



ТРАНСПЛАНТАЦИЯ МИТОХОНДРИЙ ИЗ КЛЕТОК ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ ЧЕЛОВЕКА КАК МЕТОД ФОРМИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА В ЛЕГКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

О. И. Кит, Е. М. Франциянц, А. И. Шихлярова, И. В. Нескубина✉

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

✉ neskubina.irina@mail.ru

Резюме

Цель исследования. Получение опухолевых очагов рака легкого в организме мышей Balb/c Nude путем трансплантации митохондрий, изолированных из злокачественной опухоли человека.

Материалы и методы. Митохондрии рака легкого человека выделяли с применением дифференциального центрифугирования на высокоскоростной рефрижераторной центрифуге. Митохондриальные образцы разводили 0,9 % раствором NaCl до концентрации белка 3 мг на одно животное. Мышам-самцам линии Balb/c Nude ($n = 6$) в хвостовую вену однократно трансплантировали митохондрии рака легкого. Контролем служили мыши-самцы линии Balb/c Nude ($n = 4$), которым однократно в хвостовую вену вводили 0,4 мл физиологического раствора. Всех животных умерщвляли путем декапитации на гильотине через 4 мес. после внутривенной трансплантации митохондрий, изолированных из рака легкого.

Результаты. После введения митохондрий в хвостовую вену мышей не обнаружено изменения поведения животных, окраски покровов; не возникало проблем с дыханием, а также аллергических реакций на введение чужеродного белка. Проблемы с дыханием у мышей с трансплантацией митохондрий возникли в период с 113-х по 123-и сутки, тогда же когда отмечено падение массы тела примерно ≥ 25 %. На препаратах легкого мыши-самца линии Balb/c Nude четко просматривались опухолевые узлы, которые представлены солидными структурами, состоящими из полей, ячеек и тяжелей из плотно прилегающих атипичных полиморфных клеток сквамозного эпителия со слабо развитой цитоплазмой, близкие к патоморфологической картина рака легкого человека. Признаками аденокарциномы служили железисто- и сосочкоподобные структуры и комплексы клеток с крупными ядрышками. Клетки сквамозного эпителия характеризовались выраженной атипией и полиморфизмом. Форма ядер у большинства клеток была неправильная, достигающая больших размеров, окраска неоднородная, ядрышки укрупнены. С достаточно высокой частотой встречались многоядерные клетки, а также патологические митозы с четко обозначенными фигурами деления, что свидетельствовало об их пролиферативной активности.

Заключение. Применение внутривенной трансплантации митохондрий, изолированных из злокачественной опухоли легкого человека, у мышей-самцов линии Balb/c Nude вызывает рост и развитие в организме злокачественных очагов. Этот ранее не известный факт в экспериментальной онкологии, позволяющий проводить изучение новых свойств митохондрий клеток рака человека.

Ключевые слова:

митохондрии, внутривенная трансплантация митохондрий, рак легкого человека, морфологические исследования, мыши-самцы Balb/c Nude

Для цитирования: Кит О. И., Франциянц Е. М., Шихлярова А. И., Нескубина И. В. Трансплантация митохондрий из клеток злокачественной опухоли человека как метод формирования опухолевого роста в легких лабораторных животных. Research and Practical Medicine Journal (Исследования и практика в медицине). 2023; 10(4): 59–69. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2023-10-4-5> EDN: NDLLNM

Для корреспонденции: Нескубина Ирина Валерьевна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей 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 линия, д. 63

E-mail: neskubina.irina@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>, SPIN: 3581–8531, AuthorID: 794688, Scopus Author ID: 6507509066, ResearcherID: AAG-8731–2019

Соблюдение этических стандартов: работа с животными проводилась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, а также в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Комиссией по биоэтике ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России от 24.12.2019, был одобрен протокол исследования (протокол этического комитета № 15/75) по работе с мышами линии Balb/c Nude.

В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). От пациента получено подписанное информированное согласие на взятие и передачу биологического материала для проведения научных исследований, государственных заданий в общественно и социально-полезных целях.

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 08.08.2023; одобрена после рецензирования 17.11.2023; принята к публикации 01.12.2023.

TRANSPLANTATION OF MITOCHONDRIA FROM HUMAN MALIGNANT TUMOR CELLS AS A METHOD OF TUMOR GROWTH FORMATION IN THE LUNGS OF LABORATORY ANIMALS

O. I. Kit, E. M. Frantsiyants, A. I. Shikhlyarova, I. V. Neskubina✉

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ neskubina.irina@mail.ru

Abstract

Purpose of the study. Obtaining lung cancer tumors in Balb/c Nude mice by transplantation of mitochondria isolated from human malignant tumors.

Materials and methods. Human lung cancer mitochondria were isolated using differential centrifugation on a high-speed refrigerated centrifuge. Mitochondrial samples were diluted with 0.9 % NaCl solution to a protein concentration of 3 mg per animal. Freshly isolated lung cancer mitochondria were once transplanted into the tail vein of male Balb/c Nude mice ($n = 6$) at the rate of 3 mg of protein per 1 animal in 0.4 ml of saline. Male mice of Balb/c Nude line ($n = 4$), which were injected with 0.4 ml of physiological solution into the tail vein once a day, served as a control group. All animals were killed by guillotine decapitation 4 months after intravenous transplantation of mitochondria isolated from lung cancer.

Results. After the introduction of mitochondria into the tail vein of mice, no changes were found in the animals' behavior, coloration of coverings. No respiratory problems, and no allergic reactions to the introduction of foreign protein were detected. Respiratory problems in mice with mitochondrial transplantation occurred between days 113 and 123, when a drop in body weight $\geq 25\%$ was observed. A uniform formation of tumor nodes together with an active filling of the lung space with blood was clearly visible on lung preparations of a Balb/c Nude male mouse after intravenous transplantation of mitochondria from the lung of a patient with non-keratinizing squamous cell carcinoma. Similar characteristics of tumor growth in the lung parenchyma of the patient and Balb/c Nude mice as direct recipients of tumor mitochondria involved solid structures consisting of fields, cells and strands of tightly fitting atypical polymorphic cells of the squamous epithelium with poorly developed cytoplasm. In addition, signs of adenocarcinoma included glandular and papillary-like structures and cell complexes with large nucleoli. Squamous epithelial cells were characterized by severe atypia and polymorphism. The shape of the nuclei was irregular in most cells, with large sizes, the color was heterogeneous, and the nucleoli were enlarged. Multinucleated cells, as well as pathological mitoses with clearly marked division figures, which testified to their proliferative activity, were encountered with a rather high frequency.

