

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-1-82-93>

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ, ИНДУЦИРОВАННОГО ФОРМАЛИНОМ, НА РАЗВИТИЕ ОПУХОЛИ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ КРЫС

Г.В. Жукова*, А.И. Шихлярова, Т.П. Протасова, Е.А. Лукбанова, Е.В. Заикина,
А.В. Волкова, Д.В. Ходакова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России
344037, Российская Федерация, Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63

Целью работы стало изучение влияния хронического воспаления, индуцированного формалином, на развитие злокачественных опухолей в зоне, удаленной от очага воспаления, и продолжительность жизни белых беспородных крыс-опухоленосителей.

Эксперименты проводили на 29-ти белых беспородных половозрелых крысах-самцах, разделенных на 3 группы: контрольную, группу с введением воды и основную группу с введением формалина. Водный раствор формалина или воду в том же объеме вводили в область левого голеностопного сустава трижды до трансплантации карциномы Герена через 4 недели после первого введения. Оценивали динамику размеров опухолей, продолжительность жизни животных, выраженность отека, содержание лейкоцитов в крови, общую двигательную активность (тест «Открытое поле»). При статистическом анализе использовали программный пакет «Statistica 6», а также тест Крускала—Уоллиса и критерий Данна.

Введение формалина ускоряло рост опухоли у большинства животных. Несмотря на это, в 50% случаев наблюдалось увеличение продолжительности жизни по сравнению с максимальным показателем в контрольной группе. Гибель таких животных часто наступала при более значительных размерах опухоли, чем у крыс контрольной группы. Выявлены особенности воспалительной реакции и динамики двигательной активности до формирования опухоли, характерные для животных, отличавшихся продолжительностью жизни. При введении воды отмечена сходная направленность изменений изученных показателей при меньшей выраженности воспалительной реакции и боли, чем при введении формалина. Обозначены возможные механизмы «устойчивости» организма к росту опухоли при развитии хронического воспаления.

Впервые показано разнонаправленное влияние воспаления, индуцированного формалином, на опухолевый процесс: ускорение роста опухоли у большинства белых беспородных крыс-самцов при одновременном повышении продолжительности жизни у части таких животных и единичных случаях торможения роста опухоли. Открыт вопрос о механизмах «устойчивости» к росту опухоли при развитии воспаления. Результаты представляют интерес в связи с актуальностью вопроса о влиянии на онкогенез воспалительных патологий костно-мышечной системы.

Ключевые слова: формалин, воспаление, злокачественные опухоли, продолжительность жизни, двигательная активность, хроническая боль

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа не спонсировалась, проведена при поддержке ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону.

Для цитирования: Жукова Г.В., Шихлярова А.И., Протасова Т.П., Лукбанова Е.А., Заикина Е.В., Волкова А.В., Ходакова Д.В. Особенности влияния хронического воспаления, индуцированного формалином, на развитие опухоли и продолжительность жизни белых беспородных крыс. *Биомедицина*. 2021;17(1):82–93. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-1-82-93>

Поступила 19.04.2020

Принята после доработки 21.12.2020

Опубликована 10.03.2021

IMPACT OF CHRONIC FORMALIN-INDUCED INFLAMMATION ON TUMOUR DEVELOPMENT AND LONGEVITY IN WHITE OUTBRED RATS

Galina V. Zhukova*, Alla I. Shikhlyarova, Tatiana P. Protasova, Ekaterina A. Lukbanova, Ekaterina V. Zaikina, Anastasiya V. Volkova, Darya V. Khodakova

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health care of Russia
344037, Russian Federation, Rostov-on-Don, 14 Liniya Street, 63

The work aimed to investigate the impact of chronic formalin-induced inflammation on the remote malignancy development and longevity in white outbred tumour-bearing rats.

Experiments were conducted with 29 white outbred mature male rats divided in three groups: a control, water-injection and main formalin-injection group. Aqueous formaldehyde or same water volume were injected into left ankle joint thrice prior to Guerin's carcinoma transplantation, 4 weeks past the first injection. The tumour size dynamics, longevity, oedema severity, blood leucocyte count and overall motor activity were estimated with an Open Field test. Statistical analysis was performed with Statistica 6 using the Kruskal—Wallis and Dunn's test criteria.

Formalin administration accelerated the tumour growth in most animals. Nevertheless, longevity increased relative to the control's maximum in 50% cases. Lethality in such cases was often registered with larger tumours relative to the control group. The pre-tumour traits of inflammatory response and motor dynamics in longer-lived animals have been revealed. A similar trend was registered in water administration trials at a less pronounced inflammatory and algetic response relative to the formalin trials. Putative chronic inflammation-associated mechanisms of anti-tumour resistance have been proposed.

A multidirectional effect of formalin-induced inflammation on tumourigenesis is shown for the first time: a prevailing tumour growth acceleration at higher longevity with seldom tumour inhibition cases in white outbred male rats. The mechanisms of inflammation-associated anti-tumour resistance require further research. The results relate to the known effect of musculoskeletal inflammatory conditions on tumourigenesis.

Keywords: formalin, inflammation, malignant tumors, longevity, motor activity, chronic pain

Conflict of interest: the authors declare no conflicts of interest.

Funding: the work had no sponsorship. It was carried out with the support of the National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health care of Russia, Rostov-on-Don.

