

А.С. Могиленских <sup>1,2</sup>, С.В. Сазонов <sup>1,2</sup>, С.М. Демидов <sup>1,2</sup>,  
М.И. Дерюгин <sup>1,2</sup>, Е.П. Белоглазова <sup>2</sup>

## ВЛИЯНИЕ БЛОКИРОВКИ РЕЦЕПТОРОВ К ЭСТРОГЕНУ НА КЛЕТКИ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

<sup>1</sup> ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий,  
г. Екатеринбург, Российская Федерация;

<sup>2</sup> ФГБУ ВО Уральский государственный медицинский университет,  
г. Екатеринбург, Российская Федерация

**Резюме.** *Целью работы* является изучение влияния разных концентраций тамоксифена на клеточный рост и старение в первичной культуре клеток, полученной от люминального В HER2-негативного подтипа. *Методика* работы заключается в получении первичной клеточной культуры и воздействии на нее антиэстрогенным препаратом тамоксифен в разных концентрациях. Морфология и количество клеток оценено при окраске DAPI, механизм клеточного старения по уровню экспрессии бета-галактозидазы. Рецепторы к эстрогену и уровень Ki-67 в культуре клеток оценены с помощью проточной цитометрии. Контингент испытуемых — женщины с диагнозом рак молочной железы, с подтвержденным иммуногистохимическим подтипом — люминальный В HER2-негативный. Основные *результаты* работы показали, что тамоксифен в высоких концентрациях останавливает рост клеток и запускает механизм клеточного старения, что характеризуется увеличением размеров клеток и высоким уровнем экспрессии бета-галактозидазы.

**Ключевые слова:** тамоксифен, люминальный В HER2-негативный подтип, первичная клеточная культура, бета-галактозидаза

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Могиленских Анна Сергеевна

annasajler@yandex.ru

Дата поступления: 04.06.2024

Образец цитирования:

Могиленских А.С., Сазонов С.В., Демидов С.М., Дерюгин М.И., Белоглазова Е.П. Влияние блокировки рецепторов к эстрогену на клетки первичной культуры рака молочной железы [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 2, с. 146–155, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-2-146-155

### Введение

Несмотря на быстрый прогресс в гормональной противоопухолевой терапии и появление новых эффективных лекарственных средств, тамоксифен — препарат, который по-прежнему занимает лидирующую позицию в лечении рака молочной железы [1]. В экспериментальных работах был обнаружен широкий спектр мишеней тамоксифена, не связанных с его взаимодействием с рецепторами эстрогенов [2, 3]. Так, выявлено несколько механизмов препарата, приводящих к апоптозу, имеются данные об его антиангиогенной активности, ингибировании протеинкиназы С, антиметастатическом эффекте, взаимодействии с маркерами множественной лекарственной резистентности. Помимо этого, препарат оказывает влияние не только на опухолевые клетки, но и обладает антибактериальным, противопаразитарным, антимикотическим и противовирусным эффектами [1-3].

Имеются также данные о том, что гены, активируемые тамоксифеном, вовлечены в сигнальные внутриклеточные пути старения клеток, их некроза и апоптоза [4, 5]. Физиологическое старение и

апоптоз обуславливают противоопухолевую защиту клеток, поэтому рассматривается вопрос о возможности использовать эти механизмы в борьбе с опухолевыми клетками [6-9].

Поскольку рак молочной железы представляет собой гетерогенное заболевание, включающее несколько суррогатных молекулярно-биологических подтипов, то среди подтипов могут быть различия в внутриклеточных механизмах, которые ответственны за инициацию опухоли, метастазирование и терапевтический ответ [10-12]. Учитывая появление новых данных об эффектах тамоксифена возникает необходимость их изучения на моделях *in vitro*. На immortalized клеточных линиях различных опухолей, в том числе рака молочной железы, были исследованы апоптотический и другие эффекты препарата [13-18]. Так, в исследованиях Obrego M. и соавт. (2002) описано два пути запрограммированной клеточной гибели: первый — зависимый от каспазы, индуцируемый высокими концентрациями препарата и отсутствием эстрогена, и второй путь — подобный апоптозу, независимый от каспазы [16]. В работе Taylor J.R. и соавт. (2011) показано, что тамоксифен дозозависимым образом индуцирует старение в клетках гормон-положительной линии рака молочной железы MCF-7 [17]. В исследованиях Tuttle R. и соавт. (2012) представлены механизмы, связывающие наличие и отсутствие белка YPEL3, способного запускать клеточное старение, с резистентностью к терапии тамоксифеном в опухолях, положительных по наличию рецепторов к эстрогену [18].

Однако, нужно учитывать, что разнообразие клеточных линий рака молочной железы несопоставимо с фенотипическим и генотипическим разнообразием заболевания в популяции [19]. По этой причине получение индивидуальных первичных клеточных линий рака молочной железы от пациенток является перспективным методом как для персонализированного подбора противоопухолевых препаратов, так и для других исследований.