Conclusions. Application of intravenous transplantation of mitochondria isolated from malignant human lung tumor in male mice of Balb/c Nude line causes growth and development of malignant foci in male Balb/c Nude mice. This is previously unknown fact in experimental oncology, allowing the study of new properties of mitochondria of human cancer cells.

Keywords:

mitochondria, intravenous transplantation of mitochondria, lung cancer, male Balb/c Nude mice, morphological studies

For citation: Kit O. I., Frantsiyants E. M., Shikhlyarova A. I., Neskubina I. V. Transplantation of mitochondria from human malignant tumor cells as a method of tumor growth formation in the lungs of laboratory animals. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2023; 10(4): 59–69. (In Russ.). <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2023-10-4-5> EDN: NDLLNM

For correspondence: Irina V. Neskubina – Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation
Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation
E-mail: neskubina.irina@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>, SPIN: 3581–8531, AuthorID: 794688, Scopus Author ID: 6507509066, ResearcherID: AAG-8731–2019

Compliance with ethical standards: work with animals was conducted in accordance with the rules of the «European Convention for the Protection of Animals Used in Experiments» (Directive 86/609/EEC) and the Declaration of Helsinki. It also complied with the «International Recommendations for Conducting Biomedical Research Using Animals» and the order of the Ministry of Health of Russia from June 19, 2003, No. 267 «On Approval of the Rules of Laboratory Practice». The Bioethics Commission of the National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia approved the research protocol (ethics committee protocol No. 15/75) on December 24, 2019, for work with Balb/c Nude mice.

The ethical principles outlined in the World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964 (ed. 2013), were followed in this work. Signed informed consent was obtained from the patient for the collection and transfer of biological material for scientific research, and for governmental assignments serving public and socially beneficial purposes.

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 08.08.2023; approved after reviewing 17.11.2023; accepted for publication 01.12.2023.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Рак легкого (РЛ), также известный как бронхогенная карцинома, представляет собой возникающую в легочной паренхиме или внутри бронхов злокачественную опухоль. Развитие РЛ связано со сложными и множественными факторами и генами [1, 2]. На данный момент известно о существовании более 50 подтипов рака легких, классифицируемых на мелко-клеточный рак легкого (SCLC) и немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), на долю которых приходится 15 % и 85 % случаев рака легких соответственно. Установлено несколько типов NSCLC, включая аденокарциному легкого (LUAD) – 40–50 % и плоскоклеточный рак легкого (LUSC) – 30 % [1].

На сегодняшний день разработано значительное количество доклинических моделей для исследования РЛ, включая традиционные клеточные линии (A549, SK-MES-1, HCC827) и генетически модифицированные модели мышей (GEMM), которые остаются основными инструментами для начальной разработки лекарств [3].

Современные исследования, основанные на моделях PDX, открыли новый путь для лечения рака, преодолев ограничения, присущие традиционным клеточным моделям [4]. Для разработки моделей PDX требуются мыши с иммунодефицитом, т.к. мыши с неповрежденной иммунной системой будут уничтожать имплантированную опухолевую ткань. Имплантируемыми тканями в организм животных с уязвленной иммунной системой могут быть клетки из биоптатов пациента, а также опухолевые клетки, полученные из асцита или плевральной жидкости. Ткани для имплантации состоят из небольших сгустков размером 1–3 мм или суспензий отдельных клеток, полученных путем размельчения небольших фрагментов ткани. Эктопическая или ортотопическая трансплантация традиционно выполняется с помощью подкожной инъекции. Учитывая ограниченное пространство опухоли, трансплантат не растет не только в правильном анатомическом месте, но и микроокружении, а значит, это не может быть подходящим методом для исследования метастазирования опухоли. Для сравнения биологии трансплантата и лекарственной реакции на модели *in situ* и эктопической модели требуется дифференциальный дисплейный анализ [1]. Приоритет следует отдать инъекции в хвостовую вену для воспроизведения ортотопической модели трансплантации при изучении метастазирования опухоли.

Митохондрии – это важнейшие органеллы, отвечающие за выживание клеток и апоптоз. Здоровые митохондрии необходимы для поддержания нормального функционирования клеток. Вместе с тем

данные исследований указывают на то, что митохондрии опухолей претерпевают адаптивные изменения для ускорения размножения опухолевых клеток в кислой и гипоксической среде [5]. При этом митохондрии играют важную роль в онкогенезе и прогрессировании рака, что делает их вероятными мишенями для противоопухолевой терапии [6]. Фактически, среда, в которой растет опухоль, крайне неблагоприятна для митохондрий, поскольку неустойчивые концентрации кислорода и окислительные радикалы могут нарушить целостность органелл, дезинтегрировать регулирование множества функций митохондрий и активировать гибель клеток [7]. Поэтому то, как митохондрии справляются с потерей своей «функциональной формы», остается еще не понятным, а влияние «некачественных» или поврежденных митохондрий на признаки опухоли не изучено [8].

Митохондрии образуют высокоорганизованные сети, в которых структуры их внешней и внутренней мембран определяют биоэнергетическую емкость [9]. В появляющихся данных показано, что митохондрии могут выходить за границы клеток, перемещаться между клетками млекопитающих в отличие от известных до сих пор концепций внутриклеточной сегрегации митохондрий и наследования митохондриальной ДНК – мтДНК. Их сигнальная роль может распространяться на межклеточную коммуникацию, показывая, что митохондриальный геном и даже целые митохондрии действительно мобильны и могут опосредовать передачу информации между клетками. Этот недавно открытый процесс мобильного переноса митохондрий и мтДНК был назван «мобиомой», чтобы обозначить все «мобильные функции митохондрий и митохондриального генома» [10]. Митохондриальный межклеточный перенос способствует интеграции митохондрий в эндогенную митохондриальную сеть клеток-реципиентов, способствуя изменению их биоэнергетического статуса и других функциональных свойств клеток-реципиентов не только *in vitro*, но и *in vivo*. Более того, трансклеточный перенос митохондриальных генов может иметь серьезные последствия в патофизиологии митохондриальной дисфункции [11].

