



ФГБУ
НМИЦ ОНКОЛОГИИ
им. Н.Н. Петрова
Минздрава России



Доклинические модели для оценки эффективности противоопухолевых препаратов

к.м.н. Панченко А.В.

Санкт-Петербург
19 сентября 2019 года

права принадлежат
НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Петрова

ИСТОРИЯ ОНКОЛОГИИ

© Коллектив авторов, 2011
УДК 616-006(091)

Вопросы онкологии, 2011, том 57, № 1

В.Н. Анисимов, М.А. Забежинский, И.Г. Попович

К 85-ЛЕТИЮ СОЗДАНИЯ ПЕРВОЙ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

ФГУ НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова Минздравсоцразвития РФ, Санкт-Петербург

*Светлой памяти Н.Н.Петрова,
Н.А.Кроткиной и Н.П.Напалкова
посвящается*

В 2011 г. исполняется 85 лет с момента основания старейшей отечественной лаборатории, занимающейся изучением причин возникновения и закономерностей развития опухолей в условиях эксперимента. Она была создана проф. Н.Н.Петровым в 1926 г. при организации Института онкологии на базе больницы им. И.И.Мечникова в Ленинграде [24, 29]. Лаборатория возникла не случайно. По воспоминаниям Л.М.Шабада [49], первые исследования по экспериментальному изучению дегтярного рака в нашей стране были начаты в Петрограде ещё в 1920 г. одновременно в двух лабораториях — Н.Н.Петрова и Г.В.Шора. В 1-м Медицинском институте в лаборатории при кафедре госпитальной хирургии, которой заведовал Н.Н.Петров, он вместе со своей помощницей — ассистенткой клиники Н.А.Кроткиной провел первые в России опыты со смазыванием каменноугольной смолой ушей кроликов и подтвердил результаты японских исследователей Ямагивы и Ичикавы [24].

На протяжении многих лет лаборатория подвергалась организационным изменениям и не раз меняла свое название в соответствии с теми



Член-корреспондент АН СССР, академик АМН СССР
Николай Николаевич Петров (1876–1964).



Проф. Н.А. Кроткина



Акад.РАМН Н.П.Напалков

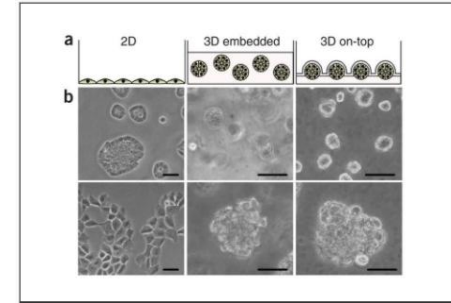


ФГБУ
НМИЦ ОНКОЛОГИИ
им. Н.Н. Петрова
Минздрава России

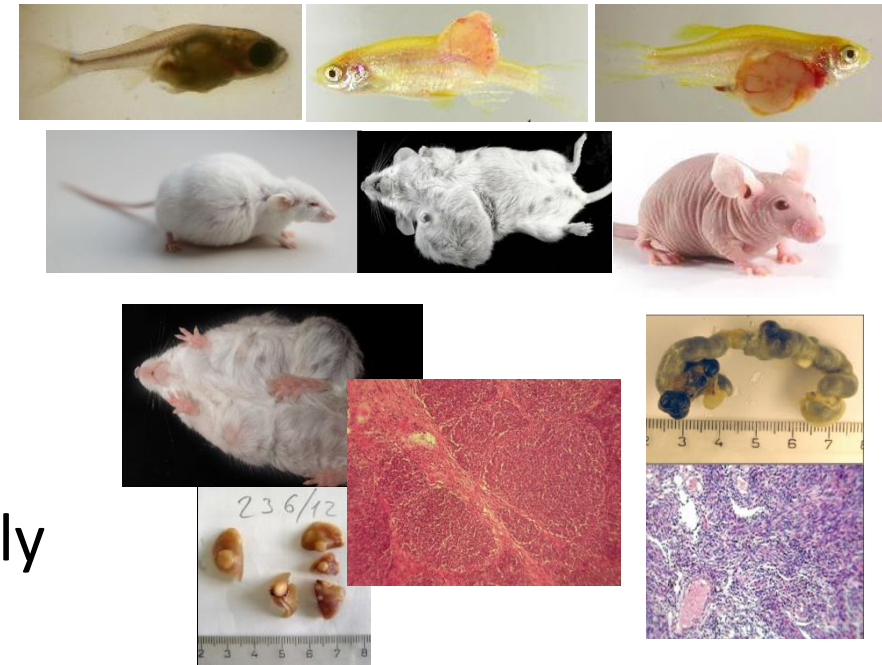
Научная лаборатория
канцерогенеза и
старения

Доклинические модели в онкологии

- Клеточные культуры (2D, 3D)
- *Danio rerio* - модельный объект экспериментальной онкологии
- Модели перевиваемых опухолей у крыс и мышей (сингенные, ксенотрансплантатные, генно-модифицированные опухоли)
- Спонтанные опухоли у крыс и мышей
- Модели индуцируемых опухолей у крыс и мышей
- Модели опухолей у генетически модифицированных мышей (GEMM - Genetically engineered mouse models)



