

УДК: 612.084:616-006.446

«Экспериментальное моделирование лейкозов»

Коскина Я.В., Малахова К.В., Васильева А.А.

ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава Российской Федерации - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования “Волгоградский государственный медицинский университет” Министерства здравоохранения Российской Федерации, направление подготовки “Биология”, Россия, Волгоград, e-mail: koskina.yana123@yandex.ru

Аннотация

Р. Вирхов в 1845 г. описал лейкемию человека. После этого появились сообщения о лейкозах животных. Первое описание мышинного лейкоза, появившееся в 1878 г., принадлежит К. Эберту. В последующие годы было много сообщений о лейкозах у других животных.

Экспериментальные модели для изучения лейкоза создаются на лабораторных животных - мышах. В статье рассматриваются мышинные модели, существующие в настоящее время, и описывается создание этих моделей от разных линий иммунодефицитных мышей до нескольких вариантов приживления опухолевых клеток в организме животного, лечение лейкоза при помощи адаптивной клеточной терапии.

Ключевые слова: лейкоз, заболевания крови, экспериментальные модели, моделирование, злокачественное заболевание, мышинные модели

"Experimental modeling of leukemia."

Koskina Ya.V., Malakhova K.V., Vasilyeva A.A.

FGBOU IN VolgGMU of the Ministry of Health of the Russian Federation - Federal State Budgetary educational Institution of Higher Education “Volgogradsky State Medical University” Ministry of Health of the Russian Federation, the direction of training “Biology”, Russia, Volgograd, e-mail: koskina.yana123@yandex.ru

Annotation

R. Virchow in 1845 described human leukemia. After that, there were reports of animal leukemias. The first description of mouse leukemia, which appeared in 1878, belongs to K. Ebert. In later years there were many reports of leukemias in other animals.

Experimental models for the study of leukemia are created on laboratory animals - mice. The article discusses currently existing mouse models and describes the creation of these models from different lines of immunodeficient mice to several options for the engraftment of tumor cells in the animal body, the treatment of leukemia using adoptive cell therapy.

Keywords: leukemia, blood diseases, experimental models, modeling, malignant disease, mouse models

Лейкемия – злокачественное заболевание, при котором нарушается процесс кроветворения в костном мозге. В результате в кровь попадает большое количество незрелых лейкоцитов, которые не справляются со своей основной функцией – защитой организма от инфекций. Постепенно они вытесняют здоровые клетки крови, а также проникают в различные органы, нарушая их работу.

Все клетки крови образуются в костном мозге — специфической кроветворной ткани, которая находится в костях таза, грудины, позвонков, ребер, длинных костей. Именно он содержит стволовые клетки, дающие начало всем клеткам крови. В процессе деления из них сначала образуются лимфоидные и миелоидные стволовые клетки. Лимфоидные стволовые клетки образуют лимфобласты, а миелоидные стволовые клетки образуют миелобласты. Из

лимфобластов и миелобластов делением получают лейкоциты. Так, из лимфоидных стволовых клеток образуются лимфоциты, а из миелоидных стволовых клеток - эритроциты, тромбоциты и другие виды лейкоцитов: нейтрофилы, базофилы, эозинофилы и моноциты. [2]

Весь процесс деления, гибели и созревания клеток крови заложен в их ДНК. При ее повреждении нарушается процесс роста и деления клеток крови, в основном лейкоцитов. В кровь попадает большое количество незрелых лейкоцитов, которые не способны выполнять свою функцию, в результате чего у организма снижается устойчивость к инфекциям. Незрелые клетки очень активно делятся, долго живут, постепенно вытесняют другие клетки крови — эритроциты и тромбоциты. Как следствие анемия, слабость, частые длительные кровотечения, геморрагии. Незрелые лейкоциты могут проникать в другие органы и нарушать их функцию.

В зависимости от того, какой вид лейкоцитов вовлечен в патологический процесс и как быстро развивается заболевание, различают следующие виды лейкозов.

