



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ПОЛУЧЕНИЮ ПОДКОЖНОГО КСЕНОГРАФТА НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Е. А. Лукбанова[✉], М. В. Миндарь, Е. А. Дженкова, А. Ю. Максимов, А. С. Гончарова, Ю. С. Шатова, А. А. Маслов, А. В. Шапошников, Е. В. Заикина, Ю. Н. Лазутин

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

✉ katya.samarskaja@yandex.ru

Резюме

Цель исследования. Создание Patient Derived Xenograft (PDX)-модели немелкоклеточного рака легкого на иммунодефицитных мышцах, адаптированной к росту на иммунодефицитных мышцах.

Материалы и методы. Для проведения данной работы использовали опухолевый материал от 14 доноров, имплантированный подкожно 132 иммунодефицитным мышам линии Balb/c Nude. Ксенографты поддерживали до 3-го пассажа. Для проверки чувствительности созданных моделей к цисплатину использовали PDX от 3-х пациентов 3-го пассажа. Был проведен гистологический анализ и генетическое исследование на наличие мутаций в гене EGFR донорских опухолей от 3-х пациентов и соответствующих ксенографтов 3-го пассажа.

Результаты. В нашей работе заметный рост PDX отмечался уже на 8-е сутки после перевивки опухолевого материала. При этом успешное приживление ксенографтов отмечалось у 21 мыши из 42, что составляет 50 %. Данные показатели являются довольно успешным результатом. Проведенный сравнительный гистологический анализ опухолевого материала от 3-х пациентов показал сохранение PDX-моделями первоначального гистотипа. Также нами была продемонстрирована идентичность полученных ксенографтов от 3-х пациентов донорской опухоли в аспекте анализа наличия мутаций в гене EGFR, что доказывает ценность данных PDX-моделей для использования для доклинических исследований веществ с потенциальной противоопухолевой активностью. В исследовании чувствительности полученных ксенографтов к цисплатину-цитостатику, в ксенографтах, полученных от двух пациентов из 3-х, наблюдалось статистически значимое замедление скорости роста по сравнению с контролем.

Заключение. Созданные нами PDX-модели могут быть рекомендованы в качестве тест-систем для доклинических исследований эффективности новых фармакологических субстанций с потенциальной противоопухолевой активностью.

Ключевые слова:

немелкоклеточный рак легкого, плоскоклеточный рак, аденокарцинома, Patient Derived Xenograft, мутация, гистотип, цисплатин

Для корреспонденции:

Лукбанова Екатерина Алексеевна – научный сотрудник, 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: katya.samarskaja@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3036-6199>

SPIN: 4078-4200, AuthorID: 837861

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания № 121031100253-3 «Изучение противоопухолевой активности фармакологических субстанций *in vivo* и *in vitro*».

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности: выражаем слова благодарности переводчику Осовской Олесе Андреевне – перевод текста рукописи на английский язык.

Для цитирования:

Лукбанова Е. А., Миндарь М. В., Дженкова Е. А., Максимов А. Ю., Гончарова А. С., Шатова Ю. С., Маслов А. А., Шапошников А. В., Заикина Е. В., Лазутин Ю. Н. Экспериментальный подход к получению подкожного ксенографта немелкоклеточного рака легкого. Исследования и практика в медицине. 2022; 9(2): 65–76. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-2-5>

Статья поступила в редакцию 16.03.2022; одобрена после рецензирования 10.04.2022; принята к публикации 07.06.2022.

© Лукбанова Е. А., Миндарь М. В., Дженкова Е. А., Максимов А. Ю., Гончарова А. С., Шатова Ю. С., Маслов А. А., Шапошников А. В., Заикина Е. В., Лазутин Ю. Н., 2022

EXPERIMENTAL APPROACH TO OBTAINING SUBCUTANEOUS XENOGRAFT OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER

E. A. Lukbanova✉, M. V. Mindar, E. A. Dzhenkova, A. Yu. Maksimov, A. S. Goncharova, Yu. S. Shatova, A. A. Maslov, A. V. Shaposhnikov, E. V. Zaikina, Yu. N. Lazutin

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

✉ katya.samarskaja@yandex.ru

Abstract

Purpose of the study. Was was the creation of a Patient Derived Xenograft (PDX) model of non-small cell lung cancer in immunodeficient mice adapted to growth in immunodeficient mice.

Materials and methods. The study was performed using the tumor material from 14 donors implanted subcutaneously to 132 immunodeficient Balb/c Nude mice. Xenografts were maintained until the third passage. PDXs in the third passage from 3 patients were used to assess the model sensitivity to cisplatin. A histological analysis and genetic tests for the presence of EGFR mutations were performed for donor tumors from 3 patients and the corresponding xenografts in the third passage.

Results. We observed a noticeable PDX growth already on the 8th day after the tumor material implantation. Successful xenograft engraftment was noted in 21 of 42 mice (50 %), which were rather successful results. A comparative histological analysis of tumor material from 3 patients showed that the PDX models retained the original histotype. We also demonstrated the identity of the EGFR mutations in the established xenografts from 3 patients and the donor tumors, which proved the value of these PDX models for preclinical studies of substances with potential antitumor activity. The analysis of the xenograft sensitivity to cytostatic cisplatin showed a statistically significant decrease in the growth rate in the xenografts obtained from 2 out of 3 patients, in comparison with the control.

Conclusions. The created PDX models can be recommended as test systems for preclinical studies of the effectiveness of new pharmacological substances with potential antitumor activity.

Keywords:

non-small cell lung cancer, squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, Patient Derived Xenograft, mutation, histotype, cisplatin

For correspondence:

Ekaterina A. Lukbanova – Researcher, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

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

E-mail: katya.samarskaja@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3036-6199>

SPIN: 4078-4200, AuthorID: 837861

Funding: the study study was conducted as part of the state assignment No. 121031100253-3 "Study of antitumor activity of pharmacological substances *in vivo* and *in vitro*".

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

Gratitudes: we express our gratitude to Olesya A. Ossovskaya, translator, for the help with the manuscript translation in English.

For citation:

Lukbanova E. A., Mindar M. V., Dzhenkova E. A., Maksimov A. Yu., Goncharova A. S., Shatova Iu. S., Maslov A. A., Shaposhnikov A. V., Zaikina E. V., Lazutin Yu. N. Experimental approach to obtaining subcutaneous xenograft of non-small cell lung cancer. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2022; 9(2): 65-76. (In Russ.). <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-2-5>

The article was submitted 16.03.2022; approved after reviewing 10.04.2022; accepted for publication 07.06.2022.