For citation: Zhukova G.V., Shikhlyarova A.I., Protasova T.P., Lukbanova E.A., Zaikina E.V., Volkova A.V., Khodakova D.V. Impact of Chronic Formalin-Induced Inflammation on Tumour Development and Longevity in White Outbred Rats. *Journal Biomed.* 2021;17(1):82–93. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-1-82-93>

Submitted 19.04.2020

Revised 21.12.2020

Published 10.03.2021

Введение

Известно о влиянии воспалительного процесса на формирование «опухолевого поля», инициирующего злокачественный процесс [13]. Показана важная роль провоспалительных цитокинов в нарушении механизмов иммунного надзора, связанном с образованием пула опухолеассоциированных макрофагов вследствие изменения по-

ляризации этих клеток и проопухолевой перестройки их активности [3, 13]. Известно о снижении эффективности противоопухолевой химиотерапии и сокращении продолжительности жизни онкологических больных при воспалении, обусловленном самим опухолевым процессом [15]. В то же время недостаточно изучено влияние на злокачественный рост воспалительного процесса,

локализованного вне зоны развития новообразования, а также не связанного с опухолью системного воспаления, характерного для возрастных патологий костно-мышечной системы. Нуждается в выяснении вопрос о роли хронической боли как ведущего клинического проявления генерализованных воспалительных процессов в костно-мышечной системе (воспалительная боль) [16]. Только в последние годы появились сведения об изменении течения злокачественного процесса при развитии выраженной хронической боли нейрогенного происхождения [2]. Параллелизм возрастного увеличения частоты возникновения злокачественных опухолей и развития воспалительных процессов в костно-мышечной системе [6] определяет целесообразность исследования особенностей роста опухолей при формировании воспалительного синдрома.

Важный аспект рассматриваемой проблемы связан с индивидуальными особенностями регуляторных процессов различного уровня, которые могут модифицировать влияние эндогенных факторов на развитие опухоли у разных людей и животных [10, 17]. Это определяет целесообразность проведения ряда этапов исследований на беспородных животных, более близких к человеческой популяции по генетическому разнообразию и диапазону индивидуальных реакций по сравнению с линейными животными.

В литературе практически отсутствуют сведения об особенностях опухолевого роста и состояния животных-опухоленосителей при воспроизведении какой-либо модели воспалительного процесса и хронической воспалительной боли. Известно, что с помощью формалина, вводимого в разных режимах в апоневрозы или полость суставов конечностей лабораторных животных, можно получить экспериментальные модели острой и хронической воспалительной боли, воспалительного процесса, аналогичного артрит-

ту [4]. Так, в случае двукратной инъекции 2–5% р-ра формалина в объеме 0,1–0,2 мл с интервалом в 24 ч в суставной апоневроз задней конечности крыс или мышей последовательно возникают фазы острой и тонической боли, развивается выраженный отек конечности. Перечисленные события имеют динамику острого процесса и укладываются в интервал в 96 ч. По окончании указанного интервала в течение 4–4,5 недель происходит хронизация воспалительного процесса с формированием хронической боли и развитием структурных нарушений в зоне инъекций формалина, вплоть до необратимой деформации стоп и полной потери фаланг [4].

Целью исследования стало изучение влияния хронического воспаления, индуцированного формалином, на развитие перивитальных злокачественных опухолей в зоне, удаленной от очага воспаления, и продолжительность жизни белых беспородных крыс-опухоленосителей.

Материалы и методы

При проведении экспериментов соблюдали международные правила биоэтики. В эксперименте использовали 29 белых беспородных крыс-самцов массой 270–350 г, полученных из филиала «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская обл.). Возраст животных к началу эксперимента составлял 5–5,5 мес. В основную группу вошли 16 животных, получавших инъекции водного р-ра формалина. 7 самцов составили группу животных, которым вводили только воду в том же объеме и в те же сроки, что и р-р формалина в основной группе. Контрольная группа включала 6 крыс, не подвергавшихся дополнительным воздействиям, которым затем в те же сроки, что и животным остальных двух групп, трансплантировали опухоль. Крыс содержали в стандартных условиях вивария для конвенциональных животных.

За 4 недели до трансплантации опухоли крысам основной группы в область голеностопного сустава слева, дважды с интервалом в 48 ч, вводили 0,2 мл 2% водного р-ра формалина [4]. Для разведения формалина и контрольных инъекций использовали ампулированную воду. Третий раз введение повторяли через 4 недели, накануне перевивки опухоли. Выраженность отека определяли по толщине конечности, измеряемой штангенциркулем с цифровым отсчетным устройством ШЦЦ.01.001 ПС. Измерения проводили 4 раза в течение 10-ти дней после первого введения формалина или воды, начиная с первых суток, а также 4 раза в течение 10-ти дней после третьего введения, на начальном этапе формирования опухоли — всего 8 измерений. Для оценки выраженности отека вычисляли изменение толщины конечности (d) относительно значений показателя на предыдущем этапе — $\Delta\% = (d_n - d_{n-1}) / d_{n-1}$. Как известно, увеличение объема конечностей при пятидневном наблюдении после введения формалина приобретает устойчивый характер, и на 5–6 день наблюдается повторное увеличение размеров конечности («вторая волна») [4]. Для дополнительной оценки выраженности воспалительной реакции исходно, через 5–6 дней после первого введения формалина, перед третьим введением формалина (накануне трансплантации опухоли) и через 5–6 дней после него на гемоанализаторе «Exigo EOS vet» (Boule Medical, Швеция) определяли общее содержание лейкоцитов в крови. Забор крови осуществляли при ручной фиксации животного из подкожной вены, расположенной на медиальной поверхности бедра.