*Nature
Methods
volume 4,
pages 359–365
(2007)*

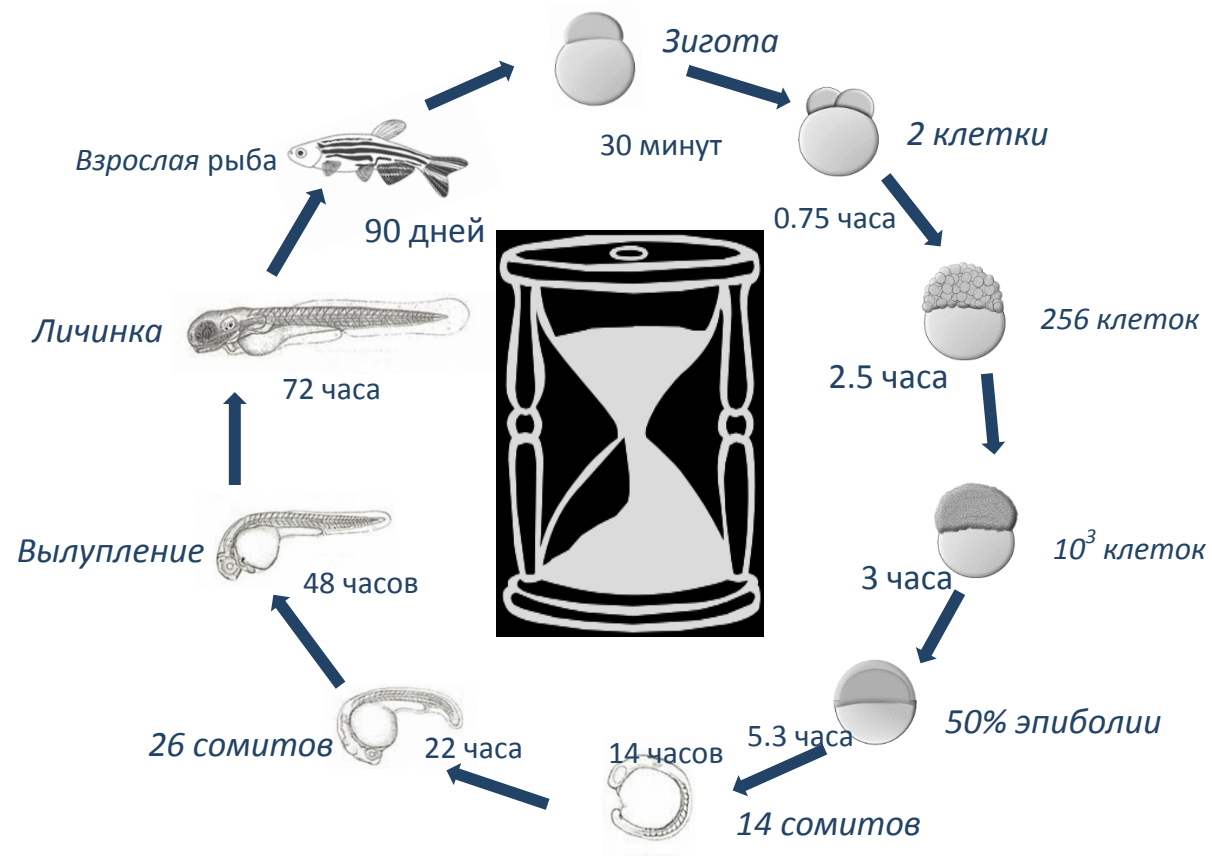


Аквариумный комплекс



Мизгирев И.В., научная лаборатория канцерогенеза и старения

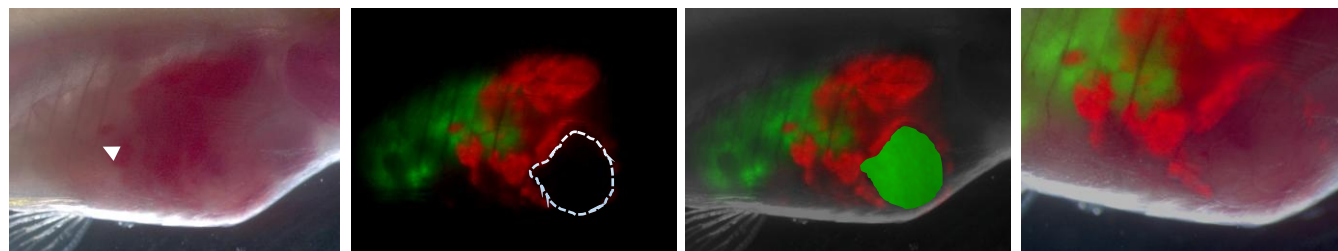
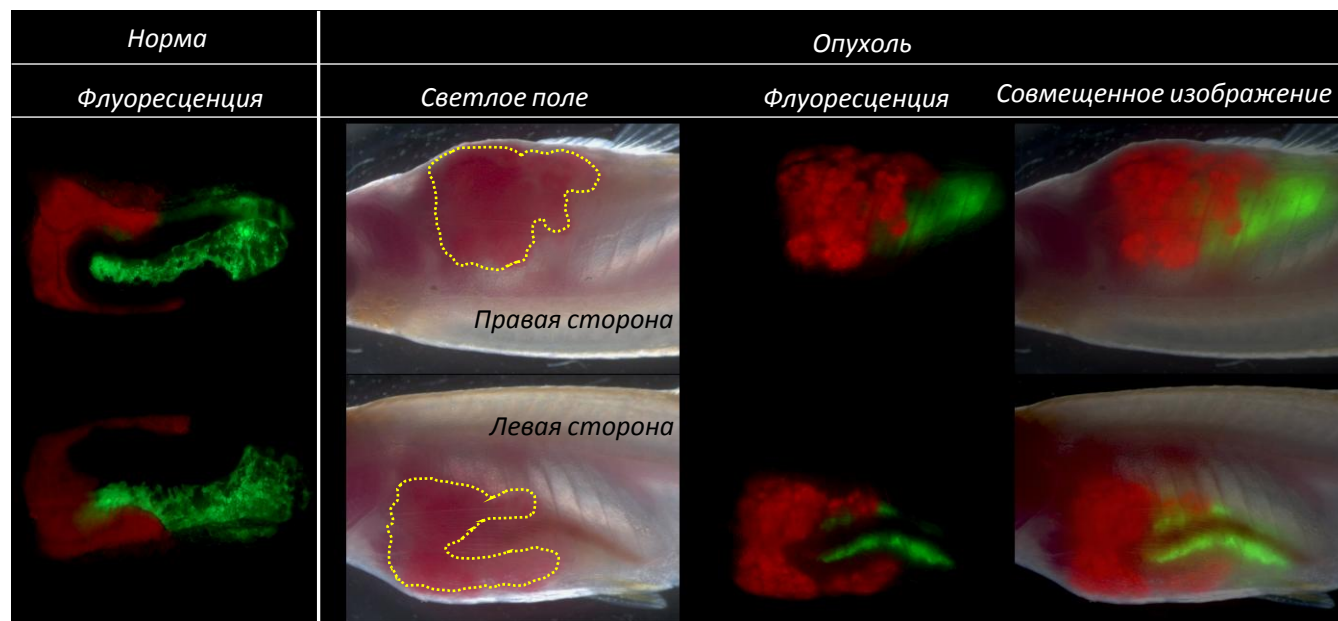
Жизненный цикл *Danio rerio*