ВВЕДЕНИЕ

Заболеваемость раком легких является серьезной современной проблемой [1; 2]. Число пациентов с диагностированным раком легких с каждым годом возрастает. По данным Международного агентства по изучению рака, немелкоклеточный рак легких (НМРЛ) в последнее время в мире находится на первом месте по заболеваемости и смертности от онкозаболеваний, составляя около 11,6 % от общего числа случаев и 18,4 % от общего числа смертей от рака, соответственно [3]. На 2020 год рак легкого охватывал 12 % от общей заболеваемости населения различными злокачественными новообразованиями [4]. Ежегодно в России диагностируется более 60 000 случаев рака легких. Смертность от данного заболевания составляет 50 000 человек в год [5]. Несмотря на наличие широкого арсенала и его постоянное усовершенствование противоопухолевых агентов, общая 5-летняя выживаемость больных НМРЛ составляет всего 19 % [6; 7]. Поэтому актуальным в настоящее время является поиск новых средств, обладающих высокой противоопухолевой активностью и имеющих незначительные побочные эффекты.

Доклинические исследования новых фармакологических субстанций с потенциальным противоопухолевым эффектом на этапе *in vivo* требуют создания модели, максимально близкой по своим характеристикам к человеческому заболеванию. Такими моделями являются ксенографты человеческих опухолей на иммунодефицитных мышах. В настоящее время наиболее адекватными считаются ксенографты, получаемые в результате имплантации опухолевого материала, взятого непосредственно от онкобольного – Patient Derived Xenograft (PDX) [8]. Подобные модели позволяют обойти существующее ограничение ксенографтов, созданных путем трансплантации клеточных линий опухолей человека, полученных в результате избирательной селекции *in vitro* и потерявших в конечном итоге свойства первичной опухоли. Таким образом доклинические исследования фармакологических субстанций на клеточных линиях теряют свою прогностическую значимость. Испытания веществ на PDX-моделях проводятся перед началом клинических исследований [9]. Бесспорным преимуществом PDX является способность воспроизводить все многообразие биологических характеристик опухолей пациентов благодаря гетерогенности их клеточного состава [10; 11], в том числе гистологические и генетические характеристики [12–14]. Одним из факторов, отражающих признание перспективности PDX-моделей, является тенденция к переходу от использования NCI-60 панелей клеточных линий, которые применяли в течение последних трех де-

сятилетий, к использованию PDX, прослеживаемая в работах Национального института онкологии США (NCI) [15]. Рядом ученых было создано и исследовано около 1000 PDX, а также доказана их клиническая значимость, достигающая 90 % [15; 16]. В связи с этим актуальной является разработка и стандартизация PDX-моделей опухолей различных нозологий, в том числе и НМРЛ.

Цель исследования: создание PDX-модели немелкоклеточного рака легкого на иммунодефицитных мышах, адаптированной к росту на иммунодефицитных мышах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опухолевый материал

Для проведения данной работы использовали опухолевый материал от 14 доноров (табл. 1). От больных было получено письменное согласие на передачу биологического материала, в том числе и опухолевого. При хирургическом удалении опухоли легкого, ее фрагмент, отделенный от некротических масс и кровеносных сосудов, помещали в питательную среду RPMI (англ. Roswell Park Memorial Institute medium) с добавлением антибиотика (гентамицина 5 %). Для трансплантации использовали фрагменты опухоли – НМРЛ объемом 27 мм³. Важным условием успешного приживления ксенотрансплантата являлась имплантация опухолевого фрагмента в организм иммунодефицитной мыши не позднее 20 минут с момента его выделения из организма донора.

Животные

Для создания ортотопической PDX-модели рака легкого было использовано 132 самок мышей линии Balb/c Nude. Данная линия характеризуется развитием у животных частичного иммунодефицита, что обуславливает высокую вероятность приживления опухоли [17]. Возраст мышей составил 4 недели, средняя масса – 21–23 г. Животные содержались в SPF виварии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, в индивидуально вентилируемых клетках при температуре 21–23 °С, в условиях свободного доступа к корму и воде.

Имплантация

Имплантацию опухолевого фрагмента осуществляли под кожу животного. Операцию проводили с применением инъекционной анестезии для лабораторных животных при помощи препаратов ксилазин и «Золетил-100» в дозировке 1,5 мл/кг и 67,5 мг/кг соответственно [18]. После введения животных в хирургическую фазу наркоза осуществляли рассечение кожи в области бедра животного-реципиента. Далее тупым методом препарирования создавали карман, в который помещали фрагмент опухоли пациента

(рис. 1). Далее операционную рану ушивали скорняжным швом. При достижении опухолевыми узлами объема 300 мм³ перепассировали ксенографт.

Рандомизация и кодировка

Для создания первого пассажа рака легкого животные были распределены на 14 групп по 3 особи в каждой. Для создания 2-го и 3-го пассажей отбирали модели с наилучшими трансплантационными характеристиками (скорость роста опухолевого узла) ксенографта, после чего опухолевый узел от животных-опухоленосителей предшествующей генерации разделяли на фрагменты и имплантировали подкожно каждому животному в группе следующего пассажа. Для второго пассажа животные были разделены на 3 группы по 10 животных; для 3 пассажа животные были разделены на 6 групп по 10 животных. 3 пассаж PDX-модели рака легкого от 3 разных доноров опухолевого материала использовали для определения чувствительности ксенографта к цисплатину, для чего мышей разделили на 2 группы – контрольную и экспериментальную. Цисплатин вводили внутривенно в дозе 5 мг/кг. Контрольная группа получала физ. Раствор, который вводили внутривенно. Объем вводимых жидкостей составлял 200 мкл.

Наблюдение динамики роста опухолевых узлов и введение препаратов

Подкожные опухолевые узлы измеряли 2 раза в неделю в трех плоскостях, после чего рассчитывали объемы ксенографтов по формуле: $\pi/6 \times L \times W \times H$, где L – длина, W – ширина, H – высота опухоли.

При проведении исследования влияния цисплатина на рост ксенографтов использовали метод оценки противоопухолевого эффекта по индексу прироста опухоли (I), который вычисляется по формуле: $I_i = V_i / V_0$, где i – сутки эксперимента, V_0 – объем опухоли в день начала лечения, V_i – объем опухоли на i – е сутки эксперимента.

