

**В.Г. ШЕСТАКОВА<sup>1</sup>, Л.И. НИГМАТУЛЛИНА<sup>1,2</sup>, И.Б. АТАДЖАНОВ<sup>1</sup>, С.А. ДОНСКОВ<sup>1</sup>,  
Ю.В. КОЗЛОВСКАЯ<sup>1</sup>, И.С. ДОЛГОПолов<sup>1</sup>, М.Ю. РЫКОВ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России, Тверь, Российская Федерация;

<sup>2</sup>Медико-генетическая лаборатория «Медикал-Геномикс», Москва, Российская Федерация

## **Морфологическая характеристика изменений плоского эпителия верхнего отдела пищеварительного тракта, возникающих в модельных организмах в условиях провоцированного канцерогенеза**

**Актуальность:** Необходимость разработки протоколов раннего выявления предопухолевых изменений обусловлена распространенностью злокачественных новообразований слизистой оболочки пищевода и снижением качества жизни этих пациентов при несвоевременной диагностике.

**Цель:** Исследование морфологической характеристики изменений плоского эпителия пищевода, возникающих в модельных организмах в условиях провоцированного канцерогенеза при воздействии субстанций с доказанной канцерогенной активностью.

**Методы:** В качестве модельных организмов использовали 40 самок нелинейных белых крыс, полученных из ветеринарной станции Орехово-Зуевского городского поселения. Крысы были распределены на 4 равные группы. Первая контрольная группа не подвергалась каким-либо специфическим воздействиям. В группах 2-4 крысам проводили седацию и механическую скарификационную микротравматизацию слизистой полости рта, а затем аппликационно с частотой 2 раза в неделю наносили 0,9% раствор NaCl (контрольная группа 2), 1% водный раствор диметилсульфоксида (DMSO, Акрихин, Россия) (контрольная группа 3), или 1% водный раствор DMSO, содержащий 0,1 мг/мл 4-нитрохинолин-N-оксида (4-NQO, Acros Organics, США) (опытная группа 4).

**Результаты:** Корреляционно-прогностические морфологические маркеры анаплазии слизистой оболочки пищевода представлены диспластическими изменениями эпителия полости рта, подвергшегося топическому воздействию канцерогена. Выраженность морфологических изменений в плоском эпителии пищевода в направлении предракового состояния достоверно выше в опытной группе при длительном воздействии канцерогенного фактора по сравнению с контрольными группами ( $p < 0,05$ ), что подтверждалось результатами сравнительного гистологического исследования.

**Заключение:** Цитологическое исследование может быть предложено для изучения в клинике в качестве скрининга предраковых состояний верхнего отдела пищевода.

**Ключевые слова:** злокачественные новообразования, пищеварительная система, цитология, эпителий, плоскоклеточная дисплазия, экспериментальная модель.

**Введение:** Рак пищевода является одним из самых агрессивных злокачественных новообразований. По данным Международного агентства по исследованию рака, в 2018 г. в мире было зарегистрировано 572 тыс. новых случаев рака пищевода (3,2% от общего числа злокачественных новообразований). В 2018 г. в мире зарегистрировано 508,6 тыс. смертей от рака пищевода (5,3% от общего числа смертей от онкологических заболеваний, 6 ранговое место) [1]. Поиск и изучение общих морфологических и иммунологических маркеров малигнизации, диагностических предвестников инвазии и метастазирования неотъемлемо связан с разработкой надежных диагностических протоколов для ранней диагностики опухолевых заболеваний слизистой оболочки пищевода [2].

Несмотря на рекомендации по взятию первичного диагностического материала во время первого визита пациента, отсутствуют единые подходы к подготовке материала, его транспортировке и преаналитической обработке [3]. В то же время, цито-

логический материал может предоставлять диагностически значимые морфологические данные. Наиболее простые методы подготовки материала к исследованию, такие, как окраска по Романовскому-Гимзе, Паппенгейму, Папаниколау и другие потенциально доступны всем лабораториям патологоанатомических отделений [4]. Цитологический материал также может быть пригоден для ультраструктурного анализа, изучения иммунологического профиля [5]. В пилотных исследованиях показано, что для рака полости рта могут быть использованы диагностические критерии Bethesda – универсальной системы интерпретации и оценки результатов цитологических исследований [6, 7]. Однако отсутствие единой системы классификации изменений, обнаруживаемых врачом в цитологических мазках, существенно ограничивает возможности ранней диагностики с использованием малоинвазивных методов. Рядом отечественных авторов отмечены важные детали цитопатологической картины, связанной с метаплазией плоского эпителия пищевода [5].

Дальнейшие исследования в этой области позволяют создать представление об общих свойствах измененных клеток плоских эпителиев.

**Цель:** Исследование морфологической характеристики изменений плоского эпителия пищевода, возникающих в модельных организмах в условиях provoked канцерогенеза при воздействии субстанций с доказанной канцерогенной активностью.

**Материалы и Методы:** Материалом для исследования послужили 40 самок нелинейных белых крыс, полученных из ветеринарной станции Орехово-Зуевского городского поселения (Ветеринарное свидетельство № 8431768363 от 25.01.2021). Возраст животных к началу эксперимента составлял 6 недель. Перед началом эксперимента животные выдерживались в университетском виварии на 14-дневном карантине. Крысы были распределены на 4 равные группы ( $n=10$ ). Первая контрольная группа не подвергалась каким-либо специфическим воздействиям и рассматривалась как эталонная для данного исследования. Второй контрольной группе крыс ингаляционно проводили эфирную седацию и механическую скарификационную микротравматизацию слизистой полости рта, а затем аппликационно наносили 0,9% раствор NaCl с частотой 2 раза в неделю. Третьей контрольной группе аналогично после седации травмировали слизистую полости рта и аппликационно наносили 1% водный раствор диметилсульфоксида (DMSO, Акрихин, Россия) с той же частотой. Крысам опытной группы после седации и травмирования слизистой полости рта аппликационно наносили 1% водный раствор DMSO, содержащий 0,1 мг/мл 4-нитрохиолин-N-оксида (4-NQO, Acros Organics, США) с частотой 2 раза в неделю. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Кормление осуществлялось комбикормом для лабораторных животных. Для питья использовалась вода питьевая по СанПиН 2.1.3684-21.

