

3. Адашкевич В. П., Козин В. М. Кожные и венерические болезни. М.: Мед. лит., 2009. [Adaskevich V. P., Kozin V. M. Kozhnye i venericheskiye bolezni. M.: Med. lit., 2009. (In Russ)].
4. Jungfer B., Jansen T., Przybilla B., Plewig G. Solid persistent facial edema of acne: Successful treatment with isotretinoin and ketotifen. *Dermatology*. 1993;187:34-37. <https://doi.org/10.1159/000247194>
5. Renieri G., Brochhausen C., Pfeiffer N., Pitz S. Chronic eyelid oedema and rosacea (Morbus Morbihan): diagnostic and therapeutic challenges [in German]. *Klin. Monbl. Augenheilkd.* 2011;228(1):19-24. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1245960>
6. Чеботарев В. В., Одинец А. В., Шиханова Е. Н. Болезнь Морбигана. *Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии*. 2010;5:64-66. [Chebotarev V. V., Odinets A. V., Shikhanova E. N. *Sovremennye problemy dermatovenerologii, immunologii i vrachebnoy kosmetologii*. – *Modern problems of dermatovenerology, immunology and medical cosmetology*. 2010;5:64-66. (In Russ)].
7. Hu S. W., Robinson M., Meehan S. A., Cohen D. E. Morbihan disease. *Dermatol. Online J.* 2012;18:27-27.
8. Nagasaka T., Koyama T., Matsumura K., Chen K. R. Persistent lymphoedema in Morbihan disease: formation of perilymphatic epithelioid cell granulomas as a possible pathogenesis. *Clin. Exp. Dermatol.* 2008;33(6):764-767. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2230.2008.02892.x>
9. Wohlrab J., Lueftl M., Marsch W. C. Persistent erythema and edema of the midthird and upper aspect of the face (morbus Morbihan): evidence of hidden immunologic contact urticaria and impaired lymphatic drainage. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2005;52(4):595-602. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2004.08.061>
10. Cribier B. Physiopathologie de la rosacée. *Ann. Dermatol. Venereol.* 2014;141(Suppl 2):S158-64. [https://doi.org/10.1016/S0151-9638\(14\)70153-X](https://doi.org/10.1016/S0151-9638(14)70153-X)
11. Vasconcelos R. C., Eid N. T., Eid R. T., Moriya F. S., Braga B. B., Michalany A. O. Morbihan syndrome: a case report and literature review. *An. Bras. Dermatol.* 2016;91(5 Suppl 1):157-159. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20164291>
12. Witz L., Shapiro M. S., Shenkman L. Chlorpromazine induced fluid retention masquerading as idiopathic edema. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)* 1987;294:807-808. <https://doi.org/10.1136/bmj.294.6575.807>
13. Friedland S., Kaplan S., Lahav M., Shapiro A. Proptosis and periorbital edema due to diltiazem treatment. *Arch. Ophthalmol.* 1993;111:1027-1028. <https://doi.org/10.1001/archophth.1993.01090080023010>
14. Bernardini F. P., Kersten C., Khouri L. M. Chronic eyelid lymphedema and acne rosacea: report of two cases. *Ophthalmology* 2000;107:2220. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(00\)00429-2](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(00)00429-2)
15. Денисова Е. В., Колдарова Э. В., Качанова Н. В., Плиева К. Т., Корсунская И. М. Болезнь Морбигана: тяжелая форма розацеа. *Consilium Medicum. Дерматология (Прул.)*. 2016;4:15-17. [Denisova E. V., Koldarova E. V., Kachanova N. V. [et al.] Morbihan disease: a severe form of rosacea. *Consilium Medicum. Dermatology (Suppl.)*. 2016;4:15-17. (In Russ)].
16. Mazzatenta C., Giorgino G., Rubegni P., de Aloe G., Fimiani M. Solid persistent facial edema (Morbihan's disease) following rosacea, successfully treated with isotretinoin and ketotifen. *Br. J. Dermatol.* 1997;137:1020.
17. Jungfer B., Jansen T., Przybilla B., Plewig G. Solid persistent facial edema of acne: successful treatment with isotretinoin and ketotifen. *Dermatology*. 1993;187:34. <https://doi.org/10.1159/000247194>
18. Helander I., Aho H. J. Solid facial edema as a complication of acne vulgaris: treatment with isotretinoin and clofazimine. *Acta Derm. Venereol.* 1987;67:535.
19. Bechara F. G., Jansen T., Losch R., Altmeyer P., Hoffmann K. Morbihan's disease: treatment with CO2 laser blepharoplasty. *J. Dermatol.* 2004;31:113. <https://doi.org/10.1001/archdermatol.2012.3109>

#### Сведения об авторе

Дрождина Марианна Борисовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры дерматовенерологии и косметологии; тел.: 89128276252; e-mail: drozhhdina@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2020  
УДК 616-006.04-576.5: 57.084.5  
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15034>  
ISSN 2073-8137

## ОРТОТОПИЧЕСКИЕ КСЕНОГРАФТЫ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА: ИСТОРИЯ, ТЕХНОЛОГИИ, ДОСТИЖЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ

О. И. Кит, Г. В. Жукова, А. Ю. Максимов, А. С. Гончарова, Э. Е. Росторгуев, А. И. Жадобина, И. А. Попов, Е. Ю. Златник

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт,  
Ростов-на-Дону, Российская Федерация

## ORTHOTOPIC GRAFTS OF HUMAN MALIGNANT GLIOMAS: HISTORY, TECHNOLOGIES, ACHIEVEMENTS AND PROBLEMS

Kit O. I., Zhukova G. V., Maximov A. Yu., Goncharova A. S., Rostorguev E. E., Zhadobina A. I., Popov I. A., Zlatnik E. Yu.

