

## ТРАНСМИССИВНАЯ НЕОПЛАЗИЯ МИДИЙ *MYTILUS TROSSULUS* В ТАУЙСКОЙ ГУБЕ ОХОТСКОГО МОРЯ: ДИАГНОСТИКА И РАЗНООБРАЗИЕ

Александрова П.Н.<sup>1</sup>, Майорова М.А.<sup>2</sup>, Хайтов В.М.<sup>1</sup>, Стрелков П.П.<sup>1</sup>, Сказина М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток

*a.alexandrova55894@gmail.com*

*Ключевые слова: двустворчатые моллюски, Mytilus, трансмиссивный рак.*

Трансмиссивный рак – заразное онкологическое заболевание, при котором инфекционными агентами являются сами раковые клетки, некогда возникшие у особи – “нулевого пациента”. Это редкое заболевание, отмеченное у домашних собак, тасманийского дьявола и нескольких видов *Bivalvia* [2]. У двустворчатых моллюсков это заболевание носит название трансмиссивная неоплазия, или VTN. Феноменологически VTN – это диссеминированная неоплазия (DN), лейкемия-подобное заболевание, поражающее гемолимфу. В норме у моллюсков выделяют два основных типа гемоцитов – это гранулоциты и агранулоциты. При DN в гемолимфе появляются неопластические клетки округлой формы с крупным ядром. С развитием заболевания неопластические клетки проникают в ткани и органы моллюска. Этиологически DN может быть как спонтанной, так и обусловленной VTN. У моллюсков с VTN наблюдается генетический химеризм – неопластические гемоциты имеют генотип, родственный генотипу “нулевого пациента” и отличный от генотипа мидии-хозяина. У мидий *Mytilus trossulus* известны 2 генетические линии VTN, MtrVTN1 и MtrVTN2; в пределах второй также выделяют 2 “штамма” – MtrVTN2.1 и MtrVTN2.2, маркированные специфичными аллелями по мтДНК [4].

Диагностика MtrVTN включает два основных этапа: подтверждение у мидий DN и затем генотипирование их тканей для выявления раковых аллелей. На первом этапе применяется метод проточной цитометрии гемолимфы (FC), окрашенной флуоресцентным красителем ДНК [1]. FC позволяет выявлять и количественно описывать фракции нормальных (диплоидных) и раковых (анеуплоидных) клеток. Больными считаются особи с долей анеуплоидных клеток более 10% [3]. На втором этапе используется COI-тест на гетероплазмия [3]. Тест заключается в генотипировании по COI-фрагменту мтДНК гемоцитов и тканей ноги моллюска и показывает наличие аллелей, уникальных для разных линий и штаммов MtrVTN.

Альтернативный метод диагностики DN – это изучение живых клеток гемолимфы под световым микроскопом. В отличие от большинства здоровых гемоцитов, расплывающихся на поверхности чашки Петри, неопластические клетки не расплываются по субстрату и имеют округлую форму [1].

Задачами нашего исследования было диагностировать DN и VTN у мидий, собранных в 2023 году в окрестностях г. Магадан, провести анализ разнообразия VTN и заболеваемости мидий DN и VTN, и оценить эффективность диагностики DN при помощи световой микроскопии в сравнении с FC, рассматриваемой в качестве “золотого стандарта”.

Были исследованы 1803 мидии *M. trossulus* из 15 поселений Тауйской губы Охотского моря. У каждой особи были взяты образцы гемолимфы и мышечных тканей ноги. Для сравнения методов диагностики DN аликвоту свежей гемолимфы изучали под микроскопом, а оставшая гемолимфа фиксировалась в 70% этаноле для FC и генотипирования. Капли гемолимфы

помещались в чашку Петри, спустя 10-15 минут клетки оседали на ее поверхности и были различимы в световой инвертированный микроскоп при увеличении в 320 раз. По наличию в гемолимфе неопластических клеток особи были предварительно разделены на 2 группы – здоровые и больные DN. Больные особи также были классифицированы по доле неопластических клеток на четыре категории: (1) единичные округлые клетки, до 3-5 в поле зрения микроскопа; (2) 10-20 округлых клеток; (3) значительное количество округлых клеток, но преобладают здоровые; (4) единичные здоровые клетки среди округлых. Затем все мидии были изучены с помощью ФС. Для особей с DN по результатам ФС проводили СОI-тест. Были оценены чувствительность и точность диагностики DN при помощи световой микроскопии в сравнении с результатами ФС. Чувствительность (доля больных особей, верно определенных тестом относительно истинно больных особей) отражает вероятность того, что больная особь будет классифицирована именно как больная, в то время как точность отражает долю релевантных результатов теста относительно всех изученных животных.

Среди изученных мидий заболеваемость DN по результатам световой микроскопии составила 10%, по результатам проточной цитометрии - 4.6%. Заболеваемость BTN составила 4.2%, были обнаружены все известные генотипы: MtrBTN1, MtrBTN2.1 и MtrBTN2.2. По результатам оценки эффективности диагностики DN при помощи световой микроскопии чувствительность метода составила 89%. Для моллюсков с разными линиями BTN, различий чувствительности метода не выявлено. При этом чем больше округлых клеток наблюдалось в образце, с тем большей вероятностью неоплазия подтверждалась результатами цитометрии: положительная прогностическая ценность теста для 1, 2, 3 и 4 категории составила 3%, 54%, 86% и 100%, соответственно.

Полученные данные о высокой чувствительности и точности метода позволяют использовать световую микроскопию для экспресс-диагностики DN у мидий на поздних стадиях болезни. У особей с небольшим количеством видимых в микроскоп округлых клеток зачастую неоплазия не подтверждалась при помощи ФС. Так или иначе световую микроскопию можно использовать для существенного сужения круга особей с подозрением на DN. Для окончательного суждения о болезни у этих особей желательно применять стандартные методы.

Авторы благодарят К.В. Регель, Ю.Т. Марченко, С.С. Малавенду, И.В. Кожина за помощи в сборе и обработке материала. Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ (19-74-20024).

### Список литературы

- 1) Одинцова Н.А. Лейкемия-подобный рак у двустворчатых моллюсков // Биология моря. 2020. Т. 46, № 2. С. 75–84.
- 2) Metzger M.J. et al. Widespread transmission of independent cancer lineages within multiple bivalve species // Nature. 2016. V. 534, № 7609. P. 705–709.
- 3) Skazina M. et al. Two lineages of bivalve transmissible neoplasia affect the blue mussel *Mytilus trossulus* Gould in the subarctic Sea of Okhotsk // Current Zoology. 2023. V. 69, № 1. P. 91–102.
- 4) Yonemitsu M.A. et al. A single clonal lineage of transmissible cancer identified in two marine mussel species in South America and Europe // Elife. 2019. V. 8. P. e47788.