

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ XAV-939 В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА В МОНОТЕРАПИИ И В КОМБИНАЦИИ С ПАКЛИТАКСЕЛОМ НА ЭТАПЕ *IN VITRO*

Ляшенко И.С., Романова М.В., Гончарова А.С., Шатова Ю.С., Дурицкий М.Н., Позднякова В.В.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: m.v.mindar@gmail.com

Согласно базе данных ВОЗ из всех случаев онкологических заболеваний в мире у женщин на долю рака молочной железы (РМЖ) приходится 16 %. На развитие РМЖ оказывают влияние сигнальные пути Notch, Hedgehog (HH), NF- κ B и Wnt. Сигнальный путь Wnt связан с распространением опухолевых клеток, их инвазией и резистентностью к существующим противоопухолевым препаратам. Целью данной работы являлось изучение влияния XAV-939 на паспортизированную клеточную линию РМЖ MDA-MB-453 и первичную клеточную линию ТНРМЖ в монотерапии и в комбинации с веществом сравнения – паклитакселом. Для данной работы использовали паспортизированную культуру карциномы РМЖ MDA-MB-453 и первичную клеточную линию тройного негативного РМЖ (ТНРМЖ), полученную на базе лаборатории клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. В качестве тестируемых веществ использовали паклитаксел, XAV-939 и комбинацию XAV-939 и паклитаксела. Каждое вещество использовали в трех различных концентрациях – 10, 20 и 30 мкМ. Влияние веществ оценивали на трех временных точках культивирования клеток с веществами – 24, 48 и 72 ч. В результате проведенной работы было выявлено отсутствие противоопухолевого эффекта XAV-939 в отношении паспортизированной клеточной линии MDA-MB-453 и первичной клеточной линии ТНРМЖ. Однако при комбинировании данного препарата со стандартной терапией в виде паклитаксела было выявлено значимое усиление эффективности данного препарата в отношении обеих клеточных линий при трех различных концентрациях препаратов (10, 20, 30 мкМ). Полученные данные обуславливают дальнейшую необходимость исследования комбинации данных препаратов в отношении опухолевых клеток молочной железы.

Ключевые слова: рак молочной железы, ТНРМЖ, XAV-939, МТТ-тест, *in vitro*, MDA-MB-453, первичная клеточная линия.

IN VITRO STUDY OF THE ANTITUMOR EFFICACY OF XAV-939 AGAINST HUMAN BREAST CANCER CELLS IN MONOTHERAPY AND IN COMBINATION WITH PACLITAXEL

Lyashenko I.S., Romanova M.V., Goncharova A.S., Shatova Yu.S., Duritskiy M.N., Pozdnyakova V.V.

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: m.v.mindar@gmail.com

According to the WHO database, of all cases of cancer in women in the world, breast cancer (BC) accounts for 16%. The development of breast cancer is influenced by the Notch, Hedgehog (HH), NF- κ B and Wnt signaling pathways. The Wnt signaling pathway is associated with tumor cell proliferation, invasion, and resistance to existing anticancer drugs. The purpose of this work was to study the effect of XAV-939 on the certified breast cancer cell line MDA-MB-453 and the primary TNBC cell line in monotherapy and in combination with a reference substance, paclitaxel. For this work, we used a certified culture of breast carcinoma MDA-MB-453 and a primary cell line of triple negative breast cancer (TNBC), obtained at the laboratory of cell technologies of the Federal State Budgetary Institution "National Medical Research Center of Oncology" of the Russian Ministry of Health. The test substances used were paclitaxel, XAV-939, and a combination of XAV-939 and paclitaxel. Each substance was used at three different concentrations: 10, 20 and 30 μ M. The effect of the substances was assessed at 3 time points of culturing cells with substances – 24, 48 and 72 hours. As a result of the work, the lack of antitumor effect of XAV-939 against the certified MDA-MB-453 cell line and the primary TNBC cell line was revealed. However, when combining this drug with standard therapy in the form of paclitaxel, a significant increase in the effectiveness of this drug was revealed against both cell lines at three different drug concentrations (10 μ M, 20 μ M, 30 μ M). The data obtained determine the further need to study the combination of these drugs in relation to breast tumor cells.

Keywords: breast cancer, TNBC, XAV-939, MTT-test, *in vitro*, MDA-MB-453, primary cell line.