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

В обзоре обсуждаются вопросы, связанные с использованием ортотопических ксенографтов глиальных опухолей человека в исследованиях *in vivo*, их значением для фундаментальной и клинической онкологии, степенью соответствия особенностей роста и морфогенеза характеристикам исходных опухолей. Обозначены основные результаты ранее проведенных экспериментальных исследований, обеспечившие возможность изучения глиальных опухолей чело-

века на животных моделях. Охарактеризованы основные технологии получения ксенографтов злокачественных глиом, предусматривающие использование постоянных клеточных культур, а также культур клеток, полученных из биопсийного материала. Рассмотрены особенности техники ортотопической трансплантации глиальных опухолей человека иммунодефицитным животным и способы неинвазивного контроля их развития. Обсуждаются проблемы и перспективы данного направления с акцентом на использование стволовых опухолевых клеток и преодоление ограничений, обусловленных иммунодефицитным состоянием животных моделей.

*Ключевые слова:* глиальные опухоли мозга человека, ортотопическая ксенотрансплантация, ксенографты, опухолевые стволовые клетки, иммунодефицитные животные

Problems of the development of human malignant gliomas` orthotopic grafts for in vivo studies, taking into account their significance for fundamental and clinical oncology, the degree to which growth characteristics and morphogenesis correspond to the characteristics of the initial tumors are discussed. Main results of previous experimental research providing the possibilities of studying of human gliomas in animal models are highlighted. Modern technologies of human malignant glioma grafts production based on cell culture lines as well as on short-termed cell cultures derived from patients` biopsy material are analyzed. Technical aspects of orthotopic transplatnation of human malignant gliomas to immunodeficient animals and methods of non-invasive control of their growth are characterized. Problems and perspectives of the research trend are discussed emphasizing possible application of tumor stem cells for the modeling and overcoming the limitations related to the immunodeficiency state of experimental animals.

*Keywords:* human malignant gliomas, orthotopic xenotransplatnation, grafts, tumor stem cells, immunodeficient animals

**Для цитирования:** Кит О. И., Жукова Г. В., Максимов А. Ю., Гончарова А. С., Росторгуев Э. Е., Жадобина А. И., Попов И. А., Златник Е. Ю. ОРТОТОПИЧЕСКИЕ КСЕНОГРАФТЫ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА: ИСТОРИЯ, ТЕХНОЛОГИИ, ДОСТИЖЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020;15(1):133-139. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15034>

**For citation:** Kit O. I., Zhukova G. V., Maximov A. Yu., Goncharova A. S., Rostorguev E. E., Zhadobina A. I., Popov I. A., Zlatnik E. Yu. ORTHOTOPIC GRAFTS OF HUMAN MALIGNANT GLIOMAS: HISTORY, TECHNOLOGIES, ACHIEVEMENTS AND PROBLEMS. *Medical News of North Caucasus*. 2020;15(1):133-139. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15034> (In Russ.)

ЦНС – центральная нервная система

**В**едущее место злокачественных глиом в структуре нейроонкологических заболеваний, высокая частота рецидивов и низкая выживаемость больных (не более 1,5 лет в большинстве случаев) определяют особую актуальность исследования механизмов развития этих опухолей и разработки эффективных способов лечения [1, 2]. Более чем за полувековую историю экспериментальных исследований были созданы многочисленные экспериментальные модели, в разной степени воспроизводящие особенности роста и морфогенеза, а также чувствительность к действию лечебных факторов, характерные для злокачественных глиом человека [3]. Ксенографты опухолей мозга человека, ортотопически трансплантированные лабораторным животным, рассматриваются многими авторами как наилучшие из разработанных к настоящему времени моделей для изучения патогенеза опухоли и доклинических испытаний новых противоопухолевых средств [4–6]. Это обусловлено адекватным микроокружением ксенографта, обеспечивающим развитие процессов, аналогичных происходящим в головном мозге человека при росте опухоли и противоопухолевых воздействиях. Основными вехами в развитии экспериментального моделирования глиальных опухолей человека считают успешные трансплантации в иммунопривилегированные органы животных [7], получение постоянных, иммортализованных культур клеток глиом животных и человека [8], открытие и характеризацию бесстимульных голых мышей (нудов) [9], а также создание модели инфильтративной опухоли мозга мышей-нудов на основе биопсийного сфероиды человека [10].

В то же время имеются серьезные проблемы, обусловленные существенным отклонением условий, в которых развиваются ксенографты в мозге иммунодефицитных животных, от функционального состояния мозга и организма пациента с глиальной опухолью [3, 11, 12]. Это требует дальнейшего совершенствования экспериментальных моделей, а также корректных подходов к интерпретации и использованию результатов, полученных на иммунодефицитных животных.

#### **1. Животные, используемые при изучении ксенографтов глиальных опухолей человека**

В настоящее время в экспериментальных исследованиях используют более 30 различных линий голых мышей с Т-клеточным дефицитом, в том числе ряд мышей с комбинированным дефицитом – SCID (тяжелый комбинированный иммунодефицит), NOD-SCID (тяжелый комбинированный иммунодефицит на фоне диабета), а также бежевых мышей с двойным дефицитом по Т- и НК-клеткам [13]. В последние годы при разработке эффективных методов визуализации ортотопических ксенотрансплантатов глиом и других опухолей человека начали активно использовать бестимульных крыс-нудов [14, 15]. Выбор иммунодефицитных животных конкретной линии зависит от цели и задач исследования, а также доступности экспериментальной модели.

#### **2. Основные технологии получения ксенографтов глиальных опухолей человека для экспериментальных исследований**

При формировании опухолей путем ксенотрансплантации могут быть использованы как ранее созданные иммортализованные культуры клеток глиальных опухолей человека, так и материал, полученный при биопсии опухолей конкретных пациен- тов.