Сообщалось, что межклеточный перенос митохондрий естественным образом происходит у людей и является нормальным механизмом восстановления поврежденных клеток [12]. Это физиологическое явление вдохновило исследователей на создание современной формы трансплантации митохондрий, включая аутологичную (изогенную), аллогенную и даже ксеногенную трансплантацию [13]. Митохондриальная трансплантация – это инновационная стратегия лечения митохондриальной дисфункции, позволяющая преодолеть ограничения терапии

с использованием агентов. Замена, трансплантация или перенос митохондрий – это новое вмешательство, которое применяется для лечения пациентов с диагнозом митохондриальное заболевание [14]. Митохондриальный перенос основан на концепции таргетной терапии тРНК. Стратегии лечения митохондриальной дисфункции обычно делятся на следующие категории: усиление митохондриального биогенеза; уменьшение количества дисфункциональных митохондрий и замена их активными; доставка или замена дисфункциональных компонентов; вмешательство в последствия митохондриальной дисфункции и перепрограммирование митохондриального генома [15, 16]. Считается, что митохондрии сохраняются в клетках на протяжении всей их жизни. Предпосылкой для митохондриального переноса является то, что клетка может воспринимать множество различных сигналов окружающей среды и впоследствии осуществлять поглощение, перенос, обработку и интеграцию чужеродного материала. Современные данные доказали, что митохондриальный перенос между клетками часто запускается множественными внутриклеточными и внеклеточными событиями клетки-реципиента, которые могут действовать как сигналы «найди меня» или «спаси меня», рекрутируя соответствующие донорские митохондрии для предоставления их клеткам-реципиентам [17].

Таким образом, искусственный митохондриальный перенос может быть инструментом для выявления новых возможностей этих органелл.

Цель исследования: получение опухолевых очагов РЛ в организме мышей Balb/c Nude путем трансплантации митохондрий, изолированных из злокачественной опухоли человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С помощью торакотомии у пациента с РЛ удаляли часть опухоли из средней доли правого легкого, которую быстро помещали в стерильный холодный раствор, содержащий 0,22 М маннитол, 0,3 М сахараза, 1мМ ЭДТА, 2 мМ TRIS-HCL, 10мМ HEPES, pH 7,4.

Митохондрии выделяли с применением дифференциального центрифугирования на высокоскоростной рефрижераторной центрифуге Avanti J-E, BECMAN COULTER, USA по методу [18] и [19]. Эксперимент проводили на мышах-самцах линии Balb/c Nude с начальной массой – 27–32,5 г. Основной группе мышей линии Balb/c Nude ($n = 6$) в хвостовую вену однократно вводили полученный митохондриальный трансплантат из расчета 3 мг белка на мышь в 0,4 мл 0,9 % раствором NaCl. Концентрацию белка в митохондриальной фракции измеряли в мг/мл – биуретовым методом (Ольвекс Диагностикум. Россия).

Контролем служили мыши-самцы линии Balb/c Nude ($n = 4$), которым однократно в хвостовую вену соответственно вводили 0,4 мл физиологического раствора.

Животные были получены из ФГБУ МНИЦ «Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка»» ФМБА (Московская область). Работа с животными проводилась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, а также в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Животные содержались в стандартных условиях SPF-вивария при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Манипуляции с животными производили в боксе с соблюдением общепринятых правил асептики и антисептики.

Всех животных умерщвляли путем декапитации на гильотине через 4 мес. после парентеральной трансплантации митохондрий, изолированных из злокачественной опухоли человека.

Для изучения морфологических параметров использовали выделенные после декапитации мышей Balb/c Nude фрагменты/сектора ткани легкого. После парафиновой проводки блоки резали на микротоме толщиной 2–4 мкм, окрашивали гематоксилин-эозином и оценивали в проходящем свете при увеличении объектива $\times 5$, $\times 10$, $\times 100$, $\times 200$ (масляная иммерсия, не менее 10 полей зрения) с использованием микроскопа Axiovert (Carl Zeiss, Германия) и программы визуализации изображений Axiovision 4 (Carl Zeiss, Германия). Изображения типичны для каждого из 6 обследованных животных в основной группе.

Характеристика больного

Больной Ч., 14.10.1966 года рождения, поступил в отделение торакальной хирургии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России 25.11.2022 г. Диагноз при поступлении: периферический рак средней доли правого легкого cN3N2V0 st III, кл группа 2.

Предварительный цитологический анализ: аденосквамозный рак.

Проведена расширенная средняя лобэктомия справа.

Гистологический анализ послеоперационного материала: Протокол ПАО от 02.12.2022 – заключение № 135443–66Э22:

В ткани легкого – плоскоклеточная неороговевающая карцинома (6 см в диаметре) с очаговой лимфоидной инфильтрацией, инвазией стенки долевого бронха, без признаков прорастания висцеральной

плевры. В ткани легкого вне опухоли – очаговые кровоизлияния, полнокровие сосудов. В линии резекции бронха и сосудов опухолевого роста не обнаружено. В перибронхиальных лимфатических узлах – метастазы плоскоклеточной карциномы с образованием конгломерата. В лимфатических узлах корня легкого (3) – реактивная гиперплазия, отложение пылевого пигмента. В бифуркационных лимфатических узлах – метастазы плоскоклеточной карциномы с образованием конгломерата. В лимфатическом узле паратрахеальной зоны – отложение пылевого пигмента. В жировой клетчатке легочной связки ткани лимфатического узла не обнаружено.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Начиная с 113-х суток эксперимента у животных появлялись следующие симптомы: потеря массы тела $\geq 25\%$, вялость, отказ от еды. Результаты представлены в таблице.

После введения митохондрий в хвостовую вену мышей не обнаружено изменения поведения животных, окраски покровов; не возникало проблем с дыханием, а также аллергических реакций на введение чужеродного белка. Проблемы с дыханием у мышей с трансплантацией митохондрий возникли в период с 113-х по 123-и сутки. Мыши с введением физиологического раствора, представляющие контрольную группу, за это время прибавили в массе тела $3,2 \pm 1,1$ г, были активны.

При вскрытии экспериментальных животных на макропрепарате легких четко просматривались крупные очаговые кровоизлияния, тромбоз, участки гнойно-воспалительных процессов, поверхностная бугристость, что отражало активную динамику комплексных патологических процессов онкологической

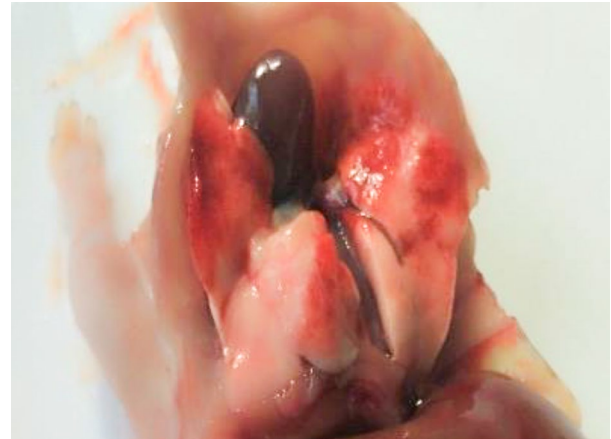


Рис. 1. Легкие мыши-самца линии Balb/c Nude после внутривенной трансплантации митохондрий, изолированных из злокачественной опухоли легкого у человека. Крупные очаговые кровоизлияния, тромбоз, участки гнойно-воспалительных процессов, поверхностная бугристость правого и левого легкого.

