



<https://doi.org/10.34883/PI.2023.12.4.008>
УДК 612.11:616-006



Соболева О.Е.^{1,2}✉, Тихонович О.Г.¹, Жогаль С.М.³, Шепетько М.Н.^{1,3}, Пашкевич С.Г.¹

¹ Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

² Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Беларусь

³ Минский городской клинический онкологический центр, Минск, Беларусь

Оценка гематологических показателей крови у лабораторных мышей – опухоленосителей аденокарциномы Эрлиха

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: дизайн исследования, сбор материала – Соболева О.Е.; обсуждение и интерпретация материала – Жогаль С.М.; статистическая обработка материала – Тихонович О.Г.; концепция, написание текста – Шепетько М.Н.; редактирование – Пашкевич С.Г.

Подана: 05.04.2023

Принята: 13.11.2023

Контакты: soboleva.olga@iboch.by

Резюме

Введение. Разработка новых подходов к лечению онкологических заболеваний с использованием мышей – опухоленосителей аденокарциномы Эрлиха актуальна, поскольку данный аспект исследования позволяет получить адекватные, воспроизводимые результаты, имеющие перспективы применения в клинической практике. Однако анализ сведений из источников доступной научной литературы показал недостаточную изученность изменения гематологических показателей крови у лабораторных мышей-опухоленосителей.

Цель. Оценка особенностей изменения морфологической картины крови мышей – опухоленосителей карциномы Эрлиха при разных, удовлетворяющих требованиям проведения эксперимента, ее биологических моделях.

Материалы и методы. Исследование осуществлено на самках аутбредных мышей ICR и самцах инбредных мышей линии Af 2–3-месячного возраста, массой $20,0 \pm 2,0$ г. Экспериментальные группы были сформированы следующим образом: группа 1 – моделирование АКЭ проводили внутрибрюшинным введением клеток аденокарциномы Эрлиха (в/б) самкам аутбредных мышей ICR ($n=20$); группа 2 – моделирование СКЭ проводили подкожным введением клеток аденокарциномы Эрлиха (п/к) самкам аутбредных мышей ICR ($n=20$); группа 3 – моделирование СКЭ проводилось подкожным введением клеток аденокарциномы Эрлиха (п/к) самцам инбредных мышей Af ($n=20$). Для перевивки опухоли был использован гипердиплоидный штамм аденокарциномы Эрлиха. Кровь забирали из лицевой вены мышей. Гематологические показатели определяли на автоматическом анализаторе URIT VET3000 Plus. Для подсчета лейкоцитарной формулы окрашенные по Романовскому – Гимзе мазки крови просматривали на световом микроскопе LEICA DM2500. Статистическую обработку данных проводили с использованием t-критерия Вилкоксона для зависимых выборок. Результаты между независимыми выборками анализировали с помощью критерия Манна – Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. В исследовании установлены гематологические критерии развития опухолевого процесса в период 14 суток после ксенотрансплантации клеток аденокарциномы Эрлиха в объеме 0,2 мл в количестве 2×10^6 морфологических единиц. В эксперименте на животных созданы модели асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) и ее солидной формы (СКЭ) у самок мышей линии ICR и самцов мышей линии Af. Кровь забирали из лицевой вены мышей два раза: первый раз до прививки опухоли и второй раз на 14-е сутки развития опухолевого процесса. Выделены зависимые и независимые ни от вида, ни от пола, ни от способа инокуляции клеток аденокарциномы Эрлиха изменения параметров морфологической картины крови экспериментальных животных.

Заключение. Ксенотрансплантация аденокарциномы Эрлиха мышам к 14-м суткам сопровождается следующими изменениями: в распределении эритроцитов по объему; среднем объеме тромбоцитов, распределении тромбоцитов по объему, количестве лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов и не оказывает влияния на уровень базофилов крови. Количественные показатели крови мышей-опухоленосителей перспективны для обоснования выбора тест-систем и сопоставления эффективности потенциальных противоопухолевых субстанций, способных повлиять на систему крови.

Ключевые слова: мыши, биомодели, асцитная карцинома Эрлиха, солидная карцинома Эрлиха, гематологические показатели крови, общее количество лейкоцитов, дифференциальные формы лейкоцитов

Soboleva O.^{1,2}✉, Tikhonovich O.¹, Zhogal S.³, Shapetska M.^{1,3}, Pashkevich S.¹

¹ Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

² Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

³ Minsk City Clinical Oncology Center, Minsk, Belarus

The Evaluation of Hematological Blood Parameters in Laboratory Mice Tumor Ehrlich's Adenocarcinoma Carrier

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: study design, collection of material – Soboleva O.; discussion and interpretation of the material – Zhogal S.; statistical processing of the material – Tikhonovich O.; concept, writing of the text – Shapetska M.; editing – Pashkevich S.