### 2.1. Особенности экспериментальных моделей на основе постоянных клеточных линий

Работы по созданию постоянных клеточных линий глиом человека были проведены в 70-х годах прошлого века путем пассирования монослойных культур в питательных средах с добавлением сыворотки [16]. Внутримозговая инокуляция суспензии клеток таких культур иммунодефицитным животным приводит к развитию опухолей, демонстрирующих экспансивный рост с тяжами инвазии, направленными в основном в периваскулярное пространство. К преимуществам моделей на основе постоянных клеточных линий относятся устойчивый прогнозируемый рост и прогрессирование заболевания, а также возможность получения неограниченного количества клеток для экспериментального использования.

Основным и принципиальным недостатком моделей на основе постоянных клеточных линий является генотипическое и фенотипическое отклонение от исходной опухоли пациента. Было показано, что только одна из семи клеток человеческих глиобластом, серийно трансплантированных голым мышам, сохраняет свои хромосомные профили [17]. Оказалось, что клональный отбор и генетический дрейф происходят во время адаптации опухолевых клеток к условиям роста в монослойной культуре. В результате для ксенографтов на основе таких культур, развивающихся *in vivo*, в отличие от глиобластом человека, истинная инвазия, некрозы и микрососудистые аномалии, характерные для человеческих глиом высокой степени злокачественности (грэйд III, IV), не являются распространенным явлением. Таким образом, из-за геномных и транскриптомных отклонений от характеристик исходных опухолей человека постоянные клеточные линии не могут рассматриваться в качестве оптимального материала для моделей глиальных опухолей человека [3, 17]. При этом они вполне могут быть использованы для решения отдельных методических задач [18].

### 2.2. Модели с использованием биопсийных сфероидов

При воспроизведении модели с использованием биопсийных сфероидов материал, полученный при биопсии, измельчают и переносят в чашки, содержащие поверхность, покрытые агаром, и стандартную среду с добавлением сыворотки для создания первичной культуры. В этих условиях в течение короткого времени образуются многоклеточные сфероидальные агрегаты. При этом такие сфероиды поддерживают оригинальную тканевую архитектуру с эндотелиальными наростами, внеклеточными компонентами матрикса хозяина и резидентными макрофагами [19]. Другие сохраненные признаки родительской опухоли *in situ* включают ploидность ДНК, профили ряда маркеров и такой же процент пролиферирующих клеток [20]. При ортотопической трансплантации биопсийные сфероиды демонстрируют диффузную инфильтрацию, а также инвазивные характеристики исходной опухоли, и в ходе повторных циклов трансплантации накапливают другие гистологические признаки, характерные для глиом человека (индукция ангиогенеза, микрососудистые пролиферации и проч.) [3].

В то же время темпы развития перевитого ксенотрансплантата и выживаемость животных могут различаться для разных исходных опухолей [10, 21]. При этом в некоторых случаях латентный период развития опухоли может длиться до 1 года [20]. Ксенотрансплантаты, полученные от разных пациентов, могут иметь различные морфологические особенности, обусловленные сроками инициации ангиогенеза и генотипическими различиями [3].

### 2.3. Гетеро-ортотопические модели ксенотрансплантатов глиальных опухолей человека

В настоящее время наиболее распространен гетеро-ортотопический подход к моделированию роста злокачественных глиом, как обеспечивающий высокую воспроизводимость и небольшой латентный период развития опухоли. На первом этапе, после создания первичной культуры в форме сфероидов или монослоев, трансплантацию биоптатов человека производят в боковую поверхность тела иммунодефицитных мышей [22, 23]. Такие ксенотрансплантаты можно легко серийно пассировать у животных.

Второй этап заключается в интракраниальной перевивке опухоли. Перед перевивкой ткань подкожного трансплантата механически измельчают и полученную суспензию клеточных агрегатов пропускают через фильтр для получения моноклеточной суспензии [24]. Количество вводимых клеток зависит от нейроанатомической локализации зоны предполагаемого развития опухоли и обычно составляет  $5 \times 10^4$  клеток для стволовых структур и  $3-5 \times 10^5$  клеток – для супратенториальных структур мозга. При этом следует иметь в виду, что формирование опухоли в головном мозге животного определяется не общим числом перевитых клеток, а достаточным количеством стволовых клеток глиальной опухоли пациента, обладающих онкогенными свойствами. Так, было показано, что  $10^2$  стволовых клеток опухолей мозга человека вполне достаточно для развития опухоли у животных, в то время как  $10^5$  других клеток той же опухоли были не способны инициировать рост ксенотрансплантата [25].

Интракраниальное введение клеток глиом предполагает трепанацию черепа и использование стереотаксической установки [13, 26]. В то же время имеются оригинальные модификации, обеспечивающие хороший результат при минимизации использованных средств. Так, сотрудниками отдела нейрохирургии Калифорнийского университета был разработан протокол, предусматривающий экономичную и рациональную процедуру, выполняемую оперативно, без трепанации и применения стереотаксической установки [24]. При этом отверстие в черепе получали путем прокалывания кости иглой 25 калибра, а при введении суспензии клеток в качестве ограничителя глубины инъекции использовали трехмиллиметровую часть наконечника дозатора.

При осуществлении ортотопической трансплантации опухоли большое значение имеет соблюдение установленного режима введения клеток опухоли в мозг животного. Превышение рекомендованных объемов и скорости введения и/или не выдерживание паузы после введения может привести к рефлюксу опухолевых клеток через канал иглы и экзофитному росту опухоли [13, 24, 26]. При этом обращает на себя внимание широкий разброс временных параметров, которых придерживаются разные авторы. Так, в уже упомянутом протоколе сотрудников Калифорнийского университета речь идет о введении суспензии клеток объемом 3 мкл в течение 1 минуты с последующей паузой также в течение 1 минуты и медленным извлечением иглы из ткани мозга [24]. В работе бразильских исследователей суспензию клеток в том же объеме (3 мкл) и на ту же глубину (3 мм) вводили уже в течение 30 минут [26]. В этом случае использовали стереотаксическую установку. Оптимизацию алгоритма ортотопической трансплантации ксенографтов глиальных опухолей человека иммунодефицитным животным связывают с совершенствованием техники введения опухолевых клеток. При этом делается акцент на методы, которые позволяют доставлять изме-

ренные с высокой точностью одинаковые объемы клеточных суспензий в точно определенные локусы мозга при постоянных скоростях и давлении [4].

