

*Екатерина Михайловна Уханова<sup>1</sup>, Саида Шамильевна Каршиева<sup>2</sup>,  
Екатерина Геннадиевна Зенит-Журавлева<sup>3</sup>, Натан Танфелевич Райхлин<sup>4</sup>,  
Ирина Алексеевна Букаева<sup>5</sup>, Анна Александровна Лушникова<sup>6</sup>,  
Вагим Сергеевич Покровский<sup>7</sup>, Елена Михайловна Трещалина<sup>8</sup>*

## **ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ Ki-67, C23/НУКЛЕОЛИНА И V23/НУКЛЕОФОЗМИНА В КСЕНОГРАФТАХ РАКА ЛЕГКОГО ЧЕЛОВЕКА С РАЗНОЙ СКОРОСТЬЮ РОСТА И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К ХИМИОТЕРАПИИ У ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ МЫШЕЙ**

<sup>1</sup> *Лаборант-исследователь, лаборатория комбинированной терапии опухолей  
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей*

*ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)*

<sup>2</sup> *К. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей  
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН  
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)*

<sup>3</sup> *Младший научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей  
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН  
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)*

<sup>4</sup> *Д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник, лаборатория гистохимии и электронной микроскопии  
НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН  
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)*

<sup>5</sup> *К. б. н., старший научный сотрудник, отдел патологической анатомии опухолей человека НИИ клинической  
онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)*

<sup>6</sup> *Д. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория онкогеномики НИИ канцерогенеза  
ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН (115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)*

<sup>7</sup> *К. б. н., научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей  
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН  
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)*

<sup>8</sup> *Д. м. н., профессор, руководитель, лаборатория комбинированной терапии опухолей  
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН  
(115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)*

Адрес для переписки: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, лаборатория комбинированной  
терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина»  
РАМН, Уханова Екатерина Михайловна; e-mail: kamita@yandex.ru

Цель исследования заключалась в изучении экспрессии аргирофильных белков в областях ядрышковых организаторов, маркера клеточной пролиферации Ki-67, а также кинетики роста в подкожных ксенографтах аденокарциномы легкого человека с разной скоростью роста и с разной чувствительностью к химиотерапии. Экспрессия аргирофильных белков в областях ядрышковых организаторов в быстрорастущей опухоли легкого человека была выше, чем в медленно растущей. При этом содержание C23/нуклеолина в экспоненциальной фазе роста быстрорастущего рака было в 1,5 раза выше, чем в экспоненциальной фазе роста медленно растущего рака ( $0,28 \pm 0,10$  против  $0,18 \pm 0,09$ ). В то же время уровень V23/нуклеофозмина и индекс Ki-67 в обоих вариантах опухоли были примерно одинаковыми. Время удвоения объемов опухолей в экспоненциальной фазе роста быстрорастущего рака было в 2 раза выше, чем у медленно растущего рака. Экспоненциальный рост быстрорастущего рака легкого человека у иммунодефицитных гибридных мышей может быть связан с повышенной экспрессией C23/нуклеолина. Терапия аранозой была высокоэффективна при быстрорастущем раке (торможение роста опухоли составило 100%) и слабо ингибировала рост медленно растущего рака легкого человека (торможение роста опухоли составило  $\leq 45\%$ ). Эти данные позволяют считать, что в процессе многократного пассирования на гибридных иммунодефицитных мышках происходит сдвиг патоморфоза быстрорастущего рака легкого человека в сторону уменьшения относительной доли C23/нуклеолина. Это приводит к удлинению латентной и сокращению экспоненциальной фазы роста и к снижению чувствительности к химиотерапии.

**Ключевые слова:** ксенографты рака легкого человека, кинетика роста, Ki-67, C23/нуклеолин, V23/нуклеофозмин, иммунодефицитные мыши.

