

Сравнительная характеристика ортотопической и гетеротопической моделей *in vivo* рака молочной железы человека

И. С. Ляшенко, М. В. Романова, А. С. Гончарова[✉], Д. В. Ходакова, А. В. Галина, С. В. Гурова, С. Ю. Филиппова, Ю. С. Шатова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ fateyeva_a_s@list.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценка приживления и динамики роста ксенографтов рака молочной железы (РМЖ) при ортотопической и подкожной инъекции с использованием различных типов биологического материала, а также разработка адекватной модели РМЖ для дальнейших исследований.

Материалы и методы. Использовали дезагрегированный фрагмент опухоли, полученной от пациентки, паспортизированную клеточную линию РМЖ BT20 – карцинома молочной железы человека; первичную клеточную линию карциномы молочной железы человека. В качестве животных-реципиентов использовали самок иммунодефицитных мышей линии Balb/c Nude в количестве 36 голов. В работе были разработаны подкожные и ортотопические модели РМЖ. Наблюдали рост опухоли в течение 28 суток с момента инъекции и осуществляли замеры опухолевых узлов 2 раза в неделю до конца эксперимента. Результаты оценивали с использованием медианы и процентилей. Для оценки достоверности различий использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

Результаты. В ходе данной работы была определена динамика роста опухолевых узлов при инъекции в различные сайты. Наиболее успешной, при подкожной инъекции, являлась инъекция опухолевых клеток, паспортизированной линии BT20. На момент окончания эксперимента медиана опухолевых узлов данной группы составила 100,32 мм³. При анализе динамики роста опухоли при ортотопической инъекции опухолевого материала было выявлено, что в медиана объема опухолевых узлов в группе с паспортизированной культурой клеток BT20 и первичной культурой клеток достигала сходных значений – 149,22 и 148,25 мм³. Было выявлено, что как при инъекции клеточных линий, так и клеточной суспензии опухолевые узлы достигали значимо большего объема при ортотопической инъекции.

Заключение. Нами была получена опухолевая модель РМЖ при различных способах имплантации материала и с возможностью дальнейшего использования при тестировании новых фармакологических субстанций.

Ключевые слова: рак молочной железы, ксенографт, Balb/c Nude, карцинома, BT20, первичная опухоль, клеточная линия

Для цитирования: Ляшенко И. С., Романова М. В., Гончарова А. С., Ходакова Д. В., Галина А. В., Гурова С. В., Филиппова С. Ю., Шатова Ю. С. Оценка приживления и динамики роста ортотопической и гетеротопической *in vivo* модели рака молочной железы человека. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(1): 25-33. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-1-3>, <https://elibrary.ru/kcljwh>

Для корреспонденции: Гончарова Анна Сергеевна – к.б.н., заведующий испытательного лабораторного центра, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: fateyeva_a_s@list.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>

SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424

Scopus Author ID: 57215862139

Соблюдение этических стандартов: все манипуляции в ходе эксперимента были выполнены с соблюдением этических принципов, установленных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETSN 123, Страсбург, 18 марта 1986 г). Протокол исследования № 19/123 от 3.08.2021 г. был одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НИИЦ онкологии» Минздрава России. Пациенткой было предоставлено письменное согласие на передачу биологического материала

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Статья поступила в редакцию 08.09.2023; одобрена после рецензирования 10.02.2024; принята к публикации 27.02.2024

© Ляшенко И. С., Романова М. В., Гончарова А. С., Ходакова Д. В., Галина А. В., Гурова С. В., Филиппова С. Ю., Шатова Ю. С., 2024

Evaluation of engraftment and growth dynamics of orthotopic and heterotopic *in vivo* models of human breast cancer

I. S. Lyashenko, M. V. Romanova, A. S. Goncharova[✉], D. V. Khodakova, A. V. Galina, S. V. Gurova, S. Yu. Filippova, Yu. S. Shatova

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ fateyeva_a_s@list.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. This work was to assess the engraftment and growth dynamics of breast cancer xenografts during orthotopic and subcutaneous injection using various types of biological material, as well as to develop an adequate model of breast cancer for further research.

Materials and methods. We used a disaggregated fragment of a tumor obtained from the patient, a certified breast cancer cell line VT20 – human breast carcinoma; a primary human breast carcinoma cell line. Female immunodeficient mice of the Balb/c Nude line in the amount of 36 animals were used as recipient animals. The subcutaneous and orthotopic models of breast cancer were developed in this project. Tumor growth was observed for 28 days from the moment of injection and tumor nodes were measured 2 times a week until the end of the experiment. Results were assessed using medians and percentiles. The nonparametric Mann-Whitney test was used to assess the significance of differences.