Показано, что гетеро-ортопический метод трансплантации обеспечивает значительное сходство ксенографта с опухолями человека по целому ряду молекулярно-генетических и морфологических признаков [27]. Вместе с тем довольно часто наблюдаются и отклонения от характеристик исходных опухолей, заключающиеся в отсутствии участков некроза и признаков пролиферации эндотелиальных клеток, характерных для глиальных опухолей человека. По мнению ряда исследователей, это может быть связано с относительно небольшим размером опухоли, ограниченным мозгом мыши, и для решения проблемы следует провести аналогичные эксперименты на мозге более крупного животного – например, бестимусной голрой крысы [3].

### **3. Методы оценки динамики развития ортопических ксенографтов**

Внутричерепная локализация ксенотрансплантата исключает возможность контроля роста опухоли посредством прямого измерения, поэтому большое значение приобретает вопрос об адекватных способах оценки динамики опухолевого процесса. С этой целью применяют различные методы визуализации – магнитно-резонансную томографию (МРТ) [18, 26, 28], компьютерную томографию (КТ) [29–31], а также метод биоломинесцентной визуализации, основанный на модификации клеток опухоли, обеспечивающей возможность экспрессии ими люциферазы [24, 32]. Кроме того, в последние годы с той же целью совершенствуются методы позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), для разработки которых активно используют иммунодефицитных крыс-нудов [14, 15].

В настоящее время метод биоломинесцентной визуализации часто рассматривается в качестве оптимального варианта по сочетанию чувствительности, целесообразности и стоимости. Показано, что модификация опухолевых клеток и экспрессия ими люциферазы заметно не влияет на ростовые свойства опухолевых клеток, обеспечивает эффективный биоломинесцентный мониторинг роста ксенотрансплантатов и при объединении результатов биоломинесцентной визуализации с анализом выживаемости животных позволяет получить объективную оценку эффективности противоопухолевой терапии в эксперименте [24, 32]. В то же время установками для компьютерной томографии исследовательские медицинские центры, как правило, оснащены заметно лучше, чем аппаратурой для биоломинесцентной визуализации. Еще недавно это мало что меняло, поскольку для работы с мелкими животными требовались специальные сканеры – микро-КТ. Немецкие исследователи попытались изменить ситуацию, продемонстрировав возможность использования *клинических* КТ-сканеров для визуализации и анализа роста опухоли головного мозга у мышей [31].

### **4. Некоторые результаты изучения ортопических ксенографтов глиальных опухолей человека у иммунодефицитных мышей**

Представляют интерес те фундаментальные и прикладные вопросы, к решению которых удалось приблизиться в ходе экспериментов с использованием ортопических ксенографтов глиальных опухолей человека. Уже на ранних этапах развития данного направления были получены сведения об эффективности ряда препаратов, подтвержденные в дальнейшем результатами клинических испытаний. Так, в экспериментах на мышах-нудах была показана высокая чувствительность интракраниальных ксенографтов чело-

веческой глиомы к кормустину и отсутствие эффекта при действии прокарбазина [33]. Действительно, в настоящее время производные нитрозомочевины, в том числе кормустин, применяются при лечении глиом высокой степени злокачественности (грэйд III, IV) [34, 35], тогда как прокарбазин используют в терапии нейро- и медуллобластом [36].

Как было отмечено выше, даже наиболее распространенные мышинные модели, полученные в результате гетеро-ортопической трансплантации глиальных опухолей человека, часто не отображают такое важное свойство этих опухолей, как способность к гиперваскуляризации в сочетании с обширной инвазией [3]. Для решения проблемы используют модификацию постоянных и краткосрочных культур глиобластом человека, затрагивающую сигнальные пути, актуальные для патогенеза глиом высоких грэйдов. Так, хорошо известно, что система матриксных металлопротеиназ включена в процессы инвазивного роста и метастазирования злокачественных опухолей [37]. Была изучена ортопическая ксеногенная модель глиальной опухоли человека, экспрессирующая одну из высокомолекулярных металлопротеиназ [38]. Было выявлено значительное сходство характеристик этой модели с фенотипическими характеристиками глиобластом человека. Результаты исследования позволили получить новые сведения о патогенезе злокачественных глиом человека и предложить перспективную модель для тестирования антиинвазивных и антиангиогенных факторов. Полученный результат нашел продолжение в более поздних исследованиях, продемонстрировавших усиление эффекта комбинированного лечения глиобластом с помощью радиотерапии и темозоломида путем подавления экспрессии металлопротеиназ [39].

В настоящее время достижения в области генной инженерии открывают новые возможности использования моделей ортопических ксенографтов глиальных опухолей человека для разработки эффективных методов лечения глиом высокой степени злокачественности [40]. Было показано, что стволовые клетки глиобластом имеют молекулярные признаки нетрансформированных нейрональных стволовых клеток и глиальных клеток-предшественников и могут быть размножены в определенной, свободной от питательных веществ, адгезивной культуре [41]. Были накоплены и каталогизированы сведения о генетических и эпигенетических нарушениях в глиомах человека, которые могут влиять на патогенез этих опухолей и чувствительность к действию противоопухолевых факторов [42, 43]. Кроме того, была создана уникальная технология редактирования генома CRISPR/Cas [44]. Таким образом, были сформированы предпосылки для разработки моделей ксенографтов на основе модифицированных стволовых клеток глиом человека, способных воспроизводить или, напротив, блокировать определенные генетические и эпигенетические нарушения, что должно значительно ускорить выявление высокоэффективных средств для лекарственного лечения глиобластом [40].