Submitted: 05.04.2023

Accepted: 13.11.2023

Contacts: soboleva.olga@iboch.by

Abstract

Introduction. The study of new approaches in the treatment of oncological diseases using Ehrlich adenocarcinoma mice is relevant and allows obtaining adequate, reproducible results that have prospects for application in clinical practice. However, the analysis of the sources of scientific literature showed a poor study of hematological blood parameters in laboratory mice-tumor carriers.



Purpose. Evaluation of the peculiarities of changes in the morphological picture of blood of Ehrlich carcinoma tumor-bearing mice under different, satisfying the requirements of the experiment, its biological models.

Materials and methods. The work was performed on female outbred ICR mice and male inbred Af mice aged 2–3 months, weighing 20.0 ± 2.0 g. The experimental groups were formed as follows: group 1 – EAC modeling was performed by intraperitoneal injection of Ehrlich adenocarcinoma cells to female outbred ICR mice ($n=20$); group 2 – ESC modeling was performed by subcutaneous injection of Ehrlich adenocarcinoma cells to female outbred ICR mice ($n=20$); group 3 – ESC modeling was performed by subcutaneous injection of Ehrlich adenocarcinoma cells to male inbred Af mice ($n=20$). A hyperdiploid strain of Ehrlich's adenocarcinoma was used for tumor transplantation. Blood was taken from the facial vein of mice. Hematological parameters were determined on an automatic analyzer URIT VET3000 Plus. To calculate the leukocyte count, Romanovsky – Giemsa-stained blood smears were examined using a LEICA DM2500 light microscope. Statistical processing was performed using the Wilcoxon t-test for dependent samples. The results between independent samples were analyzed using the Mann – Whitney test. Differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results. Hematological criteria of the tumor process development in the period of 14 days after xenotransplantation of 0,2 ml Erlich adenocarcinoma cells in the amount of 2×10^6 morphological units were established in the research. We modeled Ehrlich ascites carcinoma (EAC) and its solid form (ESC) in female ICR mice and male ICR mice. Blood was collected from the facial vein of mice twice: the first time before tumor inoculation and the second time on the 14th day of tumor development. We distinguished the changes of the internal environment parameters which were dependent on neither species, nor sex, nor the way of Ehrlich adenocarcinoma cell inoculation.

Conclusion. Xenotransplantation of adenocarcinoma of Ehrlich into mice by 14 days is accompanied by the following changes in: red blood cell volume distribution; average volume of platelets, distribution of platelets by volume, the number of lymphocytes, neutrophils, eosinophils, and has no effect on the level of blood basophils. Quantitative blood indicators of tumor-bearing mice are promising for justifying the choice of test system and the effectiveness of the strategy for the effectiveness of antitumor substances capable of indicators in the blood system.

Keywords: mice, biomodels, Ehrlich ascitic carcinoma, Ehrlich solid carcinoma, hematological blood counts, total leukocyte counts, differential leukocyte forms

■ ВВЕДЕНИЕ

Обоснование применения субстанций или новых способов лечения онкологических заболеваний во многом основывается на адекватно выбранных биомоделях. Экстраполяция данных от животных к человеку часто подвергается критике; вместе с тем это один из важных этапов, позволяющих в перспективе разработать новые подходы к лечению. Поскольку срок жизни лабораторных животных, как правило, меньший, чем у человека, а скорость метаболизма выше, при обосновании выбора

биомодели руководствуются состоянием целевых физиологических или функциональных систем организма животного, а также жизненно важных органов, тканей, клеток, формирующих органы. Наиболее удобными в качестве биомоделей и для содержания в условиях вивариев являются крысы и мыши. К тому же хорошо известна их восприимчивость и способность к межвидовому переносу значительного количества заболеваний, встречающихся в популяции людей.

Для оценки течения онкологической патологии в эксперименте биомодель должна обладать следующими характеристиками: 1) иметь морфометрические показатели, сходные с показателями человека; 2) проявлять подобные физиологические и системные эффекты в ответ на различные виды воздействия; 3) включать гены и биохимические пути на всех стадиях развития опухолевого процесса аналогично человеческим; 4) клеточный ответ на противоопухолевую терапию у экспериментальных животных должен соответствовать таковому у человека [1]. В частности, Дж. Биттнер установил, что у некоторых млекопитающих эуэкринные и паракринные факторы, влияющие на развитие клеток рака молочной железы, имеют одинаковое происхождение, и в качестве примера приводится их схожая природа у мышей и человека [2]. Следовательно, мышинные модели продолжают оставаться наиболее подходящими для изучения процесса возникновения, развития, течения онкологического процесса, а также противоопухолевого воздействия различных субстанций. Асцитная карцинома Эрлиха (АКЭ), которую выделили из спонтанного рака молочной железы мыши, является наиболее приемлемой экспериментальной опухолью для подобных исследований (солидную форму получили Эрлих и Аполант в 1905 г., а асцитную – Левенталь и Ян в 1932 г.) [3].