Для оценки степени роста опухолевых узлов использовали показатель T/C %:

$$T/C \% = (V \text{ опыта}) / (V \text{ контроля}) \times 100 \%$$

Гистологический анализ

Выделенные опухолевые фрагменты от донора и от PDX-модели фиксировали в 10 %-м растворе формалина в течение 24 ч, по истечению которых их обезжизивали, путем их проводки через батарею спиртов и ксилола, пропитывали в парафине. После этого образцы опухолей заключали в парафин и изготавливали их срезы, которые депарафинизировали и окрашивали гематоксилином и эозином. При помощи светового микроскопа ZEISS Axio проводили гистологическое исследование донорской опухоли человека, PDX-моделей интактных и с воздействием исследуемого соединения. Для получения изображений использовали сканер Aperio Scan Scope XT и программное обеспечение ImageScope.

Генетический анализ

Опухолевые фрагменты от донора анализировали методом ПЦР в реальном времени на мутации гена EGFR: exon 19 deletions, L858R, L861Q, G719X, S768I, exon 20 insertions, T790M. Анализ проводили с использованием набора реагентов для анализа мутаций в гене EGFR в пробах ДНК therascreen EGFR RGQ PCR, согласно его протоколу. Для очистки геномной ДНК использовали набор QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (QIAGEN). Далее проводили оценку общей амплифицируемой ДНК в образце с помощью контрольной реакции с использованием контрольной ДНК-матрицы. Затем проводили ПЦР.

Статистический анализ

При статистическом анализе данных оценивали средние значения. Для определения межгрупповых различий использовали критерий Манна-Уитни. Статистический анализ данных проводился с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2019, Statistica (statsoft.ru).

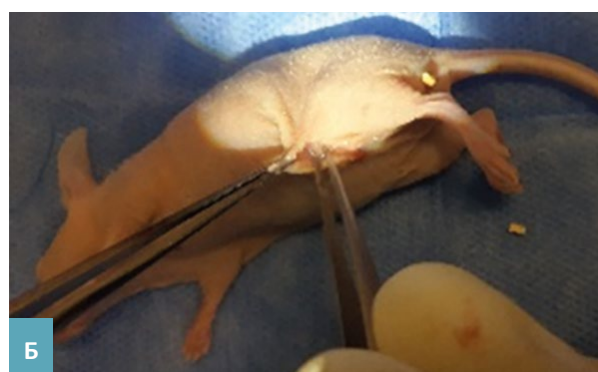


Рис. 1. Создание PDX-модели рака легкого человека: А – формирование подкожного кармана, Б – имплантация фрагмента опухоли под кожу животного.

Fig. 1. Creation of a PDX model of human lung cancer: A – formation of a subcutaneous pocket, B – implantation of a tumor fragment under the animal skin.

Таблица 1. Характеристика ортотопической ксенотрансплантации опухолевого материала от пациентов иммунодефицитным мышам
Table 1. Characteristics of orthotopic xenotransplantation of tumor material from patients to immunodeficient mice

Общие характеристики ортотопической ксенотрансплантации опухолевого материала от пациентов иммунодефицитным мышам / General characteristics of orthotopic xenotransplantation of tumor material from patients to immunodeficient mice

Характеристики пациентов-доноров опухолевого материала / Tumor material donor patients' characteristics							Оценка результатов имплантации (1-я генерация) / Implantation results assessment (1 st generation)
Порядковый номер процедуры / Procedure number	Код пациента* / Пол / Patient's code* / gender	Пациента / Patient	Способ получения образца / Sample extraction method	Размер новообразования / Neoplasm size	Стадия TNM / TNM staging	Гистология / Histology	Результаты имплантации кол-во приживления / общ. кол-во / Implantation results number of engraftment / total number
1	Бн / Bn	М / M	Удаление опухоли / Tumor removal	4,3 × 8,2 × 4,4 см / 4.3 × 8.2 × 4.4 cm	pT3N2M0	G1 плоскоклеточная карцинома с ороговением / G1 squamous cell keratinizing carcinoma	3/3
2	Ю / Yu	М / M	Удаление опухоли / Tumor removal	2,2 × 1,6 см / 2.2 × 1.6 cm	pT4N2M0	G2 аденокарцинома / G2 adenocarcinoma	0/3
3	К / K	М / M	Удаление опухоли / Tumor removal	7,0 × 6,0 см / 7.0 × 6.0 cm	pT3N2M0	Плоскоклеточная карцинома / Squamous cell carcinoma	2/3
4	М / M	М / M	Удаление опухоли / Tumor Removal	18 × 2 мм / 18 × 2 mm	pT3N0M0	Плоскоклеточная карцинома / Squamous cell carcinoma	1/3
5	Бв / Bv	Ж / F	Удаление опухоли / Tumor removal	3,0 × 3,5 см / 3.0 × 3.5 cm	pT4N2M1	Аденокарцинома / Adenocarcinoma	1/3
6	У / U	М / M	Удаление опухоли / Tumor removal	4,8 × 4,7 × 4,2 см / 4.8 × 4.7 × 4.2 cm	pT2aN0M0	Умеренно дифференцированная (G2) плоскоклеточная ороговевающая карцинома / Moderately differentiated (G2) squamous cell keratinizing carcinoma	0/3
7	Т / T	М / M	Удаление опухоли / Tumor removal	2,7 × 2,5 × 3,8 см / 2.7 × 2.5 × 3.8 cm	cT2N2M0	G2 плоскоклеточная карцинома с инвазией стенки бронха / G2 squamous cell carcinoma with bronchial wall invasion	2/3
8	Ст / St	М / M	Удаление опухоли / Tumor removal	6,6 × 7,4 × 4,1 мм / 6.6 × 7.4 × 4.1 mm	pT3N2M0	Низкодифференцированная плоскоклеточная неороговевающая карцинома G3 / Low differentiated squamous cell nonkeratinizing carcinoma G3	1/3
9	Н / N	М / M	Удаление опухоли / Tumor removal	2,1 × 1,9 см / 2.1 × 1.9 cm	pT2N2M0	Аденокарцинома / Adenocarcinoma	2/3
10	Бр / Br	Ж / F	Удаление опухоли / Tumor removal	1,7 × 1,5 × 1,5 см / 1.7 × 1.5 × 1.5 cm	pT2bN1M0	Плоскоклеточная карцинома / Squamous cell carcinoma	0/3
11	Р / R	М / M	Удаление опухоли / Tumor removal		T2bN0M1	Аденокарцинома / Adenocarcinoma	3/3
12	Пх / Pkh	Ж / F	Удаление опухоли / Tumor removal	4,5 × 3,5 × 5,0 см / 4.5 × 3.5 × 5.0 cm	cT1N1M0	Плоскоклеточный рак / Squamous cell cancer	2/3
13	Е / E	Ж / F	Удаление опухоли / Tumor removal	3 × 3,2 см / 3 × 3.2 cm	cT2N2M0	Аденокарцинома, с наличием мутации в 19 экзоне гена EGFR / Adenocarcinoma with mutation in the 19th exon of EGFR gene	1/3
14	Мл / Ml	Ж / F	Удаление опухоли / Tumor removal	3,5 × 3,0 × 3,0 см / 3.5 × 3.0 × 3.0 cm	cT2N2M0	Аденокарцинома / Adenocarcinoma	3/3