Results. The dynamics of the growth of tumor cells when injected into various sites was determined in the process of this work. The most successful in terms of a subcutaneous injection was the injection of tumor cells of the certified VT20 line. By the end of the experiment, the median tumor node of this group was 100.32 mm³. The analysis revealed tumor dynamics with orthotopic injection of tumor material, and the median volume of the tumor node in the group with the passport culture cell VT20 and the primary culture cell reached the same value – 149.22 and 148.25. mm³. It was found that both the cell line and the cell suspension were injected into tumor nodes that reached a significantly larger volume when injected orthotopically.

Conclusion. We have obtained a tumor model of breast cancer using various methods of material implantation and with the possibility of further use in testing new pharmacological substances.

Keywords: breast cancer, xenograft, Balb/c Nude, carcinoma, VT20, primary tumor, cell line

For citation: Lyashenko I. S., Romanova M. V., Goncharova A. S., Khodakova D. V., Galina A. V., Gurova S. V., Filippova S. Yu., Shatova Yu. S. Evaluation of engraftment and growth dynamics of orthotopic and heterotopic *in vivo* models of human breast cancer. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(1): 25-33. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-1-3>, <https://elibrary.ru/kcljwh>

For correspondence: Anna S. Goncharova – Cand. Sci. (Biol.), head of testing Laboratory Center, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: fateyeva_a_s@list.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>

SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424

Scopus Author ID: 57215862139

Compliance with ethical standards: All manipulations during the experiment were performed in compliance with the ethical principles established by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experiments or Other Scientific Purposes (ETSN 123, Strasbourg, March 18, 1986). Study Protocol No. 19/123 dated 08/3/2021 was approved by the local Ethical committee National Medical Research Centre for Oncology. The patient provided written consent for the transfer of biological material

Funding: this work was not funded

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article

The article was submitted 08.09.2023; approved after reviewing 10.02.2024; accepted for publication 27.02.2024

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (РМЖ) является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний в мире. Так в 2022 г. в России было зарегистрировано около 68 тысяч новых случаев данного заболевания [1]. Согласно общемировой статистике заболеваемость РМЖ составляет 11,6 % всех случаев рака, и около 626 000 случаев смерти от РМЖ, что составило 6,6 % зарегистрированных смертей [2]. Кроме того, данное заболевание является в высокой степени гетерогенным и подразделяется на 4 различных молекулярных подтипа, различающихся по геномике опухоли и типу клеток, из которых иницируется опухоль. Так к этим подтипам относят люминальный А, люминальный В, Her2-положительный и тройной негативный РМЖ [3]. Для изучения различных подтипов учеными используются несколько видов модельных систем: *in silico*, *in vitro* и *in vivo* [4]. Каждый из данных методов обладает рядом преимуществ и недостатков. При помощи модельной системы *in silico* учеными ведется поиск потенциальных антигенов-мишеней, анализ транскриптомных данных [5], анализ связи генотипа с фенотипом для поиска гена в качестве перспективной мишени для терапии, а также поиск прямо или косвенно связанных генов, выбранных в качестве альтернативы найденной мишени [6] и компьютерное прогнозирование комплементарности области связывания между лекарственным средством и терапевтической мишенью против РМЖ [7]. При использовании системы *in vitro* исследователи анализируют механизмы резистентности опухолевых клеток к препаратам, оценивают влияние новых фармакологических субстанций на жизнеспособность опухолевых клеток [8], исследуют механизмы органотоксичности препаратов [9] и многое другое. В настоящее время также актуальна разработка опухолевых моделей РМЖ *in vivo* с целью исследования биомаркеров чувствительности опухоли к препаратам, изучения новых схем лечения, исследования развития опухоли в организме [10].

Цель исследования: оценка приживления и динамики роста ксенографтов РМЖ при ортотопической и подкожной имплантации с использованием различных типов биологического материала, а также разработка адекватной модели РМЖ для дальнейших исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опухолевый материал

Для данной работы использовали дезагрегированный фрагмент опухоли, полученной от пациентки Е. 75 лет, с диагностированным раком молочной железы cT4N2Mo St IIIB, паспортизированную клеточную линию РМЖ BT20 – карцинома молочной железы человека; первичную клеточную линию карциномы молочной железы человека. Пациенткой было предоставлено письменное согласие на передачу биологического материала.

Клеточные линии культивировали в питательной среде RPMI-1640 с добавлением фетальной бычьей сыворотки (FBS), в CO₂ инкубаторе при температуре 37 °С и 5 % содержании углекислого газа. Для получения первичной линии фрагмент опухоли, полученной от пациента, помещали в питательную среду с добавлением гентамицина (10 %), после чего обрабатывали этиловым спиртом (70 %). Фрагмент измельчали, центрифугировали 2 мин. при 3000 об./мин., после обрабатывали раствором коллагеназы. Культивировали полученную суспензию в CO₂ инкубаторе, после процеживали и центрифугировали клетки 2 мин. при 3000 об./мин. Далее промывали суспензию стерильным DMEM с 5 % FBS, переносили во флакон T25 в 5 мл среды DMEM + 10 % FBS. и культивировали клетки описанным выше методом. Для получения суспензии клеток из ксенографта фрагмент опухолевой ткани, полученной от пациентки, промывали в питательной среде с антибиотиком (гентамицин), очищали от фрагментов некроза, соединительной ткани и сосудов. После очищения опухолевый фрагмент измельчали в системе для дезагрегации тканей с использованием автоматизированной системы BD Medimachine (BD, USA), добавляя 1 мл питательной среды RPMI-1640. После измельчения опухолевой ткани отбирали полученную суспензию и фильтровали через нейлоновые фильтры с диаметром ячейки 70 мкм и вводили полученную суспензию клеток РМЖ в питательной среде экспериментальным животным.

