

DOI: <https://doi.org/10.23868/gc.352561>

## Особенности получения и перспективы применения тумороидов колоректального рака

М.Г. Краснова<sup>1</sup>, А.С. Ефремова<sup>1</sup>, Т.Б. Бухарова<sup>1</sup>, Н.Ю. Каширская<sup>1, 2</sup>, А.С. Цуканов<sup>3</sup>,  
Н.А. Горбань<sup>1, 4</sup>, Д.С. Михайленко<sup>1, 5</sup>, В.В. Стрельников<sup>1</sup>, Д.В. Гольдштейн<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва, Российская Федерация;

<sup>2</sup> Московский областной научно-исследовательский клинический институт (МОНКИ) имени М.Ф. Владимирского, Москва, Российская Федерация;

<sup>3</sup> Национальный медицинский исследовательский центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих, Москва, Российская Федерация;

<sup>4</sup> Центральная клиническая больница с поликлиникой Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Российская Федерация;

<sup>5</sup> Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

### АННОТАЦИЯ

В обзоре обобщены передовые достижения в области создания органоидов — инструмента для точного моделирования злокачественных опухолей. Приведены условия воспроизведения микроокружения *in vitro* на основе органоидной технологии, рассмотрены различные методы культивирования тумороидов и проведён анализ их свойств на примере колоректального рака.

В заключительной части обзора суммированы литературные данные о применении тумороидов в прогнозировании терапевтического ответа опухоли на химиотерапевтические препараты; изучении механизмов, связанных с резистентностью; а также об оптимизации стратегий и потенциальных методов лечения пациентов со злокачественными опухолями. В настоящее время модель тумороидов широко используется в персонализированной медицине, фундаментальных исследованиях, скрининге противоопухолевых препаратов и для создания библиотек опухолей с различными мутационными профилями.

**Ключевые слова:** опухолевый органоид; тумороид; колоректальный рак; 3D-культура.

### Для цитирования:

Краснова М.Г., Ефремова А.С., Бухарова Т.Б., Каширская Н.Ю., Цуканов А.С., Горбань Н.А., Михайленко Д.С., Стрельников В.В., Гольдштейн Д.В. Особенности получения и перспективы применения тумороидов колоректального рака // Гены и клетки. 2022. Т. 17, № 4. С. 47–62. DOI: <https://doi.org/10.23868/gc.352561>

DOI: <https://doi.org/10.23868/gc.352561>

# Features of obtaining and prospects for the use of colorectal tumor organoids

Maria G. Krasnova<sup>1</sup>, Anna S. Efremova<sup>1</sup>, Tatiana B. Bukharova<sup>1</sup>, Natalia Yu. Kashirskaya<sup>1,2</sup>, Aleksey S. Tsukanov<sup>3</sup>, Nina A. Gorban<sup>1,4</sup>, Dmitry S. Mikhaylenko<sup>1,5</sup>, Vladimir V. Strelnikov<sup>1</sup>, Dmitry V. Goldshtein<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russian Federation;

<sup>2</sup> M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical Research Institute (MONIKI), Moscow, Russian Federation;

<sup>3</sup> National Medical Research Center of Coloproctology named after A.N. Ryzhikh, Moscow, Russian Federation;

<sup>4</sup> Central Clinical Hospital with a Polyclinic Department at the Administration of the President of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation;

<sup>5</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

## ABSTRACT

The review summarizes innovative advances in the field of organoids as a tool for accurate cancer modeling. The conditions for reproducing the microenvironment *in vitro* based on organoid technology are generalized, various methods for cultivating the tumoroids are considered, and an analysis of their properties is carried out on the example of colorectal cancer.

The final part of the review summarizes the literature data on the use of tumoroids in predicting the therapeutic response of a tumor to chemotherapeutic drugs, studying the mechanisms associated with resistance, and optimizing strategies and potential treatments for patients with malignant tumors. Currently, the tumoroid model is widely used in personalized medicine, basic research, screening of antitumor drugs, and to create libraries of tumors with various mutational profiles.

**Keywords:** tumor organoid; tumoroid; colorectal cancer; 3D culture.

## To cite this article:

Krasnova MG, Efremova AS, Bukharova TB, Kashirskaya NYu, Tsukanov AS, Gorban NA, Mikhaylenko DS, Strelnikov VV, Goldshtein DV. Features of obtaining and prospects for the use of colorectal tumor organoids. *Genes & cells*. 2022;17(4):47–62. DOI: <https://doi.org/10.23868/gc.352561>

Received: 24.09.2022

Accepted: 18.11.2022

Published: 14.05.2023

## ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак (КРР) занимает одну из верхних строчек в структуре заболеваемости и смертности среди всех видов онкологических процессов. Он является вторым по распространённости видом рака у лиц женского пола и третьим — у лиц мужского пола. В процентном отношении заболеваемость КРР среди всех видов рака составляет 7,9%, при этом 90% заболевших — люди старше 50 лет [1]. Анализ статистики за период с 2011 по 2021 год показывает рост заболеваемости КРР на 70,6%, пик приходится на 2020 год, когда было выявлено 282,6 тыс. случаев, в 2021 году — 282,1 тыс.

Колоректальный рак — это совокупность злокачественных новообразований различных отделов толстой кишки: прямой, сигмовидной, ободочной (табл. 1 [2]).

## КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК: ПРОГНОЗ ВЫЖИВАЕМОСТИ, ОСНОВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

### Наследственные и спорадические формы колоректального рака

Колоректальный рак имеет наследственные и спорадические формы. Большая часть случаев относится к спорадическим, на развитие которых влияют внешние канцерогенные факторы [3]. Только 5–10% всех зарегистрированных случаев КРР связаны с наличием у больных наследственных онкологических синдромов. Основные из них — наследственный неполипозный КРР (синдром Линча) и семейный аденоматоз толстой кишки [4, 5].

Синдром Линча — аутосомно-доминантное заболевание, вызванное мутациями в генах репарации неспаренных нуклеотидов (DNA mismatch repair, MMR), в частности *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* [6]. Подобные нарушения в репарационной системе MMR провоцируют появление опухолей, характеризующихся микросателлитной нестабильностью [4]. Микросателлиты — это короткие

повторяющиеся последовательности ДНК, которые встречаются во всём геноме. Именно повторяющиеся фрагменты позволяют ДНК-полимеразе проскальзывать в этих участках, из-за чего происходят мутации и несоответствия оснований [5].

Семейный аденоматоз толстой кишки также является аутосомно-доминантным заболеванием. Примерно у 80% больных мутации идентифицированы в гене *APC*. У лиц с этой патологией, как правило, развивается более 100 аденом толстой кишки (у 50% пациентов — в возрасте 15 лет, у 95% — в возрасте 35 лет); при отсутствии терапии к 40 годам КРР возникает почти у всех пациентов с семейным аденоматозом толстой кишки [7].

### Молекулярные механизмы возникновения спорадического колоректального рака

Существует три основных пути развития КРР: хромосомная нестабильность, опухоли с фенотипом CIMP (CpG island methylation phenotype) и микросателлитная нестабильность (MSI) [8].

Опухоли с хромосомной нестабильностью характеризуются количественными и структурными хромосомными aberrациями, мутациями в различных протоонкогенах и генах-супрессорах опухолей (*APC*, *TP53*, протоонкоген Kirsten-ras (*KRAS*)), а также в гене *DCC* [9]. CIMP КРР характеризуется широко распространённым метилированием островков CpG в промоторных областях, что приводит к инактивации генов *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* [10]. На долю MSI приходится 15% спорадических случаев КРР. В настоящее время всем пациентам с КРР рекомендуется проводить скрининг на мутации в системе MMR [11]. Примерно у половины пациентов с КРР выявляют мутации во втором экзоне гена *KRAS*, относящегося к семейству протоонкогенов *RAS* [1].

### Прогноз выживаемости при колоректальном раке

Основываясь на системе TNM, КРР подразделяют на 4 стадии с разными прогностическими и терапевтическими последствиями [12].

Для КРР характерна внутриопухолевая гетерогенность [13], которую связывают с метастазированием,

**Таблица 1.** Динамика заболеваемости колоректальным раком в России в 2011–2021 годах, тысяч человек

Локализация, нозологическая форма	Годы										
	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021*
Ободочная кишка	111,9	116,7	121,4	127,5	132,9	138,1	142,8	149,6	157,8	161,6	161,0
Прямая кишка, ректосигмоидное соединение	87,3	90,4	93,4	98,0	101,6	105,4	108,3	111,6	118,1	121,0	121,1
Всего	199,2	207,1	214,8	217,5	234,5	243,5	251,1	261,2	275,9	282,6	282,1

\* рассчитано по населению Российской Федерации на 2020 год.

высоким риском рецидива и резистентностью ко многим известным препаратам, что напрямую указывает на неблагоприятный прогноз течения заболевания.

Для более эффективного лечения КРР необходимы персонализированные *in vitro* исследования индивидуальной гетерогенности и восприимчивости опухоли к лекарственным препаратам у отдельных пациентов. Достижения в области стволовых клеток привели к созданию перспективной технологии органоидов, которые повторяют трёхмерную структуру тканей *in vitro* и более точно отражают молекулярные, биохимические и геномные характеристики опухоли, профили экспрессии генов по сравнению с линиями клеток [14], а также воспроизводят опухолевое микроокружение. Подобные модели органоидов, известные как тумороиды, получили широкое распространение при изучении злокачественных новообразований, определении потенциальных терапевтических мишеней и оценке эффективности известных и новых (разрабатываемых) препаратов для дальнейшей терапии.

## СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ И СТРУКТУРА 3D-КУЛЬТУР ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК, ДОСТОИНСТВА И НЕДОСТАТКИ МЕТОДОВ

Органоиды представляют собой микроскопические самоорганизующиеся трёхмерные структуры, выращенные из стволовых клеток *in vitro*. Они повторяют многие морфологические и функциональные характеристики органов *in vivo*, из которых были получены. Впервые метод получения органоидов был описан в 1944 году J.A. Holtfreter при изучении эмбрионов амфибий [15]. Более 30 лет назад Mina Bessel культивировала сфероиды клеток эпителия молочной железы человека [16]. Метод довольно быстро нашёл применение в медицине и биологии: его стали использовать для моделирования развития злокачественных опухолей *in vitro*, а также для изучения воздействия лекарственных препаратов.

