

Об ограничениях применения методов CDX- и PDX-культивирования злокачественных новообразований яичника и их математическое обоснование

Т.Р. Биктимиров¹, В.А. Шидин^{1,2}, В.Л. Янин¹, М.Я. Кузьменко², Я.А. Карпова¹, Л.В. Халикова²

¹БУ ВО ХМАО — Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»; Россия, Ханты-Мансийский автономный округ, 628011 Ханты-Мансийск, ул. Мира, 40;

²ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 625023 Тюмень, ул. Одесская, 54

Контакты: Владимир Александрович Шидин vshidin@mail.ru

В статье представлены сведения о наиболее популярных методах культивирования злокачественных новообразований человека для внедрения полученных фундаментальных знаний в основу трансляционных исследований в онкологии. Краткая характеристика каждого из них позволяет принять решение о возможности включения методики в экспериментальные работы. Дано первое приближение к формированию логики математического обоснования дизайна эксперимента по моделированию злокачественных новообразований человека.

Также на примере краткого описания оригинального дизайна эксперимента ученых Ханты-Мансийской государственной медицинской академии и Тюменского государственного медицинского университета продемонстрирована логика построения дизайна подобного эксперимента в рамках исследовательской работы. Сформировано представление о необходимости включения в клинические экспериментальные работы фундаментальных и трансляционных этапов в составе единой стратегии ответа на большие вызовы персонализированной медицины. Сформировано представление о необходимости включения в клинические экспериментальные работы фундаментальных и трансляционных этапов в составе единой стратегии ответа на большие вызовы персонализированной медицины.

Ключевые слова: рак яичника, культивирование *in vivo*, модель PDX, математическая модель

Для цитирования: Биктимиров Т.Р., Шидин В.А., Янин В.Л. и др. Об ограничениях применения методов CDX- и PDX-культивирования злокачественных новообразований яичника и их математическое обоснование. Хирургия и онкология 2024;14(4):20–30.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2949-5857-2024-14-4-20-30>

Limitations of CDX and PDX methods using for cultivation of malignant ovarian neoplasms and their mathematical justification

T.R. Biktimirov¹, V.A. Shidin^{1,2}, V.L. Yanin¹, M.Ya. Kuzmenko², Ya.A. Karpova¹, L.V. Khalikova²

¹Khanty-Mansiysk State Medical Academy, Khanty-Mansiysk Autonomous Region — Yugra; 40 Mira St., Khanty-Mansiysk, Khanty-Mansiysk Autonomous Region 628011, Russia;

²Tyumen State Medical University of the Ministry of Health of Russia; 54 Odesskaya St., Tyumen 625023, Russia

Contacts: Vladimir Aleksandrovich Shidin vshidin@mail.ru

The article presents information on the most popular methods of culturing human malignant neoplasms to implement the obtained fundamental knowledge into the basis of translational research in oncology. A brief description of each of them allows you to decide on the possibility of including the technique in experimental work. The first approximation to the formation of the logic of the mathematical justification of the design of an experiment on modeling human malignant neoplasms is given.

Also, using the example of a brief description of the original design of the experiment of scientists from the Khanty-Mansiysk State Medical Academy and the Tyumen State Medical University, the logic of constructing the design of such

an experiment as part of the research work is demonstrated. An idea is formed about the need to include fundamental and translational stages in clinical experimental work as part of a unified strategy for responding to the great challenges of personalized medicine. An idea is formed about the need to include fundamental and translational stages in clinical experimental work as part of a unified strategy for responding to the great challenges of personalized medicine.

Keywords: ovarian cancer, *in vivo* cultivation, PDX model, mathematical model

For citation: Biktimirov T.R., Shidin V.A., Yanin V.L. et al. Limitations of CDX and PDX methods using for cultivation of malignant ovarian neoplasms and their mathematical justification. *Khirurgiya i onkologiya* = Surgery and Oncology 2024;14(4):20–30. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2949-5857-2024-14-4-20-30>

Введение

Согласно Указу Президента РФ от 28 февраля 2024 г. № 145 «О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации», одним из приоритетных направлений является «...переход к персонализированной, предиктивной и профилактической медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, в том числе за счет рационального применения лекарственных препаратов (прежде всего антибактериальных) и использования генетических данных и технологий» [1]. При упоминании термина «предиктивная медицина» в материалах научно-практических конференций, клинических рекомендаций и другой специальной литературе у работников сферы здравоохранения возникает ассоциация с сердечно-сосудистыми заболеваниями или злокачественными новообразованиями (ЗНО).

Каждая из форм ЗНО — достойный объект научного анализа. Среди прочих особое место занимает рак яичника, так как большинство экспериментальных и клинических данных говорит о необходимости фокусирования на хирургических способах лечения этой патологии [2–5]. При этом в Российской Федерации к концу 2023 г. поставлены на учет 12089 больных с диагнозом «злокачественное новообразование яичника», установленным впервые в жизни, летальность в 1-й год с момента установления диагноза составила 16,4 %. Кроме того, 120657 чел. уже находились на учете к этому году [6], что является веским основанием для применения самого широкого спектра методов моделирования данных новообразований в эксперименте *in vivo*, *in vitro* и *in silico* [7].

Для обеспечения технологического суверенитета в области онкологической помощи необходимо искать решение проблем, сдерживающих улучшение прогноза для онкологических пациентов [8]. Во-первых, это недостаточное отражение истинного статуса опухолевой ткани при использовании биомаркеров, имеющих в арсенале рутинной практики. Во-вторых, высокая вероятность возникновения феноменов химиорезистентности опухоли и рецидивов. Для практикующего врача единственно сколько-нибудь значимым вкладом фундаментальной онкологии в рутинную практику служит тиражирование исчерпывающих руководств по выбору тактики химиотерапевтического

лечения, обоснованной в экспериментах по моделированию аналогичных нозологических единиц. В-третьих, множество перспективных кандидатных молекул показали высокую терапевтическую эффективность *in vitro*, лишь немногие оказались безопасными при использовании их *in vivo* в сложных экспериментальных системах.