Fig. 1. The lungs of male mice of Balb/c Nude line after intravenous transplantation of mitochondria isolated from malignant lung tumor in humans. Large focal hemorrhages, thrombosis, areas of purulent inflammatory processes, superficial tuberosity of the right and left lung.

Таблица. Симптомы проявления патологического процесса у мышей
Table. Symptoms of the manifestation of the pathological process in mice

№	Масса тела животных (г) до опыта / Animal body weight (g) before the experiment	Масса тела животных на 113-е сутки опыта / Animal body weight on the 113 th day of the experiment		Масса тела животных на 120-е сутки опыта / Animal body weight on the 120 th day of the experiment		Масса тела животных на 123-е сутки опыта / Animal body weight on the 123 th day of the experiment	
		Абс. (%) / Abs. (%)	Абс. / Abs.	Абс. (%) / Abs. (%)	Абс. / Abs.	Абс. (%) / Abs. (%)	Абс. / Abs.
1	26,3	19,7 (25,1)		–	–	–	–
2	28,1		28,1	19,9 (29,1)		–	–
3	29,0	21,8 (24,9)		–	–	–	–
4	29,1		28,3	21,1 (25,2)		–	–
5	29,4		27,2	20,4 (24,8)		–	–
6	28,6		27,5		27,3	19,1 (30,2)	
$M \pm m$	$28,416 \pm 0,319$	$20,75 \pm 1,231$	$27,775 \pm 0,812$	$20,466 \pm 0,634$			

Примечание: Абс. – масса тела животного в граммах; % – потеря массы тела на момент декапитации. Данные таблиц представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – стандартная ошибка среднего. Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0.

Note: Abs. – animal body weight in grams; % – body weight loss at the time of decapitation. Table data are presented as $M \pm m$, where M is the arithmetic mean, m is the standard error of the mean. Statistical analysis of the results was performed using Statistica 10.0 software package.

и неонкологической направленности, переноса метаболитов, продуктов распада и факторов, детерминирующих пролиферацию или гибель клеточных систем (рис. 1).

На основании данных световой микроскопии препаратов ткани легкого мышей-самцов линии Balb/c Nude после парентеральной трансплантации мито-

хондрией, изолированных из карциномы легкого пациента Ч., можно было судить о развитии процесса канцерогенеза в легком у животных. Были отмечены крупные слитые и мелкие разрозненные очаги патологического поражения пульмональной ткани опухолью с участками лимфоцитарной инфильтрации и кровоизлияния (рис. 2 А, Б).

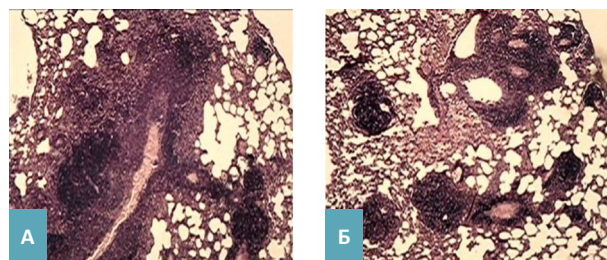


Рис. 2. Фрагменты легкого мыши-самца линии Balb/c Nude после внутривенной трансплантации митохондрий, изолированных из злокачественной опухоли легкого пациента Ч. Крупные (А) и мелкие очаги (Б) опухолевого поражения с участками лимфоидной инфильтрации и кровоизлияния. Окр. гематоксилин-эозин, ув. об. $\times 5$.

Fig. 2. Fragments of the lung of a male Balb/c Nude mouse after intravenous transplantation of mitochondria isolated from the malignant lung tumor of patient Ch. Large (A) and small foci (B) of tumor lesion with areas of lymphoid infiltration and hemorrhage. Stained with hematoxylin and eosin, magnification objective $\times 5$.

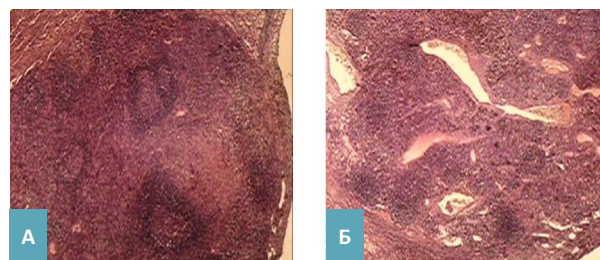


Рис. 3. Фрагменты плоскоклеточной неорогевевающей карциномы легкого пациента Ч. с очаговой лимфоидной инфильтрацией (А), участками кровоизлияния и гемолиза (Б), инвазией стенки долевого бронха, без признаков прорастания висцеральной плевры. Окр. гематоксилин-эозин, ув. об. $\times 5$, $\times 10$.

Fig. 3. Fragments of squamous cell neorhoving carcinoma of the lung of patient Ch. with focal lymphoid infiltration (A), areas of hemorrhage and hemolysis (B), invasion of the lobular bronchus wall, without signs of visceral pleural infiltration. Stained with hematoxylin and eosin, magnification objective $\times 5$, $\times 10$.

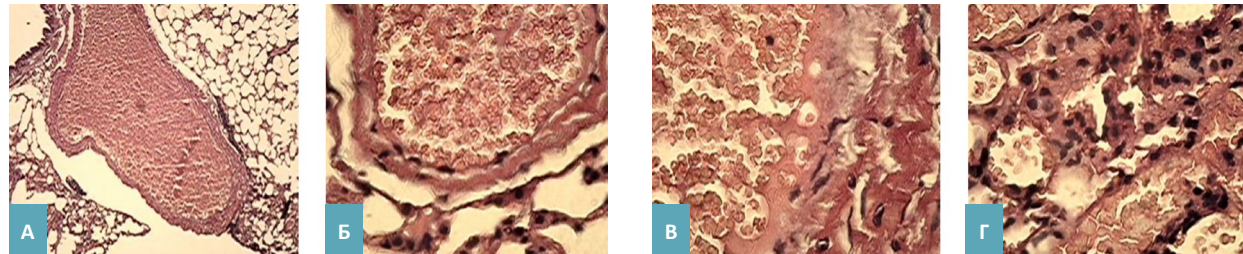


Рис. 4. Фрагменты легкого мыши-самца линии Balb/c Nude после внутривенной трансплантации митохондрий, изолированных из злокачественной опухоли легкого у человека: А, Б – значительное расширение сосудов с кровенаполнением; В, Г – кровоизлияние в бронх и альвеолах. Окр. гематоксилин-эозин, ув. об. $\times 10$, $\times 40$, $\times 100$.

