

Влияние гипоксии на пролиферативную активность клеток ортотопического ксенографта гепатоцеллюлярной карциномы печени в эксперименте

Т. М. Кечерюкова¹, В. С. Трифанов^{1,2}, А. А. Шульга^{1✉}, А. С. Гончарова¹, С. В. Гурова¹,
Е. П. Ульянова¹, А. Ю. Максимов¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

² Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация

✉ slip.anka96@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить пролиферативную активность клеток рака печени HepG2 при моделировании гипоксических условий *in vivo*.

Материалы и методы. Культивировали клетки рака печени человека линии HepG2. Для получения ксенографта клеточную суспензию HepG2 вводили мышам подкожно в количестве 5×10^6 . Достигшие необходимого размера опухолевые узлы делили на фрагменты и трансплантировали в ортотопический сайт. В работе использовали мышей линии Balb/c Nude, которым имплантировали ксенографт рака печени HepG2. Мышей с прижившейся опухолью в печени делили на две группы – интактная и с гипоксией. Мышам из второй группы выполняли редукцию кровотока печени путем окклюзии портальной триады в течение 20 мин. На 4-е сутки после проведенных манипуляций опухолевые узлы извлекали для выполнения гистологического и иммуногистохимического окрашивания на маркер пролиферации Ki-67. Вычисляли долю позитивно окрашенных клеток и проводили статистический анализ результатов с помощью пакета программ Statistica 10.0.

Результаты. Были получены ортотопические модели рака печени у мышей линии Balb/c Nude. Проведены гистологическое и иммуногистохимическое исследования. Гистологический анализ показал, что гепатоцеллюлярная карцинома характеризуется средней степенью дифференцировки. В тканях данных ксенографтов с помощью иммуногистохимического анализа на маркер пролиферации Ki-67 удалось выявить статистически значимые различия между двумя группами – интактной и с редукцией кровотока. Доля иммунопозитивных клеток составила 65 [65–70] % и 19 [15–25] % соответственно.

Заключение. Продемонстрирована тенденция к снижению пролиферативной активности опухолевых клеток после редукции кровотока печени, то есть воздействия гипоксии. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что пролиферативная активность клеток опухоли напрямую связана с микроокружением, в частности, с гипоксической средой. Дальнейшее изучение воздействия гипоксии на процессы роста и развития злокачественных образований может способствовать более глубокому пониманию биологических характеристик опухолей и их лечения.

Ключевые слова: гипоксия, печень, HepG2, пролиферация, Ki-67, *in vivo*

Для цитирования: Кечерюкова Т. М., Трифанов В. С., Шульга А. А., Гончарова А. С., Гурова С. В., Ульянова Е. П., Максимов А. Ю. Влияние гипоксии на пролиферативную активность клеток ортотопического ксенографта гепатоцеллюлярной карциномы печени в эксперименте. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(2):35-42. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-4>, <https://elibrary.ru/mfunss>

Для корреспонденции: Шульга Анна Александровна – младший научный сотрудник 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: slip.anka96@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-1125-2897>

SPIN: 6457-4451, AuthorID: 1221869

Соблюдение этических стандартов: при выполнении данного исследования все манипуляции с лабораторными животными проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 4/108 от 10.02.2021 г.)

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 08.11.2023; одобрена после рецензирования 08.04.2024; принята к публикации 09.05.2024

© Кечерюкова Т. М., Трифанов В. С., Шульга А. А., Гончарова А. С., Гурова С. В., Ульянова Е. П., Максимов А. Ю., 2024

Hypoxia effect on proliferative activity of cells in orthotopic xenograft of hepatocellular carcinoma of the liver in the experiment

T. M. Kecheryukova¹, V. S. Trifanov^{1,2}, A. A. Shulga^{1✉}, A. S. Goncharova¹, S. V. Gurova¹, E. P. Ulyanova¹, A. Yu. Maksimov¹

¹ National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

² P. A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

✉ slip.anka96@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. The purpose of this research was to investigate the effect of *in vivo* hypoxic conditions on the proliferative potential of HepG2 liver cancer cells.