Для оценки состояния животных в стрессогенных условиях по двигательному компоненту эмоциональной реактивности применяли тест «Открытое поле», позволяющий определять общую двигательную активность животных, отражающую их типологические особенности и стрессо-

устойчивость [11]. Для этого использовали компьютеризированную установку «Открытое поле» TS0501 типа «ринг» (ООО «НПК Открытая наука», Московская обл.). Различные элементы двигательной активности фиксировали в течение 5-ти мин. Оценивали горизонтальную и вертикальную двигательную активность в целом, вычисляя показатель общей двигательной активности (ОДА) животных по формуле: $ОДА = ПКц + ПК2/3 + ПКп + Со + Сб/о$, где ПКц — число пересечений квадратов в центре; ПК2/3 — число пересечений квадратов во второй трети площади поля, ПКп — число пересечений квадратов на периферии, Со — число стоек с опорой на стену, Сб/о — число стоек без опоры на стену. При этом определяемые до начала эксперимента значения ОДА учитывали при распределении животных по группам для обеспечения межгруппового сходства в относительном числе крыс с «высокими», «умеренными» и «низкими» значениями показателя ОДА.

В качестве трансплантируемой опухоли использовали карциному Герена. Перевивку опухоли осуществляли по общепринятой методике [13]. Взвесь опухолевых клеток в физ. р-ре (1:2) в объеме 0,5 мл вводили в заднебоковую поверхность спины. В дальнейшем 2–3 раза в неделю оценивали динамику размеров опухолей, вычисляя их объем по формуле Шрека для эллипсоидов: $a \cdot b \cdot c \cdot \pi / 6$, где a, b и c — максимальные линейные размеры опухоли в трех взаимно перпендикулярных плоскостях. Для измерения линейных размеров опухоли так же, как и для определения толщины конечности, использовали штангенциркуль ШЦЦ.01.001 ПС. Продолжительность жизни (ПЖ) крыс определяли с момента трансплантации опухоли.

Эксперимент продолжался более 2,5 мес. — с первых инъекций формалина и воды до гибели последнего животного-опухоленосителя. При статистической

обработке полученных результатов использовали стандартный пакет программ «Statistica 6». Определяли характеристики распределения изученных показателей (размах, медиана, коэффициенты вариации, показатели асимметрии и эксцесса, χ^2 критерий согласия Пирсона), средние значения показателей с ошибкой среднего, доли (%). Использовали критерий Вилкоксона—Манна—Уитни, непараметрический тест Крускала—Уоллиса для трех групп с последующим попарным сравнением выборок с помощью критерия Данна [1]. Для связанных выборок использовали Z-критерий знаков. Статистически значимые отличия показателей, выраженных в процентах, от значений в контрольной группе выявляли с помощью варианта t-критерия для сравнения долей [5].

Результаты и их обсуждение

Как уже было отмечено, особенности воспалительной реакции и изменение показателя ОДА изучали до перевивки опухоли и на начальном этапе её формирования (10 дней). Исследование на более поздних этапах было менее информативным, поскольку закономерно возникала зависимость двигательной активности животных также и от размеров карциномы. Оценка показателя ОДА до начала эксперимента позволила выделить условные диапазоны «низкой» (15–30), «средней» (40–80) и «высокой» (90–110) двигательной активности, наличие которых учитывали при распределении животных по группам. При этом не менее половины крыс исследованных групп исходно демонстрировали «среднюю» ОДА. Так, в группе с введением формалина число таких особей составило 56% (9 из 16-ти). В целом количество животных с «высоким» и «низким» фоновым показателем ОДА было, соответственно, в 2 и 3,5 раза ниже, чем количество крыс со «средними» значениями данного показателя.

Введение 2% водного р-ра формалина и воды для инъекций, как правило, вызывало отек конечности в зоне введения. При анализе показателя $\Delta\%$, характеризовавшего изменение толщины конечности относительно предыдущего измерения, была определена область всех его значений, границами которой служили 2 и 90%. В пределах данной области были выделены 3 диапазона, условно соответствовавшие «слабой» (2–30%), «умеренной» (35–60%) и «выраженной» (65–90%) воспалительной реакции, отражавших степень изменения величины отека. Было отмечено, что при введении воды преобладала «слабая» реакция, отмеченная в 57% случаев, тогда как у животных, получавших формалин, «слабая» воспалительная реакция наблюдалась в 2,4 раза реже — только в 24% случаев ($p < 0,01$). Относительное число случаев развития «выраженной» реакции — 5 и 11% соответственно, при введении воды и формалина. Случаи развития «умеренной» реакции составили, соответственно, 38 и 64%. Таким образом, даже введение воды в 43% случаев приводило к «умеренной» и «выраженной» воспалительной реакции, оценивавшейся по нарастанию отека в зоне введения.