Для развития асцитных форм используют внутрибрюшинное введение перевиваемых культур опухолевых клеток, что сопровождается накоплением в брюшной полости экссудата, содержащего активно пролиферирующие опухолевые клетки и продукты их метаболизма. Для формирования солидной опухоли применяют подкожное введение перевиваемых культур опухолевых клеток. Исходный цитологический материал представлен клетками аденокарциномы молочной железы мыши [4].

В настоящее время для целей биомоделирования этот вид рака прививают мышам любой линии, в том числе беспородным, как внутрибрюшинно, так и подкожно. При этом прививаемость приближается к 100%. Случаев спонтанного исчезновения АКЭ с течением времени, как правило, не отмечается. Латентный период первых признаков манифестации составляет 4–6 сут., продолжительность жизни особи после прививки АКЭ составляет 7–16 сут. Известны данные о том, что экспериментальные животные с солидной формой карциномы Эрлиха живут дольше, чем с АКЭ. Число хромосом в клетках модального класса 44–46, при этом в клетках обнаруживаются маркерные хромосомы, типичные для АКЭ [5].

Следовательно, описанная выше биомодель может быть применена для изучения: свойств избирательной цитотоксичности традиционных и новых фармакологических агентов; уточнения особенностей их токсического воздействия, влияния на общий тканевой метаболизм; роли в дисрегуляции физиологических и функциональных систем организма, подавлении иммунитета; развития химиорезистентности, ассоциированной с высокой степенью злокачественности. Тем более известно,



что негативные побочные влияния химиопрепаратов иногда настолько превосходят базовый лечебный эффект, что приводят к лимитированию их применения [6].

Продемонстрированы перспективы применения в качестве противоопухолевой субстанции антагониста Е-простаноидного рецептора 1 (EP1), SC19220, отдельно или в комбинации с ингибитором циклооксигеназы-2 – целекоксоб (СХВ) у мышей с солидной карциномой Эрлиха (СКЭ) – это сочетание предложено в качестве нового направления терапии рака молочной железы [7]. Показано, что продигиозины (красный внутриклеточный пигмент, образуемый граммотрицательными неспорообразующими энтеробактериями рода *Serratia*) обладают противоопухолевой активностью в отношении СКЭ, а в сочетании с 5-фторурацилом усиливают его ингибирующее действие на опухоль [8]. С использованием СКЭ установлены кардиопротекторные и противораковые эффекты карведилола в нанокapsулированном виде по отношению и к самой опухоли, и к противоопухолевому препарату – доксорубину, который повреждает сердце и может вызвать лекарственную устойчивость [9].

Следует отметить, что экспериментальное воспроизведение аденокарциномы Эрлиха используется не только для моделирования рака молочной железы. Для воспроизведения симптомов онкологических процессов легочной ткани и разработки новых стратегий лечения рака подкожно инокулируют $2,5 \times 10^6$ раковых клеток. В данной модели выявили, что комбинированное применение доксорубина и ингибитора аутофагии (хлорохин) частично предотвращает нарушение альвеолярной структуры, в том числе за счет снижения окислительного стресса [10].

Таким образом, реализация новых подходов в лечении онкологических заболеваний с использованием мышей – опухоленосителей аденокарциномы Эрлиха актуальна и позволяет получить адекватные, воспроизводимые результаты, имеющие перспективы применения в клинической практике.

Анализ источников научной литературы продемонстрировал недостаточную изученность гематологических показателей самок мышей ICR при моделировании СКЭ. В работе впервые выполнена оценка гематологических показателей мышей-самцов высокораковой линии Af, у которых для подкожной инокуляции карциномы Эрлиха использовали свежезабранный асцит брюшной полости мышей – опухоленосителей аденокарциномы Эрлиха. Следует отметить, что линия Af характеризуется тем, что во второй половине жизни у интактных животных возникают спонтанные опухоли легких, число которых увеличивается под действием мутагенных и канцерогенных факторов.

Исследования направлены не только на уточнение диапазона нормальных значений параметров крови, но и анализ факторов, позволяющих обосновать новые подходы к применению и разработке новых биомоделей. В доступной научной литературе отсутствуют сведения о нормальном диапазоне гематологических показателей для выбранных групп животных. Кроме того, есть достаточно веские причины полагать значимым влияние условий содержания и использования кормов на данные показатели.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка особенностей изменения морфологической картины крови мышей – опухоленосителей карциномы Эрлиха при разных, удовлетворяющих требованиям проведения эксперимента, ее биологических моделях.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу выполнили на самках аутбредных мышей ICR разведения вивария Института биоорганической химии НАН Беларуси и самцах инбредных мышей линии Af 2–3-месячного возраста, массой $20,0 \pm 2,0$ г с соблюдением принципов биоэтики [11–13]. Животные находились в стационарных условиях вивариев при температуре $22 \pm 1,0$ °C со свободным доступом к воде и пище.