Согласно базе данных ВОЗ из всех случаев онкологических заболеваний в мире у женщин на долю РМЖ приходится 16 %. Так, в 2018 г. в мире было зарегистрировано около 2,1 млн новых случаев заболевания РМЖ среди женщин, количество повторно диагностированных случаев заболевания выросло на 20 %, а уровень смертности на 14 % [1]. Существует ряд факторов риска, повышающих вероятность развития РМЖ, к ним относятся: возраст от 40 лет, раннее начало менструации, использование гормональных контрацептивов, поздняя беременность, ожирение, малоподвижный образ жизни, злоупотребление алкоголем и обилие жирной пищи в рационе [2]. Помимо факторов окружающей среды на развитие РМЖ оказывают влияние такие сигнальные молекулярные пути, как Notch, Hedgehog (НН), NF-κB и Wnt. Рассмотрим подробнее каждый из них.

Активацию сигнального пути Notch наблюдают как в нормальных, так и в злокачественных клетках. Данный путь является главным регулятором направления и дифференцировки клеток [3] и активируется путем связывания трансмембранного рецептора Notch с лигандом, выделенным соседней клеткой. Экспрессия Notch регулируется гипоксией и цитокинами (IL-1, IL-6 и лептином). Передача сигналов по данному пути зависит от связывания рецептора Notch и лиганда Delta/Serrate посредством эндоцитоза и процесса межклеточной коммуникации. Исследования показали, что aberrантная передача сигналов Notch индуцирует карциному молочной железы [4]. Сигнальный путь НН облегчает эмбриональное развитие и дифференцировку клеток. Семейство белков НН состоит из лигандов Sonic-SHH, Indian-ИНН и Desert-DHH, которые в каноническом пути НН связываются с трансмембранным рецептором клеточной поверхности Patched (PTCH). В свободном состоянии PTCH1 ингибирует трансмембранный белок Smoothed (SMO), при связывании PTCH1 с лигандом репрессия SMO ослабляется, инициируется внутриклеточный каскад, способствующий активации семейства белков глиома-ассоциированного онкогена (GLI), которые активируют все транскрипционные эффекты сигнального пути НН [5]. Активность GLI регулируется цитоплазматическим белком SUFU, который ингибируется белком SMO. При нерегулируемой активности SMO создаются условия для индукции роста опухолевых клеток [6]. Сигнальный путь NF-κB играет решающую роль в формировании иммунного ответа, выживании опухолевых клеток и воспалении. Он подразделяется на два основных типа – канонический и альтернативный.

Активация канонического пути осуществляется провоспалительными цитокинами, PAMPs и DAMPs, которые действуют через специфические рецепторы и адаптерные молекулы. Альтернативный путь активируется подгруппой цитокинов семейства TNF, включая лимфотоксин, активатор рецептора лиганда NF-κB, лиганд CD40 и фактор активации В-клеток семейства TNF [3]. Канонический путь, согласно некоторым исследованиям,

ускоряет самообновление стволовых клеток рака молочной железы. Активация альтернативного пути способствует усилению туморогенности клеток РМЖ человека. Кроме того, оба типа сигнальных путей способствуют активации сигнального пути Notch, посредством повышения уровня экспрессии мембранного белка JAG1, что приводит к расширению популяции стволовых клеток РМЖ [7].

Сигнальный путь Wnt связан с распространением опухолевых клеток, их инвазией и резистентностью к существующим противоопухолевым препаратам. Лиганды Wnt активируют различные внутриклеточные сигналы, подразделяющиеся на β -катенин-зависимый и β -катенин-независимый пути – с развитием РМЖ зачастую связывают β -катенин-зависимый Wnt путь [8]. Регуляторным фактором передачи сигналов Wnt/ β -катенина является танкираза (TNKS), относящаяся к семейству белков, ответственных за поли-АДФ-рибозилирование и взаимодействующая с последовательностями связывания теломерных повторов. Нокдаун TNKS ответственен за уменьшение образования опухолей и пролиферации клеток в клеточных опухолевых линиях [9]. Ввиду этого актуально изучение влияния ингибитора Wnt-пути XAV-939, который также оказывает ингибирующее действие на белки TNKS1 и TNKS2, подавляя транскрипцию β -катенина в сигнальном пути Wnt.

Цель данной работы – изучение влияния XAV-939 на паспортизированную клеточную линию РМЖ MDA-MB-453 и первичную клеточную линию ТНРМЖ в монотерапии и в комбинации с веществом сравнения – паклитакселом.