В отличие от крыс, получавших инъекции воды, у большинства животных основной группы с введением формалина через 3 недели после первых двух инъекций было отмечено значительное, в 2–6 раз, уменьшение показателя ОДА по сравнению с его исходными значениями (Z-критерий, $p < 0,05$; критерий Вилкоксона—Манна—Уитни, $p < 0,01$). При этом не наблюдалось заметной связи между степенью снижения значений ОДА и диапазоном, которому соответствовал показатель до начала эксперимента. Существенное преобладание межгруппового различия в изменении показателя ОДА над разницей между сравниваемыми группами по выраженности отека могло указывать на развитие хронической

Таблица 1. Объем карциномы Герена (см³) в разные сроки после трансплантации опухоли

Table 1. Guerin's carcinoma volume at various timepoints after tumour transplantation, cm³

Группы	2 недели	4 недели	5 недель
Контроль, n=6	19,0±3,1	61,1±5,4	87±8
Введение воды, n=7	19,6±4,1	86,2±11,0	123±1*
Введение формалина, n=16	25,5±2,3	89,0±10,0*	127±12*

Примечание: * — отличается от показателя в контрольной группе, $p < 0,05$, тест Крускала — Уоллиса, критерий Данна.

Note: * — significance vs. control group in Kruskal—Wallis and Dunn's tests, $p < 0.05$.

боли, усугубляющей негативное влияние формалина на состояние экспериментальных животных по сравнению с эффектами, производимыми введением воды.

В то же время результаты анализа динамики размеров опухоли, перевитой спустя 4 недели после начала эксперимента, свидетельствовали о сходном характере влияния инъекций формалина и воды, на развитие карциномы Герена (табл. 1).

Как видно из табл. 1, в течение первых двух недель после трансплантации не наблюдалось статистически значимых межгрупповых различий в объеме опухоли. Первые случаи гибели крыс во всех исследованных группах были отмечены уже через 3 недели после трансплантации карциномы Герена, также при отсутствии статистически значимых различий между группами по величине опухоли. Объемы опухоли накануне гибели первых животных составили 25,8 см³ в контрольной группе, 30,6 см³ — в группе с введением воды, 37,9 и 40,6 см³ — в группе с введением формалина. Через 4 недели после трансплантации карциномы Герена картина изменилась: средние размеры опухоли в группах с введением воды или формалина заметно (в 1,4 и 1,5 раза соответственно) превысили этот показатель в контрольной группе животных (табл. 1). Оценка межгрупповых различий с помощью теста Крускала—Уокера и критерия Данна выявила статистическую значимость отличий от значений в контрольной группе только для показателей животных, получавших формалин. После пятой недели со дня

трансплантации опухоли была заметна вполне четкая разница между контрольной и двумя другими группами ($p < 0,05$), свидетельствовавшая об ускорении темпов роста карциномы Герена под влиянием формалина и воды. При этом средние размеры опухоли у крыс двух указанных групп не различались (табл. 1). К рассматриваемому моменту относительное число павших животных в контрольной группе, группах с введением воды и формалина составило, соответственно, 50, 28 и 50%. Необходимо отметить единственный случай более медленного, чем в контрольной группе, роста опухоли у животного из группы крыс с введением формалина. Так, через 5 недель после трансплантации карциномы Герена объем опухоли у этого самца достиг значения 31,5 см³, тогда как минимальный показатель в контрольной группе на этом этапе был равен 78,7 см³. Таким образом, можно говорить о торможении роста опухоли не менее чем в 2,5 раза.

Итоговые показатели, отражающие особенности опухолевого роста у крыс исследованных групп, представлены в табл. 2. Результаты анализа объема опухоли накануне гибели животных разных групп свидетельствовали о неоднородности выборок (коэффициенты вариации — более 33%) и отличии распределения показателя в каждой из групп от нормального распределения (табл. 2). Как видно из табл. 2, введение воды и формалина вызывало неоднозначный эффект у исследованных животных. С одной стороны, в этих группах наблюдалось ускорение роста карци-

Таблица 2. Объем карциномы Герена и продолжительность жизни (ПЖ) у белых беспородных крыс-самцов накануне гибели**Table 2.** Guerin's carcinoma volume and longevity (ПЖ) prior to lethal outcome in white outbred male rats

Группы	Размах вариации (границы диапазона)	Объем опухоли, см ³			Количество животных с объемом опухоли более 100 см ³ (%)	ПЖ, сутки, границы диапазона
		Коэффициент вариации	$\bar{x} \pm m$	Медиана		
Контроль, n=6	91 (26–117)	43,8	71,0±15,0	77,5	1 (17)	20–38
Введение воды, n=7	138 (31–149)	43,5	93,0±18,0	84,0	3 (43*)	20–42
Введение формалина, n=16	169 (37–206)	44,8	113,0±13,0*	117,0	10 (62*)	20–49

Примечание: * — отличается от показателя в контрольной группе, $p < 0,01–0,05$, t -критерий (сравнение долей), критерий Вилкоксона—Манна—Уитни.

Note: * — significance vs. control group in independent two-sample t -test and Wilcoxon—Mann—Whitney test, $p < 0.01–0.05$.