Fig. 4. Fragments of the lung of a male mouse of the Balb/c Nude line after intravenous transplantation of mitochondria isolated from a malignant lung tumor in human: A, B – significant dilation of blood-filled vessels; C, D – hemorrhage in the bronchus and alveoli. Stained with hematoxylin and eosin, magnification objective $\times 10$, $\times 40$, $\times 100$.

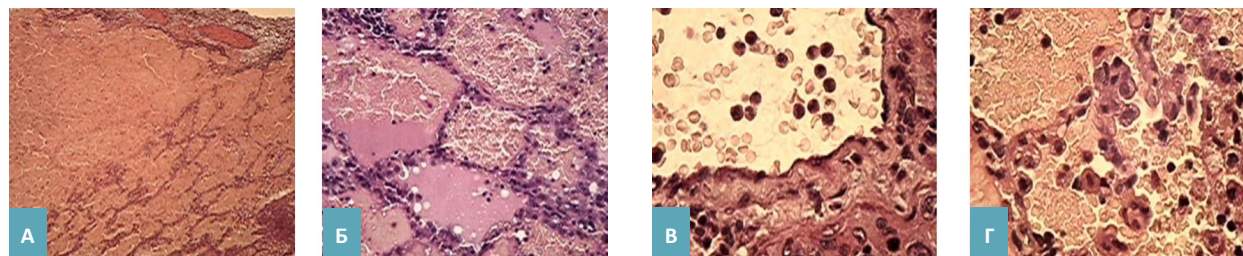


Рис. 5. Фрагменты препарата легкого вне опухоли у пациента Ч.: А – крупноочаговые кровоизлияния; Б–Г – наполнение элементами крови бронхоальвеолярных структур, гемолиз. Окр. гематоксилин-эозин, ув. об. $\times 10$, $\times 40$, $\times 100$.

Fig. 5. Fragments of the lung preparation outside the tumor in patient Ch.: A – large focal hemorrhages; B–D – filling of bronchoalveolar structures with blood elements, hemolysis. Stained with hematoxylin and eosin, magnification objective $\times 10$, $\times 40$, $\times 100$.

Эта морфологическая картина была подобна структуре опухоли у пациента – донора митохондрий из клеток плоскоклеточной неороговевающей карциномы легкого (рис. 3 А, Б).

На значительных полях зрения обоих объектов морфологического исследования отмечалось существенное расширение крупных сосудов, плотно заполненных элементами крови, со сдавливанием альвеолярных структур и деструкцией стенок бронхов. Представленные микрофотографии (рис. 4 А–Г) демонстрируют геморрагический эффект, наступающий в легких у подопытных животных, отмеченный также и у пациента Ч. (рис. 5 А–Г) в ткани легкого вне опухоли при развитии плоскоклеточной неороговевающей карциномы (заключение № 135443–66Э22 по протоколу ПАО от 02.12.2022 г.).

Таким образом, морфологически подтверждалось единообразие формирования опухолевых узлов на

фоне активного наполнения кровью легочного пространства, как наиболее благоприятной биохимической среды с высоким содержанием необходимых опухолевым клеткам метаболитов. Этот факт был продемонстрирован как на препаратах легкого мыши-самца линии Balb/c Nude после парентеральной трансплантации митохондрий (рис. 6А), так и из легкого пациента Ч. с развитием плоскоклеточной неороговевающей карциномы (рис. 6Б).

Сходные черты роста опухоли в легочной паренхиме у пациента Ч. и мышей линии Balb/c Nude, как прямых реципиентов изолированных митохондрий аденокарциномы, заключались в том, что в обоих случаях были представлены солидные структуры, состоящие из полей, ячеек и тяжей из плотно прилегающих атипичных полиморфных клеток сквамозного эпителия со слабо развитой цитоплазмой (рис. 7 А, Б). Кроме того, признаками аденокарциномы служили желези-

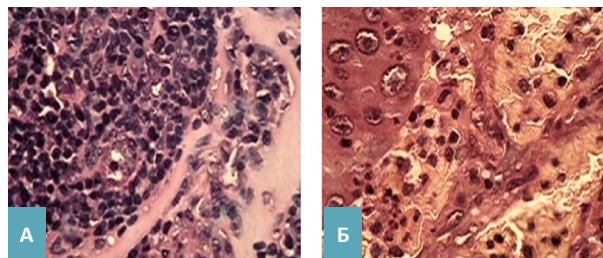


Рис. 6. Формирование опухолевых узлов и тяжей на фоне кровоизлияния с выраженной лимфоцитарной инфильтрацией: А – у мышей линии Balb/c Nude, Б – у пациента Ч. – донора митохондрий для трансплантации мыши. Окр. гематоксилин-эозин, ув. об. $\times 100$.

Fig. 6. Formation of tumor nodules and masses on the background of hemorrhage with pronounced lymphocytic infiltration: A – in Balb/c Nude mice, B – in patient Ch. – donor of mitochondria for mouse transplantation. Stained with hematoxylin and eosin, magnification objective $\times 100$.

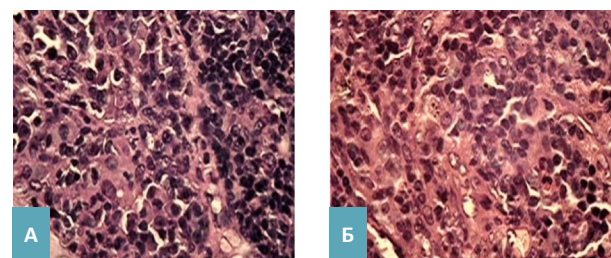


Рис. 7. Фрагменты индуцированного и спонтанного опухолевого поражения легкого: А – у мыши-самца линии Balb/c Nude после внутривенной трансплантации изолированных митохондрий аденокарциномы легкого; Б – у пациента Ч. в очаге первичного роста аденокарциномы легкого с плотным расположением атипичных полиморфных клеток сквамозного эпителия. Окр. гематоксилин-эозин, ув. об. $\times 100$.

Fig. 7. Fragments of induced and spontaneous tumor lesion of the lung: A – in a male mouse of Balb/c Nude line after intravenous transplantation of isolated mitochondria of lung adenocarcinoma; B – in patient Ch. in the foci of primary growth of lung adenocarcinoma with dense arrangement of atypical polymorphic cells of squamous epithelium. Stained with hematoxylin and eosin, magnification objective $\times 100$.