### **5. Перспективы и проблемы использования моделей ксенографтов глиальных опухолей человека в исследованиях *in vivo***

Перспективы исследований ксенотрансплантатов глиом человека, на наш взгляд, должны обсуждаться в комплексе с целым рядом актуальных фундаментальных, прикладных и технических проблем, от решения которых зависит дальнейшее развитие данного направления. Так, остается открытым вопрос о выборе локуса в пределах опухоли пациента, откуда целесо-

образно забирать материал для ксенотрансплантации. Большое значение данного вопроса обусловлено выраженной структурной и молекулярно-генетической гетерогенностью глиобластом, что приводит к чрезвычайно неравномерному распределению стволовых клеток в пределах опухоли (особенно, в случае мультиформной глиобластомы) [45].

К числу мало изученных фундаментальных вопросов следует отнести вопрос о нейроно-глиальных отношениях при различном характере роста ксенографтов в организме иммунодефицитных животных, а также при различной степени отклонений характеристик ксенотрансплантатов от соответствующих показателей в исходной опухоли. Актуальность данного вопроса обусловлена тем, что глиальные опухоли рассматриваются как системное заболевание ЦНС, патогенез которого в значительной степени связан с нарушением межклеточных взаимодействий [46, 47].

Несмотря на достоинства рассматриваемых экспериментальных моделей, позволивших существенно расширить наши представления о биологии глиом и разработать эффективные методы лечения, неизбежно возникает вопрос об их несоответствии тем реальным условиям, в которых развиваются глиальные опухоли у человека. Это несоответствие обусловлено, прежде всего, иммунодефицитным состоянием животных, изменением характеристик исходной опухоли в организме животных, её чувствительности к химиопрепаратам, а также различиями в метаболизме и фармакокинетике лекарственных веществ у людей и используемых животных [3, 12, 48].

В связи с активной разработкой методов иммунотерапии опухолей ЦНС [49–51] особую актуальность приобретает вопрос об иммунодефицитном состоянии животных с ортотопическими ксенографтами глиальных опухолей человека. Как известно, мозг является иммунопривилегированным органом, вследствие наличия гематоэнцефалического барьера. В то же время мозг обладает собственной иммунной системой, включающей клетки микро- и астроглии, а также макрофаги, NK-клетки и небольшие популяции Т- и В-лимфоцитов [52, 53]. Была показана неоднозначная роль элементов иммунной системы мозга в онкогенезе, в частности обратимое проопухолевое и иммуносупрессивное влияние микроглии и макрофагов [37, 54]. При этом были выявлены Т-зависимые виды проопухолевой активности микроглии [44], элементы которой могут вести себя подобно опухолюсоциированным макрофагам М2-типа, но только при наличии Т-лимфоцитов [51, 53, 54]. Существование таких реакций, в частности, обусловило один парадоксальный феномен. Он заключается в отторжении в мозге мышей-нудов детских глиом низкой степени злокачественности и даже некоторых сингенных стволовых клеток, не отторгаемых иммунокомпетентными мышами, которое обусловлено Т-клеточным дефицитом бестимусных мышей-нудов [12].

Таким образом, состояние иммунодефицитных животных ограничивает не только их использование в качестве модели при разработке методов актив-

ной иммунотерапии глиом, но и возможности этих моделей в исследованиях патогенеза и биологии глиальных опухолей человека. При этом методы гуманизации, основанные на индукции человеческого гемопоэза в организме иммунодефицитных животных, пока не могут обеспечить полноценное приживание и функционирование иммунных клеток человека [55]. Данное обстоятельство заставляет обратить внимание на исследования, в рамках которых разрабатываются иммунокомпетентные экспериментальные модели.

Так, группой сотрудников ведущих отечественных научных центров впервые была предложена модель, которая демонстрирует возможность изучения биологии опухоли и реакции на терапию у животных с полноценной иммунной системой [18]. Авторам удалось добиться развития ксенографтов на основе культур глиальных опухолей человека у половозрелых крыс-самок Wistar. При этом результаты гистологического и иммуногистохимического анализов свидетельствовали о значительном сходстве растущих ксенотрансплантатов с глиальными опухолями человека. Несколько позже аналогичный результат был продемонстрирован бразильскими исследователями на половозрелых мышцах-самцах линии Swiss [26]. При этом были использованы культуры, полученные из биопсийного материала человеческого глиом. В 2018 году вышла работа американских биологов, которые показали возможность развития другой человеческой опухоли, меланомы, в организме мышей с полноценной иммунной системой при перевивке опухоли на этапе эмбриогенеза и повторной инъекции опухолевых клеток новорожденным животным [56].

Результаты, представленные разными группами исследователей, свидетельствуют о возможности расширения арсенала моделей и методов экспериментального изучения ортотопических ксенографтов глиальных опухолей человека и преодоления ограничений, обусловленных искусственно измененным состоянием животных.

**Заключение.** Ксенографты глиальных опухолей человека, ортотопически трансплантированные иммунодефицитным животным, рассматриваются в качестве наиболее подходящей из разработанных к настоящему времени экспериментальных моделей для изучения злокачественных глиом и доклинических испытаний новых лечебных технологий. В ходе многолетних исследований ксенографтов опухолей человека и параллельного развития методов иммунотерапии опухолей все более четко определяются как перспективы, так и ограничения данного направления, обусловленные иммунологической неполноценностью животных моделей. Это требует корректировки методических и клинических задач, которые могут быть решены в рамках изучения процессов у иммунодефицитных животных, а также развития новых направлений, предусматривающих использование иммунокомпетентных моделей.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