Животные-реципиенты

В качестве животных-реципиентов использовали самок мышей линии Balb/c Nude в количестве 36 голов, весом 20–22 гр., возрастом 4 недели, приобретенные в НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН. Животные содержались в SPF-условиях испытательного лабораторного центра ФГБУ

«НМИЦ онкологии» Минздрава России, в индивидуальном вентилируемых клетках при температуре 21–23 °С, со свободным доступом к воде и корму. Животные были разделены на 6 групп по 6 мышей в каждой. В группе 1 были животные с подкожной инъекцией дезагрегированного фрагмента опухоли; группа 2 – подкожная инъекция культуры клеток BT20; группа 3 – подкожная инъекция первичной клеточной культуры клеток; группа 4 – ортотопическая инъекция дезагрегированного фрагмента опухоли; группа 5 – ортотопическая инъекция культуры клеток BT20; группа 6 – ортотопическая инъекция первичной клеточной культурой клеток.

Все манипуляции в ходе эксперимента были выполнены с соблюдением этических принципов, установленных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETSN 123, Страсбург, 18 марта 1986 г). Протокол исследования № 19/123 от 3.08.2021 года был одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

Разработка модели РМЖ

Для создания подкожной опухолевой модели на боку животного делали кожную складку, в которую вводили 0,3 мл клеточной суспензии в питательной среде RPMI-1640.

Для создания ортотопической модели животных вводили наркоз с использованием двухэтапной анестезии: премедикация ксилазином (20 мг/кг) и наркотизация золетилом (50 мг/кг). Наркотизированным животным вводили в жировую ткань молочной железы суспензию опухолевых клеток в объеме 0,2 мл в питательной среде RPMI-1640. Каждому животному вводили $3 \cdot 10^7$ клеток.

Наблюдали рост опухоли в течение 28 суток с момента инъекции и осуществляли замеры опухолевых узлов 2 раза в неделю до конца эксперимента. Объем опухолевых узлов вычисляли по формуле:

$$V = (L \cdot W \cdot H) / 6 \cdot \pi, \text{ где}$$

V – объем опухолевого узла; L – длина опухолевого узла; W – ширина опухолевого узла; H – высота опухолевого узла.

По истечении 28 суток животных эвтаназировали в CO₂ камере.

Статистический анализ результатов

Для анализа полученных результатов использовали пакет программ Microsoft 10, и Statistica 10. Для проверки на нормальность полученной выборки данных использовали критерий Шапиро-Уилка.

Результаты оценивали с использованием медианы и процентилей. Для оценки достоверности различий использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе данной работы была определена динамика роста опухолевых узлов при различном месте инъекции. При подкожной инъекции наиболее успешной являлась инъекция опухолевых клеток паспортизированной линии BT20. На момент окончания эксперимента медиана опухолевых узлов данной группы составила 100,32 [91,15; 113,99] мм³. Рост опухолевых узлов отмечали у 5 животных в группе (83,33 %). В группе с подкожной инъекцией первичной культуры опухолевых клеток на 28 день эксперимента медиана опухолевых узлов составила 88,79 [86,60; 90,86] мм³, что на 11,49 % меньше, чем в группе с введением паспортизированной культуры. Наблюдали образование опухолевых узлов у 5 животных (83,33 %). Наименьшая динамика роста отмечалась в группе с дезагрегированной опухолью, где медиана опухолевого узла составила 41,28 [32,96; 44,73] мм³, что на 58 % меньше, чем в группе с паспортизированной культурой клеток. Опухолевые узлы наблюдали у 4 животных в группе (66,67 %). Данные о динамике роста подкожных опухолевых узлов представлены на рис. 1.

При ортотопической инъекции опухолевого материала было выявлено, что в данном варианте роста медиана объема опухолевых узлов в группе с паспортизированной культурой клеток BT20 и первичной культурой клеток достигала сходных значений – 149,22 [145,43; 153,58] и 148,25 [144,09; 149,81] мм³. При данной имплантации рост опухолевых узлов наблюдали у всех 6 животных в группах (100 %). В группе с инъекцией дезагрегированной опухоли медиана объема опухолевых узлов на 28 сутки эксперимента составила 73,24 [70,11; 78,19] мм³, а наличие опухолевых узлов наблюдали у 4 животных в группе (66,67 %). Данные о динамике роста ортотопических опухолевых узлов представлены на рис. 2.