Имеются данные о прогностическом значении неопухолевых состояний слизистой полости рта, обнаруживаемых при эндоскопическом исследовании и повышающих риск развития плоскоклеточной карциномы пищевода [8]. В связи с этим прогностически-корреляционными маркерами анапластических изменений эпителия пищевода для данного исследования принимались морфологические предикторы местной дисплазии в эпителии полости рта. На 1, 7, 10, 14 сутки от начала эксперимента, а затем каждые 14 суток методом мацерации зондом-цитощеткой типа D1 брали материал для цитологического исследования. Влажные мазки-отпечатки эпителия полости рта фиксировали в абсолютном спирте, гидратировали в спиртах нисходящей концентрации и дистиллированной воде, окрашивали по Папаниколау (гематоксилином Гилла, цитоплазматическими красителями OG6 и

EA50), дегидратировали в спиртах восходящей концентрации и просветляли в двух сменах ксилола.

Животных выводили из эксперимента при снижении массы тела более чем на 1/3 или отставании в наборе веса более чем на 1/3 по сравнению с I контрольной группой. Вне указанных критериев эквивалентное число животных из контрольных групп также выводили из эксперимента. Эвтаназию животных осуществляли в следующей последовательности: эфирная седация, подкожное введение Золетила-100 и Ксиланита в дозах 8 мг/кг и 4 мг/кг соответственно, обеспечение сосудистого доступа (пункцией дорзальной хвостовой вены) и введение Лидокаина в дозировке 100 мг/кг [9]. После трехкратного определения остановки кровообращения приступали к аутопсии. Предельным временем от момента клинической смерти до начала фиксации гистологического материала принимали 30 минут [10].

Полученный аутопсийный материал фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине, дегидратировали в 8 сменах изопропанола, начиная с 50% водного раствора изопропанола, заливали в парафиновую среду Гистомикс с использованием заливочного модуля ESD-2800. Тонкие парафиновые срезы толщиной 4–6 мкм, полученные на полуавтоматическом ротационном микротоме, окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопическое изучение полученного экспериментального материала проводили с помощью микроскопа на малом (10x), большом (40x) увеличении и в масляной иммерсии (100x). Микрофотографии получали цифровой фотокамерой, компьютерная обработка полученных снимков осуществлялась в ПО MCview.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием программы STATISTICA 13 (TIBCO Software Inc.). Расчет средней, медианы, стандартных ошибок и доверительных интервалов проводили с использованием описательных статистик программы. Для оценки нормальности распределения анализируемых количественных показателей использовали тест Шапиро-Уилка ( $n<50$ ). Совокупности учитываемых переменных согласно тесту, не подчинялись закону нормального распределения, поэтому для их дальнейшего анализа использовали непараметрические тесты. Изменение средней по группам массы тела животных и ее доверительный интервал определяли при помощи непараметрического U-критерия Манна-Уитни. При сравнении частот встречаемости цитопатологических изменений в экспериментальных группах использовали H-критерий Краскелла-Уоллиса.

При уровне значимости  $p<0,05$  различия в сравниваемых группах рассматривались как статистически значимые. В случае обнаружения статистически значимых различий между группами, дополнительно проводилось попарное сравнение при помощи точного теста Фишера.

**Результаты:** Результаты измерения массы тела животных приведены на рисунке 1. Для I контрольной и опытной групп приведены доверительные интервалы при уровне статистической значимости 95%. Статистически значимые ( $p < 0,05$ ) различия в массах тела животных между экспериментальными группами получены на 28 сутки эксперимента. Животные из опытной группы демонстрировали отставание в наборе массы тела более стандартной дисперсии в контрольных группах. К 42 суткам одно

животное из опытной группы было выведено из эксперимента и подвергнуто эвтаназии в связи с отставанием в наборе массы тела более чем на 1/3 среднего значения для I контрольной группы. К 70 суткам по тем же критериям были выведены из эксперимента еще двое животных из опытной группы. При попарном сравнении средних масс тела животных методом Фишера выявлены статистически значимые ( $p < 0,05$ ) различия между опытной и контрольной группами к концу эксперимента.