Материалы и методы исследования

Создание первичной культуры

Полученный после резекции опухоли фрагмент ткани размером около 1 см, очищенный от некроза и соединительной ткани, помещали на 1 мин в 70 % спирт для исключения вероятности контаминации. После чего измельчали ткань в ламинарном боксе на фрагменты около 1 мм, переносили их в центрифужную пробирку с 10 мл питательной среды DMEM и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 2 мин. Удаляли супернатант и переносили преципитат во флакон со смесью питательной среды и коллагеназы. Помещали флакон в CO₂ инкубатор с температурой 37 °С на 2 ч, по истечении которых отфильтровали суспензию и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 2 мин. Удаляли супернатант, преципитат отмывали от коллагеназы стерильным DMEM с добавлением 5 % FBS и повторяли этап центрифугирования. Данную процедуру проводили дважды. Полученную суспензию клеток культивировали стандартным способом.

MTT-тест

Для оценки жизнеспособности клеток применяли MTT-тест, заключающийся в колориметрической оценке активности клеток по интенсивности реакции восстановления

тетразолиевого красителя НАДФ-Н зависимыми оксидоредуктазными ферментами до формазана, обладающего пурпурным окрасом [10]. Посев культуры проводился согласно стандартному протоколу пересева клеточной культуры. После достижения клетками около 85 % конфлюентности снимали клетки с флакона, подсчитывали количество и высевали по 2 тыс. клеток в три 96-луночных планшета. Помещали в инкубатор на сутки, по истечении которых отбирали питательную среду, вносили в каждую ячейку по 100 мкл тестируемых веществ и снова помещали планшеты в инкубатор на 24, 48 и 72 ч в соответствии с запланированным дизайном. После инкубации клеточной линии с тестируемыми веществами удаляли среду из лунок, вносили в каждую лунку по 50 мкл рабочего раствора МТТ и инкубировали еще 4 ч в условиях CO₂ инкубатора. После удаляли жидкость из лунок, добавляли по 100 мкл DMSO, перемешивали суспензию до растворения кристаллов формазана. Определяли оптическую плотность в каждой лунке при 540 нм с помощью микропланшетного ридера Infinite 200Pro.

Тестируемые вещества, клеточные линии и дизайн эксперимента

Для данной работы использовали паспортизированную культуру карциномы РМЖ MDA-MB-453 и первичную клеточную линию тройного негативного РМЖ (ТНРМЖ), полученную на базе лаборатории клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. В качестве тестируемых веществ использовали паклитаксел, ХАV-939 и комбинацию ХАV-939 и паклитаксела. Каждое вещество использовали в трех различных концентрациях – 10, 20 и 30 мкМ. Для каждой клеточной линии анализировали действие тестируемых веществ в трех описанных выше концентрациях в трех временных точках длительности инкубации – 24, 48 и 72 ч. От пациентки было получено письменное согласие на передачу биологического материала. Проведение исследования было одобрено локальной этической комиссией ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

Статистический анализ

Для определения нормальности распределения полученных данных использовали критерий Шапиро – Уилка. Для дальнейшего анализа данных использовали t-критерий Стьюдента – для определения различий между группами и показателей описательной статистики – среднее, ошибка среднего.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе данной работы была проведена оценка жизнеспособности клеток паспортизированной клеточной линии MDA-MB-453 при воздействии паклитакселем, ХАV-939 и комбинацией данных веществ в концентрации 10, 20 и 30 мкМ в течение 24, 48 и 72 ч. Данные о среднем и ошибке среднего в группах представлены в процентах от контроля, который был принят за 100 %, и отображены в табл. 1.

Таблица 1

Влияние паклитаксела, ХАV-939 и комбинации паклитаксела с ХАV-939 при концентрациях веществ 10, 20, 30 мкМ и культивировании в течение 24, 48 и 72 ч на жизнеспособность клеток МВА-МВ-453

24 ч				
		10 мкМ	20 мкМ	30 мкМ
Паклитаксел	Среднее (%)	93,68	93,78	88,60
	Ошибка среднего	3,63	4,58	5,44
ХАV-939	Среднее (%)	93,05	89,23	87,28
	Ошибка среднего	4,55	6,30	5,79
ХАV-939 + паклитаксел	Среднее (%)	91,39	89,76	88,28
	Ошибка среднего	5,49	5,91	7,78
48 ч				
Паклитаксел	Среднее (%)	76,19	66,41	61,80
	Ошибка среднего	4,32	1,46	2,05
ХАV-939	Среднее (%)	93,39	88,49	85,77
	Ошибка среднего	3,14	5,50	7,11
ХАV-939 + паклитаксел	Среднее (%)	73,97	62,31	51,34
	Ошибка среднего	3,27	2,09	4,82
72 ч				
Паклитаксел	Среднее (%)	72,80	52,99	46,49
	Ошибка среднего	3,10	2,02	1,95
ХАV-939	Среднее (%)	95,44	91,84	90,03
	Ошибка среднего	4,65	5,50	4,64
ХАV-939 + паклитаксел	Среднее (%)	45,76	34,53	28,80
	Ошибка среднего	1,75	1,98	2,62

При анализе данных о воздействии тестируемых веществ на клетки линии МВА-МВ-453 в трех исследуемых концентрациях при культивировании в течение 24 ч статистических различий между экспериментальными группами и контролем выявлено не было.