Монослойные культуры опухолевых клеток *in vitro* — недорогие и относительно простые в использовании, однако они не отражают точных характеристик опухолей, сложные взаимодействия между клетками которых и между ними и микроокружением имеют решающее значение в канцерогенезе. На смену пересеваемым линиям клеток пришли 3D-модели — тумороиды (опухолевые органоиды).

### Сфероиды на средах с низким уровнем адгезии и метод висячих капель

Сфероиды представляют собой скопления опухолевых клеток, выращенные на субстрате с низким уровнем

адгезии. Образование такой структуры позволяет раковым клеткам находиться в непосредственной близости друг от друга в трёхмерной конфигурации [17].

Формирование сфероидов также происходит при использовании метода висячей капли: в нём используется сила натяжения поверхности питательной среды для агрегации клеток в сфероид [18]. У обоих методов одинаковые ограничения в использовании — это низкий уровень прикрепления органоидов к субстрату. Основными преимуществами сфероидов и метода висячих капель являются их низкая стоимость, лёгкость воспроизведения модели и простота использования [19].

### Получение 3D-культур опухолевых клеток с использованием матригеля (Matrigel®)

Для выращивания 3D-культур опухолевых клеток и имитации окружающего их внеклеточного матрикса (ВКМ) используют специальные биологические трёхмерные среды, способные выполнять каркасную функцию. К ним относится матригель (Matrigel®), децеллюляризованные матрицы и коллаген [20]. Подобное сходство свойств окружающей органоиды среды необходимо для лучшей биомимикрии формирующихся агрегатов. Существуют различные способы для создания искусственного ВКМ: 3D-биопечать гидрогелей [21], гиалуроновая биопечать с регулировкой жёсткости молекулярной решётки [22], децеллюляризация ткани, применение пептидных гидрогелей [23].

Матригель чаще, чем другие 3D-матрицы, используют в качестве субстрата для культивирования клеток. По составу он очень близок к базальной мембране, которая богата ламинином, коллагеном, факторами роста [24]. Матригель — это солюбилизированный матрикс базальной мембраны, секретлируемый клетками саркомы мышей Энгельберт–Холм–Сворм [25]. Данная линия клеток была обнаружена у мышей дикого типа, изначально идентифицирована как хондросаркома из-за наличия обильного ВКМ. Экстракт в основном состоит из ламинина-111 и других белков в высокой концентрации (более 4 мг/мл), он превращается в гель при 24–37 °C [26]. К недостаткам матригеля можно отнести небольшие колебания состава белков и их концентрации между разными партиями. Ещё одним его недостатком является низкая проницаемость для веществ ростовой среды и относительно высокая плотность, что может привести к сложностям при изучении механизмов инвазии и метастазирования опухолевых клеток [26]. Ряд дополнительных исследований *in vitro* показал потенциальную роль базальной мембраны в стимуляции клеточной адгезии, дифференцировке клеток и росте тканевых эксплантатов. Например, при выращивании на матригеле с экстрактом базальной мембраны (ЭБМ/матригель) эпителиальные клетки молочной железы прекращали пролиферацию, образовывали ацинарные

структуры и увеличивали продукцию белков молока [27]. Костные клетки в этих условиях формировали кластеры, пронизанные сетью канальцев с отростками остеоцитов внутри. Опухолевые же клетки, выращенные в 3D-культуре на ЭБМ/матригеле, продолжали пролиферировать и демонстрировали инвазивный потенциал. Был разработан количественный и простой анализ *in vitro*, позволяющий измерить инвазивную активность. Интересно, что некоторые «спящие» злокачественные клетки оставались в покое и в таком матриксе, однако они хорошо размножались на поверхности планшетов, предназначенных для выращивания клеточных культур. Биоматериал (клетки и ткани, включая стволовые клетки), выращенный или покрытый ЭБМ/матригелем, широко используется для трансплантации; при таких условиях наблюдается более высокая выживаемость и регенерация тканей после трансплантации [28].

### Каркасы для биопечати и клеточные чернила

Трёхмерная (3D) биопечать — современная технология послойного нанесения так называемых биочернил для изготовления тканеподобных конструкций (в том числе функциональных живых тканей или органов) со структурой, напоминающей их природные прототипы. Трёхмерную биопечать можно разделить на экструзионную, капельную и лазерную. Биопечать на основе экструзии использует механические, пневматические или соленоидные системы дозирования для нанесения биочернил в виде непрерывных нитей. Капельная биопечать основана на использовании биочернил в виде небольших жидких частиц при помощи электрического воздействия. Лазерная биопечать печатает 3D-структуры по принципу фотополимеризации материала, её можно применять для точного позиционирования клеток, например при лазерном направленном письме (*laser direct-write*) и лазерно-индуцированном прямом переносе [29].

Выбор биочернил для каждого способа биопечати обычно зависит от физических и химических свойств используемых материалов, а также их биосовместимости [30]. Разработанные биочернила на основе альгинатов и поливинилового спирта позволяют печатать каркасы с заданной пористостью, жёсткостью, концентрацией и другими параметрами [31]. К недостаткам метода биопечати относят негативное влияние биочернил на жизнеспособность некоторых культур, что приводит к усложнению экспериментов. В литературе описаны варианты каркасов на основе хитозана и желатина для культивирования опухолевых клеток [32].

Основной прорыв в сфере биопечати — печать тканей и органов для дальнейшей трансплантации пациентам. В частности, производится печать таких органов и структур, как кровеносные сосуды, кости и суставы [33]. Печать сосудов (капилляры, вены, артерии) сложна из-за их маленького диаметра, однако при помощи

испаряемых биочернил на основе Pluronic F-127 удалось получить каналы диаметром до 45 мкм [34]. Описаны эксперименты, в которых были напечатаны пористые каркасы из полипропилена фумарата, подходящие для применения в инженерии костной ткани [35]. Из PEG и PCL были напечатаны каркасы в форме ушной раковины, заселённые хондроцитами с целью дальнейшей трансплантации [36]. Разработаны также новые наноцеллюлозно-альгинатные биочернила, позволяющие поддерживать культуру хондроцитов, полученных из хрящевой части носовой перегородки человека в напечатанных тканях [33].

При помощи 3D-биопечати также были сформированы органоиды с ВКМ молочной железы [21]. G. Urkasemsin и соавт. [37] сообщают о получении из стволовых клеток этим методом эпителиальных органоидов, подобных слюнным железам. Такие органоиды обладают нейронной сетью, которая реагирует на нейростимуляторы слюноотделения.

Помимо печати органов и органоидов, биопечать также используется для получения разных тканей в качестве моделей *in vitro* для скрининга лекарств, моделирования заболеваний и ряда других целей [38].

### Проточные методы и чипы

Проточные системы и системы биореакторов используются для получения органоидов, поскольку они позволяют совместно культивировать разные виды клеток. С их помощью можно формировать микроопухоли со стромой и компарментализовать клетки в соответствии с заданными параметрами. В 2020 году проведено исследование отдельных опухолевых моделей КРП, показавшее возможность применения различных методов анализа на таких моделях (в частности, биоинформатического) [39]. Основное преимущество проточного метода — возможность получения органоидов или опухолевых моделей в больших количествах, что позволяет проводить множественные персонализированные исследования.

В качестве модели применяют также микрофлюидные органоиды, выращенные на чипах. К таким платформам относится OrganoPlate, которая позволяет одновременно работать с 40 микрофлюидными чипами с клеточными культурами. С её помощью, например, получали почечные тубулоиды для высокоперсонализированного моделирования заболеваний выделительной системы [40]. К достоинствам этой модели можно отнести регулируемый газовый состав (включая кислород) и состав питательных веществ, необходимых для культур. В таких моделях отсутствуют компоненты ВКМ, однако их можно вводить дополнительно [41]. На моделях с применением чипов существует возможность измерять глубину инвазии опухолевых клеток.

Сравнение достоинств и недостатков разных методов получения 3D-культур опухолевых клеток представлено в табл. 2 [22, 23, 25, 42–47].

**Таблица 2.** Сравнение методов получения 3D-культур опухолевых клеток

Метод	Характеристики	Источник
Среды с низким уровнем адгезии Метод висячей капли	<p>Достоинства:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– низкая стоимость;</li> <li>– высокая производительность;</li> <li>– воспроизводимость;</li> <li>– простота использования</li> </ul> <p>Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– строение 3D-культур опухолевых клеток отличается от опухолей <i>in vivo</i> из-за отсутствия стромы;</li> <li>– нет внеклеточного матрикса и коллагена, к которому сфероиды могут прикрепляться;</li> <li>– невозможно измерить опухолевую инвазию в окружающие ткани</li> </ul>	[22, 42, 43]
Матригель (Matrigel®)	<p>Достоинства:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– можно культивировать совместно со стромальными клетками;</li> <li>– можно измерять расстояние инвазии;</li> <li>– при культивировании белки внеклеточного матрикса положительно влияют на рост органоидов;</li> <li>– хорошая проницаемость для питательных веществ</li> </ul> <p>Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– высокая стоимость;</li> <li>– вариабельность состава матригеля в зависимости от партии (в частности, факторов роста TGF-β, EGF и VEGF, а также от общей концентрации белков);</li> <li>– трудно добиться нужной степени компартиментализации клеток</li> </ul>	[25, 43, 44]
Каркасы для биопечати и клеточные чернила	<p>Достоинства:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– возможность регулировать физические (пористость, жёсткость) и химические (концентрация, состав) свойства каркаса (3D-матрикса);</li> <li>– возможность исследовать поведение опухоли в изменяющихся условиях</li> </ul> <p>Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– высокая стоимость;</li> <li>– из-за искусственного происхождения используемых биочернил жизнеспособность и коэффициент прикрепления клеток могут быть низкими</li> </ul>	[25, 45, 46]
Проточные методы и чипы	<p>Достоинства:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– возможность выращивать одновременно несколько культур и воссоздавать давление тканевой жидкости;</li> <li>– достижимость нужной компартиментализации, возможность определить границы между опухолью и стромой;</li> <li>– возможность измерения расстояния инвазии между опухолевыми и стромальными клетками;</li> <li>– высокая производительность</li> </ul> <p>Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– высокая стоимость;</li> <li>– отсутствие внеклеточного матрикса, однако его можно вводить в систему дополнительно</li> </ul>	[23, 43, 47]

## ТУМОРОИДЫ (ОПУХОЛЕВЫЕ ОРГАНОИДЫ)

Тумороиды представляют собой трехмерные самоорганизующиеся и самообновляемые агрегаты опухолевых клеток с плотным ВКМ, активно использующиеся в тканевой инженерии и моделировании опухолевых новообразований *in vitro* [32]. Хотя такие модели могут быть дорогостоящими в зависимости от типа выращиваемой *in vitro* опухоли, они характеризуются высоким сходством с первичной опухолью, из которой получены. В целом модель тумороидов позволяет воспроизвести *in vitro* геномные, молекулярные и биохимические

характеристики опухоли, профили экспрессии её генов, а также имитировать опухолевое микроокружение.