### Литература/References

1. Каприн А. Д., Мардынский Ю. С. Терапевтическая радиология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. [Kaprin A. D., Mardynskij Yu. S. Terapevticheskaya radiologiya. M.: GEOTAR-Media, 2018. (In Russ.)].
2. Bernstein M., Berger M. S. Neuro-Oncology: The Essentials. New York: Thieme, 2014.
3. Huszthy P. C., Daphu I., Niclou S. P., Stieber D., Nigro J. M. [et al.]. In vivo models of primary brain tumors: pitfalls

and perspectives. *Neuro Oncol.* 2012;14(8):979-993. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nos135>

4. Pierce A. M., Keating A. K. Creating anatomically accurate and reproducible intracranial xenografts of human brain tumors. *J. Vis. Exp.* 2014;(91):e52017. <https://doi.org/10.3791/52017>
5. Izumchenko E., Paz K., Ciznadija D., Sloma I., Katz A. [et al.]. Patient-derived xenografts effectively capture

- responses to oncology therapy in a heterogeneous cohort of patients with solid tumors. *Ann. Oncol.* 2017;0:1-11. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx416>
6. Wang H., Cai Sh., Bailey B. J., Saadatzadeh M. R., Ding J. [et al.]. Combination therapy in a xenograft model of glioblastoma: enhancement of the antitumor activity of temozolomide by an MDM2 antagonist. *J. Neurosurgery.* 2017;126(2):446-459. <https://doi.org/10.3171/2016.1.JNS152513>
  7. Greene H. S. The significance of the heterologous transplantability of human cancer. *Cancer.* 1952;5(1):24-44. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(195201\)5:1<24::AID-CNCR2820050106>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/1097-0142(195201)5:1<24::AID-CNCR2820050106>3.0.CO;2-O) (перекрестная ссылка).
  8. Ponten J., Macintyre E. H. Long term culture of normal and neoplastic human glia. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1968;74(4):465-486. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1968.tb03502.x>
  9. Festing M. F., May D., Connors T. A., Lovell D., Sparrow S. An athymic nude mutation in the rat. *Nature (London).* 1978;274:365-366. <https://doi.org/10.1038/274365a0>
  10. Engebraaten O., Hjortland G. O., Hirschberg H., Fodstad O. Growth of precultured human glioma specimens in nude rat brain. *J. Neurosurg.* 1999;90(1):125-132. <https://doi.org/10.3171/jns.1999.90.1.0125>
  11. Kerbel R. S. Human tumor xenografts as predictive preclinical models for anticancer drug activity in humans: better than commonly perceived-but they can be improved. *Cancer Biol. Ther.* 2003;2(4 suppl 1):134-139. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14508091>. Accessed November 23, 2018.
  12. Pan Yu., Xiong M., Chen R. Ma Yu, Corman C., Maricos M. [et al.]. Athymic mice reveal a requirement for T-cell-microglia interactions in establishing a microenvironment supportive of Nf1 low-grade glioma growth. *Genes & Development.* 2018;32:491-496. <https://doi.org/10.1101/gad.310797.117>
  13. Hua Ch., Jun D., Qiang H. Xenograft Model of Human Brain Tumor – Current and Emerging Therapeutic Strategies, *Ana L. Abujamra, Intech Open.* 2011. Available at: <https://www.intechopen.com/books/brain-tumors-current-and-emerging-therapeutic-strategies/xenograft-model-of-human-brain-tumor>. Accessed December 12, 2018. <https://doi.org/10.5772/21395>
  14. Buck J. R., McKinley E. T., Fu A., Abel T. W., Thompson R. C. [et al.]. Preclinical TSPO ligand PET to visualize human glioma xenotransplants: A preliminary study. *PLoS One.* 2015;10(10):e0141659. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141659>
  15. Isal S., Pierson J., Imbert, L., Clement A., Charlotte Collet Ch. [et al.]. PET imaging of (68)ga-NODAGA-RGD, as compared with (18)F-fluorodeoxyglucose, in experimental rodent models of engrafted glioblastoma. *EJNMMI Research.* 2018;8(1):51. <https://doi.org/10.1186/s13550-018-0405-5>
  16. Westphal M., Meissner H. Establishing human glioma-derived cell lines. *Methods Cell. Biol.* 1998;57:147-165. [https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(08\)61576-9](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(08)61576-9)
  17. Clark M. J., Homer N., O'Connor B. D., Chen Z., Eskin A. [et al.]. Correction: U87MG Decoded: The Genomic Sequence of a Cytogenetically Aberrant Human Cancer Cell Line. *PLoS Genet.* 2018;14(5):e1007392. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007392>
  18. Baklaushev V. P., Kavsan V. M., Balynska O. V., Balynska O. V., Yusubalieva G. M. [et al.]. New Experimental Model of Brain Tumors in Brains of Adult Immunocompetent Rats. *British Journal of Medicine & Medical Research.* 2012;(2):206-215. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7815>
  19. Bjerkvig R., Tonnesen A., Laerum O. D., Backlund E. O. Multicellular tumor spheroids from human gliomas maintained in organ culture. *J. Neurosurg.* 1990;72(3):463-475. <https://doi.org/10.3171/jns.1990.72.3.0463>