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе исследования была проведена трансплантация опухолевого материала иммунодефицитным мышам для создания PDX-модели НМРЛ от 14 пациентов, от 11 из которых наблюдалось успешное приживание. Лишь ксенографты, полученные от 3-х доноров (Бн; Р; Мл), в 100 % случаев показали успешную адаптацию и рост (табл. 1). Последние были взяты нами для создания дальнейших генераций PDX. При этом в случаях успешной трансплантации опухолевого материала рост наблюдался уже с 8 суток после имплантации. Всего нами было зарегистрировано приживание опухолевого материала у 21 мыши из 42, что составляет 50 %.

Для определения чувствительности PDX-моделей к цисплатину была создана их третья генерация от каждого из трех доноров (Бн; Р; Мл). Экспериментальные данные, характеризующие динамику показателя индекса прироста опухоли в опытных ($n = 10$) и контрольных ($n = 10$) группах, приведены на рисунке 2.

Значения индекса прироста опухолевых узлов у мышей с трансплантированным PDX от пациента Бн. в группе с воздействием цисплатина были статистически значимо ниже в сравнении с группой контроля, через 8 суток, с момента введения препарата и до окончания эксперимента ($p = 0,00005$; $0,035$; $0,00004$; $0,00004$; $0,0003$; $0,0002$; $0,0006$). Максимальные различия между группами наблю-

Таблица 2. Средние значения индекса прироста опухолей – PDX рака легкого от пациентов Бн., Мл. и Р. в контрольных и опытных группах

Table 2. Mean values of the tumor growth index – PDX of lung cancer from patients Bn., Jr. and R. in the control and experimental groups

Пациенты / Patients	Группы / Groups	Индекс прироста / Growth index								
		1	4	8	11	15	18	22	25	29
Бн. / Bn.	Контроль / Control	1	1,2	2,9	4,0	6,5	9,8	10,3	11,4	16,1
	Цисплатин / Cisplatin	1	1,1	1,4	2,3	3,3	5,3	8,9	10,0	12,0
Мл. / Ml.	Контроль / Control	1	1,1	2,8	4,1	6,4	9,8	10,2	11,5	15,8
	Цисплатин / Cisplatin	1	1,2	2,6	3,8	5,8	6,6	8,0	9,3	11,0
Р. / R.	Контроль / Control	1	1,7	3,3	4,4	6,2	8,5	10,4	15,3	18,2
	Цисплатин / Cisplatin	1	1,4	2,7	3,7	4,8	7,4	9,3	14,6	17,1

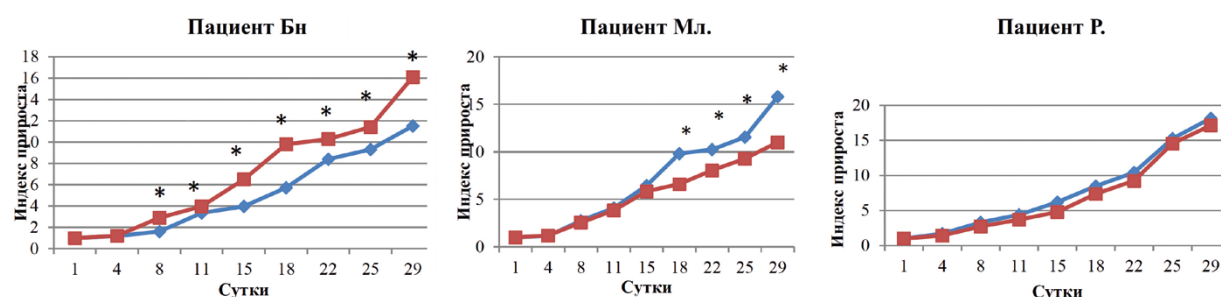


Рис. 2. Динамика роста PDX рака легкого контрольной группы ($n = 10$) и группы с воздействием цисплатина ($n = 10$). А – пациент Бн., В – пациент Мл., С – Пациент Р.

Примечания: синяя кривая отражает динамику прироста опухоли в группе, получавшей Цисплатин, красная – в группе контроля; * – статистически значимые различия между экспериментальной и контрольной группой по критерию Манна-Уитни ($p < 0,001$).

Fig. 2. Growth dynamics of lung cancer PDX in the control group ($n = 10$) and the group with cisplatin ($n = 10$). А – patient Bn., В – patient Ml., С – patient R. Notes: the blue curve shows the dynamics of tumor growth in the group receiving cisplatin, the red curve – dynamics in the control group; * – statistically significant differences between the experimental and control groups by the Mann-Whitney criterion ($p < 0.001$).

дались на 8, 15 и 18-е сутки после начала введения препаратов (индекс прироста опухоли экспериментальной группы был меньше, чем индекс прироста опухоли группы контроля в 1,8, 1,6 и 1,7 раз соответственно ($p < 0,01$)) (табл. 2).

Значения индекса прироста ксенографтов от пациента Мл. в группе с воздействием цисплатина были статистически значимо ниже в сравнении с группой контроля на 18-е сутки с момента введения препарата и до окончания эксперимента ($p = 0,00004$; $0,00006$; $0,0001$; $0,00004$). Максимальные различия между группами наблюдались на 18-е и 29-е сутки после начала воздействия: индекс прироста опухоли экспериментальной группы был меньше по сравнению с индексом прироста опухоли группы контроля в 1,5 и 1,4 раза соответственно ($p < 0,01$) (табл. 2).

У ксенографтов от пациента Р. статистически значимых различий индекса прироста опухолей между контрольной и опытной группами обнаружено не было (табл. 2). Таким образом, данная PDX-модель оказалась нечувствительной к воздействию цисплатина.