При сравнительном анализе динамики роста опухолевых узлов при подкожном и ортотопическом варианте инъекцией опухолевых клеток было выявлено, что как опухолевых линии, так и полученная суспензия клеток достигали значимо большего

объема при ортотопической инъекции. Данные о сравнительном анализе роста опухолевых узлов представлены на рис. 3.

При анализе полученных результатов было выявлено, что при ортотопической инъекции опухолевых клеток отмечали значимо большую скорость роста, чем при подкожной инъекции. При анализе различных литературных данных нами также было подтверждено, что для более быстрого роста и достижения большего объема опухолевого узла рекомендовано осуществлять ортотопическую имплантацию [11, 12]. При оценке особенностей роста ксенографтов в одной из работ ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России был проведен анализ роста кардиоэзофагеального рака человека на мышинных моделях [12]. В работе Кита С. О. и соавт. (2020 г.), так же как и в нашей работе, было выявлено существенное влияние места имплантации на динамику роста опухолевого узла и шанс приживляемости ксенографта, что, вероятно, связано с воздействием среды, окружающей опухолевый узел [12]. В исследованиях Зибирова Р. Ф. и Мозерова С. А. (2018 г.), Чен С. и соавт. (2023 г.) было показано, что микроокружение опухоли через сигнальные молекулы способствует успешному приживлению опухолевого фрагмента, росту опу-

холевого узла, иницированию неоваскуляции и формированию метастазов [13, 14]. Данное микроокружение представлено стромой с клетками различного типа, к таким клеткам относят опухолеассоциированные фибробласты – в исследовании Чжан Я. и соавт. (2023 г.) показано, что данные клетки активируются за счет таких факторов микроокружения, как TGF- β , моноцитарный хемотаксический протеин-1, фактор роста фибробластов; продуцируют такие сигнальные белки, как фактор роста гепатоцитов, инсулиноподобный фактор роста-1, стимулирующие пролиферацию опухолевых клеток [15]. Кроме того, в исследованиях Пастушенко Е. и соавт. (2018 г.) и Кубурич Н. А. и соавт. (2023 г.) было продемонстрировано влияние опухолеассоциированных фибробластов на индукцию эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) путем секреции TGF- β , который активирует гены, кодирующие белки, необходимые для мезенхимальных функций клеток (виментин, N-кадгерин, фибронектин-1) и подавляет экспрессию белков, важных для эпителиального фенотипа (E-кадгерин, цитokerатины и ламины) [16, 17]. К микроокружению опухоли также относят Т- и В-лимфоциты: в работе Зибирова Р. Ф. и Мозерова С. А. (2018 г.) было выявлено высокое содержание интерлейкина-10

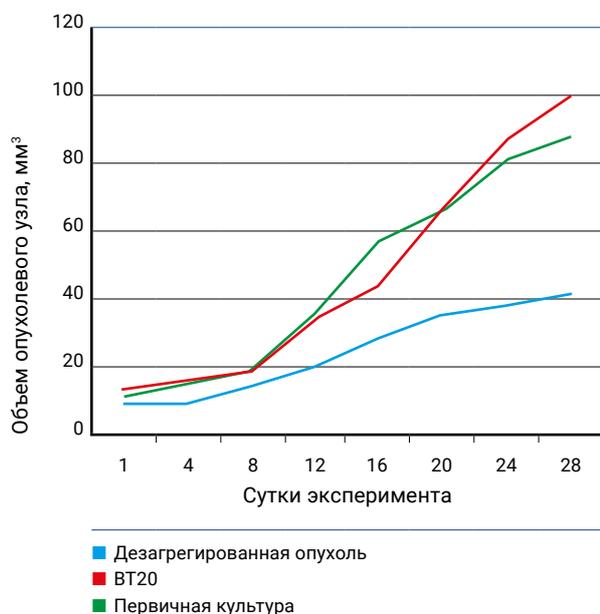


Рис. 1. Динамика роста подкожных опухолевых узлов РМЖ в группе с дезагрегированной опухолью, с инъекцией VT20, с инъекцией первичной культурой
Примечание: данные представлены в виде медианы