Высокий уровень экспрессии аргирофильных белков в областях ядрышковых организаторов (Ag-ОЯОР-белков) С23/нуклеолина и В23/нуклеофозмина коррелирует со скоростью пролиферации во многих активно делящихся клетках, в том числе злокачественных [1; 2]. Эти белки используются в качестве биомаркеров клеточной пролиферации для оценки агрессивности процесса, прогноза течения и ответа на лечение при различных онкологических заболеваниях. В течение последних 10 лет интерес к этим маркерам значительно возрос, что привело к появлению большого числа публикаций, подтверждающих их роль в прогрессии лейкозов [3; 4] и солидных опухолей различных локализаций [5—13]. Уровень В23/нуклеофозмина является прогностическим признаком чувствительности к химиотерапии у больных острым миелолейкозом [3], а С23/нуклеолин объявлен Американским обществом клинической онкологии (ASCO) новой мишенью для таргетной терапии острого миелолейкоза [14]. У больных раком толстой кишки показана корреляция между экспрессией нуклеофозмина, метастазированием в лимфатические узлы и неблагоприятным прогнозом жизни. По мнению авторов, это связано с влиянием данного белка на миграцию и инвазию опухолевых клеток [15]. Несмотря на то что исследования по оценке экспрессии Ag-ОЯОР-белков в доклинических моделях опухолевого роста встречаются редко, в одной из ранних работ выявлено аномально высокое содержание этих белков в ксенографтах 30 опухолей человека [16].

На ксенографтах различных опухолей человека (меланомы Mel7, рака толстой кишки НСТ116 и рака почки РПоч1) нами выявлены исходно высокое содержание Ag-ОЯОР-белков и корреляция между скоростью роста опухолей и экспрессией этих белков [17; 18]. Кроме того, показано, что ингибирование роста Mel7 с помощью цитодифференцирующих препаратов сопровождается значимым уменьшением содержания Ag-ОЯОР-белков, в частности С23/нуклеолина [19].

Чтобы сформировать представление о возможности с помощью цитотоксической химиотерапии блокировать пролиферативный сигнал, опосредованный экспрессией Ag-ОЯОР-белков, необходимо оценить динамику основных маркеров пролиферации и определить их значение для прогрессии опухолевой модели.

В настоящей работе исследована возможная взаимосвязь между уровнем экспрессии Ag-ОЯОР-белков и Ki-67, кинетикой роста и ответом на цитотоксическую химиотерапию аранозой на модели аденокарциномы легкого человека у иммунодефицитных мышей Balb/c nude. Использованы 2 варианта опухоли: исходный медленно растущий штамм рака легкого (РЛ4) и экспериментально полученный из исходного штамма при многократном пассировании на гибридных мышях Balb/c nude быстро растущий подштамм рака легкого человека (РЛ4-б).

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

РЛ4 получен в 1983 г. в ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН из культуры клеточной линии А549 немелкоклеточного рака легкого человека путем имплантации  $5 \times 10^6$  клеток под кожу иммунодефицитным мышам Balb/c nude [20]. Стабильный рост опухоли

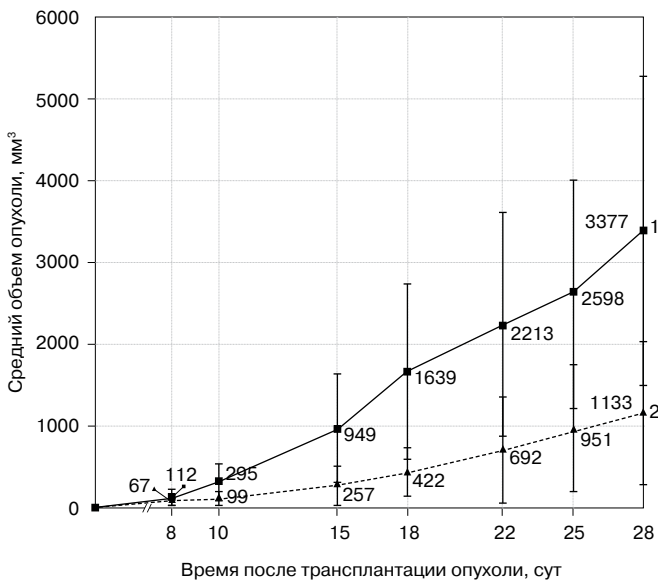
получен со второго пассажа, всего проведено 57 серийных трансплантаций. РЛ4 и его подштамм РЛ4-б трансплантировали 6—8-недельным мышам-самкам Balb/c nude из разведения ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН, которых содержали в стерильном бестимусном отсеке лаборатории комбинированной терапии опухолей НИИ ЭДиТО. Штаммы прививали опухолевой взвесью по 50 мг ткани в 0,5 мл среды 199 (ПанЭко) под кожу бока мышши-реципиента. О кинетике роста опухоли судили по объему подкожных узлов, фазы роста иллюстрировали на графике. Для гистологического исследования опухоль фиксировали в 10% нейтральном формалине, заключали в парафин и готовили срезы толщиной 5—8 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Для иммуногистохимического исследования использовали моноклональные антитела к Ki-67 (MIB-1, Dako), С23/нуклеолину (mAb4E2, Abcam), В23/нуклеофозмину (mAbB23, Labvision). В целях определения доли пролиферирующих клеток подсчитывали число Ki-67-позитивных клеток. Иммуногистохимический анализ экспрессии С23/нуклеолина и В23/нуклеофозмина проводили визуально по интенсивности окрашивания, которую оценивали как низкую (+), умеренную (++) и высокую (+++). Количественный анализ проводили с помощью программного обеспечения MatLab, определяя отношение суммарной площади иммуногистохимически окрашенных зерен белков к суммарной площади клеток в 10 полях зрения на одном препарате.