Materials and methods. Human liver cancer cells of the HepG2 line have been cultured. The HepG2 cell suspension was injected subcutaneously into mice in an amount of 5×10^6 to obtain a xenograft. Tumor nodes that had reached the required size were divided into fragments and transplanted into the orthotopic site. Balb/c nude mice with implanted HepG2 liver cancer xenograft were used in this experiment. The mice with tumor implanted in the liver were divided into two groups, intact and hypoxic. Mice from the second group underwent liver blood flow reduction by occlusion of the portal triad for 20 minutes. Tumor nodes were extracted for histological and immunohistochemical staining for proliferation marker Ki-67 on the 4th day after the procedures. The proportion of positively stained cells was calculated, and the results were statistically analyzed using the Statistica 10.0 software.

Results. Orthotopic models of liver cancer in Balb/c Nude mice were obtained. Histological and immunohistochemical studies were carried out. Histological analysis showed that hepatocellular carcinoma is characterized by an average degree of differentiation. In the tissues of these xenografts, by using immunohistochemical analysis for the proliferation marker Ki-67, it was possible to identify statistically significant differences between the two groups, i.e. intact and the one with reduction of blood flow. The proportion of immunopositive cells was 65 [65–70] % and 19 [15–25] %, respectively.

Conclusion. A tendency to decreased proliferative activity of tumor cells after hepatic blood flow reduction, i.e. hypoxia exposure, was demonstrated. Our data indicate that the proliferative activity of tumor cells is directly related to the microenvironment, and to the hypoxic environment in particular. Further study of the effect of hypoxia on the processes of growth and development of malignant tumors may contribute to a deeper understanding of the biological features of tumors and their treatment.

Keywords: hypoxia, liver, HepG2, proliferation, Ki-67, *in vivo*

For citation: Kecheryukova T. M., Trifanov V. S., Shulga A. A., Goncharova A. S., Gurova S. V., Ulyanova E. P., Maksimov A. Yu. Hypoxia effect on proliferative activity of cells in orthotopic xenograft of hepatocellular carcinoma of the liver in the experiment. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(2): 35-42. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-2-4>, <https://elibrary.ru/mfunss>

For correspondence: Anna A. Shulga – junior researcher at the 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: slip.anka96@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-1125-2897>
SPIN: 6457-4451, AuthorID: 1221869

Compliance with ethical standards: when performing this study, all manipulations with laboratory animals were carried out in compliance with the Rules and Regulations for Carrying Out Animal Research Work. The study was approved by the Ethics Committee of the National Medical Research Center for Oncology (Protocol No. 4/108 dated 02/10/2021)

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 08.11.2023; approved after reviewing 08.04.2024; accepted for publication 09.05.2024

ВВЕДЕНИЕ

Гипоксическая среда, отличительной чертой которой является низкий уровень кислорода, играет важнейшую роль в процессах выживания и репрограммирования клеток. Этот факт подтверждают многочисленные работы по изучению эволюции и развития организмов [1, 2]. В частности, установлено, что нормальное развитие млекопитающих происходит в условиях гипоксии (от умеренной до тяжелой), которая регулирует многие аспекты онтогенеза и морфогенеза. Кроме того, известно, что кислородный градиент является важным регулятором клеточных процессов как при физиологических, так и при многих патологических состояниях, в том числе и при злокачественных заболеваниях [3].

