C57BL/6 хулганад *MC38* эс ашиглан хавдрын эмчилгээний туршилтын загвар үүсгэсэн нь

Б.Өлзийсайхан[1], Б.Галиндэв[2], Ц.Билэгтсайхан[3], Б.Ариунзаяа[1], А.Оюунбаатар[4], К.М Мишиэрү[1], Б.Бадмараг[1], Н.Өлзий-Орших[5], Э.Баярмаа[6], Б.Энх-Амар[1], Н.Золмөнх[1], Т.Хонгорзул[1], С.Цогтсайхан[1], Л.Энхсайхан[1], Ч.Гансүх[1]

[1]АШУҮИС, Био-Анагаахын Сургууль, Дархлаа судлалын тэнхим
[2]АШУҮИС, Био-Анагаахын Хүрээлэн
[3]ЭМЯ, Халдварт Өвчин Судлалын Үндэсний Төв
[4]АШУҮИС, Био-Анагаахын Сургууль, Бичил амь судлал, Халдварын сэргийлэлт, Хяналтын тэнхим
[5]УНТЭ, Эмнэлзүйн Эмгэг Судлалын Нэгдсэн Лаборатори
[6]АШУҮИС, Био-Анагаахын Сургууль, Эмгэг судлалын тэнхим
Цахим шуудан: Ulziisaikhan@mnums.edu.mn, Утас: 99216588

Түлхүүр үг:

Туршилтын амьтан
Хавдрын загвар
Шугаман эс

Товч утга: Дэлхий дахинд хорт хавдраас шалтгаалсан нас баралт нь тэргүүлэх болон удаах шалтгаанд тогтмол орж байна. Туршилтын амьтан болон хавдрын шугаман эс ашиглан хорт хавдрын загвар үүсгэх, эмчилгээ турших нь ихээхэн ач холбогдолтой. Бид *C57BL/6* туршилтын хулганы хэвлий хэсгийн арьсан дотор *MC38* шугаман эс тарьж хавдрын загвар үүсгэсэн. Нийт хавдартай хулганыг гурван бүлэгт хувааж цисплатин, PBS, бактерийн ДНХ-ээр үйлчилсэн. Хавдрын урт, өргөн, өндрийг хэмжиж эзлэхүүнийг тооцож, хавдрын ургалтын динамикийг ажиглав. Хавдрын болон биеийн хэм болон биеийн жинг тогтмол хэмжсэн. Туршилтын амьтны хавдрын болон бусад эдийг авч эдийн шинжилгээ хийж мэргэжлийн эмгэг судлаач эмчээр дүгнүүлсэн. Эдийн шинжилгээгээр бактерийн ДНХ-ээр үйлчилсэн бүлгийн хулганы эдэд лимфоцит эсийн тоо хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад нэмэгдсэн байна.

Үндэслэл: Дэлхийн Эрүүл Мэндийн Байгууллагын мэдээлснээр дэлхийн 172 орноос 91 улсад хорт хавдрын шалтгаант нас баралт нь тухайн орны нас баралтын нэгдүгээр эсвэл хоёрдугаар шалтгаан болж байна[1,2]. Хорт хавдар нь Монгол улсын хувьд 1995 оноос хойш хүн амын нас баралтын тэргүүлэх шалтгааны 2-р байранд тасралтгүй орж байна[3]. Иймд хорт хавдрын загварыг туршилтын амьтанд үүсгэх, ирээдүйн судалгаа шинжилгээнд ашиглах зайлшгүй шаардлагатайг илтгэж байна.