номы Герена по сравнению с контрольной группой. В то же время крысы указанных групп демонстрировали заметно более широкий диапазон изменения размеров опухоли (размах вариации), чем в контроле, особенно в случае введения формалина (табл. 2). И гибель значительной части животных этих групп в итоге происходила при более крупных опухолях, чем в контрольной группе. Так, у крыс контрольной группы только в одном случае (17%) наблюдалась опухоль объемом свыше 100 см³ (117 см³), тогда как в группах с введением воды и формалина такие случаи составили, соответственно, 43% и 62%, статистически значимо превысив контрольный показатель (табл. 2). Особенно значительной эта разница была в случае введения формалина, в которой максимальный объем карциномы Герена накануне гибели составил 206 см³ (табл. 2). Таким образом, заметная часть особей, которым вводили формалин или воду, демонстрировала более высокую «устойчивость» к опухолям больших размеров по сравнению с крысами контрольной группы.

В отличие от объема карциномы Герена, показатель ПЖ подчинялся нормальному распределению, демонстрируя однородность выборки (коэффициент вариации

в контрольной группе, группах с введением воды и формалина, соответственно, 19, 21 и 25%) и практическое совпадение средних значений и медиан (32 и 33,5 сут — в контрольной группе, 35 и 38 сут — при введении воды, 35 и 35 сут — при введении формалина). Диапазоны вариации ПЖ особей, которым вводили формалин или воду, как и в случае объема опухоли накануне гибели животных, превышали диапазон контрольных значений данного показателя. Наиболее значительное отличие от контрольных показателей также было отмечено в группе с введением формалина, в которой размах вариации в 1,6 раза превышал этот показатель в контрольной группе (табл. 2). Парадоксальность ситуации заключалась в том, что некоторые животные, получавшие инъекции формалина или воды, имели более значительную ПЖ, чем крысы контрольной группы, максимальная ПЖ которых не превышала 38 сут (табл. 2). При введении формалина или воды относительное количество крыс с ПЖ более 38 сут было выше 40% (табл. 3). Интересно, что в группе с введением формалина их было не меньше, чем в группе с введением воды. При этом увеличение ПЖ одновременно с ускорением роста опухоли наблюдалось более чем у 60% таких крыс (табл. 3).

Таблица 3. Некоторые характеристики белых беспородных крыс-самцов с карциномой Герена, проживших более 38 сут

Table 3. Selected profile of white outbred male rats with Guerin's carcinoma and longevity more than 38 days

Группа	Отно- сительное число, %	ПЖ, сут	V накануне гибели, см ³		Особь с ускоренным ростом опухоли		
			границы диапазона	$\bar{x} \pm m$	Отно- сительное число, %	Внакануне гибели, см ³ границы диапазона	$\bar{x} \pm m$
Контроль, n=6	—	20–38	26–117	71±15,0	—		
Введение воды, n=7	3 (43%)	40–42	125–149	135±8,9*	2 (67%)	130–149	139±13,4*
Введение формалина, n=16	8 (50%)	40–49	99–194	136±11,6*	5 (62%)	118–194	151±13,8*

Примечание: V — объем опухоли, см³; ПЖ — продолжительность жизни; * — отличается от показателя в контрольной группе, $p < 0,05$, тест Крускала—Уоллиса, критерий Данна.

Note: V — tumour volume, cm³; ПЖ — longevity; * — significance vs. control group in Kruskal—Wallis and Dunn's tests, $p < 0.05$.

Максимальное значение ПЖ (49 сут) было отмечено в группе крыс, получавших формалин, — у единственного животного, отличавшегося торможением роста опухоли. При этом следующее по величине значение ПЖ (47 сут) было зафиксировано в этой же группе, у самца с ускоренным ростом карциномы Герена. У животных с повышенной ПЖ, получавших инъекции воды, максимальное значение показателя было ниже, чем у крыс из группы с введением формалина, — 42 сут. Таким образом, заметная часть особей, получавших формалин и воду, инициировавших воспалительную реакцию, действительно, демонстрировала более высокую «устойчивость» к опухолевому росту, чем крысы контрольной группы, не подвергавшиеся специальным повреждающим воздействиям (табл. 3). При этом показатели у животных, получавших формалин, в ряде случаев были даже лучше, чем у крыс, которым вводили воду. Закономерно возникает вопрос о механизмах такой «устойчивости» и ее возможной связи с особенностями воспалительной реакции, вызванной инъекциями формалина или воды. Очевидно, следует учитывать защитный характер воспалительной реакции, связанный с активизацией иммунных и нейрогуморальных регуляторных меха-

низмов, и её способность, в зависимости от конкретных условий, вызывать качественно различные изменения в организме [8, 9]. В связи с этим мы посчитали целесообразным, несмотря на ограниченный набор имеющихся показателей, полученных с помощью рутинных лабораторных методов, попытаться оценить наличие связи между ПЖ и особенностями воспалительной реакции путем сравнения доступных нам характеристик состояния животных, отличавшихся ПЖ.