Также следует отметить, что все имеющиеся модели изучения фундаментальных свойств опухолевых клеток должны удовлетворять нескольким характеристикам:

- учитывать разнообразные геномные ландшафты опухоли. Следует отметить, что «эволюция» этих ландшафтов обусловлена применением разнообразных химиотерапевтических схем. Анализ геномов различных групп взрослых и детских ЗНО позволил выделить среднее число несинонимичных мутаций в каждой нозологии [9]. Например, в группе немелкоклеточного рака легких отмечается 147 мутаций, молочная железа содержит 33 мутации, неходжкинские лимфомы — 74 мутации. Для рака яичников выделяют 42 несинонимичные мутации. Мутации, которые дают селективное преимущество роста опухолевой клетке, называются драйверными мутациями. Было подсчитано, что каждая драйверная мутация дает лишь небольшое селективное преимущество роста — около 0,4 % [9]. Однако в течение многих лет такое преимущество может привести к формированию критической опухолевой массы, содержащей миллиарды клеток;
- формировать *in vitro* архитектуру опухоли, аналогичную *in vivo*;
- отслеживать и прогнозировать внутриопухолевую и временную опухолевую гетерогенность.

В табл. 1 представлены преимущества и недостатки рассматриваемых в обзоре моделей ЗНО.

Ксенотрансплантаты, полученные из чистых клеточных культур

Если необходим контролируемый рост с заданными генетическими абберациями в условиях устоявшегося геномного фона, то используются методы CDX (cell-derived xenograft — ксенотрансплантат, полученный из клеток). Двумерные клеточные культуры, полученные из ЗНО яичников, плеврального выпота,

Таблица 1. Преимущества и недостатки различных способов моделирования злокачественных новообразований в эксперименте
Table 1. Advantages and disadvantages of different methods of modeling human malignant neoplasms in an experiment

Необходимые характеристики Required characteristics	Варианты моделей ЗНО человека Variants of MNP models		
	Индукцированные опухолевые модели на животных Induced animal tumor models	Модели CDX CDX models	Модели PDX PDX models
Архитектура опухоли, схожая с опухолью пациента Tumor architecture similar to that of the patient	+	—	√
Возможность анализа геномного ландшафта Possibility to analyze genomic landscape	+	√	+
Учет внутриопухолевой гетерогенности Consideration of intratumoral heterogeneity	+	—	√
Возможные способы модификации Possible modification methods	Модификация затруднена Modification is difficult	Использование гуманизированных лабораторных животных, микрофлюидные технологии Use of humanized laboratory animals, microfluidic technologies	Mini-PDX, микрофлюидные технологии Mini-PDX, microfluidic technologies

Примечание. √ — соответствует, «+» — условно соответствует, «—» — не соответствует.
Note. √ — corresponds, «+» — conditionally corresponds, «—» — does not correspond.

асцитической жидкости из брюшной полости или отдаленного метастатического участка, со временем были полностью описаны морфологически и почти всегда сохраняли уникальные особенности своего производного образца. А сравнение молекулярных профилей линий клеток рака яичников привело к изменению классификации гистотипов ряда часто используемых клеток рака яичников, например, SK-OV-3 и A2780 [10, 11].

При этом немногие модели линий клеток рака яичников позволяют понять феномен опухолевого роста, прогрессирование и изменение степени дифференцировки [12, 13]. Тем не менее большинство фенотипов опухолевых клонов ЗНО яичников могут использоваться в таких экспериментах, как оценка эффективности лекарственных препаратов.

Вот примеры возможных коммерческих вариантов клеточных линий, используемых для моделирования рака яичников:

- SK-OV-3 — клеточная линия рака яичников, полученная из асцитической жидкости 64-летней белой женщины с серозной цистаденокарциномой яичников [14];
- HO-8910PM, созданная на основе ксенотрансплантата голых мышей 7-го поколения, полученного от HO-8910 [15];
- A2780 — линия клеток рака яичников человека, созданная из опухолевой ткани нелеченого пациента, является родительской линией для циспла-

тин-резистентной клеточной линии A2780 cis (Sigma 93112517) и адриамицин-резистентной клеточной линии A2780 ADR (Sigma 93112520) [16].

Необходимо учитывать важные ограничения этих моделей. Клеточные линии, вероятно, представляют собой субпопуляцию исходной опухоли и в значительной степени однородны из-за отсутствия исходной микросреды, включающей взаимодействия со стромальными, иммунными и воспалительными клетками. В результате существуют генетические и эпигенетические различия между клеточными линиями и исходными опухолями, что затрудняет оценку того, какая часть исходной биологии опухоли сохраняется в установленных моделях клеточных линий, которые поддерживались в течение длительного времени *in vitro*.

Отсутствие межклеточных взаимодействий в трехмерной (3D) среде также ограничивает трансляционный потенциал исследований клеточных линий, что обусловлено значительными недостатками архитектуры опухоли. Их модификация возможна с применением микрофлюидных технологий. Микрофлюидные модели облегчают разработку «опухоли на чипе» как платформы *in vitro*, которая точно имитирует такие свойства в микросреде рака, как изменения глюкозы или доступность кислорода в разных местах в структуре опухоли. Такие платформы позволяют исследователям манипулировать многими факторами, которые могут влиять на рост рака, и изучать влияние этих факторов на рак [17]. Хотя «опухоли на чипе» могут

имитировать все больше и больше компонентов в микросреде рака, например микрососудистую структуру [18], их соответствие пациентам с подтвержденными ЗНО не подвергалось тщательному изучению.