**Целью работы** является изучение влияния разных концентраций тамоксифена на клеточный рост и старение в первичной культуре клеток, полученной от люминального В HER2-негативного подтипа.

### Материалы и методы

После оперативного вмешательства часть материала отправлялась в ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий (Екатеринбург) на иммуногистохимическое исследование (ИГХ) в патологоанатомическое отделение (зав. отделением к.м.н. Коньшев К.В.) и Лабораторию клеточных культур (зав. лабораторией к.м.н. Фадеев Ф.А.) для создания клеточной культуры. Для определения уровня экспрессии ядерных рецепторов эстрогена и прогестерона использовались моноклональные мышиные антитела, clone SP1 и SP2, для оценки индекса клеточной пролиферации Ki-67—clone SP6. Для оценки мембранного рецептора HER-2/neu — моноклональные антитела clone 4B5. Все антитела производства Roche Ventana (США). Для постановки ИГХ-реакции использовался стандартный протокол автостейнера Ventana.

Для выделения клеток из хирургического образца ткани РМЖ использовался механический и ферментативный способ диссоциации. Образец измельчали с помощью ножниц, затем помещали в 50 мл пробирку с смесью ферментов коллагеназа-гиалуронидаза (STEMCELL, Канада) и раствор DMEM: F12 (Панэко, Россия). Полученную смесь оставляли на 14-15 часов при температуре 37°C в отсутствии 5% CO<sub>2</sub> на качающейся платформе в герметично закрытой Parafilm® пробирке. После диссоциации крупных фрагментов полученную смесь центрифугировали при 80 G (30 сек). Осадок ресуспендировали с Trypsin-EDTA (0.25%), для нейтрализации фермента использовался раствор HF (Хэнкс с 10% FBS, Панэко, Россия). Получившуюся смесь центрифугировали при 350 G (5 мин). Осадок ресуспендировали с ферментами диспазой и ДНКазой, нейтрализовали HF в соотношении 1:2 и центрифугировали при тех же оборотах. Осадок растворяли в коммерческой питательной среде Mammoscult™ Human Medium с добавлением раствора гепарина и гидрокортизона. Все ферменты, а также коммерческая среда с добавками, которая использовалась для культивирования, производства STEMCELL, Канада. Для увеличения адгезии культуральные флаконы покрывали раствором коллагена в соотношении 1:46 в течении 40 минут. Монослой образовывался на 7 сутки, после чего клетки открепляли с поверхности флакона с помощью Trypsin-EDTA (0.25%) в течение 10 минут, затем нейтрализовали раствором HF и центрифугировали при стандартных оборотах. Затем высевали в 24-луночные планшеты на 3 суток. Далее добавляли препарат тамоксифен в возрастающей концентрации 2,5; 5,0; 10,0 мкл.

Для оценки уровня флуоресценции окрашенных клеток использовали проточный цитофлуориметр Navios 10 (Beckman Coulter, США). Образцы окрашивались моноклональными антителами к эстрогену, определялся индекс клеточной пролиферации Ki-67. Все антитела производства Abscam, Канада. Фиксация клеток осуществлялась с помощью 4% формальдегида — 5 минут, подготовка холодным метанолом — 5 минут, 0,5% Тритон X-100 (Applichem, Германия) — 15 минут.