Для перевивки использовали гипердиплоидный штамм аденокарциномы Эрлиха [14]. Количество клеток вычисляли в камере Горяева [15].

Экспериментальные группы сформировали следующим образом:

- группа 1 – половозрелые (2–2,5 месяца, масса тела $20 \text{ г} \pm 10\%$) самки аутбредных мышей ICR. Моделирование АКЭ проводили внутрибрюшинным введением клеток аденокарциномы Эрлиха (в/б), $n=20$;
- группа 2 – половозрелые (2–2,5 месяца, масса тела $20 \text{ г} \pm 10\%$) самки аутбредных мышей ICR. Моделирование СКЭ проводили подкожным введением клеток аденокарциномы Эрлиха (п/к), $n=20$;
- группа 3 – половозрелые (2–2,5 месяца, масса тела $20 \text{ г} \pm 10\%$) самцы инбредных мышей Af. Моделирование СКЭ проводили путем подкожной инъекции клеток аденокарциномы Эрлиха (п/к), $n=20$.

Поддержание опухолевой линии осуществляли на мышах линии ICR путем перевивки неразведенного асцита, забранного от животного-донора и инъецируемого животному-реципиенту с интервалом в 9–11 сут. Инокуляцию опухоли мышам групп № 1–2 проводили в разведенном до концентрации 2×10^6 клеток виде, вводили в объеме 0,2 мл стерильного 0,9%-го изотонического раствора натрия хлорида (Институт биоорганической химии НАН Беларуси). Для группы № 3 асцит получали из брюшной полости мышей прошлой генерации опухолей после ее внутрибрюшинной прививки в дозе 6 млн клеток на мышь. Асцит забирали от животных на 12-е сутки роста опухоли. Полученный биоматериал перевивали подкожно в подлопаточную область спины мышей Af путем введения 2×10^6 клеток опухолевой взвеси в объеме 0,2 мл, свежезабранной из брюшной полости (Институт физиологии НАН Беларуси).

Кровь забирали из лицевой вены мышей в пробирки с ЭДТА K2: первый раз до инокуляции клеток аденокарциномы Эрлиха (у интактных животных); второй раз (точка «после») – у этих же животных на 14-е сутки после начала биомоделирования патологического процесса. Гематологические показатели определяли на автоматическом анализаторе URIT VET3000 Plus (URIT Medical Electronic Group Co., Ltd, Китай). Гематологический статус оценивали по следующим показателям: количество лейкоцитов (WBC); количество эритроцитов (RBC); концентрация гемоглобина (HGB); гематокрит (HCT); среднеклеточный объем эритроцита (MCV); среднеклеточный объем гемоглобина (MCH); среднеклеточная концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC); распределение эритроцитов по объему (RDW_CV); распределение эритроцитов по объему, стандартное отклонение (RDW_SD); количество тромбоцитов (PLT); MPV – средний объем тромбоцитов; распределение тромбоцитов по объему (PDW); тромбоцитокрит (PCT); коэффициент больших/крупных тромбоцитов (P_LCR); количество больших/крупных тромбоцитов (P_LCC).

Для подсчета лейкоцитарной формулы окрашенные по Романовскому – Гимзе [16] мазки крови просматривали на световом микроскопе LEICA DM2500 (Leica



Microsystems CMS GmbH, Германия). Изучали количество лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов, сегментоядерных нейтрофилов, палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов, базофилов.

Данные анализировали в Excel, статистическую обработку проводили с использованием пакета программ Statistica. Нормальность распределения выборки определяли критерием Шапиро – Уилка. Поскольку данные имели непараметрическое распределение, статистическую обработку проводили с использованием t-критерия Вилкоксона для зависимых выборок. Результаты между независимыми выборками (группы 1–2) анализировали с помощью критерия Манна – Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 и 2 представлены данные, полученные после обработки гематологических показателей мышей экспериментальных групп. В модели АКЭ у самок мышей через 14 суток после инокуляции клеток аденокарциномы Эрлиха наблюдали достоверные отличия следующих гематологических показателей: RBC, HGB, HCT, MCHC, RDW_CV, PLT, MPV, PDW (табл. 1). Через 14 суток после моделирования СКЭ у самок мышей ICR отметили достоверные изменения в уровнях MCV, MCHC, RDW_CV, MPV, PDW, P_LCR и P_LCC (табл. 1), а у самцов мышей Af: MCV, MCH, MCHC, RDW_CV, MPV, PDW и PCT (табл. 2).