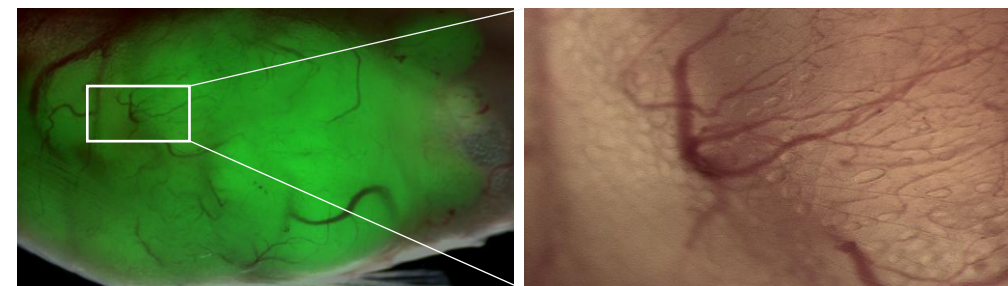


Гепатоцеллюлярная карцинома, индуцированная ДЭНА

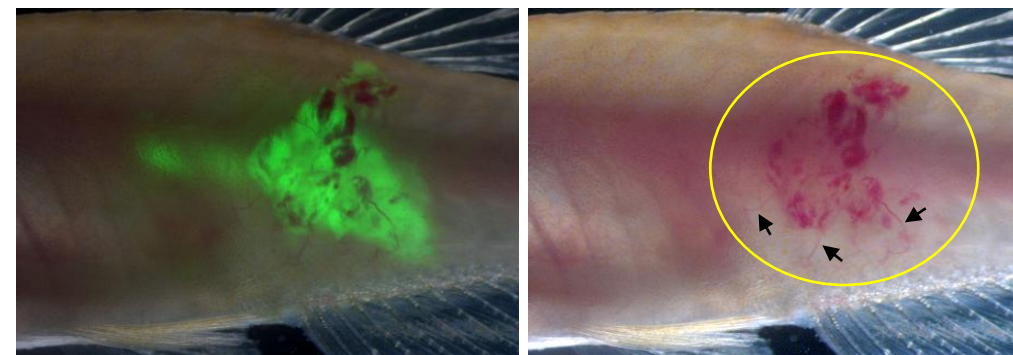
(транспарентная **трансгенная** линия)



Рабдомиосаркома - визуализация ангиогенеза в опухоли



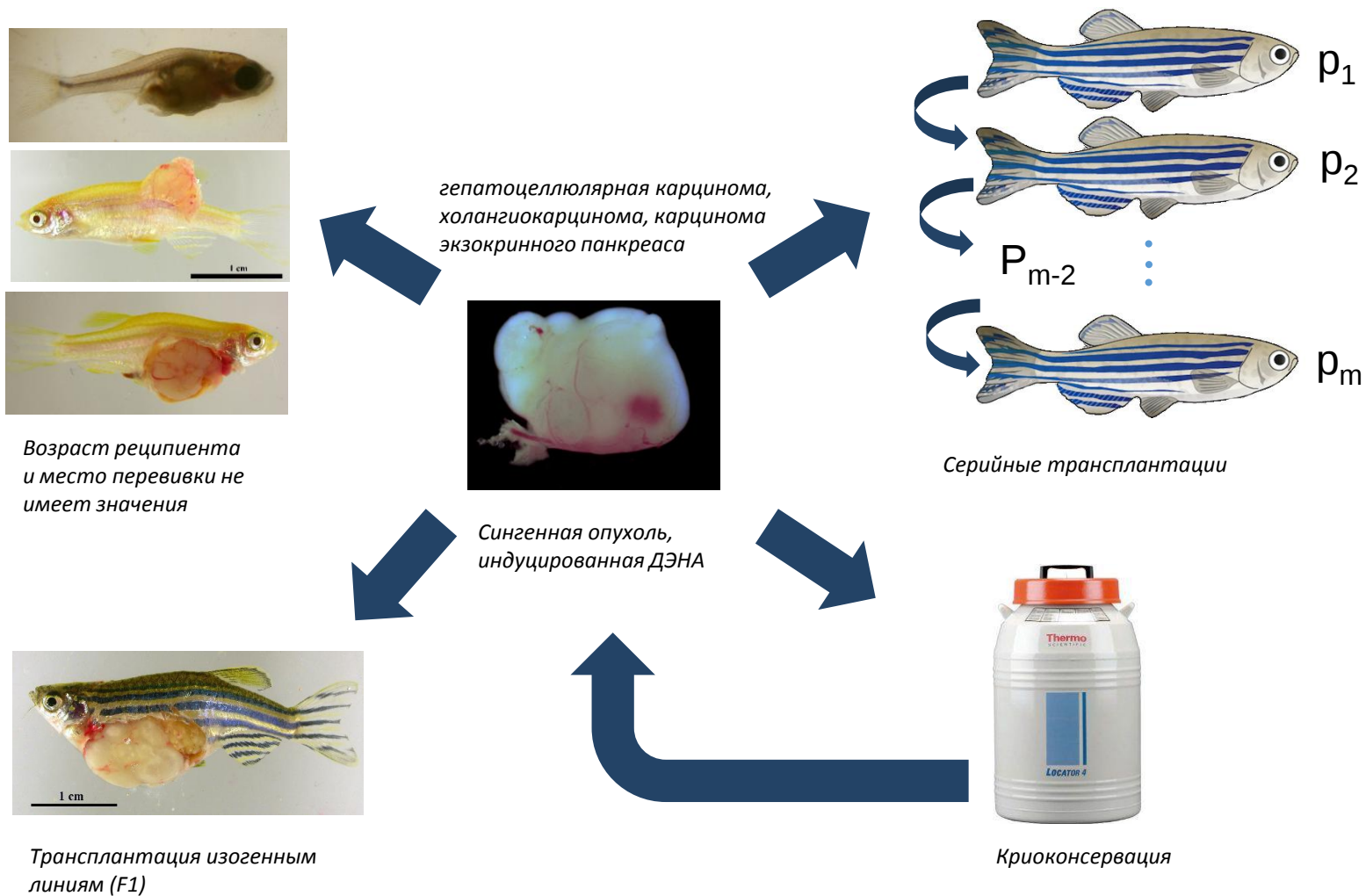
Нормальный рост сосудов в опухоли после i.p. трансплантации



