



ИНГИБИРОВАНИЕ РОСТА ПОДКОЖНЫХ КСЕНОТРАНСПЛАТАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ, ПРИ ПРИМЕНЕНИИ КОМБИНАЦИИ ИНГИБИТОРА СИГНАЛЬНОГО ПУТИ WNT И 5-ФТОРУРАЦИЛА

А. С. Гончарова^{1✉}, А. В. Галина¹, Д. В. Ходакова¹, Г. Ю. Егоров¹, А. Ю. Максимов¹,
Е. Н. Колесников¹, Е. Ф. Комарова^{1,2}, А. А. Киблицкая¹, Е. В. Заикина¹,
Л. З. Курбанова¹, М. В. Миндари¹

1. НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

2. РостГМУ, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ fateyeva_a_s@list.ru

Резюме

Цель исследования. Изучить противоопухолевую эффективность ингибитора сигнального пути Wnt XAV-939 и его комбинации с 5-фторурацилом на модели подкожных ксенотрансплантатов, полученных от пациентов с колоректальным раком.

Материалы и методы. Исследование противоопухолевой эффективности препаратов и их комбинации выполняли на ксенотрансплантатах, полученных от пациентов с колоректальным раком, имплантированных подкожно иммунодефицитным мышам линии Balb/c Nude. Все животные-опухоленосители были распределены на 4 группы ($n = 5$): группе 1 получала 5-фторурацил в дозе 25 мг/кг, группа 2 – XAV-939 в дозе 25 мг/кг, группа 3 – комбинацию препаратов XAV-939 и 5-фторурацила в тех же дозах, что и в режиме монотерапии, группа 4 – контрольная. В качестве критерия эффективности тестируемых препаратов и их комбинации использовали индекс прироста опухоли и показатель торможения роста опухоли (ТРО %).

Результаты. Среднее значение объемов и индекс прироста опухоли ксенотрансплантатов в группе с воздействием комбинацией 5-фторурацила с XAV-939 составили $335,2 \pm 40,7 \text{ мм}^3$, что было меньше в 1,8 раз показателей контрольной группы – $609,3 \pm 69,5 \text{ мм}^3$ ($p < 0,05$). Среднее значение объемов ксенотрансплантатов в группе с воздействием 5-фторурацилом в режиме монотерапии составило $601,9 \pm 45,5 \text{ мм}^3$, в группе с воздействием ингибитором сигнального пути Wnt XAV-939 в режиме монотерапии – $527,9 \pm 258,6 \text{ мм}^3$. Наиболее высокое значение ТРО (44,99 %) было зафиксировано в группе с комбинированным воздействием 5-фторурацилом и XAV-939.

Заключение. По итогам данной работы была продемонстрирована способность ингибитора сигнального пути Wnt XAV-939 в комбинации с 5-фторурацилом подавлять рост подкожных ксенотрансплантатов, полученных от пациентов с колоректальным раком.

Ключевые слова:

колоректальный рак, ксенотрансплантат, мышинные модели, исследования *in vivo*, сигнальный путь Wnt, ингибитор Wnt

Для корреспонденции:

Гончарова Анна Сергеевна – к.б.н., заведующая Испытательным лабораторным центром ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, 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: 56579049500

Финансирование: исследования *in vivo* проводили в рамках государственного задания № 121031100250-2 «Изучение закономерностей развития пациентоподобных ксенотрансплантатов опухолей органов желудочно-кишечного тракта».

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности: выражаем слова благодарности главному научному сотруднику лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, д.б.н., профессору Алле Ивановне Шихляровой – редактирование статьи, переводчику Олеся Андреевне Оссовской – перевод текста рукописи на английский язык.

Для цитирования:

Гончарова А. С., Галина А. В., Ходакова Д. В., Егоров Г. Ю., Максимов А. Ю., Колесников Е. Н., Комарова Е. Ф., Киблицкая А. А., Заикина Е. В., Курбанова Л. З., Миндари М. В. Ингибирование роста подкожных ксенотрансплантатов, полученных от пациентов с колоректальным раком, при применении комбинации ингибитора сигнального пути Wnt и 5-фторурацила. Исследования и практика в медицине. 2022; 9(1): 33–42.

<https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-1-3>

Статья поступила в редакцию 20.08.2021; одобрена после рецензирования 27.01.2022; принята к публикации 14.03.2022.

© Гончарова А. С., Галина А. В., Ходакова Д. В., Егоров Г. Ю., Максимов А. Ю., Колесников Е. Н., Комарова Е. Ф., Киблицкая А. А., Заикина Е. В., Курбанова Л. З., Миндари М. В., 2022

INHIBITION OF GROWTH OF COLORECTAL CANCER PATIENT-DERIVED SUBCUTANEOUS XENOGRAFTS USING COMBINED WNT SIGNALING PATHWAY INHIBITOR AND 5-FLUOROURACIL

A. S. Goncharova^{1✉}, A. V. Galina¹, D. V. Khodakova¹, G. Yu. Egorov¹, A. Yu. Maksimov¹, E. N. Kolesnikov¹, E. F. Komarova^{1,2}, A. A. Kiblitckaya¹, E. V. Zaikina¹, L. Z. Kurbanova¹, M. V. Mindar¹

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

2. Rostov State Medical University, Rostov-on-don, Russian Federation

✉ fateyeva_a_s@list.ru

Abstract

Purpose of the study. Was to analyze antitumor efficacy of the XAV-939 Wnt signaling pathway inhibitor and its combination with 5-fluorouracil in subcutaneous xenografts derived from patients with colorectal cancer.