Сравнительный анализ количества эритроцитов (RBC) и концентрации гемоглобина (HGB) позволил установить достоверное их снижение на 14-е сутки в модели АКЭ в среднем в 1,3 раза ($p < 0,05$) у самок мышей. В случае моделирования СКЭ подобного эффекта в этот же временной период не установлено. Следует отметить, что и ксенотрансплантация аденокарциномы Эрлиха в модели СКЭ у самцов другой линии также не сопровождалась влиянием на уровень эритроцитов.

У самок мышей-опухоленосителей в модели АКЭ отмечено достоверное снижение гематокрита (HCT) в 1,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с моделью СКЭ. У самцов линии Af на 14-е сутки после подкожного применения аденокарциномы Эрлиха также отсутствовали значимые изменения уровня гематокрита.

Среднеклеточные объемы эритроцитов (MCV) на 14-е сутки после ксенотрансплантации СКЭ как у самок, так и у самцов мышей значимо снижались. В модели АКЭ у самок мышей отмечена тенденция к изменению данного показателя.

У самок аутбредных мышей инокуляция опухоли на 14-е сутки не приводила к изменениям среднеклеточного объема гемоглобина (MCH), в то время как у инбредных самцов регистрировали значимое его снижение в модели СКЭ ($с\ 17,08 \pm 0,25$ Пг до $16,45 \pm 0,60$ Пг, $p < 0,05$).

К 14-м суткам в модели СКЭ у самцов мышей регистрировали снижение ($p < 0,05$) среднеклеточной концентрации гемоглобина в эритроцитах (MCHC), а у самок в моделях АКЭ и СКЭ, наоборот, фиксировали значимый прирост данного показателя ($p < 0,05$).

Распределение эритроцитов по объему (RDW_CV) у самок мышей к 14-м суткам после моделирования АКЭ и СКЭ имело достоверные превышения по отношению к интактному контролю. При этом в модели СКЭ этот показатель был значимо ниже, чем в модели АКЭ. Для самцов мышей-опухоленосителей RDW_CV также возрастал ($с\ 11,76 \pm 0,52\%$ до $12,59 \pm 0,60\%$, $p < 0,05$).

К 14-м суткам в модели АКЭ количество тромбоцитов (PLT) снижалось ($p<0,05$), при этом в модели СКЭ показатель был близок к норме как у самок ICR, так и у самцов Af.

Средний объем тромбоцитов (MPV) и распределение тромбоцитов по объему (PDW) в исследуемый период развития опухолевого процесса значимо возрастали во всех трех экспериментальных группах ($p<0,05$). При этом тромбоцитокрит (PCT) к 14-м суткам превышал норму интактных только в крови самцов мышей линии Af в модели СКЭ.

Коэффициенты отношения объема крупных тромбоцитов ко всему объему тромбоцитов (P_LCR) и количество крупных тромбоцитов (P_LCC) достоверно повышались ($p<0,05$) на 14-е сутки регистрации у самок мышей только при СКЭ.

К 14-м суткам в модели АКЭ количество тромбоцитов (PLT) снижалось ($p<0,05$), при этом в модели СКЭ показатель был близок к норме как у самок ICR, так и у самцов Af.

Средний объем тромбоцитов (MPV) и распределение тромбоцитов по объему (PDW) в исследуемый период развития опухолевого процесса значимо возрастали во всех трех экспериментальных группах ($p<0,05$). При этом тромбоцитокрит (PCT) к 14-м суткам превышал норму интактных только в крови самцов мышей линии Af в модели СКЭ.

Таким образом, установлена зависимость изменений гематологических показателей крови у самок мышей-опухоленосителей от способа ксенотрансплантации

Таблица 1
Оценка гематологических показателей мышей-самок ICR до (интактные) и через 14 суток после внутрибрюшинной (АКЭ) или подкожной (СКЭ) инокуляции клеток аденокарциномы Эрлиха
Table 1
Evaluation of hematological parameters of female ICR mice before (intact) and 14 days after intraperitoneal (EAC) or subcutaneous (ESC) inoculation of Ehrlich adenocarcinoma cells