Аномальный рост сосудов в опухоли после s.c. трансплантации



Трансплантации опухолей клональным рыбам





Модели перевиваемых опухолей у крыс и мышей



Крысы:

Карциносаркома Уокера-256

Лимфосаркома Плисса

ОЯ – карцинома яичника

Карцинома Герена

Гепатома Зайделя

Глиома С6

Мыши:

HER2 - карцинома молочной железы

Карцинома Эрлиха

LLC – карцинома легкого Льюис

L-1210 – лейкоз

P388 - лейкоз

Sa-180 – саркома-180

B16 - меланома

A-755 – рак молочной железы

Гепатома-27

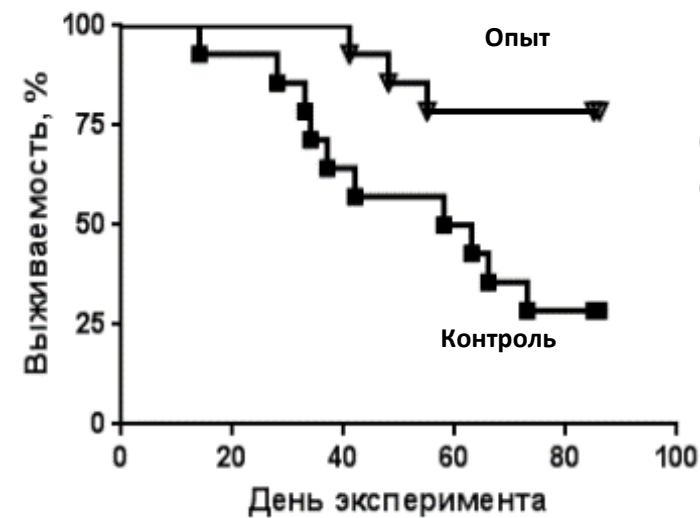
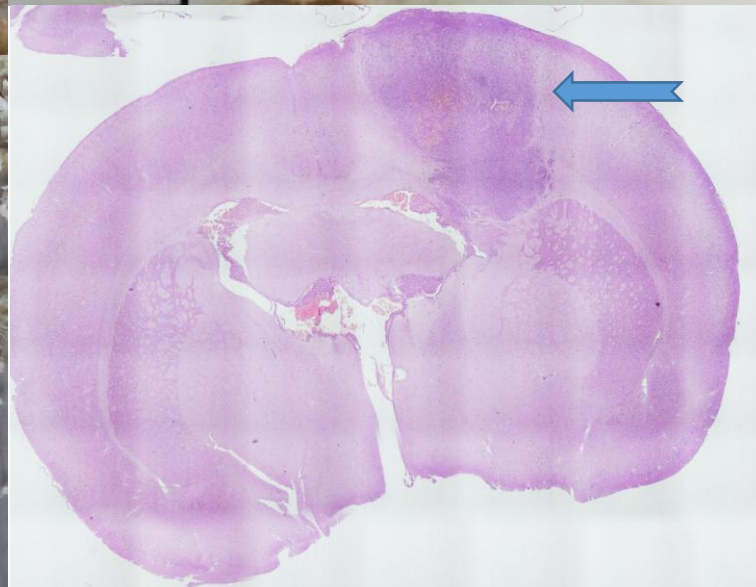
Гепатома-22