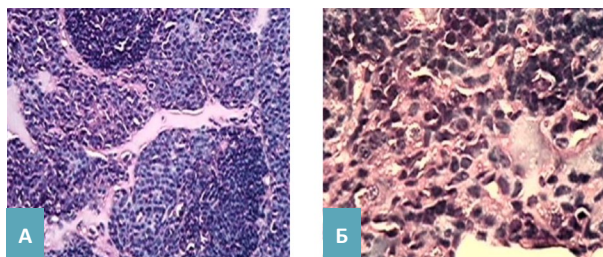


Рис. 8. Фрагменты индуцированного и спонтанного опухолевого поражения легкого: А, Б – проявление признаков аденокарциномы в виде образования железисто- и сосочкоподобных структур у мыши-самца линии Balb/c Nude; В, Г – сходные признаки строения аденокарциномы легкого у пациента Ч. Окр. гематоксилин-эозин, ув. об. $\times 10$, $\times 40$.

Fig. 8. Fragments of induced and spontaneous tumor lesions of the lung: A, B – manifestation of adenocarcinoma signs in the form of formation of glandular and papilla-like structures in a male mouse of Balb/c Nude line; C, D – similar signs of lung adenocarcinoma structure in patient Ch. Stained with hematoxylin and eosin, magnification objective $\times 10$, $\times 40$.

сто- и сосочкоподобные структуры и комплексы клеток с крупными ярышками (рис. 8 А–Г). Клетки сквамозно-го эпителия характеризовались выраженной атипией и полиморфизмом. Форма ядер у большинства клеток была неправильная, достигающая больших размеров, окраска неоднородная, ядрышки укрупнены. С достаточно высокой частотой встречались многоядерные клетки, а также патологические митозы с четко обозначенными фигурами деления, что свидетельствовало об их пролиферативной активности (рис. 9 А–Е). Обращала на себя особое внимание сходная структура ядерного хроматина, которая была грубой и неоднородной с глыбчатым или сетчатым строением. Зачастую хроматин скапливался у внутренней поверхности мембраны ядра, образуя единую цепочку, однако наибольшее внимание привлекали крупные глыбки хроматина, соединенные мостиками или перемычками, отдаленно напоминающими самосборку «колеса со спицами». Такого рода конструкции из соединенных перемычками глыбок ядерного хроматина выявлялись в обоих случаях, как в спонтанной опухоли пациента Ч., так и индуцированных митохондриями опухолевых узлах в легких у мышей линии Balb/c Nude.

Таким образом, морфологический контроль образцов ткани легкого, полученных при спонтанном (аденокарцинома легкого пациента) и индуцированном росте (опухоль, полученная у мыши-самца линии Balb/c Nude

после парентеральной трансплантации митохондрий, изолированных из злокачественной опухоли легкого пациента), позволил установить следующее:

- митохондрии, изолированные из аденокарциномы легкого пациента Ч. (плоскоклеточная неороговевающая карцинома с очаговой лимфоидной инфильтрацией, инвазией стенки долевого бронха) и парантерально трансплантантированные мышам-самцам линии Balb/c Nude, способны воспроизводить процесс опухолевого роста в легких у животного в виде характерных крупных слитых и мелких разрозненных очагов злокачественного поражения пульмональной ткани с участками лимфоцитарной инфильтрации и кровоизлияния, который наблюдался в исходной донорской опухоли;

- характер кровоизлияний в легком у пациента Ч. и мыши-самца линии Balb/c Nude носит сходный обширный характер с крупным очаговым наполнением бронхо-альвеолярных структур, расширением просвета и полнокровием сосудов, геморрагическими проявлениями. Такая биохимическая среда способствует поддержанию метаболического и пролиферативного статуса опухоли, возникающей после парентеральной трансплантации митохондрий, изолированных из злокачественной опухоли легкого данного пациента;

- идентификация структуры опухоли легкого у мыши-самца линии Balb/c Nude и пациента Ч. осу-

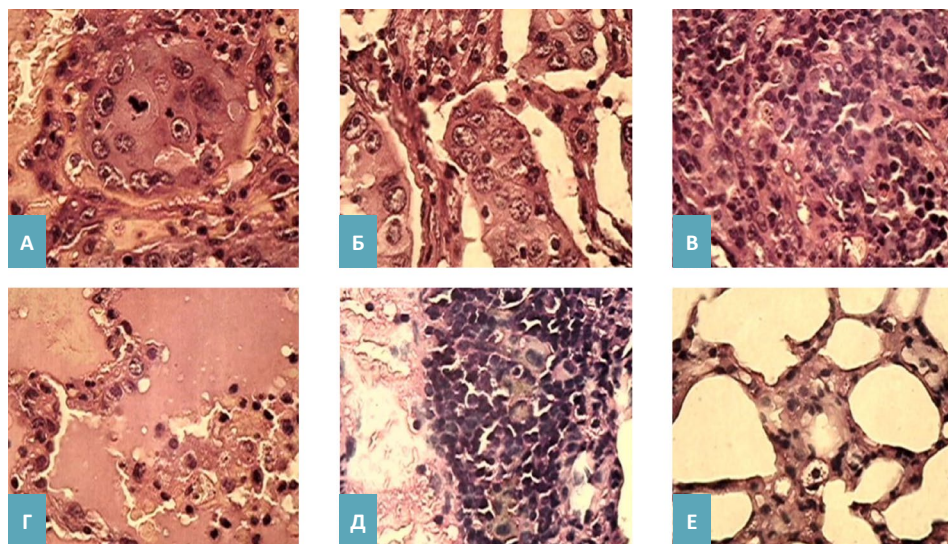


Рис. 9. Фрагменты спонтанного и индуцированного опухолевого поражения легкого со сходными признаками клеточного полиморфизма, наличием многоядерных клеток, крупными ядрами неправильной формы с грубым глыбчатым или сетчатым хроматином, наличием перемычек между глыбками хроматина и образованием пигментной «пыли», множеством фигур патологического митоза: А–В – в структуре аденокарциномы легкого пациента Ч.; Г–Е – в структуре опухоли мыши-самца линии Balb/c Nude после внутривенной трансплантации митохондрий, изолированных из злокачественной опухоли легкого. Окр. гематоксилин-эозин, ув. об. ×40, ×100.

Fig. 9. Fragments of spontaneous and induced tumor lesions of the lung with similar signs of cell polymorphism, the presence of multinucleated cells, large irregularly shaped nuclei with rough clumped or reticulated chromatin, the presence of bridges between chromatin clumps and the formation of pigment "dust", multiple figures of pathological mitosis: A–C – in the structure of adenocarcinoma of the lung of patient Ch.; D–E – in the tumor structure of a male mouse of Balb/c Nude line after intravenous transplantation of mitochondria isolated from malignant lung tumor. Stained with hematoxylin and eosin, magnification objective ×40, ×100.