  20. Wang J., Miletic H., Sakariassen P. O., Huszthy P. C., Jacobsen H. [et al.]. A reproducible brain tumour model established from human glioblastoma biopsies. *BMC Cancer.* 2009;9:465. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-9-465>
  21. Sakariassen P. O., Prestegarden L., Wang J., Skafnesmo K. O., Mahesparan R. [et al.]. Angiogenesis-independent tumor growth mediated by stem-like cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2006;103(44):16466-16471. <https://doi.org/10.1073/pnas.0607668103>
  22. Miyai M., Tomita H., Soeda A., Yano H., Iwama T., Harara A. Current trends in mouse models of glioblastoma. *J. Neurooncol.* 2017;135(3):423-432. <https://doi.org/10.1007/s11060-017-2626-2>
  23. Carlson B. L., Pokorny J. L., Schroeder M. A., Sarkaria J. N. Establishment, maintenance and in vitro and in vivo applications of primary human glioblastoma multiforme (GBM) xenograft models for translational biology studies and drug discovery. Current protocols in pharmacology. editorial board, S. J. Enna (editor-in-chief). Chapter 14. Unit 14.16. 2012. <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph1416s52>
  24. Ozawa T., James C. D. Establishing intracranial brain tumor xenografts with subsequent analysis of tumor growth and response to therapy using bioluminescence imaging. *Journal of Visualized Experiments.* 2010;(41):e1986. <https://doi.org/10.3791/1986>
  25. Singh S. K., Hawkins C., Clarke I. D., Squire J. A., Bayani J. [et al.]. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature.* 2004;432(7015):396-401. <https://doi.org/10.1038/nature03128>
  26. Garcia C., Dubois L. G., Xavier A. L., Geraldo L. H., da Fonseca A. C. [et al.]. The orthotopic xenotransplant of human glioblastoma successfully recapitulates glioblastoma-microenvironment interactions in a non-immunosuppressed mouse model. *BMC Cancer.* 2014;14:923. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-923>
  27. Giannini C., Sarkaria J. N., Saito A., Uhm, J. H., Galanis E. [et al.]. Patient tumor EGFR and PDGFRA gene amplifications retained in an invasive intracranial xenograft model of glioblastoma multiforme. *Neuro Oncol.* 2005;7(2):164-176. <https://doi.org/10.1215/S1152851704000821>
  28. Завьялов Е. Л., Разумов И. А., Герлинская Л. А., Ромащенко А. В. In vivo МРТ-визуализация динамики развития глиобластомы U87 в модели ортотопической ксенотрансплантации мышам линии SCID. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2015;19(4):460-465. [Zavjalov E. L., Razumov I. A., Gerlinskaya L. A., Romashchenko A. V. In vivo MRI visualization of growth and morphology in the orthotopic xenotransplantation U87 glioblastoma mouse SCID model. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii.* – *Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2015;19(4):460-465. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.18699/J15.061>
  29. Wathen C. A., Foje N., van Avermaete T., Miramontes B., Chapaman S. E. [et al.]. In vivo X-Ray Computed Tomographic Imaging of Soft Tissue with Native, Intravenous, or Oral Contrast. *Sensors.* 2013;13(6):6957-6980. <https://doi.org/10.3390/s130606957>
  30. Kirschner S., Felix M. C., Hartmann L., Bierbaum M., Maros M. E. [et al.]. In vivo micro-CT imaging of untreated and irradiated orthotopic glioblastoma xenografts in mice: capabilities, limitations and a comparison with bioluminescence imaging. *J. Neurooncol.* 2015;122(2):245-254. <https://doi.org/10.1007/s11060-014-1708-7>
  31. Kirschner S., Mürle B., Felix M., Arns A., Christoph Groden C. [et al.]. Imaging of Orthotopic Glioblastoma Xenografts in Mice Using a Clinical CT Scanner: Comparison with Micro-CT and Histology. *PLoS One.* 2016;11(11):e0165994. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165994>
  32. Clark A. J., Fakurnejad S., Ma Q., Hashizume R. Bioluminescence Imaging of an Immunocompetent Animal Model for Glioblastoma. *J. Vis. Exp.* 2016;107:e53287. <https://doi.org/10.3791/53287>
  33. Houchens D. P., Ovejera D. P., Riblet S. M., Slagel D. E. Human brain tumor xenografts in nude mice as a chemotherapy model. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 1983;19(6):799-805. [https://doi.org/10.1016/0277-5379\(83\)90012-3](https://doi.org/10.1016/0277-5379(83)90012-3)
  34. RUSSCO. Практические рекомендации. Версия 2014. [RUSSCO. Practical recommendations. Version 2014. Available at: <https://rosoncweb.ru/standarts/RUSSCO/2014/06.pdf>. Accessed December 21, 2018. (In Russ.)].
  35. RUSSCO. Практические рекомендации. Версия 2018 [RUSSCO. Practical recommendations. Version 2018. Available at: <https://rosoncweb.ru/standarts/RUSSCO/2018/2018-06.pdf>. Accessed December 21, 2018. (In Russ.)].
  36. Solimando D. A., Waddell J. A. Procarbazine, Lomustine, and Vincristine (PCV) Regimen for Central Nervous