Materials and methods. Antitumor efficacy of the agents and their combination was studied in xenografts derived from patients with colorectal cancer and subcutaneously implanted in immunodeficient Balb/c Nude mice. All animals with tumors were divided into 4 groups ($n = 5$): group 1 received 5-fluorouracil 25 mg/kg, group 2 – XAV-939 25 mg/kg, group 3 – 5-fluorouracil and XAV-939 combination at the same dosages, group 4 was control. Criteria for the efficacy of the tested agents and their combination included tumor growth rate and tumor growth inhibition rate (TGI %).

Results. The mean volumes of xenografts and tumor growth rate in the group receiving a combination of 5-fluorouracil and XAV-939 were $335.2 \pm 40.7 \text{ mm}^3$, being lower than the averages of xenografts in controls – $609.3 \pm 69.5 \text{ mm}^3$ ($p < 0.05$). The mean volumes of xenografts in the group receiving 5-fluorouracil monotherapy were $601.9 \pm 45.5 \text{ mm}^3$, in the group with the XAV-939 monotherapy – $527.9 \pm 258.6 \text{ mm}^3$. The highest TGI (44.99 %) was registered in the group receiving a combination of 5-fluorouracil and XAV-939.

Conclusion. The study revealed the ability of combined XAV-939 Wnt signaling pathway inhibitor and 5-fluorouracil to inhibit the growth of subcutaneous xenografts derived from patients with colorectal cancer.

Keywords:

colorectal cancer, xenograft, murine models, *in vivo* studies, Wnt signaling pathway, Wnt inhibitor

For correspondence:

Anna S. Goncharova – Cand. Sci. (Biol.), head of the Testing Laboratory Center of 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: 56579049500

Funding: studies *in vivo* were performed as part of the State task No. 121031100250-2 "Studying patterns of development of patient-derived gastrointestinal tumor xenografts".

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

Acknowledgments: we would like to thank Alla I. Shikhlyarova, chief researcher of the Laboratory of Study of Malignant Tumor Pathogenesis, for the manuscript editing, and Olesya A. Ossovskaya, translator, for the help with the manuscript translation in English.

For citation:

Goncharova A. S., Galina A. V., Khodakova D. V., Egorov G. Yu., Maksimov A. Yu., Kolesnikov E. N., Komarova E. F., Kiblitckaya A. A., Zaikina E. V., Kurbanova L. Z., Mindar M. V. Inhibition of growth of colorectal cancer patient-derived subcutaneous xenografts using combined Wnt signaling pathway inhibitor and 5-fluorouracil. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2022; 9(1): 33–42. (In Russ.). <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-1-3>.

The article was submitted 20.08.2021; approved after reviewing 27.01.2022; accepted for publication 14.03.2022.

ВВЕДЕНИЕ

В мировом масштабе колоректальный рак (КРР) занимает третье место по распространенности среди злокачественных заболеваний и четвертое место среди причин смерти от рака [1]. Основным методом лечения пациентов с КРР является выполнение хирургической операции с последующим применением адъювантной химио- и лучевой терапии [1; 2]. Однако, далеко не все пациенты положительно реагируют на такое лечение, демонстрируя случаи возникновения отдаленных метастазов и рецидивов [3]. С другой стороны, даже когда определенная терапевтическая схема изначально эффективна для отдельных больных, со временем развивается лекарственная устойчивость [3]. В ряде фундаментальных и клинических исследований, проведенных в последние десятилетия, было показано, что формирование резистентности к препаратам способно значительно ограничивать применение химиотерапии и препятствовать достижению ее долгосрочных эффектов [3–5].

Ключом к решению этих проблем могут стать работы по изучению механизмов лекарственной устойчивости как к традиционным химиотерапевтическим агентам, так и к относительно недавно разработанным таргетным препаратам на основе малых молекул и антител. Также одним из возможных способов повышения терапевтической эффективности при лечении КРР является применение комбинаций различных противоопухолевых средств, выбранных с учетом соответствующих патологических и молекулярных характеристик, таких как наличие или отсутствие генетических мутаций, микросателлитной нестабильности, гиперметилирования ДНК и активации/инактивации сигнальных путей, задействованных в колоректальном канцерогенезе [6; 7].

Учитывая эти факты, критично важным аспектом представляется изучение новых фармакологических субстанций, способных воздействовать на молекулярные механизмы патогенеза злокачественных опухолей. В частности, многообещающе выглядит стратегия, предполагающая подавление сигнального пути Wnt [8]. Wnt-сигналинг является одним из ключевых каскадов, играющих решающую роль в поддержании гомеостаза тканей за счет регуляции пролиферации, дифференцировки и других важных клеточных процессов [8–10]. В ряде работ было показано, что aberrantная активация передачи сигналов Wnt связана с процессами канцерогенеза человека, включая КРР, что позволяет считать молекулы-ингибиторы этого сигнального пути перспективными кандидатами для разработки новых противоопухолевых средств [6; 8; 10].

Тестирование на этапе *in vitro* новых фармакологических субстанций проводят на панелях линий

раковых клеток, а для этапа *in vivo*, как правило, используют ксеногенные опухолевые модели или, как их еще называют, CDX (cell line derived xenograft), полученные путем подкожной инъекции культуры клеток иммунодефицитным мышам [11; 12]. Хотя модель CDX на протяжении долгого времени считалась золотым стандартом, в первую очередь из-за простоты манипуляций и предсказуемой динамики роста, линии опухолевых клеток способны приобретать непредвиденные фенотипы в результате процесса адаптации к условиям культивирования *in vitro*, что может приводить к возникновению существенных различий между субклонами одних и тех же опухолевых линий, имеющих в различных лабораториях, а также к значительному расхождению их биологических свойств с первичными опухолями [13; 14]. Для преодоления этих недостатков, были разработаны ксенотрансплантаты, полученные от пациента или, так называемые, PDX (patient-derived xenograft), которые создают путем непосредственной трансплантации фрагментов опухолей, выделенных у онкологических больных, мышам с иммунодефицитом. PDX способны лучше отражать существующую молекулярную гетерогенность человеческих злокачественных новообразований, и, следовательно, считаются более подходящими моделями для проведения исследований эффективности препаратов [14; 15].