Выраженная вариация значений ПЖ крыс, которым вводили формалин, позволила выделить три подгруппы, включавшие особей с различными значениями показателя: подгруппа 1 (ПЖ 20–29 дней, n=5), подгруппа 2 (ПЖ 30–38 дней, n=3) и подгруппа 3 (ПЖ 39–49 дней, n=8). Как уже было отмечено, у животных, которым вводили формалин, «слабая» воспалительная реакция, оценивавшаяся по изменению выраженности величины отека ($\Delta\%$), встречалась значительно реже, чем при введении воды. Представлял интерес вопрос о распределении данного показателя в основной группе в зависимости от ПЖ животных. Несмотря на малый размер выборок, была выявлена определенная разница между выделенными подгруппами по частоте такой реакции (рис.).

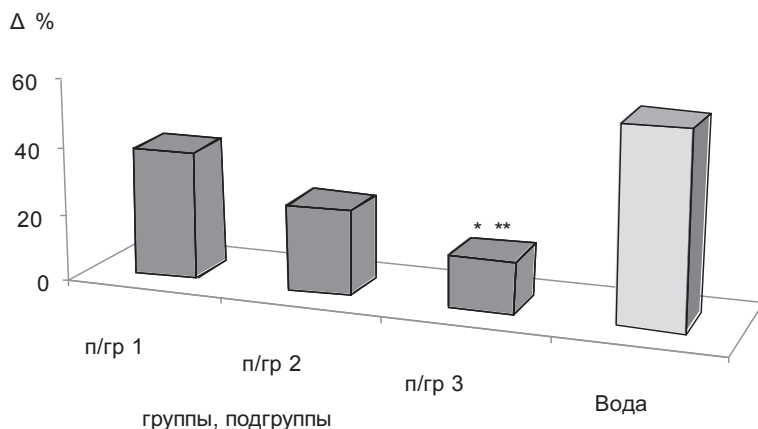


Рис. Частота «слабо выраженных» изменений величины отека конечности (Δ%) при введении формалина у белых беспородных крыс с разной продолжительностью жизни.

Примечание: n/gr — подгруппы животных, получавших инъекции воды («Вода»), $p < 0,01$; * — отличается от показателя в группе животных, получавших инъекции формалина, $p < 0,05$; ** — отличается от показателя в n/gr 1, $p < 0,05$, t -критерий (сравнение долей).

Fig. Rate of “minor” limb oedema changes in white outbred rats with variant longevity in formalin injection trials, Δ%.

Note: n/gr — formalin-injection subgroups; * — significance vs. water-injection group (“Water”), $p < 0.01$; ** — significance vs. n/gr 1 in independent two-sample t -test, $p < 0.05$.

Так, было показано, что частота «слабо выраженных» изменений отека конечности была минимальна в подгруппе 3 (15% случаев) и статистически значимо отличалась от показателей в подгруппе 1 (37,5%) и группе с введением воды (57%). В двух других подгруппах животных, получавших формалин (1 и 2), частота такой реакции статистически не отличалась от показателя при введении воды (рис.). При этом частота «выраженной» реакции в подгруппах 1–3 статистически не различалась и составляла, соответственно, 21, 14 и 14%. Таким образом, у крыс подгруппы 3 с наибольшей ПЖ преобладала «умеренная» воспалительная реакция (71% случаев). У животных подгруппы 2 отмечалось некоторое увеличение представленности других реакций, хотя сдвиг в сторону «умеренной» реакции все же сохранялся. У крыс подгруппы 1, отличавшихся минимальной ПЖ, наблюдался сдвиг рассматриваемого соотношения в сторону суммы случаев резко различных «слабой» и «выраженной» ре-

акций. Доминирование «умеренной» воспалительной реакции в подгруппе 3 могло отражать наиболее активное и, одновременно, сбалансированное состояние защитных механизмов у крыс с наиболее значительной ПЖ по сравнению с остальными животными основной группы.

Как известно, воспалительная реакция сопровождается лейкоцитозом. Была изучена направленность изменений уровня лейкоцитов в крови и показателя Δ%. До начала воздействий содержание лейкоцитов в крови животных варьировало в диапазоне $8\text{--}16,6 \times 10^9/\text{л}$. После инъекций в течение последующих 10-ти дней рассматриваемый показатель изменялся в диапазоне $12\text{--}25 \times 10^9/\text{л}$ — в случае введения формалина, и в интервале $10\text{--}22 \times 10^9/\text{л}$ — в случае введения воды, без статистически значимых межгрупповых и внутригрупповых различий. В то же время была выявлена разница между подгруппами 1 и 3 по частоте односторонних изменений уровня лейкоцитов в крови и показателя Δ%. Так, в подгруппе

3 относительные изменения размеров пораженной конечности имели ту же направленность, что и сдвиги уровня лейкоцитов в крови, тогда как у крыс подгруппы 1 относительное число односторонних изменений рассматриваемых показателей не превышало 20% (Z-критерий знаков, $p < 0,05$). По нашему мнению, выявленное отличие так же, как и доминирование «умеренной» воспалительной реакции, могло указывать на сбалансированное развитие регуляторных процессов как на характерный признак состояния крыс подгруппы 3.