При анализе данных о воздействии паклитаксела, ХАV-939 и комбинации тестируемых веществ на клетки линии МВА-МВ-453 в трех исследуемых концентрациях при культивировании 48 ч выявили статистические различия между группами с введением паклитаксела и комбинации паклитаксела с ХАV-939 при сравнении с контролем в трех исследуемых концентрациях. Данные о жизнеспособности клеток МВА-МВ-453 при воздействии тестируемыми веществами в концентрациях 10, 20 и 30 мкМ при культивировании в течение 48 ч представлены на рис. 1.

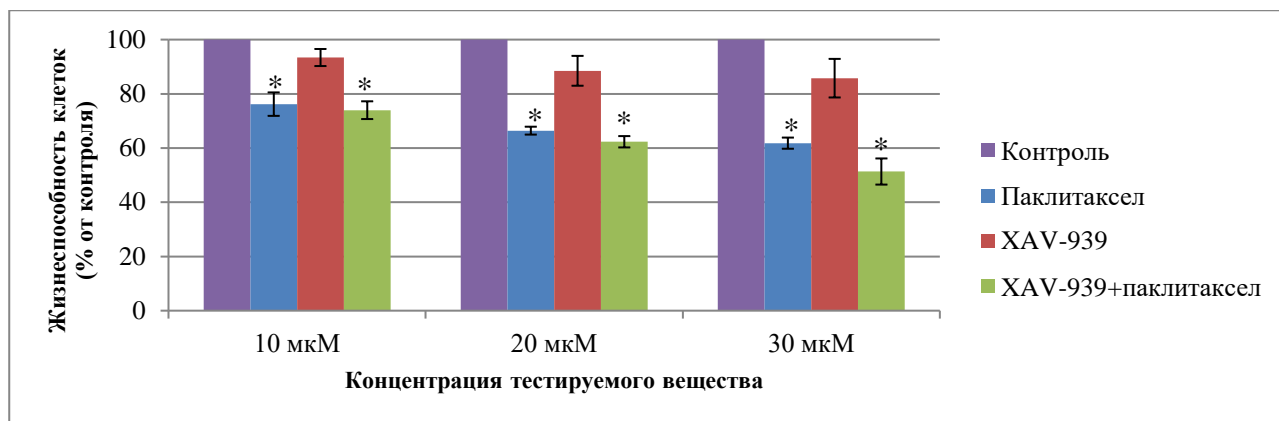


Рис. 1. Жизнеспособность клеток MDA-MB-453 в группах: «Паклитаксел», «XAV-939», «XAV-939 + паклитаксел» при концентрации веществ 10, 20 и 30 мкМ и культивировании в течение 48 ч.

Примечание. Данные представлены в виде среднего, планки погрешности отображают ошибку среднего; * – статистически значимые различия по t-критерию Стьюдента ($p < 0,05$)

Согласно данным, полученным при воздействии паклитаксела, XAV-939 и комбинации данных веществ на клетки линии MDA-MB-453 в концентрациях 10, 20 и 30 мкМ при культивировании в течение 72 ч, значимые отличия при сравнении с контролем были установлены для групп с введением паклитаксела и комбинации паклитаксела с XAV-939 во всех исследуемых концентрациях. Данные о жизнеспособности клеток MDA-MB-453 при воздействии тестируемыми веществами в концентрациях 10, 20 и 30 мкМ при культивировании в течение 72 ч представлены на рис. 2.

