



СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ СПОСОБОВ КОНТРАСТИРОВАНИЯ *IN VIVO* МОДЕЛЕЙ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

А. С. Гончарова, Д. В. Ходакова[✉], А. В. Галина, Е. В. Заикина, Л. З. Курбанова,
М. В. Миндарь, С. В. Гурова

НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ KhodakovaDV@yandex.ru

Резюме

Цель исследования. Сравнить эффективность существующих способов контрастирования при проведении микрокомпьютерной томографии *in vivo* для визуализации моделей колоректального рака, полученных методом ортотопической имплантации в слепую кишку иммунодефицитным мышам линии BALB/c Nude.

Материалы и методы. Исследование было выполнено на самках мышей линии BALB/c Nude (N = 25), которым имплантировали перевиваемый штамм KRP человека в слепую кишку. Через 20 дней после имплантации животным вводили контрастный агент «Оптирей» различными способами (внутривенно, перорально, внутрибрюшинно, ректально) и визуализировали на приборе Quantum GX2. Полученные изображения были импортированы в программу RadiAnt DICOM Viewer, где были выполнены замеры опухолевых узлов. После была проведена лапаротомия с замером опухолевых узлов штангенциркулем. На последнем этапе исследования животных эвтаназировали методом дислокации шейных позвонков. Опухоли были иссечены, измерены штангенциркулем и помещены в 10 % формалин для проведения гистологического анализа согласно стандартной методике.

Результаты. При внутривенном, пероральном и внутрибрюшинном введении контраста средние значения объемов опухолевых ксенографтов по результатам микро-КТ составили $53,7 \pm 5,2 \text{ мм}^3$, $52,7 \pm 6,4 \text{ мм}^3$ и $63,6 \pm 5,6 \text{ мм}^3$ соответственно, по данным лапаротомии – $43,0 \pm 5,5 \text{ мм}^3$, $44,5 \pm 5,4 \text{ мм}^3$ и $58,5 \pm 5,5 \text{ мм}^3$ соответственно, по данным, полученным посмертно – $55,2 \pm 6,6 \text{ мм}^3$, $53,2 \pm 8,8 \text{ мм}^3$, $65,9 \pm 3,8 \text{ мм}^3$ соответственно. Для этих трех групп средние объемы опухолей, полученные при измерении опухолей посмертно были сопоставимы с объемами полученными при проведении микро-КТ, но выше данных, полученных при лапаротомии.

Заключение. Полученные нами данные показывают, что внутривенный, внутрибрюшинный и пероральный способы введения контраста являются более адекватными и предпочтительными при проведении микро-КТ на лабораторных животных.

Ключевые слова:

колоректальный рак, PDX-модели, Balb/c Nude, микро-компьютерная томография, *in vivo*, контрастный агент

Для корреспонденции:

Ходакова Дарья Владиславовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: KhodakovaDV@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3753-4463>

SPIN: 8718-3983, AuthorID: 1056414

Scopus Author ID: 57221463056

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Гончарова А. С., Ходакова Д. В., Галина А. В., Заикина Е. В., Курбанова Л. З., Миндарь М. В., Гурова С. В. Сравнение эффективности способов контрастирования *in vivo* моделей колоректального рака. Исследования и практика в медицине. 2022; 9(4): 42–51.

<https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-4-4>

Статья поступила в редакцию 10.03.2022; одобрена после рецензирования 11.10.2022; принята к публикации 23.12.2022.

© Гончарова А. С., Ходакова Д. В., Галина А. В., Заикина Е. В., Курбанова Л. З., Миндарь М. В., Гурова С. В., 2022

A COMPARATIVE STUDY OF DIFFERENT CONTRAST ADMINISTRATION ROUTES EFFICIENCY PERFORMED ON *IN VIVO* COLORECTAL CANCER MODELS

A. S. Goncharova, D. V. Khodakova✉, A. V. Galina, E. V. Zaikina, L. Z. Kurbanova, M. V. Mindar, S. V. Gurova

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ KhodakovaDV@yandex.ru

Abstract

Purpose of the study. The investigation is aimed to provide a systematic comparison of different contrasting methods for *in vivo* micro-CT diagnostic of orthotopic colorectal cancer models extracted by orthotopic implantation into the caecum of immuno-compromised mice BALB/c Nude lines.

Materials and methods. BALB/c Nude (N = 25) female mice were implanted by transplanted human colorectal cancer strain into the cecum. 20 days after the implantation mice were administered with iodine-based contrast agent Optiray by means of different administration method (intravenously, per os, intraperitoneally, per rectum) and micro-CT scans have been registered via Quantum GX2 tomograph. Measurement of tumor nodes was performed both by means of estimation from micro-CT images via RadiAnt DICOM Viewer software and by means of explicit measurements using calipers upon laparotomy and posthumously. At the last stage of the study, the animals were euthanized by cervical dislocation. The tumors were excised, measured with a caliper and placed in 10 % formalin for the standard histological analysis according to the standard methods.

Results. The average volumes of tumor xenografts in animals with intravenous, oral, and intraperitoneal contrast administration measured at micro-CT were 53.7 ± 5.2 mm³, 52.7 ± 6.4 mm³ and 63.6 ± 5.6 mm³ respectively; measured at laparotomy – 43.0 ± 5.5 mm³, 44.5 ± 5.4 mm³ and 58.5 ± 5.5 mm³ respectively; measured post-mortem – 55.2 ± 6.6 mm³, 53.2 ± 8.8 mm³ and 65.9 ± 3.8 mm³ respectively. The average volumes of tumor xenografts isolated post-mortem in these groups were comparable with the values shown at micro-CT, but larger than the volumes measured at laparotomy.

Conclusion. The results obtained demonstrated that intravenous, peroral and intraperitoneal administration techniques provide the best visualization of laboratory rodents pathological tissue upon *in vivo* micro-CT diagnostics and thus are preferred.