- Острый лимфобластный лейкоз – быстро развивающееся заболевание, при котором в крови и костном мозге появляется более 20% лимфобластов. Это самый распространенный тип.

- Хронический лимфолейкоз протекает медленно и характеризуется избытком зрелых малых круглых лимфоцитов в крови и костном мозге, которые могут проникать в лимфатические узлы, печень, селезенку.

- Острый миелобластный лейкоз – при нем в крови и костном мозге обнаруживается более 20% миелобластов, которые непрерывно делятся и могут проникать в другие органы.

- Хронический миелоцитарный лейкоз, при котором повреждается ДНК миелоидных стволовых клеток. В результате в крови и костном мозге наряду с нормальными клетками появляются незрелые злокачественные клетки. Часто болезнь развивается незаметно, без каких-либо симптомов. [3]

Еще одна классификация по типу клеток:

- Миелогенный или миелоидный лейкоз развивается из миелоидных клеток. Нормальные миелоидные клетки развиваются в эритроциты, лейкоциты и тромбоциты.
- Лимфоцитарный лейкоз развивается из лимфоидных клеток. Нормальные лимфоидные клетки превращаются в лейкоциты, которые являются важной частью иммунной системы организма.

Симптомы в частности зависят от типа лейкемии. Например, при хронической форме лейкемии может не быть заметных симптомов на ранних стадиях.

Общие признаки и симптомы лейкемии включают:

- Утомляемость, легкое утомление.

- Лихорадка или ночная потливость.
- Частые инфекции, одышка.
- Бледная кожа, необъяснимая потеря веса.
- Боль в костях/суставах или болезненность.
- Боль или ощущение полноты под ребрами с левой стороны.
- Увеличение лимфатических узлов.
- Легкие синяки и кровотечения. [4]

К факторам риска развития лейкемии относятся: ионизирующее излучение; воздействие на организм химических канцерогенов; некоторые вирусы: HTLV (Т-лимфотропный вирус человека); бытовые факторы; наследственная предрасположенность к раку. [5]

Модели на мышах особенно важны для оценки эффективности иммунотерапии перед ее применением в клинических условиях, например, при адоптивной терапии Т-клетками WT1 для лечения лейкемии.

За последние десятилетия приживление лейкозных клеток человека мышам с различной степенью иммунодефицита зарекомендовало себя как очень эффективный инструмент в изучении патогенеза лейкоза. Это связано с рядом принципиальных обстоятельств:

- 1) сходство функционирования костного мозга мышей и человека;
- 2) модель на мышах позволяет размножить опухолевые клетки *in vivo* для их дальнейшего изучения;
- 3) после приживления клеток острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) или острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) на мышинной модели можно наблюдать все клинические признаки, характерные для развития заболевания у человека.

Мышей с мутацией, приводящей к тяжелому комбинированному иммунодефициту (SCID), скрещивали с nonobese diabetic (NOD/Lt) линиями. В результате была создана новая линия мышей NOD/SCID с улучшенной выживаемостью опухолевых клеток, эта модель аналогична человеческой.

Линия мышей (NOD/SCID) была модифицирована путем подавления роста и развития NK-клеток и за счет создания дефекта у-цепей рецептора интерлейкина 2, обозначенная как линия NSG. У таких особей оказалось обеспечено почти 100 % приживление опухоли, и *in vivo* стала возможной дифференцировка трансплантированных гемопоэтических стволовых клеток, в связи с почти полным отсутствием мышинных иммунных клеток.

Метод приживления мышам лейкемических клеток пациента после курса химиотерапии обладает определенной прогностической ценностью, но не является абсолютно надежным.

С помощью антигенспецифической терапии принципиально возможно остановить или значительно замедлить рост опухоли, являющейся следствием патологического процесса, приводящего к обнаружению новообразованной ткани с генетически модифицированным клеточным аппаратом и нарушением регуляции их роста.