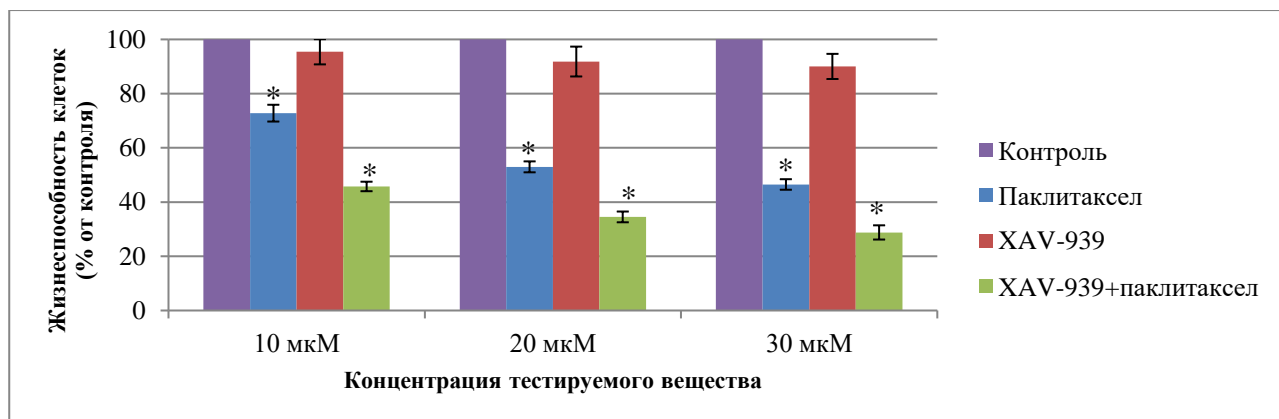


Рис. 2. Жизнеспособность клеток MDA-MB-453 в группах: «Паклитаксел», «XAV-939», «XAV-939 + паклитаксел» при концентрации веществ 10, 20 и 30 мкМ и культивировании в течение 72 ч.

Примечание. Данные представлены в виде среднего, планки погрешности отображают ошибку среднего; * – статистически значимые различия по t-критерию Стьюдента ($p < 0,05$).

В ходе работы была проведена оценка жизнеспособности клеток первичной линии клеток, полученных от пациентки, на базе лаборатории клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ

онкологии» Минздрава России, при воздействии паклитакселом, ХАV-939 и комбинацией данных веществ в концентрации 10, 20 и 30 мкМ в течение 24, 48 и 72 ч. Данные о среднем и ошибке среднего в группах представлены в процентах от контроля, который был принят за 100 %, и отображены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние паклитаксела, ХАV-939 и комбинации паклитаксела с ХАV-939 при концентрациях веществ 10, 20, 30 мкМ и культивировании в течение 24, 48 и 72 ч на жизнеспособность клеток первичной линии ТНРМЖ

24 ч				
		10 мкМ	20 мкМ	30 мкМ
Паклитаксел	Среднее (%)	88,90	86,38	84,74
	Ошибка среднего	7,30	7,02	7,34
ХАV-939	Среднее (%)	87,36	90,49	84,69
	Ошибка среднего	5,93	5,46	6,96
ХАV-939 + паклитаксел	Среднее (%)	83,82	85,41	83,75
	Ошибка среднего	7,78	7,75	9,79
48 ч				
Паклитаксел	Среднее (%)	83,77	66,63	60,58
	Ошибка среднего	8,78	5,61	4,23
ХАV-939	Среднее (%)	94,26	86,86	83,37
	Ошибка среднего	4,18	6,10	9,73
ХАV-939 + паклитаксел	Среднее (%)	67,68	55,04	46,41
	Ошибка среднего	3,49	3,09	3,06
72 ч				
Паклитаксел	Среднее (%)	63,02	56,44	49,61
	Ошибка среднего	4,19	2,12	2,72
ХАV-939	Среднее (%)	92,48	93,03	88,87
	Ошибка среднего	4,79	5,46	5,49
ХАV-939 + паклитаксел	Среднее (%)	40,51	37,95	26,59
	Ошибка среднего	3,52	4,06	2,68

Согласно данным о воздействии тестируемых веществ на клетки первичной линии ТНРМЖ в трех исследуемых концентрациях – 10, 20, 30 мкМ – при культивировании в течение 24 ч статистических различий между экспериментальными группами и контролем выявлено не было.

При культивировании первичной клеточной линии ТНРМЖ в течение 48 ч с тестируемыми веществами было выявлено значимое отличие от контроля в группе с введением паклитаксела при концентрациях 20 и 30 мкМ. При сравнении с контролем группы с комбинацией паклитаксела и ХАV-939 значимое отличие было выявлено во всех трех концентрациях. В группе с монотерапией ХАV-939 значимых отличий выявлено не было. Данные о жизнеспособности клеток первичной линии ТНРМЖ при воздействии тестируемыми веществами в концентрациях 10, 20 и 30 мкМ при культивировании в течение 48 ч представлены на рис. 3.