Keywords:

colon cancer, PDX model, BALB/c Nude, micro-computed tomography, *in vivo*, contrast agent

For correspondence:

Khodakova V. Darya – junior researcher at the testing laboratory center, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: KhodakovaDV@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3753-4463>

SPIN: 8718-3983, AuthorID: 1056414

Scopus Author ID: 57221463056

Funding: this work was not funded.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Goncharova A. S., Khodakova D. V., Galina A. V., Zaikina E. V., Kurbanova L. Z., Mindar M. V., Gurova S. V. A comparative study of different contrast administration routes efficiency performed on *in vivo* colorectal cancer models. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2022; 9(4): 42–51. (In Russ.). <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-4-4>

ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак (КРР), включающий злокачественные опухоли толстой и прямой кишки, занимает третье место по заболеваемости и второе место по смертности среди злокачественных новообразований во всем мире [1; 2]. Одной из причин высокой смертности от данного заболевания является резистентность к терапии и ее значимая токсичность. Поэтому для преодоления данной проблемы необходима разработка новых противоопухолевых препаратов и ранняя оценка их терапевтической эффективности, что позволит избежать продолжения нерезультативного лечения и увеличить выживаемость пациента [3; 4].

Для создания новых противораковых препаратов и проведения доклинических исследований широко используются ксеногенные мышинные модели, созданные путем имплантации человеческих раковых клеток (CDX- cell line derived xenograft) или образцов опухолей пациентов (PDX- patient derived xenograft) иммунодефицитным мышам [5; 6]. Наиболее часто применяют подкожную имплантацию раковых клеток или тканей материала, так как это быстрый, не требующий специальных навыков и оборудования метод [7–10]. Однако при этом опухоль развивается в чужеродном микроокружении, что оказывает существенное влияние на

рост и терапевтический ответ ксенографта. Ортотопические мышинные модели создаются инъекцией культуры опухолевых клеток или опухолевого фрагмента, взятого от пациента в гистологически соответствующий сайт. Данные модели сохраняют естественное микроокружение опухоли, включая ангиогенные и метастатические факторы. Они более точно имитируют патологическую картину заболевания и являются клинически значимыми для оценки онкогенеза, прогрессирования опухоли и ответа на лечение [8; 11]. Однако для данной модели требуются доступные методы визуализации с высоким разрешением.

Микрокомпьютерная томография (микро-КТ) – это неразрушающий неинвазивный метод исследования образцов исключительно высокого разрешения. Первоначально микро-КТ демонстрировала хорошее изображение только высококонтрастных структур, таких как кости или имплантаты. С улучшением чувствительности детектора рентгеновского излучения были достигнуты заметные улучшения во временном и в геометрическом разрешении, а также в скорости считывания. Введение контрастных агентов, которые рассеивают рентгеновские лучи, позволяет оценивать структуру внутренних органов и морфологию сосудов [12]. На сегодняшний день благодаря доступности коммерческих систем с микроскопическим

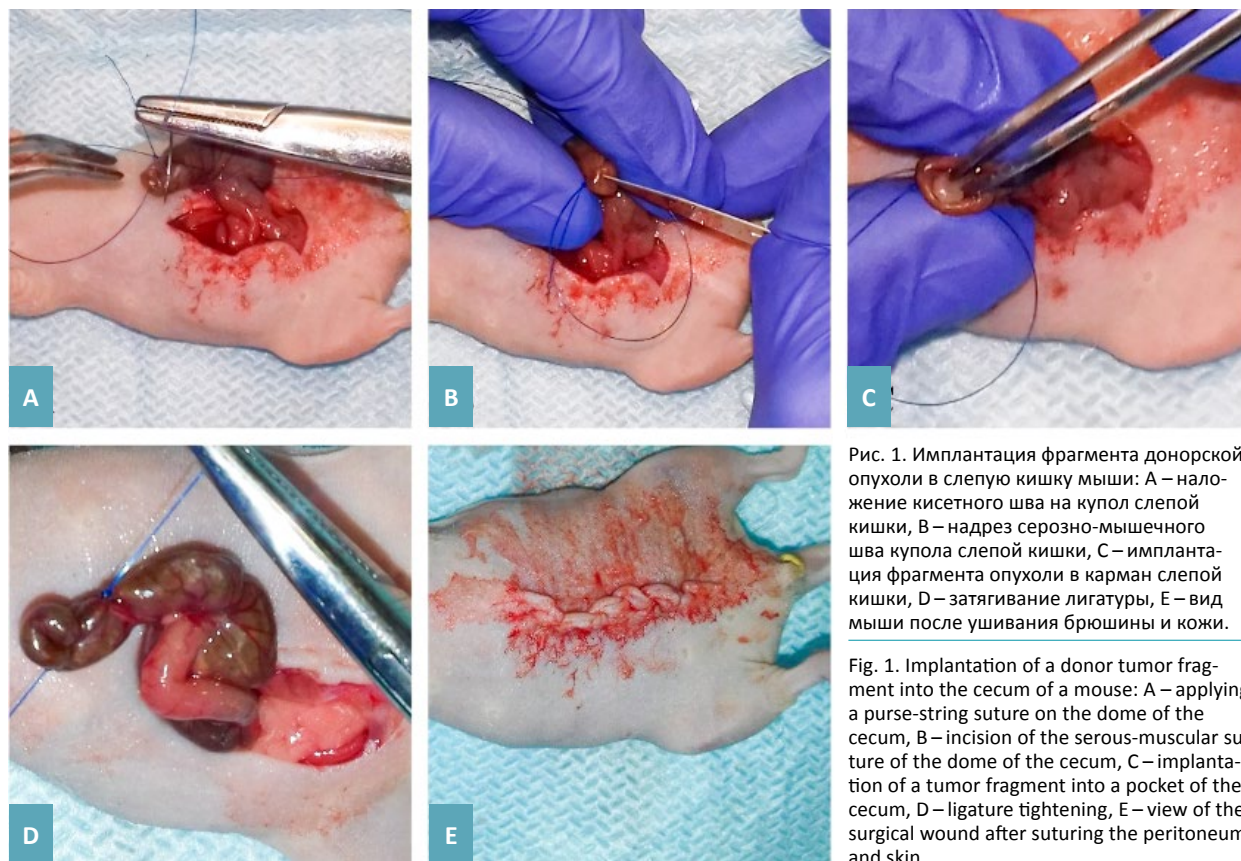


Рис. 1. Имплантация фрагмента донорской опухоли в слепую кишку мыши: А – наложение кисетного шва на купол слепой кишки, В – надрез серозно-мышечного шва купола слепой кишки, С – имплантация фрагмента опухоли в карман слепой кишки, D – затягивание лигатуры, E – вид мыши после ушивания брюшины и кожи.