Зорилго: *C57BL/6* үүлдрийн туршилтын хулганад синген шугаман эсийн өсгөвөр ашиглан хорт хавдрын загвар үүсгэж, гистологийн шинжилгээгээр баталгаажуулах, үүссэн загвар дээр хэсэг газрын туршилтын эмчилгээний загварыг боловсруулах

Зорилт:

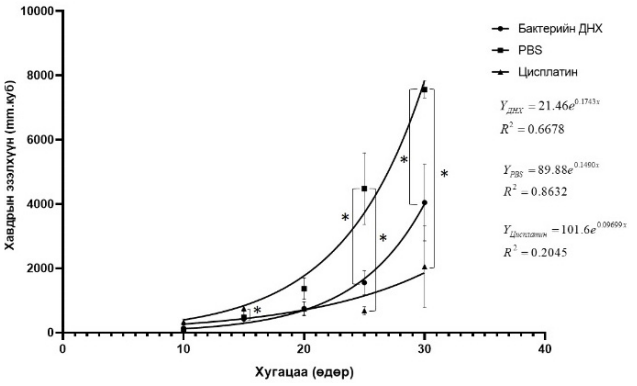
1. *C57BL/6* үүлдрийн туршилтын хулганад MC38 шугаман эс ашиглан бүдүүн шулуун гэдэсний хорт хавдрын загвар үүсгэх
2. Бүдүүн шулуун гэдэсний хорт хавдарт бактерийн ДНХ эмчилгээг хэсэг газрын загвар эмчилгээ болгон турших

Арга, аргачлал: Бид туршилт судалгааны загвараар АШУҮИС-ийн Цөм лаборатори болон Био-Анагаахын сургуулийн Дархлаа судлалын тэнхимийн дэргэдэх Эмнэлзүй эмгэг судлалын лабораторийг түшиглэн хийж гүйцэтгэсэн. Судалгааны ажлыг 2019 оны 04-07 сарын хооронд амьтны туршилтыг хийж гүйцэтгэсэн. Судалгаанд Жэксон лабораторийн C57BL/6 эм хулгана, Kerafast-ийн бүдүүн шулуун гэдэсний хавдрын шугаман эс MC38-ийг ашигласан. Туршилтын амьтны хавдрын хэмжээ 0.5-0.7 см хүрэх үед бактерийн геномын ДНХ-ийг хавдар луу шууд тарих замаар эхний тунг хийсэн. Бактерийн геномын ДНХ-ийг 150 мкг хэмжээтэйг авч хавдар руу тарьсан бөгөөд тарилт дунд нэг хоног өнжиж нийт 5 удаа тарьсан. Сөрөг хяналтаар 100 мкл PBS, эерэг хяналтад цисплатиныг (100 мкг) ашигласан. Хавдрын голомтод үйлчлсэн геномын ДНХ-г B.longum, L.casei, L.Fermentum-аас ялган авсан. Судалгааны

ажлын статистик боловсруулалтыг SPSS 26, Графпад призм 8.0, бичиглэлийг MS Office программыг ашиглан гүйцэтгэлээ.

Үр дүн: Эмчилгээний бодисуудын хавдрын ургалтын жиших муруйнд нөлөөлөх нөлөөллийг тогтоохын тулд жиших муруйн регрессийн тэгшитгэл болон үнэмшлийн утгыг тооцсон. Хавдрын уртын ургалтын зургаас харахад бактерийн ДНХ эмчилгээ нь сөрөг хяналттай харьцуулахад хавдрын уртын ургалтыг багасгаж байна (туршилтын 25 болон 30 дахь хоногуудад $p<0.05$). Харин цисплатин эмчилгээ нь сөрөг хяналттай харьцуулахад хавдрын уртын ургалтыг дарангуйлж байгааг хавдрын эс тарьснаас хойших 25 болон 30 дахь хоног дээрх хавдрын уртын хэмжээнүүд статистикийн үнэн магадлалтай ялгаатай байгаагаас харж болно (Зураг 1).

Гурван бүлэг дэхь туршилтын амьтдын биеийн болон хавдрын хэмийг инфра улаан зайнаас хэмжигч термометр ашиглан хэмжсэн (Ойролцоо газар 3 удаа давтан хэмжсэн). Биеийн болон хавдрын хэмийн хооронд статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдсангүй. Хэдий тийм ч цисплатин эмчилгээ хийсэн бүлгийн хулганаудын биеийн температур бага байх хандлага ажиглагдсан. Хавдрын гадаргуугийн хэмийн хувьд мөн гурван бүлгийн хооронд статистикийн үнэн магадлалтай ялгаа ажиглагдсангүй. Хугацаа өнгөрөх тутам хавдрын гадаргуугийн болон биеийн хэм буурах хандлага ажиглагдсан.



