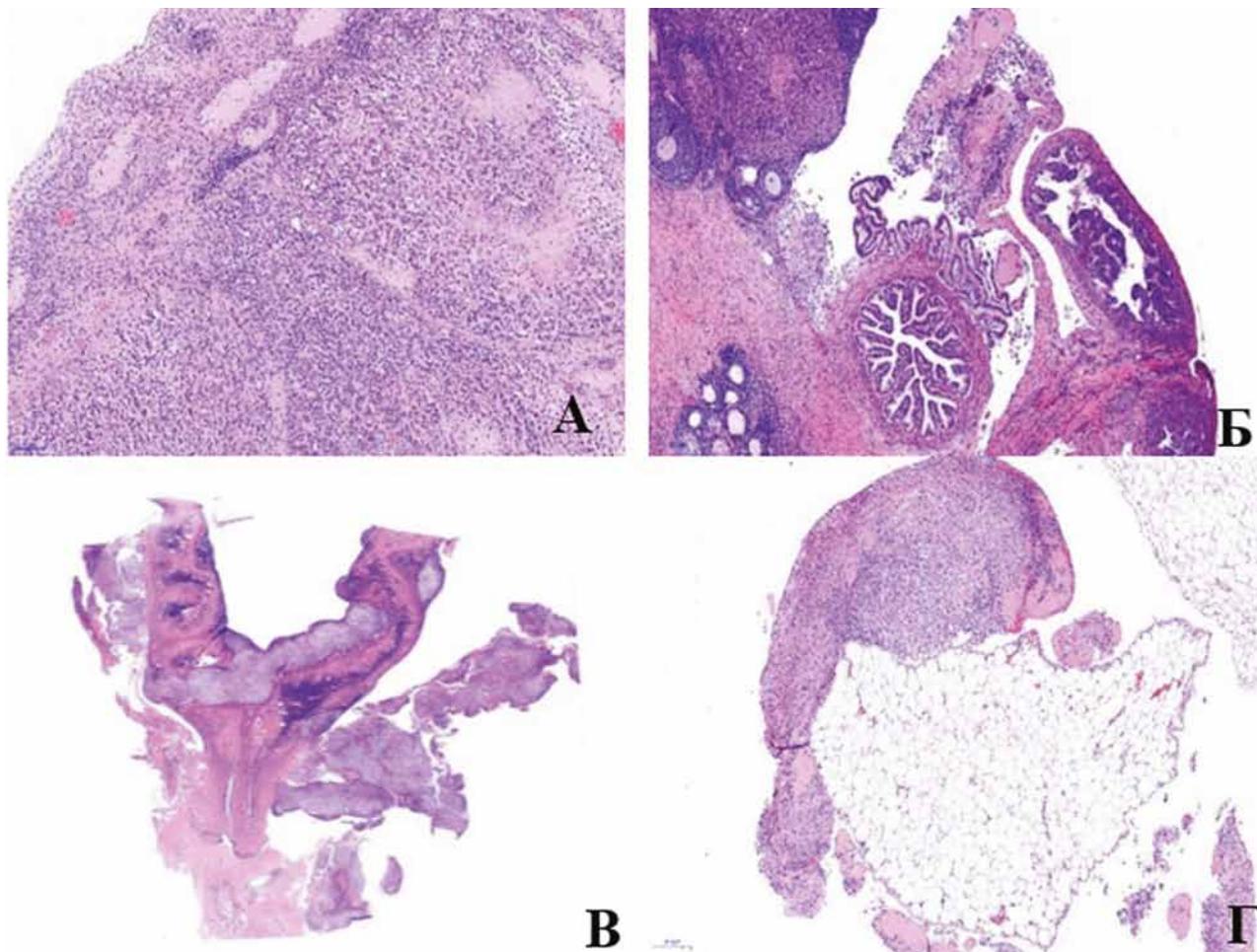


Рис. 7. Микроскопическая картина опухолевого поражения репродуктивных органов самок Wistar. А — тотальное замещение опухолью ткани одного из яичников, гематоксилин/эозин, $\times 100$; Б — опухоль яичника и яйцевода, гематоксилин/эозин, $\times 40$; В — инвазия опухоли в тело и рога матки, гематоксилин/эозин, $\times 5$; Г — очаг СКВСЗ в парагонадной клетчатке, гематоксилин/эозин, $\times 60$