Внезапное и кратковременное воздействие гипоксии (от нескольких минут до 72 часов), возникающей вследствие колебаний перфузии опухоли, сопровождается функциональными и структурными дефектами сосудистой сети опухоли. Подобное воздействие может привести к образованию высоких уровней активных форм кислорода (АФК), которые могут повредить клетки [4]. Гипоксия также может вызывать остановку роста раковых клеток, замедление пролиферации и, в последующем, их гибель. Было показано, что факторы, индуцируемые гипоксией, непосредственно влияют на пролиферативную активность опухолевых клеток [5]. Самый широко используемый маркер пролиферации как в нормальных, так и в опухолевых клетках – белок Ki-67. Он участвует в клеточном цикле, вовлекаясь в биогенез рибосом, организацию гетерохроматина и разделение митотических хромосом [6]. Индекс Ki-67 позволяет оценить степень злокачественности опухоли и прогнозировать течение заболевания в совокупности с другими факторами. Установлена прямая коррелятивная зависимость между количеством опухолевых клеток, экспрессирующих Ki-67, и стадией злокачественных заболеваний [7, 8]. Проллиферативный потенциал и выживаемость раковых клеток возможно модулировать, создавая гипоксические условия, что активно используется при таких терапевтических процедурах, как трансартериальная эмболизация и трансартериальная химиоэмболизация [9]. Однако известно также, что гипоксия имеет решающее значение для выживания устойчивых к воздействию среды с низким содержанием кислорода клеток, характеризующихся резистентностью к терапевтическим воздействиям и повышенной инвазивной способностью [10].

В связи с этим всестороннее изучение ответа опухоли на гипоксию, а также понимание ее положительных и отрицательных эффектов расширят представления о механизмах взаимодействия раковых клеток и особенностях их микроокружения.

Влияние уровня оксигенации изучается с использованием различных подходов, в том числе *in vitro*, также возможно применение методов изолированных первичных опухолей, однако они не вполне точно отражают реальные параметры опухолевого микроокружения [11]. Анализ литературных данных показывает, что наиболее достоверные и надежные данные можно получить с помощью *in vivo* методов, которые позволяют более точно, по сравнению с другими исследовательскими подходами, моделировать влияние гипоксии на активность злокачественных новообразований и их пролиферативный потенциал, что может иметь важное значение для планирования дальнейших трансляционных исследований [12, 13].

Цель исследования: оценить пролиферативную активность клеток рака печени HepG2 при моделировании гипоксических условий *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные животные и их содержание

Для проведения данного эксперимента использовали мышей с иммунодефицитом линии Balb/c Nude ($n = 14$) возрастом 10–12 недель и весом 25–27 г, полученных из ядра разводки вивария ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Мыши находились в ИВК-системе (индивидуально вентилируемые клетки), корм и воду предоставляли без ограничений. Все работы с экспериментальными животными проводили в соответствии с этическим принципом Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETSN 123, Страсбург, 18 марта 1986 г). Данный эксперимент был одобрен решением локального биоэтического комитета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Культура клеток рака печени человека

Клетки рака печени человека линии HepG2 культивировали в соответствии со стандартной методикой с использованием питательной среды для культуры клеток DMEM с добавлением те-

лячьей сыворотки (Gibco, Thermo Fisher Scientific) в концентрации 10 %, а также 1 % пенициллина и стрептомицина. Культивирование осуществляли в CO₂ –инкубаторе (Thermo Fisher Scientific, 8000W) при влажной атмосфере – 37 °C, 5 % CO₂.

Создание ортотопической модели рака печени

Первоначально перед проведением эксперимента нами был создан ксенографт рака печени с помощью подкожного введения клеточной суспензии HepG2 в количестве 5×10^6 клеток мышам Balb/c Nude ($n = 2$). Когда полученные подкожные ксенографты достигли диаметра 1–1,5 см, мышам подвергали эвтаназию, опухолевые узлы извлекали и делили на фрагменты размером примерно $1 \times 1 \times 1$ мм для дальнейшей трансплантации в печень. Доступ к печени осуществляли путем выполнения лапаротомии предварительно наркотизированным животным-реципиентам. В левой доли печени производили надрез, после чего полученные ранее фрагменты опухоли помещали в паренхиму левой доли печени с помощью анатомического пинцета. После проведенных манипуляций рану зашивали обвивным швом.