Для оценки чувствительности РЛ4 к химиотерапии использовали лиофилизированную аранозу (ГЛЭС), которую вводили мышам внутривентриально в разовой дозе 100 мг/кг двукратно на 2-е и 4-е сутки после трансплантации опухоли (суммарная доза 200 мг/кг). Об эффективности лечения судили по торможению роста опухоли (ТРО)  $\geq 50\%$ .

Статистическую обработку данных выполняли по Стьюденту с определением критерия t и затем находили достоверность различий (p) между контрольными и опытными сериями.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ динамики роста трансплантированных подкожно ксенографтов медленно- и быстрорастущего рака легкого человека выявил следующие отличия. На рис. 1 видно, что у мышшей со штаммом РЛ4-б латентная фаза роста длилась 8 сут. С 8-х по 28-е сутки (20 дней) наблюдалась прогрессия опухолевого роста, что соответствовало экспоненциальной фазе роста. Время удвоения объема опухоли в экспоненциальной фазе составило 4 дня. У мышшей со штаммом РЛ4 латентная фаза роста ксенографтов длилась дольше, чем у мышшей со штаммом РЛ4-б, — 10 суток. Экспоненциальная фаза роста длилась с 10-х по 28-е сутки, при этом время удвоения объемов опухолей увеличилось в 2 раза и составило около 8 дней. Гистологически опухоль имела строение аденокарциномы (рис. 2). В ней преобладали солидные структуры, об-



**Рисунок 1.** Динамика роста РЛ4-б (1) и РЛ4 (2), подкожно трансплантированных мышам Balb/c nude.

разующие поля и тяжи округлой и неправильной формы, реже встречались отдельные железистые образования. Суммарная площадь некрозов в исходном штамме РЛ4 (см. рис. 2, Б) была больше, чем в подштамме РЛ4-б (см. рис. 2, А). При иммуногистохимическом исследовании обнаружено, что экспрессия В23/нуклеофозмина и С23/нуклеолина во всех фазах роста выше в РЛ4-б (+ + +), чем в РЛ4 (+, + +) (см. рис. 2, В—Е). Полученные результаты соответствуют данным литературы [16], согласно которым в ксенографтах опухолей человека экспрессия Ag-ОЯОР-белков имеет прямую связь со скоростью роста опухоли. Индекс Ki-67 в быстро- и медленно растущей опухоли различается незначительно и в среднем составляет 20—25% (см. рис. 2, Ж, З).

Несмотря на то что количественный анализ содержания Ag-ОЯОР-белков по соотношению суммарной площади иммуногистохимически окрашенных зерен белков и клеток в образцах РЛ4 и РЛ4-б не выявил достоверных различий, прослежена тенденция к увеличению содержания С23/нуклеолина в экспоненциальной фазе роста РЛ4-б:  $0,28 \pm 0,10$  против  $0,18 \pm 0,09$  в экспоненциальной фазе роста РЛ4. Кроме того, в опухолевых клетках РЛ4-б содержание С23/нуклеолина несколько выше, чем содержание В23/нуклеофозмина ( $0,28 \pm 0,10$  против  $0,15 \pm 0,06$ ;  $p < 0,05$ ), а в РЛ4 уровень С23/нуклеолина не отличался от уровня В23/нуклеофозмина (см. таблицу).