Fig. 1. Implantation of a donor tumor fragment into the cecum of a mouse: A – applying a purse-string suture on the dome of the cecum, B – incision of the serous-muscular suture of the dome of the cecum, C – implantation of a tumor fragment into a pocket of the cecum, D – ligature tightening, E – view of the surgical wound after suturing the peritoneum and skin.

разрешением и возможности проводить опыты *in vitro* и *in vivo*, микро-КТ может являться полезным инструментом в работах по изучению колоректального рака на животных моделях [13]. Ограничением является недостаточная разность контраста между мягкими тканями и злокачественными новообразованиями. Согласно литературным данным существует несколько способов контрастирования, которые применимы для лабораторных животных: внутривенный, пероральный, внутрибрюшинный, ректальный [14–18]. Однако исследований сравнения эффективности данных методов для визуализации моделей колоректального рака ранее проведено не было.

Цель исследования: сравнить эффективность существующих способов контрастирования при проведении микрокомпьютерной томографии *in vivo* для визуализации моделей колоректального рака, полученных методом ортотопической имплантации в слепую кишку иммунодефицитным мышам линии BALB/c Nude.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Исследование было проведено на 25 мышах–самках линии BALB/c Nude в возрасте 8–10 недель и весом 20–25 г. Всех животных содержали в индивидуально вентилируемых клетках, при 12-часовом дневном цикле, температуре воздуха 22–24 °C и влажности 40–70 %. Доступ к предварительно проавтоклавированной пище и воде был предоставлен *ad libitum*. Все манипуляции с мышами в исследова-

нии были проведены с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Получение ортотопической ксеногенной опухолевой модели. Для создания ортотопической ксеногенной опухолевой модели использовали полученный в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России перививаемый штамм KPP человека. Образец опухолевой ткани для создания ортотопической PDX модели KPP был получен от пациента, обратившегося в отделение абдоминальной онкологии № 2 ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в мае 2020 г. От пациента было получено добровольное письменное согласие на передачу биологического образца.

Перед имплантацией мышам внутримышечно вводили инъекционный наркоз. В качестве препарата для премедикации использовали «Рометар» («Bioveta, a.s.», Чешская Республика) концентрацией 20 мг/мл в дозе 1,5 мл/кг. Для основной анестезии применяли «Золетил 100» («Virbac», Франция) в дозе 67,5 мг/кг массы тела животных. Перед ксенотрансплантацией фрагменты опухоли, хранившиеся в биобанке ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, были разморожены на водяной бане при температуре 37°. Фрагменты опухоли после полного оттаивания тщательно промывали стерильной средой RPMI 1640 и делили на части размером 2 мм × 2 мм × 2 мм. Мышей анестезировали внутрибрюшинной инъекцией комбинации ксилазина (Interchemie Werken «de Adelaar» BV, Нидерланды) и тилетамина–золазепама («Virbac», Франция). При имплантации в сле-

Таблица 1. Способы введения контраста животным
Table 1. Description of different techniques for contrast administration

Номер группы / Group number	Способ введения контраста / contrast administration technique	Разведение контрастного препарата «Оптирей» / Dilution of contrast “Optirey”	Объем вводимого контраста, мл / The amount of administered contrast, ml	Время, через которое проводили сканирование, ч / Time fixed at the point of scanning, hrs	Количество и пол животных / Number and sex of animals
1	Без контраста / Without contrast	-	-	-	5♀
2	Внутривенно / Intravenous	-	0,2	1	5♀
3	Перорально / Orally	1:4	1,0 (по 0,25 через 1 час) / 1.0 (0.25 in an hour)	3*	5♀
4	Внутрибрюшинно / Intraperitoneal	1:4	1,0	0,25	5♀
5	Ректально / Rectal	1:10	До рефлюкса из анального отверстия / before the anal reflux	Сразу после введения / immediately after administration	5♀

Примечание: * – время после первого введения контраста.
 Note: * – time spent after 1st contrast administration.

пую кишку доступ в брюшную полость осуществляли через последовательное рассечение кожи и брюшины длиной 1,5–2 см. Слепую кишку выводили в операционную рану и промывали стерильным физиологическим раствором. На купол слепой кишки накладывали кисетный шов лигатурой 5.0 («Ethicon», США). Далее делали разрез серозно-мышечного слоя и формирование «кармана», в который помещали опухолевый фрагмент донора. После этого затягивали лигатуру, возвращали кишку в брюшную полость и послойно зашивали брюшину и кожу животного. За животными внимательно наблюдали на предмет наличия признаков воспаления, дискомфорта, потери веса, ухудшения общего состояния. В конце исследования животных анестезировали внутривенной инъекцией ксилазина и тилетамина–золазепамом и эвтаназировали методом дислокации шейных позвонков.