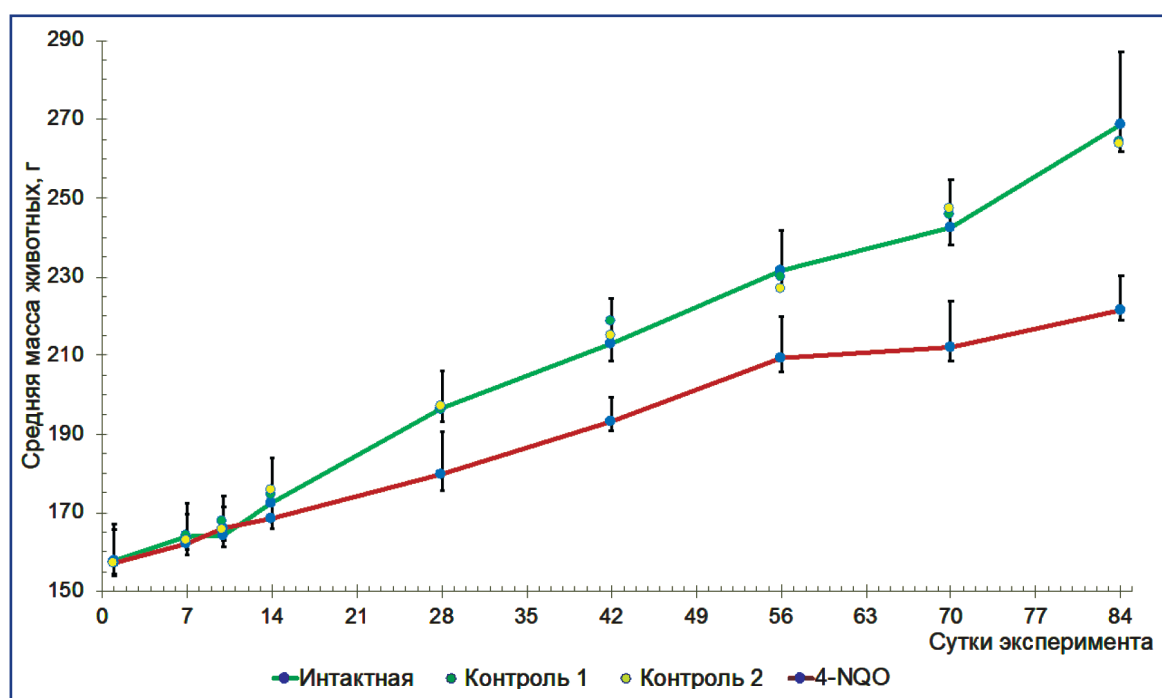


Рисунок 1 – Изменение средней по группам массы тела животных в течение эксперимента

При анализе и интерпретации результатов цитологических исследований использовались диагностические и классификационные критерии системы Bethesda в части, применимой в отношении многослойных плоских эпителиев [11]. Помимо этого, для составления общего представления о цитологической картине, получаемой от данных модельных организмов анализировалась картина условной нормы, характерной для I контрольной группы. Типичная для данного вида животных нормальная цитологическая картина представлена на рисунке 2. В мазках обнаруживались парабазальные и промежуточные клетки плоского эпителия. Клетки округлой или полигональной формы, напластывались на стекло вследствие чего их цитоплазма выглядела складчатой. Ядра имели ровные контуры, примерно одинаковые размеры, хроматин равномерно дисперсный, в некоторых ядрах обнаруживались ядрышки. В цитоплазме отдельных промежуточных клеток обнаруживались включения гликогена. На рисунке 2 и на других микрофотографиях цитологических препаратов на фоне присутствуют неспецифические артефакты преанализа

цистического этапа: слизь, флора и фрагменты растительных пищевых волокон. Они игнорировались, пока не препятствовали адекватной оценке препарата.

Характер и частота встречаемости цитопатологических изменений, выявляемых в мазках эпителия, суммированы на рисунке 3. Статистически значимые (H-критерий Краскелла-Уоллиса) различия по абсолютным частотам встречаемости изменений выявлены между опытной и контрольными группами ( $p = 0,005$  для I контрольной,  $p = 0,031$  для II контрольной и  $p = 0,027$  для III контрольной). Методом Фишера установлено, что значимым можно считать различия в частотах встречаемости атипичии плоского эпителия между опытной и контрольными группами на 42 сутки эксперимента. Кератотические и воспалительные изменения не являлись специфическими для опытной группы и встречались во всех экспериментальных группах. Различия в частоте встречаемости цитопатологических изменений, классифицируемых как атипичия плоского эпителия неопределенной значимости, в опытной и II контрольной статистически значимы при анализе с применением точного теста Фишера ( $p = 0,015$ ).

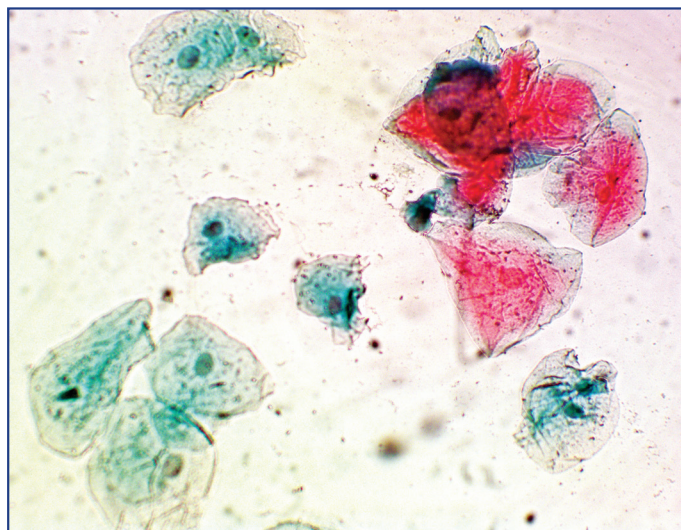
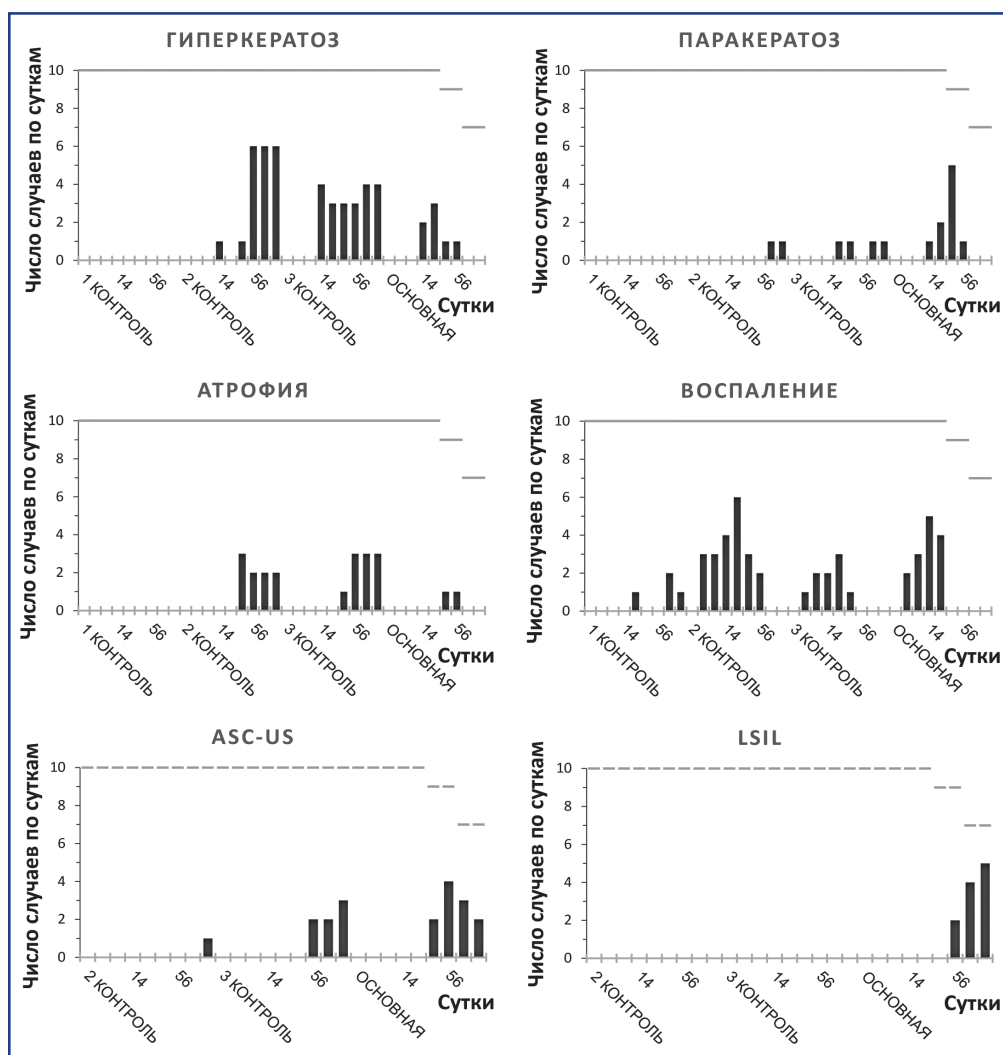