Для оценки противоопухолевой эффективности цисплатина в отношении PDX-моделей рака легкого от пациентов Бн., Р. и Мл. был рассчитан показатель Т/С % в последний день эксперимента (рис. 3).

Наименьшее значение показателя Т/С % – 66,8 % наблюдалось в группе, в которой донором был пациент Мл. Наибольшее значение данного показателя отмечали в группе донора Р. – Т/С % = 90,51 %. Значение Т/С % в третьей группе составило 68,98 %. Таким образом, наибольший противоопухолевый эффект цисплатина достигается в группах, в которых донорами опухолевого материала были пациенты Мл. и Бн. Интересно, что в этих группах были опухоли разного гистотипа, а именно Мл. – аденокарцинома легкого, Бн. – плоскоклеточный рак легкого.

Нами был проведен сравнительный гистологический анализ донорских опухолей PDX рака легкого, который продемонстрировал сохранение первоначального гистотипа всеми ксенографтами, полученными от трех пациентов: Бн.; Р.; Мл. (рис. 4).

Злокачественное новообразование, полученное от пациента Бн., как и ксенографт, были диагностированы как плоскоклеточная карцинома с ороговением. Первичные опухоли и созданные ксенографты от пациентов Мл. и Р. были верифицированы как низкодифференцированная аденокарцинома с некротическими очагами.

EGFR – трансмембранный рецептор, активирующийся при связывании с эпидермальным фактором роста, трансформирующим фактором роста- α , амфирегулином. При активации EGFR внутри клетки запускается каскад биохимических реакций, приводящих к повышению пролиферации малигнизированных (опухолевых) клеток, росту опухоли, стимуляции процессов инвазии, патологического ангиогенеза и метастазирования. Известны активирующие мутации гена EGFR, связанные с чувствительностью либо устойчивостью к ингибиторам тирозинкиназы [19].

При анализе донорского материала и PDX рака легкого от пациентов Бн., Мл. и Р. был проведен ПЦР-тест в реальном времени для идентификации некоторых мутаций в гене EGFR: Del Ex_19; L858R; T790M; L861Q; G719X; S798I; инсерции в 20 экзоне. Белок EGFR является трансмембранным рецептором, при активации которого происходит ряд биохимических процессов в малигнизированных клетках, способствующих прогрессии опухоли [17]. Согласно полученным данным во всех образцах (по 3 образца опухоли донора и реципиента) перечисленные выше мутации обнаружены не были. Таким образом, можно говорить о соответствии донорских опухолей полученным нами ксенографтам в аспекте отсутствия мутаций в гене EGFR. Данный факт может косвенно указывать на единообразие ответной реакции человеческих опухолей и PDX-моделей на

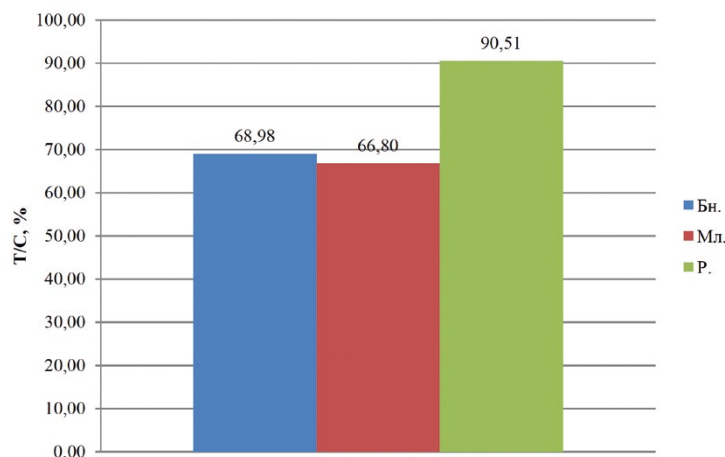


Рис. 3. Показатель Т/С % в экспериментальных группах в последний день эксперимента.

Fig. 3. T/C % in the experimental groups on the last day of the experiment.

противоопухолевую терапию, например, на воздействие ингибиторами тирозинкиназы [20].

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно литературным данным, приживление ксенотрансплантата происходит в течение 2–4 мес. и зависит от гистотипа опухоли, ее агрессивности, линии мышей-реципиентов, процентного соотношения малигнизированных клеток в имплантируемом материале [21; 22]. В нашей работе заметный рост PDX отмечался уже на 8-е сутки после перевивки опухолевого материала. При этом успешное приживление ксенографтов отмечалось у 21 мыши из 42, что составляет 50 % (. Данные показатели явля-

ются довольно успешным результатом в сравнении с литературными данными [23].

Проведенный сравнительный гистологический анализ опухолевого материала от 3-х пациентов показал сохранение PDX-моделями первоначального гистотипа, что согласуется с результатами работ других ученых [24]. Также нами было продемонстрировано идентичность полученных ксенографтов от 3-х пациентов донорской опухоли в аспекте анализа наличия мутаций в гене EGFR, что доказывает ценность данных PDX-моделей для использования для доклинических исследований веществ с потенциальной противоопухолевой активностью [25].

В исследовании чувствительности PDX-моделей к цисплатину – цитостатику, широко используемому