Ксенотрансплантаты, полученные от пациента

Если необходимо изучить временную и внутриопухолевую гетерогенность, а также вклад в эти феномены архитектуры опухоли и межклеточных взаимодействий, то применяют моделирование PDX (patient-derived xenograft – ксенотрансплантаты, полученные от пациента).

Модели PDX имеют высокую предсказательную силу и широко используются при поиске кандидатных молекул.

Наиболее оптимальный метод создания модели PDX – приживление фрагмента первичной или метастатической опухоли человека животному класса SPF (как правило, в работе предпочитают использовать иммунодефицитных мышей) [19, 20]. Для формирова-

ния модели ЗНО яичника также подходит использование асцитической жидкости, полученной от пациента. Простая техника забора опухолевого материала делает такие дизайны эксперимента достаточно популярными среди исследователей. В табл. 2 представлены одобренные клинические исследования, посвященные вопросам получения эквивалентных результатов при лечении пациентов с ЗНО различной локализации и соответствующих им вариантам PDX (см. табл. 2). Каждое из упомянутых клинических исследований является образцом для планирования работы малых и больших научных коллективов. Синопсисы каждого протокола, находящиеся в открытом доступе, могут помочь дизайнерам эксперимента учесть ряд клинических аспектов, зачастую не принимающихся во внимание научной группой.

Отдельно следует отметить исследования, использующие модель PDX для изучения рака яичника с высокой (83–100 %) частотой приживления графта (табл. 3).

Среднее время формирования модели PDX составляет от 1 до 12 мес и зависит от подтипа рака яичников

Таблица 2. Одобренные клинические исследования, сфокусированные на использовании моделей PDX при изучении фундаментальных свойств злокачественных новообразований (ЗНО) и их ответа на различные варианты химиотерапевтического лечения
Table 2. Approved clinical studies focused on the use of PDX models in the study of fundamental properties of human malignant neoplasms (MNP) and their response to various chemotherapy treatments

Локализация Localization	Идентификатор протокола на сайте clinical.trial.gov Protocol ID at clinical.trial.gov	Цель Purpose	Дизайн эксперимента Experimental design
C00–C14. ЗНО губы, полости рта и глотки C00–C14. MNP of lips, mouth and pharynx			
Плоскоклеточный рак головы и шеи (ПРГШ) Squamous cell carcinoma of the head and neck (HNSCC)	№ NCT02572778	Создать биобанк PDX, представляющий различные подгруппы ПРГШ To create a PDX biobank representing the various subgroups of the HNSCC	Создать PDX с первичными и рецидивирующими опухолевыми тканями, исследовать новые биомаркеры, новую терапию и устойчивость к лекарственным препаратам To create PDX with primary and recurrent tumor tissues, investigate novel biomarkers, novel therapies and drug resistance
	№ NCT02752932	Разработать биобанк PDX и провести химиотерапию полученных образцов To develop a PDX biobank and perform chemotherapy to the obtained samples	Провести полногеномное секвенирование и тестирование чувствительности к препаратам To perform genome-wide sequencing and drug susceptibility testing
C15–C26. ЗНО органов пищеварения C15–C26. MNP of digestive organs			
Рак желудка Stomach cancer	№ NCT05616533	Спрогнозировать терапевтический эффект на модели PDX To predict therapeutic effect in PDX models	Провести наблюдение за реакцией на неoadъювантную химиотерапию у пациента и соответствующей ему модели PDX Monitor response to neoadjuvant chemotherapy in the patient and corresponding PDX models
Рак поджелудочной железы Pancreas cancer	№ NCT04373928	Сформулировать алгоритмы точной диагностики и лечения для пациентов с данным ЗНО на разных стадиях To formulate algorithms for precise diagnosis and treatment for patients with this MNP at different stages	Создать модель mini-PDX и исследовать лучший лекарственный ответ с помощью секвенирования РНК и теста на чувствительность к препаратам To create a mini-PDX model and investigate the best drug response with RNA sequencing and drug susceptibility test

