

Демяшкин Г.А., Щекин В.И., Белокопытов Д.В.
**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТУЧНЫХ И АТИПИЧНЫХ КЛЕТОК
НЕМЕТАСТАТИЧЕСКОЙ СЕМИНОМЫ:
ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ И EVOC**

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), г. Москва, Российская Федерация

Аннотация. Герминогенные опухоли являются редкими новообразованиями яичка, которые встречаются у мужчин молодого возраста, а их доля составляет около 2% от всех злокачественных новообразований у мужчин. Морфологические изменения в иммунном ландшафте семиномы: взаимодействие тучных клеток, Т-, В-лимфоцитов и макрофагов с атипичными сперматогенными клетками, возможно придают определенную уникальность семиноме, а их количество соответствует стадии опухолевого роста. В то же время вопрос об участии тучных клеток в прогрессии семиномы остается дискутабельным. Результаты показали, что опухолевые клетки в модели EVOC сохраняли жизнеспособность и пролиферативную активность на протяжении всего 10-дневного эксперимента. Полученные данные свидетельствуют об успешной адаптации EVOC для изучения семиномы и открывают перспективы для ее дальнейших углубленных исследований.

Ключевые слова: семинома, тучные клетки, герминогенные опухоли, EVOC.

Demyashkin G.A., Shchekin V.I., Belokopytov D.V.
**INTERACTION OF IMMUNE AND ATYPICAL CELLS IN NON-METASTATIC
SEMINOMA: SURGICAL MATERIAL AND EVOC**

Abstract. Seminoma, a germ cell tumor of the testis, possesses unique properties, challenging for comprehensive investigation using traditional two-dimensional cell cultures and organoids due to their inability to preserve native intercellular interactions, extracellular matrix structure, tumor-matrix interactions, and microenvironmental components. This study aimed to adapt the ex vivo organ culture (EVOC) platform to maintain the biological activity of seminoma components, addressing this limitation. Results demonstrated that tumor cells within the EVOC maintained viability and proliferative activity throughout the 10-day experiment. These findings indicate the successful adaptation of the EVOC model for seminoma, providing a promising platform for further in-depth studies of this tumor.

Keywords: seminoma, mast cells, germ cell tumors, EVOC.

Введение. Семинома – герминогенная опухоль (ГО) яичка, обладающая многочисленными уникальными особенностями, она развивается из половых клеток под влиянием наследственных факторов, клеточного микроокружения и гормональных факторов, а также низкой склонностью к метастазированию [1]. Несмотря на то, что описан гистологический, молекулярно-биологический и молекулярно-генетический статус семиномы, по-прежнему мало изученным остается взаимодействие опухолевой ткани и ее микроокружения (tumor microenvironment, TME), учитывая, что инфильтрация иммунными клетками является одной из отличительных ее черт, среди других ГО. Морфологические изменения в иммунном ландшафте семиномы: взаимодействие тучных клеток, Т-, В-лимфоцитов и макрофагов с атипичными сперматогенными клетками и

другими соматическими клетками, возможно, придают определенную уникальность семиноме, а их количество соответствует стадии опухолевого роста. Для комплексного многостороннего изучения свойств данной опухоли, применения стандартных технологий клеточной биологии, таких как двухмерные клеточные культуры или органоиды недостаточно, ввиду того что они не способны сохранить истинные межклеточные взаимодействия, структуру внеклеточного матрикса, взаимодействия опухолевых клеток с матриксом, компоненты микроокружения и т.д. Потому *ex vivo organ culture* (EVOC) обладает практически всеми указанными признаками. Эксплант – это извлеченный из первичной опухоли тканевый фрагмент, помещенный в специальную питательную среду [2, 3]. Несмотря на то, что данная технология успешно себя зарекомендовала не только в изучении свойств множества злокачественных новообразований, но и в качестве клинико-практического инструмента подбора противоопухолевой терапии с высокими показателями чувствительности и специфичности [4], на данный момент не проводилось исследований по адаптации модели EVOC для семиномы. Изучение регуляторного потенциала тучных клеток, как элементов локального тканевого микроокружения (ЛТМ) в семиноме играет безусловную роль в канцерогенезе, а адаптация платформы EVOC для семиномы может максимально этому способствовать.