Рисунок 2 – Мазок эпителия полости рта крыс I контрольной группы на 10 сутки эксперимента. Традиционный препарат. Окраска по Папаниколау.

Ув.  $\times 980$ . Заключение по Bethesda: Интраэпителиальные поражения отсутствуют



Примечания: ASC-US – атипичные клетки плоского эпителия неопределенной значимости, LSIL – внутриэпителиальные поражения низкой степени. Пунктирной линией указано общее число животных на данные сутки эксперимента.

Рисунок 3 – Абсолютные частоты встречаемости цитопатологических изменений по экспериментальным группам



Атипия плоского эпителия, выявленная при исследовании цитологического материала, представлена на рисунках 4 и 5. Атипичные клетки неопределенной значимости появлялись в мазках начиная с 42 суток эксперимента (рисунок 4). Согласно критериям Bethesda, такими клетками признавались зрелые клетки плоского эпителия с гиперхромными пикнотическими ядрами с неровными контурами (рисунок 4а), хроматин имел грубую структуру, в отдельных клетках

наблюдалась дистрофическая вакуолизация (рисунок 4в). Ядра парабазальных клеток были крупнее эталонных более чем в 2 раза, с неровными контурами, изрезанной ядерной мембраной, создающей ощущение складчатости ядра (рисунок 4б). Парабазальные и зрелые клетки плоского эпителия образовывали пласты. В дальнейшем были отмечены качественные изменения в мазках от тех же животных, интерпретированные нами как прогрессирование процессов.

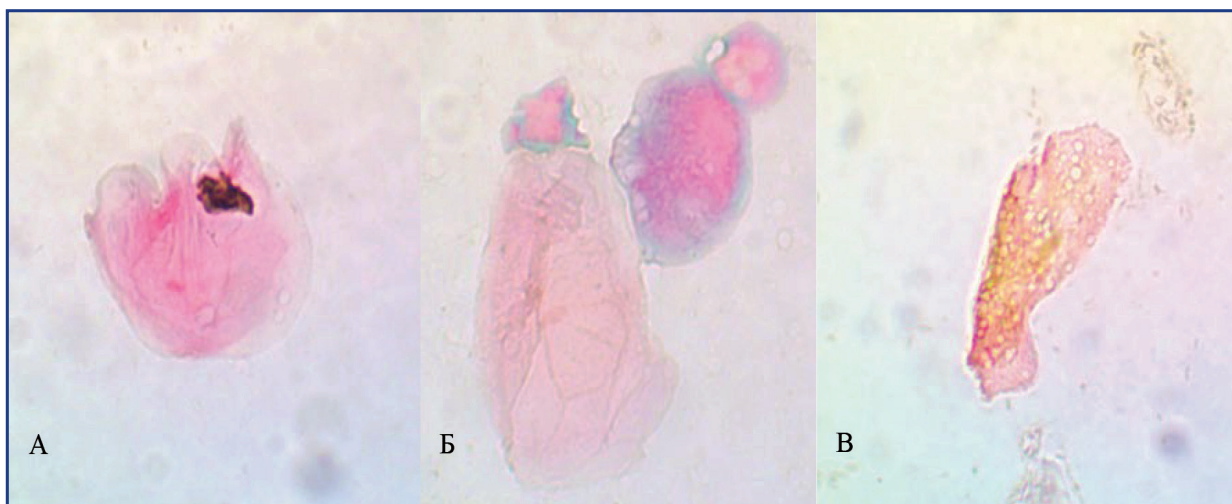


Рисунок 4 – Мазок эпителия полости рта крыс опытной группы на 42 сутки эксперимента. Традиционный препарат. Окраска по Папаниколау. Ув.  $\times 2450$ . Заключение по Bethesda: атипичные клетки плоского эпителия неопределенного значения (ASC-US), атипичный паракератоз