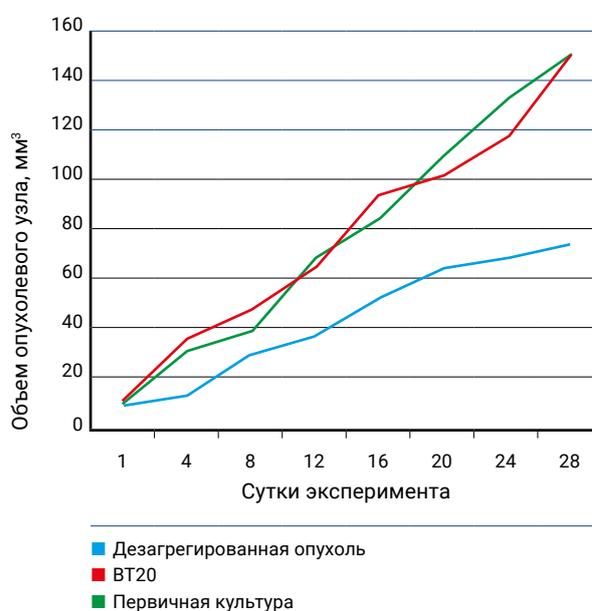
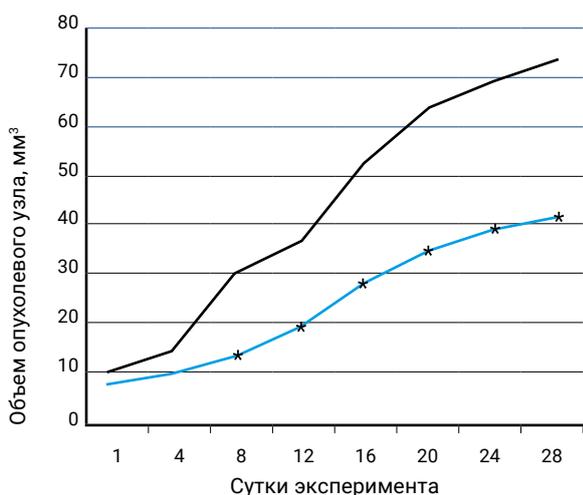


Рис. 2. Динамика роста ортотопических опухолевых узлов РМЖ в группе с дезагрегированной опухолью, с инъекцией VT20, с инъекцией первичной культурой.
Примечание: данные представлены в виде медианы

(ИЛ-10), продуцируемого опухолевыми клетками и способствующего угнетению цитотоксической активности Т-лимфоцитов, что способствует выживанию опухолевых клеток в организме [13]. Данные о влиянии В-лимфоцитов на патогенез опухоли неоднозначны – в работе Цинь Ю. и соавт. (2021 г.) показано, что инфильтрация опухоли В-лимфоцита-

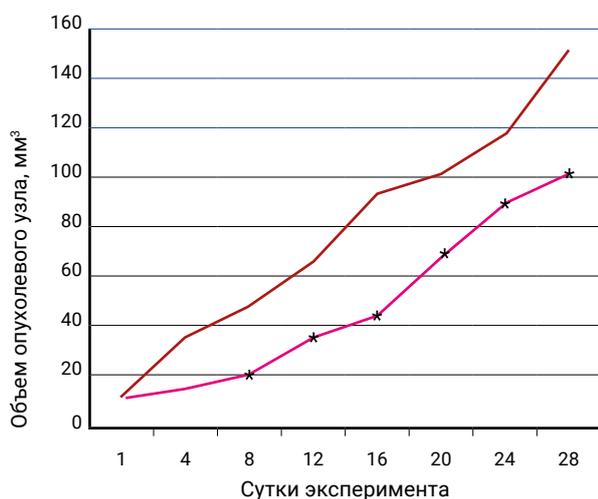
ми является положительным прогностическим маркером. Такие клетки выполняют антигенпрезентирующую функцию и экспрессируют молекулы CD80, CD86, активируя CD4+ и CD8+ Т-клетки [18]. Однако в исследовании Линднера С. и соавт. (2013 г.) было показано, что регуляторные В-клетки секретируют интерлейкин-10, интерлейкин-35, интерлейкин-6, TGF-β, способствуя иммуносупрессии противоопухолевой реакции [19]. Также одними из основных клеток микроокружения опухоли считаются тучные клетки, активирующие ангиогенез через гистамин, гепарин, основной фактор роста фибробластов, фактор роста эндотелия сосудов, TGF-β [13]. В работе Лю С. и соавт. (2023 г.), несмотря на различные противоречивые данные, показано протуморогенное влияние тучных клеток при злокачественных образованиях различных нозологий [20]. Таким образом, ортотопическая имплантация опухолевых клеток в организм экспериментального животного способствует развитию соответствующего ответа микроокружения, которое, согласно проанализированным литературным и экспериментальным данным, способствует более успешному приживлению и росту ксенографта.

В нашей работе мы также проводили анализ влияния типа перевиваемого материала на его приживляемость и рост в организме реципиента.