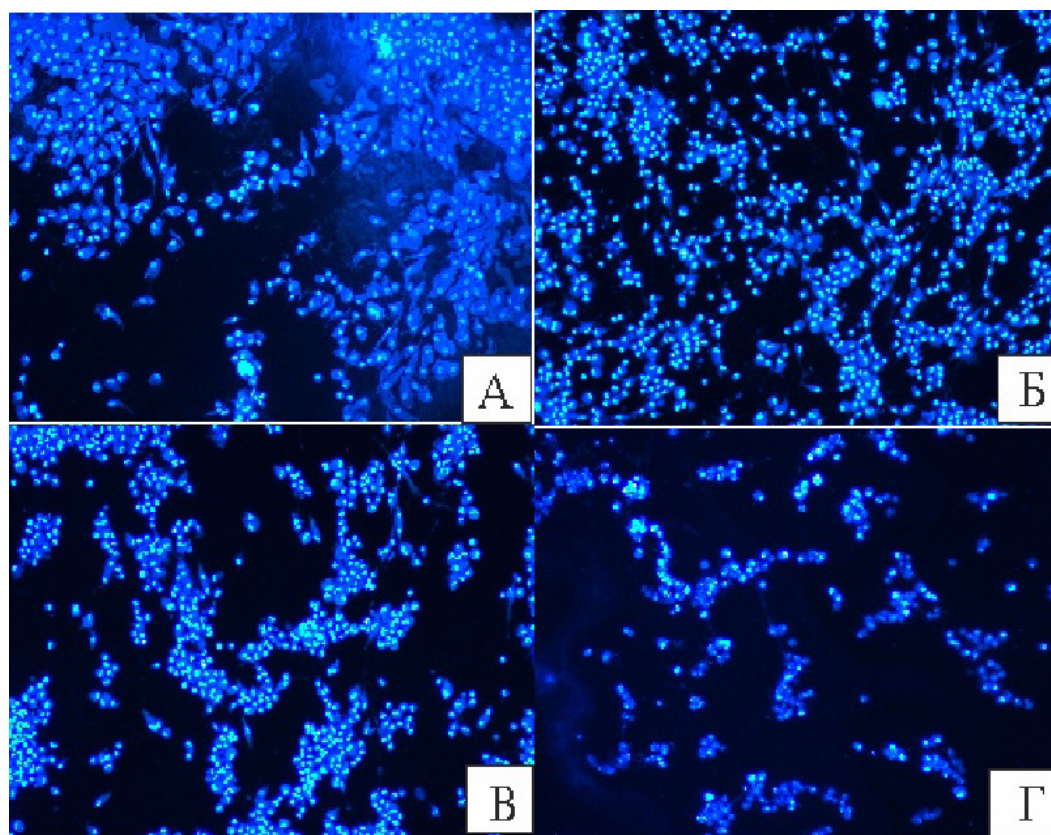


Рис. 1. Культура клеток рака молочной железы, полученная от люминального В HER2 негативного подтипа, окраска DAPI, ув. 100, под А — контрольная группа, Б — 2,5 мкл, В — 5 мкл, Г — 10 мкл.

При подсчете наблюдалось статистически значимое снижение количества клеток и увеличение их размеров в группе, на которую воздействовал препарат в концентрации 10 мкл, по сравнению с контрольной группой (рис. 2).

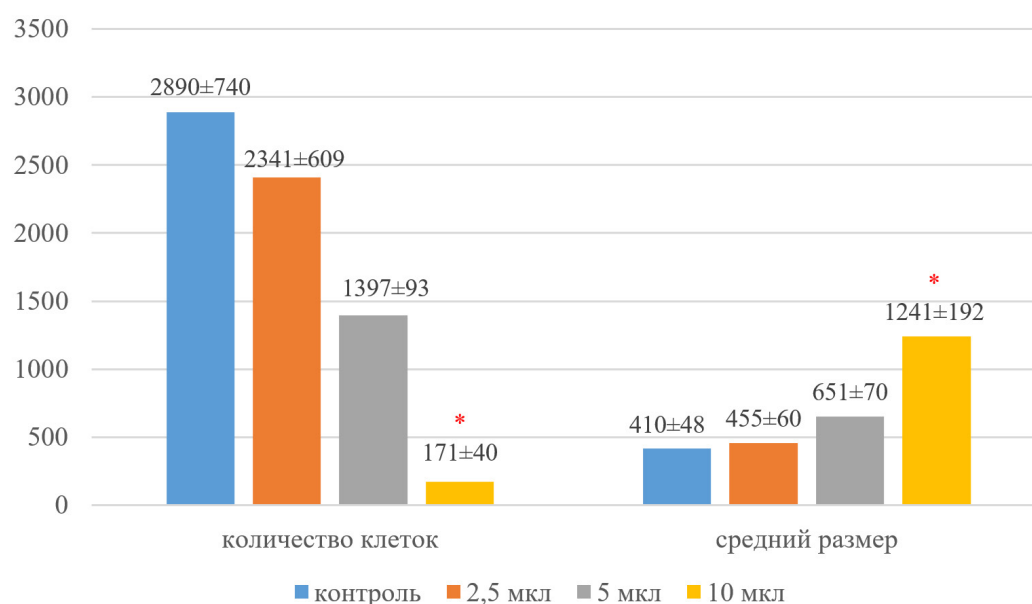


Рис. 2. Действие препаратов в первичной культуре клеток рака молочной железы, \* отмечены достоверные различия



Окрашивание DAPI выполняли в соответствии с протоколом. На поверхность с окрашиваемыми клетками наносили 300 нМ раствора DAPI в PBS на 5 мин при комнатной температуре в отсутствие прямого света. Для микроскопирования и фотографирования поверхности с клетками планшета использовали флуоресцентный микроскоп Axio Lab.A1 FL (Carl Zeiss, Германия). Съемку проводили в 5 разных полях зрения. Подсчет количества клеток по снимкам выполнялся полуавтоматическим способом с использованием программы «ImageJ» (Wayne Rasband, NIH, США).