Микрокомпьютерная томография. Через 20 дней после имплантации животных визуализировали на приборе Quantum GX2 microCT (Perkin Elmer, США). Перед сканированием мышам вводили контрастный препарат Оптирей в дозировке 350 мг йода/

мл («Mallinckrodt», Канада). В зависимости от способа введения контраста мыши были поделены на 5 групп ($n = 5$ для каждой группы): внутривенное введение контраста; пероральное; внутривенное; ректальное; без контраста. Режим сканирования: напряжение – 90 кВ, сила тока – 88 мкА, поле зрения – 86 мм × 72 мм, размер вокселя – 144 мкм, режим сканирования – высокое разрешение, время – 4 мин, вращение гентри 360°. За один круг прибор произвел 427 проекции. Во время сканирования животных анестезировали 2 % изофлураном («Laboratories Karizoo, S.A.», Испания), используя прибор для анестезии RAS-4 (Perkin Elmer, США). После сбора данных изображения в формате DICOM были импортированы в программное обеспечение для просмотра проекций и трехмерной реконструкции RadiAnt DICOM Viewer (Medixant, Польша).

Гистологический анализ. После эвтаназии ортотопические опухоли КРР были выделены, измерены штангенциркулем и помещены в 10 % формалин для фиксации на 24 ч. После этого биоматериал заливали парафином, разрезали на срезы толщиной 5 мкм,

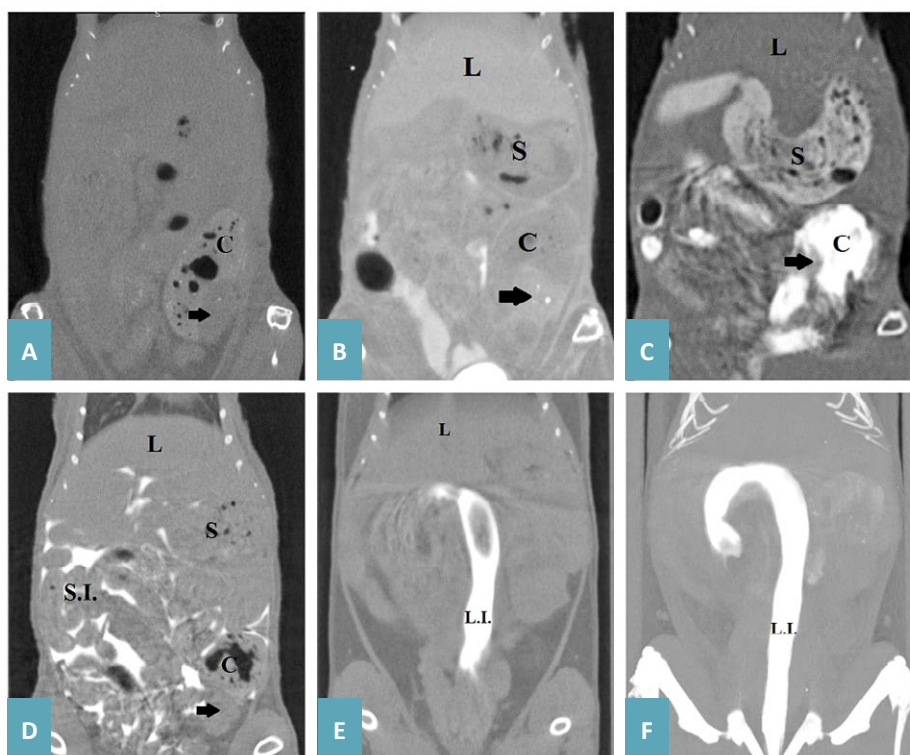


Рис. 2. Результаты визуализации ортотопических моделей КРР на приборе Quantum GX2: А – без контраста, В – при внутривенном введении контраста, С – при пероральном введении контраста, D – при внутривенном введении контраста, E – при ректальном введении контраста, F – при ректальном введении контраста (вид в проекции максимальной интенсивности); С – слепая кишка, L – печень, S – желудок, S.I. – тонкая кишка, L.I. – толстая кишка. (→) обозначена опухоль.

Fig. 2. The results of orthotopic CRC models visualization obtained by Quantum GX2: A – without contrast, B – intravenous injection, C – peroral administration, D – intraperitoneal injection, E – rectal administration, F – rectal administration (maximum intensity projection view); C – cecum, L – liver, S – stomach, S.I. – small intestine, L.I. – large intestine. (→) depicts the location of the tumor.

окрашивали гематоксилином и эозином («Sigma», США). Окрашенные срезы исследовали и анализировали под световым микроскопом ZEISS Axioscope («ZEISS», Германия).

Объем опухолевых ксенографтов. Объем опухолевых узлов высчитывался по формуле:

$$V = (a \times b^2)/2,$$

где a и b – длина и ширина опухолевого узла, полученные после сканирования или во время проведения лапаротомии, V – объем опухоли (мм^3).

Статистическая обработка данных. Статистическая обработка данных была выполнена в программе Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Целью настоящего исследования было сравнить эффективность существующих способов контрастирования с использованием коммерчески доступного контрастного вещества «Оптирей» при проведении микро-КТ *in vivo* для визуализации моделей KPP,

полученных методом ортотопической имплантации в слепую кишку мышей. Для этого нами были созданы ортотопические PDX-модели KPP.

Опухолевый материал после оттаивания на водяной бане был промыт стерильной средой RPMI 1640, далее разделен на фрагменты размером $2 \text{ мм} \times 2 \text{ мм} \times 2 \text{ мм}$ и имплантирован мышам в слепую кишку (рис. 1).

На 20 день после имплантации опухолевого материала была проведена компьютерная томография на приборе микро-КТ (рис. 2). Предварительно животным был введен контрастный агент различными способами согласно следующей схеме (табл. 1).