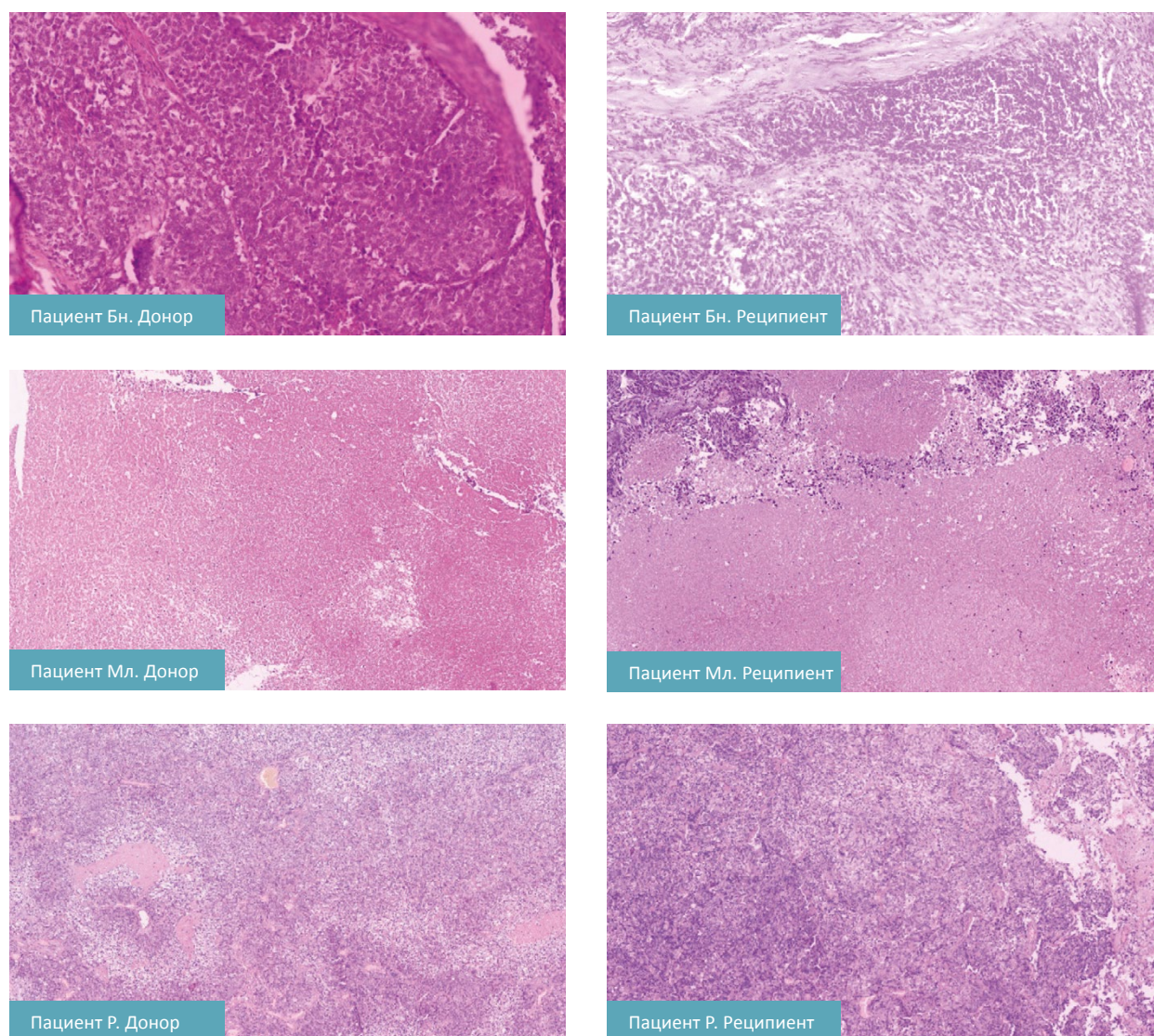


Рис. 4. Немелкоклеточный рак легкого: опухолевые узлы доноров и реципиентов (PDX). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: $\times 200$.

Fig. 4. Non-small cell lung cancer: tumor nodes in donors and recipients (PDX). H&E staining. Magnification: $\times 200$.

в клинической практике, в том числе и терапии НМРЛ, в ксенографтах, полученных от двух пациентов из трех и подвергшихся воздействию цисплатина, наблюдалось статистически значимое замедление скорости роста по сравнению с контролем. Таким образом, реакция данных PDX-моделей на химиотерапию может отражать реакцию пациентов на подобное воздействие в различных клинических испытаниях [25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования было отмечено успешное приживление опухолевого материала (НМРЛ) в организме иммунодефицитных мышей от 11 па-

циентов из 14. При этом 100 %-й успех имплантации был достигнут уже в 1-м пассаже при ксенотрансплантации от 3-х пациентов: Бн., Мл. и Р. Данные ксенографты были взяты для создания следующих генераций и дальнейших исследований, которые выявили идентичность PDX-моделей и донорских опухолей по гистотипу и наличию мутаций в гене EGFR. Ксенографты от 2-х пациентов (Бн. и Мл.) проявили чувствительность к цисплатину. Таким образом, данные PDX-модели могут быть рекомендованы в качестве тест-систем для доклинических исследований эффективности новых фармакологических субстанций с потенциальной противоопухолевой активностью.

Список источников

1. Кит О. И., Франциянц Е. М., Меньшенина А. П., Миосеенко Т. И., Ушакова Н. Д., Попова Н. Н. и др. Роль плазмфереза и ксенотерапии в коррекции острых последствий хирургической менопаузы у больных раком шейки матки. Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2016;(117):472–486.
2. Тихонова С. Н., Розенко Д. А., Ушакова Н. Д., Попова Н. Н., Скопинцев А. М., Шульга А. В., и др. Оптимизация анестезиологической тактики в хирургическом лечении первично-множественного немелкоклеточного рака лёгкого. Южно-Российский онкологический журнал/ South Russian Journal of Cancer. 2021;2(2):42–49. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-2-5>
3. Трахтенберг А. Х., Колбанов К. И., Седых С. А. Особенности диагностики и лечения рака легкого. Пульмонология. 2008;(4):5–17. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2008-0-4-5-17>
4. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2018 Nov;68(6):394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
5. National Cancer Institute. Cancer Stat Facts: Lung and Bronchus Cancer. 2019. Доступно по: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html>, Дата обращения: 11.04.2022.
6. Kit OI, Shikhlyarova AI, Maryanovskaya GY, Barsukova LP, Kuzmenko TS, Zhukova GV, et al. Theory of health: successful translation into the real life. General biological prerequisites. Cardiometry. 2015;(7):11–17. <https://doi.org/10.12710/cardiometry.2015.7.1117>
7. Hidalgo M, Amant F, Biankin AV, Budinská E, Byrne AT, Caldas C, et al. Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research. Cancer Discov. 2014 Sep;4(9):998–1013. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-14-0001>
8. Lee NP, Chan CM, Tung LN, Wang HK, Law S. Tumor xenograft animal models for esophageal squamous cell carcinoma. J Biomed Sci. 2018 Aug 29;25(1):66. <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0468-7>
9. Кит О. И., Колесников Е. Н., Максимов А. Ю., Протасова Т. П., Гончарова А. С., Лукбанова Е. А. Методы создания ортотопических моделей рака пищевода и их применение в доклинических исследованиях. Современные проблемы науки и образования. 2019;(2):96.
10. Williams SA, Anderson WC, Santaguida MT, Dylla SJ. Patient-derived xenografts, the cancer stem cell paradigm, and cancer pathobiology in the 21st century. Lab Invest. 2013 Sep;93(9):970–982. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2013.92>
11. Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval. 2004. <https://doi.org/10.1007/978-1-59259-739-0>
12. Qiu W, Su GH. Challenges and advances in mouse modeling for human pancreatic tumorigenesis and metastasis. Cancer Metastasis Rev. 2013 Jun;32(1–2):83–107. <https://doi.org/10.1007/s10555-012-9408-2>
13. DeRose YS, Wang G, Lin Y-C, Bernard PS, Buys SS, Ebbert MTW, et al. Tumor grafts derived from women with breast cancer authentically reflect tumor pathology, growth, metastasis and disease outcomes. Nat Med. 2011 Oct 23;17(11):1514–1520. <https://doi.org/10.1038/nm.2454>
14. Li S, Shen D, Shao J, Crowder R, Liu W, Prat A, et al. Endocrine-therapy-resistant ESR1 variants revealed by genomic characterization of breast-cancer-derived xenografts. Cell Rep. 2013 Sep 26;4(6):1116–1130. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.08.022>
15. Ledford H. US cancer institute to overhaul tumour cell lines. Nature. 2016 Feb 25;530(7591):391. <https://doi.org/10.1038/nature.2016.19364>
16. Ji X, Chen S, Guo Y, Li W, Qi X, Yang H, et al. Establishment and evaluation of four different types of patient-derived xenograft models. Cancer Cell Int. 2017;17:122. <https://doi.org/10.1186/s12935-017-0497-4>
17. Миндарь М. В., Лукбанова Е. А., Кит С. О., Анисимов А. Е., Егоров Г. Ю., Воловик В. Г. Значение иммунодефицитных мы-