Основные преимущества использования тумороидов по сравнению с линиями опухолевых клеток — их большее сходство с первичной опухолью благодаря наличию пролиферативного градиента, передаче сигналов между ВКМ и клетками, неравномерной доступности питательных веществ для клеток органоида, возможности паракринной передачи сигнала; увеличение контактов между соседними клетками за счёт их выращивания в 3D-условиях. В работе [44] проведена сравнительная оценка токсичности многочисленных противоопухолевых препаратов в отношении различных типов опухолевых

клеток, выращенных в системах 3D-культивирования и в формате 2D-монослоя. Исследования показали, что опухолевые клетки, полученные в 3D-системе, менее чувствительны к противоопухолевым агентам, чем при 2D-условиях культивирования.

На органоидах, полученных из биоптата KPP и соседней здоровой ткани, исследована экспрессия мРНК. Показано, что органоиды являются адекватной моделью для анализа транскриптома, поскольку в опухолевых органоидах KPP установлена повышенная транскрипция опухолевых маркеров (*PROX1*, *BAMBI* и *PTCH1*), а в нормальных органоидах повышенно экспрессировались гены дифференцированных клеток: например, *CA2* — маркер клеток цилиндрического эпителия или *MUC1* — маркер бокаловидных клеток [45].

При сравнении моделей линий клеток и опухолюидов выделяют следующие преимущества последних: высокое сходство с первичной опухолью, высокая вероятность получения стабильной (пересеваемой) культуры, возможность персонализированного подхода и воспроизводимость ответов на препараты у пациентов (табл. 3). Преимущества адгезивных линий клеток — низкая стоимость, простота культивирования и быстрое получение результатов высокопроизводительного скрининга [46]. Ключевыми свойствами опухолюидов являются повторение и сохранение гетерогенного клеточного состава первичных опухолей, мутационного профиля первичных опухолей и паттернов экспрессии общих маркеров клинической диагностики [48]. В многочисленных исследованиях показано, что из первичных опухолей KPP получают различные культуры опухолюидов [42, 43, 47]. Каждая культура уникальна, их гетерогенный клеточный состав (гистологический анализ), профиль экспрессии генов (анализ транскриптома), мутационный профиль (анализ совокупности соматических мутаций) отражают уникальные свойства исходной опухоли. M. Van De Wetering и соавт. [45] сравнили профили соматических мутаций, обнаруженные в опухолюидах и биоптатах, из которых они были получены (первичная опухоль).

Частота медианного совпадения составляла 0,88, что является довольно высоким показателем.

### Строение опухолюидов

В результате изучения строения опухолюидов, полученных из клеток карциномы лёгкого китайского хомячка в 1971 году, их структуру разделили на 3 зоны: 1) наружная зона, состоящая из быстро делящихся клеток; 2) промежуточная зона медленного деления; 3) зона некроза в центре, схожая с макроструктурой карцином человека и животных [49].

Рост опухолюидов на неадгезивной поверхности делится на три этапа: агрегация, компактизация, нарастание. Е-кадгерин, актин, микротрубочки и тирозинкиназа-2 — активные элементы, обеспечивающие адгезию на каждом этапе. Однако роль тирозинкиназы-2 с каждым этапом становится всё больше, а е-кадгерина и актина — меньше. При сравнении развития опухолюидов и солидных опухолей *in vivo* было показано, что первые две фазы приходятся на метастазирование, на адгезию опухоли и её стабилизацию, а последняя фаза — на пролиферацию [50]. Опухлюиды KPP, полученные от пациентов, повторяют характеристики опухоли, из которой они получены, и являются мощным инструментом для исследования рака [45, 51, 52]. Применение таких моделей имеет практическое значение для прогнозирования результатов лечения пациентов в условиях персонализированной медицины в области онкологии [53].

### Получение опухолюидов колоректального рака

Для получения опухолюидов *in vitro* используется следующий алгоритм: ткань хирургически резецируется у ранее не леченных пациентов с диагнозом KPP, поскольку противоопухолевая терапия может исказить результат и полученная культура опухолюидов будет отличаться от первичной опухоли [54]. Первичную опухолевую ткань промывают фосфатно-солевым буфером (PBS) с антибиотиком-антимикотиком (гентамицином, метро니다золом). Затем образцы разрезают на фрагменты

**Таблица 3.** Сравнение моделей линий клеток и опухолюидов

Характеристики	Линии клеток	Опухлюиды
Вероятность (возможность) получения	Низкая	Высокая
Сходство с первичной опухолью — мутационный профиль	Низкое	Высокое
Сходство с первичной опухолью — гетерогенный клеточный состав	Низкое	Высокое
Персонализированный подход	–	+
Стоимость	Низкая	Средняя
Высокопроизводительный скрининг	+	+
Воспроизводимость ответов на препараты у пациентов	–	+
Время получения результатов скрининга	<1 мес	1–3 мес

размером 1×1 мм и помещают в среду с протеазами (коллагеназа XI, диспаза II, TrypLE) на 40–60 мин при 37 °C для разделения на одиночные клетки. После обработки ферментами полученную суспензию пропускают через фильтр с ячейками 70 мкм для удаления крупных кусочков ткани и центрифугируют для осаждения изолированных опухолевых клеток. Полученные опухолевые клетки заключают в матригель и осуществляют культивирование в среде с факторами роста, низкомолекулярными ингибиторами протеинкиназ, антиоксидантами и др. [55].

Важные параметры, на которые необходимо обратить внимание при работе с опухолями *in vitro*, — это соотношение концентрации O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, градиент образующихся катаболитов/метаболитов, скорость инвазии опухолей, наличие или отсутствие некротической оболочки опухолей [56].

## ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ТУМОРОИДОВ

Тумороиды являются удобной моделью для фундаментальных исследований в онкологии, с их помощью можно проводить поиск мутаций для персонализированной терапии, измерять уровни экспрессии генов в опухоли, проводить ДНК-секвенирование с дальнейшим анализом мутационного профиля. Основные направления применения опухолей представлены на рис. 1.

## Фундаментальные исследования на опухолях

В работе [57] показано, что опухоли KPP, в которых были внесены мутации в генах *APC*, *SMAD4*, *TP53* и *KRAS*, росли аналогично опухолям *in vivo* и развивали опухоли при трансплантации в капсулу почки у мышей. У мышей, нокаутированных по этим генам, наблюдалось различие в развитии KPP: так, для опухолей с мутациями в трёх генах (*APC*, *SMAD4* и *TP53*) фиксировались отсутствие инвазивного роста и низкая пролиферативная способность, в то время как у опухолей с мутациями в четырёх генах (включая *KRAS*) одновременно наблюдалось увеличение скорости инвазии.

Инактивация *APC* и *TP53* также вызывает анеуплоидию, провоцирующую опухолевую прогрессию. М. Mataño с соавт. [58] методом CRISPR/Cas9 внесли мутации в 5 генов, которые чаще всего отвечают за злокачественную трансформацию (*APC*, *SMAD4*, *TP53*, *KRAS*, *PIK3CA*). Полученные на опухолях результаты свидетельствуют о том, что данные мутации позволяют поддерживать токсическое микроокружение опухоли, но для инвазивного поведения требуются дополнительные молекулярные повреждения [58]. Существует исследование, демонстрирующее, что выбор между мезенхимально-эпителиальным переходом или эпителиально-мезенхимальным переходом при ответе на гипоксию опосредуется регуляторной сетью, включающей *HIF1α*, p53, miR-34a, *INH3*, *PP1* и *STAT3* [59]. К эпителиально-мезенхимальному



Рис. 1. Основные направления применения опухолей в научных исследованиях.



переходу и дальнейшему метастазированию также приводит сверхэкспрессия клаудина-1, однако клаудин-7, напротив, является онкосупрессором. На модели опухолей изучена взаимосвязь между уровнем образования клаудина-1 и клаудина-7 и метастазированием опухоли, которая подтвердилась при оценке выживаемости пациентов и их опухолевой резистентности к химиотерапии. Транскриптомный анализ когорты пациентов с КРР выявил следующие гены, продукты которых связаны с клаудином: *PIK3CA*, *SLC6A6*, *TMEM43* и *ASAP1* [60]. Активность гена *IDO1* в эпителии непосредственно способствует онкогенезу толстого кишечника путём активации пролиферативного/антиапоптотического пути *PI3K/Akt* [61]. На модели опухолей показано, что более четверти колоректальных опухолей с недостаточностью работы системы MMR, пролеченных неоадьювантной химиотерапией, показали прогрессирование заболевания, но были чувствительны к химиолучевой терапии, поэтому статус MMR необходимо определять заранее при всех видах КРР с тщательным мониторингом ответа на неоадьювантную химиотерапию [10]. На органоидах, полученных из первичной опухоли и метастазов, показано, что метастазирование сопровождается повышением уровня мутаций по сравнению с исходной опухолью и «потерей зависимости» от нишевых факторов [52].