Для обнаружения бета-галактозидазы был использован набор Senescence Detection Kit (Abcam, Великобритания). Окраску производили согласно протоколу от производителя. Подсчет количества окрашенных клеток производился по процентному соотношению к общему количеству клеток, для каждого случая оценивалось в сумме не менее 500 клеток. Микроскопирование и фотографирование материала производили с помощью флуоресцентного микроскопа Axio Lab.A1 FL (Carl Zeiss, Германия). Подсчет количества клеток по снимкам был выполнен в каждой лунке в 5 полях при 100-кратном увеличении. Определялся процент окрашенных клеток.

Оценка действия препарата производилась на 3-и сутки эксперимента.

Статистическая обработка результатов исследований проводилась с использованием пакета «Statistica 6.0». Для средних значений была определена ошибка среднего, стандартное отклонение, доверительный интервал. Оценка значимости различия средних значений двух несвязанных выборок осуществлялась с использованием критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

При ИГХ исследовании образца обнаружена экспрессия рецепторов эстрогена — 3 балла, прогестерона — 7 баллов, индекс клеточной пролиферации Ki67 — 30%. Экспрессия к HER-2/neu 0. Данный случай рака молочной железы относится к люминальному В подтипу, HER-2-негативному.

При оценке клеточной культуры методом проточной цитометрии был обнаружен высокий уровень клеток, экспрессирующих эстроген — 69,9% и низкий уровень индекса клеточной пролиферации (Ki67) — 5%.

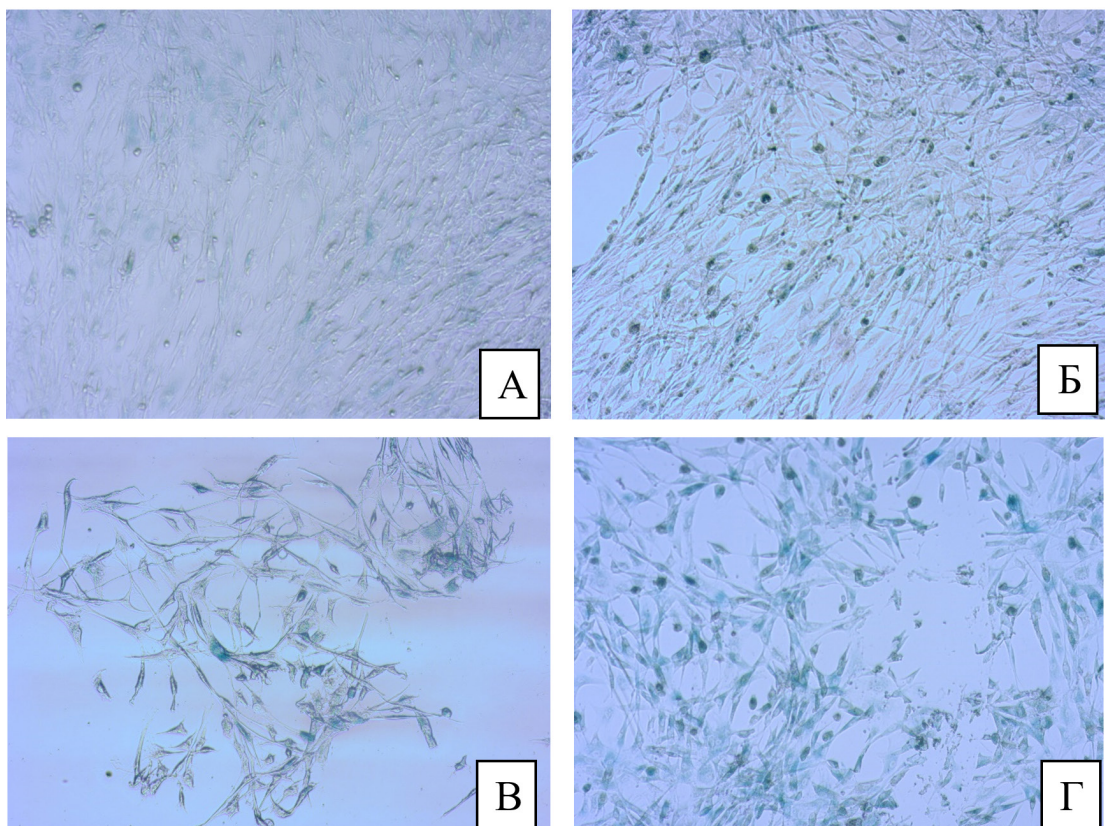


Рис. 3. Интенсивность окрашивания  $\beta$ -галактозидазой в цитоплазме клеток культуры рака молочной железы, световая микроскопия, ув. 100, под А — контрольная группа, Б — 2,5 мкл, В — 5 мкл, Г — 10 мкл.

Для полуавтоматического подсчета клеток с целью определения цитостатического эффекта препарата, а также для визуального контроля использовалась окраска DAPI. В контрольной группе наблюдаются клетки небольших размеров, преимущественно треугольной формы, отмечается значительное снижение количества клеток после воздействия препарата в концентрации 5 и 10 мкл (рис. 1).