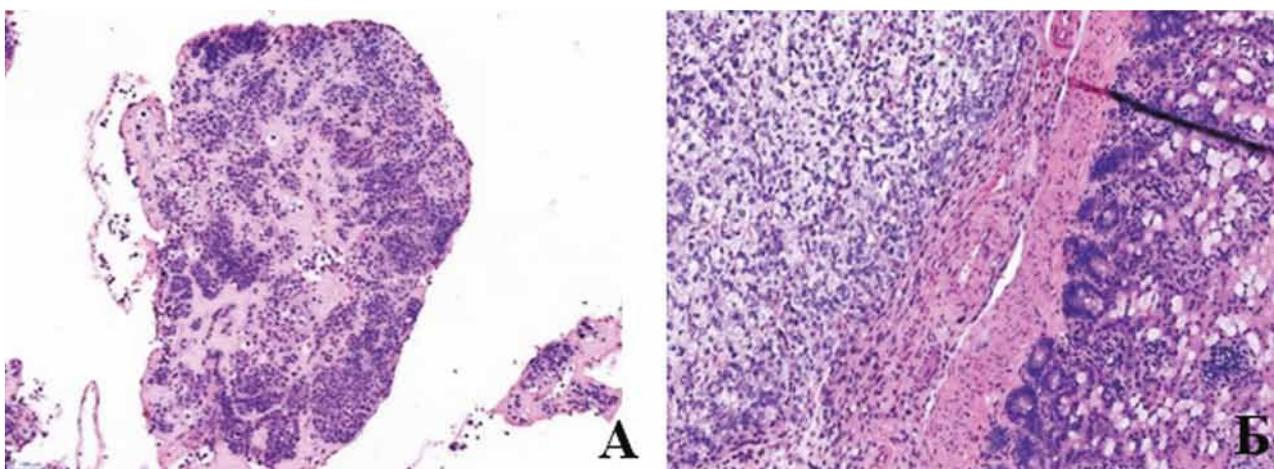


Рис. 8. Микроскопическая картина опухолевого поражения различных органов. А — фрагмент большого сальника с инфильтрацией опухолью, гематоксилин/эозин, $\times 40$; Б — опухоль в серозной оболочке стенки тонкой кишки, гематоксилин/эозин, $\times 200$

Оцениваемые параметры. Наблюдение за животными-реципиентами осуществляли в течение всего периода жизни. Оценивали показатели ОВ крыс в двух группах. Павших животных подвергали полной аутопсии. Определяли индекс перитонеального канцероматоза (ИПК) по модифицированной методике, предложенной Klaver Y.L. et al. [27]. После лапаротомии брюшная полость внимательно исследовалась на предмет наличия опухолевых узлов в восьми зонах (см. табл. 1). Опухолевый рост в каждой зоне оценивали полуколичественно, где 0 баллов — нет видимой макроскопически опухоли; 1 балл — ограниченный рост опухоли (диаметр опухолевых узлов 1-2 мм); 2 балла — умеренный рост опухоли (диаметр опухолевых узлов 2-4 мм); 3 балла — выраженный рост опухоли (диаметр опухолевых узлов более 4 мм). Оценивали массу асцита в брюшной полости. Оба яичника каждой крысы, а также органы и ткани с макроскопическими признаками ПК подвергали стандартному гистологическому исследованию при световой микроскопии после окраски гематоксилином и эозином. Также готовили цитологические мазки асцита и плеврального выпота с окраской по методу Паппенгейма.