При колоректальном канцерогенезе перикрипальные клетки пролиферируют с образованием опухоли-ассоциированного микроокружения, способствующего развитию опухоли. Предотвращение экспансии/дифференцировки этих клеток может быть эффективным терапевтическим подходом при КРР [62]. Идентифицированы также синергические комбинации лекарств для воздействия на *KRAS*-зависимые химиолучезаболевательные виды рака на модели КРР [63]. M. Van De Wetering с соавт. [45] выполнили скрининг 83 препаратов на созданной библиотеке органоидов КРР и показали, что мутация *TP53* обуславливает устойчивость к препарату nutlin-3a — ингибитору MDM2, мутации *RAS* обуславливают устойчивость к цетуксимабу — ингибитору EGFR. Установлено, что при мутации *RNF43* резко увеличивается чувствительность к ингибиторам выброса (секреции) Wnt.

C.S. Verissimo с соавт. [64] показали, что мутация G12D в гене *KRAS* вызывает устойчивость к комбинации общих ингибиторов HER и ингибиторов MEK, в отличие от опухолей *KRAS* дикого типа, которые погибают при действии этих препаратов. Полученные на опухолях основные результаты изучения генов и механизмов, влияющих на развитие КРР, перечислены в табл. 4 [51, 65–73].

**Таблица 4.** Результаты исследования мутаций, полученные на опухолях колоректального рака

Биомаркер	Частота встречаемости, %	Локализация мутаций	Участник пути	Ожидаемый результат терапии	Лечение	Источник
<i>APC</i>	8	Экзоны 1 и 15	Wnt/ $\beta$ -катенин	Резистентность к HDAC и 5-фторурацилу	Эрлотиниб + NSAIDs	[65–67]
<i>SMAD4</i>	10–15	Экзоны 3, 4, 5, 11, 12	Сигнальный путь TGF- $\beta$	Резистентность к 5-фторурацилу и неоадьювантной химиотерапии	n/a	[68, 69]
<i>TP53</i>	60	Экзоны 5, 7, 8		n/a	Nutlin-3* + TRAIL	[51, 70, 71]
<i>KRAS</i>	40	Экзоны 2, 3, 4	Усиление пролиферации за счёт активации сигнального пути EGFR	Устойчивость к анти-EGFR терапии	Химиотерапия + бевацизумаб	[69]
<i>NRAS</i>	3–5					[69]
<i>BRAF</i>	8–12	Экзон 15			FOLFOXIRI + бевацизумаб	[1, 72]
<i>PIK3CA</i>	34	Экзоны 9 и 20	Сигнальный каскад PIK3CA/AKT/mTOR	n/a	n/a	[1, 73]
ERBB (HER2)	5	Амплификация хромосомы 17	Тирозинкиназа семейства EGFR/ERBB	Чувствительность к анти-HER2-терапии	Трастузумаб* +/- пертузумаб* или +/- лапатиниб*	[69]
Гены MSI/MMR	12–15	n/a	Система репарации неспаренных нуклеотидов	Чувствительность к ингибиторам контрольных точек	Пембролизумаб* + ниволумаб* +/- ипилиму-маб*	[69]

Примечание: n/a (not available) — лечение и влияние терапии в литературе не описаны. \* препарат не зарегистрирован в Государственном реестре лекарственных средств Российской Федерации <http://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx>.

## Разработка новых противоопухолевых препаратов

Разработку противоопухолевых препаратов затрудняет отсутствие репрезентативных модельных систем, которые могли бы адекватно воспроизводить основные характеристики опухоли *in vivo* [71].

На модели тумороидов показано, что соединение FL3 ингибирует Wnt-зависимый путь, что приводит к замедлению и остановке опухолеобразования *in vitro* [72]. Экстракт растения *Andrographis paniculata* также оказался высокоэффективным для лечения хеморезистентности КРР, так как он оказывает антипролиферативный эффект на клетки с устойчивостью к 5-фторурацилу [73]. Используют комбинации методов в зависимости от целей исследования: в частности, CRISPR/Cas9 редактирование тумороидов, полученных из клеток пациента, позволяет определять новые терапевтические мишени и разрабатывать таргетные препараты. Именно таким методом был выявлен механизм работы гена-супрессора опухоли *ARID1A* [74]. В некоторых работах на тумороидах исследовали длину теломера и активность теломераз с целью дальнейшего использования их в качестве мишени для терапии [75]. Однако, даже если известна молекулярная мишень, на которую действует конкретное лекарственное средство, это не гарантирует, что пациенты будут восприимчивы к разработанному лечению [76].

## Персонализированная медицина

Отсутствие релевантных моделей опухолей, подходящих для скрининга лекарств, показало необходимость в системах, которые лучше поддаются моделированию заболевания для подбора индивидуальной схемы лечения. Модель тумороидов позволяет персонализированно подбирать наиболее эффективную противоопухолевую терапию пациентам, в том числе на ранних стадиях заболевания [71]. Для этого от больного необходимо получить культуру тумороидов, которые выращивают в многолуночных планшетах (96 или 384), затем обрабатывают противоопухолевыми агентами и анализируют выживаемость, в результате назначают препарат, к которому опухоль наиболее восприимчива.

Опухоли КРР характеризуются сильной клеточной гетерогенностью, что может отражаться в различных ответах на лекарственные препараты в культуре тумороидов, полученной от одного пациента [45]. M. Van De Wetering и соавт. [45] выполнили полногеномное секвенирование культур тумороидов в имеющемся у них биобанке для исследования гетерогенности КРР, в результате чего были обнаружены изменения в опухолевых супрессорах *APC*, *FBXW7*, *TP53* и *SMAD4* и мутации в генах *KRAS* и *PIK3CA*.

Группой F. Weeber с соавт. [71] на когорте пациентов проведено исследование, в результате которого

установлено, что результаты тестирования эффективности препаратов на органоидах соотносятся с клиническими результатами терапии.

Большой скрининг для персонализированной медицины КРР проводили С. Pauli с соавт. [51]. Из 60 культур тумороидов создали биобанк, провели полногеномное секвенирование и проверили ответ культур тумороидов на 160 препаратов. Разработка методов секвенирования следующего поколения (next generation sequencing, NGS) позволила провести эффективное секвенирование ДНК опухолей. NGS помогло сделать значительный шаг вперед в персонализированной медицине, позволив обнаруживать соматические драйверные мутации, мутации зародышевой линии, а также мутации, приводящие к резистентности. Имеются исследования, позволяющие выявлять онкомаркеры рака груди и прогнозировать дальнейшую терапию [77]. Модель тумороидов в персонализированной медицине даёт возможность «нацеливаться» на определённые опухолевые клетки, оставляя здоровые клетки неповреждёнными [78]. В исследовании J. Drost и H. Clevers [78] использовали тумороиды гепатоцитов для исследования гепатотоксичности, поскольку именно она часто является причиной отказа от терапии рака печени. Авторами было сделано предположение, что препарат, который покажет свою эффективность в терапии, должен вызывать апоптоз только опухолевых органоидов и не проявлять токсичности в отношении нормальных гепатоцитов.

На данный момент в применении тумороидов все ещё существует много ограничений (дороговизна методов, большое количество образцов биопсии, трудоёмкость). Чтобы преодолеть эти сложности, необходимо продолжать исследования в области органоидов и тумороидов для более быстрого интегрирования этих моделей в терапию [79].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стремительное развитие модели тумороидов КРР позволило успешно создавать биобанки с опухолевыми органоидами, изучать опухолеобразование и метастазирование в фундаментальных и прикладных исследованиях. Различные биоинформатические анализы (в частности, полногеномное и транскриптомное секвенирование) высоко гетерогенных опухолей, возникающих у пациентов при колоректальном раке, были успешно проведены на тумороидах, что позволяет использовать данную модель для скрининга лекарств и подбора максимально эффективной терапии.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНО

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБНУ

«Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова».

