

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616-006.04

О. Н. Дерябина, Н. А. Плотникова, П. М. Канаев

МОРФОГЕНЕЗ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА ПРИ КОРРЕКЦИИ МЕЛАТОНИНОМ И МЕТФОРМИНОМ

Аннотация.

Актуальность и цели: изучение влияния мелатонина и метформина при раздельном и сочетанном применении на канцерогенез кожи, индуцируемый бенз(а)пиреном у мышей.

Материалы и методы. 120 мышей были разделены на четыре группы: три опытные группы по 30 мышей, 30 животных – контрольная группа по канцерогену. Животным всех четырех групп наносили бенз(а)пирен в дозе 0,2 мл на мышь два раза в неделю. Производился подсчет общего числа опухолевых узлов кожи, определялись их размеры.

Результаты. Установлено, что при гистологическом исследовании наблюдалась картина, характерная для плоскоклеточного ороговевающего рака и папиллом кожи в группе контроля и в группах, получавших мелатонин и метформин. Число животных с гистологически верифицированными папилломами кожи составило в контроле 27 %, при введении мелатонина – 30 %, при введении метформина – 40 %, при совместном применении мелатонина и метформина – 30 %. При введении мелатонина число животных со злокачественными опухолями составило 37 %, при применении мелатонина совместно с метформином данный показатель составил 20 %.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что мелатонин и метформин оказывают выраженный онкостатический эффект, проявляемый в уменьшении множественности, размеров опухолевых узлов.

Ключевые слова: индуцированный канцерогенез, опухоли кожи, препараты антиоксидантного типа действия.

О. N. Deryabina, N. A. Plotnikova, P. M. Kanaev

MORPHOGENESIS OF TUMORAL GROWTH AT CORRECTION BY MELATONINE AND METFORMINE

Abstract.

Background. The article aims at studying the influence of melatonin and metformine at separate and combined application on the carcinogenesis of skin induced by benzo[a]pyrene at mice.

Materials and methods. 120 mice were divided into 4 groups: 3 experimental groups of 30 mice in each, 30 animals – a control group of carcinogen. To animals of all four groups the authors introduced benzo[a]pyrene in a dose of 0,2 ml per

mouse two times a week. Calculation of total number of tumoral knots of skin was made, the sizes thereof were defined.

Results. It is established that at histologic research the authors observed the pattern, typical for a planocellulare cornescens cancer and skin papillomas in the control group and in the groups receiving melatonine and metformine. The number of animals with histologically verified papillomas of skin totaled 27 % in control. In case of melatonine introduction – 30 %, at introduction of metformine – 40 %, at joint use of melatonine and metformine – 30 %. At melatonine introduction the number of animals with malignant tumors totaled 37 %, at melatonine application together with metformine the percentage totaled 20 %.

Conclusions. The received results testify that melatonine and metformine have an expressed oncostatic effect displayed in reduction of plurality, the sizes of tumoral knots.

Key words: induced carcinogenesis, melanoma, preparations of metabolic effect.

Введение

Согласно свободнорадикальной теории опухолевого роста, для коррекции морфогенеза и патогенеза неоплазий возможно использование препаратов антиоксидантного типа действия с целью выявления онкостатического эффекта и положительной динамики патоморфологической картины [1].

Цель исследования – изучение влияния мелатонина и метформина на развитие опухолей эпидермального гистогенеза.

Материал и методы исследования

Эксперимент был поставлен на 120 самках нелинейных белых мышей SHR/u. 120 мышей были поделены на четыре группы: три опытные группы по 30 животных, 30 животных составили контрольную группу по канцерогену. Животным всех четырех групп наносили на предварительно выбритый участок кожи спинки (межлопаточная область) диаметром 1,5–2 см бенз(а)пирен (БП) (Fluka, Busch, Швейцария) в концентрации 0,05 %, растворенный в ацетоне, в дозе 0,2 мл на мышь два раза в неделю.