При оценке окрашивания  $\beta$ -галактозидазы для оценки клеточного старения в цитоплазме клеток в контрольной группе обнаружилось 5% клеток с положительной реакцией, в группах с концентрацией тамоксифена 2,5 и 5 мкл количество положительно окрашенных клеток увеличилось до 10 и 12% соответственно. В группе клеток с концентрацией тамоксифена 10 мкл наблюдалось большое количество клеток — 58% с высокой интенсивностью окраски (рис.3).

### Обсуждение

При исследовании влияния высокой концентрации тамоксифена на культуру клеток, полученную от люминального В Her2-негативного подтипа рака молочной железы, был обнаружен цитотоксический эффект препарата. Эти данные соответствуют работе W.Li с соавт. (2017), где описано, что низкая концентрация тамоксифена активирует эстроген-зависимые пути, в то время как его высокие концентрации индуцируют реакцию окислительного стресса и активируют эстроген-независимые пути, индуцируя клеточный апоптоз [20-22].

Согласно работе M. E. LLeonart с соавт. (2009) стареющие клетки характеризуются экспрессией бета-галактозидазы и измененной морфологией: гигантским размером клеток, повышенной зернистостью цитоплазмы и большим ядром [12]. В нашем исследовании было обнаружено значимое увеличение размеров клеток и высокие уровни экспрессии бета-галактозидазы после воздействия тамоксифена в концентрации 10 мкл по сравнению с контрольной группой. Увеличение процента стареющих клеток при высоком уровне эстрогена в клеточной культуре, показанный в нашем исследовании, соответствует данным, полученным Lee Y.H. и соавт. (2014), где на клеточной линии MCF-7 продемонстрировано, что тамоксифен способствует старению через ROS-p53-p21-зависимый путь (Cip1 / WAF1) путем ингибирования активности CK2 в клетках рака молочной железы [23]. Этот вывод подтверждают данные других исследований, где высокий процент клеток, экспрессирующих бета-галактозидазу, обнаруживается в опухолевых клетках рака молочной железы люминальных подтипов и HER2-гиперэкспрессированного подтипа. В то же время опухоли тройного негативного подтипа не имеют положительной реакции на данный фермент. Помимо этого, в работе Cotarello C.L с соавт. (2016) обнаружена обратная корреляция между клетками, экспрессирующими бета-галактозидазу и Ki67-позитивностью [24]. Однако при изучении реакции на  $\beta$ -галактозидазу в контрольной группе нами была отмечена небольшая интенсивность окраски и низкий уровень Ki-67 при оценке культуры.

### Заключение

В данном исследовании обнаружено, что тамоксифен активирует механизм клеточного старения в первичной культуре клеток, полученной от люминального В HER2-негативного подтипа, а также имеет цитотоксический эффект.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Ma G., He J., Yu Y. et al. Tamoxifen inhibits ER-negative breast cancer cell invasion and metastasis by accelerating Twist1 degradation. *Int. J. Biol. Sci.* 2015; 11(5):618-28. Doi: 10.7150/ijbs.11380
2. Богущ Т.А., Полежаев Б.Б., Дудко Е.А. Новые данные о молекулярных мишенях тамоксифена, отличных от рецепторов эстрогенов, и их клиническая значимость. *Антибиотики и химиотерапия.* 2016; №3-4: С.41-49
3. Liu Z.H., Ma Y.L., He Y.P. et al. Tamoxifen reverses the multi-drug-resistance of an established human cholangiocarcinoma cell line in combined chemotherapeutics. *Tamoxifen reverses the multi-drug-resistance of an established human cholangiocarcinoma cell line in combined chemotherapeutics. Mol. Biol.Rep.* 2011; 38(3): 1769–75. Doi: 10.1007/s11033-010-0291-z
4. Mirzaei M., Sheikholeslami S.A., Jalili A. et al. Investigating the molecular mechanisms of Tamoxifen on the EMT pathway among patients with breast cancer. *J Med Life.* 2022; 15(6):835-44. Doi: 10.25122/jml-2022-0085