При оценке чувствительности к аранозе РЛ4 с разной скоростью роста показаны слабый ответ на терапию РЛ4 (ТРО = 45%;  $p > 0,05$ ) и полная регрессия РЛ4-б (ТРО = 100%;  $p < 0,05$ ). Ремиссия после лечения аранозой длилась 60 дней. Затем у части мышей выявлен продолженный рост, расцененный как рецидив. При этом в клетках рецидивного РЛ4 экспрессия В23/нуклеофозмина и С23/нуклеолина снижалась до умеренной степени (+ +) при практически неизменном уровне Ki-67 в пределах 15—18% (рис. 3, А—В).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

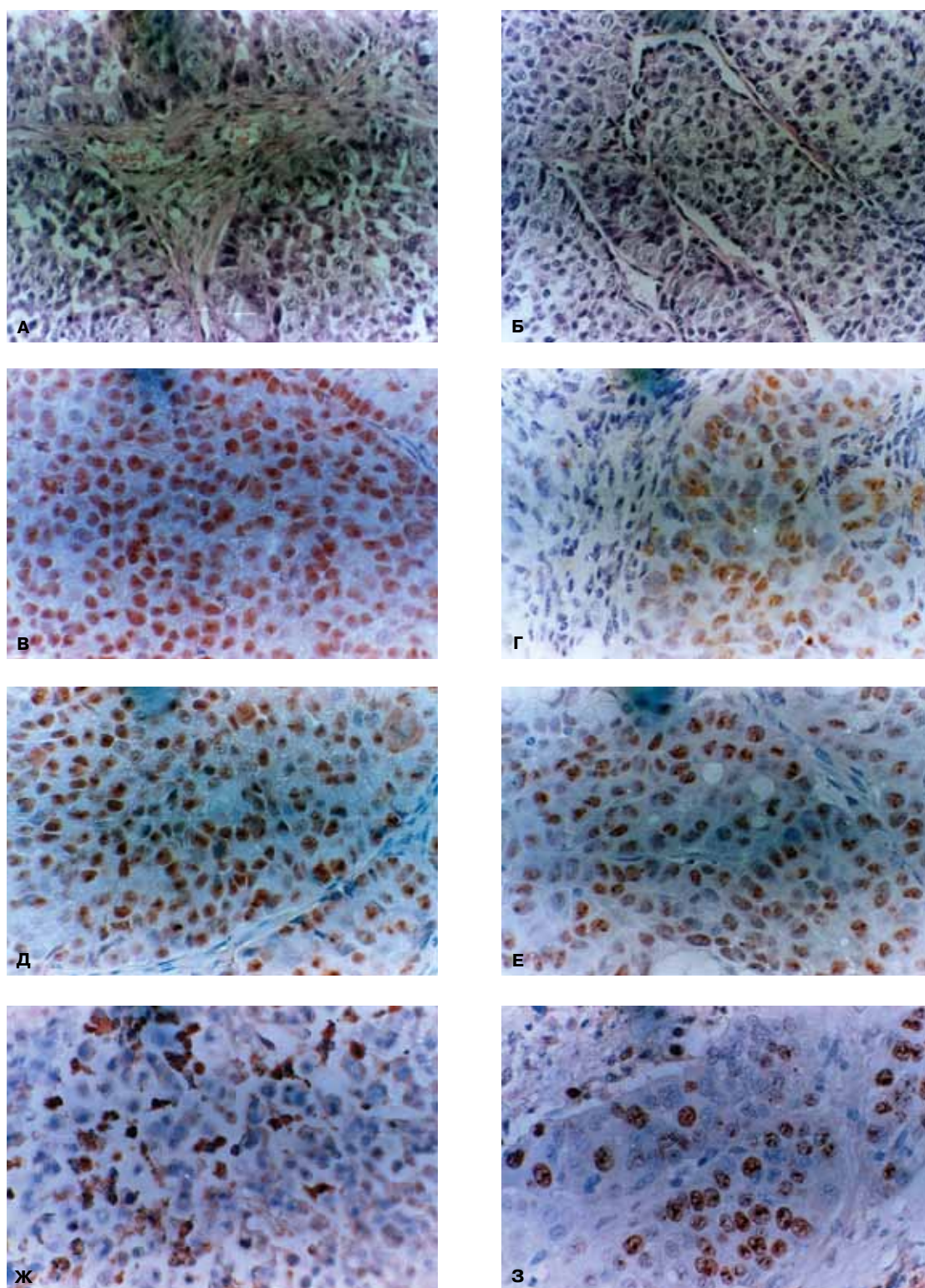
В подкожных ксенографтах рака легкого человека РЛ4 с различной скоростью роста на мышах Balb/c nude и различной чувствительностью к аранозе проведен анализ уровня экспрессии основных аргирофильных белков С23/нуклеолина и В23/нуклеофозмина и маркера пролиферации Ki-67. Сравнительный анализ показал, что экспрессия Ag-ОЯОР-белков в быстрорастущем подштамме (РЛ4-б) была выше, чем в исходном медленно растущем (РЛ4). При этом содержание С23/нуклеолина в экспоненциальной фазе роста РЛ4-б было в 1,5 раза выше, чем при РЛ4 ( $0,28 \pm 0,10$  против  $0,18 \pm 0,09$ ), в то время как уровень В23/нуклеофозмина и индекс Ki-67 в обоих вариантах опухоли были примерно одинаковыми.