Создание гипоксических условий путем редукции кровотока печени

Через 2 нед. после того, как были имплантированы опухолевые фрагменты мышам в печень, выполнялась еще контрольная лапаротомия для измерения объема опухолевых узлов. Чтобы определить размеры опухолевого узла, использовали формулу: $V = LW^2/2$, где L – длина опухоли, W – ширина опухоли. Затем животных разделили на 2 группы ($n = 6$ для каждой), критерием распределения являлся размер опухолевого узла, при этом значения среднего объема опухолевых узлов в группах различались с минимальным интервалом. Первая группа – интактная, вторая группа – с редукцией кровотока печени. Для того, чтобы обеспечить доступ к печени и ее кровеносным сосудам, мышам второй группы выполняли лапаротомию. Затем для осуществления окклюзии сосудов портальной триады печени иглу с шовным материалом подводили под ними и с помощью натяжения шовного материала производили редукцию кровотока в течение 20 мин. После этого натяжение шовного материала убрали для восстановления кровоснабжения печени и послойно ушивали операционную рану. Мышам первой группы проводили контрольную лапаротомию без редукции кровотока.

Эвтаназия

На 4-е сутки после проведенных хирургических манипуляций животных подвергали эвтаназии для извлечения опухолевых узлов. Эвтаназию проводили путем дислокации шейных позвонков.

Гистологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследования

Полученный опухолевый материал фиксировали в 10 % формалине 24 ч, затем заключали в парафин, при помощи роторного микротомы делали срезы, которые в дальнейшем подвергали депарафинизации по стандартному протоколу. Для гистологического исследования выполняли окрашивание гематоксилином и эозином. ИГХ-окрашивание проводили в автоматическом режиме в иммуногистостейнере BenchMark ULTRA Ventana согласно протоколам фирм-производителей, прилагаемым к используемым антителам. Использовали антитела Ki-67 (клон SP6), CellMarque в разведении 1:200. Для анализа экспрессии Ki-67 опухолевыми клетками вычисляли долю клеток с окрашенными ядрами (процент от общего количества опухолевых клеток) не менее чем в 10 случайных полях зрения.

Статистический анализ

Результаты, полученные в ходе эксперимента, анализировали при помощи пакета программ Statistica 10.0. Данные представлены в виде медианы, 25-го и 75-го процентилей. Сравнительный анализ различий ядерного окрашивания Ki-67 между группами проводили с помощью статистического критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе выполнения эксперимента были получены ортотопические модели рака печени у мышам линии Balb/c Nude при помощи имплантации фрагмента ксенографта клеточной линии HepG2 непосредственно в левую долю печени [14]. Контрольная лапаротомия позволила продемонстрировать, что у всех животных развились опухолевые узлы в левой доле печени. Результаты измерений показали, что через 2 нед. после имплантации фрагмента ксенографта HepG2 в печень размер внутривисцеральных опухолевых узлов составил $130,27 [42,88–345,3]$ мм³ (рис. 1).

После выполнения процедуры контрольной лапаротомии животные были распределены на 2 группы. С целью индукции гипоксических условий жи-

вотным группы 2 выполняли редукцию кровотока печени (рис. 2). Для этого правую долю печени смещали ближе к диафрагме, что способствовало свободному доступу к портальной триаде. Пережатие сосудов портальной триады при помощи шовного материала позволило достигнуть редукции кровотока печени и расположенного в ней опухолевого узла, что визуально подтверждалось изменением цвета печени, в результате недостаточного кровоснабжения орган становился более бледным. После восстановления кровоснабжения печень снова приобретала темно-бордовый цвет.

Результаты гистологического исследования показали в тканях печени очаг гепатоцеллюлярной карциномы, характеризующейся средней степенью дифференцировки, представленной солидно-

трабекулярными структурами, в толще которых расположены сосуды. Локально присутствуют фокусы некроза. Клеточный состав представлен крупными эпителиальными клетками, напоминающими гепатоциты. Внутри клеток просматриваются крупные полиморфные ядра с зернистым хроматином и хорошо различимыми ядрышками. Также обнаруживаются фигуры митоза, в том числе атипических форм (рис. 3).