Цель исследования: изучить противоопухолевую эффективность ингибитора сигнального пути Wnt XAV-939 и его комбинации с 5-фторурацилом в отношении подкожных ксенотрансплантатов, полученных от пациентов с колоректальным раком.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные животные и их содержание

Для выполнения исследования использовали иммунодефицитных мышей линии Balb/c Nude женского пола в возрасте 6–7 недель ($n = 20$), полученных из «SPF-вивария» ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск). В течение эксперимента лабораторных животных содержали в SPF-блоке вивария Испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в системе IVC для мышей Tecniplast в помещении с контролируемыми параметрами микроклимата (температура 22–27 °C, относительная влажность воздуха 50–70 %) и соблюдением светового режима день/ночь (12/12 часов). Животные получали полноценный гранулированный экструдированный корм производства ООО «SSNIFF R/M-H V1534-300» и чистую питьевую воду *ad libitum*. Все манипуляции были выполнены с соблюдением этических принципов, установленных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспери-

ментов или в иных научных целях (Европейская Конвенция Страсбург, 18.03.1986 г.). Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

Опухолевый материал

Для создания подкожных ксенотрансплантатов использовали полученный в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России перевиваемый штамм КРР человека. Первичный опухолевый материал был получен от пациента с диагнозом рак селезеночного угла ободочной кишки T₄N₁M₀ в результате резекции поперечно-ободочной кишки. От пациента было получено письменное согласие на передачу биологического материала.

Создание подкожной ксеногенной модели КРР человека

Исследование противоопухолевой эффективности препаратов выполняли на четвертой генерации подкожных ксенотрансплантатов КРР человека. Для создания четвертого поколения подкожных ксенотрансплантатов КРР была выполнена имплантация фрагментов опухолевого ксенотрансплантата третьей генерации размером 2 × 2 × 2 мм под кожу правого бедра иммунодефицитных мышей. Для этого при помощи ножниц выполняли разрез в области бедра животных-реципиентов, в созданный тупым методом препарирования карман закладывали фрагмент донорской опухоли. Завершали операцию наложением шва на кожу в месте разреза. В ходе работы применяли инъекционную анестезию для лабораторных грызунов, используя ветеринарные препараты «Ксила» в дозе 20 мг/кг и «Золелил-100» в дозе 50 мг/кг.

Исследуемые препараты, дозы, способы и режимы их введения, распределение животных по группам

Исследуемый препарат XAV939 (Sigma-Aldrich) вводили перорально в дозе 25 мг/кг, 5-фторурацил (ЛЭНС-Фарм) вводили внутривентриально в дозе 25 мг/кг. Режим введения – 2 раза в неделю как при монотерапии, так и при использовании комбинации этих препаратов. Контрольной группе с той же кратностью вводили внутривентриально 0,9 % раствор NaCl и перорально стерильную воду.

Животные-опухоленосители были поделены на 4 группы:

- группа 1 – 5-фторурацил ($n = 5$);
- группа 2 – XAV-939 ($n = 5$);
- группа 3 – XAV-939 + 5-фторурацил ($n = 5$);
- группа 4 – контроль ($n = 5$).

Критерием распределения животных по группам являлся размер опухолевого узла на момент начала введения препарата – 50 ± 20 % мм³. Распределение было выполнено так, чтобы разброс средних значений объема опухолевых узлов в группах был минимальным.

Анализ роста ксенотрансплантатов КРР человека

Замеры опухолевых узлов проводили дважды в неделю при помощи штангенциркуля, их размеры вычисляли по формуле Шрека для эллипсоида – $V = a \times b \times c \times \pi/6$, где V – объем опухоли (мм³), a , b , c – линейные замеры эллипсоида в трех плоскостях (мм).

Оценка противоопухолевой эффективности препаратов и их комбинации

В качестве критерия эффективности тестируемых препаратов и их комбинации использовали показатель торможения роста опухоли (ТРО, %), а также индекс прироста опухоли (I), которые вычисляли по формулам:

$$\text{ТРО (\%)} = \frac{V_k - V_o}{V_k} \times 100,$$

где V_k и V_o – средний объем опухоли (мм³) в контрольной и опытных группах соответственно.

$$I_i = V_i / V_o,$$

где I – индекс прироста опухоли, i – сутки эксперимента, V_o – объем опухоли в день начала лечения.

Гистологическое исследование

Опухолевые фрагменты фиксировали в 10 % формалине в течение 24 ч, затем заключали в парафин. После этого готовили микросрезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике. Проводили гистологическое исследование образцов донорской и ксеногенных опухолей.

Молекулярно-генетическое исследование

ДНК из опухолевых образцов экстрагировали при помощи набора QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Германия), а также станции автоматического выделения нуклеиновых кислот QIAcube Connect (Qiagen, Германия). Мутации во 2-ом, 3-ем и 4-ом экзонах генов *KRAS* и *NRAS* и мутации в сайте V600 гена *BRAF* определяли методом прямого секвенирования по Сэнгеру (AB3500, LifeTechnologies, USA). Для определения микросателлитной нестабильности использовали метод фрагментарного анализа (AB3500, LifeTechnologies, USA) по локусам *Bat-25*, *Bat-26*, *NR21*, *NR24*, *NR27*.

Статистический анализ

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием пакета программ STATISTICA 8.0. Различия между группами оценивались при помощи t -критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для выполнения исследования противоопухолевой эффективности ингибитора сигнального пути Wnt XAV-939, 5-фторурацила, и их комбинации в отношении роста подкожных ксенотрансплантатов КРР человека была осуществлена серийная имплантация

опухолевого фрагмента PDX KPP человека третьей генерации под кожу иммунодефицитным мышам линии Balb/c Nude для получения соответствующей PDX- модели четвертой генерации.