РЛ4-б демонстрировал изменение кинетики роста: укорочение латентной фазы и удлинение экспоненциальной фазы. Время удвоения объемов опухолей в экспоненциальной фазе РЛ4-б было в 2 раза больше, чем в РЛ4. Возможно, экспоненциальный рост РЛ4-б у иммунодефицитных гибридных мышей связан с увеличением экспрессии С23/нуклеолина. При оценке чувствительности обоих штаммов к аранозе выявлены слабый ответ РЛ4 (ТРО = 45%;  $p > 0,05$ ) и полная регрессия РЛ4-б (ТРО = 100%;  $p < 0,05$ ). После ремиссии РЛ4-б, длившейся 60 дней, у части мышей выявлен рецидив. В клетках рецидивного РЛ4 наблюдалось незначительное снижение индекса Ki-67, а также экспрессии С23/нуклеолина и В23/нуклеофозмина.

Таким образом, несмотря на то что под действием эффективной терапии алкилирующим агентом в РЛ4 доля пролиферирующих клеток меняется незначительно, происходит уменьшение скорости деления опухолевых клеток за счет снижения уровня экспрессии обоих Ag-ОЯОР-белков.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Cann K. L., Dellaire G. Nucleolus as a Biomarker in Cancer: Past and Future // *Can. J. Pathol.* — 2010. — Vol. 2, N 1. — P. 31—34.
2. Nucleophosmin and cancer / Grisendi S., Mecucci C., Falini B., Pandolfi P. P. // *Nat. Rev. Cancer.* — 2006. — Vol. 6, N 7. — P. 493—505.
3. Translocations and mutations involving the nucleophosmin (NPM1) gene in lymphomas and leukemias / Falini B., Nicoletti I., Bolli N., Martelli M. P., Liso A., Gorello P., Mandelli F., Mecucci C., Martelli M. F. // *Haematologica.* — 2007. — Vol. 92, N 4. — P. 519—532.
4. DIGE-based proteomic analysis identifies nucleophosmin/B23 and nucleolin/C23 as over-expressed proteins in relapsed/refractory acute leukemia / Hu J., Lin M., Liu T., Li J., Chen B., Chen Y. // *Leuk. Res.* — 2011. — Vol. 35, N 8. — P. 1087—1092.
5. Экспрессия рецепторов половых гормонов и активность аргирофильных белков области ядрышковых организаторов в клетках неизмененного миометрия и лейомиоме тела матки / Авдалян А. М., Бобров И. П., Климачев В. В., Лазарев А. Ф. // *Морфология.* — 2010. — Т. 137, № 2. — С. 61—65.
6. Аргирофильные белки районов ядрышковых организаторов в аденомах с различной степенью дисплазии и аденокарциноме толстой кишки / Лазарев А. Ф., Кобяков Д. С., Климачев В. В., Авдалян А. М., Бобров И. П. // *Арх. пат.* — 2010. — № 4. — С. 16—20.
7. Значение аргирофильных белков областей ядрышковых организаторов как маркеров степени злокачественности анапластической крупноклеточной лимфомы и лимфомы Ходжкина / Райхлин Н. Т., Букаева И. А., Пробатова Н. А., Смирнова Е. А., Павловская А. И., Тупицин Н. Н., Шолохова Е. Н., Османов Ш. Ш. // *Арх. пат.* — 2004. — Т. 66, № 5. — С. 30—34.
8. Прогностическое значение исследования степени экспрессии аргирофильных белков областей ядрышковых организаторов на примере папиллярного рака щитовидной железы / Райхлин Н. Т., Букае-



**Рисунок 2. Микрофотографии препаратов RL4 и RL4-6.**

**А.** RL4-6 (окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ ): крупные полиморфные опухолевые клетки, которые образуют солидные структуры округлой формы, разделенные прослойками соединительной ткани. **Б.** RL4 (окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ ): структуры как на рис. А. **В.** Экспрессия V23/нуклеофозмина в экспоненциальной фазе RL4-6 ( $\times 200$ ). **Г.** Экспрессия V23/нуклеофозмина в экспоненциальной фазе RL4 ( $\times 400$ ). **Д.** Экспрессия C23/нуклеолина в экспоненциальной фазе RL4-6 ( $\times 200$ ). **Е.** Экспрессия C23/нуклеолина в экспоненциальной фазе RL4 ( $\times 200$ ). **Ж.** Экспрессия Ki-67 в экспоненциальной фазе RL4-6 ( $\times 200$ ). **З.** Экспрессия Ki-67 в экспоненциальной фазе RL4 ( $\times 400$ ).