5. Lee Y.H., Kang B.S., Bae Y.S. Premature senescence in human breast cancer and colon cancer cells by tamoxifen-mediated reactive oxygen species generation. *Life Sci.* 2014; 97(2):116-22. Doi: 10.1016/j.lfs.2013.12.009
6. Кушлинский Н.Е., Немцова М.В. Молекулярные механизмы опухолевого роста. *Медицинские новости.* 2014. №9 (240). С.29-37
7. James L. K., Tchkonja T., Cellular Senescence: A Translational Perspective. *EBioMedicine*21; 2017; 21-8. Doi:10.1016/j.ebiom.2017.04.013
8. Serrano M., Lin A.W., McCurrach M.E. et al. Oncogenic ras Provokes Premature Cell Senescence Associated with Accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell*; 88(5). 1997:593-602. Doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81902-9.
9. Prieur A., Peeper D.S. Cellular senescence in vivo: a barrier to tumorigenesis. *Current Opinion in Cell Biology.* 20(2). 150-5. Doi.org/10.1016/j.ceb.2008.01.007
10. Обеспечение качества молекулярно-биологических исследования при диагностике рака молочной железы / Сазонов С.В. – ВУМАН, 2018.
11. Гребенюк Е.В., Могиленских А.С., Сазонов С.В. Особенности пролиферативных процессов в клеточных культурах из образцов люминального В (HER2-негативного) подтипа рака молочной железы. *Вестник уральской медицинской академической науки.* 2022; 20 (1-2). С. 53-62
12. Lleonart M.I., Artero-Castro A., Kondoh H. Senescence induction; a possible cancer therapy. *Mol Cancer.* 2009; 8(3). Doi.org/10.1186/1476-4598-8-3
13. Sarmiento J., Perez B., Morales N. et al. Apoptotic effects of tamoxifen on leukocytes from horse peripheral blood and bronchoalveolar lavage fluid. *Vet Res Com.* 2013; 37(4): 333—38.
14. Cimica V., Smith M. E., Zhang Z. et al. Potent inhibition of rhabdoid tumor cells by combination of flavopiridol and 4OH-tamoxifen. *BMC Cancer.* 2010; 10: 634. Doi: 10.1186/1471-2407-10-634
15. Perez B., Henriquez C., Sarmiento J. et al. Tamoxifen as a new therapeutic tool for neutrophilic lung inflammation. *Respirology.* 2016; 21(1): 112—8.
16. Obrero M., Yu D.V., Shapiro D.J. Estrogen receptor-dependent and estrogen receptor-independent pathways for tamoxifen and 4-hydroxytamoxifen-induced programmed cell death. *J Biol Chem.* 2002; 277(47):45695-703. Doi: 10.1074/jbc.M208092200
17. Taylor J.R., Lehmann B.D., Chappell W.H. et al. Cooperative effects of Akt-1 and Raf-1 on the induction of cellular senescence in doxorubicin or tamoxifen treated breast cancer cells. *Oncotarget.*2011; 2(8):610-26. Doi: 10.18632/oncotarget.315
18. Tuttle R., Miller K.R., Maiorano J.N. et al. Novel senescence associated gene, YPEL3, is repressed by estrogen in ER+ mammary tumor cells and required for tamoxifen-induced cellular senescence. *Int J Cancer.* 2012; 130(10):2291-9. Doi: 10.1002/ijc.26239
19. Могиленских, А. С. Сазонов С. В. Создание клеточных линий карциномы молочной железы. *Гены и Клетки.* 2021; 16(1). С. 15-23. Doi:10.23868/202104002.
20. Li W., Shi X., Xu Y. et al. Tamoxifen promotes apoptosis and inhibits invasion in estrogen-positive breast cancer MCF-7 cells. *Mol Med Rep.* 2017; 16: 478-84
21. Brilliant A.A., Brilliant Yu.M., Sazonov S.V. Characteristics of the relation between epithelial-mesenchymal transition and proliferative activity in breast carcinomas. *European Journal of Cancer.* 2013. 49 (2). 216.
22. Kazantseva N., Brilliant A., Brilliant Y., Sazonov S. Expression of WNT, Hedgehog, Notch, PI3K, NF- $\kappa$ B, PTEN signaling molecules in HER-2 overexpressed and triple negative breast cancer with positive and negative ALDH1A1 expression in cancer cells. *European Journal of Pathology (Virchows Archiv)*, 2020: 477 (1), S. 48.
23. Lee Y.H., Kang B.S., Bae Y.S.. Premature senescence in human breast cancer and colon cancer cells by tamoxifen-mediated reactive oxygen species generation. *Life Sci.* 2014;97(2):116-22. Doi: 10.1016/j.lfs.2013.12.009
24. Cotarelo C.L., Schad A., Kirkpatrick et al. Detection of cellular senescence within human invasive breast carcinomas distinguishes different breast tumor subtypes. *Oncotarget.* 2016;7(46):74846-59. Doi:10.18632/oncotarget.12432.