Кроме того, при введении формалина у крыс разных подгрупп были отмечены особенности динамики двигательной активности в период до формирования опухоли. Так, в подгруппе 1 при исходно «средней» двигательной активности показатель ОДА снижался в 2–5 раз. Особенно резкое снижение показателя наблюдалось у одного животного с исходно «низкой» двигательной активностью: на 7-е сут после первого введения формалина значение ОДА уменьшилось до величины «1», а спустя еще 3 недели — до «0». Именно у этого животного в дальнейшем была отмечена минимальная ПЖ после трансплантации карциномы Герена. Обращало на себя внимание, что при значительном снижении двигательной активности в данной подгруппе изменение степени отека могло быть «выраженным», «умеренным» и «слабым». Вероятно, сдвиг показателя ОДА в этих случаях зависел также и от выраженности боли. В подгруппе 2 резкое снижение показателя ОДА до значения «9» (7-е сут), а затем и до «3» было отмечено у особи, отличавшейся впоследствии наиболее быстрым ростом опухоли среди всех исследованных животных. В то же время в подгруппе 3, включавшей крыс с увеличенной ПЖ, данный показатель не опускался ниже значения «15». Таким образом, резкое снижение двигательной активности до визуализации опухоли мог-

ло отражать значительные нарушения системной регуляции при воспалении и формировании хронической боли и иметь прогностическое значение для ПЖ и роста опухоли на последующих этапах.

По нашему мнению, с особенностями системной регуляции могло быть связано и парадоксальное увеличение ПЖ у части животных, получавших инъекции формалина и воды. Мы предполагаем, что в этих случаях развитие «умеренной» воспалительной реакции приводило к временной активизации механизмов противоопухолевой резистентности, следствием которой было торможение роста опухоли (единственный случай) или «переключение» опухоли на режим экспансивного роста, без инфильтрации соседних тканей. Можно предположить, что в последних случаях эффекторные механизмы могли быть связаны с временным ингибированием активности матриксных металлопротеиназ, обеспечивающих инвазивный рост опухоли [12] и/или с инкапсуляцией опухоли вследствие временного усиления активности фибробластов [14].

Закключение

Впервые показано разнонаправленное влияние хронического воспаления, индуцированного формалином, на опухолевый процесс: ускорение роста трансплантированных злокачественных опухолей у большинства белых беспородных крыс-самцов при повышении продолжительности жизни у части таких животных и единичных случаях торможения роста опухоли. Интересно, что введение воды оказалось также весьма действенным фактором, продемонстрировавшим эффекты, сходные с эффектами формалиновой модели хронического воспаления, при меньшей выраженности воспалительной реакции и боли. Данное обстоятельство нуждается в дальнейшем изучении. Выявлены особенности воспалительной реакции и динамики дви-

гательной активности до формирования опухоли у крыс с разной продолжительностью жизни после трансплантации опухоли. Открыт вопрос о механизмах «устойчивости» к росту опухоли при развитии