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sagaert X., Vanstapel A., Verbeek S. Tumor heterogeneity in colorectal cancer: what do we know so far? // *Pathobiology*. 2018. Vol. 85, N 1–2. P. 72–84. doi: 10.1159/000486721
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шохзадова О.А. Состояние онкологической помощи населению России в 2020 году. 2021. 236 с.
3. Weitz J., Koch M., Debus J., et al. Colorectal cancer // *Lancet*. 2005. Vol. 365, N 9454. P. 153–165. doi: 10.1016/S0140-6736(05)17706-X
4. Grady W.M. Genetic testing for high-risk colon cancer patients // *Gastroenterology*. 2003. Vol. 124, N 6. P. 1574–1594. doi: 10.1016/s0016-5085(03)00376-7
5. Vilar E., Gruber S.B. Microsatellite instability in colorectal cancer — the stable evidence // *Nature Rev Clin Oncol*. 2012. Vol. 7, N 3. P. 153–162. doi: 10.1038/nrclinonc.2009.237
6. Truninger K., Menigatti M., Luz J., et al. Immunohistochemical analysis reveals high frequency of *PMS2* defects in colorectal cancer // *Gastroenterol*. 2005. Vol. 128, N 5. P. 1160–1171. doi: 10.1053/j.gastro.2005.01.056
7. Sieber O.M., Lipton L., Crabtree M., et al. Multiple colorectal adenomas, classic adenomatous polyposis, and germ-line mutations in *MYH* // *New Engl J Med*. 2003. Vol. 348, N 9. P. 791–799. doi: 10.1056/NEJMoa025283
8. Bogaert J., Prenen H. Molecular genetics of colorectal cancer // *Ann Gastroenterol*. 2014. Vol. 27, N 1. P. 9–14.
9. Mudassar S., Khan M.S., Khan N.P., et al. Possible role of proto-oncogenes in colorectal cancer — a population based study. In: Khan J., editor. *Colorectal cancer: surgery, diagnostics and treatment*. InTech; 2014. P. 332–361.
10. Cercek A., Dos Santos Fernandes G., Roxburgh C.S., et al. Mismatch repair-deficient rectal cancer and resistance to neoadjuvant chemotherapy // *Clin Cancer Res*. 2020. Vol. 26, N 13. P. 3271–3279. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3728
11. Benson A.B., Venook A.P., Cederquist L., et al. Colon cancer, version 1.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology // *J Nat Comprehensive Cancer Net*. 2017. Vol. 15, N 3. P. 370–398. doi: 10.6004/jnccn.2017.0036
12. Edge S.B., Compton C.C. The American joint committee on cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM // *Ann Surg Oncol*. 2010. Vol. 17, N 6. P. 1471–1474. doi: 10.1245/s10434-010-0985-4
13. Mármol I., Sánchez-de-Diego C., Pradilla Dieste A., et al. Colorectal carcinoma: a general overview and future perspectives in colorectal cancer // *Int J Mol Sci*. 2017. Vol. 18, N 1. P. 197. doi: 10.3390/ijms18010197
14. Амелина Е.Л., Ефремова А.С., Мельяновская Ю.Л., и др. Использование функциональных тестов для оценки остаточной активности канала CFTR и индивидуального подбора эффективных CFTR-модуляторов для лечения пациентов с муковисцидозом с «мягким» и «тяжелым» генетическими вариантами // *Пульмонология*. 2021. Т. 31, № 2. С. 167–177. doi: 10.18093/0869-0189-2021-31-2-167-177
15. Holtfreter J. A study of the mechanics of gastrulation // *Exp Zool*. 1944. Vol. 95, N 2. P. 171–212. doi.org/10.1002/jez.1400950203
16. Lee G.Y., Kenny P.A., Lee E.H., Bissell M.J. Three-dimensional culture models of normal and malignant breast epithelial cells // *Nat Methods*. 2007. Vol. 4, N 4. P. 359–365. doi: 10.1038/nmeth1015
17. De Angelis M.L., Bruselles A., Francescangeli F., et al. Colorectal cancer spheroid biobanks: multi-level approaches to drug sensitivity studies // *Cell Biol Tox*. 2018. Vol. 34, N 6. P. 459–469. doi: 10.1007/s10565-018-9423-3
18. Aijian A.P., Garrell R.L. Digital microfluidics for automated hanging drop cell spheroid culture // *J Lab Autom*. 2015. Vol. 20, N 3. P. 283–295. doi: 10.1177/2211068214562002
19. Lucendo-Villari B., Meseguer-Ripolles J., Drew J., et al. Development of a cost-effective automated platform to produce human liver spheroids for basic and applied research // *Biofabrication*. 2020. Vol. 13, N 1. doi: 10.1088/1758-5090/abdbb2
20. Tanner K., Gottesman M.M. Beyond 3D culture models of cancer // *Sci Transl Med*. 2015. Vol. 7, N 283. P. 283ps9. doi: 10.1126/scitranslmed.3009367
21. Mollica P.A., Booth-Creech E.N., Reid J.A., et al. 3D bioprinted mammary organoids and tumoroids in human mammary derived ECM hydrogels // *Acta Biomater*. 2019. Vol. 95. P. 201–213. doi: 10.1016/j.actbio.2019.06.017
22. Bonnesœur S., Morin-Grognet S., Thoumire O., et al. Hyaluronan-based hydrogels as versatile tumor-like models: tunable ECM and stiffness with genipin-crosslinking // *J Biomed Mater Res*. 2020. Vol. 108, N 5. P. 1256–1268. doi: 10.1002/jbm.a.36899
23. Yang Z., Xu H., Zhao X. Designer self-assembling peptide hydrogels to engineer 3D cell microenvironments for cell constructs formation and precise oncology remodeling in ovarian cancer // *Adv Sci (Weinh)*. 2020. Vol. 7, N 9. P. 1903718. doi: 10.1002/adv.201903718
24. Benton G., George J., Kleinman H., Arnaoutova I.P. Advancing science and technology via 3D culture on basement membrane matrix // *J Cell Physiol*. 2009. Vol. 221, N 1. P. 18–25. doi: 10.1002/jcp.21832
25. Kibbey M.C. Maintenance of the EHS sarcoma and Matrigel preparation // *J Tissue Cult Met*. 1994. Vol. 16. P. 227–230. doi: 10.1007/BF01540656
26. Albini A., Noonan D.M. The “chemoinvasion” assay, 25 years and still going strong: the use of reconstituted basement membranes to study cell invasion and angiogenesis // *Curr Opin Cell Biol*. 2010. Vol. 22, N 5. P. 677–689. doi: 10.1016/j.ceb.2010.08.017
27. Benton G., Kleinman H., George J., Arnaoutova I. Multiple uses of basement membrane-like matrix (BME/Matrigel) *in vitro* and *in vivo* with cancer cells // *Int J Cancer*. 2011. Vol. 128, N 8. P. 1751–1757. doi: 10.1002/ijc.25781

- 28.** Benton G., Arnautova I., George J., et al. Matrigel: from discovery and ECM mimicry to assays and models for cancer research // *Adv Drug Deliv Rev.* 2014. Vol. 79–80. P. 3–18. doi: 10.1016/j.addr.2014.06.005
- 29.** Ong C.S., Yesantharao P., Huang C.Y., et al. 3D bioprinting using stem cells // *Pediatr Res.* 2018. Vol. 83, N 1–2. P. 223–231. doi: 10.1038/pr.2017.252
- 30.** Matai I., Kaur G., Seyedsalehi A., et al. Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering // *Biomaterials.* 2020. Vol. 226. P. 119536. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119536
- 31.** Tam R.Y., Smith L.J., Shoichet M.S. Engineering cellular microenvironments with photo- and enzymatically responsive hydrogels: toward biomimetic 3D cell // *Acc Chem Res.* 2018. Vol. 50, N 4. P. 703–713. doi: 10.1021/acs.accounts.6b00543
- 32.** Arya N., Sardana V., Saxena M., et al. Recapitulating tumour microenvironment in chitosan-gelatin three-dimensional scaffolds: an improved in vitro tumour model // *J R Soc Interface.* 2012. Vol. 9, N 77. P. 3288–3302. doi: 10.1098/rsif.2012.0564
- 33.** Mandrycky C., Wang Z., Kim K., Kim D.H. 3D bioprinting for engineering complex tissues // *Biotech Adv.* 2016. Vol. 34, N 4. P. 422–434. doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.12.011
- 34.** Miller J.S., Stevens K.R., Yang M.T., et al. Rapid casting of patterned vascular networks for perfusable engineered 3D tissues // *Nat Mater.* 2012. Vol. 11, N 9. P. 768–774. doi: 10.1038/nmat3357
- 35.** Wang M.O., Piard C.M., Melchiorri A., et al. Evaluating changes in structure and cytotoxicity during in vitro degradation of three-dimensional printed scaffolds // *Tissue Eng Part A.* 2015. Vol. 21, N 9–10. P. 1642–1653. doi: 10.1089/ten.TEA.2014.0495
- 36.** Lee J.S., Hong J.M., Jung J.W., et al. 3D printing of composite tissue with complex shape applied to ear regeneration // *Biofabrication.* 2014. Vol. 6, N 2. P. 024103. doi: 10.1088/1758-5082/6/2/024103
- 37.** Urkasemsin G., Rungarunlert S., Ferreira J.N. 3D bioprinting: what does the future hold? // *Methods Mol Biol.* 2020. Vol. 2140. P. 243–249. doi: 10.1007/978-1-0716-0520-2\_16
- 38.** Dey M., Ozbolat I. 3D bioprinting of cells, tissues and organs // *Sci Rep.* 2020. Vol. 10, N 1. C. 14023. doi: 10.1038/s41598-020-70086-y
- 39.** Qin X., Sufi J., Vlckova P., et al. Cell-type-specific signaling networks in heterocellular organoids // *Nat Methods.* 2020. Vol. 17, N 3. P. 335–342. doi: 10.1038/s41592-020-0737-8
- 40.** Schutgens F., Rookmaaker M.B., Margaritis T., et al. Tubuloids derived from human adult kidney and urine for personalized disease modeling // *Nat Biotechnol.* 2019. Vol. 37, N 3. P. 303–313. doi: 10.1038/s41587-019-0048-8
- 41.** Zhang B., Korolj A., Lai B.F.L., Radisic M. Advances in organ-on-a-chip engineering // *Nature Rev Mater.* 2018. Vol. 3, N 8. P. 257–278. doi: 10.1038/s41578-018-0034-7
- 42.** Campos D.F., Marquez A., O'seanain C., et al. Exploring cancer cell behavior in vitro in three-dimensional multicellular bioprintable collagen-based hydrogels // *Cancers (Basel).* 2019. Vol. 11, N 2. P. 180. doi: 10.3390/cancers11020180
- 43.** Modi U., Makwana P., Vasita R. Molecular insights of metastasis and cancer progression derived using 3D cancer spheroid co-culture in vitro platform // *Crit Rev Oncol Hematol.* 2021. Vol. 168. P. 103511. doi: 10.1016/j.critrevonc.2021.103511
- 44.** Lovitt C.J., Shelper T.B., Avery V.M. Advanced cell culture techniques for cancer drug discovery // *Biology (Basel).* 2014. Vol. 3, N 2. P. 345–367. doi: 10.3390/biology3020345
- 45.** Van De Wetering M., Francies H.E., Francis J.M., et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients // *Cell.* 2015. Vol. 161, N 4. P. 933–945. doi: 10.1016/j.cell.2015.03.053
- 46.** Lyu X., Xu H., Song Y., et al. Organoid technology and applications in cancer research // *J Hematol Oncol.* 2018. Vol. 11, N 1. P. 116. doi: 10.1186/s13045-018-0662-9
- 47.** Hughes C.S., Postovit L.M., Lajoie G.A. Matrigel: a complex protein mixture required for optimal growth of cell culture // *Proteomics.* 2010. Vol. 10, N 9. P. 1886–1890. doi: 10.1002/pmic.200900758
- 48.** Vlachogiannis G., Hedayat S., Vatsiou A., et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers // *Science.* 2018. Vol. 359, N 6378. P. 920–926. doi: 10.1126/science.aao2774
- 49.** Tevis K.M., Colson Y.L., Grinstaff M.W. Embedded spheroids as models of the cancer microenvironment // *Adv Biosyst.* 2017. Vol. 1, N 10. P. 1700083. doi: 10.1002/adbi.201700083
- 50.** Smyrek I., Mathew B., Fischer S.C., et al. E-cadherin, actin, microtubules and FAK dominate different spheroid formation phases and important elements of tissue integrity // *Biol Open.* 2019. Vol. 8, N 1. P. bio037051. doi: 10.1242/bio.037051
- 51.** Pauli C., Hopkins B.D., Prandi D., et al. Personalized in vitro and in vivo cancer models to guide precision medicine // *Cancer Discov.* 2017. Vol. 7, N 5. P. 462–477. doi: 10.1158/2159-8290.CD-16-1154
- 52.** Fujii M., Shimokawa M., Date S., et al. Colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements during tumorigenesis // *Cell Stem Cell.* 2016. Vol. 18, N 6. P. 827–838. doi: 10.1016/j.stem.2016.04.003
- 53.** Engel R.M., Jardé T., Oliva K., et al. Modeling colorectal cancer: a bio-resource of 50 patient-derived organoid lines // *J Gastroenterol Hepatol.* 2022. Vol. 37, N 5. P. 898–907. doi: 10.1111/jgh.15818
- 54.** Байрамов А.В., Ерошкин Ф.М., Бородулин А.В., и др. Секретируемый белок Noggin4 участвует в формировании переднеголовных структур шпорцевой лягушки, ингибируя Wnt/beta-catenin сигнальный каскад // *Онтогенез.* 2016. Т. 47, № 4. С. 229–234. doi: 10.7868/S0475145016040029
- 55.** Ganesh K., Wu C., O'Rourke K.P., et al. A rectal cancer organoid platform to study individual responses to chemoradiation // *Nat Med.* 2019. Vol. 25, N 10. P. 1607–1614. doi: 10.1038/s41591-019-0584-2
- 56.** Bartlett R., Everett W., Lim S., et al. Personalized in vitro cancer modeling — fantasy or reality? // *Transl Oncol.* 2014. Vol. 7, N 6. P. 657–664. doi: 10.1016/j.tranon.2014.10.006
- 57.** Drost J., Van Jaarsveld R.H., Ponsioen B., et al. Sequential cancer mutations in cultured human intestinal stem cells // *Nature.* 2015. Vol. 521, N 7550. P. 43–47. doi: 10.1038/nature14415
- 58.** Matano M., Date S., Shimokawa M., et al. Modeling colorectal cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human intestinal organoids // *Nat Med.* 2015. Vol. 21, N 3. P. 256–262. doi: 10.1038/nm.3802
- 59.** Li H., Rokavec M., Jiang L., et al. Antagonistic effects of p53 and HIF1A on microRNA-34a regulation of *PPP1R11* and *STAT3* and hypoxia-induced epithelial to mesenchymal transition in colorectal cancer cells // *Gastroenterology.* 2017. Vol. 153, N 2. P. 505–520. doi: 10.1053/j.gastro.2017.04.017
- 60.** Gowrikumar S., Primeaux M., Pravoverov K., et al. A claudin-based molecular signature identifies high-risk, chemoresistant colorectal cancer patients // *Cells.* 2021. Vol. 10, N 9. P. 2211. doi: 10.3390/cells10092211