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов эксперимента проводили с помощью пакета GraphPad Prism версии 8.0. Нормальность распределения проверялась на основании критерия Шапиро-Уилка и графиков квантиль-квантиль (QQ plot). Для сравнения нормально распределенных количественных данных использовали непарный критерий Стьюдента. Для сравнения не нормально распределенных количественных данных использовали критерий Манна-Уитни. Данные по ОВ животных графически представлены в виде кривых Каплана-Мейера. Для сравнения кривых ОВ применяли логранговый критерий. Все критерии были двусторонними. Различия считались статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты

Прививаемость опухоли в обеих группах составила 100%. Среднее время, затраченное на ОТ, составило 34 ± 2 мин (mean \pm SD). В группе с ОТ пери- и постоперационной смертности не наблюдалось. Опухолеспецифическая летальность — 100%. На рис. 2 представлены кривые ОВ животных двух экспериментальных групп. В группе с ОТ опухоли медиана ОВ составила 29 дней, в группе с ВТ — 21 день. Различия в ОВ были статистически достоверны.

На аутопсии у павших животных из обеих групп в брюшной полости определялся геморрагический асцит. В мазках асцитической жидкости определялись обширные поля клеток СКВСЗ (клетки полиморфные, резко атипичные с крупными ядрами с ядрышками и высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, дискретно лежащие среди полей клеток моноцитарного ряда). Клетки были сильно вакуолизированы (рис. 3).

Оба яичника в группе ОТ, как правило, были макроскопически изменены, бугристы. В то же время в группе ВТ таких видимых изменений яичников практически не наблюдалось. В результате имплантационного распространения

опухоли наблюдали обширное поражение рогов и тела матки, парагонадной клетчатки. Причем поражение этих органов и тканей в группе ОТ было более выражено. Большой сальник выглядел набухшим из-за опухолевой инфильтрации. Также определялись множественные узлы в брыжейке кишечника, опухолевые массы в воротах печени, узлы в куполе диафрагмы (рис. 4, рис. 5).

Частыми находками на аутопсии были опухолевые конгломераты творожистой консистенции в различных зонах брюшной полости. Описанная макроскопическая картина была характерна как для крыс с ОТ, так и для крыс с ВТ. У одной крысы из 10 (10%) в группе ОТ на вскрытии отсутствовал асцит и ПК, при этом наблюдалось поражение органов грудной полости и злокачественный плевральный выпот, подтвержденный цитологически. Она была исключена из подсчета ИПК. Значимых различий между группами в общем ИПК и массе асцита не было (табл. 1).

Таблица 1. ИПК и масса асцита на аутопсии у животных с ОТ и ВТ опухоли

Локализация очагов†	Группа ОТ (n=10)	Группа ВТ (n=10)
Большой сальник	3 (0-3)	3 (3-3)
Пространство между печенью и диафрагмой	3 (0-3)	3 (0-3)
Ворота печени	3 (0-3)	3 (0-3)
Брыжейка	3 (0-3)	3 (0-3)
Диафрагма	0 (0-3)	0 (0-3)
Яичники	3 (0-3)	0 (0-3)
Париетальная брюшина	0 (0-0)	0 (0-3)
Тело и рога матки с парагонадной клетчаткой	2 (0-3)	1,5 (0-3)
Общий ИПК*	12,6 (2,0)	13,6 (1,7)а
Масса асцита, г*	78,0 (9,6)	65,8 (13,3)б

Данные представлены в виде †медианы (min-max) и *среднего (SEM). "а" — различия статистически не значимы; критерий Манна-Уитни, $P=0,7989$; "б" — различия статистически не значимы; непарный критерий Стьюдента, $P=0,4707$.

При морфологическом исследовании аутопсийного материала животных из обеих групп обнаруживалась сходная микроскопическая картина опухолевого роста в органах и тканях, представленная полями инвазивной злокачественной опухоли папиллярно-солидного строения, состоящей из округлых клеток со скудной эозинофильной или оптически пустой цитоплазмой, с крупными резко атипичными полиморфными ядрами, с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением (рис. 6).

В 100% случаев при гистологическом анализе ткани обоих яичников двух экспериментальных групп развивалась СКВСЗ, субтотально или тотально замещающая нормальную ткань яичника, с распространением на яйцевод, рога и тело матки, парагонадную клетчатку (рис. 7).