Зураг 1. Хавдрын ургалтын муруй

Туршилтын амьтан бүрийн жинг тус бүр 3 давтан хэмжиж дунджийг тодорхойлсон. Бактерийн ДНХ болон PBS эмчилгээ хийлгэсэн бүлэгт биеийн жин хугацаа өнгөрөхийн хэрээр нэмэгдэх хандлага ажиглагдлаа. Харин цисплатин эмчилгээ хийлгэсэн бүлгийн биеийн жин нь бусад бүлэгтэй харьцуулахад туршилтын 15, 20, 25 дахь өдрүүдэд статистикийн үнэн магадлалтай ($p<0.05$) бага байсан төдийгүй цисплатин эмчилгээ дуусах хүртэл биеийн жин багасах хандлагатай, эмчилгээ дууссанаас хойш жин нэмэх хандлагатай байлаа.

CpG арлаар баялаг бактерийн ДНХ эмчилгээ нь тарьсан хэсэг газар дархлааны хариу урвалыг өдөөж лимфоцит эс болон залгиур эсийг цуглуулдаг. Энэ нь хавдрын ургалтыг саатуулах боломжтой. Уг таамаглалыг батлахын тулд 3 бүлэг дэх хулганы хавдрын эдэд гистологийн шинжилгээ хийлээ. Эсийг тоолохдоо санамсаргүй байдлаар сонгосон 3 бүлгийн 12 харах талбайд лимфоцит төст эсийг тоолсон. Харах талбайд тоологдсон нийт лимфоцит төст эсийн тоо 22±6.3 байлаа. Харах талбайд тоологдсон лимфоцит төст эсийн тоо бактерийн ДНХ тарьсан бүлэгт 40.8±10.3, PBS тарьсан бүлэгт 10.5±2 харин цисплатин тарьсан бүлэгт 6.0±3 тус тус байна.

Хэсэг газрын бактерийн ДНХ эмчилгээ нь PBS болон цисплатин эмчилгээтэй харьцуулахад хавдрын эд дахь лимфоцит төст эсийн тоог статистикийн үнэн магадлалтайгаар ихэсгэж байв ($p<0.05$). Харин PBS болон цисплатин эмчилгээний бүлгийн хооронд статистикийн үнэн магадлалтай ялгаа ажиглагдсангүй.

Хэлцэмж: Бидний судалгаагаар туршилтын амьтанд хавдар үүсэх хугацаа тарих тунтай хамааралтай байсан. Мөн хавдрын тарих техникээс хамааран арьсан доорх хавдар эсвэл үсэрхийлэлт хавдар үүсэж байлаа.

Yuyin Fu (2021) нарын судалгаагаар нийт 6 хулганы хэвлийн баруун талын арьсан доор $1x10^6$ эс/тунгаар 100 мкл хэмжээтэй хавдрын эсийг тарихад 21 дэх өдрийн хавдрын эзлэхүүн 1600 ± 350 мм^3 байсан нь бидний судалгааны үр дүнтэй дүйж байна[4].

Michal Tepper (2013) нарын судалгаагаар хулганы хавдрын температурыг халуун мэдрэгч дүрс зургийн аппарат ашиглан хэмжихэд хавдрын температур нь хоног өнгөрөх тусам буурч байсан нь бидний үр дүнтэй дүйж байна[5].

Chengli Song (2007) нарын судалгаагаар ксенографт хавдрын загвар үүсгэж хавдрын температурыг үнэлэхэд хугацаа өнгөрөх тусам хавдрын температур буурч байсан нь бидний ажиглалттай ойролцоо байна[6].

J E Hunter (2014) нарын оны судалгаагаар C57BL/6 туршилтын хулганад гурван долоо хоногийн турш биеийн жинг хэмжихэд нэмэгдэх хандлага ажиглагдсан нь бидний үр дүнтэй тохирч байна[7].