АКАТОЛ – аденокарцинома толстой кишки

РШМ-5 – рак шейки матки



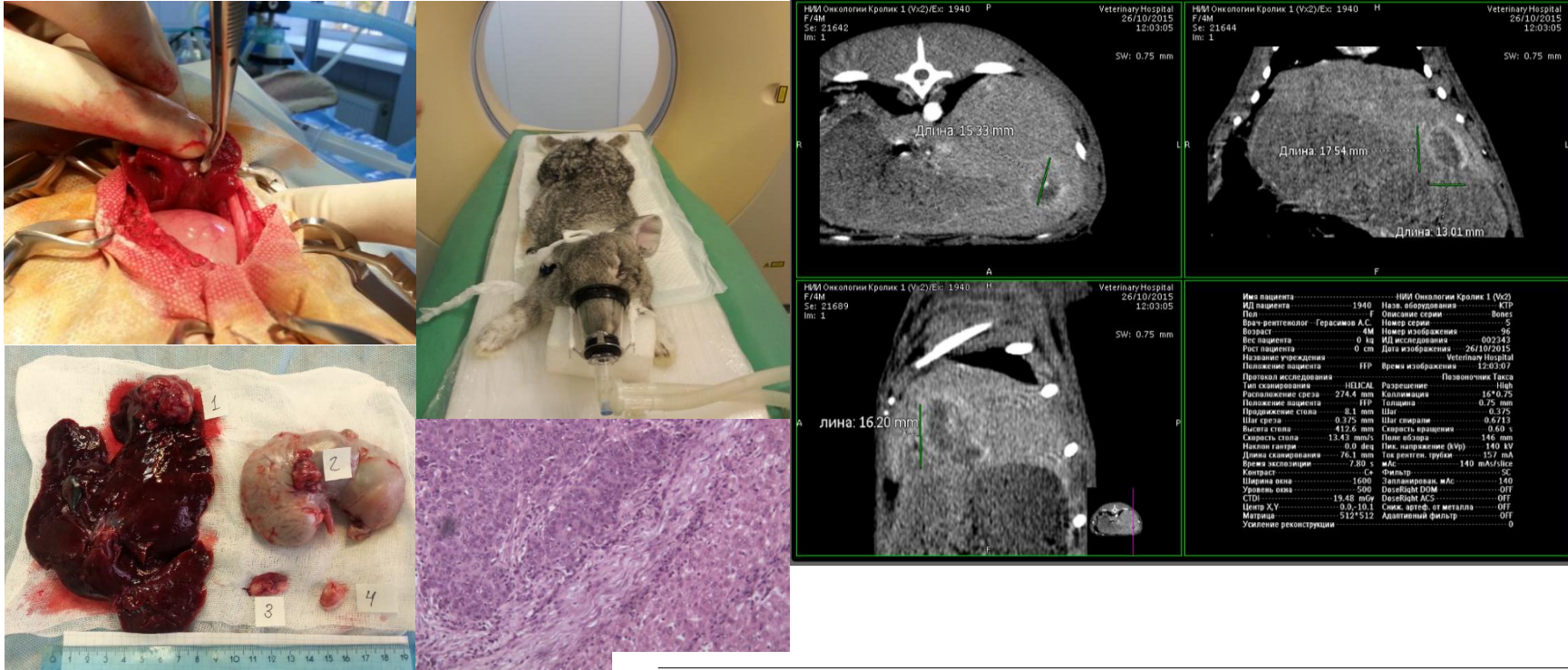
Ортотопическая трансплантация глиомы С6



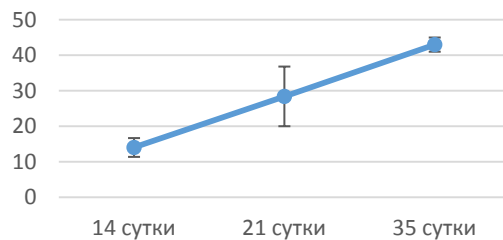
ТРО=124 %



Гетеротопическая трансплантация опухоли VX2 в печень у кроликов



Средний линейный размер
опухоли, мм



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Б. Экспериментальные исследования

© Коллектив авторов, 2017
УДК 616.36-006

Вопросы онкологии, 2017. Том 63, № 5

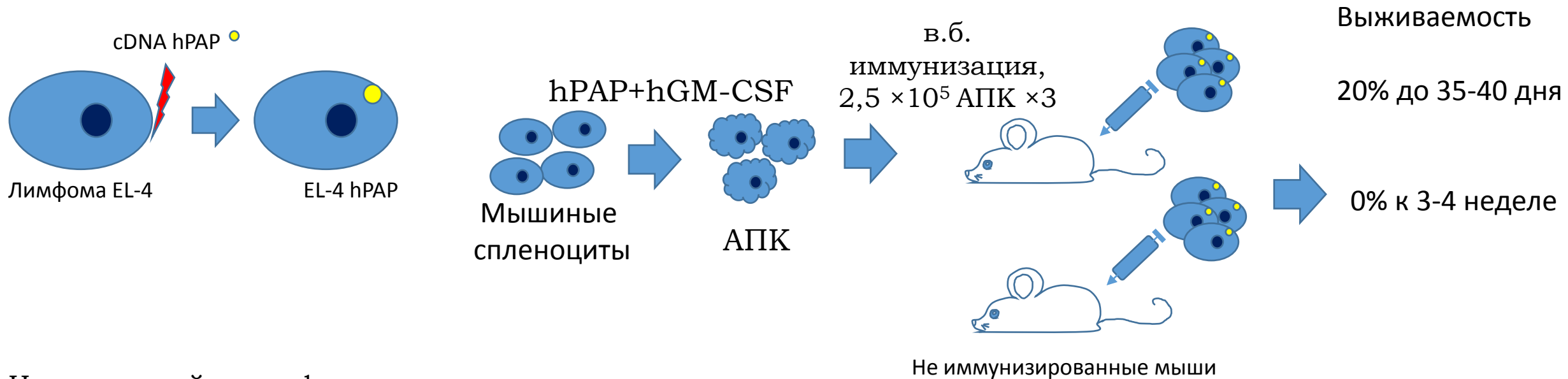
А.В. Панченко¹, Е.А. Плахов¹, Е.А. Губарева¹, К.С. Хитрин², Л.С. Гузеватых²,
В.Ю. Балабаньян²

Моделирование солидного рака печени у кролика

¹ ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург,
² ООО «Технология лекарств», Московская область

Доклиническая модель для оценки вакцины Провенж (Provenge) для персонализированной иммунотерапии рака простаты

Провенж – вакцина на основе аутологических АПК, полученных из мононуклеаров крови, активированная рекомбинантным гибридным белком PA2024, состоящим из фосфатазы PAP и GM-CSF.



Из-за видовой специфичности для оценки иммуногенности была также создана аналогичная молекула для грызунов: rPAP+rGM-CSF и hPAP+mGM-CSF.