Авторы

Могиленских Анна Сергеевна

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет

Научный сотрудник, ассистент кафедры

annasajler@yandex.ru

Российская Федерация, Екатеринбург

Сазонов Сергей Владимирович

ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой, зам. главного врача института

prof-ssazonov@yandex.ru

Российская Федерация, Екатеринбург

Демидов Сергей Михайлович

ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Заведующий кафедрой онкологии и лучевой диагностики, доктор медицинских наук, профессор

demidov@gkb40.ur.ru

Российская Федерация, Екатеринбург

Дерюгин Михаил Игоревич

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет

лаборант-исследователь, ассистент кафедры.

mderyugin@mail.ru

Российская Федерация, Екатеринбург

Белоглазова Елизавета Павловна

ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет

Студентка 2 курса лечебно-профилактического факультета

lenl68288@gmail.com

Российская Федерация, Екатеринбург

*A.S. Mogilenskikh <sup>1,2</sup>, S.M. Sazonov <sup>1,2</sup>, S.M. Demidov <sup>1,2</sup>,  
M.I. Deryugin <sup>1,2</sup>, E.P. Beloglazova <sup>2</sup>*

## THE EFFECT OF BLOCKING ESTROGEN RECEPTORS ON PRIMARY BREAST CANCER CULTURE CELLS

<sup>1</sup> Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russian Federation;

<sup>2</sup> Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

**Abstract.** *The aim* of the work is to study the effect of different concentrations of tamoxifen on cell growth and aging in the primary cell culture obtained from the luminal B HER2-negative subtype. *The methodology* of the work consists in obtaining a primary cell culture and exposing it to the antiestrogenic drug tamoxifen in different concentrations. The morphology and number of cells were evaluated during DAPI staining, the mechanism of cellular aging by the level of beta-galactosidase expression. Estrogen receptors and Ki-67 levels in cell culture were evaluated by flow cytometry. The contingent of subjects is women diagnosed with breast cancer, with a confirmed immunohistochemical subtype — luminal In HER2-negative. *The main results* of the work showed that tamoxifen in high concentrations stops cell growth and

triggers the mechanism of cellular aging, which is characterized by an increase in cell size and a high level of beta-galactosidase expression.

**Keywords:** tamoxifen, luminal B HER2-negative subtype, primary cell culture, beta-galactosidase

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Anna S. Mogilenskikh

annasajler@yandex.ru

Received 04.06.2024

For citation:

Mogilenskikh A.S., Sazonov S.M., Demidov S.M., Deryugin M.I., Beloglazova E.P. The effect of blocking estrogen receptors on primary breast cancer culture cells [Online] *Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science*. 2024, Vol. 21, no. 2, pp. 146–155. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-2-146-155 (In Russ)

## REFERENCES

1. Ma G., He J., Yu Y. et al. Tamoxifen inhibits ER-negative breast cancer cell invasion and metastasis by accelerating Twist1 degradation. *Int. J. Biol. Sci.* 2015; 11(5):618-28. Doi: 10.7150/ijbs.11380.
2. Bogush T.A., Polezhaev B.B., Dudko E.A. New data on molecular targets of tamoxifen other than estrogen receptors and their clinical relevance. *Antibiotics and chemotherapy = Antibiotiki i khimioterapiya*. 2016; No. 3-4: pp. 41-49, (InRuss.).
3. Liu Z.H., Ma Y.L., He Y.P. et al. Tamoxifen reverses the multi-drug-resistance of an established human cholangiocarcinoma cell line in combined chemotherapeutics. *Tamoxifen reverses the multi-drug-resistance of an established human cholangiocarcinoma cell line in combined chemotherapeutics. Mol. Biol.Rep.* 2011; 38(3): 1769–75. Doi: 10.1007/s11033-010-0291-z.
4. Mirzaei M., Sheikholeslami S.A., Jalili A. et al. Investigating the molecular mechanisms of Tamoxifen on the EMT pathway among patients with breast cancer. *J Med Life*. 2022; 15(6):835-44. Doi: 10.25122/jml-2022-0085.
5. Lee Y.H., Kang B.S., Bae Y.S. Premature senescence in human breast cancer and colon cancer cells by tamoxifen-mediated reactive oxygen species generation. *Life Sci.* 2014; 97(2):116-22. Doi: 10.1016/j.lfs.2013.12.009.
6. Kushlinsky N.E., Nemtsova M.V. Molecular mechanisms of tumor growth. *Medical news = Meditsinskiye novosti*. 2014. No. 9 (240). P.29-37, (InRuss.).
7. James L. K., Tchkonja T., Cellular Senescence: A Translational Perspective. *EBioMedicine*21; 2017; 21-8. Doi:10.1016/j.ebiom.2017.04.013.
8. Serrano M., Lin A.W., McCurrach M.E. et al. Oncogenic ras Provokes Premature Cell Senescence Associated with Accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell*; 88(5). 1997:593-602. Doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81902-9.
9. Prieur A., Peeper D.S. Cellular senescence in vivo: a barrier to tumorigenesis. *Current Opinion in Cell Biology*. 20(2). 150-5. Doi.org/10.1016/j.ceb.2008.01.007.
10. Ensuring the quality of molecular biological studies in the diagnosis of breast cancer / Sazonov S.V. – *Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2018, (InRuss.).
11. Grebenyuk E.V., Mogilenskikh A.S., Sazonov S.V. Features of proliferative processes in cell cultures from samples of the luminal B (HER2-negative) subtype of breast cancer. *Bulletin of the Ural Medical Academic Science*. 2022;20(1-2). pp. 53-62, (InRuss.).
12. Leonart M.I., Artero-Castro A., Kondoh H. Senescence induction; a possible cancer therapy. *Mol Cancer*. 2009; 8(3). Doi.org/10.1186/1476-4598-8-3
13. Sarmiento J., Perez B., Morales N. et al. Apoptotic effects of tamoxifen on leukocytes from horse peripheral blood and bronchoalveolar lavage fluid. *Vet Res Com.* 2013; 37(4): 333—38.
14. Cimica V., Smith M. E., Zhang Z. et al. Potent inhibition of rhabdoid tumor cells by combination of flavopiridol and 4OH-tamoxifen. *BMC Cancer*. 2010; 10: 634. Doi: 10.1186/1471-2407-10-634.
15. Perez B., Henriquez C., Sarmiento J. et al. Tamoxifen as a new therapeutic tool for neutrophilic lung