Со следующего дня после введения канцерогена животные первой группы получали с питьевой водой в ночные часы (с 19.00 до 07.00) мелатонин (Sigma, St.Louis; MS, США) в дозе 2 мг/л. Раствор мелатонина готовился ежедневно *ex tempore*. Мелатонин растворяли в нескольких каплях 96 % этилового спирта и доводили до нужной концентрации водопроводной водой. Животные второй группы получали с питьевой водой в течение всего дня метформин (БЕРЛИН-ХЕМИ АГ/МЕНАРИНИ ГРУПП, Германия) в дозе 200 мг/л. Раствор метформина (сиофор 500) готовился ежедневно *ex tempore*. Метформин растворяли в нескольких миллилитрах теплой воды и доводили до нужной концентрации водопроводной водой. Животные третьей группы получали с питьевой водой в течение всего дня метформин в дозе 200 мг/л и в ночные часы (с 19.00 до 07.00) мелатонин в дозе 2 мг/л.

Животные четвертой группы составили контрольную группу по канцерогену и получали питьевую воду без добавления мелатонина и метформина.

Результаты

Через 90 суток от начала аппликаций бенз(а)пиреном у мышей контрольной группы сформировались узелки в месте воздействия канцерогена.

По своей структуре опухолевидные образования плотно-эластической консистенции, несколько выступающие над поверхностью неизмененных кожных покровов. Форма округлая или округло-овальная. Размеры не превышают 2 мм (рис. 1). В экспериментальных группах введение мелатонина и метформина не привело к статистически значимому изменению времени появления первого опухолевого узла и составило в среднем 93 суток.



Рис. 1. Папиллома кожи у мыши контрольной группы на ранних стадиях развития

В динамике узлы теряли подвижность, становились несмещаемыми и увеличивались в размерах (рис. 2), изъязвлялись с формированием язв с подрытыми плотными краями и западающим дном (рис. 3). Макроскопически опухолевые узлы у животных экспериментальных групп не отличались от таковых у мышей в контрольной группе.

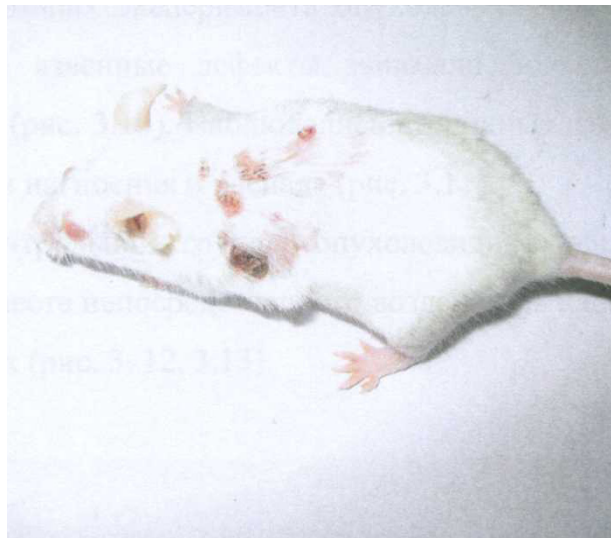


Рис. 2. Множественные опухолевые узлы у мыши контрольной группы

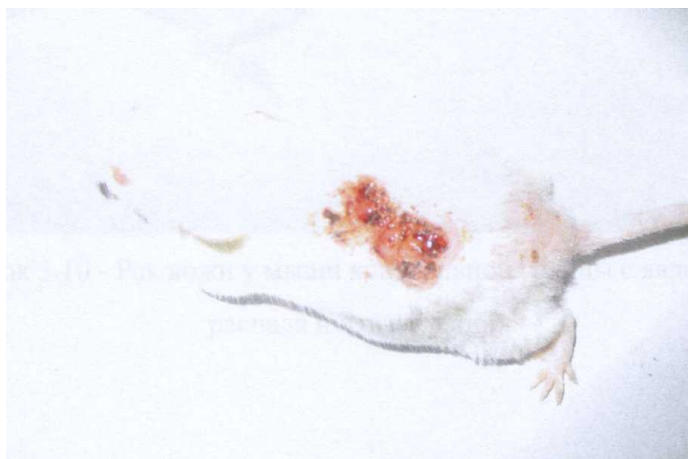


Рис. 3. Распад опухолевых узлов с формированием язвенных дефектов у мыши контрольной группы

На заключительных этапах эксперимента опухолевые узлы достигли значительных размеров, и язвенные дефекты занимали большую часть поверхности спинки мыши (рис. 4). Наблюдались вторичные изменения в тканях опухоли с явлениями нагноения и распада (рис. 5).