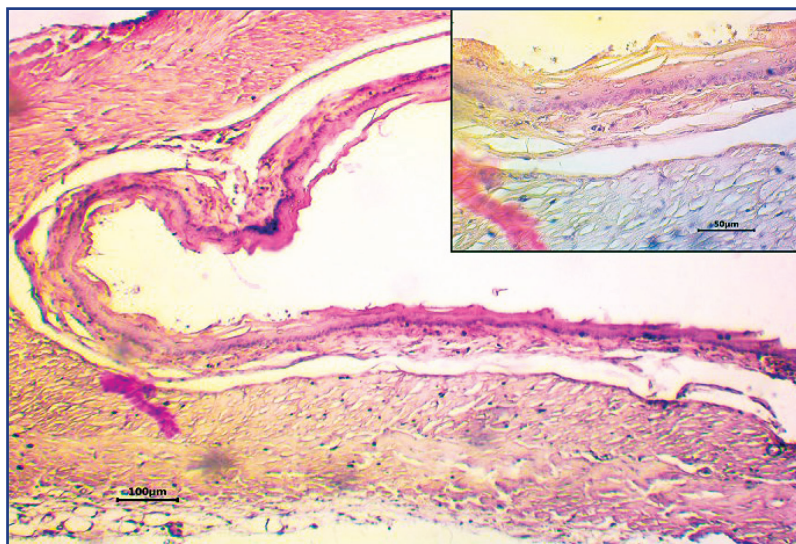


Рисунок 5 – Умеренные (grade 2) диспластические изменения плоского эпителия пищевода животных опытной группы. Тонкий срез пищевода.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 245$ , в выделенном окне –  $\times 980$

Начиная с 56 суток эксперимента, в мазках, полученных от животных опытной группы, обнаружены атипичные клетки, описываемые в терминах Bethesda как внутриэпителиальные поражения низкой степени. Диагностически значимыми при-

знавались парабазальные клетки плоского эпителия с атипичными крупными (более чем в 3 раза по сравнению с эталонными) ядрами, анизоуклеозом, с изменчивыми контурами ядерной мембраны в пределах одной клетки, грубодисперсным хро-

тином. Цитоплазма парабазалярных клеток с оранжевофильными участками отражала кератинизацию. В зрелых клетках обнаруживались признаки атипичного паракератоза и дистрофической вакуолизации.

Результаты гистологической верификации предполагаемых изменений приведены на рисунке 5. В средней трети пищевода выявлена дезорганизация плоского эпителия, включающая

нарушения гистоархитектоники, полярности клеток, ядерный полиморфизм, местами паракератоз. Стромальные реакции включали умеренную лимфо-гистиоцитарную инфильтрацию и мукоидное набухание. Контрольная гистологическая картина приведена на рисунке 6. Эпителий без признаков диспластических изменений. Реакция стромы отсутствует. Патологических изменений не выявлено.

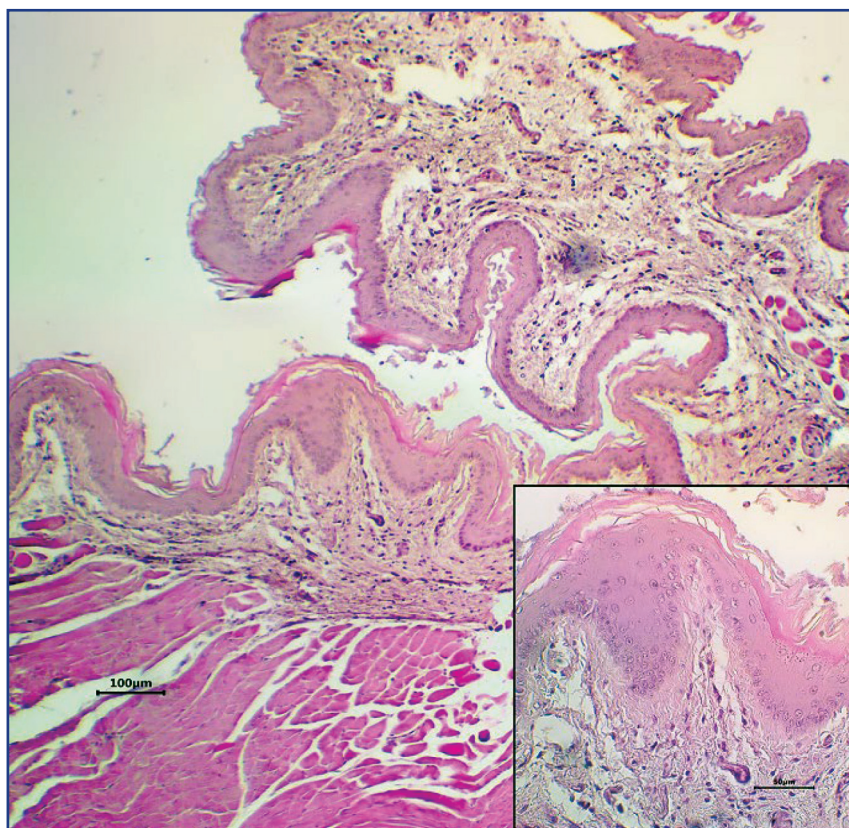


Рисунок 6 – Контрольный аутопсийный материал.  
Тонкий срез пищевода.  
Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 245$ , в выделенном окне –  $\times 980$

Таким образом, возникновение диспластических изменений плоского эпителия пищевода у крыс опытной группы происходит в среднем к 70 суткам эксперимента. Цитологические изменения, соответствующие внутриэпителиальным поражениям низкой степени, коррелируют с гистологической картиной умеренных диспластических изменений эпителия пищевода.

**Обсуждение:** 4-NQO – гидрофильное производное нитрохинолина, применяемое в экспериментальной практике в качестве мутагена, формирующего ДНК-аддукты (нековалентно связанные супермолекулярные ассоциаты) и вызывающего хромосомные aberrации. В частности, 4-NQO используют для экспериментального моделирования рака языка на крысах [11]. Существуют данные о его токсическом действии. Минимальной токсической дозой при аппликационном пути введения через

слизистую полости рта исследователи называют 20 мг/кг для крыс [12, 13].