Продолжение табл. 2
Continuation of table 2

Локализация Localization	Идентификатор протокола на сайте clinical.trial.gov Protocol ID at clinical.trial.gov	Цель Purpose	Дизайн эксперимента Experimental design
C30–C39. ЗНО органов дыхания и грудной клетки C30–C39. Respiratory and thoracic MNPs			
Метастатический немелкоклеточ- ный рак легких Metastatic non- small cell lung carcinoma	№ NCT03134456	Сравнить клинический ответ пациента и противоопухолевый ответ <i>in vivo</i> To compare patient's clinical response and antitumor response <i>in vivo</i>	Пациенты и соответствующие PDX с экспрессией PD-L1 после смены комбинированной химиотера- пии платиной на пембролизумаб Patients and corresponding PDXs with PD-L1 expression after switching from combination platinum chemotherapy to pembrolizumab
C40–C41. ЗНО костей и суставных хрящей C40–C41. MNP of bones and articular cartilage			
Остеосаркома Osteosarcoma	№ NCT03358628	Предоставить пациентам индивиду- альные варианты лечения с помощью моделей PDX To provide patients with individualized treatment options with PDX models	Молекулярное профилирование и тестирование лекарств <i>in vivo</i> Molecular profiling and drug testing <i>in vivo</i>
C43–C44. ЗНО кожи C43–C44. Skin MNP			
Меланома/пло- скоклеточный рак головы и шеи Melanoma/ Squamous cell carcinoma of the head and neck	№ NCT02331134	Разработать доклиническую платформу по сбору характеристических данных меланомы и плоскоклеточного рака головы и шеи To develop a preclinical platform for collection of characteristic data of melanoma and squamous cell carcinoma of the head and neck	Гемопозитические стволовые клетки, кровь и опу- холевую ткань, полученную от пациентов, используют для создания эксплантатов и внедрения их в тело гуманизированных мышей. Результаты терапии на гуманизированных мышах будут коррелировать с результатами эффективности тех же методов лече- ния у людей Hematopoietic stem cells, blood and tumor tissue obtained from patients are used to create explants and their administration into the body of humanized mice. The results of the humanized mice therapy will correlate with the results of efficacy of the same treatments in the humans
C45–C49. ЗНО мезотелиальной и мягких тканей C45–C49. Mesothelial and soft tissue MNP			
Саркома Sarcoma	№ NCT02910895	Разработать платформы PDX для сарком мягких тканей To develop platforms of PDX for soft tissue sarcomas	Создание саркомы на модели PDX и лечение с по- мощью радиотерапии и химиотерапии для трансля- ционных исследований Creation of sarcoma in PDX model and treatment with radiotherapy and chemotherapy for translational research
C50. ЗНО молочной железы C50. Mammary gland MNPs			
Рак молочной железы Breast cancer	№ NCT04133077	Разработать PDX из образцов опухолей, полученных в результате резекции To develop the PDX from resection-derived tumor samples	Полногеномное секвенирование успешно сформир- ованного банка PDX-образцов Genome-wide sequencing of a successfully established PDX-sample bank
	№ NCT04703244	Изучить причины высокой частоты ре- цидивов после неoadъювантной терапии To investigate the causes of high relapse rates after neoadjuvant therapy	Создание PDX и органоидов у пациентов с ЗНО молочной железы после неoadъювантной терапии Creation of PDX and organoids in patients with breast MNP after neoadjuvant therapy
	№ NCT02752893	Создать платформу PDX для ER ⁺ , HER2 ⁻ рака молочной железы To create a PDX platform for ER ⁺ , HER2 ⁻ breast cancer	Разработать новые стратегии лечения и проанализи- ровать сигнальные пути, лежащие в основе чувстви- тельности к лекарственным препаратам To develop new treatment strategies and analyze the signaling pathways underlying drug sensitivity

Окончание табл. 2

End of table 2

Локализация Localization	Идентификатор протокола на сайте clinical.trial.gov Protocol ID at clinical.trial.gov	Цель Purpose	Дизайн эксперимента Experimental design
Тройной не- гативный рак молочной железы (ТНРМЖ) Triple negative breast cancer (TNBC)	№ NCT02247037	Определить надежность моделей PDX для оценки эффективности лечения у отдельных пациентов с ТНРМЖ To determine the reliability of PDX models to evaluate treatment efficacy in selected patients with TNBC	Создать мышинные модели PDX с тканями, собранными до и после неoadъювантного лечения To create mouse PDX models with tissues collected before and after neoadjuvant treatment
	№ NCT04745975	Исследовать эффективность лечения пациентов с ТНРМЖ на основе mini-PDX To investigate the effectiveness of treatment of patients with TNBC based on mini-PDX	Персонализированное лечение на основе результатов серий тестов mini-PDX и секвенирования РНК The personalized treatment on the basis of results of series of mini-PDX tests and sequencing RNA
C45–C49. ЗНО мезотелиальной и мягких тканей C45–C49. Mesothelial and soft tissue MNP			
Рак мочеполовой системы Genitourinary cancer	№ NCT03551457	Проверить эффективность PDX и провести индивидуальное лечение To check efficiency of PDX and to carry out individual treatment	Определить селективный потенциал каждого препарата на модели PDX To determine the selective potential of each drug on PDX models
C60–C63. ЗНО мужских половых органов C60–C63. MNP of male genital organs			
Рак предстательной железы Prostate cancer	№ NCT03786848	Сформировать клинические рекомендации по лечению пациентов, резистентных к абиратерону, энзалутамиду или другим новым антиандрогенным препаратам второго поколения To prepare clinical guidelines for treatment of patients resistant to abiraterone, enzalutamide or other new second-generation antiandrogenic drugs	Использовать секвенирование нового поколения и mini-PDX для персонализированного лечения и изучения корреляции клинического ответа и результатов экспериментов To use next-generation sequencing and mini-PDX for personalized treatment and study of correlation of clinical response and experimental results
C64–C68. ЗНО мочевых путей C64–C68. Urinary tract MNP			
Рак мочевого пузыря Bladder cancer	№ NCT04410302	Разработать и охарактеризовать более 200 образцов PDX различных видов рака мочевого пузыря среди пациентов различных рас To develop and characterize more than 200 PDX samples of bladder cancer of different types among patients belonging to different races	Образцы опухолевой ткани пациентов с диагнозом «рак мочевого пузыря» для формирования модели PDX Tumor tissue samples from patients diagnosed with bladder “cancer in order” to form PDX models

и места имплантации опухоли. Мыши NSG, SCID и голые мыши — наиболее часто используемые штаммы. Важными условиями для успешного приживления полученного графта в теле лабораторного животного являются и качество опухолевой ткани яичника, выраженное в количестве опухолевых клеток в образце первичной или метастатической опухоли, и сокращение времени между сбором образца и имплантацией (в течение 30–60 мин), а также сокращение продолжительности хирургической процедуры имплантации опухоли в мышь.

Те образцы опухолей, которые не могут быть имплантированы сразу после иссечения, должны быть

сохранены с помощью криоконсервации, хотя скорость приживления замороженных — размороженных образцов ниже, чем приживление свежей опухолевой ткани.