61. Bishnupuri K.S., Alvarado D.M., Khouri A.N., et al. *IDO1* and kynurenine pathway metabolites activate *PI3K-Akt* signaling in the neoplastic colon epithelium to promote cancer cell proliferation and inhibit apoptosis // *Cancer Res.* 2019. Vol. 79, N 6. P. 1138–1150. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-0668

62. Kobayashi H., Gieniec K.A., Lannagan T.R.M., et al. The origin and contribution of cancer-associated fibroblasts in colorectal carcinogenesis // *Gastroenterology.* 2022. Vol. 162, N 3. P. 890–906. doi: 10.1053/j.gastro.2021.11.037

63. Gupta K., Jones J.C., Farias V.A., et al. Identification of synergistic drug combinations to target *KRAS*-driven chemoradioresistant cancers utilizing tumoroid models of colorectal adenocarcinoma and recurrent glioblastoma // *Front Oncol.* 2022. Vol. 12. P. 840241. doi: 10.3389/fonc.2022.840241

64. Verissimo C.S., Overmeer R.M., Ponsioen B., et al. Targeting mutant RAS in patient-derived colorectal cancer organoids by combinatorial drug screening // *Elife.* 2016. Vol. 5. P. e18489. doi: 10.7554/eLife.18489

65. Fleming N.I., Jorissen R.N., Mouradov D., et al. *SMAD2*, *SMAD3* and *SMAD4* mutations in colorectal cancer // *Cancer Res.* 2013. Vol. 73, N 2. P. 725–735. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2706

66. Zhao M., Mishra L., Deng C.X. The role of TGF- $\beta$ /SMAD4 signaling in cancer // *Int J Biol Sci.* 2018. Vol. 14, N 2. P. 111–123. doi: 10.7150/ijbs.23230

67. Li X.L., Zhou J., Chen Z.R., et al. P53 mutations in colorectal cancer — molecular pathogenesis and pharmacological reactivation // *World J Gastroenterol.* 2015. Vol. 21, N 1. P. 84–93. doi: 10.3748/wjg.v21.i1.84

68. Zhao Y., Li Y., Sheng J., et al. P53-R273H mutation enhances colorectal cancer stemness through regulating specific lncRNAs // *J Exp Clin Cancer Res.* 2019. Vol. 38, N 1. P. 379. doi: 10.1186/s13046-019-1375-9

69. Afrāsānie V.A., Marinca M.V., Alexa-Stratulat T., et al. *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *HER2* and microsatellite instability in metastatic colorectal cancer — practical implications for the clinician // *Radiol Oncol.* 2019. Vol. 53, N 3. P. 265–274. doi: 10.2478/raon-2019-0033

70. Paleari L., Puntoni M., Clavarezza M., et al. PIK3CA mutation, aspirin use after diagnosis and survival of colorectal cancer. A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies // *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2016. Vol. 28, N 5. P. 317–326. doi: 10.1016/j.clon.2015.11.008

71. Weeber F., Ooft S.N., Dijkstra K.K., et al. Tumor organoids as a pre-clinical cancer model for drug discovery // *Cell Chem Biol.* 2017. Vol. 24, N 9. P. 1092–1100. doi: 10.1016/j.chembiol.2017.06.012

72. Jackson D.N., Alula K.M., Delgado-Deida Y. The synthetic small molecule FL3 combats intestinal tumorigenesis via Axin1-mediated inhibition of Wnt/beta-catenin signaling // *Cancer Res.* 2020. Vol. 80, N 17. P. 3519–3529. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-20-0216

73. Zhao Y., Wang C., Goel A. Andrographis overcomes 5-fluorouracil-associated chemoresistance through inhibition of *DKK1* in colorectal cancer // *Carcinogenesis.* 2021. Vol. 42, N 6. P. 814–825. doi: 10.1093/carcin/bgab027

74. Zhou Z., Cong L., Cong X. Patient-derived organoids in precision medicine: drug screening, organoid-on-a-chip and living organoid biobank // *Front Oncol.* 2021. Vol. 11. P. 762184. doi: 10.3389/fonc.2021.762184

75. Gong P., Wang H., Zhang, J., et al. Telomere maintenance-associated pml is a potential specific therapeutic target of human colorectal cancer // *Transl Oncol.* 2019. Vol. 12, N 9. P. 1164–1176. doi: 10.1016/j.tranon.2019.05.010

76. Voest E.E., Bernards R. DNA-guided precision medicine for cancer: a case of irrational exuberance? // *Cancer Discov.* 2016. Vol. 6, N 2. P. 130–132. doi: 10.1158/2159-8290.CD-15-1321

77. Flores-Pérez J.A., De La F., Oliva R., et al. Translational research and onco-omics applications in the era of cancer personal genomics // *Adv Exp Med Biol.* 2019. 1168.

78. Drost J., Clevers H. Organoids in cancer research // *Nature Rev Cancer.* 2018. Vol. 18, N 7. P. 407–418. doi: 10.1038/s41568-018-0007-6

79. Liu J., Huang X., Huang L., et al. Organoid: next-generation modeling of cancer research and drug development // *Front Oncol.* 2022. Vol. 11. P. 826613. doi: 10.3389/fonc.2021.826613

## REFERENCES

1. Sagaert X, Vanstapel A, Verbeek S. Tumor heterogeneity in colorectal cancer: what do we know so far? *Pathobiology.* 2018;85(1–2):72–84. doi: 10.1159/000486721

2. Kaprin AD, Starinskij VV, Shohzadova OA. *Sostojanie onkologicheskoy pomoshhi naseleniju Rossii v 2020 godu.* 2021. 236 p. (In Russ).

3. Weitz J, Koch M, Debus J, et al. Colorectal cancer. *Lancet.* 2005;365(9454):153–165. doi: 10.1016/S0140-6736(05)17706-X

4. Grady WM. Genetic testing for high-risk colon cancer patients. *Gastroenterology.* 2003;124(6):1574–1594. doi: 10.1016/s0016-5085(03)00376-7

5. Vilar E., Gruber S.B. Microsatellite instability in colorectal cancer — the stable evidence. *Nature Rev Clin Oncol.* 2012;7(3):153–162. doi: 10.1038/nrclinonc.2009.237

6. Truninger K, Menigatti M, Luz J, et al. Immunohistochemical analysis reveals high frequency of *PMS2* defects in colorectal cancer. *Gastroenterol.* 2005;128(5):1160–1171. doi: 10.1053/j.gastro.2005.01.056

7. Sieber OM, Lipton L, Crabtree M, et al. Multiple colorectal adenomas, classic adenomatous polyposis, and germ-line mutations in *MYH*. *New Engl J Med.* 2003;348(9):791–799. doi: 10.1056/NEJMoa025283

8. Bogaert J, Prenen H. Molecular genetics of colorectal cancer. *Ann Gastroenterol.* 2014;27(1):9–14.

9. Mudassar S, Khan MS, Khan NP, et al. Possible role of proto-oncogenes in colorectal cancer — a population based study. In: Khan J, editor. *Colorectal cancer: surgery, diagnostics and treatment.* InTech; 2014. P. 332–361.