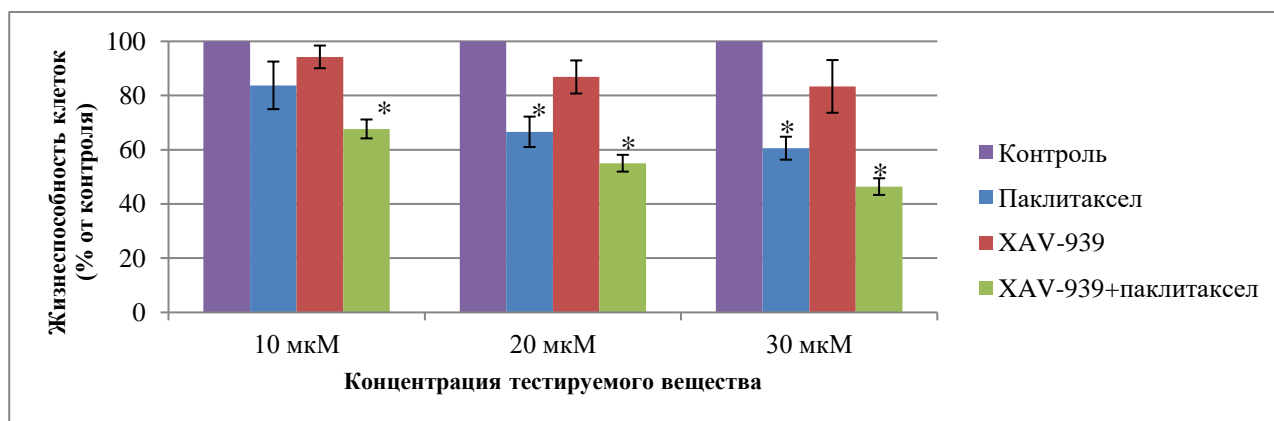


Рис. 3. Жизнеспособность клеток первичной линии ТНРМЖ в группах: «Паклитаксел», «ХАV-939», «ХАV-939 + паклитаксел» при концентрации веществ 10, 20 и 30 мкМ и культивировании в течение 48 ч.

Примечание. Данные представлены в виде среднего, планки погрешности отображают ошибку среднего; * – статистически значимые различия по t-критерию Стьюдента ($p < 0,05$)

В соответствии с данными о воздействии паклитаксела, ХАV-939 и комбинации данных веществ на клетки первичной линии ТНРМЖ в концентрациях 10, 20 и 30 мкМ при культивировании в течение 72 ч были выявлены статистические различия между группами с введением паклитаксела и комбинации паклитаксела с ХАV-939 при сравнении с контролем во всех исследуемых концентрациях. Данные о жизнеспособности клеток первичной линии ТНРМЖ при воздействии тестируемыми веществами в концентрациях 10, 20 и 30 мкМ при культивировании в течение 72 ч представлены на рис. 4.

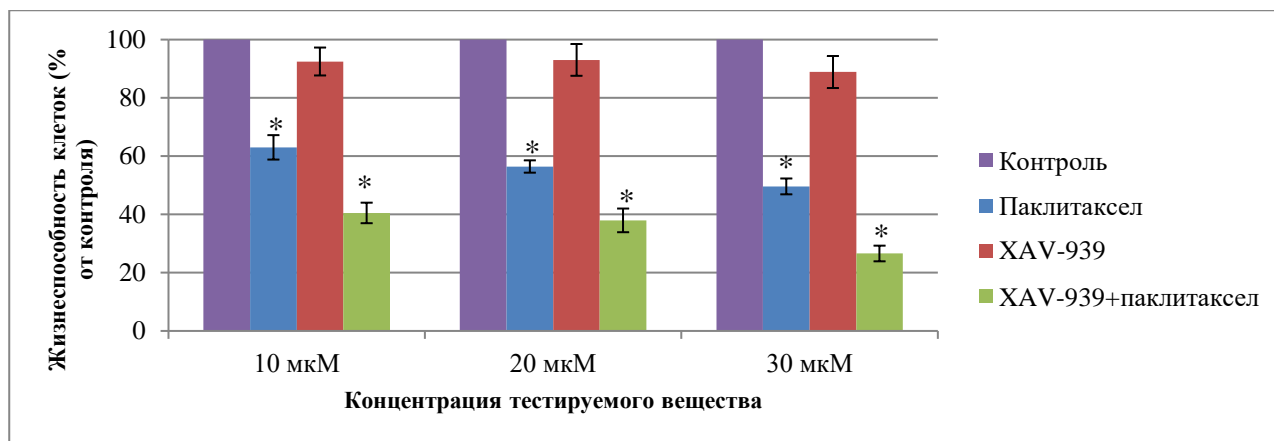


Рис. 4. Жизнеспособность клеток первичной линии ТНРМЖ в группах: «Паклитаксел», «ХАV-939», «ХАV-939 + паклитаксел» при концентрации веществ 10, 20 и 30 мкМ и культивировании в течение 72 ч.