Дополнительные тезисы, требующие фокуса внимания исследователя:

- образцы опухоли, полученные от ЗНО яичника поздних стадий, имеют большую вероятность приживления графта;
- фрагменты солидных опухолей приживаются более успешно, чем суспензия отдельных раковых клеток после диссоциации опухоли;
- место имплантации влияет на скорость приживления, однако необходимо помнить об отсутствии

Таблица 3. Возможные комбинации животных класса SPF и локализации имплантируемых графтов

Table 3. Possible combinations of animals of SPF category and implantable graft localization

Штамм модельного животного Model animal strain	Частота приживления графта, % Frequency of graft implantation, %	Область имплантации Implantation area	Источник Source
Серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности High-grade serous carcinoma of the ovary			
Мышь NSG-SGM3 NSG-SGM3 mouse	83	Подкожно, под капсулу яичника Subcutaneously, under the ovarian capsule	Topp M.D. et al. [21]
Мышь NSG-SGM3 NSG-SGM3 mouse	Более 90 More than 90	Жировая подушка молочной железы Fat pad of the mammary gland	Cybulska P. et al. [22]
Мыши линии Nude Mice of the Nude strain	Более 90 More than 90	Маточная труба, яичник Fallopian tube, ovarian	George E. et al. [23]
Серозная карцинома яичника низкой степени злокачественности Low-grade serous carcinoma of the ovary			
Мышь линии SCID Beige Mice of the SCID Beige strain	100	Внутрибрюшинная локализация Intraperitoneal localization	De Thaye E. et al. [24]
Муцинозная карцинома яичников Mucinous carcinoma of the ovary			
Мыши линии Nude Mice of the Nude strain	100	Подкожно Subcutaneously	Ricci F., Guffanti F. et al. [25]
Эндометриоидная карцинома яичника Endometrioid carcinoma of the ovary			
Мыши линии Nude Mice of the Nude strain	100	Подкожно Subcutaneously	Ricci F., Bizzaro F. et al. [26]
Светлоклеточная карцинома яичника Clear cell carcinoma of the ovary			
Мыши линии Nude Mice of the Nude strain	100	Жировая подушка молочной железы Fat pad of the mammary gland	Colombo P.E. et al. [27]
Мышь линии SCID Beige Mice of the SCID Beige strain	90	Внутрибрюшинная локализация Intraperitoneal localization	Weroha S.J. et al. [28]

яичниковой сумки у людей, поэтому интрабурсальный ксенотрансплантат следует рассматривать исключительно как гетеротропную модель;

- мониторинг роста опухоли ортотопических ксенотрансплантатов яичников технически сложнее (зачастую наблюдение дополняется люминесцентной микроскопией макропрепарата, совмещенной с позитронно-эмиссионной и компьютерной томографией живого объекта). Поэтому подкожные модели так распространены среди исследовательских групп. Было показано, что большинство молекулярных и генетических характеристик, обнаруженных в исходных опухолях, сохраняются в подкожных моделях. Однако основное ограничение подкожной модели — отсутствие соответствующих опухолевых микросред и способности метастазировать, поэтому эти модели могут неточно имитировать поведение человеческой опухоли, из которой они получены.

Ограничения моделирования PDX в контексте ЗНО яичника

Эксперименты с применением моделей PDX требуют дорогостоящего лабораторного оборудования и значительных временных затрат. Так, почти полугодичный латентный период опухоли является «самым заметным недостатком с точки зрения персонализированной медицины...» [8].

Если исследователю необходима приемлемая метастатическая модель, то либо опухолевые клетки второго пассажа вводят мышам через хвостовую вену, либо дожидаются спонтанного метастазирования ксенографта. Ключевым моментом является малореалистичная модель метастазирования при внутриванновом введении, так как большинство клеток задерживаются в легких, но не являются легочными метастазами.

Из-за иммунодефицита хозяина невозможно оценить влияние иммунной системы на опухоль, хотя этот же иммунодефицит — главный преимущественный

фактор приживления. Это ограничение делает невозможным оценку взаимосвязи между терапевтическими клетками и иммунными клетками хозяина в разных вариантах терапии. Еще одной проблемой, которую следует отметить, является инфильтрация опухолевых лимфоцитов в первичной опухоли, что может трансформировать опухоль в лимфому.

О практическом применении математических моделей на примере работ по канцерогенезу

Разнообразие математических подходов к биологическим процессам, анализ на абстрактном уровне, возможность комбинирования нескольких принципиально разных дисциплин — все это, однако, не делает основную задачу математического моделирования более доступной: описание фундаментальных биологических гипотез с помощью количественно измеримых характеристик. Этот первый шаг является гордиевым узлом, «разрубить» который приходится каждому исследователю, стремящемуся перевести вопросы наук о жизни в парадигму анализа, корреляции, сравнения.

Стандартный стиль мышления в таких исследованиях выглядит следующим образом: выбираются переменные («разрубается» гордиев узел); формализуются правила, по которым переменные взаимодействуют. При этом часто мы видим, как исследователь определяет правила взаимодействия раньше, чем выбирает переменные.

Следующим шагом является формирование прогноза, наблюдение и стандартная форма анализа — есть соответствие прогнозу или нет. Если соответствия нет, модель признают «бета-версией» и отправляют на доработку.

Поэтому, как справедливо заметили R.A. Beckman и соавт. [9], все экспериментальные модели, требующие количественного анализа биологических процессов, относятся к одному из двух типов: 1) описательные модели, с помощью которых формируется максимально большой список переменных; 2) концептуальные модели, когда предположение о ключевых переменных делается заранее. Вам наверняка знакомы дизайны экспериментов, где исследователи сначала при анализе данных пациентов составляют таблицу «100 на 100» (от уровня образования до фенотипа опухоли), а затем путем простых логистических регрессий уменьшают количество переменных до 7–10 возможных.