Рис. 4. Рак кожи у мышей контрольной группы с явлениями распада и изъязвления

У части мышей контрольной группы опухолевидные образования располагались не только в месте непосредственного воздействия канцерогена, но и на отдаленных участках (рис. 6, 7)

При микроскопическом исследовании наблюдалась гистологическая картина, характерная для плоскоклеточного ороговевающего рака и папиллом кожи [2]. Морфологическая структура плоскоклеточных раков и папиллом кожи в группе контроля и в группах, получавших мелатонин и метформин, была одинаковой.

При изучении микроскопического строения опухолей можно было выявить различные стадии их морфогенеза. Так, на ранних этапах опухолевого роста отмечается диффузное разрастание покровного эпителия и его deriva-

тов. Впоследствии появляются атипичские разрастания, имеющие склонность к ороговению в центре. Из подобных очаговых пролифератов возникают уже сформировавшиеся опухоли (рис. 8).



Рис. 5. Вторичные изменения в виде нагноения и распада опухолевых узлов у мыши контрольной группы



Рис. 6. Опухолевые узлы различной локализации у мыши контрольной группы



Рис. 7. Язвенный дефект с явлениями нагноения и распада на коже спинки и опухолевидное образование в области передней лапы у мыши контрольной группы

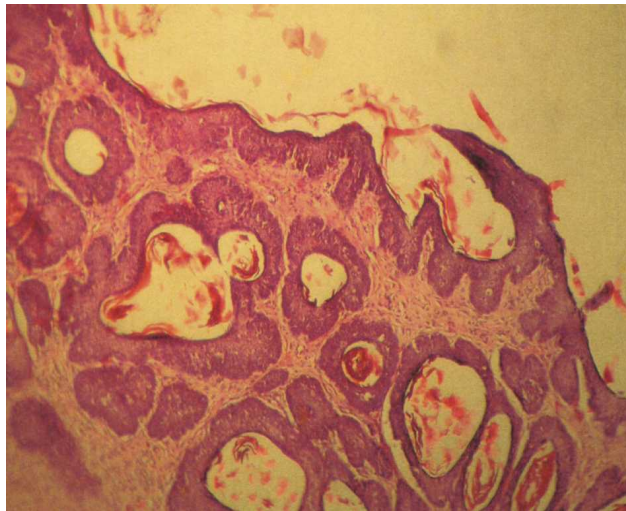


Рис. 8. Папиллома кожи мыши контрольной группы с признаками активной пролиферации клеток базальных слоев эпидермиса. Гематоксилин и эозин. Увеличение $\times 100$

Сформированные папилломы микроскопически представляют собой очаги дифференцированного эпителия, четко отграниченные от окружающих тканей с выраженными явлениями гиперкератоза (рис. 9–11). Клетки, составляющие такие очаги, значительно крупнее по сравнению с окружающими клетками материнской эпителиальной ткани. Клетки имеют светлую цитоплазму, крупное ядро с несколькими ядрышками [3].