Несмотря на высокое разрешение прибора для микро-КТ Quantum GX2, сложно оценить результаты визуализации из-за низкого контраста между мягкими тканями (рис. 2A). Для решения данной проблемы мы использовали контрастирующее вещество «Оптирей», которое вводили различными способами. При внутривенном введении наблюдалось повышение контрастности печени и опухоли, что позволило четко определить их границы (рис. 2B). Это связано с тем, что препарат «Оптирей», циркулируя в потоке крови,

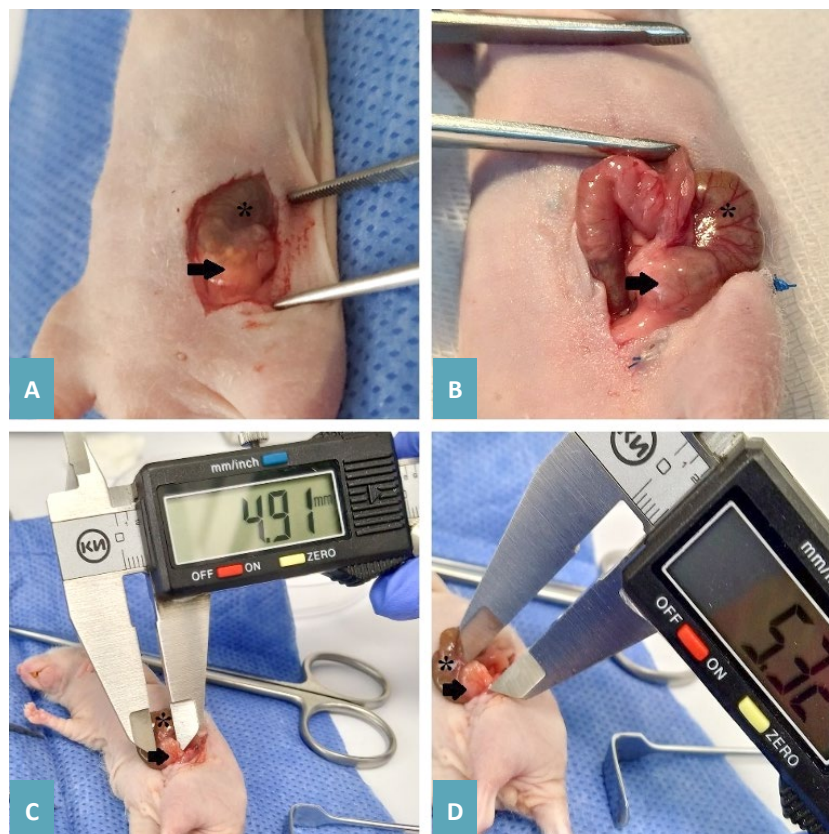


Рис. 3. Лапаротомия животных: А и В – мыши BALB/c Nude с ортотопическим ксенографтом в слепой кишке, С и D – замер опухолевых узлов. (→) и (*) обозначены опухоль и слепая кишка, соответственно.

Fig. 3. Laparotomy in animals: A and B – mice of BALB/c Nude line with orthotopic xenograft in the cecum, C and D – measurement of the tumor nodes. Symbols (→) and (*) depicts tumor and cecum, respectively.

Таблица 2. Достоинства и недостатки различных методов контрастирования моделей КРР**Table 2. Advantages and disadvantages of different contrast administration techniques in terms of CRC tumor visualization**

Способ контрастирования / Contrast administration technique	Достоинства / Advantages	Недостатки / Disadvantages
Внутривенно / Intravenous	Накопление контраста в злокачественных образованиях за счет лучшего кровоснабжения в органах с развитой сосудистой сеткой, что помогает определить размеры опухоли и оценить метастазирование в печень / Accumulation of contrast in malignant formations due to better blood supply in organs with a developed vascular network, which helps to determine the size of the tumor and assess liver metastasis	Технически сложный способ, требует определенных навыков у исследователя / Technically difficult method, that requires certain skills from the researcher
Перорально / Peroral	Повышение интенсивности изображения органов ЖКТ, что важно при определении границы инвазии опухоли в органы ЖКТ и оценке метастазирования в следующие органы ЖКТ: желудок, тонкая кишка, слепая кишка / An increase in the intensity of the image of the GI tract, which is important in terms of determining the boundaries of tumor invasion into the GI tract and assessing metastasis to the following GI organs: stomach, small intestine, caecum	Контраст не накапливается в злокачественном новообразовании, для визуализации отделов ЖКТ требуется серия пероральных введений контрастного агента, не повышается интенсивность изображения толстой кишки / Contrast does not accumulate in a malignant neoplasm, a series of oral administrations of a contrast agent is required to visualize the GI tract, the intensity of the image of the colon does not increase
Внутрибрюшинно / Intraperitoneal	Улучшение микроконтрастной визуализации границ всех органов брюшной полости и опухолей за пределами поражённого органа / Improvement of micro-contrast visualization of the boundaries of all abdominal organs and tumors outside the affected organ	Контраст не накапливается в злокачественном новообразовании, граница опухоли видна только за пределами поражённого органа / The contrast does not accumulate in the malignant neoplasm, the tumor border is visible only outside the affected organ
Ректально / Rectal	Отличная визуализация прямой кишки и нисходящей ободочной кишки, возможно определение опухолей и метастазов КРР в этих отделах / Excellent visualization of the rectum and descending colon, it is possible to determine tumors and CRC metastases in these departments	Не контрастируются слепая кишка и восходящая ободочная кишка, сложно обнаружить опухоли и метастазы КРР в этих отделах / The cecum and ascending colon do not contrast, it is difficult to detect tumors and CRC metastases in these departments

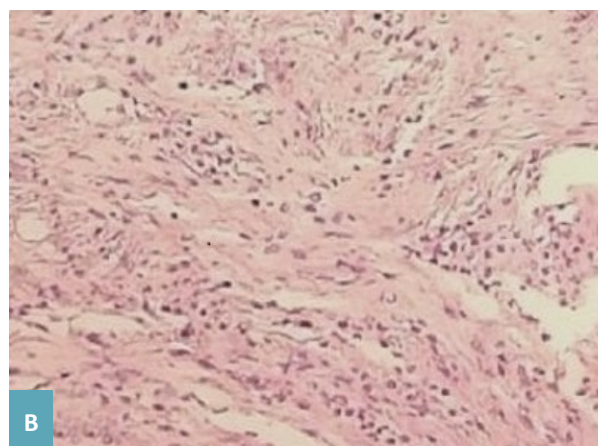
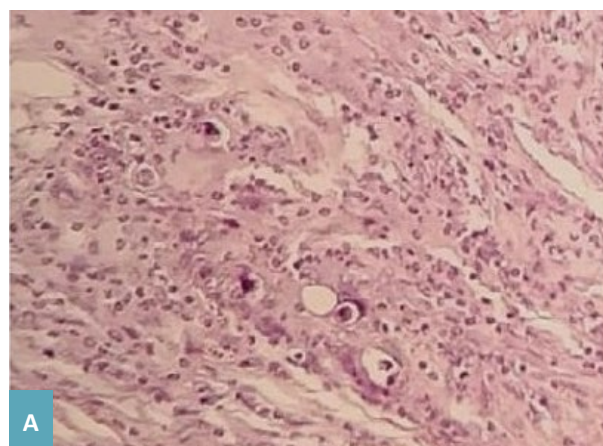