Можно привести несколько вариантов аналитических моделей. Известная любому врачу-исследователю схема «фармакокинетика — фармакодинамика» вполне может быть выстроена как описательно, так и концептуально. Другой пример — это популярные дизайны поиска кандидатных молекул через взаимодействие с разными типами клеток. Одни исследования представляются в описательном варианте [29, 30], другие как концептуальный подход [31]. Поэтому с точки зрения математики процесс поиска кандидатных молекул — своеобразный мост между описанием гипотезы с помощью уравнения и выполнением эксперимента на любой живой модели.

Важно отметить, что математические модели могут быть детерминированными, тогда каждая итерация эксперимента каждый раз дает одинаковый выход, а исследователь формирует описание среднего поведения системы. Противоположными являются стохастические модели, описывающие случайные вариации вокруг усредненного поведения. Повторения итераций приводят к разным результатам в этом случае.

Существующий компромисс между осуществимостью детерминированных моделей и большим потенциалом стохастических моделей всегда является подвижным. Для небольших систем с малым числом ко-вариант (небольшие группы клеток раннего канцерогенеза, небольшое число цитокиновых агентов и т. п.) случайные вариации играют большую роль. В качестве примера можно привести работу, выполняемую на базе Ханты-Мансийской медицинской академии, по преодолению феномена химиорезистентности культуры клеток ЗНО яичника, культивированной *in vivo* в теле лабораторного животного.

Планировалось обследовать около 350 пациентов с предварительным диагнозом «рак яичника». В процессе обследования путем забора клеточного материала формировалась «слепая» группа опухолевых клонов с не определенным по BRCA-мутации генетическим статусом. Проведены контрольные иммуногистохимические исследования клеток на наличие рецепторов к эстрогенам, прогестерону, HER2-neu и определение уровня пролиферативной активности KI-67. Затем клоны опухолевых клеток, содержащие BRCA-мутации, имплантировали в тело лабораторных иммунодефицитных животных (PDX-вариант), а через 3 нед провели процедуру эксплантации и вывода животных из эксперимента. Культуры, полученные из эксплантов, проверяли на устойчивость к PARP-ингибиторам с помощью МТТ-тестирования.

Описанный дизайн относит эксперимент к стохастическому варианту, где за усредненное «поведение» опухолевых клонов взята стандартная реакция на PARP-ингибиторы в виде клеточной гибели. Альтернатива рассматривалась как вариант, требующий детального изучения, NGS-секвенирования, повторение итераций эксперимента с участием выбранного клона уже в виде детерминированной модели.

При этом стоит отметить, что 30 опухолевых клонов, полученных в результате эксплантации, альтернативных вариантов не дали, что позволило продолжать повторение стохастической модели эксперимента до получения нужных клонов. При этом полученный материал позволил построить 106 комбинаций ко-вариант, включающих иммуногистохимический статус опухолевых клонов, принадлежность опухоли к конкретному фенотипу, анамнестические данные пациенток, методы имплантации и локализацию опухолевых клонов в теле лабораторного животного и т. д. Становится понятно, что накопление опухолевого материала будет

требовать использования машинного обучения. Вместо описания конкретных механизмов алгоритмы используют данные для поиска взаимосвязей между переменными и выявления корреляций. Но всегда следует помнить о контролируемом и неконтролируемом обучении. Контролируемое обучение подразумевает использование предопределенных категорий, по которым сортируются данные; алгоритм обучается на данных с целью последующей автоматической сортировки по соответствующим категориям.

Неконтролируемое машинное обучение же предполагает поиск таких категорий, по которым можно сортировать данные. Алгоритмы могут успешно определять пациентов (в нашем случае, опухолевые клоны), которые лучше всего отреагируют на определенное лечение, но на данный момент могут делать это только в пределах диапазона имеющихся данных.

Применение теории игр, вектор Шепли и модель PDX

Существует возможность описания модели PDX с помощью уравнения вектора Шепли, относящегося к теории игр — разделу прикладной математики, а именно к его кооперативной части. Однако необходимо ответить на вопрос о взаимодействии клеточных дифферонов: с точки зрения теории игр считать ли этот процесс формирования архитектуры опухоли в PDX кооперативной игрой (где главным является определение коалиций игроков) или некооперативной (в этих играх главным является достижение «выигрыша» одной стороной и «проигрыша» — другой или «частичного проигрыша» в играх с ненулевой суммой)?

Мы предположили, что в основе формирования полноценного эквивалента архитектуры *in vivo* опухоли в *in vitro* условиях ключевая роль принадлежит так называемому феномену конвергенции. Более того, включение всех дифферонов должно происходить в строго определенной последовательности и в необходимый момент времени. Соответственно, можно считать культуру PDX примером кооперативной игры.

Введем понятия теории игр для описания реституции: множество дифферонов является множеством игроков I , а v — характеристической функцией этих игроков. Любое подмножество S из множества I является коалицией игроков. Характеристической функцией коалиции называют тот «выигрыш», который эта коалиция может получить. Таким образом, множество возможных подмножеств выражается формулой: $v: 2I \rightarrow R$.

Через $|I|$ будем обозначать число игроков в множестве I . В нашем случае игру можно считать супераддитивной. Это означает, что добавление любого игрока к любой коалиции не уменьшает ее полезности (в данном конкретном примере имеется в виду использование различных вирусных векторов или молекул — активаторов процессов ангиогенеза и т. п.). Тогда для

любых непересекающихся коалиций $S, T \subset I$ ($S \cap T = \emptyset$) выполняется: $v(S \cup T) \geq v(S) + v(T)$.