Примечание. Данные представлены в виде среднего, планки погрешности отображают ошибку среднего; * – статистически значимые различия по t-критерию Стьюдента ($p < 0,05$)

В результате проведенной работы было выявлено отсутствие противоопухолевого эффекта ХАV-939 в отношении паспортизированной клеточной линии MDA-MB-453 и первичной клеточной линии ТНРМЖ. Однако при комбинировании данного препарата со стандартной терапией в виде паклитаксела было выявлено значимое усиление эффективности данного препарата в отношении обеих клеточных линий при трех различных концентрациях препаратов (10, 20, 30 мкМ). Согласно многим международным исследованиям доказано, что сигнальный путь Wnt влияет на эмбриональное развитие и гомеостаз тканей, однако нарушение регуляции передачи сигналов оказывает значительное влияние на формирование многих типов рака, в том числе РМЖ, что обуславливает необходимость поиска способов ингибирования данного сигнального пути [9, 11]. Согласно исследованию команды ученых Чжан Л.Н. Хуан И-Х. и Чжао Л. (2019) ХАV-939 оказывал ингибирующее действие на способность к пролиферации, миграции и инвазии многоядерных макрофагов ввиду торможения реакций сигнального пути Wnt/ β -катенин [12]. В исследовании Сюэцинь Т. с коллегами (2021) проводилось изучение влияния субъединицы бета А ингибина (ИННВА) в отношении развития РМЖ. В данной работе было определено действие сверхэкспрессируемого ИННВА как онкогена при РМЖ, однако использование ХАV-939 как ингибитора пути Wnt/ β -катенина снижало стимулирующий эффект ИННВА на пролиферацию, миграцию и инвазию клеток РМЖ [13]. Согласно исследованию команды ученых во главе с Хуан Ш-М.А. (2009) воздействие на опухолевые клетки исключительно ХАV-939 не способствует эффективному ингибированию роста и метастазирования клеток РМЖ, ввиду чего необходимо применение новой стратегии лечения, например комбинирования ингибитора Wnt-пути со стандартной терапией [14]. Нашей командой на базе ИЛЦ ФГБУ

«НМИЦ онкологии» Минздрава России было проведено исследование влияния ХАV-939 в отношении колоректального рака человека на гетеротопической модели *in vivo*. В этом исследовании было выявлено наличие противоопухолевого эффекта в отношении подкожных ксенографтов исключительно при применении комбинации ХАV-939 с 5-фторурацилом [15]. В соответствии с проанализированными литературными и экспериментальными данными необходимо дальнейшее изучение свойств ХАV-939 как ингибитора Wnt пути на различных опухолевых моделях с исследованием его молекулярных свойств в отношении клеток РМЖ, а также влияния комбинации данного вещества с препаратами стандартной терапии на опухолевые модели.

Заключение

В заключение можно отметить, что ХАV-939 в монотерапии не выявил противоопухолевой активности, однако при комбинации со стандартной терапией в виде паклитаксела отмечали более выраженный противоопухолевый эффект чем при монотерапии стандартным препаратом во всех исследуемых концентрациях при культивировании с препаратами в течение 48 и 72 ч. Полученные данные обуславливают необходимость дальнейшего исследования комбинации данных препаратов в отношении опухолевых клеток молочной железы.

Список литературы

1. Кит О.И., Попова Н.Н., Шихлярова А.И., Франциянц Е.М., Моисеенко Т.И., Меньшенина А.П., Жукова Г.В., Протасова Т.П., Арапова Ю.Ю. Развитие посткастрационного синдрома и корригирующее действие ксенона в экспоненциальном дозовом режиме у пациенток молодого возраста с онкопатологией репродуктивных органов // Южно-Российский онкологический журнал. 2020. № 1 (3). С. 6–17.
2. Аймухамбетов Е.Н., Хисметова З.А., Самарова У.С., Сенбеков М.Т. Эпидемиологические аспекты рака молочной железы. Обзор литературы // Наука и здравоохранение. 2021. № 23 (6). Р. 198–204. DOI: 10.34689/SH.2021.23.6.021.
3. Wang L., Jin Z., Master R.P., Maharjan C.K., Carelock M.E., Reccoppa T.B.A., Kim M-Ch., Kolb R., Zhang W. Breast cancer stem cells: signaling pathways, cellular interactions, and therapeutic implications // Cancers (Basel). 2022. № 14 (13). Р. 3287. DOI: 10.3390/cancers14133287.
4. Kontomanolis E.N., Kalagasidou S., Pouliliou S., Anthoulaki X., Georgiou N., Papamanolis V., Fasoulakis Z.N. The Notch pathway in breast cancer progression // Scientific world journal. 2018. № 2018. Р. 2415489.