В рамках описания основных биологических свойств полученной PDX-модели было выполнено гистологическое и молекулярно-генетическое исследование. Результаты гистологического анализа продемонстрировали способность ксенотрансплантатов воспроизводить гистотип донорской опухоли. Препараты как донорской, так и ксеногенной опухоли были описаны как умеренно дифференцированная аденокарцинома (G2) (рис. 1).

Исследование клинически значимых для колоректального рака молекулярно-генетических показателей продемонстрировало наличие дикого типа генов *KRAS*, *NRAS* и *BRAF*, а также наличие микросателлитной стабильности в как образцах PDX четвертой генерации, так и в образцах донорской опухоли.

В течение всего времени исследования проводили наблюдение за животными-опухоленосителями, выполняя еженедельный клинический осмотр и измерения линейных размеров подкожных ксенотрансплантатов.

По результатам последнего прижизненного измерения опухолевых узлов среднее значение объемов ксенотрансплантатов в группе с воздействием 5-фторурацилом составило $601,9 \pm 45,5 \text{ мм}^3$, в группе с воздействием ингибитора сигнального пути Wnt XAV-939 – $527,9 \pm 258,6 \text{ мм}^3$, что статистически не отличалось от среднего значения объемов ксенотрансплантатов контрольной группы, равного $609,3 \pm 69,5 \text{ мм}^3$. Результаты оценки динамики роста показали, что значения объемов подкожных опухолевых узлов и индекса прироста опухоли в группе с воздействием 5-фторурацилом и в группе с воздействием XAV-939 статистически не отличались от соответствующих показателей контрольной группы на протяжении всего срока эксперимента.

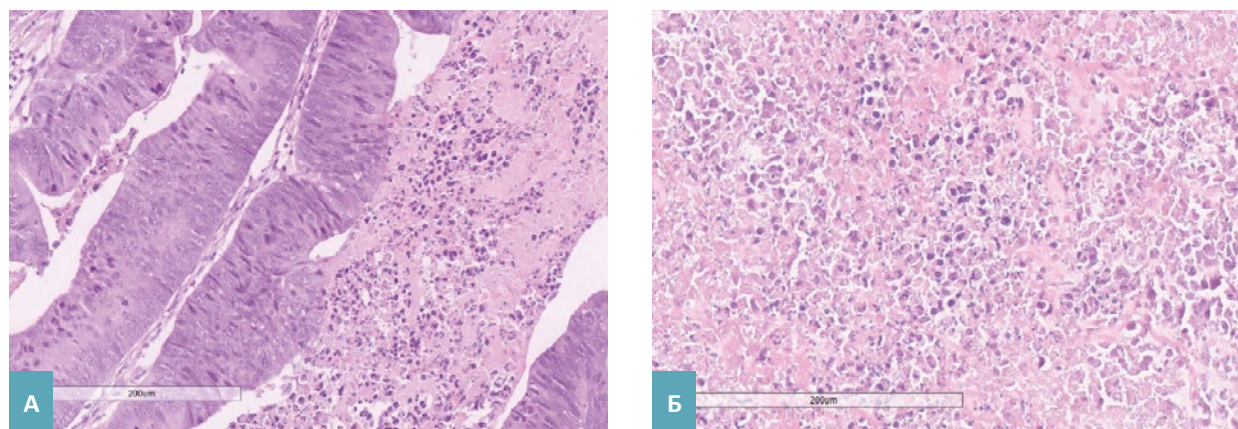


Рис. 1. Гистологические препараты опухоли пациента и соответствующего ей ксенотрансплантаты. А – опухоль пациента; Б – ксенотрансплантат 4-ой генерации; Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$.

Fig. 1. Morphology images of the patient's tumor and corresponding xenografts. A – patient's tumor; B – xenograft of the 4th generation; H&E staining. $\times 200$

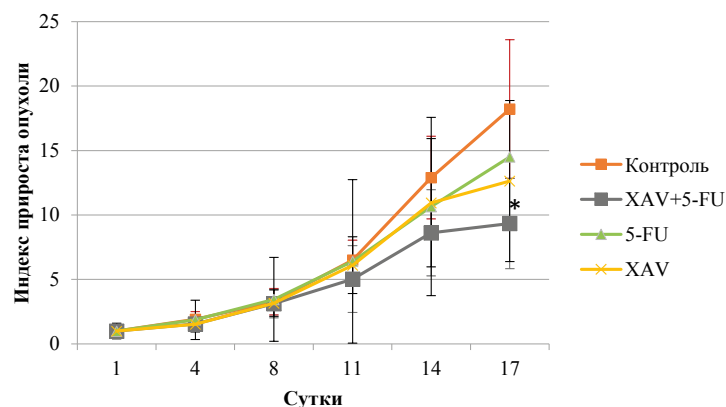


Рис. 2. Динамика индекса прироста опухоли в группах с воздействием 5-фторурацилом, XAV-939, комбинацией 5-фторурацила и XAV-939 и в контрольной группе. Примечание: * – статистически значимые различия между экспериментальными группами с воздействием 5-фторурацилом, XAV-939, комбинацией 5-фторурацила и XAV-939 и контрольной группой согласно t-критерию Стьюдента ($p < 0,05$); в виде планок погрешностей представлен 95 % доверительный интервал.

Fig. 2. Dynamics of the tumor growth index in groups with exposure to 5-fluorouracil, XAV939, a combination of 5-fluorouracil with XAV-939 and in the control group. Note: * – statistically significant differences between experimental groups exposed to 5-fluorouracil, XAV-939, a combination of 5-fluorouracil with XAV-939 and the control group according to the Student's t-test ($p < 0.05$); 95 % confidence interval is presented in the form of bias bars.