Таблица

**Экспрессия белков Ki-67, C23/нуклеолина и B23/нуклеофозмина в экспоненциальных фазах роста подкожных ксенографтов РЛ4-б и РЛ4 у иммунодефицитных мышей**

РЛ4	Интенсивность иммуногистохимической реакции		Индекс Ki-67, %	Отношение суммарной площади зерен белка к площади клеток	
	C23	B23		C23 ( $p < 0,05$ )	B23 ( $p > 0,05$ )
Медленнорастущий (РЛ4)	+ / ++	+ / ++	20—25	0,18 ± 0,09	0,16 ± 0,07
Быстрорастущий (РЛ4-б)	+++	+++	20—25	0,28 ± 0,10	0,15 ± 0,06
Рецидивный РЛ4	++	++	15—18	—	—

ва И. А., Смирнова Е. А., Павловская А. И., Бржезовский В. Ж., Богатырев В. Н., Пономарева М. В. // Арх. пат. — 2010. — Т. 72, № 4. — С. 49—52.

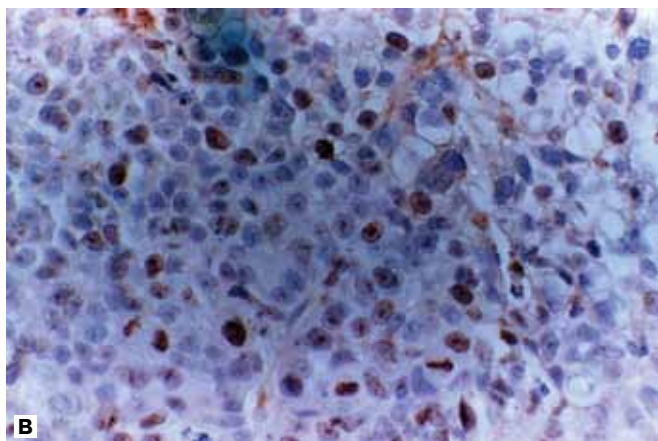
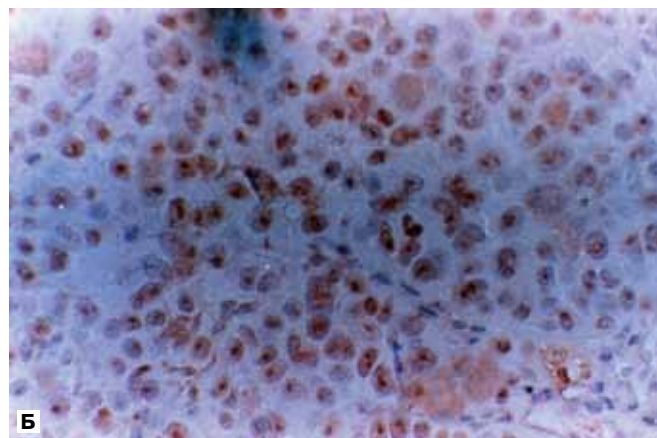
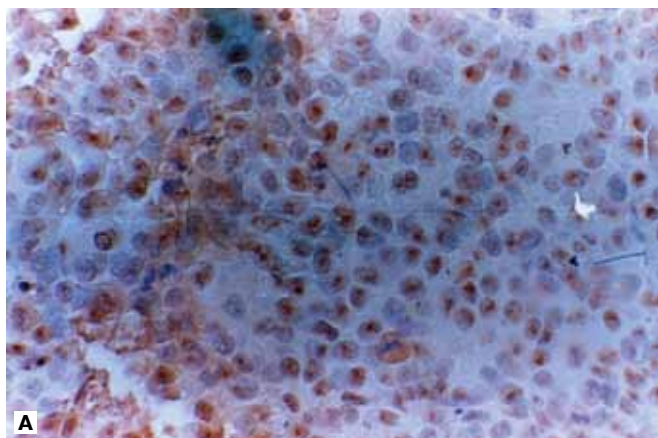
9. Значение экспрессии ядрышковых аргирофильных белков и антигена Ki-67 в определении пролиферативной активности клеток и прогноза «малого» (T1) рака легкого / Райхлин Н. Т., Букаева И. А., Смирнова Е. А., Гуревич Л. Е., Делекторская В. В., Полоцкий Б. Е., Лактионов К. К., Ардзинба М. С. // Арх. пат. — 2008. — Т. 70, № 3. — С. 15—17.