ществлена по таким признакам, как солидный тип новообразования, выраженная атипия и полиморфизм клеток сквамозного эпителия с неправильной формой ядер, достигающих больших размеров, с неоднородной окраской, укрупненными ядрышками, наличием многоядерных клеток, множеством патологических митозов. Выявлена сходная структура ядерного хроматина, которая была одинаково грубой и неоднородной с глыбчатым или сетчатым строением, образовывала перемычки между глыбками хроматина, что было представлено на микрофото.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение внутривенной трансплантации митохондрий, изолированных из зло-

качественной опухоли легкого человека, у мышей-самцов линии Balb/c Nude вызывает рост и развитие в легких животных злокачественных очагов. Это дает возможность изучать патогенез злокачественного роста под влиянием трансплантации митохондрий, изолированных из злокачественной опухоли легкого человека, а также механизм митохондриального воздействия, вызывающего развитие злокачественных опухолевых очагов РЛ человека. Это важно для развития фундаментальных научных и клинических подходов лечения, так как доказывает новый ранее неизвестный механизм воспроизведения опухолевых очагов РЛ и указывает на важную роль неизвестных свойств митохондрий в осуществлении митохондриального переноса, что может существенно дополнить представления о процессах инвазии опухолей.

Список источников

1. Liu W, Cui Y, Zheng X, Yu K, Sun G. Application status and future prospects of the PDX model in lung cancer. *Front Oncol*. 2023 Mar 24;13:1098581. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1098581>
2. Кутилин Д. С., Айрапетова Т. Г., Анистратов П. А., Пыльцин С. П., Лейман И. А., Карнаухов Н. С., Кит О. И. Изменение копийности генов в опухолевых клетках и внеклеточной ДНК у больных аденокарциномой лёгкого. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019;167(6):731–738.
3. Firestone B. The challenge of selecting the ‘right’ in vivo oncology pharmacology model. *Curr Opin Pharmacol*. 2010 Aug;10(4):391–396. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2010.06.012>
4. Ibarrola-Villava M, Cervantes A, Bardelli A. Preclinical models for precision oncology. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2018 Dec;1870(2):239–246. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2018.06.004> Epub 2018 Jun 28. Erratum in: *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2019 Dec;1872(2):188292
5. Jing X, Yang F, Shao C, Wei K, Xie M, Shen H, Shu Y. 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>
6. Dong L, Gopalan V, Holland O, Neuzil J. Mitocans Revisited: Mitochondrial Targeting as Efficient Anti-Cancer Therapy. *Int J Mol Sci*. 2020 Oct 26;21(21):7941. <https://doi.org/10.3390/ijms21217941>
7. Damaghi M, West J, Robertson-Tessi M, Xu L, Ferrall-Fairbanks MC, Stewart PA, et al. The harsh microenvironment in early breast cancer selects for a Warburg phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021 Jan 19;118(3):e2011342118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2011342118>
8. Humpton TJ, Alagesan B, DeNicola GM, Lu D, Yordanov GN, Leonhardt CS, et al. Oncogenic KRAS Induces NIX-Mediated Mitophagy to Promote Pancreatic Cancer. *Cancer Discov*. 2019 Sep;9(9):1268–1287. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-18-1409>
9. Cogliati S, Frezza C, Soriano ME, Varanita T, Quintana-Cabrera R, Corrado M, et al. Mitochondrial cristae shape determines respiratory chain supercomplexes assembly and respiratory efficiency. *Cell*. 2013 Sep 26;155(1):160–171. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.08.032>
10. Singh B, Modica-Napolitano JS, Singh KK. Defining the momiome: Promiscuous information transfer by mobile mitochondria and the mitochondrial genome. *Semin Cancer Biol*. 2017 Dec;47:1–17. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.05.004>
11. Shanmughapriya S, Langford D, Natarajaseenivasan K. Inter and Intracellular mitochondrial trafficking in health and disease. *Ageing Res Rev*. 2020 Sep;62:101128. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101128>
12. Walters HE, Cox LS. Intercellular Transfer of Mitochondria between Senescent Cells through Cytoskeleton-Supported Intercellular Bridges Requires mTOR and CDC42 Signalling. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Jul 31;2021:6697861. <https://doi.org/10.1155/2021/6697861>
13. Ali Pour P, Hosseini S, Kheradvar A. Mitochondrial transplantation in cardiomyocytes: foundation, methods, and outcomes. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2021 Sep 1;321(3):C489–C503. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00152.2021>
14. Park A, Oh M, Lee SJ, Oh KJ, Lee EW, Lee SC, Bae KH, Han BS, Kim WK. Mitochondrial Transplantation as a Novel Therapeutic Strategy for Mitochondrial Diseases. *Int J Mol Sci*. 2021 Apr 30;22(9):4793. <https://doi.org/10.3390/ijms22094793>
15. Russell OM, Gorman GS, Lightowlers RN, Turnbull DM. Mitochondrial Diseases: Hope for the Future. *Cell*. 2020 Apr 2;181(1):168–188. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.051>

16. Sidarala V, Pearson GL, Parekh VS, Thompson B, Christen L, Gingerich MA, Zhu J, Stromer T, Ren J, Reck EC, Chai B, Corbett JA, Mandrup-Poulsen T, Satin LS, Soleimanpour SA. Mitophagy protects β cells from inflammatory damage in diabetes. *JCI Insight*. 2020 Dec 17;5(24):e141138. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.141138>
17. Liu Z, Sun Y, Qi Z, Cao L, Ding S. Mitochondrial transfer/transplantation: an emerging therapeutic approach for multiple diseases. *Cell Biosci*. 2022 May 19;12(1):66. <https://doi.org/10.1186/s13578-022-00805-7>
18. Егорова М. В., Афанасьев С. А. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: Современные методические приемы. *Сибирский медицинский журнал*. 2011;26(1–1):22–28.
19. Гуреев А. П., Кокина А. В., Сыромятникова М. Ю., Попов В. Н. Оптимизация методов выделения митохондрий из разных тканей мыши. *Вестник ВГУ, серия: химия, биология, фармация*. 2015;4:61–65.