В группе с воздействием комбинацией 5-фторурацила и XAV-939 среднее значение объемов опухолевых узлов составило $335,2 \pm 40,7 \text{ мм}^3$, что было статистически значимо меньше среднего значения объемов ксенотрансплантатов контрольной группы ($p < 0,05$), соответственно, индекс прироста опухоли в группе с комбинированным воздействием 5-фторурацилом и XAV-939 был также статистически значимо ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,05$) (рис. 2).

По завершению эксперимента был вычислен показатель торможения роста опухоли (ТРО, %).

Наиболее высокое значение ТРО, составившее 44,99 %, было зафиксировано в группе с комбинированным воздействием 5-фторурацилом и XAV-939. Более низкие значения ТРО наблюдались в группе с воздействием 5-фторурацилом и группе с воздействием XAV-939, что составило 20,02 % и 17,46 % соответственно (рис. 3).

В качестве одного из вероятных механизмов реализации противоопухолевого эффекта при воздействии комбинации 5-фторурацила и XAV-939 можно рассматривать способность XAV-939 ингибировать канонический Wnt-сигналинг. Основная функция канонического Wnt пути заключается в стабилизации β -катенина и усилении его ядерной транслокации, где, в свою очередь, происходит активация генов-мишеней, отвечающих за дифференцировку, пролиферацию и другие клеточные процессы [8; 10]. В исследованиях на моделях рака у мышей было продемонстрировано, что накопление β -катенина в ядре коррелировало с повышенной миграцией клеток, проявлением стволовых свойств и формированием химиорезистентности [16; 17]. Показано, что при многих злокачественных новообразованиях наблюдается дисрегуляция сигнального пути Wnt, что позволяет представить его как перспективную мишень для таргетной терапии, но в настоящее время существует ограниченное количество соединений, которые могут на него воздействовать [8; 10]. Одним из таких соединений является малая молекула XAV-939, в ос-

нове её действия лежит селективное ингибирование β -катенин-опосредованной транскрипции. XAV-939 стимулирует деградацию β -катенина посредством стабилизации актина – белка, являющегося частью комплекса ответственного за процесс деградации β -катенина, – тем самым реализуя свое противоопухолевое действие [17].

Полученные в ходе нашей работы данные, демонстрирующие подавление роста ксеногенных опухолей при воздействии ингибиторами сигнального пути Wnt в комбинации с препаратами-цитостатиками, согласуются с результатами исследований ряда других авторов [17; 18].

В работе китайских исследователей, посвященной изучению преодоления лекарственной устойчивости, в частности, резистентности к 5-фторурацилу, было доказано, что комбинация ингибитора Wnt кардамона с препаратом 5-фторурацилом более эффективна нежели монотерапия 5-фторурацилом. Исследование *in vivo* было проведено на мышах линии Balb/c nude, которым было осуществлено подкожное введение резистентных к 5-фторурацилу клеток аденокарциномы желудка человека (BGC-823/5-FU). Как и в случае с XAV-939, кардамонин ингибирует канонический Wnt-сигналинг, связанный β -катенином, и благодаря этому делает опухолевые клетки более уязвимыми для лекарственного препарата 5-фторурацила [18].

В другой работе, было показано как на моделях *in vitro*, так и *in vivo* наличие выраженного противоопухолевого эффекта при применении XAV-939 в комбинации с цитостатическим препаратом паклитакселом. В своей работе авторы обращают особое внимание на то, что при применении препаратов в режиме монотерапии цитотоксическое действие паклитаксела было более очевидным, чем у XAV-939. Вместе с тем, по результатам МТТ-теста, проведенного на клеточных линиях рака молочной железы MDA-MB-231, MDA-MB-468, BT549, MCF-7 и T-47D было установлено, что цитотоксичный эффект комбинированного лечения с использованием низких доз паклитаксела

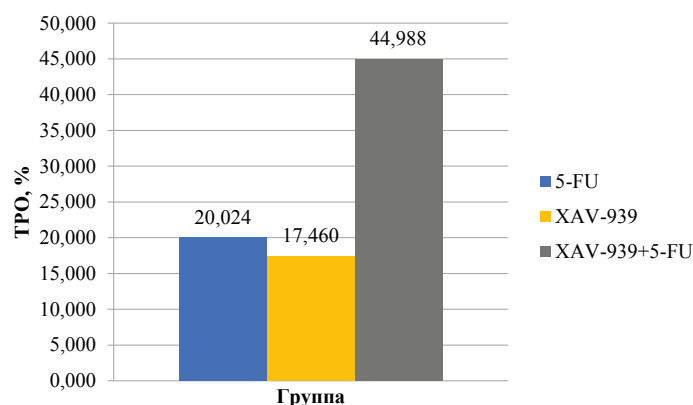


Рис. 3. Показатели ТРО для экспериментальных групп с воздействием 5-фторурацилом, XAV-939, комбинацией 5-фторурацила с XAV-939.

Fig. 3. TGI indicators for experimental groups exposed to 5-fluorouracil, XAV-939, a combination of 5-fluorouracil with XAV-939.

(20 нМ) и XAV-939 (10 М) был почти равен таковому для паклитаксела в высокой дозе (200 нМ). В рамках этой же работы на моделях *in vivo* было продемонстрировано, что комбинированное лечение паклитакселом с XAV-939 может эффективно подавлять рост ксенотрансплантатов молочной железы по сравнению с контролем и каждым из этих препаратов, примененных в режиме монотерапии [19]. Это согласуется с результатами нашего исследования, также продемонстрировавшего более выраженный противоопухолевый эффект относительно роста PDX KPP при воздействии комбинации 5-фторурацила и XAV-939, нежели применение этих препаратов по отдельности.