Стоимость курса лечения \$ 141 000

<https://ru.wikipedia.org/wiki/Провенж>

Моделирование опухолей человека у иммунодефицитных мышей

№ культуры	N клеток	Пол	Опухоль	Рост опухоли in vivo	
1	921	2,5x10 ⁶	♂/♀	остеогенная саркома	+/-
	921	5x10 ⁶	♀	остеогенная саркома	+
2	924	2,8x10 ⁶	♂	миксофибросаркома	-
3	967	1,6x10 ⁶	♂	хондросаркома	-
4	976	1,3x10 ⁶	♂	шваннома	-
5	971	2,1x10 ⁶	♂	лейомиосаркома	-
6	961	2,3x10 ⁶	♂	липосаркома	-
7	927	2,7x10 ⁶	♂	альвеолярная саркома	-
8	716	2,9x10 ⁶	♂	синовиальная саркома	-
9	520	3,1x10 ⁶	♂	меланома	-
	520	5x10 ⁶	♀	меланома	-
10	226	5x10 ⁶	♂	меланома	+
11	512	5x10 ⁶	♀	рак молочной железы	+

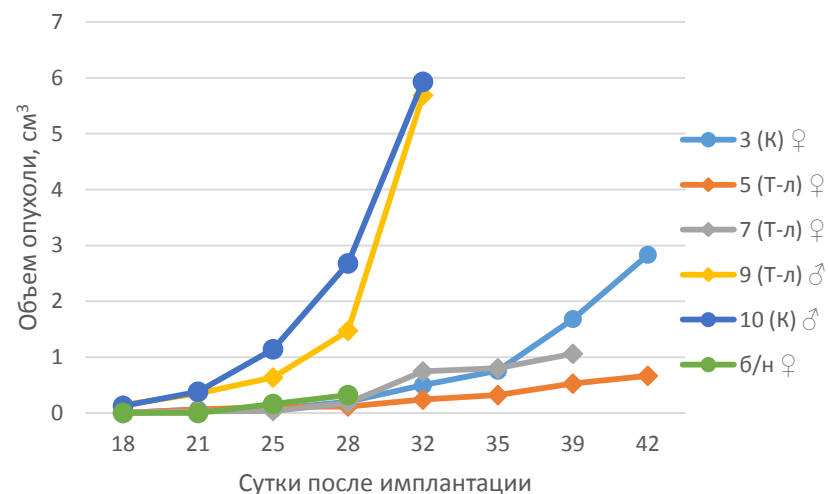


Научный отдел онкоиммунологии

Виварий

Научная лаборатория канцерогенеза и старения

Динамика роста опухоли остеогенной саркомы (культура 921) человека у мышей линии NU/NU



Сотрудничество:

Институт экспериментальной медицины

ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России



Модели опухолей у генетически модифицированных мышей

Влияние постоянного освещения и мелатонина на развитие аденокарцином молочной железы у мышей FVB трансгенных по *HER-2/neu*

Группа	N	Мышей с ОМЖ	Размер опухоли, см	ОМЖ / мышь
LD	30	23 (77%)	1,9	3,3
LL-300 лк	28	20 (71%)	1,8	5,2*
LL-2500 лк	38	19 (96%)	2,9*	4,8*
LL + MT	22	13 (59%)	1,3*	3.5*

* $P < 0.05$

Anisimov et al., Int. J. Cancer, 2004



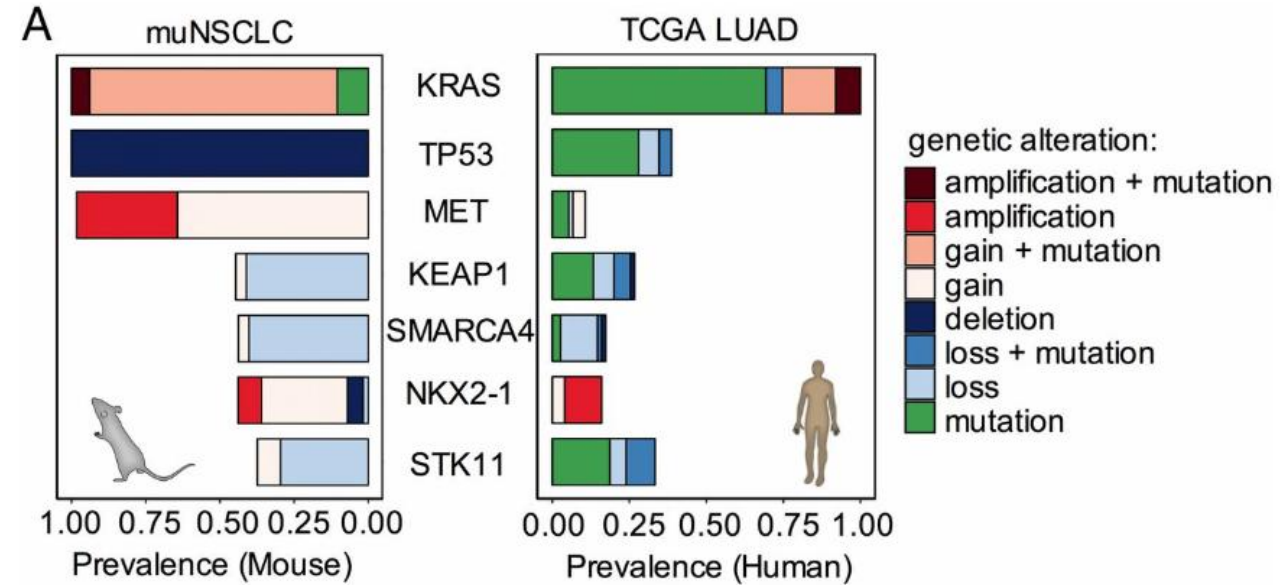
Первые ОМЖ формируются у мышей в возрасте 5-6 месяцев, средняя продолжительность жизни 9 месяцев.

KRAS мутантные генно-инженерные модели рака человека

Модель немелкоклеточного рака легкого (NSCLC) с индуцированной аденовирусом экспрессией *KrasG12D* и гомозиготного нокаута *p53* (**KP**: *Kras*^{LSL.G12D/wt}; *p53*^{frt/frt})

Две модели протоковых аденокарцином поджелудочной железы (PDAC) индуцированные *Pdx1*-управляемой экспрессией рекомбиназы с индукцией экспрессии *KrasG12D* с гетерозиготной утратой *p16/p19* (*Cdkn2a*) в сочетании с мутацией *p53* (**KPR**: *Kras*^{LSL.G12D/wt}; *p16/p19*^{fl/wt}; *p53*^{LS L.R270H/wt}; *Pdx1.Cre*) или с гомозиготной утратой *p16/p19* (*Cdkn2a*) без мутации *p53* (**KPP**: *Kras*^{LSL.G12D/wt}; *p16/p19*^{fl/fl}; *Pdx1.Cre*)

KPR и KPP мыши в возрасте 16 и 9 недель имеют 1-3 опухоли, соответственно.