Рис. 4. Гистологические препараты КРР, окрашенные гематоксилином и эозином: А – донорская опухоль, В – опухоль, имплантированная в слепую кишку мыши линии BALB/c Nude. Увеличение, × 100.

Fig. 4. H&E-stained histology results obtained for: A – donor of CRC tissue, B – CRC tissue, which were implanted into cecum of BALB/c Nude mouse. Magnification, × 100.

накапливается в органах и новообразованиях, где присутствует развитая сосудистая сеть. При серийном пероральном введении хорошо визуализируются органы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), такие как желудок, тонкая кишка и слепая кишка (рис. 2С). В данном случае возможно определить границу прорастания опухоли в слепую кишку, однако точно определить размеры злокачественного образования, выходящего за пределы пораженного органа, остается сложной задачей. При интраперитонеальном пути введения контраст заполняет внутрибрюшинное пространство, позволяя разграничить внутренние органы и опухоль за пределами поражённого органа (рис. 2D). При ректальном введении контрастного агента животным хорошо визуализируется прямая кишка и нисходящая ободочная кишка, но препарат «Оптирей» не доходил до слепой кишки и, следовательно, никак не контрастировал опухоль (рис. 2E-2F).

После сканирования животным проводили лапаротомию с замером опухолевых узлов штангенциркулем (рис. 3).

Средние значения объемов опухолевых ксенографтов животных в группе без использования контраста и в группе с ректальным введением контраста, полученные в программе RadiAnt DICOM Viewer при визуализации методом микро-КТ, составили $42,2 \pm 6,7 \text{ мм}^3$ и $44,3 \pm 9,4 \text{ мм}^3$ соответственно, средние значения опухолевых ксенографтов животных этих же групп при измерении штангенциркулем при проведении лапаротомии составили $39,3 \pm 6,0 \text{ мм}^3$ и $43,7 \pm 5,1 \text{ мм}^3$, при измерении штангенциркулем среднее значение объемов, посмертно выделенных ксенографтов составили $47,0 \pm 4,8 \text{ мм}^3$ и $58,5 \pm 7,8 \text{ мм}^3$, что было больше значений, полученных при микро-КТ и лапаротомии для обеих групп. Наблюдаемые различия связаны, вероятно, с тем фактом, что при выполнении сканирования в отсутствие контрастирования опухоли, ее границы не были четко обозначены на изображениях, а при измерении штангенциркулем во время проведения лапаротомии возможно выполнить измерения лишь той части опухоли, которая находится за пределами поражённого органа.

При внутривенном, пероральном и внутрибрюшинном введении препарата «Оптирей» средние значения объемов опухолевых ксенографтов по результатам микро-КТ составили $53,7 \pm 5,2 \text{ мм}^3$, $52,7 \pm 6,4 \text{ мм}^3$ и $63,6 \pm 5,6 \text{ мм}^3$ соответственно, что совпадало со средними значениями размеров опухолевых узлов, измеренных посмертно ($55,2 \pm 6,6 \text{ мм}^3$, $53,2 \pm 8,8 \text{ мм}^3$ и $65,9 \pm 3,8 \text{ мм}^3$ соответственно). Объемы опухолевых узлов по данным лапаротомии в группах при внутривенном, пероральном и внутрибрюшинном способах контрастирования составили $43,0 \pm 5,5 \text{ мм}^3$, $44,5 \pm 5,4 \text{ мм}^3$ и $58,5 \pm 5,5 \text{ мм}^3$, что было меньше объемов опухолевых узлов, выделенных посмертно.

Преимущества и недостатки описанных способов контрастирования резюмированы в таблице 2.

В конце исследования животных эвтаназировали методом шейной дислокации. Опухоли у мышей линии BALB/c Nude были иссечены, посмертно замерены штангенциркулем и помещены в 10 % формалин для проведения гистологического анализа (рис. 4).

Биоматериал, полученный от пациента, и ортотопические ксенографты были описаны как умеренно дифференцированная аденокарцинома (G2). Степень дифференцировки и митотическая активность ксеногенных опухолей не отличались от донорской опухоли. Из чего можно сделать вывод, что полученные ксенографты сохранили гистологические особенности донорской опухоли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашем исследовании были получены ортотопические PDX-модели КРР на мышцах линии BALB/c Nude. Применение компьютерной томографии с высоким разрешением позволяет неинвазивно подтвердить приживление донорской опухоли, а также замерить размеры опухолевых узлов. В нашем исследовании мы установили, что при визуализации ксенографтов, имплантированных в слепую кишку животных, более адекватные данные получаются при внутривенном, внутрибрюшинном и пероральном способах введения контраста.

Список источников

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. Геворкян Ю. А., Колесников В. Е., Солдаткина Н. В., Харагезов Д. А., Дашков А. В., Каймаки Д. О., и др. Малоинвазивные хирургические вмешательства в лечении больных метастатическим колоректальным раком. *Южно-Российский онкологический журнал*. 2020;1(2):22–27. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-2-3>
3. Пулатов Д. А., Ибрагимов Ж. М., Камышов С. В. Сравнительная оценка токсичности лечения больных химиорезистентным колоректальным раком. *Онкология и радиология Казахстана*. 2017;2(44):58–61.
4. Поликарпов А. А., Таразов П. Г., Кагачева Т. И., Гранов Д. А. Регионарная химиотерапия нерезектабельных метастазов колоректального рака в печень, резистентных к системной химиотерапии. *Вопросы онкологии*. 2018;64(4):499–503.