шей для экспериментальных и доклинических исследований в онкологии. Сибирский научный медицинский журнал. 2020;40(3):10–20. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200302>

18. Колесников Е. Н., Лукбанова Е. А., Ванжа Л. В., Максимов А. Ю., Кит С. О., Гончарова А. С. и др. Способ проведения наркоза у мышей Balb/c Nude при оперативных вмешательствах. Патент RU № 2712916, опубликовано 03.02.2020, Бюллетень № 4.

19. Сакаева Д. Д., Гордиев М. Г. Основные механизмы резистентности к ингибиторам тирозинкиназы EGFR. Фарматека. 2017;(8(341)):59–65.

20. Якунина Е. Ю., Мошев А. В., Модестов А. А. Определение мутации гена EGFR у пациентов с немелкоклеточным раком легкого. Сибирское медицинское обозрение. 2016;(5(101)):112–113.

21. Morton CL, Houghton PJ. Establishment of human tumor xenografts in immunodeficient mice. Nat Protoc. 2007;2(2):247–250. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.25>

22. Marangoni E, Poupon M-F. Patient-derived tumour xenografts as models for breast cancer drug development. Curr Opin Oncol. 2014 Nov;26(6):556–561. <https://doi.org/10.1097/CCO.0000000000000133>

23. 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>

24. Ji X, Chen S, Guo Y, Li W, Qi X, Yang H, et al. Establishment and evaluation of four different types of patient-derived xenograft models. Cancer Cell Int. 2017;17:122. <https://doi.org/10.1186/s12935-017-0497-4>

25. Zhang J, Jiang D, Li X, Lv J, Xie L, Zheng L, et al. Establishment and characterization of esophageal squamous cell carcinoma patient-derived xenograft mouse models for preclinical drug discovery. Lab Invest. 2014 Aug;94(8):917–926. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2014.77>

References

1. Kit OI, Frantsiyants EM, Menshenina AP, Moiseenko TI, Ushakova ND, Popova NN, et al. Role of plasmapheresis and xenon therapy in correcting the acute effects of surgical menopause in patients with cervical cancer. Polythematic Online Electronic Scientific Journal of the Kuban State Agrarian University. 2016;(117):472–486. (In Russ.).

2. Tikhonova SN, Rozenko DA, Ushakova ND, Popova NN, Skopintsev AM, Shulga AV, et al. Optimization of anesthetic tactics in the surgical treatment of multiple primary non-small cell lung cancer. South Russian Journal of Cancer. 2021;2(2):42–49. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2021-2-2-5>

3. Trakhtenberg AK, Kolbanov KI, Sedykh SA. Character features of diagnosis and treatment of lung carcinoma. Pulmonologiya. 2008;(4):5–17. (In Russ.). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2008-0-4-5-17>

4. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2018 Nov;68(6):394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>

5. National Cancer Institute. Cancer Stat Facts: Lung and Bronchus Cancer. 2019. Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html>, Accessed: 11.04.2022.

6. Kit OI, Shikhlyarova AI, Maryanovskaya GY, Barsukova LP, Kuzmenko TS, Zhukova GV, et al. Theory of health: successful translation into the real life. General biological prerequisites. Cardiometry. 2015;(7):11–17. <https://doi.org/10.12710/cardiometry.2015.7.1117>

7. Hidalgo M, Amant F, Biankin AV, Budinská E, Byrne AT, Caldas C, et al. Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research. Cancer Discov. 2014 Sep;4(9):998–1013. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-14-0001>

8. Lee NP, Chan CM, Tung LN, Wang HK, Law S. Tumor xenograft animal models for esophageal squamous cell carcinoma. J Biomed Sci. 2018 Aug 29;25(1):66. <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0468-7>

9. Kit OI, Kolesnikov EN, Maksimov AYU, Protasova TP, Goncharova AS, Lukbanova EA. Methods of creation and application of orthotopic models of esophageal cancer in preclinical studies. Modern Problems of Science and Education. 2019;(2):96. (In Russ.).