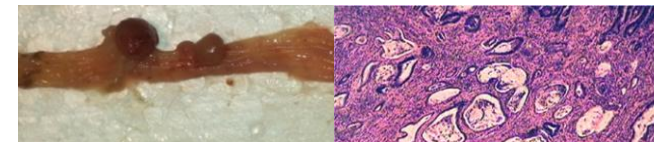
Мутации семейства RAS обнаружены при >80% локализаций рака, в большинстве случаев в KRAS



Модели индуцируемых опухолей у крыс

Химический канцерогенез

Желудок:	N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин
Толстая кишка:	1,2-диметилгидразин; N-нитрозометилмочевина
Молочная железа:	N-нитрозометилмочевина 7,12-диметилбенз(а)антрацен
Печень:	N-нитрозодиэтиламин
Почки:	N-нитрозоэтилмочевина трансплацентарно
Мочевой пузырь:	N-бутил-нитрозобутиламин
Нервная система:	N-нитрозоэтилмочевина трансплацентарно
Яичники:	операция Бискиндов
Мягкие ткани:	N-нитрозометилмочевина, диметилбензантрацен, бензо(а)пирен
Простата:	N-нитрозометилмочевина + андрогены



Канцерогенез толстой кишки (1,2-диметилгидразин)

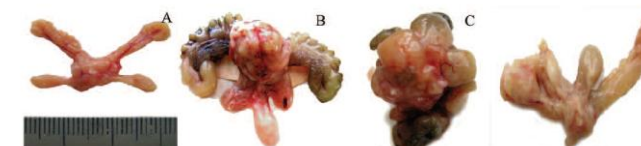


Рис. 4. Рак ПЖ, макроскопический вид. А – нормальная ПЖ; В – рак дорсолатерального отдела; С – рак, поражающий все отделы; D – рак передней доли

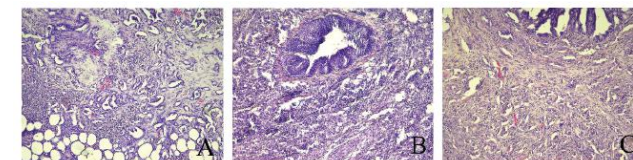


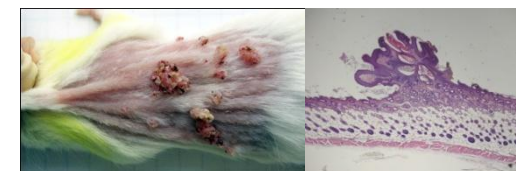
Рис. 6. Аденокарцинома ПЖ: А – вентральной доли ПЖ; В – дорсолатерального отдела; С – передней доли. Гематоксилин/эозин, $\times 270$



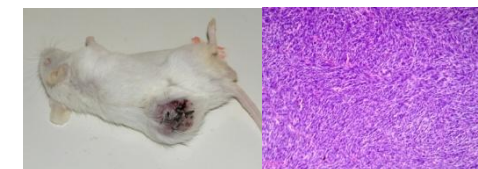
Модели индуцируемых опухолей у мышей

Химический канцерогенез

Кожа:	7,12-диметилбензантрацен, бензо(а)пирен + 12-О-тетра-деканойлфорбол-13-ацетат
Подкожная клетчатка:	7,12-диметилбензантрацен, бензо(а)пирен
Легкие:	уретан
Молочная железа:	эстрогены
Шейка матки и влагалище:	7,12-диметилбензантрацен, N-нитрозометилмочевина
Матка:	1,2-диметилгидразин



Папилломы кожи (ДМБА+ТФА)



Злокачественные саркомы
(бензо(а)пирен)

Методика определения антиканцерогенных свойств препаратов in vivo

Пособие для врачей

Составители: И.Г. Попович, М.А. Забежинский, В.Н. Анисимов

Санкт-Петербург – 2003 г.



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ»

РУКОВОДСТВО ПО ПРОВЕДЕНИЮ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Часть первая

Москва
2012

ГЛАВА 8

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДОКЛИНИЧЕСКОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ КАНЦЕРОГЕННЫХ СВОЙСТВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В ХРОНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ НА ЖИВОТНЫХ

Составители: д. м. н., проф. Л.Н. Пылев; О.В. Смирнова; д. м. н., проф. Е.В. Арзамасцев;
д. м. н., проф. В.Н. Анисимов; д. м. н., проф. Г.Б. Плисс; д. м. н., проф. М.А. Забежинский;
д. м. н., проф. Г.Я. Липатов

Введение

Исследование потенциальной канцерогенной активности ЛС и фармакологических веществ (ФВ) на стадии разработки имеет много общего с методическими принципами изучения канцерогенности вообще химических веществ и биологических продуктов.

Имеющиеся отличия в подходах при исследовании канцерогенности химических веществ и ЛС состоят в необходимости учета при тестировании последних некоторых таких особенностей, как:

- назначение пациентам с различной патологией, включая генетические повреждения и гормональные нарушения;
- применение ЛС в фиксированных диапазонах доз и длительности введения (иногда пожизненно);
- использование у людей различного возраста (включая детский и старческий);
- назначение беременным и кормящим женщинам;
- использование в качестве профилактических и косметических средств;
- неконтролируемое применение при безрецептурном отпуске.

Необходимо разделение ЛС на принципиально новые, не имеющие химических аналогов; вновь синтезируемые в известных химических рядах; воспроизводимые; выделенные из растений; полученные биотехнологическими и генноинженерными методами.

Несмотря на ряд ограничений и критических замечаний, только хронические эксперименты на лабораторных животных остаются единственными для обоснованного заключения о канцерогенной опасности для человека ЛС.