DMSO является амфифильным апротонным растворителем, смешивающимся с водой в любых соотношениях. В медицине его применяют как противовоспалительное, обезболивающее средство, транспортную систему для доставки лекарств. В медико-биологических и медико-токсикологических исследованиях используется свойство DMSO усиливать проницаемость биологических барьеров для ксенобиотиков. Токсическими дозами, оказывающими системное действие, считаются очень высокие концентрации DMSO; в исследованиях показаны эффекты при дозах порядка  $10^3$ – $10^5$  мг/кг [4].

Установлено, что в эксперименте возникновение диспластических изменений плоского эпителия пищевода происходит в среднем к 70 суткам эксперимента. Достаточным для интерпретации



патологических изменений как ранней дисплазии мы считаем цитопатологическое заключение LSIL в терминах Bethesda. Морфологическими критериями отнесения выявленных патологических изменений к интраэпителиальным поражениям и дисплазии низкой степени являются: изменение размеров, формы, контуров ядер, ядерно-цитоплазматического соотношения; нарушения созревания и дифференцировки клеток, нерегулярность морфологии базального слоя, нарушения гистоархитектоники клеток [14]. Кроме того, указанные критерии могут выступать в качестве прогностических маркеров для стадирования патологического процесса в ходе серийных исследований.

В связи с этим мы исходим из положения, что для верификации цитопатологических заключений необходимо использовать маркеры клеточных взаимодействий, клеточной адгезии и миграции. Для дальнейшего изучения патоморфологической картины диспластических изменений необходимо применение методов иммуноцит- и гистохимического исследования. Мы полагаем, что перспективными в этом отношении иммуноцитохимическими маркерами являются цитокератины и гликопротеины семейства CD44.

Показано, что экспрессия белков плотных контактов, коннексинов, клаудинов, E-кадгерина изменяется при эндометриозе и опухолевых заболеваниях эндометрия [15]. Исследуется возможность использования соответствующих иммунохимических маркеров для ранней диагностики внутриэпителиальных неоплазий ротоглотки и пищевода.

**Заключение:** Корреляционно-прогностические морфологические маркеры анаплазии слизистой оболочки пищевода представлены диспластическими изменениями эпителия полости рта, подвергшегося топическому воздействию канцерогена. Выраженность морфологических изменений в плоском эпителии пищевода в направлении предракового состояния достоверно выше в опытной группе животных, подвергавшихся длительному воздействию канцерогенного фактора, по сравнению с контрольными группами ( $p < 0,05$ ), что подтверждалось результатами сравнительного гистологического исследования. Таким образом, цитологическое исследование может быть предложено в качестве скрининга предраковых состояний ротоглотки и верхнего отдела пищевода в клинической практике.

#### Список используемых источников:

1. Bray F, Jacques Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global Cancer Statistics // *CA Cancer J Clin*. – 2018. – Vol. 68. – P.394-424;
2. Iocca O., Sollecito T.P., Alawi F. Potentially malignant disorders of the oral cavity and oral dysplasia: A systematic review and meta-analysis of malignant transformation rate by subtype // *Head Neck*. – 2020. – Vol. 42 (3). – P. 539–555. <https://doi.org/10.1002/hed.26006>;
3. Ассоциация онкологов России, Общероссийская общественная организация «Российское общество специа-

листов по опухолям головы и шеи». Злокачественные новообразования полости рта: клинические рекомендации [Associaciya onkologov Rossii, Obshherossiyskaya obshhestvennaya organizaciya «Rossijskoe obshhestvo specialistov po opuxolyam golovy i shei». Zlokachestvennye novooobrazovaniya polosti rta: klinicheskie rekomendacii] // *cr.minzdrav.gov.ru/recomend/164*. 12.08.2021;

4. Shulyak A., Goydyk V., Gusakovskiy S. Modern aspects of the use of Dimethyl sulfoxide (DMSO) // *Pharmacol. Online*. – 2021. – Vol. 1. – P. 82-89. [https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL\\_2021\\_1\\_A011\\_Shulyak.pdf](https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL_2021_1_A011_Shulyak.pdf);

5. Шануро Н.А., Шибанова А.И., Елеубаева Ж.Б. Цитологическая диагностика заболеваний пищевода, желудка и кишки: цветной атлас. – Москва, Алматы: Пенроцентр-М; 2011. – 234 с. [Shapiro N.A., Shibanova A.I., Eleubaeva Zh.B. Citologicheskaya diagnostika zabolevanij pishheвода, zheludka i kishki: cvetnoj atlas. – Moskva, Almaty: Reprocentr-M; 2011. – 234 c.];

6. Singh E. Comparative analysis of nucleomorphometric parameters in methyl green-pyronin-stained sections of oral epithelial dysplasia, oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma // *J. Oral. Maxillofac. Pathol*. – 2020. – Vol. 24 (2). – P. 401. [https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP\\_360\\_19](https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_360_19);

7. Атаджанов И.Б., Нигматуллина Л.И., Донсков С.А. Особенности патоморфологической картины процессов дисплазии слизистой полости рта на модельных организмах в условиях провокации химического канцерогенеза (промежуточные результаты) // *Морфология в XXI веке: теория, методология, практика: сб. тр. Всеросс. науч.-практ. конф. – Москва, 01-04 июня 2021. – С. 12-16* [Atadzhanov I.B., Nigmatullina L.I., Donskov S.A. Osobennosti patomorfologicheskoy kartiny processov displazii slizistoy polosti rta na model'nykh organizmax v usloviyakh provokacii ximicheskogo kancerogeneza (promezhutochnye rezul'taty) // *Morfologiya v XXI veke: teoriya, metodologiya, praktika: sb. tr. Vseross. nauch.-prakt. konf. – Moskva, 01-04 iyunya 2021. – S. 12-16*];

8. Kotaro W., Ryu I., Akira M., Takahiro I. et al. Endoscopic findings in the soft palatal mucosa are associated with the risk of esophageal squamous cell carcinoma // *Journ of Gasroenterol and Hepatol*. – 2021. – Vol. 36 (5). – P. 1276-85. <https://doi.org/10.1111/jgh.15291>.