5. Liu S., Dontu G., Mantle I.D., Patel S., Ahn N shik., Jackson K.W., Jackson K.W., Suri P., Wicha M.S. Hedgehog signaling and bmi-1 regulate self-renewal of normal and malignant human mammary stem cells // *Cancer Res.* 2006 . № 66 (12). P. 6063–6071. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0054.
6. Bhateja P., Cherian M., Majumder S., Ramaswamy B. The Hedgehog signaling pathway: a viable target in breast cancer? // *Cancers (Basel)*. 2019. № 11 (8). P. 1126. DOI: 10.3390/cancers11081126.
7. Sales-Dias J., Ferreira A., Lamy M., Domenici G., Monteiro S.M.S., Pires A., Lemos A.R., Kucheryava Kh., Nobre L.S., Sousa P.M., Banderias T.M., Silva G., Barbas A. Development of antibodies against the Notch ligand Delta-Like-1 by phage display with activity against breast cancer cells // *N Biotechnol.* 2021. № 64. P. 17–26. DOI: 10.1016/j.nbt.2021.05.003.
8. Merikhian P., Eisavand M.R., Farahmand L. Triple-negative breast cancer: understanding Wnt signaling in drug resistance // *Cancer Cell Int.* 2021. № 21. P. 419. DOI: 10.1186/s12935-021-02107-3.
9. Fazary A.E., Alfaifi M.Y., Elbehairi S.E.I., Amer M.E., Nasr M.S.M., Abuamara T.M.M., Badr D.A., Ju Yi-Hs., Mohamed A.F. Bioactivity studies of hesperidin and XAV939 // *ACS Omega.* 2021. № 6 (30). P. 20042–20052. DOI: 10.1021/acsomega.1c03080.
10. Афанасьева А.Н., Сапарова В.Б., Сельменских Т.А., Макаренко И.Е. Выбор оптимального метода детекции жизнеспособности клеточных культур для тестов на пролиферативную активность и цитотоксичность // *Лабораторные животные для научных исследований.* 2021. № 2. С.16–24. DOI: 10.29296/2618723X-2021-02-03.
11. Polakis P. Wnt signaling in cancer // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012. № 4 (5). P.a008052. DOI: 10.1101/cshperspect.a008052.
12. Zhang L.N., Huang Y.H., Zhao L. Fusion of macrophages promotes breast cancer cell proliferation, migration and invasion through activating epithelial-mesenchymal transition and Wnt/ β -catenin signaling pathway // *Arch Biochem Biophys.* 2019. № 676. P. 108137. DOI: 10.1016/j.abb.2019.108137.
13. Xueqin T., Jinhong M., Yuping H. Inhibin subunit beta A promotes cell proliferation and metastasis of breast cancer through Wnt/ β -catenin signaling pathway // *Bioengineered.* 2021. № 12 (2). P. 11567–11575. DOI: 10.1080/21655979.2021.1971028.
14. Huang S.M.A., Mishina Y.M., Liu S., Cheung A., Stegmeier F., Michaud G.A., Charlat O., Wiелlette E., Zhang Y., Wiessner S., Hild M., Serluca F., Shao W., Cheng H., Shultz M., Rau Ch., Schirle M., Schlegl J., Ghidelli S., Fawell S., Lu Ch., Curtis D., Kirschner M.W., Lengauer Ch., Finan P.M., Tallarico J.A., Bouwmeester T., Porter J.A., Bauer A., Cong F. Tankyrase inhibition stabilizes

axin and antagonizes Wnt signalling // Nature. 2009. № 461 (7264). P. 614–620. DOI: 10.1038/nature08356.

15. Гончарова А.С., Егоров Г.Ю., Колесников Е.Н., Максимов А.Ю., Романова М.В., Сагакянц А.Б., Бондаренко Е.С. Исследование влияния ХАV-939 на опухолевые стволовые клетки колоректального рака человека на гетеротопических моделях *in vivo* // Якутский медицинский журнал. 2023. № 3 (83). С. 5–8. DOI: 10.25789/УМЖ.2023.83.01.