Однако, в исследовании, выполненном на ксенотрансплантатах клеточной линии рака мочевого пузыря T24 лечение как XAV-939, так и другой молекулой-ингибитором сигнального пути Wnt QCSL вызывало снижение объем опухоли по сравнению с контрольной группой [20]. Схожие результаты были получены в другом исследовании, где было показано, что внутритюморовые инъекции XAV-939 или WXL-8 значительно подавляли рост подкожных ксенотрансплантатов рака печени HepG2 [21].

Таким образом, представленные в литературе результаты исследований являются подтверждением гипотезы о целесообразности применения молекул-ингибиторов сигнального пути Wnt в качестве новых противоопухолевых средств, особенно перспективной представляется стратегия с использованием комбинации ингибиторов Wnt с традиционными цитостатическими препаратами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе нашего исследования, продемонстрировали способность ингибитора сигнального пути Wnt малой молекулы XAV-939 в комбинации с 5-фторурацилом подавлять рост подкожных ксенотрансплантатов, полученных от пациентов с колоректальным раком. Тем не менее, отсутствие регрессии ксенотрансплантатов колоректального рака при применении XAV-939 в режиме монотерапии делают необходимым проведение дальнейших работ по изучению сигнального пути Wnt в качестве терапевтической мишени для различных типов и подтипов опухолей.

Список источников

1. Геворкян Ю. А., Колесников В. Е., Солдаткина Н. В., Харагезов Д. А., Дашков А. В., Каймакчи Д. О. и др. Малоинвазивные хирургические вмешательства в лечении больных метастатическим колоректальным раком. Южно-Российский онкологический журнал/ South Russian Journal of Cancer. 2020;1(2):22–27. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-2-3>
2. Каприн А. Д., Сулейманов Э. А., Калинин Е. В. Отдаленные результаты расширенных и комбинированных оперативных вмешательств у больных с местно-распространенными формами рака прямой кишки в зависимости от степени циторедукции. Онкология. Журнал им. П. А. Герцена. 2017;6(3):21–28. <https://doi.org/10.17116/onkolog20176321-28>
3. Li W, Xu J, Zhao J, Zhang R. Oxaliplatin and Infliximab Combination Synergizes in Inducing Colon Cancer Regression. Med Sci Monit. 2017 Feb 12;23:780–789. <https://doi.org/10.12659/msm.901880>
4. Nikolaou M, Pavlopoulou A, Georgakilas AG, Kyrodimos E. The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview. Clin Exp Metastasis. 2018 Apr;35(4):309–318. <https://doi.org/10.1007/s10585-018-9903-0>
5. Vasan N, Baselga J, Hyman DM. A view on drug resistance in cancer. Nature. 2019 Nov;575(7782):299–309. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1730-1>
6. Yu J, Liu D, Sun X, Yang K, Yao J, Cheng C, et al. CDX2 inhibits the proliferation and tumor formation of colon cancer cells by suppressing Wnt/β-catenin signaling via transactivation of GSK-3β and Axin2 expression. Cell Death Dis. 2019 Jan 10;10(1):26. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-1263-9>
7. Baran B, Mert Ozupek N, Yerli Tetik N, Acar E, Bekcioglu O, Baskin Y. Difference Between Left-Sided and Right-Sided Colorectal Cancer: A Focused Review of Literature. Gastroenterology Res. 2018 Aug;11(4):264–273. <https://doi.org/10.14740/gr1062w>
8. Zhang Y, Wang X. Targeting the Wnt/β-catenin signaling pathway in cancer. J Hematol Oncol. 2020 Dec 4;13(1):165. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00990-3>
9. Taciak B, Pruszyńska I, Kiraga L, Bialasek M, Krol M. Wnt signaling pathway in development and cancer. J Physiol Pharmacol. 2018 Apr;69(2). <https://doi.org/10.26402/jpp.2018.2.07>
10. Cheng X, Xu X, Chen D, Zhao F, Wang W. Therapeutic potential of targeting the Wnt/β-catenin signaling pathway in colorectal cancer. Biomed Pharmacother. 2019 Feb;110:473–481. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.082>
11. Кит О. И., Гончарова А. С., Лукбанова Е. А. Методы создания ортотопических моделей рака толстой кишки человека на иммунодефицитных животных. Вопросы онкологии. 2019;65(2):303–307. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2019-65-2-303-307>
12. Jung J, Seol HS, Chang S. The Generation and Application of Patient-Derived Xenograft Model for Cancer Research. Cancer Res Treat. 2018 Jan;50(1):1–10. <https://doi.org/10.4143/crt.2017.307>

13. Xu C, Li X, Liu P, Li M, Luo F. Patient derived xenograft mouse models: A high fidelity tool for individualized medicine. *Oncology letters*. 2019; 17(1): 3–10. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9583>
14. Goto T. Patient-Derived Tumor Xenograft Models: Toward the Establishment of Precision Cancer Medicine. *J Pers Med*. 2020 Jul 18;10(3):64. <https://doi.org/10.3390/jpm10030064>
15. Ireson CR, Alavijeh MS, Palmer AM, Fowler ER, Jones HJ. The role of mouse tumour models in the discovery and development of anticancer drugs. *Br J Cancer*. 2019 Jul;121(2):101–108. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0495-5>
16. Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях; 18 марта 1986 г., Страсбург. Доступно по: <https://rm.coe.int/168007a6a8>. Дата обращения: 13.08.2021.
17. Xu J, Prosperi JR, Choudhury N, Olopade OI, Goss KH. β -Catenin is required for the tumorigenic behavior of triple-negative breast cancer cells. *PLoS One*. 2015;10(2):e0117097. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117097>
18. Shetti D, Zhang B, Fan C, Mo C, Lee BH, Wei K. Low Dose of Paclitaxel Combined with XAV939 Attenuates Metastasis, Angiogenesis and Growth in Breast Cancer by Suppressing Wnt Signaling. *Cells*. 2019 Aug 14;8(8):892. <https://doi.org/10.3390/cells8080892>
19. Hou G, Yuan X, Li Y, Hou G, Liu X. Cardamonin, a natural chalcone, reduces 5-fluorouracil resistance of gastric cancer cells through targeting Wnt/ β -catenin signal pathway. *Invest New Drugs*. 2020 Apr;38(2):329–339. <https://doi.org/10.1007/s10637-019-00781-9>
20. Gong H, Chen W, Mi L, Wang D, Zhao Y, Yu C, et al. Qici Sanling decoction suppresses bladder cancer growth by inhibiting the Wnt/ β -catenin pathway. *Pharm Biol*. 2019 Dec;57(1):507–513. <https://doi.org/10.1080/13880209.2019.1626449>
21. Ma L, Wang X, Jia T, Wei W, Chua M-S, So S. Tankyrase inhibitors attenuate WNT/ β -catenin signaling and inhibit growth of hepatocellular carcinoma cells. *Oncotarget*. 2015 Sep 22;6(28):25390–25401. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4455>