9. Беляева Е.В., Рыбакова А.В., Гушхин Я.А. Патоморфологическая диагностика легких при различных методах эвтаназии лабораторных животных // *Лабораторные животные для научных исследований*. – 2018. – №3 [Belyaeva E.V., Rybakova A.V., Gushhin Ya.A. Patomorfologicheskaya diagnostika legkix pri razlichnykh metodax e'vtanazii laboratornykh zhivotnykh // *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovanij*. – 2018. – №3]. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2018-03-05>;

10. Цервикальная цитология по системе Бетесда: терминология, критерии и пояснения: [атлас : руководство] / George G. Birdsong, Diane Davis Davey, Daniel F. Kutycz и др.; под ред. Р. Найяр, Д. Уилбур; пер. с англ. под ред. Н.Ю. Полонской. – Москва: Практическая медицина, 2017. – 293 с. [Cervikal'naya citologiya po sisteme Betesda: terminologiya, kriterii i pojasneniya: [atlas : rukovodstvo] / George G. Birdsong, Diane Davis Davey, Daniel F. Kutycz i dr.; pod red. R. Najyar, D. Uilbur; per. s angl. pod red. N.Yu. Polonskoj. – Moskva: Prakticheskaya medicina, 2017. – 293 s.] ISBN 978-5-98811-461-1;

11. Шестакова В.Г., Козловская Ю.В., Нигматуллина Л.И. Молекулярные и субклеточные связывающие компоненты эндометрия в норме и при патологии // *Тверской медицинский журнал*. – 2021. – №2. – С. 90–101 [Shestakova V.G., Kozlovskaya Yu.V., Nigmatullina L.I. Molekulyarnye i subkletochnye svyazyvayushhie komponenty e'ndometriya v norme i pri patologii // *Tverskoj medicinskij zhurnal*. – 2021. – №2. – S. 90–101];

12. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5955, 4-Nitroquinoline N-oxide. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Nitroquinoline-N-oxide>. 09.10.2021;

13. Chen Y.F., Chang K.W., Yang I.T., Tu H.F., Lin S.C. Establishment of syngeneic murine model for oral cancer therapy // *Oral Oncology*.

– 2019. – Vol. 95. – P. 194–201. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2019.06.026>;

14. Sekine J., Nakatani E., Hideshima K., Iwahashi T., Sasaki H. Diagnostic accuracy of oral cancer cytology in a pilot study // *Diagn. Pathol.* – 2017. – Vol. 12. – No. 27. <https://doi.org/10.1186/s13000-017-0618-3>;

15. Wang L.E., Li C., Xiong P., Gershenwald J.E., Prieto V.G., Duvic M., Lee J.E., Grimm E.A., Hsu T.C., Wei Q. 4-nitroquinoline-1-oxide-induced mutagen sensitivity and risk of cutaneous melanoma: a case-control analysis // *Melanoma Res.* – 2016. – Vol. 26 (2). – P. 81–187. <https://doi.org/10.1097/cmr.000000000000106>.

## ТҰЖЫРЫМ

В.Г. Шестакова<sup>1</sup>, Л.И. Нигматуллина<sup>1,2</sup>, И.Б. Атаджанов<sup>1</sup>, С.А. Донсков<sup>1</sup>, Ю.В. Козловская<sup>1</sup>, И.С. Долгополов<sup>1</sup>, М.Ю. Рыков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>РФ ДСМ «Тверь мемлекеттік медицина университеті» ФМ БЖБМ, Тверь, Ресей Федерациясы;

<sup>2</sup>«Медикал-Геномикс» медициналық-генетикалық зертханасы, Мәскеу, Ресей Федерациясы

### Канцерогенез туындаған жағдайда модельдік организмдерде пайда болатын ас қорыту жүйесінің жоғарғы бөлігінің жалпақ эпителийіндегі өзгерістердің морфологиялық сипаттамасы

Өзектілігі: ісікалды өзгерістерді ерте анықтау хаттамаларын әзірлеу қажеттілігі ас қорыту жолының жоғарғы бөлігінің шырышты қабығының қатерлі ісіктерінің таралуына және уақтылы диагноз қойылмаған кезде осы пациенттердің өмір сүру сапасының төмендеуіне байланысты.

Мақсаты: модельдік организмдер ретінде Орехово-Зуев қалалық елді мекенінің ветеринарлық станциясынан алынған сызықты емес ақ егеуқұйрықтардың 40 аналықтары қолданылды. Егеуқұйрықтарды теңдей етіп 4 топқа бөлді. Бірінші бақылау тобы қандай да бір ерекше әсерлерге ұшыраған кезде канцерогенез туындаған жағдайда модельдік организмдерде пайда болатын ас қорыту түтігінің жоғарғы бөлігінің жалпақ эпителийіндегі өзгерістердің морфологиялық сипаттамаларын зерттеу.

Әдістері: Модельдік организмдер ретінде Орехово-Зуев қалалық елді мекенінің ветеринарлық станциясынан алынған сызықты емес ақ егеуқұйрықтардың 40 аналықтары қолданылды. Егеуқұйрықтарды теңдей етіп 4 топқа бөлді. Бірінші бақылау тобы қандай да бір ерекше әсерлерге ұшыраған кезде канцерогенез туындаған жағдайда модельдік организмдерде пайда болатын ас қорыту түтігінің жоғарғы бөлігінің жалпақ эпителийіндегі өзгерістердің морфологиялық сипаттамаларын зерттеу.