10. Glycosylated nucleolin as marker for human gliomas / Galzio R., Rosati F., Benedetti E., Cristiano L., Aldi S., Mei S., D'Angelo B., Gentile R., Laurenti G., Cifone M. G., Giordano A., Cimini A. // J. Cell Biochem. — 2012. — Vol. 113, N 2. — P. 571—579.

11. The new face of nucleolin in human melanoma / Hoja-Lukowicz D., Przybylo M., Pochec E., Drabik A., Silberring J., Kremser M., Schadendorf D., Laidler P., Litynska A. // Cancer Immunol. Immunother. — 2009. — Vol. 58, N 9. — P. 1471—1480.

12. Nucleophosmin is overexpressed in thyroid tumors / Pianta A., Puppini C., Franzoni A., Fabbro D., Di Loreto C., Bulotta S., Deganuto M., Paron I., Tell G., Puxeddu E., Filetti S., Russo D., Damante G. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2010. — Vol. 397, N 3. — P. 499—504.

13. Nucleolin antisense oligodeoxynucleotides induce apoptosis and may be used as a potential drug for nasopharyngeal carcinoma therapy / Wu C. D., Chou H. W., Kuo Y. S., Lu R. M., Hwang Y. C., Wu H. C.,



**Рисунок 3. Иммуногистохимическое исследование при рецидивном РЛ4 после терапии аранозой (×400). А. Экспрессия C23/нуклеолина. Б. Экспрессия B23/нуклеофозмина. В. Экспрессия Ki-67.**

Lin C. T. // *Oncol. Rep.* — 2012. — Vol. 27, N 1. — P. 94—100.

14. Randomized phase II trial of the nucleolin targeting aptamer AS1411 combined with high-dose cytarabine in relapsed/refractory acute myeloid leukemia (AML) / Stuart R. K., Stockerl-Goldstein K., Cooper M., Devetten M., Herzig R., Medeiros B., Schiller G., Wei A., Acton G., Rizzieri D. // *J. Clin. Oncol.* — 2009. — Vol. 27, N 15S. — P. 7019.

15. Expression of Nucleophosmin/NPM1 correlates with migration and invasiveness of colon cancer cells / Liu Y., Zhang F., Zhang X., Qi L. S., Yang L., Guo H., Zhang N. // *J. Biomed. Sci.* — 2012. — Vol. 19, N 1. — P. 53.

16. AgNOR protein expression and tumor growth rate of human carcinoma xenografts growing subcutaneously in nude mice / Trere D., Pession A., Montanaro L., Chieco P., Derenzini M. // *Eur. J. Histochem.* — 1997. — Vol. 41. — P. 153—154.

17. Особенности экспрессии аргирофильных белков в ксенографтах опухолей человека / Полковниченко Е. М., Зенит-Журавлева Е. Г., Лушникова А. А., Трещалина Е. М., Райхлин Н. Т. // Матер. XI Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. уч. «Отечественные противоопухолевые препараты (экспериментальная онколо-

гия)», г. Нижний Новгород, 31 мая — 1 июня 2012 г. — *Росс. биотер. журн.* — 2012. — Т. 11, № 2. — С. 42.

18. Experimental evaluation of nucleolin or nucleophosmin expression in human melanoma xenografts in nude mice after cell differentiating therapy with Dicarbamin / Polkovnichenko E., Zenit-Zuravleva E., Karshieva S., Raichlin N., Treshalina H., Lushnikova A., Nebolsin V. // 23rd International congress on anti-cancer treatment, Paris, 31 Jan — 2 Febr, 2011. — P. 287—288.

19. Влияние дикарбамина на экспрессию Ag-ОЯОР-белков, регулирующих скорость клеточной пролиферации / Райхлин Н. Т., Букаева И. А., Каршиева С. Ш., Небольсин В. Е. // Матер. VII Всерос. науч.-практ. конф. «Отечественные противоопухолевые препараты», г. Москва, 17—19 марта 2008 г. — *Росс. биотер. журн.* — 2008. — Т. 7, № 1. — С. 50—51.

20. Трещалина Е. М. Коллекция опухолевых штаммов человека / Под ред. М. И. Давыдова. — М.: Практическая медицина, 2009. — С. 34—35.