10. Cercek A, Dos Santos Fernandes G, Roxburgh CS, et al. Mismatch repair-deficient rectal cancer and resistance to neoadjuvant chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2020;26(13):3271–3279. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3728

11. Benson AB, Venook AP, Cederquist L, et al. Colon cancer, version 1.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Nat Comprehensive Cancer Net.* 2017;15(3):370–398. doi: https://doi.org/10.6004/jnccn.2017.0036

12. Edge SB, Compton CC. The American joint committee on cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(6):1471–1474. doi: 10.1245/s10434-010-0985-4
13. Mármol I, Sánchez-de-Diego C, Dieste AP, et al. Colorectal carcinoma: a general overview and future perspectives in colorectal cancer. *Int J Mol Sci*. 2017;18(1):197. doi: 10.3390/ijms18010197
14. Amelina EL, Efremova AS, Melyanovskaya YL, et al. Functional tests for assessment of residual CFTR channel activity and personalized selection of efficacious CFTR-modulators for cystic fibrosis patients with ‘mild’ and ‘severe’ genetic variants. *Pulmonologiya*. 2021;31(2):167–177. (In Russ). doi: 10.18093/0869-0189-2021-31-2-167-177
15. Holtfreter J. A study of the mechanics of gastrulation. *Exp Zool*. 1944;95(2):171–212. doi.org/10.1002/jez.1400950203
16. Lee GY, Kenny PA, Lee EH, Bissell MJ. Three-dimensional culture models of normal and malignant breast epithelial cells. *Nat Methods*. 2007;4(4):359–365. doi: 10.1038/nmeth1015
17. De Angelis ML, Bruselles A, Francescangeli F, et al. Colorectal cancer spheroid biobanks: multi-level approaches to drug sensitivity studies. *Cell Biol Tox*. 2018;34(6):459–469. doi: 10.1007/s10565-018-9423-3
18. Aijian AP, Garrell RL. Digital microfluidics for automated hanging drop cell spheroid culture. *J Lab Autom*. 2015;20(3):283–295. doi: 10.1177/2211068214562002
19. Lucendo-Villari B, Meseguer-Ripolles J, Drew J, et al. Development of a cost-effective automated platform to produce human liver spheroids for basic and applied research. *Biofabrication*. 2020;13(1). doi: 10.1088/1758-5090/abbdb2
20. Tanner K, Gottesman MM. Beyond 3D culture models of cancer. *Sci Transl Med*. 2015;7(283):283ps9. doi: 10.1126/scitranslmed.3009367
21. Mollica PA, Booth-Creech EN, Reid JA, et al. 3D bioprinted mammary organoids and tumoroids in human mammary derived ECM hydrogels. *Acta Biomater*. 2019;95:201–213. doi: 10.1016/j.actbio.2019.06.017
22. Bonnesœur S, Morin-Grognet S, Thoumire O, et al. Hyaluronan-based hydrogels as versatile tumor-like models: tunable ECM and stiffness with genipin-crosslinking. *J Biomed Mater Res*. 2020;108(5):1256–1268. doi: 10.1002/jbm.a.36899
23. Yang Z, Xu H, Zhao X. Designer self-assembling peptide hydrogels to engineer 3D cell microenvironments for cell constructs formation and precise oncology remodeling in ovarian cancer. *Adv Sci (Weinh)*. 2020;7(9):1903718. doi: 10.1002/adv.201903718
24. Benton G, George J, Kleinman H, Arnaoutova IP. Advancing science and technology via 3D culture on basement membrane matrix. *J Cell Physiol*. 2009;221(1):18–25. doi: 10.1002/jcp.21832
25. Kibbey MC. Maintenance of the EHS sarcoma and Matrigel preparation. *J Tissue Cult Met*. 1994;16:227–230. doi: 10.1007/BF01540656
26. Albin A, Noonan DM. The “chemoinvasion” assay, 25 years and still going strong: the use of reconstituted basement membranes to study cell invasion and angiogenesis. *Curr Opin Cell Biol*. 2010;22(5):677–689. doi: 10.1016/j.ccb.2010.08.017
27. Benton G, Kleinman H, George J, Arnaoutova I. Multiple uses of basement membrane-like matrix (BME/Matrigel) *in vitro* and *in vivo* with cancer cells. *Int J Cancer*. 2011;128(8):1751–1757. doi: 10.1002/ijc.25781
28. Benton G, Arnaoutova I, George J, et al. Matrigel: from discovery and ECM mimicry to assays and models for cancer research. *Adv Drug Del Rev*. 2014;79–80:3–18. doi: 10.1016/j.addr.2014.06.005
29. Ong C, Yesantharao P, Huang C, et al. 3D bioprinting using stem cells. *Pediatr Res*. 2018;83(1–2):223–231. doi: 10.1038/pr.2017.252
30. Matai I, Kaur G, Seyedsalehi A, et al. Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials*. 2020;226:119536. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119536
31. Tam RY, Smith LJ, Shoichet MS. Engineering cellular microenvironments with photo- and enzymatically responsive hydrogels: toward biomimetic 3D cell. *Acc Chem Res*. 2018;50(4):703–713. doi: 10.1021/acs.accounts.6b00543
32. Arya N, Sardana V, Saxena M, et al. Recapitulating tumour microenvironment in chitosan-gelatin three-dimensional scaffolds: an improved *in vitro* tumour model. *J R Soc Interface*. 2012;9(77):3288–3302. doi: 10.1098/rsif.2012.0564
33. Mandrycky C, Wang Z, Kim K, Kim DH. 3D bioprinting for engineering complex tissues. *Biotech Adv*. 2016;34(4):422–434. doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.12.011
34. Miller JS, Stevens KR, Yang MT, et al. Rapid casting of patterned vascular networks for perfusable engineered 3D tissues. *Nat Mater*. 2012;11(9):768–774. doi: 10.1038/nmat3357
35. Wang MO, Piard CM, Melchiorri A, et al. Evaluating changes in structure and cytotoxicity during *in vitro* degradation of three-dimensional printed scaffolds. *Tissue Eng Part A*. 2015;21(9–10):1642–1653. doi: 10.1089/ten.TEA.2014.0495
36. Lee JS, Hong JM, Jung JW, et al. 3D printing of composite tissue with complex shape applied to ear regeneration. *Biofabrication*. 2014;6(2):024103. doi: 10.1088/1758-5082/6/2/024103
37. Urkasemsin G, Rungarunlert S, Ferreira JN. 3D bioprinting: what does the future hold? *Methods Mol Biol*. 2020;2140:243–249. doi: 10.1007/978-1-0716-0520-2\_16
38. Dey M, Ozbolat I. 3D bioprinting of cells, tissues and organs. *Sci Rep*. 2020;10(1):14023. doi: 10.1038/s41598-020-70086-y
39. Qin X, Sufi J, Vlckova P, et al. Cell-type-specific signaling networks in heterocellular organoids. *Nat Methods*. 2020;17(3):335–342. doi: 10.1038/s41592-020-0737-8
40. Schutgens F, Rookmaaker MB, Margaritis T, et al. Tubuloids derived from human adult kidney and urine for personalized disease modeling. *Nat Biotechnol*. 2019;37(3):303–313. doi: 10.1038/s41587-019-0048-8
41. Zhang B, Korolj A, Lai BFL, Radisic M. Advances in organ-on-a-chip engineering. *Nature Rev Mater*. 2018;3(8):257–278. doi: 10.1038/s41578-018-0034-7
42. Campos DF, Marquez AB, O’seanain C, et al. Exploring cancer cell behavior *in vitro* in three-dimensional multicellular bioprintable collagen-based hydrogels. *Cancers (Basel)*. 2019;11(2):180. doi: 10.3390/cancers11020180
43. Modi U, Makwana P, Vasita R. Molecular insights of metastasis and cancer progression derived using 3D cancer spheroid co-culture *in vitro* platform. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2021;168:103511. doi: 10.1016/j.critrevonc.2021.103511
44. Lovitt CJ, Shelper TB, Avery VM. Advanced cell culture techniques for cancer drug discovery. *Biology (Basel)*. 2014;3(2):345–367. doi: 10.3390/biology3020345
45. Van De Wetering M, Francies HE, Francis JM, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients. *Cell*. 2015;161(4):933–945. doi: 10.1016/j.cell.2015.03.053
46. Lyu X, Xu H, Song Y, et al. Organoid technology and applications in cancer research. *J Hematol Oncol*. 2018;11(1):116. doi: 10.1186/s13045-018-0662-9