Нәтижелері: ас қорыту жүйесінің жоғарғы бөлігінің шырышты қабығының созылмалы жарақатымен байланысты Цитологиялық көрініс спецификалық емес реакциялармен сипатталды: қабыну, гипер - және паракератоз, атрофиялық өзгерістер. Негізгі және бақылау топтары арасында мұндай өзгерістердің пайда болу жиілігіндегі статистикалық сенімді айырмашылықтар анықталған жоқ. Канцерогендік белсенділігі бар субстанцияның созылмалы әсері бар негізгі топтағы ісік алды жай-күйі бағытындағы жалпақ эпителийдің ерекше өзгерістері бақылау топтарымен ( $p < 0,05$ ) салыстырғанда дұрыс тастағанмен кездесті және салыстырмалы гистологиялық верификация нәтижелерімен расталды.

Қорытынды: Цитологиялық зерттеуді клиникада орофаринг пен Жоғарғы өңештің қатерлі ісікке дейінгі жағдайларын скрининг ретінде зерттеу үшін ұсынуға болады.

**Түйінді сөздер:** қатерлі ісіктер, ас қорыту жүйесі, цитология, эпителий, сквамозды жасушалық дисплазия, эксперименттік модель.

## ABSTRACT

V.G. Shestakova<sup>1</sup>, L.I. Nigmatullina<sup>1,2</sup>, I.B. Atadzhanov<sup>1</sup>, S.A. Donskov<sup>1</sup>, Yu.V. Kozlovskaya<sup>1</sup>, I.S. Dolgoplov<sup>1</sup>, M.Yu. Rykov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tver State Medical University, Tver, Russian Federation;

<sup>2</sup>Medical-Genomics Lab., Moscow, Russian Federation

### Morphological characteristics of changes in the squamous epithelium of the upper part of the digestive tract in model organisms in the settings of provoked carcinogenesis

Relevance: Noticeable spreading of malignant neoplasms of upper section of digestive system and the worsening of these patients' quality of life in case of late diagnostics stimulate the development of protocols for early detection of precancerous changes.

The purpose of the study was to investigate the morphological characteristics of changes in the squamous epithelium of the upper part of the digestive tube in model organisms under provoked carcinogenesis when exposed to substances with proven carcinogenic activity.

Methods: 40 female nonlinear white rats obtained from the Orekhovo-Zuevsky urban settlement veterinary station were used as model organisms. The rats were divided into 4 equal groups. The first control group was not exposed to any specific influences. In groups 2-4, the rats underwent sedation and mechanical scarification microtraumatization of the oral mucosa. Then, they were applied twice a week by 0.9% NaCl solution (control group 2), 1% aqueous solution of dimethyl sulfoxide (DMSO, Akrikhin, Russia) (control group 3), or 1% aqueous solution of DMSO containing 0.1 mg/ml 4-nitroquinoline-N-oxide (4-NQO, Acros Organics, USA) (experimental group 4).

Results: The cytological picture associated with chronic trauma to the mucous membrane of the upper digestive tract was characterized by nonspecific reactions: inflammation, hyper- and parakeratosis, and atrophic changes. There were no statistically significant differences in the frequency of such changes between the experimental and control groups. Specific changes in squamous epithelium towards a precancerous state in the experimental group with chronic exposure to a substance with carcinogenic activity occurred significantly more often than in the control groups ( $p < 0.05$ ), as proven by the results of comparative histological verification.

Conclusion: Cytological examination could be used in clinical practice as a screening tool for precancerous oropharynx and upper esophagus conditions.

**Keywords:** malignant tumors, cytology, intraepithelial lesions, squamous dysplasia, digestive system, animal models.

**Прозрачность исследования** – Авторы несут полную ответственность за содержание данной статьи.

**Конфликт интересов** – Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Вклад авторов:** вклад в концепцию – Нигматуллина Л.И., Шестакова В.Г.; научный дизайн – Нигматуллина Л.И., Атаджанов И.Б.; исполнение заявленного научного исследования – Шестакова В.Г., Донсков С.А., Козловская Ю.В.; интерпретация заявленного научного исследования – Нигматуллина Л.И., Шестакова В.Г., Атаджанов И.Б., Козловская Ю.В., Долгополов И.С., Рыков М.Ю.; создание научной статьи – Нигматуллина Л.И., Шестакова В.Г., Атаджанов И.Б., Донсков С.А., Козловская Ю.В., Долгополов И.С., Рыков М.Ю.

#### Информация об авторах:

Шестакова Валерия Геннадьевна – д.м.н., доцент, зав. Каф. гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» МЗ РФ, e-mail: shestvg@mail.ru, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1136-7396>;

Нигматуллина Лейла Ильдаровна – аспирант каф. гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» МЗ РФ, e-mail: lnigmatulina@mail.ru, ID ORCID: не имеет;

Атаджанов Илья Борисович – студент лечебного факультета ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» МЗ РФ, e-mail: atadzhan@yandex.ru, ID ORCID: не имеет;

Козловская Юлия Владимировна – канд. биол. наук, доцент каф. гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» МЗ РФ, e-mail: kozlovskaya@yau@mail.ru, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8036-879>;

Донсков Сергей Александрович – канд. сельхоз. наук, доцент каф. гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» МЗ РФ, e-mail: donsikov@mail.ru, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3780-5534>;

Долгополов Игорь Станиславович – д.м.н., профессор каф. онкологии факультета ДПО ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» МЗ РФ, e-mail: irdolg@rambler.ru, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9777-1220>;

Рыков Максим Юрьевич (корреспондирующий автор) – д.м.н., доцент, проректор по научной работе и инновационной деятельности, зав. Каф. онкологии факультета ДПО, директор Института персонализированной онкологии ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» МЗ РФ, адрес: 170100, Тверь, ул. Советская, 4, e-mail: wordex2006@rambler.ru, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8398-7001>.