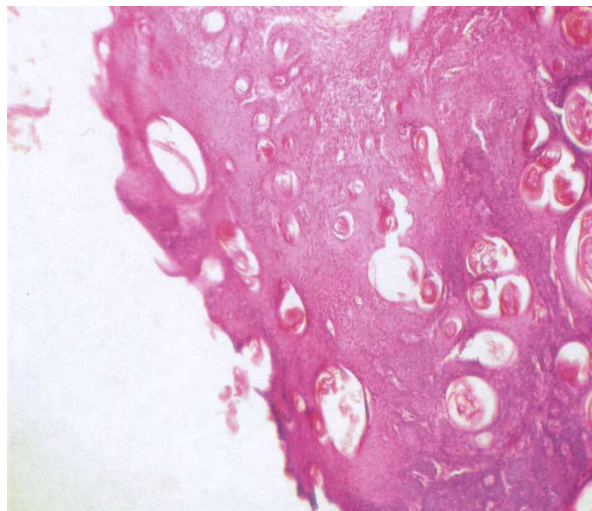


Рис. 9. Папиллома кожи мыши контрольной группы с очагами гиперкератоза. Гематоксилин и эозин. Увеличение $\times 100$

При малигнизации папиллом они приобретают характерные черты. Атипичные эпителиальные клетки погружаются в рыхлую соединительнотканную основу, при этом глубоко идущие тяжи эпителия проникают через ножку папилломы. При этом они достигают подлежащих участков дермы и

прорастают в них. Подобное строение отражает начало инфильтративного роста и формирование типичного плоскоклеточного рака.



Рис. 10. Папиллома кожи мыши контрольной группы с очагами гиперкератоза. Поперечный срез. Гематоксилин и эозин. Увеличение $\times 100$

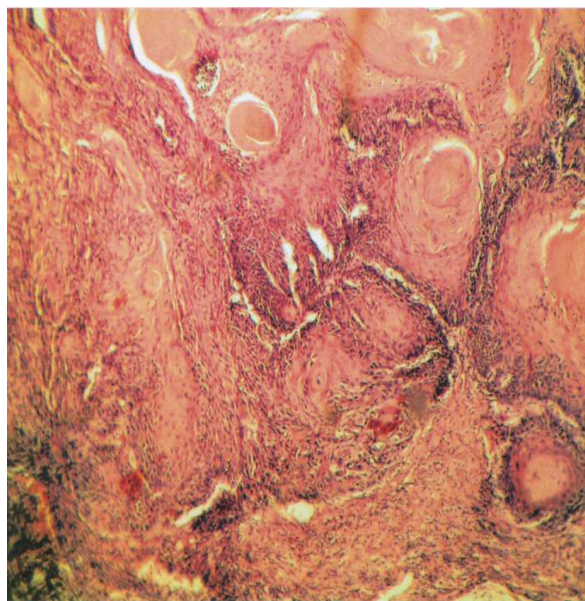


Рис. 11. Папиллома кожи мыши контрольной группы, массивный гиперкератоз. Гематоксилин и эозин. Увеличение $\times 100$

Эпителиоциты в ткани папилломы имеют различную степень дифференцировки. Иногда клетки анаплазированы и прорастают в подлежащие мышцы [4]. Однако в большинстве случаев имеются признаки усиленного ороговения. Выявляются различные формы дискератоза и всегда выраженный

гиперкератоз (рис. 12). По поверхности папилломы образуется все более утолщающаяся роговая корочка (рис. 13).

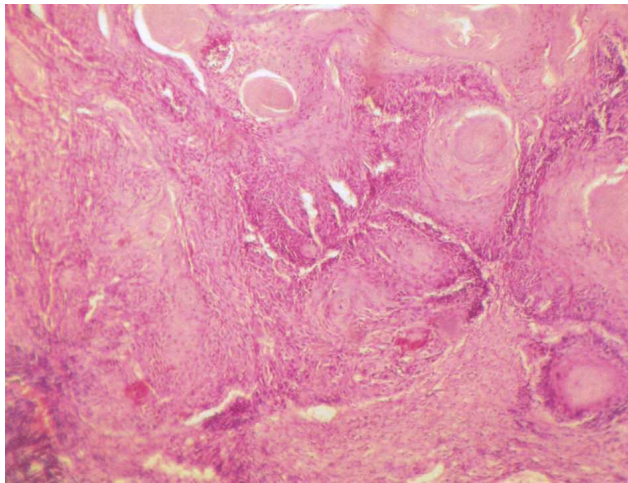


Рис. 12. Плоскоклеточный рак кожи мыши контрольной группы с очагами ороговения. Гематоксилин и эозин. Увеличение $\times 100$