Показатель	Ед. изм.	Интактные n=20	АКЭ на 14-е сутки	Интактные n=20	СКЭ на 14-е сутки
RBC	10 ¹² /л	10,09±0,43	7,24±1,25*	9,65±0,80	9,58±0,95 [#]
HGB	г/л	159,33±9,03	121,44±20,34*	161,64±10,52	159,07±13,10 [#]
HCT	%	58,97±3,57	41,16±7,57*	58,26±3,96	56,45±4,96 [#]
MCV	Фл	58,52±3,28	57,89±3,16	60,59±3,65	58,97±3,46*
MCH	Пг	16,20±0,66	16,77±0,94	16,75±1,16	16,60±1,03
MCHC	г/л	271,00±3,28	295,56±6,31*	274,51±5,53	282,51±11,95*. [#]
RDW_CV	%	11,51±0,93	13,27±1,48*	11,70±1,04	12,32±1,19*. [#]
RDW_SD	Фл	32,22±1,60	33,44±1,85	33,17±2,38	32,65±2,19
PLT	10 ⁹ /л	1170,22±133,27	966,67±72,71*	1193,87±189,13	1142,74±244,58 [#]
MPV	Фл	4,62±0,25	5,32±0,49*	4,71±0,33	4,98±0,48*. [#]
PDW	Фл	5,37±0,30	6,09±0,48*	5,48±0,49	5,90±0,83*
PCT	%	0,52±0,05	0,52±0,07	0,55±0,08	0,56±0,11
P_LCR	%	1,69±1,01	3,42±1,08	2,02±1,04	3,00±1,87*
P_LCC	10 ⁹ /л	20,00±16,19	32,67±9,66	22,39±10,05	32,46±20,59*

Примечания: * различия статистически значимы в сравнении с соответствующими показателями у данных животных до инокуляции АКЭ ($p<0,05$, t-критерий Вилкоксона); [#] различия статистически значимы между независимыми группами (критерий Манна – Уитни, $p<0,05$).



Таблица 2
Оценка гематологических показателей мышей-самцов линии Af до (интактные) и через 14 суток подкожной (СКЭ) инокуляции клеток аденокарциномы Эрлиха
Table 2
Evaluation of hematological parameters of Af male mice before (intact) and after 14 days of subcutaneous (ESC) inoculation of Ehrlich adenocarcinoma cells

Показатель	Ед. изм.	Интактные мыши	СКЭ на 14-е сутки
		n=20	
RBC	10 ¹² /л	9,96±0,74	9,97±1,28
HGB	г/л	170,60±13,39	164,80±24,58
HCT	%	57,48±4,74	56,28±7,86
MCV	Фл	57,70±0,92	56,43±1,26*
MCH	Пг	17,08±0,25	16,45±0,60*
MCHC	г/л	296,50±3,53	292,10±3,37*
RDW_CV	%	11,76±0,52	12,59±0,60*
RDW_SD	Фл	31,64±1,07	31,67±1,48
PLT	10 ⁹ /л	1117,50±135,19	1268,90±305,91
MPV	Фл	5,24±0,39	5,40±0,38*
PDW	Фл	6,15±1,03	6,66±0,75*
PCT	%	0,57±0,07	0,67±0,13*
P_LCR	%	5,10±1,73	5,05±1,63
P_LCC	10 ⁹ /л	56,05±18,39	59,90±12,56

Примечание: * различия статистически значимы в сравнении с соответствующими показателями у данных животных до инокуляции АКЭ (p<0,05, t-критерий Вилкоксона).

аденокарциномы Эрлиха. Отмечены независимые от пола и вида животных изменения показателей клеточного состава крови на 14-е сутки после моделирования СКЭ: MCV, RDW_CV, MPV, PDW. Выделены независимые ни от вида, ни от пола, ни от способа инокуляции клеток аденокарциномы Эрлиха изменения исследуемых параметров внутренней среды организма: RDW_CV, MPV, PDW.

Выполнили анализ общего количества лейкоцитов и их дифференциальных форм в трех экспериментальных группах. Результаты суммированы в табл. 3 и 4.

Более чем втроекратный прирост (p<0,05) количества лейкоцитов у самок в модели АКЭ и в 1,5 раза (p<0,05) в модели СКЭ и отсутствие значимого эффекта у самцов в модели СКЭ свидетельствуют о большей чувствительности к ксенотрансплантации аденокарциномы Эрлиха у самок мышей линии ICR (табл. 3, 4).

Прирост количества лейкоцитов в модели АКЭ произошел вследствие резкого – в три раза (p<0,05) повышения уровня нейтрофилов на фоне значимого падения количества лимфоцитов (табл. 3). Причем сегментоядерные нейтрофилы становились преобладающей фракцией (p<0,05) к 14-м суткам развития АКЭ, прирост палочко-ядерных нейтрофилов менее выражен, но имел статистическую значимость (p<0,05, табл. 3). В случае моделирования СКЭ уровень лейкоцитов повысился вследствие увеличения числа моноцитов в 1,5 раза (p<0,05, табл. 3).

В модели СКЭ у самцов линии Af к 14-м суткам развития опухолевого процесса снизилось число лимфоцитов, возросло количество нейтрофилов, особенно среди их палочкоядерной фракции, а также повысился уровень эозинофилов (p<0,05, табл. 4).