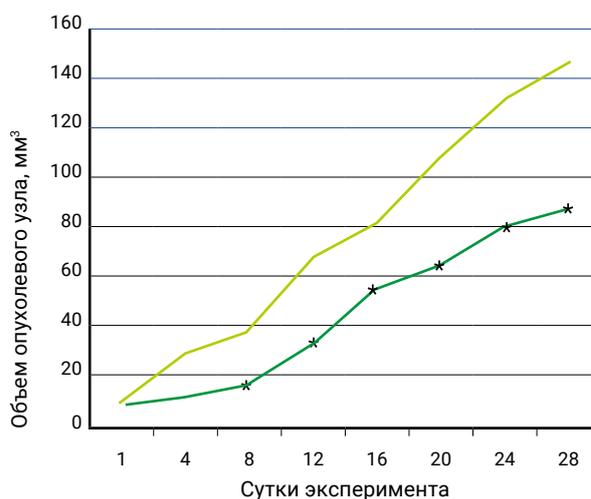
A

■ Деагрегированная опухоль (подкожно)
 ■ Деагрегированная опухоль (ортотопически)



Б

■ BT20 (подкожно)
 ■ BT20 (ортотопически)



В

■ Первичная культура (подкожно)
 ■ Первичная культура (ортотопически)

Рис. 3. Сравнение динамики роста групп с деагрегированной опухолью, с инъекцией BT20, с инъекцией первичной культурой при подкожном и ортотопическом способах инъекции
 Примечание: данные представлены в виде медианы, * – статистически значимые различия между группами по критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$)

В ходе работы мы отмечали наиболее активный рост и больший успех приживляемости трансплантата паспортизированной клеточной линии BT20, однако первичная клеточная линия, сформированная в нашем учреждении, также демонстрировала близкий к паспортизированной культуре результат. Наименьшей динамикой роста и процентом приживляемости обладала дезагрегированная опухоль, полученная от пациентки. Анализируя литературные данные по теме, мы отмечали необходимость межклеточной коммуникации для развития физиологических и патологических процессов [21]. В лабораторной практике существует несколько способов получения суспензии опухолевых клеток: ферментативная, химическая и механическая [22]. Для ферментативной диссоциации зачастую используют такие протеолитические ферменты, как папаин, трипсин, проназа, эластаза и гиалуронидаза [23]. В исследовании Яник К. и соавт. (2016 г.) для получения суспензии опухолевых клеток РМЖ была использована ферментативная смесь, включавшая в себя коллагеназу, раствор диспазы и ДНКазы [24]. Однако, согласно исследованию Нишиката Т. с соавт. (2013 г.), наиболее эффективным способом ферментативной диссоциации в отношении опухоли молочной железы являлось применение диспазы II [25]. При химической диссоциации необходимо добиться вымывания из клеток катионов кальция и магния ввиду их немаловажной роли в поддержании целостности клеточной поверхности [26]. В исследовании Дамм Г. с соавт. (2019 г.) для химической диссоциации использовали этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА), которая способствует удалению катионов Ca^{2+} и Mg^{2+} и приводит к уменьшению межклеточных взаимодействий. Также в их работе описано использование гипертонических растворов сахарозы, мальтозы и лактозы для нарушения щелевых контактов между клетками [27]. Механическая диссоциация опухолевой ткани является простым и эффективным методом получения клеточной суспензии, заключающимся в измельчении полученного образца ножницами, гомогенизации и фильтрации полученной суспензии [23]. Так, в ра-

боте Крбала Л. и соавт. (2017 г.), при использовании механического способа диссоциации, удалось сформировать первичную клеточную линию колоректального рака человека, полученную от первичной опухоли эффективностью 39,4 %, а клеточная линия, выделенная из соответствующих метастазов в лимфатических узлах, обладала эффективностью до 70 % [22]. Однако многие исследователи считают, что механическая диссоциация является более травмирующей для клеток, чем другие способы, и приводит к значительной их гибели, что не подходит для получения опухолевых клеток [28–30].

На основании различных литературных данных можно предположить, что использование в нашей работе методов ферментативной или химической диссоциации в отношении первичной опухоли могло бы способствовать более успешному приживлению образцов и большей динамике роста полученных ксенографтов, чем при механическом измельчении образца. Определение эффективного способа разработки опухолевой модели РМЖ человека является необходимым для проведения нами дальнейших исследований природы течения данного заболевания, а также оценки эффективности новых методов лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы была проведена оценка динамики роста ортотопической и гетеротопической *in vivo* модели рака молочной железы. При ортотопической инъекции опухолевого материала наблюдали более высокий процент приживляемости (66,67 %; 100 %). Кроме того, полученная нами в ходе данной работы первичная линия РМЖ обладала близкой к паспортизированной культуре динамикой роста опухолевых узлов, что дает основания использовать данную линию в дальнейших исследованиях. В заключение можно отметить, что нами была разработана адекватная опухолевая модель РМЖ при различных способах имплантации материала и с возможностью дальнейшего использования при исследовании механизмов канцерогенеза и тестировании новых фармакологических субстанций.