10. Williams SA, Anderson WC, Santaguida MT, Dylla SJ. Patient-derived xenografts, the cancer stem cell paradigm, and cancer pathobiology in the 21st century. Lab Invest. 2013 Sep;93(9):970–982. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2013.92>

11. Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval. 2004. <https://doi.org/10.1007/978-1-59259-739-0>

12. Qiu W, Su GH. Challenges and advances in mouse modeling for human pancreatic tumorigenesis and metastasis. Cancer Metastasis Rev. 2013 Jun;32(1–2):83–107. <https://doi.org/10.1007/s10555-012-9408-2>

13. DeRose YS, Wang G, Lin Y-C, Bernard PS, Buys SS, Ebbert MTW, et al. Tumor grafts derived from women with breast cancer authentically reflect tumor pathology, growth, metastasis and disease outcomes. Nat Med. 2011 Oct 23;17(11):1514–1520. <https://doi.org/10.1038/nm.2454>

14. Li S, Shen D, Shao J, Crowder R, Liu W, Prat A, et al. Endocrine-therapy-resistant ESR1 variants revealed by genomic characterization of breast-cancer-derived xenografts. Cell Rep. 2013 Sep 26;4(6):1116–1130. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.08.022>

15. Ledford H. US cancer institute to overhaul tumour cell lines. Nature. 2016 Feb 25;530(7591):391. <https://doi.org/10.1038/nature.2016.19364>

16. Ji X, Chen S, Guo Y, Li W, Qi X, Yang H, et al. Establishment and evaluation of four different types of patient-derived xenograft models. *Cancer Cell Int.* 2017;17:122. <https://doi.org/10.1186/s12935-017-0497-4>
17. Mindar MV, Lukbanova EA, Kit SO, Anisimov AE, Egorov GYu, Volovik VG. Importance of immunodeficient mice for experimental and preclinical studies in oncology. *Siberian Scientific Medical Journal.* 2020;40(3):10–20. (In Russ.). <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200302>
18. Kolesnikov EN, Lukyanova EA, Vanzha LV, Maksimov AY, Kit SO, Goncharova AS, et al. The method of anesthesia in Balb/c Nude mice during surgical interventions. Patent RU No. 2712916, published 03.02.2020, Bulletin No. 4. (In Russ.).
19. Sakaeva DD, Gordiev MG. Basic mechanisms of resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Pharmateca.* 2017;(8(341)):59–65. (In Russ.).
20. Yakunina EYu, Moshev AV, Modestov AA. Defining EGFR mutations for patients with non-small cell lung cancer. *Siberian Medical Review.* 2016;(5(101)):112–113. (In Russ.).
21. Morton CL, Houghton PJ. Establishment of human tumor xenografts in immunodeficient mice. *Nat Protoc.* 2007;2(2):247–250. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.25>
22. Marangoni E, Poupon M-F. Patient-derived tumour xenografts as models for breast cancer drug development. *Curr Opin Oncol.* 2014 Nov;26(6):556–561. <https://doi.org/10.1097/CCO.0000000000000133>
23. 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>
24. Ji X, Chen S, Guo Y, Li W, Qi X, Yang H, et al. Establishment and evaluation of four different types of patient-derived xenograft models. *Cancer Cell Int.* 2017;17:122. <https://doi.org/10.1186/s12935-017-0497-4>
25. Zhang J, Jiang D, Li X, Lv J, Xie L, Zheng L, et al. Establishment and characterization of esophageal squamous cell carcinoma patient-derived xenograft mouse models for preclinical drug discovery. *Lab Invest.* 2014 Aug;94(8):917–926. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2014.77>

Информация об авторах:

Лукбанова Екатерина Алексеевна ✉ – научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3036-6199>, SPIN: 4078-4200, AuthorID: 837861

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

Дженкова Елена Алексеевна – д.б.н., доцент, ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>, SPIN: 6206-6222, AuthorID: 697354, ResearcherID: K-9622-2014, Scopus Author ID: 6507889745

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

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

Шатова Юлия Сергеевна – д.м.н., врач-онколог ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1748-9186>, SPIN: 8503-3573, AuthorID: 294376

Маслов Андрей Александрович – д.м.н., профессор, главный врач ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-4578-9832>, SPIN: 5963-5915, AuthorID: 817983

Шапошников Александр Васильевич – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник торакоабдоминального отдела ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8857-9691>, SPIN: 8756-9438, AuthorID: 712823

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

Лазутин Юрий Николаевич – к.м.н., главный научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6655-7632>, SPIN: 5098-7887, AuthorID: 364457

Information about authors:

Ekaterina A. Lukbanova ✉ – research fellow, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3036-6199>, SPIN: 4078-4200, AuthorID: 837861

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

Elena A. Dzhenskova – Dr. Sci. (Biol.), associate professor, scientific secretary National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>, SPIN: 6206-6222, AuthorID: 697354, ResearcherID: K-9622-2014, Scopus Author ID: 6507889745

Alexei Yu. Maksimov – Dr. Sci. (Med.), professor, deputy general director for advanced scientific research of the department of oncology 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 Author ID: 56579049500

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

Yuliana S. Shatova – Dr. Sci. (Med.), oncologist, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1748-9186>, SPIN: 8503-3573, Author ID: 294376

Andrey A. Maslov – Dr. Sci. (Med.), professor, chief physician, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-4578-9832>, SPIN: 5963-5915, Author ID: 817983

Alexander V. Shaposhnikov – Dr. Sci. (Med.), professor, chief researcher of the thoracoabdominal department, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8857-9691>, SPIN: 8756-9438, AuthorID: 712823

Ekaterina V. Zaikina – junior research fellow, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0088-2990>, SPIN: 4000-4369, AuthorID: 1045258

Yury N. Lazutin – Cand. Sci. (Med.), chief researcher, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6655-7632>, SPIN: 5098-7887, Author ID: 364457

Вклад авторов:

Лукбанова Е. А. – оформление рукописи, проведение эксперимента и гистологического анализа;

Миндарь М. В. – написание рукописи, оформление библиографии, редактирование рукописи;

Дженкова Е. А. – концепция и дизайн исследования, редактирование рукописи;

Максимов А. Ю. – редактирование рукописи;

Гончарова А. С. – концепция и дизайн исследования;

Шатова Ю. С. – дизайн исследования, написание рукописи, проведение эксперимента;

Маслов А. А. – концепция и дизайн исследования;

Шапошников А. В. – концепция и дизайн рукописи;

Заикина Е. В. – проведение эксперимента, оформление рукописи;

Лазутин Ю. Н. – редактирование рукописи.

Authors contribution:

Lukbanova E. A. – preparation of the manuscript, experiment and histological analysis;

Mindar M. V. – writing the manuscript, preparing the bibliography, editing the manuscript;

Dzhenkova E. A. – concept and design of the study, manuscript editing;

Maksimov A. Yu. – editing of the manuscript;

Goncharova A. S. – concept and design of the study;

Shatova Yu. S. – design of the study, writing the manuscript, conducting the experiment;

Maslov A. A. – concept and design of the study;

Shaposhnikov A. V. – concept and design of the manuscript;

Zaikina E. V. – carrying out the experiment, preparing the manuscript;

Lazutin Yu. N. – editing the manuscript.