В качестве доказательства принадлежности экспериментальной модели PDX к кооперативной игре приводим три аксиомы:

1. Аксиома симметричности. Решение не должно зависеть от «переупорядочивания» игроков, при которых остаются неизменными значения характеристической функции игры.
2. Аксиома носителя. Если коалиция K такова, что для $\forall S \ v(S) = v(S \cap K)$, то решение $F(v)$ должно обеспечивать ей: $\sum F_i(v) = v(K)$. Коалицию K называют носителем игры. Из условия следует, что выигрыш любой коалиции S определяется исключительно теми ее участниками, которые входят в некоторую коалицию K .
3. Аксиома линейности. Если характеристическая функция игры линейно зависит от характеристических функций других игр, то и ее решение должно линейно зависеть от их решений.

Таким образом, модель PDX удовлетворяет условиям кооперативной супераддитивной игры и может быть описана уравнением вектора Шепли:

$$\Phi_i(v) = \sum_{s: i \in s} \frac{s! \times (n-s-1)!}{n!} \times [v(S \cup i) - v(S)].$$

Заключение

Таким образом, применение междисциплинарного подхода к изучению механизмов канцерогенеза на примере экспериментальных моделей ЗНО человека сопряжено с несколькими группами рисков:

1. Выбор неправильного метода культивирования клеток ЗНО человека приведет к ошибочной интерпретации поведения полученной культуры, несмотря на то что методически и методологически эксперимент будет проведен безупречно.
2. Ошибочно руководствоваться принципом стоимости при выборе метода культивирования на этапе разработки дизайна эксперимента, так как каждый из методов направлен на результат определенного характера. Например, нельзя получить объективную картину внутриопухолевой гетерогенности при использовании моделей CDX, даже если эта методика в исследовательском центре поставлена «на поток», есть научная школа и т. д.
3. Применение математических методов для доказательства гипотетических постулатов требует от исследовательской команды серьезной подготовки в таких областях, как комбинаторика, топология, математический анализ, в том числе с использованием современных программных пакетов. Однако значительные временные затраты на подготовку специалиста возмещаются уже на этапе разработки дизайна эксперимента, когда гипотетический результат становится основой выбора ключевых элементов исследования для достижения поставленных целей.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации: указ Президента Российской Федерации от 28 февраля 2024 г. № 145. Собрание законодательства РФ 2024;10:4653–66.
On the Strategy of scientific and technological development of the Russian Federation: Decree of the President of the Russian Federation dated February 28, 2024 No. 145. Collection of legislation of the Russian Federation 2024;10:4653–66.
2. Porter J.M., McFarlane I., Bartos C. et al. The survival benefit associated with complete macroscopic resection in epithelial ovarian cancer is histotype specific. *JNCI Cancer Spectr* 2024;8(4):pkae049. DOI: 10.1093/jncics/pkae049
3. Manning-Geist B.L., Chi D.S., Long Roche K. et al. Tertiary cytoreduction for recurrent ovarian carcinoma: an updated and expanded analysis. *Gynecol Oncol* 2021;162(2):345–52. DOI: 10.1016/j.ygyno.2021.05.015
4. Kim S.R., Parbhakar A., Li X. et al. Primary cytoreductive surgery compared with neoadjuvant chemotherapy in patients with BRCA mutated advanced high grade serous ovarian cancer: 10 year survival analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2024;34(6):879–85. DOI: 10.1136/ijgc-2023-005065
5. De Jong D., Otfy M., Chen I. et al. Survival and chemosensitivity in advanced high grade serous epithelial ovarian cancer patients with and without a BRCA germline mutation: more evidence for shifting the paradigm towards complete surgical cytoreduction. *Medicina (Kaunas)* 2022;58(11):1611. DOI: 10.3390/medicina58111611
6. Состояние онкологической помощи населению России в 2023 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. The state of oncological care for Russian population in 2023. Edited by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow: MNI OI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMITS radiologii” Minzdrava Rossii, 2024.
7. Vogelstein B., Papadopoulos N., Velculescu V.E. et al. Cancer genome landscapes. *Science* 2013;339(6127):1546–58. DOI: 10.1126/science.1235122
8. Liu Y., Wu W., Cai C. et al. Patient-derived xenograft models in cancer therapy: technologies and applications. *Signal Transduct Target Ther* 2023;8(1):160. DOI: 10.1038/s41392-023-01419-2
9. Beckman R.A. Neutral evolution of rare cancer mutations in the computer and the clinic. *NPJ Syst Biol Appl* 2024;10(1):110. DOI: 10.1038/s41540-024-00436-3
10. Yee C., Dickson K.A., Muntazir M.N. et al. Three-dimensional modelling of ovarian cancer: from cell lines to organoids for discovery and personalized medicine. *Front Bioeng Biotechnol* 2022;10:836984. DOI: 10.3389/fbioe.2022.836984
11. Cortesi M., Warton K., Ford C.E. Beyond 2D cell cultures: how 3D models are changing the in vitro study of ovarian cancer and how to make the most of them. *Peer J* 2024;12:e17603. DOI: 10.7717/peerj.17603
12. Adams K.M., Wendt J.R., Wood J. et al. Cell-intrinsic platinum response and associated genetic and gene expression signatures in ovarian cancer cell lines and isogenic models. *bioRxiv [Preprint]*. 2024: 2024.07.26.605381. DOI: 10.1101/2024.07.26.605381
13. Ruibin J., Guoping C., Zhiguo Z. et al. Establishment and characterization of a highly metastatic ovarian cancer cell line. *Biomed Res Int* 2018;2018:3972534. DOI: 10.1155/2018/3972534
14. Fogh J., Fogh J.M., Orfeo T. One hundred and twenty-seven cultured human tumor cell lines producing tumors in nude mice. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 1977;59(1):221–6. DOI: 10.1093/jnci/59.1.221
15. Xu S.-H., Qin L.-J., Mou H.-Z. et al. Establishment of a highly metastatic human ovarian cancer cell line (HO-8910PM) and its characterization. *J Exp Clin Cancer Res* 1999;18:233–9. PMID: 10464713
16. Li L., Hanahan D. Hijacking the neuronal NMDAR signaling circuit to promote tumor growth and invasion. *Cell* 2013;153(1):86–100. DOI: 10.1016/j.cell.2013.02.051
17. Dsouza V.L., Kuthethur R., Kabekkodu S.P., Chakrabarty S. Organ-on-Chip platforms to study tumor evolution and chemosensitivity. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2022;1877(3):188717. DOI: 10.1016/j.bbcan.2022.188717
18. Carvalho M.R., Barata D., Teixeira L.M. et al. Colorectal tumor-on-a-chip system: a 3D tool for precision onco-nanomedicine. *Sci Adv* 2019;5(5):eaaw1317. DOI: 10.1126/sciadv.aaw1317
19. Herndler-Brandstetter D., Shan L., Yao Y. et al. Humanized mouse model supports development, function, and tissue residency of human natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017;114(45):E9626–E9634. DOI: 10.1073/pnas.1705301114
20. Zeleniak A., Wiegand C., Liu W. et al. De novo construction of T cell compartment in humanized mice engrafted with iPSC-derived thymus organoids. *Nat Methods* 2022;19(10):1306–19. DOI: 10.1038/s41592-022-01583-3
21. Topp M.D., Hartley L., Cook M. et al. Molecular correlates of platinum response in human high-grade serous ovarian cancer patient-derived xenografts. *Mol Oncol* 2014;8(3):656–68. DOI: 10.1016/j.molonc.2014.01.008
22. Cybulska P., Stewart J.M., Sayad A. et al. A genomically characterized collection of high-grade serous ovarian cancer xenografts for preclinical testing. *Am J Pathol* 2018;188(5):1120–31. DOI: 10.1016/j.ajpath.2018.01.019
23. George E., Kim H., Krepler C. et al. A patient-derived-xenograft platform to study BRCA-deficient ovarian cancers. *JCI Insight* 2017;2(1):e89760. DOI: 10.1172/jci.insight.89760
24. De Thaye E., Van de Vijver K., Van der Meulen J. et al. Establishment and characterization of a cell line and patient-derived xenograft (PDX) from peritoneal metastasis of low-grade serous ovarian carcinoma. *Sci Rep* 2020;10(1):6688. DOI: 10.1038/s41598-020-63738-6
25. Ricci F., Guffanti F., Affatato R. et al. Establishment of patient-derived tumor xenograft models of mucinous ovarian cancer. *Am J Cancer Res* 2020;10(2):572–80.
26. Ricci F., Bizzaro F., Cesca M. et al. Patient-derived ovarian tumor xenografts recapitulate human clinicopathology and genetic alterations. *Cancer Res* 2014;74(23):6980–90. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0274
27. Colombo P.E., du Manoir S., Orsett B. et al. Ovarian carcinoma patient derived xenografts reproduce their tumor of origin and preserve an oligoclonal structure. *Oncotarget* 2015;6(29):28327–40. DOI: 10.18632/oncotarget.5069
28. Weroha S.J., Becker M.A., Enderica-Gonzalez S. et al. Tumorgrafts as in vivo surrogates for women with ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(5):1288–97. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2611
29. Cogno N., Axenie C., Bauer R., Vavourakis V. Agent-based modeling in cancer biomedicine: applications and tools for calibration and validation. *Cancer Biol Ther* 2024;25(1):2344600. DOI: 10.1080/15384047.2024.2344600
30. Sové R.J., Jafarnejad M., Zhao C. et al. QSP-IO: a quantitative systems pharmacology toolbox for mechanistic multiscale modeling for immuno-oncology applications. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 2020;9(9):484–97. DOI: 10.1002/psp4.12546
31. Laukien F.H. The evolution of evolutionary processes in organismal and cancer evolution. *Prog Biophys Mol Biol* 2021;165:43–8. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2021.08.008