Множественные фокусы СКВСЗ определялись в ткани большого сальника, серозной оболочке стенки кишки и брюшине диафрагмы с инвазией в мышечный слой (рис. 8).

Обсуждение

К сожалению, в настоящее время существует крайне мало моделей для изучения как специфичных для рака яичников путей метастазирования (внутрибрюшинное распространение), так и для оценки метастатического потенциала ЭРЯ в целом [28]. Опухолевый штамм сингенной СКВСЗ доступен в России, не требует специальных (стерильных) условий содержания лабораторных животных. В представленной экспериментальной работе мы впервые сравнили характерные особенности опухолевого роста этого штамма у крыс-самок Wistar после ОТ (под капсулу сумки яичника) и ВТ. Оба способа трансплантации позволяют воспроизвести поздние стадии (III-IV стадии) ЭРЯ у женщин. При этом ВТ выполняется значительно быстрее и не требует условий операционной. Нами установлено, что способ трансплантации опухоли не влиял на степень прививаемости опухоли, гистологические характеристики, характер внутрибрюшинного распространения опухоли и объем асцита. Следует отметить больший объем опухолевого поражения репродуктивных органов самок (яичники, рога и тело матки, парагонадная клетчатка) в группе ОТ. Отсутствие статистически значимых различий в общем ИПК (12,6 против 13,6 для ОТ и ВТ соответственно) можно объяснить тем, что этот показатель определялся у павших животных *post mortem*. Вероятно, лучшей оценкой было бы определять этот параметр на определенные сроки развития опухоли у крыс, подвергнутых эвтаназии, а не у павших животных с массивным ПК. Кроме того, следует учитывать и крайне агрессивный рост этого штамма. Достоверные различия в ОБ животных в двух группах (медианы ОБ 21 и 29 дней в группе ВТ и ОТ соответственно) можно объяснить меньшим количеством клеток, прививаемых под мембрану сумки яичника, ограниченным объемом введения 25 мкл. Необходимо учитывать возможное влияние микроокружения и стромы яичника на опухолевый рост и процессы диссеминации первичной опухоли, в том числе из-за анатомических особенностей строения яичника грызунов [29].

Заключение

Оба способа (ОТ и ВТ) трансплантации сингенной СКВСЗ иммунокомпетентным животным могут применяться в доклинических исследованиях с разной целью. ОТ более пригодна для изучения биологии опухолевого роста, противоопухолевого иммунитета, эпителиально-стромальных взаимодействий, процессов васкуляризации опухоли. ВТ применима в поисковых онкофармакологических исследованиях, в апробации новых средств интраперитонеальной терапии и перфузионных технологий.

Участие авторов

Муразов Я.Г. — разработка дизайна исследования, выполнение исследования, обработка результатов, написание, редактирование текста статьи. *Стуков А.Н.* — обработка результатов, написание, редактирование текста статьи. *Нюганен А.О.* — подготовка и анализ гистологического материала, редактирование текста статьи. *Артемьева А.С.* — критические замечания, редактирование текста статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018;68(6):394–424. doi:10.3322/caac.21492.
2. Momenimovahed Z., Tiznobaik A., Taheri S. et al Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors. *Int. J. Womens Health.* 2019;11:287–299. doi:10.2147/IJWH.S197604.
3. Reid B.M., Permuth J.B., Sellers T.A. Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biol. Med.* 2017;14(1):9–32.
4. van Baal J.O.A.M., van Noorden C.J.F., Nieuwland R, et al. Development of Peritoneal Carcinomatosis in Epithelial Ovarian Cancer: A Review. *J. Histochem. Cytochem.* 2018; 66(2):67–83. doi:10.1369/0022155417742897.
5. Helderma R.F.C.P.A., Löke D.R., Kok H.P. et al. Variation in Clinical Application of Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy: A Review. *Cancers (Basel).* 2019;11(1):78. doi:10.3390/cancers11010078.
6. Fredrickson T.N. Ovarian tumors of the hen. *Environ. Health Perspect.* 1987;73:35–51. doi:10.1289/ehp.877335.
7. Kuhn E., Tisato V., Rimondi E. et al. Current Preclinical Models of Ovarian Cancer. *J. Carcinog. Mutagen.* 2015;6:2.