В связи с возрастающими требованиями к безопасности ЛС на стадии их доклинического токсикологического изучения возникла необходимость пересмотра и уточнения некоторых положений «Методических рекомендаций по исследованию канцерогенных свойств фармакологических веществ» (1988, 2000, 2005 гг.).

Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

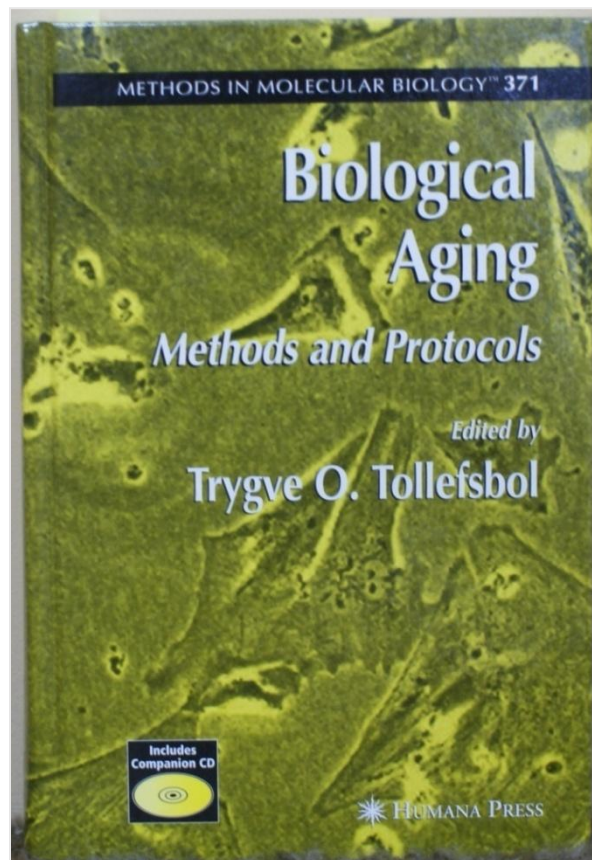
1.2. ГИГИЕНА, ТОКСИКОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ

Исследование канцерогенных свойств химических веществ и биологических продуктов в хронических опытах на животных

Методические рекомендации
МР 1.2.0068—12

Издание официальное

Москва • 2012



From: *Methods in Molecular Biology: Biological Aging: Methods and Protocols*
 Edited by: T. O. Tollefsbol © Humana Press Inc., Totowa, NJ 2007

17

Methods of Evaluating the Effect of Pharmacological Drugs On Aging and Life Span in Mice

Vladimir N. Anisimov, Irina G. Popovich, and Mark A. Zabezhinski



Summary

The methodology of testing anti-aging drugs in laboratory mice is presented. It includes the selection of mouse strain, sex, age at start of treatment, housing conditions, design of the long-term study, some noninvasive methods of assessment, pathology examination, and statistical treatment of the results.

Chapter 12



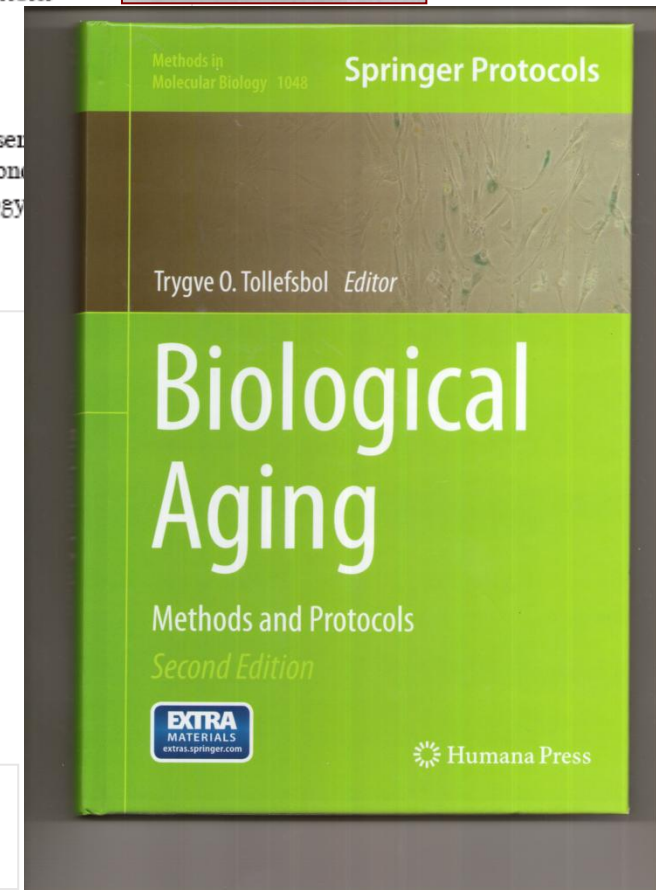
Methods of Testing Pharmacological Drugs Effects on Aging and Life Span in Mice

Vladimir N. Anisimov, Irina G. Popovich, and Mark A. Zabezhinski

Abstract

The methodology of testing antiaging drugs in laboratory mice is presented. It is based on more than 40-year-long authors' experience in the field and includes the selection of mouse strain, sex, age at start of

Trygve O. Tollefsbol (ed.), *Biological Aging: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology, vol. 1048, DOI 10.1007/978-1-62703-556-9_12, © Springer Science+Business Media New York 2013



Исследуемые параметры:

Ежедневно: клинический осмотр

Еженедельно: животные пальпируются для выявления опухолей, могут быть применены инструментальные методы исследования

Ежемесячно (или чаще):

- Вес тела
- Потребление корма и воды

Каждые три месяца:

- Эстральная функция
- Ректальная температура
- Поведенческие и психологические тесты
- Двигательная активность
- Физическая работоспособность

Postmortem:

- Патоморфологические исследования (частота развития опухолей)
- Продолжительность жизни, скорость старения
- Математическое моделирование

Спасибо за внимание!