Вклад авторов

Т.Р. Биктимиров, М.Я. Кузьменко, Я.А. Карпова, Л.В. Халикова: написание текста статьи;
В.А. Шидин: утверждение окончательного варианта статьи;
В.Л. Янин: научное редактирование.

Authors' contributions

T.R. Biktimirov, M.Ya. Kuzmenko, Ya.A. Karpova, L.V. Khalikova: writing the text of the article;
V.A. Shidin: approval of the final version of the article;
V.L. Yanin: scientific editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Т.Р. Биктимиров / T.R. Biktimirov: <https://orcid.org/0000-0003-3210-4704>
В.А. Шидин / V.A. Shidin: <https://orcid.org/0000-0003-1396-5381>
В.Л. Янин / V.L. Yanin: <https://orcid.org/0000-0001-5723-1246>
М.Я. Кузьменко / M.Ya. Kuzmenko: <https://orcid.org/0009-0002-1102-0915>
Я.А. Карпова / Ya. A. Karpova: <https://orcid.org/0009-0002-6419-8098>
Л.В. Халикова / L.V. Khalikova: <https://orcid.org/0000-0003-1266-5774>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interests.

Финансирование. Исследование проведено при поддержке «Фонда научно-технологического развития Югры», соглашение № 2023-124-05 от 12 июля 2023 г.

Funding. The study was conducted with the support of the Ugra Foundation for Scientific and Technological Development, Agreement No. 2023-124-05 dated July 12, 2023.