При иммуногистохимическом исследовании экспрессии маркера пролиферации Ki-67 в тканях ксенографтов рака печени количество иммунопозитивных клеток составило 65 [65–70] % (рис. 4А), в группе с редукцией кровотока количество окрашенных ядер было статистически значимо меньше, что составило 19 [15–25] % ($p < 0,001$) (рис. 4Б).



Рис. 1. Измерение опухолевого узла в печени мыши

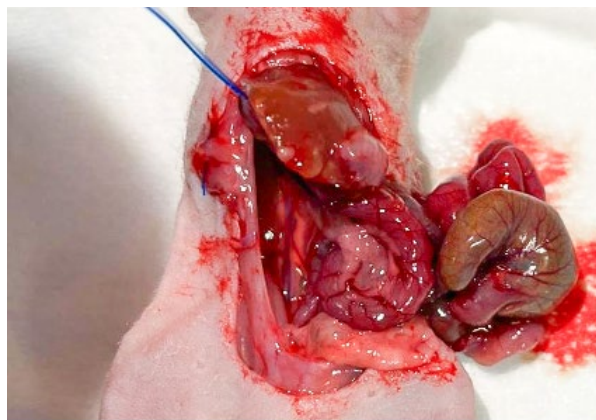


Рис. 2. Выполнение редукции кровотока печени путём окклюзии портальной триады для индукции гипоксических условий

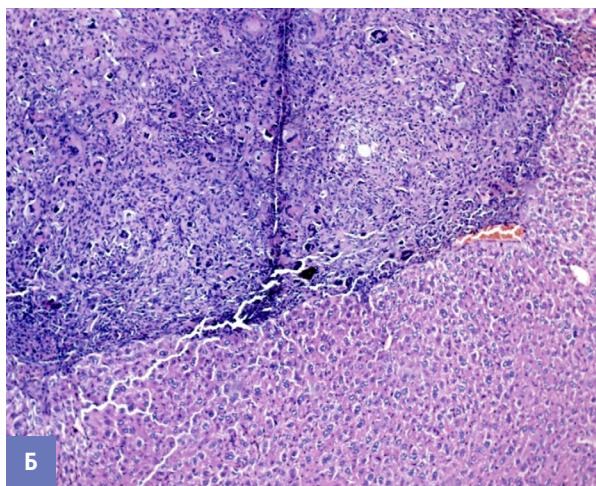
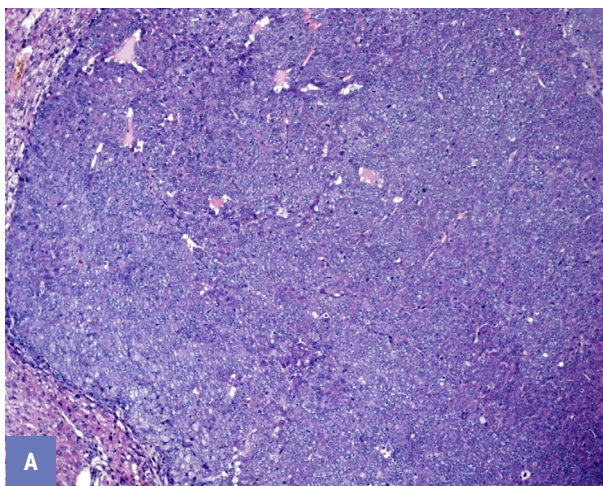


Рис. 3. Гистологический препарат: морфологическая картина гепатоцеллюлярной карциномы. А – без гипоксии; Б – после гипоксии. Увеличение $\times 100$