воспалительной реакции. Полученные результаты представляют интерес в связи с актуальностью вопроса о влиянии на онкогенез воспалительных патологий костно-мышечной системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Глантц С. *Медико-биологическая статистика*. 4-е изд., пер. с англ. М.: Практика, 1998:459. [Glantz S. *Mediko-biologicheskaya statistika [Primer of Biostatistics]*. 4th Ed. English transl. Moscow: Praktika Publ., 1998:459. (In Russian)]. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0258(19990915/30)18:17/18%3C2548::AID-SIM164%3E3.0.CO;2-A.
2. Кит О.И., Франциянц Е.М., Котиева И.М., Каплиева И.В., Трепитак Л.К., Бандовкина В.А. и др. Некоторые механизмы повышения злокачественности меланомы на фоне хронической боли у самокмышей. *Российский журнал боли*. 2017;53(2):14–20. [Kit O.I., Franciyan E.M., Kotieva I.M., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Bandovkina V.A., et al. Nekotoryye mekhanizmy povysheniya zlokachestvennosti melanomy na fone khronicheskoy boli u samok myshey [Some mechanisms of increasing malignancy of B16/F10 melanoma in female mice with chronic pain]. *Rossiyskiy zhurnal boli [Russian J. of Pain]*. 2017;53(2):14–20. (In Russian)].
3. Жыжковская Ю.Г., Митрофанова И.В., Завялова М.В., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В. *Онхолоеассоциированные макрофаги*. М: Наука, 2017:224. [Kzhyshkovska Yu.G., Mitrofanova I.V., Zavyalova M.V., Slonimskaya E.M., Cherdyntseva N.V. *Opuholeassotsirovannyye makrofagi [Tumor associated macrophages]*. Moscow: Nauka Publ., 2017:224. (In Russian)].
4. Конг Х.Х., Хазиахметова В.Н., Зиганшина Л.Е. Новый метод сравнения эффективности НПВС на экспериментальных моделях воспаления при длительном наблюдении. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2016;79(11):19–25. [Kong Kh.Kh., Khaziakhmetova V.N., Ziganshina L.E. Novyy metod sravneniya ef-fektivnosti NPVS na eksperimentalnykh modelyakh vospaleniya pri dlitelnom nablyudenii [New Approach to Comparing NSAID Efficacy by Long-Term Monitoring of Experimental Inflammation Models]. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2016;79(11):19–25. (In Russian)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2016-79-11-19-25.
5. Лакин Г.Ф. *Биометрия*. М.: Высшая школа, 1990:352. [Lakin G.F. *Biometrics*. Moscow: Vysshaya shkola Publ., 1990:352. (In Russian)].
6. Лучихина Л.В., Мендель О.И., Мендель В., Голухов Г.Н. Остеоартрит и возраст. Роль старения в этиологии и патогенезе заболевания. *Современная ревматология*. 2017;11(1):4–11. [Luchikhina L.V., Mendel O.I., Mendel V., Golukhov G.N. Osteoartrit i vozrast. Rol stareniya v etiologii i patogeneze zabolevaniya [Osteoarthritis and age. Role of aging in the etiology and pathogenesis of the disease]. *Sovremennaya revmatologiya [Modern Rheumatology J.]*. 2017;11(1):4–11. (In Russian)]. DOI: 10.14412/1996-7012-2017-1-4-11.
7. Самедов В.Х., Налескина Л.А., Захарычев В.Д. Морфологические изменения в карциноме Герена после криодеструкции, локальной СВЧ-гипертермии и их комбинации. *Российский онкологический журнал*. 2013;18(3):17–21. [Samedov V.Kh., Naleskina L.A., Zakharychev V.D. Morfologicheskiye izmeneniya v kartsinome Gerena posle kriodestruksii. lokalnoy SVCh-gipertermii i ikh kombinatsii [Morphological changes during Geren carcinoma after cryoblation, a local microwave hyperthermia and their combination]. *Russian J. of Oncology*. 2013;18(3):17–21. (In Russian)].
8. Antonelli M., Kushner I. It's time to redefine inflammation. *FASEB J*. 2017;31(5):1787–1791. DOI:10.1096/fj.201601326R.
9. Chovatiya R., Medzhitov R. Stress, Inflammation, and Defense of Homeostasis. *Mol. Cell*. 2014;54(2):281–288. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.03.030>.
10. Flamant M., Roblin X. Inflammatory bowel disease: towards a personalized medicine. *Therap. Adv. Gastroenterol*. 2018;11:1–15. DOI: 10.1177/1756283X17745029.
11. Grabovskaya S.V., Salyha Y.T. Do Results of the Open Field Test Depend on the Arena Shape? *Neurophysiology*. 2014;46(4):376–380. DOI: 10.1007/s11062-014-9458-x.
12. Knight B.E., Kozlowski N., Havelin J., King T., Crocker S.J., Young E.E., et al. TIMP-1 Attenuates the Development of Inflammatory Pain Through MMP-Dependent and Receptor-Mediated Cell Signaling Mechanisms. *Front. Mol. Neurosci*. 2019;12:220. DOI: 10.3389/fnmol.2019.00220.
13. Korniluk A., Koper O., Kemona H., Dymicka-Piekarska V. From inflammation to cancer. *Ir. J. Med. Sci*. 2017;186:57–62. DOI: 10.1007/s11845-016-1464-1470.
14. Mescher A.L. Macrophages and fibroblasts during inflammation and tissue repair in models of organ regeneration. *Regeneration (Oxf)*. 2017;4(2):39–53. DOI:10.1002/reg2.77.
15. Shinko D., Diakos C.I., Clarke S.J., Charles K.A. Cancer-Related Systemic Inflammation: The

Challenges and Therapeutic Opportunities for Personalized Medicine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2017;102(4):599–610. DOI:10.1002/cpt.789.

16. Su Y.S., Sun W.H., Chen C.C. Molecular mechanism of inflammatory pain. *World J. Anesthesiol.* 2014;3(1):71–81. DOI: 10.5313/wja.v3.i1.71.

17. Zhukova G.V., Shikhliarova A.I., Barteneva T.A., Goroshinskaya I.A., Gudtskova T.N., Bragina M.I., et al. Some approaches to the activation of antitumor resistance mechanisms and functional analogs in the categories of synergetics. *Biophysics.* 2016;61(2):303–315. DOI: 10.1134/S0006350916020251.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Жукова Галина Витальевна*, д.б.н., ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России;
e-mail: galya_57@mail.ru

Шихлярова Алла Ивановна, д.б.н., проф., ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России;
e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Протасова Татьяна Пантелеевна, к.б.н., ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России;
e-mail: protasovatp@yandex.ru

Лукбанова Екатерина Алексеевна, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России;
e-mail: katya.samarskaja@yandex.ru

Заикина Екатерина Владиславовна, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России;
e-mail: katherine_bio@mail.ru

Волкова Анастасия Владимировна, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России;
e-mail: volkovaav58@mail.ru

Ходакова Дарья Владиславовна, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России;
e-mail: cocotail.moxuto@yandex.ru

Galina V. Zhukova*, Dr. Sci. (Biol.), National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health care of Russia;
e-mail: galya_57@mail.ru

Alla I. Shikhliarova, Dr. Sci. (Biol.), Prof., National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health care of Russia;
e-mail: shikhliarova.a@mail.ru

Tatiana P. Protasova, Cand. Sci. (Biol.), National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health care of Russia;
e-mail: protasovatp@yandex.ru

Ekaterina A. Lukbanova, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health care of Russia;
e-mail: katya.samarskaja@yandex.ru

Ekaterina V. Zaikina, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health care of Russia;
e-mail: katherine_bio@mail.ru

Anastasiya V. Volkova, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health care of Russia;
e-mail: volkovaav58@mail.ru

Darya V. Khodakova, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health care of Russia;
e-mail: cocotail.moxuto@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author