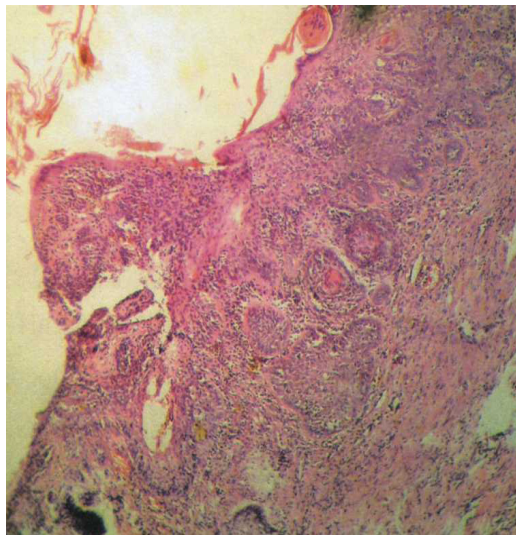


Рис. 13. Плоскоклеточный рак кожи с ороговением у мыши контрольной группы. Гематоксилин и эозин. Увеличение $\times 100$

В поверхностном эпителии в отдельных случаях встречаются некробиотические изменения, изъязвление папиллом.

Плоскоклеточный рак кожи представлен атипичными опухолевыми клетками разной степени дифференцировки (рис. 14). В подавляющем большинстве случаев это плоскоклеточный ороговевающий рак (см. рис. 12, 13). Процессы ороговения выражены с формированием характерных для этого вида рака «жемчужин» из рогового вещества. В центральной части опухолевых пролифератов имеются очаги некроза, явления стаза и полнокровия сосудов [5]. В ряде наблюдений выявлен плоскоклеточный неороговевающий

(низкодифференцированный) рак кожи, в котором отсутствовали «раковые жемчужины».

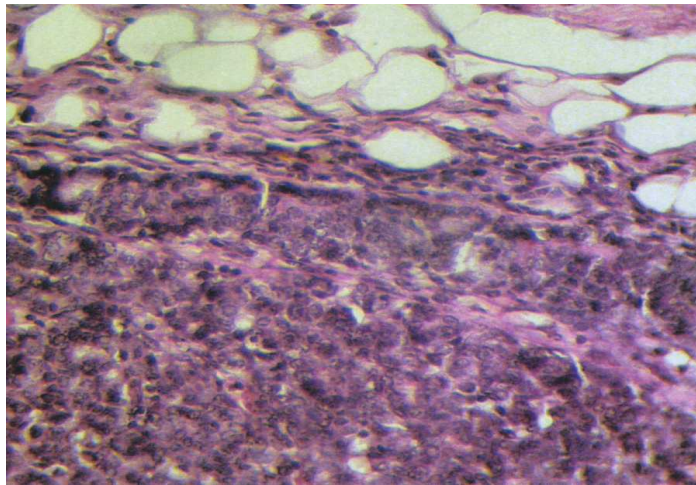


Рис. 14. Низкодифференцированный плоскоклеточный рак кожи (неороговевающий) мыши контрольной группы. Гематоксилин и эозин. Увеличение $\times 100$

Выводы

1. При индуцированном опухолевом росте кожи выявляются различные стадии морфогенеза неоплазий: диффузные разрастания покровного эпителия, папилломы кожи, папиллома с очагами малигнизации, плоскоклеточный рак (с ороговением и без ороговения).

2. Мелатонин и метформин обладают онкостатическим эффектом: число мышей со злокачественными опухолями (плоскоклеточный ороговевающий рак и рак с очагами малигнизации) составило 57 % от всех животных с опухолями. При введении мелатонина количество мышей со злокачественными неоплазиями составило 37 %. При использовании мелатонина и метформина данный показатель составил 20 и 20 % соответственно.