Таблица 3
Оценка общего количества лейкоцитов и их дифференциальных форм у мышей-самок ICR до (интактные) и через 14 суток после внутрибрюшинной (АКЭ) или подкожной (СКЭ) инокуляции клеток аденокарциномы Эрлиха
Table 3
Evaluation of the total number of leukocytes and their differential forms in female ICR mice before (intact) and 14 days after intraperitoneal (EAC) or subcutaneous (ESC) inoculation of Ehrlich adenocarcinoma cells

Показатель	Ед. изм.	Интактные	АКЭ на 14-е сутки	Интактные	СКЭ на 14-е сутки
		n=20		n=20	
Лейкоциты	10 ⁹ /л	8,66±2,73	28,46±5,49*	10,72±2,60	15,73±4,62*,#
Лимфоциты	%	61,00±9,54	18,00±9,42*	62,51±11,28	62,38±11,12 [#]
	10 ⁹ /л	5,19±1,62	4,97±2,32	6,72±2,19	9,82±3,46*,#
Моноциты	%	6,44±4,36	5,78±2,33	4,95±3,07	7,59±4,81*
	10 ⁹ /л	0,51±0,35	1,67±0,81*	0,52±0,32	1,18±1,01*,#
Нейтрофилы	%	23,89±12,40	73,67±9,04*	25,84±11,56	23,10±8,91 [#]
	10 ⁹ /л	2,18±1,55	21,12±5,02*	2,77±1,44	3,60±1,84*,#
Сегментоядерные нейтрофилы	%	20,22±9,90	68,00±11,81*	21,13±9,99	17,79±7,55 [#]
	10 ⁹ /л	1,87±1,32	19,58±5,55*	2,26±1,23	2,79±1,53*
Палочкоядерные нейтрофилы	%	3,67±2,50	5,67±6,86	4,70±3,42	5,31±3,38
	10 ⁹ /л	0,31±0,22	1,54±1,74*	0,51±0,40	0,80±0,53*
Эозинофилы	%	8,67±4,44	2,56±1,24*	6,69±4,02	6,93±4,04 [#]
	10 ⁹ /л	0,77±0,50	0,69±0,31	0,72±0,47	1,13±0,81*
Базофилы	%	0	0	0	0
	10 ⁹ /л	0	0	0	0

Примечания: * различия статистически значимы в сравнении с соответствующими показателями у данных животных до инокуляции АКЭ (p<0,05, t-критерий Вилкоксона); # различия статистически значимы между независимыми группами (критерий Манна – Уитни, p<0,05).

Таблица 4
Оценка общего количества лейкоцитов и их дифференциальных форм у мышей-самцов линии Af до (интактные) и через 14 суток подкожной (СКЭ) инокуляции клеток аденокарциномы Эрлиха
Table 4
Evaluation of the total number of leukocytes and their differential forms in Af male mice before (intact) and after 14 days of subcutaneous (ESC) inoculation of Ehrlich adenocarcinoma cells

Показатель	Ед. изм.	Интактные мыши	СКЭ на 14-е сутки
		n=20	
Лейкоциты	10 ⁹ /л	8,10±2,41	9,62±2,77
Лимфоциты	%	64,65±8,77	45,85±17,87*
	10 ⁹ /л	5,29±1,73	4,18±1,75*
Моноциты	%	5,05±3,30	3,80±2,88
	10 ⁹ /л	0,42±0,36	0,35±0,28
Нейтрофилы	%	27,80±7,24	46,05±19,10*
	10 ⁹ /л	2,18±0,79	4,70±3,06*
Сегментоядерные нейтрофилы	%	20,75±6,45	22,45±18,54
	10 ⁹ /л	1,61±0,62	2,37±2,33
Палочкоядерные нейтрофилы	%	7,05±1,96	23,60±7,96*
	10 ⁹ /л	0,57±0,24	2,32±1,31*
Эозинофилы	%	2,50±1,67	4,25±2,83
	10 ⁹ /л	0,21±0,16	0,39±0,26*
Базофилы	%	0	0
	10 ⁹ /л	0	0

Примечание: * различия статистически значимы в сравнении с соответствующими показателями у данных животных до инокуляции АКЭ (p<0,05, t-критерий Вилкоксона).