Список источников

1. Шахзадова А. О., Старинский В. В., Лисичникова И. В. Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году. Сибирский онкологический журнал. 2023;22(5):5–13. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2023-22-5-5-13>, EDN: PESHHL

2. Zeng L, Li W, Chen CS. Breast cancer animal models and applications. *Zool Res.* 2020 Sep 18;41(5):477–494. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2020.095>
3. Lee RS, Sad K, Fawwal DV, Spangle JM. Emerging Role of Epigenetic Modifiers in Breast Cancer Pathogenesis and Therapeutic Response. *Cancers (Basel).* 2023 Aug 7;15(15):4005. <https://doi.org/10.3390/cancers15154005>
4. Rajagopal K, Kalusalingam A, Bharathidasan AR, Sivaprakash A, Shanmugam K, Sundaramoorthy M, et al. In Silico Drug Design of Anti-Breast Cancer Agents. *Molecules.* 2023 May 18;28(10):4175. <https://doi.org/10.3390/molecules28104175>
5. Chan J, Wang X, Turner JA, Baldwin NE, Gu J. Breaking the paradigm: Dr Insight empowers signature-free, enhanced drug repurposing. *Bioinformatics.* 2019 Aug 15;35(16):2818–2826. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz006>
6. Ma J, Wang J, Ghorai LS, Men X, Haibe-Kains B, Dai P. A Comparative Study of Cluster Detection Algorithms in Protein-Protein Interaction for Drug Target Discovery and Drug Repurposing. *Front Pharmacol.* 2019;10:109. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00109>
7. Zhou H, Liu H, Yu Y, Yuan X, Xiao L. Informatics on Drug Repurposing for Breast Cancer. *Drug Des Devel Ther.* 2023;17:1933–1943. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S417563>
8. Centonze M, Di Conza G, Lahn M, Fabregat I, Dituri F, Gigante I, et al. Autotaxin inhibitor IOA-289 reduces gastrointestinal cancer progression in preclinical models. *J Exp Clin Cancer Res.* 2023 Aug 8;42(1):197. <https://doi.org/10.1186/s13046-023-02780-4>
9. Gao X, Yourick JJ, Sprando RL. Toxicological applications of human induced pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like cells: an updated review. *J Toxicol Sci.* 2023;48(8):441–456. <https://doi.org/10.2131/jts.48.441>
10. Pellegrino B, Herencia-Roper A, Llop-Guevara A, Pedretti F, Moles-Fernández A, Viaplana C, et al. Preclinical In Vivo Validation of the RAD51 Test for Identification of Homologous Recombination-Deficient Tumors and Patient Stratification. *Cancer Res.* 2022 Apr 15;82(8):1646–1657. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-21-2409>
11. Singhal SS, Garg R, Mohanty A, Garg P, Ramisetty SK, Mirzapioazova T, et al. Recent Advancement in Breast Cancer Research: Insights from Model Organisms-Mouse Models to Zebrafish. *Cancers (Basel).* 2023 May 29;15(11):2961. <https://doi.org/10.3390/cancers15112961>
12. Кит С. О., Максимов А. Ю., Гончарова А. С., Колесников Е. Н., Самаянц С. В., Кациева Т. Б. и др. Особенности роста пациентоподобных подкожных и ортотопических ксенографтов кардиоэзофагеального рака человека на иммунодефицитных мышцах. *Современные проблемы науки и образования.* 2020;(2):90. <https://doi.org/10.17513/spno.29573>, EDN: OWIDSM
13. Зибиров П. Ф., Мозеров С. А. Характеристика клеточного микроокружения опухоли. *Онкология. Журнал им. П. А. Герцена.* 2018;7(2):67–72. <https://doi.org/10.17116/onkolog20187267-72>
14. Chen S, Du Y, Guan XY, Yan Q. The current status of tumor microenvironment and cancer stem cells in sorafenib resistance of hepatocellular carcinoma. *Front Oncol.* 2023;13:1204513. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1204513>
15. Zhang Y, Lv N, Li M, Liu M, Wu C. Cancer-associated fibroblasts: tumor defenders in radiation therapy. *Cell Death Dis.* 2023 Aug 22;14(8):541. doi.org/10.1038/s41419-023-06060-z
16. Pastushenko I, Brisebarre A, Sifrim A, Fioramonti M, Revenco T, Boumahdi S, et al. Identification of the tumour transition states occurring during EMT. *Nature.* 2018 Apr;556(7702):463–438. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0040-3>
17. Kuburich NA, Sabapathy T, Demestichas BR, Maddela JJ, den Hollander P, Mani SA. Proactive and reactive roles of TGF- β in cancer. *Semin Cancer Biol.* 2023 Oct;95:120–139. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2023.08.002>
18. Qin Y, Peng F, Ai L, Mu S, Li Y, Yang C, et al. Tumor-infiltrating B cells as a favorable prognostic biomarker in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Cell Int.* 2021 Jun 12;21(1):310. <https://doi.org/10.1186/s12935-021-02004-9>
19. Lindner S, Dahlke K, Sontheimer K, Hagn M, Kaltenmeier C, Barth TFE, et al. Interleukin 21-induced granzyme B-expressing B cells infiltrate tumors and regulate T cells. *Cancer Res.* 2013 Apr 15;73(8):2468–2479. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-3450>
20. Liu X, Li X, Wei H, Liu Y, Li N. Mast cells in colorectal cancer tumour progression, angiogenesis, and lymphangiogenesis. *Front Immunol.* 2023;14:1209056. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1209056>
21. Nail HM, Chiu CC, Leung CH, Ahmed MMM, Wang HMD. Exosomal miRNA-mediated intercellular communications and immunomodulatory effects in tumor microenvironments. *J Biomed Sci.* 2023 Aug 21;30(1):69. <https://doi.org/10.1186/s12929-023-00964-w>
22. Krbal L, Soukup J, Stanislav J, Hanusova V. Derivation and basic characterization of colorectal carcinoma primary cell lines. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2017 Dec;161(4):360–368. <https://doi.org/10.5507/bp.2017.040>