8. Cooper T.K., Gabrielson K.L. Spontaneous lesions in the reproductive tract and mammary gland of female non-human primates. *Birth Defects Res. B. Dev. Reprod. Toxicol.* 2007;80(2):149–170. doi:10.1002/bdrb.20105.
9. Krarup T. Oocyte destruction and ovarian tumorigenesis after direct application of a chemical carcinogen (9:0-dimethyl-1:2-benzanthrene) to the mouse ovary. *Int. J. Cancer.* 1969;4(1):61–75. doi:10.1002/ijc.2910040109.
10. Toth B. Susceptibility of guinea pigs to chemical carcinogens: 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene and urethane. *Cancer Res.* 1970;30(10): 2583–2589.
11. Tunca J.C., Ertürk E., Ertürk E. et al. Chemical induction of ovarian tumors in rats. *Gynecol. Oncol.* 1985;21(1):54–64. doi:10.1016/0090-8258(85)90232-x.
12. Nishida T., Sugiyama T., Katabuchi H. et al. Histologic origin of rat ovarian cancer induced by direct application of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi.* 1986;38(4):570–574.
13. Connolly D.C., Bao R., Nikitin A.Y., et al. Female mice chimeric for expression of the simian virus 40 TAG under control of the MISIR promoter develop epithelial ovarian cancer. *Cancer Res.* 2003;63(6): 1389–1397.
14. Kim J., Coffey D.M., Creighton C.J. et al. High-grade serous ovarian cancer arises from fallopian tube in a mouse model. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2012;109(10):3921–3926. doi:10.1073/pnas.1117135109.
15. Perets R., Wyant G.A., Muto K.W. et al. Transformation of the fallopian tube secretory epithelium leads to high-grade serous ovarian cancer in Brca;Tp53;Pten models. *Cancer Cell.* 2013;24(6):751–765. doi:10.1016/j.ccr.2013.10.013.
16. Hernandez L., Kim M.K., Lyle L.T. et al. Characterization of ovarian cancer cell lines as in vivo models for pre-clinical studies. *Gynecol. Oncol.* 2016;142(2):332–340. doi:10.1016/j.ygyno.2016.05.028.
17. Hallas-Potts A., Dawson J.C., Herrington C.S. Ovarian cancer cell lines derived from non-serous carcinomas migrate and invade more aggressively than those derived from high-grade serous carcinomas. *Sci. Rep.* 2019;9(1):5515. doi: 10.1038/s41598-019-41941-4.
18. Fu X., Hoffman R.M. Human ovarian carcinoma metastatic models constructed in nude mice by orthotopic transplantation of histologically-intact patient specimens. *Anticancer Res.* 1993;13(2):283–286.
19. Wu J., Zheng Y., Tian Q. et al. Establishment of patient-derived xenograft model in ovarian cancer and its influence factors analysis. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2019;45(10): 2062–2073. doi:10.1111/jog.14054.
20. Погосянц, Е.Е., Пригожина Е.Л., Еголина Н.А. Перевиваемая асцитная опухоль яичника крысы (штамм ОЯ). *Вопросы онкологии.* 1962;8(11):29-36 [Pogosyants, E.E., Prigozhina E.L., Egolina N.A. Perevivaemaya astsitnaya opukhol' yaichnika krysy (shtamm OYa). *Vopr. Oncol.* 1962;8(11):29-36 (In Russ.)].
21. Wilkinson-Ryan I., Pham M.M., Sergeant P. et al. A Syngeneic Mouse Model of Epithelial Ovarian Cancer Port Site Metastases. *Transl. Oncol.* 2019; 12(1):62–68. doi:10.1016/j.tranon.2018.08.020.
22. McCloskey C.W., Goldberg R.L., Carter L.E. et al. A new spontaneously transformed syngeneic model of high-grade serous ovarian cancer with a tumor-initiating cell population. *Front. Oncol.* 2014;4:53. doi:10.3389/fonc.2014.00053.
23. Scott C.L., Mackay H.J., Haluska P. Jr. Patient-derived xenograft models in gynecologic malignancies. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book.* 2014:e258–e266. doi:10.14694/EdBook_AM.2014.34.e258.
24. Муразов Я.Г., Нюганен А.О., Артемьева А.С. Экспериментальное моделирование карциномы яичника. *Лабораторные животные для научных исследований.* 2020;3. doi.org/10.29296/2618723X-2020-03-05 [Murazov Ia.G., Niuganen A.O., Artemyeva A.S. Experimental modeling of ovarian carcinoma. *Laboratory Animals for Science.* 2020;3. doi.org/10.29296/2618723X-2020-03-05 (In Russ.)].
25. Magnotti E., Marasco W.A. The latest animal models of ovarian cancer for novel drug discovery. *Expert Opin. Drug Discov.* 2018;13(3):249-257. doi:10.1080/17460441.2018.1426567.
26. Yoshida Y., Kamitani N., Sasaki H. et al. Establishment of a liver metastatic model of human ovarian cancer. *Anti-cancer Res.* 1998;18(1A):327-331.
27. Klaver Y.L., Hendriks T., Lomme R.M. et al. Intraoperative hyperthermic IP CT after CRS cytoreductive surgery for peritoneal carcinomatosis in an experimental model. *Br. J. Surg.* 2010. 97(12):1874-1880. doi: 10.1002/bjs.7249.
28. Shaw T.J., Senterman M.K., Dawson K. et al. Characterization of intraperitoneal, orthotopic, and metastatic xenograft models of human ovarian cancer. *Mol. Ther.* 2004; 10(6):1032-1042. doi:10.1016/j.ymthe.2004.08.013.
29. Preston C.C., Goode E.L., Hartmann L.C. et al. Immunity and immune suppression in human ovarian cancer. *Immunotherapy.* 2011;3(4):539–556. doi:10.2217/imt.11.20.