Наиболее благоприятной для применения антигенспецифической терапии является ситуация, возникающая после активного и радикального (например, химиотерапия) лечения больного лейкозом, когда зрелые клетки погибли, а рост новой опухоли (рецидив) может начаться за счет стволовых опухолевых клеток. И если антиген WT1 экспрессируется в достаточном количестве в этих клетках, то они становятся подходящей мишенью для антигенспецифической иммунотерапии.

Исследование *in vivo* показало, что скорость приживления и развития опухоли у мышей связана с признаками агрессивности опухоли.

Биологическое и клиническое течение заболеваний у мышей зависит не только от вида мышей, но и от тактики заражения клеток костного мозга: используются свежие клетки, т.е. взятые напрямую у больного, или размороженные, или генетически модифицированные.

Способ введения клеток определяет скорость приживления. При этом различают несколько способов введения клеток в организм мыши:

а) подкожное введение: опухоль находится в неспецифичном для себя микроокружении, что может приводить к ложнопозитивному результату;

б) при внутривенном введении опухолевые клетки сначала устремляются в легкие, потом направляются в печень, где могут оставаться или полностью оттуда уйти, но основным моментом является активизация хоуминг-эффекта, т. е. миграция лимфоцитов в лимфатические узлы и костный мозг, где начинается их активная продукция и развитие болезни,

в) введение напрямую в костный мозг обеспечивает самый быстрый способ приживления по сравнению с системным введением.

В зависимости от цели исследования могут быть использованы разные мышинные модели, учитывают факторы, начиная от выбора линии мышей и заканчивая способом введения опухолевых клеток.

Агрессивный рост опухоли и возможности ее приживления в живом организме дают возможность не только параклинических исследований, но и изучения биологической основы опухолевого процесса. При выявлении мышинных моделей мы проводим

антигенспецифическую терапию, которая требует заражения большого количества клеток, несущих тот или иной антиген, но если этот антиген присутствует в функции ствола опухоли, то можно подавить рост опухоли.

Существуют факторы, которые заметно уменьшают возможность использования мышинных моделей в преclinical исследованиях. Например, иммуномодулирующие препараты не могут быть использованы при проведении исследований на иммунодефицитных мышях, так как их эффект может быть доказан только в иммунокомпетентном организме. Главной проблемой является фундаментальная разница между метаболизмом человека и мыши. Яркий пример - введение в организм талидомида. Продукты его превращения в организме человека и мыши существенно различаются: абсолютно безвредные для мышей, а у человека талидомид приводит к повреждению структуры ДНК и множественным врожденным аномалиям.

Таким образом, задача выбора научно-экспериментальной модели заболевания лейкозом человека с целью разработки эффективных методов лечения на клеточном и молекулярном уровнях является весьма актуальной.

Есть все основания утверждать, что сегодня именно мышинные модели заболеваний лейкозами являются моделями для доклинических исследований и прогнозирования эффективности лечения в каждом отдельном случае.

Мыши линии N80 могут быть использованы для оценки эффективности и перспективности антигенспецифической терапии для элиминации опухолевых стволовых клеток. [1, 6]

Список литературы:

1. Д.д П., А.г Р. Оптимизация экспериментальных моделей заболевания лейкозом у человека (обзор литературы) // Онкогематология. 2012. № 4. С. 48–53.
2. Лейкоз: сдать анализ в лаборатории KDLmed // KDLmed [Электронный ресурс]. URL: <https://kdlmed.ru/doctors/disease/leykoz/>.
3. Лейкоз [Электронный ресурс]. URL: <https://helix.ru/kb/item/704>.
4. Leukemia: Symptoms, Signs, Causes, Types & Treatment // Cleveland Clinic [Электронный ресурс]. URL: <https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/4365-leukemia>.
5. Лейкоз - причины появления, симптомы заболевания, диагностика и способы лечения [Электронный ресурс]. URL: <https://www invitro.ru/moscow/library/bolezni/27905/>.
6. 1.2. Линии мышей с генетическими дефектами, затрагивающими иммунную // StudFiles [Электронный ресурс]. URL: <https://studfile.net/preview/1659289/>.