References

1. Liu W, Cui Y, Zheng X, Yu K, Sun G. Application status and future prospects of the PDX model in lung cancer. *Front Oncol*. 2023 Mar 24;13:1098581. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1098581>
2. Kutilin DS, Airapetova TG, Anistratov PA, Pylytsin SP, Leiman IA, Karnaukhov NS, Kit OI. Copy number variation in tumor cells and extracellular DNA in patients with lung adenocarcinoma. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;167(6):771–778.
3. Firestone B. The challenge of selecting the 'right' in vivo oncology pharmacology model. *Curr Opin Pharmacol*. 2010 Aug;10(4):391–396. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2010.06.012>
4. Ibarrola-Villava M, Cervantes A, Bardelli A. Preclinical models for precision oncology. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2018 Dec;1870(2):239–246. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2018.06.004> Epub 2018 Jun 28. Erratum in: *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2019 Dec;1872(2):188292
5. Jing X, Yang F, Shao C, Wei K, Xie M, Shen H, Shu Y. 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>
6. Dong L, Gopalan V, Holland O, Neuzil J. Mitocans Revisited: Mitochondrial Targeting as Efficient Anti-Cancer Therapy. *Int J Mol Sci*. 2020 Oct 26;21(21):7941. <https://doi.org/10.3390/ijms21217941>
7. Damaghi M, West J, Robertson-Tessi M, Xu L, Ferrall-Fairbanks MC, Stewart PA, et al. The harsh microenvironment in early breast cancer selects for a Warburg phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021 Jan 19;118(3):e2011342118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2011342118>
8. Humpton TJ, Alagesan B, DeNicola GM, Lu D, Yordanov GN, Leonhardt CS, et al. Oncogenic KRAS Induces NIX-Mediated Mitophagy to Promote Pancreatic Cancer. *Cancer Discov*. 2019 Sep;9(9):1268–1287. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-18-1409>
9. Cogliati S, Frezza C, Soriano ME, Varanita T, Quintana-Cabrera R, Corrado M, et al. Mitochondrial cristae shape determines respiratory chain supercomplexes assembly and respiratory efficiency. *Cell*. 2013 Sep 26;155(1):160–171. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.08.032>
10. Singh B, Modica-Napolitano JS, Singh KK. Defining the momiome: Promiscuous information transfer by mobile mitochondria and the mitochondrial genome. *Semin Cancer Biol*. 2017 Dec;47:1–17. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.05.004>
11. Shanmughapriya S, Langford D, Natarajaseenivasan K. Inter and Intracellular mitochondrial trafficking in health and disease. *Ageing Res Rev*. 2020 Sep;62:101128. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101128>
12. Walters HE, Cox LS. Intercellular Transfer of Mitochondria between Senescent Cells through Cytoskeleton-Supported Intercellular Bridges Requires mTOR and CDC42 Signalling. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Jul 31;2021:6697861. <https://doi.org/10.1155/2021/6697861>
13. Ali Pour P, Hosseinian S, Kheradvar A. Mitochondrial transplantation in cardiomyocytes: foundation, methods, and outcomes. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2021 Sep 1;321(3):C489–C503. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00152.2021>
14. Park A, Oh M, Lee SJ, Oh KJ, Lee EW, Lee SC, Bae KH, Han BS, Kim WK. Mitochondrial Transplantation as a Novel Therapeutic Strategy for Mitochondrial Diseases. *Int J Mol Sci*. 2021 Apr 30;22(9):4793. <https://doi.org/10.3390/ijms22094793>
15. Russell OM, Gorman GS, Lightowlers RN, Turnbull DM. Mitochondrial Diseases: Hope for the Future. *Cell*. 2020 Apr 2;181(1):168–188. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.051>
16. Sidarala V, Pearson GL, Parekh VS, Thompson B, Christen L, Gingerich MA, Zhu J, Stromer T, Ren J, Reck EC, Chai B, Corbett JA, Mandrup-Poulsen T, Satin LS, Soleimanpour SA. Mitophagy protects β cells from inflammatory damage in diabetes. *JCI Insight*. 2020 Dec 17;5(24):e141138. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.141138>
17. Liu Z, Sun Y, Qi Z, Cao L, Ding S. Mitochondrial transfer/transplantation: an emerging therapeutic approach for multiple diseases. *Cell Biosci*. 2022 May 19;12(1):66. <https://doi.org/10.1186/s13578-022-00805-7>
18. Egorova MV, Afanasyev SA. Isolation of mitochondria from cells and tissues of animals and human: modern methodical approaches. *Siberian Medical Journal*. 2011;26(1–1):22–28. (In Russ.).
19. Gureev AP, Kokina AV, Syromyatnikov MYu, Popov VN. Optimization of methods for the mitochondria isolation from different mice tissues. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2015;4:61–65. (In Russ.).

Информация об авторах:

Кит Олег Иванович – академик РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>, SPIN: 1728-0329, AuthorID: 343182, Scopus Author ID: 55994103100, Researcher ID: U-2241-2017

Франциянц Елена Михайловна – д.б.н., профессор, заместитель генерального директора по науке ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>, SPIN: 9427-9928, Author ID: 462868, Scopus Author ID: 55890047700, Researcher ID: Y-1491-2018

Шихлярова Алла Ивановна – д.б.н., профессор, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>, SPIN: 6271-0717, Author ID: 482103, Scopus Author ID: 57312836900, Researcher ID: Y-6275-2018

Нескубина Ирина Валерьевна [✉] – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>, SPIN: 3581-8531, AuthorID: 794688, Scopus Author ID: 6507509066, ResearcherID: AAG-8731-2019

Information about authors:

Oleg I. Kit – Academician of RAS, Dr. Sci. (Medicine), Professor, General Director of National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>, SPIN: 1728-0329, AuthorID: 343182, Scopus Author ID: 55994103100, Researcher ID: U-2241-2017

Elena M. Frantsiyants – Dr. Sci. (Biology), Professor, Deputy General Director for Science of National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>, SPIN: 9427-9928, AuthorID: 462868, Scopus Author ID: 55890047700, Researcher ID: Y-1491-2018

Alla I. Shikhlyarova – Dr. Sci. (Biology), Professor, Senior Researcher at Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>, SPIN: 6271-0717, AuthorID: 482103, Scopus Author ID: 57312836900, Researcher ID: Y-6275-2018

Irina V. Neskubina [✉] – Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>, SPIN: 3581-8531, AuthorID: 794688, Scopus Author ID: 6507509066, ResearcherID: AAG-8731-2019

Вклад авторов:

Кит О. И. – научное редактирование;
 Франциянц Е. М. – написание текста, анализ и интерпретация данных;
 Шихлярова А. И. – научное редактирование;
 Нескубина И. В. – техническое редактирование, оформление библиографии.
 Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку статьи и утвердили окончательный вариант, одобренный к публикации.

Contribution of the authors:

Kit O. I. – scientific editing;
 Frantsiyants E. M. – text writing, data analysis and interpretation;
 Shikhlyarova A. I. – scientific editing;
 Neskubina I. V. – technical editing, bibliography design.
 All authors made equivalent contributions to the preparation of the article and approved the final version for publication.