- System Tumors. *Hosp. Pharm.* 2017;52(2):98-104. <https://doi.org/10.1310/hpj5202-98>
37. Pytliak M., Vargova V., Mechirová V. Matrix Metalloproteinases and Their Role in Oncogenesis: A Review. *Onkologie.* 2012;35(1-2):49-53. <https://doi.org/10.1159/000336304>
38. Zhao Yu., Xiao A., di Pierro C. G., Carpenter J. E., Abdel-Fattah R. [et al.]. An Extensive Invasive Intracranial Human Glioblastoma Xenograft Model. *The American Journal of Pathology.* 2010;176(6):3032-3049. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090571>
39. Уласов И. В., Каверина Н. В., Кадагидзе З. Г., Барышников А. Ю. Подавление экспрессии клеточной металлопротеиназы тип 14 усиливает противоопухолевый эффект темозоломида и ионизирующей радиации в клетках глиобластомы человека. *Российский биотерапевтический журнал.* 2015;14(2):53-58. [Ulasov I. V., Kaverina N. V., Kadagidze Z. G., Baryshnikov A. Y. Inhibition of mt1-mmp (mmp14) improves ant-glioma effect of combination: temozolomide-ionizing radiation in the glioblastoma cancer cells. *Rossysky bioterapevtichesky zhurnal. – Russian Journal of Biotherapy.* 2015;14(2):53-58. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2015-14-2-53-58>
40. O'Duibhir E., Carragher N. O., Pollard S. M. Accelerating glioblastoma drug discovery: Convergence of patient-derived models, genome editing and phenotypic screening. *Mol. Cell. Neurosci.* 2016;80:198-207. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2016.11.001>
41. Lathia J., Mack S., Mulkearns-Hubert E., Valentim C. L. L., Rich J. N. Cancer stem cells in glioblastoma. *Genes Dev.* 2015;29(12):1203-1217. <https://doi.org/10.1101/gad.261982.115>
42. Brennan C. W., Verhaak R. G. W., McKenna A., Campos B., Nounshmehr H. [et al.]. The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell.* 2013;155:462-477. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.034>
43. Sturm D., Witt H., Hovestadt V., Khuong-Quang D. A., Jones D. T. [et al.]. Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma. *Cancer Cell.* 2012;22:425-437. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.08.024>
44. Ran F. N., Hsu P. D., Wright J., Agarwala V., Scott D. A., Zhang F. Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. *Nature Protocol.* 2013;8:2281-2308. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.143>
45. Rispoli R., Conti C., Celli P., Caroli E., Carletti S. Neural Stem Cells and Glioblastoma. *Neuroradiol. J.* 2014;27(2):169-174. <https://doi.org/10.15274/NRJ-2014-10028>
46. Кириченко Е. Ю., Жукова Г. В., Григоров С. В., Гранкина А. О., Атамачиди Д. П. Особенности экспрессии коннексина-36 и некоторых нейроглиальных антигенов в астроцитарных опухолях головного мозга. *Архив патологии.* 2015;77(3):23-29. [Kirichenko E. Yu., Zhukova G. V., Grigorov S. V., Grankina A. O., Atmachidi D. P. The expression of connexin 36 and some neuroglial antigens in human brain astrocytic tumors of different grades. *Arkhiv patologii. – Archive of Pathology.* 2015;77(3):23-29. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/ptol201577323-29>
47. Grek C. L., Sheng Z., Naus C. C., Sin W. C., Gourdie R. G., Ghatnekar G. G. Novel approach to temozolomide resistance in malignant glioma: connexin43-directed therapeutics. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2018;41:79-88. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2018.05.002>
48. Ben-David U., Gavin Ha G., Tseng Y., Greenwald N. F., Oh C. [et al.]. Patient-derived xenografts undergo mouse-specific tumor evolution. *Nature Genetics.* 2017;49(11). <https://doi.org/10.1038/ng.3967>
49. Яшин К. С., Медяник И. А. Иммуноterapia злокачественных опухолей головного мозга (обзор). *Современные технологии в медицине.* 2014;6(4):189-200. [Yashin K. S., Medyanik I. A. Brain Cancer Immunotherapy (Review). *Sovremennye tehnologii v medicine. – Modern technology in medicine.* 2014;6(4):189-200. Available at: <https://readera.ru/immunoterapija-zlokachestvennyh-opuholej-golovnogo-mozga-obzor-14316850>. Accessed December 15, 2018. (In Russ.)].
50. Lim M., Xia Y., Bettgowda C., Weller M. Current state of immunotherapy for glioblastoma. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2018;15(7):422-442. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0003-5>
51. Lee J., Dang X., Borboa A., Coimbra R., Baird A., Eliceiri B. P. Thrombin-processed Ecrg4 recruits myeloid cells and induces antitumorogenic inflammation. *Neuro-Oncology.* 2015;17(5):685-696. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou302>
52. Сепиашвили Р. И., Малашкия Ю. А. Мозг – один из центральных органов иммунной системы. *Аллергология и иммунология.* 2015;16(1):8-13. [Sepiashvili R. I., Malashkhia Yu. A. Brain as one of the main organs of the immune system. *Allergologiya i immunologiya. – Allergology and Immunology.* 2015;16(1):8-13. Available at: [https://elibrary.ru/download/elibrary\\_23561280\\_30669076.pdf](https://elibrary.ru/download/elibrary_23561280_30669076.pdf). Accessed December 18, 2018. (In Russ.)].
53. Hambardzumyan D., Gutmann D. H., Kettenmann H. The role of microglia and macrophages in glioma maintenance and progression. *Nature neuroscience.* 2016;19(1):20-27. <https://doi.org/10.1038/nn.4185>
54. Wei J., Gabrusiewicz K., Heimberger A. The Controversial Role of Microglia in Malignant Gliomas. *Clinical and Developmental Immunology.* 2013;1-12. <https://doi.org/10.1155/2013/285246>
55. De La Rochere P., Guil-Luna S., Decaudin D., Azar G., Sidhu S. S., Piaggio E. Humanized Mice for the Study of Immuno-Oncology. *Trends in Immunology.* 2018;39(9):748-763. <https://doi.org/10.1016/j.it.2018.07.001>
56. Basel M. T., Narayanan S., Ganta C., Marquez A., Pyle M. Developing a Xenograft Human Tumor Model in Immunocompetent Mice. *Cancer Letters.* 2018;412(1):256-263. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.10.009>

### Сведения об авторах:

Кит Олег Иванович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор; тел.: (863)2001000; e-mail: oncosekretar@list.ru

Жукова Галина Витальевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник; тел.: 89081942999; e-mail: galya\_57@mail.ru

Максимов Алексей Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора; тел.: (863)2001000; e-mail: rnioi@list.ru

Гончарова Анна Сергеевна, кандидат биологических наук, руководитель ИЛЦ; тел.: 89034049593; e-mail: fateyeva\_a\_s@list.ru

Росторгуев Эдуард Евгеньевич, кандидат медицинских наук, врач-нейрохирург, заведующий отделением нейроонкологии; тел.: (863)2001000 (194); e-mail: rostorguev@icloud.com

Жадобина Анастасия Ивановна, младший научный сотрудник; тел.: 89286242727; e-mail: ai2727@yandex.ru

Попов Иван Александрович, врач-аспирант; тел.: 89515080080; e-mail: popov\_ivan777@rambler.ru

Златник Елена Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей; тел.: 89612726968; e-mail: elena-zlatnik@mail.ru, rnioi@list.ru