Таким образом, ксенотрансплантация аденокарциномы Эрлиха мышам независимо от пола, вида животного и от способа моделирования (АКЭ или СКЭ) сопровождается изменением количества лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов и не влияет на уровень базофилов (табл. 3, 4).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка гематологических показателей крови у лабораторных мышей – опухоленосителей аденокарциномы Эрлиха имеет важное значение в обосновании биомоделей опухолевых процессов для разработки адекватных способов лечения, выбора лекарственных субстанций, способных повлиять на систему крови. Приведены гематологические показатели, включающие развернутую лейкоцитарную формулу, мышей разных полов и видов, а также вне зависимости от способа инокуляции клеток аденокарциномы Эрлиха. Подытоживая результаты, следует отметить, что исследуемая агрессивная опухоль при ксенотрансплантации к 14-м суткам развития ее у мышей влияет на: распределение эритроцитов по объему, средний объем тромбоцитов, распределение тромбоцитов по объему, количество лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов – и не оказывает влияния только лишь на уровень базофилов в крови.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Kholodenko I., Doronin I., Kholodenko R. Tumor models in the study of cancer. *Immunology*. 2013;5:282–286. (in Russian)
2. Pobylzhin V., Pashinskaya Ye., Goncharov A. Methodological aspects of setting up oncological models in experimental conditions. *Bulletin of Vitebsk State Medical University*. 2018;17(6):32–45. (in Russian)
3. Ozaslan M., Karagoz I.D., Guldur M.E. Ehrlich ascites carcinoma. *Afr. J. Biotech.* 2011;10(13):2375–2378.
4. Gol'dberg V., Matyash M. Modern achievements of drug therapy of malignant neoplasms. *Biul. SO RAMN*. 2004;2:36–40.
5. Imbaby S., Elkholi Sh.E., Faisal S., Elaidy S.M. The GSTP1/MAPKs/BIM/SMAC modulatory actions of nitazoxanide: Bioinformatics and experimental evidence in subcutaneous solid Ehrlich carcinoma-inoculated mice. *Life Sci*. 2023;319:121496. doi: 10.1016/j.lfs.2023.121496.
6. Pozdnyak L., Chernov A., Potkin V. Comparative evaluation of the cytotoxic effects of 4,5-dichloroisothiazole-3-carboxylic acid, cisplatin and their combination on Ehrlich's ascitic carcinoma cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. *Medical Sciences Series*. 2014;1:46–51. (in Russian)
7. El-Ashmawy N.E., El-Zamarany E.A., Khedr N.F. Blocking of The Prostaglandin E2 Receptor as a Therapeutic Strategy for Treatment of Breast Cancer: Promising Findings in a Mouse Model. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2022;23(11):3763–3770. doi: 10.31557/APJCP.2022.23.11.3763
8. Hassan E.S.E., Abdelfattah M.S., Moneim A.E.A. Evaluation of the antineoplastic property of prodigiosins and 5-fluorouracil in restraining the growth of Ehrlich solid tumors in mice. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2022;29(55):83723–83732. doi: 10.1007/s11356-022-21678-w.
9. Zidan A., El Saadany A.A., Hedyia S.E. Potential cardioprotective and anticancer effects of carvedilol either free or as loaded nanoparticles with or without doxorubicin in solid Ehrlich carcinoma-bearing mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2023;465:116448. doi: 10.1016/j.taap.2023.116448
10. Utkusavas A., Gurevin E.G., Armutak E.I. Effects of combined administration of doxorubicin and chloroquine on lung pathology in mice with solid Ehrlich ascites carcinoma. *Biotech Histochem*. 2022;97(8):555–566. doi: 10.1080/10520295.2022.2036369.
11. Lipatov V., Severinov D., Saakyan A. Ethical and legal aspects of conducting experimental biomedical research in vivo. Part I. *Russian Biomedical Bulletin named after Academician I.P. Pavlova*. 2019;27(1):80–92. doi: 10.23888/PAVLOVJ201927180-92 (in Russian)
12. Lipatov V., Severinov D., Saakyan A. Ethical and legal aspects of conducting experimental biomedical research in vivo. Part II. *Russian Biomedical Bulletin named after Academician I.P. Pavlova*. 2019;27(2):245–257. doi: 10.23888/PAVLOVJ2019272245-257 (in Russian)
13. Makarov V., Shestakov V. *Consultant GLP-Planet 2022. Opinion of the pharmaceutical industry*. St. Petersburg: NPO "HOUSE OF PHARMACY"; 2022. 248 p. (in Russian)
14. Pogoyants Ye., Kiselova N. Transplantable tumor strains created in the USSR and maintained at the Institute of Experimental and Clinical Oncology of the USSR Academy of Medical Sciences. *Issues of oncology*. 1963;9(8):103–106. (in Russian)
15. Men'shikova V. *Laboratory research methods in the clinic*. Directory. M., Medicine; 1987. 368 p. (in Russian)
16. Giemsa G. A simplification and perfection of my methylene azure-methylene blue-eosin staining method to achieve Romanowsky-Nocht chromatin staining. *Centralbl f Bakt etc: magazine*. 1904;37:308–311. (in German)