Поступила 29.05.2013

*Ekaterina Mikhailovna Ukhanova<sup>1</sup>, Saida Shamiliyevna Karshiyeva<sup>2</sup>,  
Ekaterina Gennadievna Zenit-Zhuravleva<sup>3</sup>, Natan Tanfelevich Raikhlin<sup>4</sup>,  
Irina Alexeyevna Bukayeva<sup>5</sup>, Anna Alexandrovna Lushnikova<sup>6</sup>,  
Vadim Sergeevich Pokrovsky<sup>7</sup>, Helena Mikhailovna Treschalina<sup>8</sup>*

**EXPRESSION OF PROLIFERATION MARKERS Ki-67, C23/NUCLEOLIN  
AND B23/NUCLEOPHOSMIN IN HUMAN LUNG CANCER XENOGRAPTS  
WITH DIFFERENT GROWTH RATE AND SENSITIVITY TO CHEMOTHERAPY  
IN IMMUNODEFICIENT MICE**

<sup>1</sup> *Laboratory Researcher, Combination Tumor Therapy Laboratory,  
Tumor Experimental Diagnosis and Therapy Research Institute, N. N. Blokhin RCRC, RAMS  
(24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)*

<sup>2</sup> *PhD, Senior Researcher, Laboratory Researcher, Combination Tumor Therapy Laboratory,  
Tumor Experimental Diagnosis and Therapy Research Institute, N. N. Blokhin RCRC, RAMS  
(24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)*

<sup>3</sup> *Junior Researcher, Combination Tumor Therapy Laboratory,  
Tumor Experimental Diagnosis and Therapy Research Institute, N. N. Blokhin RCRC, RAMS  
(24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)*

<sup>4</sup> *MD, PhD, DSc, Professor, Leading Researcher, Histochemistry and Electronic Microscopy Laboratory,  
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC, RAMS  
(24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)*

<sup>5</sup> *PhD, Senior Researcher, Human Tumor Pathology Anatomy Department, Clinical Oncology Research Institute,  
N. N. Blokhin RCRC, RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)*

<sup>6</sup> *PhD, DSc, Senior Researcher, Oncogenomics Laboratory, Carcinogenesis Research Institute,  
N. N. Blokhin RCRC, RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)*

<sup>7</sup> *PhD, Researcher, Combination Tumor Therapy Laboratory, Tumor Experimental Diagnosis  
and Therapy Research Institute, N. N. Blokhin RCRC, RAMS  
(24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)*

<sup>8</sup> *MD, PhD, DSc, Professor, Head, Combination Tumor Therapy Laboratory,  
Tumor Experimental Diagnosis and Therapy Research Institute, N. N. Blokhin RCRC, RAMS  
(24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478)*

Address for correspondence: Ukhanova Ekaterina Mikhailovna, Combination Tumor Therapy Laboratory,  
Tumor Experimental Diagnosis and Therapy Research Institute, N. N. Blokhin RCRC, RAMS, 24, Kashirskoye sh.,  
Moscow, RF, 115478; e-mail: kamita@yandex.ru

The purpose of this study was to evaluate expression of argyrophilic proteins of the nucleolar organizer regions, cell proliferation marker Ki-67, and growth kinetics of human lung carcinoma subcutaneous xenografts with different growth rates and sensitivity to chemotherapy. Expression of argyrophilic proteins of the nucleolar organizer regions was higher in fast- than in slow-growing human lung carcinomas. C23/nucleolin content in exponential phase of fast-growing human lung carcinoma was 1.5-fold higher than in slow-growing tumors ( $0.28 \pm 0.10$  vs.  $0.18 \pm 0.09$ ). B23/nucleophosmin levels and Ki-67 indices were practically equal in the two tumor types. Tumor volume doubling time in exponential phase of the fast-growing tumor was 2-fold greater than in slow-growing human carcinoma of the lung. Exponential growth of fast-growing human carcinoma of the lung in immunodeficient hybrid mice may be associated with increased expression of C23/nucleolin. Aranoza cytotoxic therapy was highly effective in fast-growing (100% tumor growth inhibition), but inhibited poorly slow-growing human lung carcinoma ( $\leq 45\%$  tumor growth inhibition). Our data suggest that repeated xenografting in immunodeficient mice may result in alteration of fast-growing human lung carcinoma towards decrease in the C23/nucleolin portion. This leads to prolongation in the lag phase and reduction in the exponential phase of growth as well as reduction in tumor sensitivity to cytotoxic chemotherapy.

**Key words:** human lung carcinoma xenografts, growth kinetics, Ki-67, C23/nucleolin, B23/nucleophosmin, immunodeficient mice.