References

1. Gevorkyan YuA, Kolesnikov VE, Soldatkina NV, Kharagezov DA, Dashkov AV, Kaymakchi DO, et al. Minimally invasive surgery in treatment of patients with metastatic colorectal cancer. *South Russian Journal of Cancer*. 2020;1(2):22–27. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-2-3>
2. Kaprin A D, Suleimanov E A, Kalinin E V. Long-term results of extended and combined surgical interventions in patients with locally advanced rectal cancer in relation to the extent of cytoreduction. *P. A. Herzen Journal of Oncology*. 2017;6(3):21–28. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/onkolog20176321-28>
3. Li W, Xu J, Zhao J, Zhang R. Oxaliplatin and Infliximab Combination Synergizes in Inducing Colon Cancer Regression. *Med Sci Monit*. 2017 Feb 12;23:780–789. <https://doi.org/10.12659/MSM.901880>
4. Nikolaou M, Pavlopoulou A, Georgakilas AG, Kyrodimos E. The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview. *Clin Exp Metastasis*. 2018 Apr;35(4):309–318. <https://doi.org/10.1007/s10585-018-9903-0>
5. Vasan N, Baselga J, Hyman DM. A view on drug resistance in cancer. *Nature*. 2019 Nov;575(7782):299–309. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1730-1>
6. Yu J, Liu D, Sun X, Yang K, Yao J, Cheng C, et al. CDX2 inhibits the proliferation and tumor formation of colon cancer cells by suppressing Wnt/ β -catenin signaling via transactivation of GSK-3 β and Axin2 expression. *Cell Death Dis*. 2019 Jan 10;10(1):26. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-1263-9>
7. Baran B, Mert Ozupek N, Yerli Tetik N, Acar E, Bekcioglu O, Baskin Y. Difference Between Left-Sided and Right-Sided Colorectal Cancer: A Focused Review of Literature. *Gastroenterology Res*. 2018 Aug;11(4):264–273. <https://doi.org/10.14740/gr1062w>
8. Zhang Y, Wang X. Targeting the Wnt/ β -catenin signaling pathway in cancer. *J Hematol Oncol*. 2020 Dec 4;13(1):165. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00990-3>
9. Taciak B, Pruszyńska I, Kiraga L, Bialasek M, Krol M. Wnt signaling pathway in development and cancer. *J Physiol Pharmacol*. 2018 Apr;69(2). <https://doi.org/10.26402/jpp.2018.2.07>
10. Cheng X, Xu X, Chen D, Zhao F, Wang W. Therapeutic potential of targeting the Wnt/ β -catenin signaling pathway in colorectal cancer. *Biomed Pharmacother*. 2019 Feb;110:473–481. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.082>
11. Kit O I, Goncharova A S, Lukbanova E A. Methods of creating orthotopic models of human colon cancer in immunodeficient animals. *Oncology Issues*. 2019;65(2):303–307. (In Russ.). <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2019-65-2-303-307>
12. Jung J, Seol HS, Chang S. The Generation and Application of Patient-Derived Xenograft Model for Cancer Research. *Cancer Res Treat*. 2018 Jan;50(1):1–10. <https://doi.org/10.4143/crt.2017.307>
13. Xu C, Li X, Liu P, Li M, Luo F. Patient derived xenograft mouse models: A high fidelity tool for individualized medicine. *Oncology Letters*. 2019;17(1):3–10. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9583>
14. Goto T. Patient-Derived Tumor Xenograft Models: Toward the Establishment of Precision Cancer Medicine. *J Pers Med*. 2020 Jul 18;10(3):64. <https://doi.org/10.3390/jpm10030064>
15. Ireson CR, Alavijeh MS, Palmer AM, Fowler ER, Jones HJ. The role of mouse tumour models in the discovery and development of anticancer drugs. *Br J Cancer*. 2019 Jul;121(2):101–108. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0495-5>

16. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experiments or for Other Scientific Purposes; March 18, 1986, Strasbourg. Available at: <https://rm.coe.int/168007a6a8>. Accessed: 13.08.2021. (In Russ.).
17. Xu J, Prosperi JR, Choudhury N, Olopade OI, Goss KH. β -Catenin is required for the tumorigenic behavior of triple-negative breast cancer cells. *PLoS One*. 2015;10(2):e0117097. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117097>
18. Shetti D, Zhang B, Fan C, Mo C, Lee BH, Wei K. Low Dose of Paclitaxel Combined with XAV939 Attenuates Metastasis, Angiogenesis and Growth in Breast Cancer by Suppressing Wnt Signaling. *Cells*. 2019 Aug 14;8(8):892. <https://doi.org/10.3390/cells8080892>
19. Hou G, Yuan X, Li Y, Hou G, Liu X. Cardamonin, a natural chalcone, reduces 5-fluorouracil resistance of gastric cancer cells through targeting Wnt/ β -catenin signal pathway. *Invest New Drugs*. 2020 Apr;38(2):329–339. <https://doi.org/10.1007/s10637-019-00781-9>
20. Gong H, Chen W, Mi L, Wang D, Zhao Y, Yu C, et al. Qici Sanling decoction suppresses bladder cancer growth by inhibiting the Wnt/ β -catenin pathway. *Pharm Biol*. 2019 Dec;57(1):507–513. <https://doi.org/10.1080/13880209.2019.1626449>
21. Ma L, Wang X, Jia T, Wei W, Chua M-S, So S. Tankyrase inhibitors attenuate WNT/ β -catenin signaling and inhibit growth of hepatocellular carcinoma cells. *Oncotarget*. 2015 Sep 22;6(28):25390–25401. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4455>