47. Hughes CS, Postovit LM, Lajoie GA. Matrigel: a complex protein mixture required for optimal growth of cell culture. *Proteomics*. 2010;10(9):1886–1890. doi: 10.1002/pmic.200900758
48. Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*. 2018;359(6378):920–926. doi: 10.1126/science.aao2774
49. Tevis KM, Colson YL, Grinstaff MW. Embedded spheroids as models of the cancer microenvironment. *Adv Biosyst*. 2017;1(10):1700083. doi: 10.1002/adbi.201700083
50. Smyrek I, Mathew B, Fischer SC, et al. E-cadherin, actin, microtubules and FAK dominate different spheroid formation phases and important elements of tissue integrity. *Biol Open*. 2019;8(1):bio037051. doi: 10.1242/bio.037051
51. Pauli C, Hopkins B.D, Prandi D, et al. Personalized in vitro and in vivo cancer models to guide precision medicine. *Cancer Discov*. 2017;7(5):462–477. doi: 10.1158/2159-8290.CD-16-1154
52. Fujii M, Shimokawa M, Date S, et al. Colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements during tumorigenesis. *Cell Stem Cell*. 2016;18(6):827–838. doi: 10.1016/j.stem.2016.04.003
53. Engel RM, Jardé T, Oliva K, et al. Modeling colorectal cancer: a bio-resource of 50 patient-derived organoid lines. *J Gastroenterol Hepatol*. 2022;37(5):898–907. doi: 10.1111/jgh.15818
54. Bayramov AV, Eroshkin FM, Borodulin AV, et al. Secreted protein noggin4 participates in the formation of forebrain structures in xenopus laevis by inhibiting the Wnt/beta-catenin signaling pathway. *Russian Journal of Developmental Biology*. 2016;47(4):202–206. (In Russ).
55. Ganesh K, Wu C, O'Rourke KP, et al. A rectal cancer organoid platform to study individual responses to chemoradiation. *Nat Med*. 2019;25(10):1607–1614. doi: 10.1038/s41591-019-0584-2
56. Bartlett R, Everett W, Lim S, et al. Personalized in vitro cancer modeling — fantasy or reality? *Transl Oncol*. 2014;7(6):657–664. doi: 10.1016/j.tranon.2014.10.006
57. Drost J, Van Jaarsveld RH, Ponsioen B, et al. Sequential cancer mutations in cultured human intestinal stem cells. *Nature*. 2015;521(7550):43–47. doi: 10.1038/nature14415
58. Matano M, Date S, Shimokawa M, et al. Modeling colorectal cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human intestinal organoids. *Nat Med*. 2015;21(3):256–262. doi: 10.1038/nm.3802
59. Li H, Rokavec M, Jiang L, et al. Antagonistic effects of p53 and HIF1A on microRNA-34a regulation of *PPP1R11* and *STAT3* and hypoxia-induced epithelial to mesenchymal transition in colorectal cancer cells. *Gastroenterology*. 2017;153(2):505–520. doi: 10.1053/j.gastro.2017.04.017
60. Gowrikumar S, Primeaux M, Pravoverov K, et al. A claudin-based molecular signature identifies high-risk, chemoresistant colorectal cancer patients. *Cells*. 2021;10(9):2211. doi: 10.3390/cells10092211
61. Bishnupuri KS, Alvarado DM, Khouri AN, et al. *IDO1* and kynurenine pathway metabolites activate *PI3K-Akt* signaling in the neoplastic colon epithelium to promote cancer cell proliferation and inhibit apoptosis. *Cancer Res*. 2019;79(6):1138–1150. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-0668
62. Kobayashi H, Gieniec KA, Lannagan TRM, et al. The origin and contribution of cancer-associated fibroblasts in colorectal carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2022;162(3):890–906. doi: 10.1053/j.gastro.2021.11.037
63. Gupta K, Jones JC, Farias VA, et al. Identification of synergistic drug combinations to target *KRAS*-driven chemoradioresistant cancers utilizing tumoroid models of colorectal adenocarcinoma and recurrent glioblastoma. *Front Oncol*. 2022;12:840241. doi: 10.3389/fonc.2022.840241
64. Verissimo CS, Overmeer RM, Ponsioen B, et al. Targeting mutant RAS in patient-derived colorectal cancer organoids by combinatorial drug screening. *Elife*. 2016;5:e18489. doi: 10.7554/eLife.18489
65. Fleming NI, Jorissen RN, Mouradov D, et al. *SMAD2*, *SMAD3* and *SMAD4* mutations in colorectal cancer. *Cancer Res*. 2013;73(2):725–735. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2706
66. Zhao M, Mishra L, Deng CX. The role of TGF- $\beta$ /SMAD4 signaling in cancer. *Int J Biol Sci*. 2018;14(2):111–123. doi: 10.7150/ijbs.23230
67. Li XL, Zhou J, Chen ZR, et al. P53 mutations in colorectal cancer — molecular pathogenesis and pharmacological reactivation. *World J Gastroenterol*. 2015;21(1):84–93. doi: 10.3748/wjg.v21.i1.84
68. Zhao Y, Li Y, Sheng J, et al. P53-R273H mutation enhances colorectal cancer stemness through regulating specific lncRNAs. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019;38(1):379. doi: 10.1186/s13046-019-1375-9
69. Afrăsânie VA, Marinca MV, Alexa-Stratulat T, et al. *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *HER2* and microsatellite instability in metastatic colorectal cancer — practical implications for the clinician. *Radiol Oncol*. 2019;53(3):265–274. doi: 10.2478/raon-2019-0033
70. Paleari L, Puntoni M, Clavarezza M, et al. PIK3CA mutation, aspirin use after diagnosis and survival of colorectal cancer. A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2016;28(5):317–326. doi: 10.1016/j.clon.2015.11.008
71. Weeber F, Ooft SN, Dijkstra KK, et al. Tumor organoids as a pre-clinical cancer model for drug discovery. *Cell Chem Biol*. 2017;24(9):1092–1100. doi: 10.1016/j.chembiol.2017.06.012
72. Jackson DN, Alula KM, Delgado-Deida Y, et al. The synthetic small molecule FL3 combats intestinal tumorigenesis via Axin1-mediated inhibition of Wnt/beta-catenin signaling. *Cancer Res*. 2020;80(17):3519–3529. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-20-0216
73. Zhao Y, Wang C, Goel A. Andrographis overcomes 5-fluorouracil-associated chemoresistance through inhibition of *DKK1* in colorectal cancer. *Carcinogenesis*. 2021;42(6):814–825. doi: 10.1093/carcin/bgab027
74. Zhou Z, Cong L, Cong X. Patient-derived organoids in precision medicine: drug screening, organoid-on-a-chip and living organoid biobank. *Front Oncol*. 2021;11:762184. doi: 10.3389/fonc.2021.762184
75. Gong P, Wang H, Zhang J, et al. Telomere maintenance-associated PML is a potential specific therapeutic target of human colorectal cancer. *Transl Oncol*. 2019;12(9):1164–1176. doi: 10.1016/j.tranon.2019.05.010
76. Voest EE, Bernards R. DNA-guided precision medicine for cancer: a case of irrational exuberance? *Cancer Discov*. 2016;6(2):130–132. doi: 10.1158/2159-8290.CD-15-1321
77. Flores-Pérez JA, De La F, Oliva R, et al. Translational research and onco-omics applications in the era of cancer personal genomics. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1168.
78. Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research. *Nature Rev Cancer*. 2018;18(7):407–418. doi: 10.1038/s41568-018-0007-6
79. Liu J, Huang X, Huang L, et al. Organoid: next-generation modeling of cancer research and drug development. *Front Oncol*. 2022;11:826613. doi: 10.3389/fonc.2021.826613

## ОБ АВТОРАХ

**\* Краснова Мария Геннадьевна;**

адрес: Россия, 115522, Москва,  
ул. Москворечье, д. 1;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2195-3025>;  
eLibrary SPIN: 9339-9163;  
e-mail: [krasnova.m.g.0605@gmail.com](mailto:krasnova.m.g.0605@gmail.com)

**Ефремова Анна Сергеевна, к.б.н.;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5035-6396>;  
eLibrary SPIN: 6006-8355

**Бухарова Татьяна Борисовна, к.б.н.;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0481-256X>;  
eLibrary SPIN: 2092-5580

**Каширская Наталия Юрьевна, д.м.н., профессор;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0503-6371>;  
eLibrary SPIN: 3628-2500

**Цуканов Алексей Сергеевич, д.м.н.;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8571-7462>;  
eLibrary SPIN: 4005-0998

**Горбань Нина Андреевна, к.м.н.;**

e-mail: [perovanina@mail.ru](mailto:perovanina@mail.ru)

**Михайленко Дмитрий Сергеевич, к.м.н., доцент;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9780-8708>;  
eLibrary SPIN: 2083-9060;  
e-mail: [mikhaylenkods@med-gen.ru](mailto:mikhaylenkods@med-gen.ru)

**Стрельников Владимир Викторович, д.б.н., доцент;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9283-902X>;  
eLibrary SPIN: 9118-7267;  
e-mail: [vtrel@list.ru](mailto:vtrel@list.ru)

**Гольдштейн Дмитрий Вадимович, д.б.н., профессор;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-1605>;  
eLibrary SPIN: 7714-9099;  
e-mail: [dvgoldshtein@gmail.com](mailto:dvgoldshtein@gmail.com)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## AUTHORS' INFO

**\* Maria G. Krasnova;**

address: 1 Moskvorechye street,  
Moscow 115522, Russia;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2195-3025>;  
eLibrary SPIN: 9339-9163;  
e-mail: [krasnova.m.g.0605@gmail.com](mailto:krasnova.m.g.0605@gmail.com)

**Anna S. Efremova, Cand. Sci. (Biol.);**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5035-6396>;  
eLibrary SPIN: 6006-8355;

**Tatiana B. Bukharova, Cand. Sci. (Biol.);**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0481-256X>;  
eLibrary SPIN: 2092-5580

**Natalia Yu. Kashirskaya, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0503-6371>;  
eLibrary SPIN: 3628-2500

**Aleksey S. Tsukanov, MD, Dr. Sci. (Med.);**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8571-7462>;  
eLibrary SPIN: 4005-0998

**Nina A. Gorban, MD, Cand. Sci. (Med.);**

e-mail: [perovanina@mail.ru](mailto:perovanina@mail.ru)

**Dmitry S. Mikhaylenko, MD, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9780-8708>;  
eLibrary SPIN: 2083-9060;  
e-mail: [mikhaylenkods@med-gen.ru](mailto:mikhaylenkods@med-gen.ru)

**Vladimir V. Strelnikov, Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9283-902X>;  
eLibrary SPIN: 9118-7267;  
e-mail: [vtrel@list.ru](mailto:vtrel@list.ru)

**Dmitry V. Goldshtein, Dr. Sci. (Biol.), Professor;**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-1605>;  
eLibrary SPIN: 7714-9099;  
e-mail: [dvgoldshtein@gmail.com](mailto:dvgoldshtein@gmail.com)