inflammation. *Respirology*. 2016; 21(1): 112—8.

16. Obrero M., Yu D.V., Shapiro D.J. Estrogen receptor-dependent and estrogen receptor-independent pathways for tamoxifen and 4-hydroxytamoxifen-induced programmed cell death. *J Biol Chem*. 2002; 277(47):45695-703. Doi: 10.1074/jbc.M208092200.

17. Taylor J.R., Lehmann B.D., Chappell W.H. et al. Cooperative effects of Akt-1 and Raf-1 on the induction of cellular senescence in doxorubicin or tamoxifen treated breast cancer cells. *Oncotarget*. 2011; 2(8):610-26. Doi: 10.18632/oncotarget.315.

18. Tuttle R., Miller K.R., Maiorano J.N. et al. Novel senescence associated gene, YPEL3, is repressed by estrogen in ER+ mammary tumor cells and required for tamoxifen-induced cellular senescence. *Int J Cancer*. 2012; 130(10):2291-9. Doi: 10.1002/ijc.26239.

19. Mogilenskikh, A. S. Sazonov S. V. Creation of breast carcinoma cell lines. *Genes and Cells*. 2021; 16(1). pp. 15-23, (InRuss.). Doi:10.23868/202104002.

20. Li W., Shi X., Xu Y. et al. Tamoxifen promotes apoptosis and inhibits invasion in estrogen-positive breast cancer MCF-7 cells. *Mol Med Rep*. 2017; 16: 478-84.

21. Brilliant A.A., Brilliant Yu.M., Sazonov S.V. Characteristics of the relation between epithelial-mesenchymal transition and proliferative activity in breast carcinomas. *European Journal of Cancer*. 2013. 49 (2). 216.

22. Kazantseva N., Brilliant A., Brilliant Y., Sazonov S. Expression of WNT, Hedgehog, Notch, PI3K, NF- $\kappa$ B, PTEN signaling molecules in HER-2 overexpressed and triple negative breast cancer with positive and negative ALDH1A1 expression in cancer cells. *European Journal of Pathology (Virchows Archiv)*, 2020: 477 (1), S. 48.

23. Lee Y.H., Kang B.S., Bae Y.S.. Premature senescence in human breast cancer and colon cancer cells by tamoxifen-mediated reactive oxygen species generation. *Life Sci*. 2014;97(2):116-22. Doi: 10.1016/j.lfs.2013.12.009

24. Cotarelo C.L., Schad A., Kirkpatrick et al. Detection of cellular senescence within human invasive breast carcinomas distinguishes different breast tumor subtypes. *Oncotarget*. 2016;7(46):74846-59. Doi:10.18632/oncotarget.12432.

#### Authors

Anna S. Mogilenskikh

Institute of Medical Cell Technologies

Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Researcher, Assistant of the department

annasajler@yandex.ru

Russian Federation, Yekaterinburg

Sergey V. Sazonov

Institute of Medical Cell Technologies

Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Head of the Department of Histology, Doctor of Medical Sciences, Professor

prof-ssazonov@yandex.ru

Russian Federation, Yekaterinburg

Sergey M. Demidov

Institute of Medical Cell Technologies

Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Head of the Department of Oncology and Radiation Diagnostics, Doctor of Medical Sciences, Professor

demidov@gkb40.ur.ru

Russian Federation, Yekaterinburg

Mihail I. Deryugin

Institute of Medical Cell Technologies

Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Researcher, Assistant of the department  
Russian Federation, Yekaterinburg

Elizaveta P. Beloglazova  
Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation  
2nd year student  
lenl68288@gmail.com  
Russian Federation, Yekaterinburg