Бид туршилтын амьтанд хавдрын эсийн шугам ашиглан синген хавдрын загвар амжилттай үүсгэсэн нь хавдрын суурь судалгаа, дархлаа эмчилгээ болон бусад шинэ эмчилгээг туршин үзэх боломжийг Монголын нөхцөлд бүрдүүлж байна.

Дүгнэлт:

1. C57BL/6 үүлдрийн туршилтын хулганад MC38 шугаман эс ашиглан бүдүүн шулуун гэдэсний хорт хавдрын үсэрхийлэлт болон үсэрхийлэлт бус хавдрын загварыг амжилттай үүсгэлээ.
2. Бактерийн ДНХ эмчилгээ нь туршилтын 25 болон 30 дахь хоногт хулганад үүссэн хавдрын ургалтыг багасгаж байна.

Ном зүй:

1. *Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. International journal of cancer. 2019;144(8):1941-1953.*
2. *Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. International journal of cancer. 2019;144(8):1941-1953.*
3. *ЭМХТөв. Эрүүл Мэндийн Үзүүлэлт. 2020:151.*
4. *Fu Y, Peng Y, Zhao S, et al. Combination Foretinib and Anti-PD-1*

Antibody Immunotherapy for Colorectal Carcinoma. Frontiers in cell and developmental biology. 2021;9:689727.

5. *Tepper M, Shoval A, Hoffer O, et al. Thermographic investigation of tumor size, and its correlation to tumor relative temperature, in mice with transplantable solid breast carcinoma. Journal of biomedical optics. 2013;18(11):111410.*
6. *Song C, Appleyard V, Murray K, et al. Thermographic assessment of tumor growth in mouse xenografts. International journal of cancer. 2007;121(5):1055-1058.*
7. *Hunter JE, Butterworth J, Perkins ND, Bateson M, Richardson CA. Using body temperature, food and water consumption as biomarkers of disease progression in mice with Eμ-myc lymphoma. British journal of cancer. 2014;110(4):928-934.*

Cancer experimental therapeutic model in *C57BL/6* mice using *MC38* cell line

Ulziisaikhan B[1], Galindev B[2], Bilegtsaikhan Ts[3], Ariunzaya B[1], Oyunbaatar A[4], Mishieru M.K[1], Badmaarag B[1], Ulzii-Orshikh N[5], Bayarmaa E[6], Enkh-Amar B[1], Zolmunkh N[1], Khongorzul T[1], Tsogtsaikhan S[1], Enkhsaikhan L[1], Gansukh Ch[1]

[1]Department of Immunology, School of Biomedicine, MNUMS
[2]Institute of Biomedical Sciences, MNUMS
[3]National Center for Communicable Diseases
[4]Department of Microbiology and Infection Prevention Control, School of Biomedicine, MNUMS
[5]Clinic pathologic laboratory, First Central Hospital Mongolia
[6]Department of Pathology, School of Biomedicine, MNUMS
E-mail: Ulziisaikhan@mnums.edu.mn, Tel: 99216588

Background: According to estimates from the World Health Organization (WHO) in 2015, cancer is the first or second leading cause of death before age 70 years in 91 of 172 countries. Since 1995, cancer was the second leading cause of mortality in Mongolia population. Therefore, it is necessary to develop a cancer animal model for experimental animals and to implement them for future research.
Aim: To cause a cancer model using syngenic linear cell culture in C57BL /6 mice, confirm it by histological examination, and develop a local experimental treatment model on the study model.
Materials and methods: The MC38 mouse colon adenocarcinoma cell line was used in the experiment. To generate cancer model 1×10^6 MC38 tumor cells were injected subcutaneously at the site of the abdomen of syngeneic mice.
Results: MC38 linear cell was used to grow metastatic and non metastatic colorectal cancer in the C57BL/6 mice.
Conclusion: Bacterial DNA therapy reduced tumor growth in mice on days 25 and 30 of the experiment ($p<0.05$).

Keywords: Experimental animal, Tumor model, Cell line