5. Безбородова О. А., Панкратов А. А., Немцова Е. Р., Венедиктова Ю. Б., Воронцова М. С., Енгальчева Г. Н., и др. Противоопухолевые лекарственные препараты: планирование доклинических исследований по оценке эффективности и безопасности. Вестник научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2020;10(2):96–110. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-96-110>
6. Xu X, Shang L, Wang P, Zhou J, Ouyang X, Zheng M, et al. Creating matched in vivo/in vitro patient-derived model pairs of pdx and pdx-derived organoids for cancer pharmacology research. J Vis Exp. 2021 May 5;(171). <https://doi.org/10.3791/61382>
7. Росторгуйев Э. Е., Кит О. И., Гончарова А. С., Непомнящая Е. М., Волкова А. В., Заикина Е. В., и др. Изучение противоопухолевой эффективности комбинации бортезомиба и темозоломида на подкожных pdx-моделях глиобластомы человека. Современные проблемы науки и образования. 2020;(5):121. <https://doi.org/10.17513/spno.30191>
8. Cho SY. Patient-derived xenografts as compatible models for precision oncology. Lab Anim Res. 2020 May 20;36:14. <https://doi.org/10.1186/s42826-020-00045-1>
9. Valta M, Ylä-Pelto J, Lan Y, Kähkönen T, Taimen P, Boström PJ, et al. Critical evaluation of the subcutaneous engraftments of hormone naïve primary prostate cancer. Transl Androl Urol. 2020 Jun;9(3):1120–1134. <https://doi.org/10.21037/tau.2020.03.38>
10. Janakiraman H, Zhu Y, Becker SA, Wang C, Cross A, Curl E, et al. Modeling rectal cancer to advance neoadjuvant precision therapy. Int J Cancer. 2020 Sep 1;147(5):1405–1418. <https://doi.org/10.1002/ijc.32876>
11. de Souza JC, Miguita L, Gomez RS, Gomes CC. Patient-derived xenograft models for the study of benign human neoplasms. Exp Mol Pathol. 2021 Jun;120:104630. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2021.104630>
12. Orhan K., editor. Micro-computed Tomography (micro-CT) in medicine and engineering. Berlin: Springer; 2020.
13. Rapis S, Vangestel C, Verhaeghe J, Van den Wyngaert T, Hinz R, et al. Characterization of an Orthotopic Colorectal Cancer Mouse Model and Its Feasibility for Accurate Quantification in Positron Emission Tomography. Mol Imaging Biol. 2017 Oct;19(5):762–771. <https://doi.org/10.1007/s11307-017-1051-4>
14. Sweeney N, Marchant S, Martinez JD. Intraperitoneal injections as an alternative method for micro-CT contrast enhanced detection of murine liver tumors. Biotechniques. 2019;66(5):214–217. <https://doi.org/10.2144/btn-2018-0162>
15. Baek JM, Kwak SC, Kim JY, Ahn SJ, Jun HY, Yoon KH, et al. Evaluation of a novel technique for intraperitoneal injections in mice. Lab Anim (NY). 2015 Nov;44(11):440–444. <https://doi.org/10.1038/labon.880>
16. Wathen CA, Foje N, van Avermaete T, Miramontes B, Chapaman SE, Sasser TA, et al. In vivo X-ray computed tomographic imaging of soft tissue with native, intravenous, or oral contrast. Sensors (Basel). 2013;13:6957–6980. <https://doi.org/10.3390/s130606957>
17. Boll H, Bag S, Nölte IS, Wilhelm T, Kramer M, Groden C, et al. Double-contrast micro-CT colonoscopy in live mice. Int J Colorectal Dis. 2011 Jun;26(6):721–727. <https://doi.org/10.1007/s00384-011-1181-0>
18. Choquet P, Calon A, Breton E, Beck F, Domon-Dell C, Freund JN, et al. Multiple-contrast X-ray micro-CT visualization of colon malformations and tumours in situ in living mice. C R Biol. 2007 Nov;330(11):821–827. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2007.08.002>

References

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2021 May;71(3):209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. Gevorgyan YuA, Kolesnikov VE, Soldatkina NV, Kharagezov DA, Dashkov AV, Kaymakchi DO, et al. Minimally invasive surgery in treatment of patients with metastatic colorectal cancer. South Russian Journal of Cancer. 2020;1(2):22–27. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-2-3>
3. Pulatov DA, Ibragimov JM, Kamyshov SV. Comparative assessment of toxicity of chemoresistant colorectal cancer patients. The Oncology and Radiology of Kazakhstan. 2017;2(44):58–61. (In Russ.).
4. Polikarpov AA, Tarazov PG, Kagacheva TI, Granov DA. Regional chemotherapy in treatment for unresectable colorectal cancer metastases to the liver resistant to systemic chemotherapy. Problems in Oncology. 2018;64(4):499–503. (In Russ.).
5. Bezborodova OA, Pankratov AA, Nemtsova ER, Venediktova YuB, Vorontsova MS, Engalycheva GN, et al. Anti-tumour drugs: planning preclinical efficacy and safety studies. Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. 2020;10(2):96–110. (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-96-110>
6. Xu X, Shang L, Wang P, Zhou J, Ouyang X, Zheng M, et al. Creating matched in vivo/in vitro patient-derived model pairs of pdx and pdx-derived organoids for cancer pharmacology research. J Vis Exp. 2021 May 5;(171). <https://doi.org/10.3791/61382>
7. Rostorguev EE, Kit OI, Goncharova AS, Nepomnyashaya EM, Volkova AV, Zaikina EV, et al. Study of antitumor efficacy of bortezomib combined with temozolomide in subcutaneous pdx models of human glioblastoma. Modern Problems of Science and Education. 2020;(5):121. (In Russ.). <https://doi.org/10.17513/spno.30191>
8. Cho SY. Patient-derived xenografts as compatible models for precision oncology. Lab Anim Res. 2020 May 20;36:14. <https://doi.org/10.1186/s42826-020-00045-1>
9. Valta M, Ylä-Pelto J, Lan Y, Kähkönen T, Taimen P, Boström PJ, et al. Critical evaluation of the subcutaneous engraftments of hormone naïve primary prostate cancer. Transl Androl Urol. 2020 Jun;9(3):1120–1134. <https://doi.org/10.21037/tau.2020.03.38>