23. Тимофеева С. В., Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Гненная Н. В., Межевова И. В., Шамова Т. В. и др. Биоресурсная коллекция клеточных линий и первичных опухолей ФГБУ НМИЦ онкологии Минздрава России. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2022;21(11):3397. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2022-3397>
24. Janik K, Popeda M, Peciak J, Rosiak K, Smolarz M, Treda C, et al. Efficient and simple approach to in vitro culture of primary epithelial cancer cells. *Biosci Rep*. 2016 Dec;36(6):e00423. <https://doi.org/10.1042/BSR20160208>
25. Nishikata T, Ishikawa M, Matsuyama T, Takamatsu K, Fukuhara T, Konishi Y. Primary culture of breast cancer: a model system for epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells. *Anticancer Res*. 2013 Jul;33(7):2867–2873.
26. Charni-Natan M, Goldstein I. Protocol for Primary Mouse Hepatocyte Isolation. *STAR Protoc*. 2020 Sep 18;1(2):100086. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2020.100086>
27. Damm G, Schicht G, Zimmermann A, Rennert C, Fischer N, Kießig M, et al. Effect of glucose and insulin supplementation on the isolation of primary human hepatocytes. *EXCLI J*. 2019;18:1071–1091. <https://doi.org/10.17179/excli2019-1782>
28. Skarkova V, Krupova M, Vitovcova B, Skarka A, Kasparova P, Krupa P, et al. The Evaluation of Glioblastoma Cell Dissociation and Its Influence on Its Behavior. *Int J Mol Sci*. 2019 Sep 18;20(18):4630. <https://doi.org/10.3390/ijms20184630>
29. Kapałczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, Zajączkowska M, Teresiak A, Filas V, et al. 2D and 3D cell cultures – a comparison of different types of cancer cell cultures. *Arch Med Sci*. 2018 Jun;14(4):910–919. <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.63743>
30. Long Y, Xie B, Shen HC, Wen D. Translation Potential and Challenges of In Vitro and Murine Models in Cancer Clinic. *Cells*. 2022 Nov 30;11(23):3868. <https://doi.org/10.3390/cells11233868>

Информация об авторах:

Ляшенко Инна Сергеевна – аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
SPIN: 5074-2896, AuthorID: 1165761

Романова Мария Вадимовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8734-9210>, SPIN: 5148-0830, AuthorID: 1032029, Scopus Author ID: 57217235360

Гончарова Анна Сергеевна ✉ – к.б.н., заведующий испытательного лабораторного центра, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>, SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424, Scopus Author ID: 57215862139

Ходакова Дарья Владиславовна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3753-4463>, SPIN: 8718-3983, AuthorID: 1056414, Scopus Author ID: 57221463056

Галина Анастасия Владимировна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7823-3865>, SPIN: 9171-4476, AuthorID: 1071933, Scopus Author ID: 57221460594

Гурова Софья Валерьевна – младший научный сотрудник испытательного лабораторного центра, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9747-8515>, SPIN: 5413-6901, AuthorID: 1147419

Филиппова Светлана Юрьевна – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4558-5896>, SPIN: 9586-2785, AuthorID: 878784, Scopus Author ID: 57189618843

Шатова Юлиана Сергеевна – д.м.н., ведущий научный сотрудник отдела опухолей мягких тканей и костей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
SPIN: 8503-3573, AuthorID: 294376

Вклад авторов:

Ляшенко И. С. – проведение эксперимента;
Романова М. В. – написание исходного текста;
Гончарова А. С. – формулирование концепции исследования;
Ходакова Д. В. – поиск литературных источников;
Галина А. В. – анализ полученных экспериментальных данных;
Гурова С. В. – итоговые выводы;
Филиппова С. Ю. – проведение эксперимента;
Шатова Ю. С. – научное руководство.