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что гипоксия является важным фактором, который может способствовать формированию клеточной пластичности и гетерогенности опухоли, влияя на фенотип и функции клеток. Однако, несмотря на внушительный массив данных, представленных в научной литературе, можно наблюдать отсутствие корреляции между различными методами изучения влияния уровня кислорода, поскольку все они предоставляют информацию о различных нозологиях, не единообразных временных и топологических точках забора опухолевого материала, или, например, оксигенации крови. С этой точки зрения применение животных моделей позволяет, насколько это возможно, привести к единообразию условий эксперимента и получать воспроизводимые результаты, выполняя серийные эксперименты. Учитывая перечисленные преимущества подхода *in vivo*, нами был выполнен эксперимент по изучению влияния низкой оксигенации на клетки рака печени. Результаты ИГХ исследования показали, что в опухолевых образцах животных с редукцией кровотока наблюдалось более низкое значение маркера пролиферации Ki-67. Анализ литературных данных показал, что в работах других авторов прослеживается непосредственная связь гипоксии с пролиферативным потенциалом опухолевых клеток. Например, исследование опухолей эндометрия показало, что уровень экспрессии Ki-67 обратно коррелирует с уровнем экспрессии

фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1 α), что говорит о низкой пролиферативной активности клеток в условиях недостатка кислорода. К тому же, такая корреляция может способствовать снижению эффекта противораковых препаратов, таких как метформин [15]. Также в работе по визуализации гипоксии раковых клеток животных и онкологических больных установлено, что опухолевые клетки в выпотах и микрометастазах находились в состоянии высокой гипоксии и низкой пролиферации независимо от типа опухоли. В данной работе образцы опухолевых клеток человека и животных моделей исследовали методом ИГХ на HIF-1 α , транспортер глюкозы (GLUT-1) и маркер пролиферации (Ki-67). Кроме того, было убедительно продемонстрировано, что асцит представляет собой среду с очень низким уровнем оксигенации, так как клетки, плавающие в нем, не имеют адекватного кровоснабжения и могут выживать только за счет гликолиза. Важно отметить, что авторы упоминают о том, что опухолевая гипоксия является движущим фактором резистентности к лучевой терапии и химиотерапии [16].

В нашем исследовании в опухолевых образцах животных с редукцией кровотока был отмечен низкий уровень экспрессии Ki-67, однако, при этом в тканях опухоли наблюдалась зональность в расположении положительно окрашенных клеток. Клетки, экспрессирующие Ki-67, концентрировались вдоль зон опухоли, непосредственно соприкасающейся с интактной тканью печени. Известно,