10. Janakiraman H, Zhu Y, Becker SA, Wang C, Cross A, Curl E, et al. Modeling rectal cancer to advance neoadjuvant precision therapy. *Int J Cancer*. 2020 Sep 1;147(5):1405–1418. <https://doi.org/10.1002/ijc.32876>
11. de Souza JC, Miguita L, Gomez RS, Gomes CC. Patient-derived xenograft models for the study of benign human neoplasms. *Exp Mol Pathol*. 2021 Jun;120:104630. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2021.104630>
12. Orhan K., editor. *Micro-computed Tomography (micro-CT) in medicine and engineering*. Berlin: Springer; 2020.
13. Rapic S, Vangestel C, Verhaeghe J, Van den Wyngaert T, Hinz R, et al. Characterization of an Orthotopic Colorectal Cancer Mouse Model and Its Feasibility for Accurate Quantification in Positron Emission Tomography. *Mol Imaging Biol*. 2017 Oct;19(5):762–771. <https://doi.org/10.1007/s11307-017-1051-4>
14. Sweeney N, Marchant S, Martinez JD. Intraperitoneal injections as an alternative method for micro-CT contrast enhanced detection of murine liver tumors. *Biotechniques*. 2019;66(5):214–217. <https://doi.org/10.2144/btn-2018-0162>
15. Baek JM, Kwak SC, Kim JY, Ahn SJ, Jun HY, Yoon KH, et al. Evaluation of a novel technique for intraperitoneal injections in mice. *Lab Anim (NY)*. 2015 Nov;44(11):440–444. <https://doi.org/10.1038/labani.880>
16. Wathen CA, Foje N, van Avermaete T, Miramontes B, Chapaman SE, Sasser TA, et al. In vivo X-ray computed tomographic imaging of soft tissue with native, intravenous, or oral contrast. *Sensors (Basel)*. 2013;13:6957–6980. <https://doi.org/10.3390/s130606957>
17. Boll H, Bag S, Nölte IS, Wilhelm T, Kramer M, Groden C, et al. Double-contrast micro-CT colonoscopy in live mice. *Int J Colorectal Dis*. 2011 Jun;26(6):721–727. <https://doi.org/10.1007/s00384-011-1181-0>
18. Choquet P, Calon A, Breton E, Beck F, Domon-Dell C, Freund JN, et al. Multiple-contrast X-ray micro-CT visualization of colon malformations and tumours in situ in living mice. *C R Biol*. 2007 Nov;330(11):821–827. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2007.08.002>

Информация об авторах:

Гончарова Анна Сергеевна – к.б.н., заведующая испытательным лабораторным центром, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>, SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424, Scopus Author ID: 57215862139

Ходакова Дарья Владиславовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3753-4463>, SPIN: 8718-3983, AuthorID: 1056414, Scopus Author ID: 57221463056

Галина Анастасия Владимировна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7823-3865>, SPIN: 9171-4476, AuthorID: 1071933, Scopus Author ID: 57221460594

Заикина Екатерина Владиславовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0088-2990>, SPIN: 4000-4369, AuthorID: 1045258, Scopus Author ID: 57221463270

Курбанова Луиза Зулкаидовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3436-1325>, SPIN: 9060-4853, AuthorID: 1020533

Миндарь Мария Вадимовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8734-9210>, SPIN: 5148-0830, AuthorID: 1032029, Scopus Author ID: 57217235360

Гурова Софья Валерьевна – лаборант-исследователь испытательного лабораторного центра, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9747-8515>

Information about authors:

Goncharova S. Anna – Cand. Sci. (Biol.), head of the testing laboratory center, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>, SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424, Scopus Author ID: 57221463056

Khodakova V. Darya – junior researcher at the testing laboratory center, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3753-4463>, SPIN: 8718-3983, AuthorID: 1056414, Scopus Author ID: 57221463056

Anastasia V. Galina – junior researcher at the testing laboratory center, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7823-3865>, SPIN: 9171-4476, AuthorID: 1071933, Scopus Author ID: 57221460594

Ekaterina V. Zaikina – junior researcher at the testing laboratory center, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0088-2990>, SPIN: 4000-4369, AuthorID: 1045258, Scopus Author ID: 57221463270

Luiza Z. Kurbanova – junior researcher at the testing laboratory center, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3436-1325>, SPIN: 9060-4853, AuthorID: 1020533

Maria V. Mindar – junior researcher at the testing laboratory center, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8734-9210>, SPIN: 5148-0830, AuthorID: 1032029, Scopus Author ID: 57217235360

Gurova V. Sofya – laboratory assistant-researcher at the testing laboratory center, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9747-8515>

Вклад авторов:

Гончарова А. С. – концепция и дизайн исследования;
 Ходакова Д. В. – экспериментальная часть исследования;
 Галина А. В. – написание текста;
 Заикина Е. В. – анализ и интерпретация данных;
 Курбанова Л. З. – редактирование рукописи;
 Миндарь М. В. – оформление таблиц и рисунков;
 Гурова С. В. – сбор и оформление библиографии.

Authors contribution:

Goncharova A. S. – research concept and design;
 Khodakova D. V. – experimental part of the study;
 Galina A. V. – text writing;
 Zaikina E. V. – analysis and interpretation of data;
 Kurbanova L. Z. – editing the manuscript;
 Mindar M. V. – design of tables and figures;
 Gurova S. V. – collection and design of the bibliographic.