Список литературы

1. **Анисимов, В. Н.** Световой режим, мелатонин и риск развития рака / В. Н. Анисимов, И. А. Виноградова // Вопросы онкологии. – 2006. – Т. 52, № 5. – С. 491–498.
2. An overview on the neuroendocrine regulation of experimental tumor growth by melatonin and its analogues and the therapeutic use of melatonin in oncology / D. E. Blask, C. Bartsch, H. Bartsch [et al.] // The Pineal Gland and Cancer. Neuroimmunoendocrine Mechanisms in Malignancy. – Berlin : Springer, 2001. – P. 309–342.
3. The effect of melatonin treatment on 24 hr variations in response to mitogens and lymphocyte subpopulations in rat submaxillary lymph nodes / P. Castrillon, A. I. Esquifino, A. Varas [et al.] // J. Neuroendocrinol. – 2000. – Vol. 12. – P. 758–765.
4. Inhibitory effect of melatonin on 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene-induced carcinogenesis of the uterine cervix and vagina in mice and mutagenesis in vitro / V. N. Anisimov, M. A. Zabezhinski, I. G. Popovich [et al.] // Cancer Lett. – 2000. – Vol. 156. – P. 199–205.
5. Melatonin modulates the oxidant–antioxidant Imbalance during N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis in rats / K. B. Dakshayani, P. Subramanian, T. Manivasagam [et al.] // J. Pharm. Pharmaceut. Sci. – 2005. – Vol. 8, № 2. – P. 316–321.

References

1. Anisimov V. N., Vinogradova I. A. *Voprosy onkologii* [Problems of oncology]. 2006, vol. 52, no. 5, pp. 491–498.
 2. Blask D. E., Bartsch C., Bartsch H. et al. *The Pineal Gland and Cancer. Neuroimmunoendocrine Mechanisms in Malignancy*. Berlin: Springer, 2001, pp. 309–342.
 3. Castrillon P., Esquifino A. I., Varas A. et al. *J. Neuroendocrinol.* 2000, vol. 12, pp. 758–765.
 4. Anisimov V. N., Zabezhinski M. A., Popovich I. G. et al. *Cancer Lett.* 2000, vol. 156, pp. 199–205.
 5. Dakshayani K. B., Subramanian P., Manivasagam T. et al. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 2005, vol. 8, no. 2, pp. 316–321.
-

Дерябина Ольга Николаевна

кандидат медицинских наук, ассистент,
кафедра онкологии с курсом лучевой
диагностики и лучевой терапии,
Мордовский государственный
университет им. Н. П. Огарева (Россия,
г. Саранск, ул. Большевикская, 68)

E-mail: dr.deryabina@gmail.com

Deryabina Ol'ga Nikolaevna

Candidate of medical sciences, assistant,
sub-department of oncology with a course
of radiodiagnostics and radiation therapy,
Ogarev Mordovia State University
(68 Bolshevistskaya street, Saransk, Russia)

Плотникова Надежда Алексеевна

доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой патологии,
Мордовский государственный
университет им. Н. П. Огарева (Россия,
г. Саранск, ул. Большевикская, 68)

E-mail: plona@mail.ru

Plotnikova Nadezhda Alekseevna

Doctor of medical sciences, professor,
head of sub-department of pathology,
Ogarev Mordovia State University
(68 Bolshevistskaya street, Saransk, Russia)

Канаев Павел Михайлович

аспирант, Мордовский государственный
университет им. Н. П. Огарева (Россия,
г. Саранск, ул. Большевикская, 68)

E-mail: kpm1983@bk.ru

Kanaev Pavel Mikhaylovich

Postgraduate student, Ogarev Mordovia
State University (68 Bolshevistskaya
street, Saransk, Russia)

УДК 616-006.04

Дерябина, О. Н.

Морфогенез опухолевого роста при коррекции мелатонином и метформинном / О. Н. Дерябина, Н. А. Плотникова, П. М. Канаев // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2014. – № 2 (30). – С. 5–14.