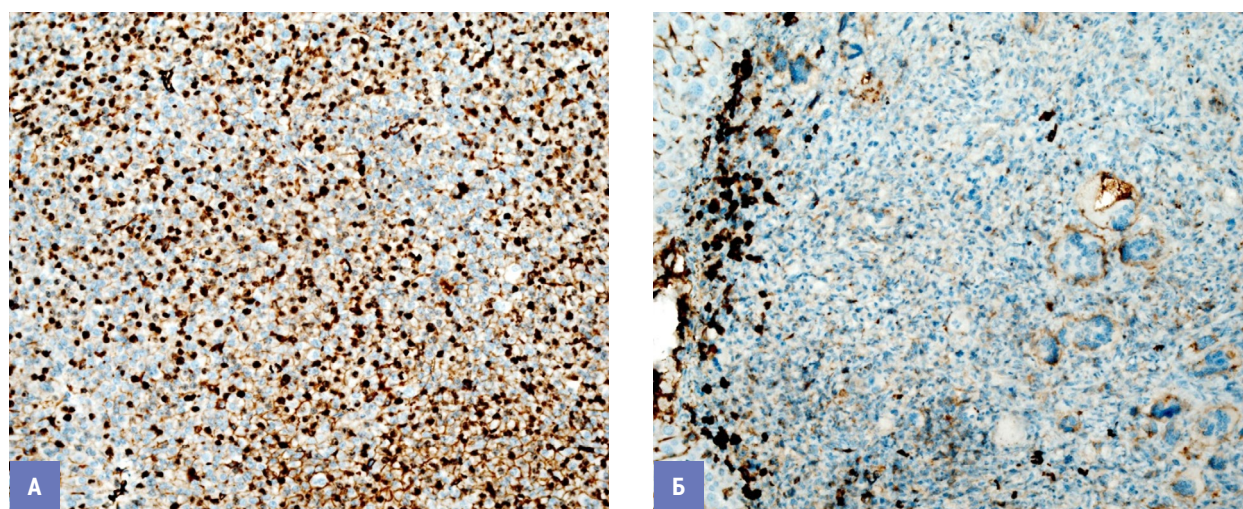


Рис. 4. ИГХ реакция опухоли на антитела к Ki-67 (клона SP6). А – без редукции кровотока печени; Б – после редукции кровотока печени путём окклюзии портальной триады. Увеличение $\times 200$

что так называемый «фронт инвазии» опухоли образуют клетки, расположенные на ее поверхности, и именно они формируют паттерны инвазии и опухолевого распространения. Учитывая этот факт, можно предположить, что клетки, сохранившие свой пролиферативный потенциал, несмотря на воздействие гипоксических условий, возникших в результате редукции кровотока, и расположенные по краю опухолевого узла, могут обладать повышенным инвазивным потенциалом. Помимо этого, наблюдаемая зональность экспрессии Ki-67, вероятно, может быть связана с близостью или удаленностью от кровеносных сосудов с редуцированным кровотоком.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании было показано, что опухоли печени мышей, подвергнутых процедуре редукции кровотока печени, характеризовались более низкими показателями Ki-67. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что пролиферативная активность клеток опухоли напрямую связана с микроокружением, в частности, с гипоксической средой. Дальнейшее изучение воздействия гипоксии на процессы роста и развития злокачественных образований может способствовать более глубокому пониманию биологических характеристик опухолей и возможности их лечения.

Список источников

1. Semenza GL. Oxygen sensing, hypoxia-inducible factors, and disease pathophysiology. *Annu Rev Pathol.* 2014;9:47–71. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012513-104720>
2. Fitzpatrick SF. Immunometabolism and Sepsis: A Role for HIF? *Front Mol Biosci.* 2019 Sep 6;6:85. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00085>
3. Jing X, Yang F, Shao C, Wei K, Xie M, Shen H, et al. Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment. *Mol Cancer.* 2019 Nov 11;18(1):157. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-1089-9>
4. Hsieh CH, Lee CH, Liang JA, Yu CY, Shyu WC. Cycling hypoxia increases U87 glioma cell radioresistance via ROS induced higher and long-term HIF-1 signal transduction activity. *Oncol Rep.* 2010 Dec;24(6):1629–1636. https://doi.org/10.3892/or_00001027
5. Wu J, Li S, Huang Y, Zeng Z, Mei T, Wang S, et al. MRI features of pituitary adenoma apoplexy and their relationship with hypoxia, proliferation, and pathology. *J Clin Ultrasound.* 2023;51(6):1078–1086. <https://doi.org/10.1002/jcu.23492>
6. Dewhirst MW, Ong ET, Braun RD, Smith B, Klitzman B, Evans SM, et al. Quantification of longitudinal tissue pO₂ gradients in window chamber tumours: impact on tumour hypoxia. *Br J Cancer.* 1999 Apr;79(11–12):1717–1722. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6690273>
7. Bristow RG, Berlin A, Dal Pra A. An arranged marriage for precision medicine: hypoxia and genomic assays in localized prostate cancer radiotherapy. *Br J Radiol.* 2014 Mar;87(1035):20130753. <https://doi.org/10.1259/bjr.20130753>
8. Кит О. И., Дерижанова И. С., Карнаухов Н. С. Вопросы классификации нейроэндокринных опухолей желудка. *Вопросы онкологии.* 2016;62(5):573–579. EDN: WWOQFF
9. Petrillo M, Patella F, Pesapane F, Suter MB, Ierardi AM, Angileri SA, et al. Hypoxia and tumor angiogenesis in the era of hepatocellular carcinoma transarterial loco-regional treatments. *Future Oncol.* 2018 Dec;14(28):2957–2967. <https://doi.org/10.2217/fon-2017-0739>
10. Fei M, Guan J, Xue T, Qin L, Tang C, Cui G, et al. Hypoxia promotes the migration and invasion of human hepatocarcinoma cells through the HIF-1 α -IL-8-Akt axis. *Cell Mol Biol Lett.* 2018;23:46. <https://doi.org/10.1186/s11658-018-0100-6>
11. Гончарова А. С., Гурова С. В., Кечерюкова Т. М., Максимов А. Ю., Лаптева Т. О., Романова М. В. и др. Моделирование гипоксии печени в эксперименте in vivo. *Якутский медицинский журнал.* 2023;(2(82)):5–8. <https://doi.org/10.25789/YMJ.2023.82.01>, EDN: WBXQQT
12. Ron A, Deán-Ben XL, Gottschalk S, Razansky D. Volumetric Optoacoustic Imaging Unveils High-Resolution Patterns of Acute and Cyclic Hypoxia in a Murine Model of Breast Cancer. *Cancer Res.* 2019 Sep 15;79(18):4767–4775. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-3769>
13. Гурова С. В., Кечерюкова Т. М., Гончарова А. С., Колесников Е. Н., Кожушко М. А., Татимов М. З. Модели рака печени in vivo. *Современные проблемы науки и образования.* 2023;(4):136. <https://doi.org/10.17513/spno.32707>, EDN: XFEYBT