Цель. Иммунофенотипический анализ тучных клеток в неметастатической семиноме и адаптация платформы *ex vivo organ culture* для поддержания биологической активности компонентов семиномы и устранения указанных ограничений.

Материал и методы. Согласно анамнестическим и клинико-морфологическим данным, были сформированы следующие группы: I группа ($n = 73$; возраст 20 – 53 лет) – семиномы, согласно pTNM-классификации: Ia подгруппа – T1N0M0 ($n = 31$); Iб подгруппа – T2N0M0 ($n = 42$). II группа – сравнение ($n = 21$, возраст 20 – 53 лет) – интактные яички. Использовали гистохимический (толуидиновый синий) и иммуногистохимический (антитела к Tryptase, Chymase, CPA3, CD68, CD163) методы исследования. Кроме того, у пациентов ($n=18$) с установленным диагнозом семинома pT1стадии интраоперационно в стерильных условиях, во время орхиорадикальнойэктомии, были взяты «столбики» ткани с помощью многоразового кор-биопсийного пистолета. Часть кор-биоптатов – материал семиномы фиксировали в нейтральном 10% забуференном растворе («Контроль»; день 0). Остальные биоптаты помещали в питательную среду DMEM/F12, обогащенную 5% фетальной бычьей сывороткой, пенициллином 100 МЕ/мЛ, стрептомицином 100 мкг/мЛ, амфотерицином В 2,5 мкг/мЛ, гентамицин-сульфатом 50 мг/мЛ, L-глутамином 100 мкг/мЛ. На контрольные, 3, 7 и 10 сутки проводили гистологическое исследование эксплантата, окрашивали гематоксилином и эозином, а также иммуногистохимическое исследование с антителами к Ki-67 для определения индекса пролиферативной активности опухолевых клеток.

Результаты. На основании проведенных гистохимических реакций обнаружили, что в семиноме преобладают зрелые тучные клетки, при этом их количество прямо пропорционально стадии pTNM. При иммуногистохимическом анализе тучных клеток мы также наблюдали количественное изменение специфических протеаз, особенно трипептиды, в зависимости от pTNM-стадии семиномы, в сторону их понижения. При гистологическом и иммуногистохимическом исследовании микропрепаратах, полученных EVOC семиномы на контрольные, 3, 7 и 10 сутки клетки опухоли на протяжении всего эксперимента сохраняли жизнеспособность и пролиферативную активность.

Выводы. Иммунофенотипическое распределение гранул секретома указывает на уменьшение количества Tryptase-, Chymase- и CPA3-тучных клеток, которое обратно пропорционально pT-стадии неметастатической семиномы. Полученные данные указывают на успешную адаптацию модели EVOC для семиномы

Литература

1. Al-Obaidy, K. I. Molecular characteristics of testicular germ cell tumors: Pathogenesis and mechanisms of therapy resistance / K. I. Al-Obaidy, M. Chovanec, L. Cheng // Expert Review of Anticancer Therapy. – 2020. – Vol. 20, № 2. – P. 75–79. – <https://doi.org/10.1080/14737140.2020.1717337>
2. Zhou, L. The renaissance of human skin organ culture: A critical reappraisal / L. Zhou, X. Zhang, R. Paus, Z. Lu // Differentiation; research in biological diversity. – 2018. – № 104. – P. 22–35. – <https://doi.org/10.1016/j.diff.2018.10.002>
3. Polak, R. Cancer organoids 2.0: Modelling the complexity of the tumour immune microenvironment / R. Polak, E. T. Zhang, C. J. Kuo // Nature Reviews Cancer. – 2024. – Vol. 24, № 8. – P. 523–539. – <https://doi.org/10.1038/s41568-024-00706-6>
4. Golan, S. A clinical evaluation of an ex vivo organ culture system to predict patient response to cancer therapy / S. Golan, V. Bar, S. J. Salpeter, G. Neev [et al.] // Frontiers in Medicine. – 2023. – № 10. – 1221484. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1221484>.