Информация об авторах:

Гончарова Анна Сергеевна ✉ – к.б.н., заведующая Испытательным лабораторным центром ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>, SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424, Scopus Author ID: 56579049500

Галина Анастасия Владимировна – младший научный сотрудник Испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7823-3865>, SPIN: 9171-4476, AuthorID: 1071933

Ходакова Дарья Владиславовна – младший научный сотрудник Испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3753-4463>, SPIN: 8718-3983, AuthorID: 1056414

Егоров Георгий Юрьевич – аспирант 2 года ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1413-6406>, SPIN: 5779-2753, AuthorID: 1083055

Максимов Алексей Юрьевич – д.м.н., профессор, заместитель генерального директора по перспективным научным разработкам ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1397-837X>, SPIN: 7322-5589, AuthorID: 710705, Scopus Author ID: 56579049500

Колесников Евгений Николаевич – д.м.н., заведующий отделением абдоминальной онкологии №1 с группой рентгенэндоваскулярных методов диагностики и лечения, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9749-709X>, SPIN: 8434-6494, AuthorID: 347457

Комарова Екатерина Федоровна – д.б.н., профессор РАН, старший научный сотрудник Испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация; заведующая кафедрой биомедицины (и психофизиологии) ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7553-6550>, SPIN: 1094-3139, AuthorID: 348709

Киблицкая Александра Андреевна – научный сотрудник Испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9337-5535>, SPIN: 2437-4102, AuthorID: 610872

Заикина Екатерина Владиславовна – лаборант-исследователь Испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0088-2990>, SPIN: 4000-4369, AuthorID: 1045258

Курбанова Луиза Зулкаидовна – младший научный сотрудник Испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3436-1325>, SPIN: 9060-4853, AuthorID: 1020533

Миндари Мария Вадимовна – младший научный сотрудник Испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8734-9210>, SPIN: 5148-0830, AuthorID: 1032029

Information about authors:

Anna S. Goncharova ✉ – Cand. Sci. (Biol.), head of the Testing Laboratory Center of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>, SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424, Scopus AuthorID: 56579049500

Anastasia V. Galina – junior researcher of the Testing Laboratory Center of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7823-3865>, SPIN: 9171-4476, AuthorID: 1071933

Daria V. Khodakova – junior researcher of the Testing Laboratory Center of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3753-4463>, SPIN: 8718-3983, AuthorID: 1056414

Georgy Yu. Egorov – graduate student 2 years of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1413-6406>, SPIN: 5779-2753, AuthorID: 1083055

Aleksey Yu. Maksimov – Dr. Sci. (Med.), professor, deputy general director for advanced research and development of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1397-837X>, SPIN: 7322-5589, AuthorID: 710705, Scopus AuthorID: 56579049500

Evgeniy N. Kolesnikov – Dr. Sci. (Med.), head of the department of abdominal oncology No. 1 with a group of X-ray endovascular methods of diagnosis and treatment of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9749-709X>, SPIN: 8434-6494, AuthorID: 347457

Ekaterina F. Komarova – Dr. Sci. (Biol.), professor RAN, senior researcher of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation; head of the Department of Biomedicine (and Psychophysiology), Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7553-6550>, SPIN: 1094-3139, AuthorID: 348709

Alexandra A. Kiblicskaya – researcher at the Testing Laboratory Center of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9337-5535>, SPIN: 2437-4102, AuthorID: 610872

Ekaterina V. Zaikina – research assistant at the testing laboratory center of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0088-2990>, SPIN: 4000-4369, AuthorID: 1045258

Luiza Z. Kurbanova – junior researcher of the Testing Laboratory Center of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3436-1325>, SPIN: 9060-4853, AuthorID: 1020533

Maria V. Mindar – junior researcher at the Testing Laboratory Center of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8734-9210>, SPIN: 5148-0830, AuthorID: 1032029

Вклад авторов:

Гончарова А. С. – концепция и дизайн исследования, написание рукописи;

Галина А. В. – проведение эксперимента;

Ходакова Д. В. – проведение эксперимента;

Егоров Г. Ю. – работа с биологическим материалом;

Максимов А. Ю. – научное редактирование рукописи;

Колесников Е. Н. – написание рукописи;

Комарова Е. Ф. – проведение эксперимента, написание рукописи;

Киблицкая А. А. – статистический анализ данных;

Заикина Е. В. – проведение молекулярно-генетического анализа;

Курбанова Л. З. – оформление библиографии, техническое редактирование рукописи;

Миндарь М. В. – подготовка иллюстраций; техническое редактирование рукописи.

Authors contribution:

Goncharova A. S. – study concept and design; manuscript preparation;

Galina A. V. – experiment;

Khodakova D. V. – experiment;

Egorov G. Yu. – processing biological material;

Maksimov A. Yu. – scientific manuscript editing;

Kolesnikov E. N. – experiment;

Komarova E. F. – experiment, manuscript preparation;

Kiblitckaya A. A. – statistical analysis;

Zaikina E. V. – molecular research;

Kurbanova L. Z. – reference list preparation, technical manuscript editing;

Mindar M. V. – illustrations, technical manuscript editing.