14. Кечерюкова Т. М., Гурова С. В., Гончарова А. С., Максимов А. Ю., Галина А. В., Романова М. В. и др. Сравнительная оценка методов создания ортотопической модели рака печени. Современные проблемы науки и образования. 2023;(2):94. <https://doi.org/10.17513/spno.32565>, EDN: ZFJHU
15. Sivalingam VN, Latif A, Kitson S, McVey R, Finegan KG, Marshall K, et al. Hypoxia and hyperglycaemia determine why some endometrial tumours fail to respond to metformin. Br J Cancer. 2020 Jan;122(1):62–71. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0627-y>
16. Li Y, Zhao L, Huo Y, Yang X, Li Y, Xu H, et al. Visualization of hypoxia in cancer cells from effusions in animals and cancer patients. Front Oncol. 2022;12:1019360. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1019360>

Информация об авторах:

Кечерюкова Тахмина Мажитовна – врач по рентгенэндоваскулярным диагностике и лечению отделения абдоминальной онкологии № 1, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8092-6457>

Трифанов Владимир Сергеевич – д.м.н., доцент, заведующий центром абдоминальной хирургии, врач-хирург, ведущий научный сотрудник филиала Московского научно-исследовательского онкологического института им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация; ведущий научный сотрудник торако-абдоминального отделения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1879-6978>, SPIN: 3710-8052, AuthorID: 453981

Шульга Анна Александровна ✉ – 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/0009-0006-1125-2897>, SPIN: 6457-4451, AuthorID: 1221869

Гончарова Анна Сергеевна – к.б.н., заведующая испытательным лабораторным центром, 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

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

Ульянова Елена Петровна – научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5226-0152>, SPIN: 1243-9475, AuthorID: 759154, Scopus Author ID: 57203357998

Максимов Алексей Юрьевич – д.м.н., профессор, заместитель генерального директора по перспективным научным разработкам, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1397-837X>, SPIN: 7322-5589, AuthorID: 710705

Вклад авторов:

Кечерюкова Т. М. – проведение эксперимента;
Трифанов В. С. – редактирование текста;
Шульга А. А. – написание текста, статистический анализ;
Гончарова А. С. – поиск литературных данных, написание текста;
Гурова С. В. – проведение эксперимента;
Ульянова Е. П. – гистологический анализ;
Максимов А. Ю. – редактирование текста.