Поступила в редакцию 30.10.2020 г.

Ia.G. Murazov, A.N. Stukov, A.O. Niuganen, A.S. Artemyeva

Comparative characteristics of models of advanced ovarian carcinoma after orthotopic and intraperitoneal transplantation of a syngeneic tumor

FSBI «N.N. Petrov NMRC of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russia, St. Petersburg

Aim. To reveal the characteristic features of tumor growth after orthotopic (OT) and intraperitoneal transplantation (IT) of high-grade syngeneic ovarian carcinoma.

Material and methods. Twenty mature female Wistar rats were randomized into two groups of ten each. The first group — animals underwent OT of ovarian carcinoma (4,3×10⁶ cells) under the membrane of the bursa of the left and right ovaries; the second group — animals underwent IT of the tumor (4,3×10⁷ cells). The endpoints of the study included an assessment of the overall survival (OS) of rats in two groups, determination of the peritoneal cancer index (PCI) on autopsy, and ascites weight. Autopsy material was histologically assessed analysis by light microscopy after standard staining. Cytological examination of ascitic fluid was carried out.

Results. Median OS was 29 days and 21 days in the OT and IT groups, respectively (log-rank test, $P = 0.0276$). Autopsy did not reveal significant differences in total PCI (12.6 vs 13.6 in the OT and IT groups, respectively) and ascites weight (78.0 g in the OT vs 65.8 g in the IT group). The method of transplantation did not affect the tumor grafting, histological characteristics, the nature of intraperitoneal spread and the ascites volume. It should be noted that there was a greater volume of tumor lesions in the organs of the reproductive system of rats (ovaries, uterus with horns, paragonadal fat pad) in the OT group.

Conclusion. Both methods of transplantation allow to reproduce the advanced stages (III-IV stages) of epithelial ovarian carcinoma in women. OT requires more time and operating conditions. OT and IT can be used to solve various problems in fundamental and routine preclinical cancer research.

Key words: ovarian cancer; high-grade serous carcinoma; peritoneal carcinomatosis; ascites; preclinical trials