

**Разработка модели опухоли на основе клеток меланомы человека, мезенхимальных стволовых клеток костного мозга и мононуклеаров крови для доклинического скрининга противоопухолевых препаратов**

**Научный руководитель – Китаева Кристина Викторовна**

*Голубенко М.А.<sup>1</sup>, Филлин И.Ю.<sup>2</sup>*

1 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия, *E-mail: golubenkomasha@gmail.com*;

2 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия, *E-mail: filin.ivy@gmail.com*

Микроокружение опухоли является комплексной средой, включающей в себя различные типы клеток, в том числе иммунные [3]. В этой среде клетки приобретают аномальный фенотип, что играет роль в развитии опухоли, метастазировании, формировании устойчивости к различным типам терапии. В качестве доклинического скрининга лекарственных препаратов используются тест-системы, состоящие из монокультуры опухолевых клеток. Однако, отсутствие действительной опухолевой микросреды в монокультуре снижает достоверность результатов при скрининге препарата [2].

Цель: разработать модель опухоли на основе двойной ко-культуры, содержащей опухолевые и мезенхимальные стволовые клетки, и тройной ко-культуры, содержащей опухолевые, мезенхимальные стволовые и иммунные клетки и оценить влияние цисплатина на жизнеспособность/пролиферативную активность клеток в ко-культурах.

Материалы и методы. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) были выделены из костного мозга человека и инкубировались в среде  $\alpha$ -МЕМ (ПанЭко, Россия). Мононуклеарные клетки (МКПК) были выделены из периферической крови в градиенте плотности фиколла (1,077 г/см<sup>3</sup>, ПанЭко, Россия). Клетки меланомы (M14) инкубировали в среде RPMI (ПанЭко, Россия) при стандартных условиях культивирования. Для создания двойной и тройной ко-культур клетки были смешаны в соотношении 1:1 (по 1500 клеток) и 1:1:1 (по 1000 клеток) соответственно. После 48 часов инкубирования был добавлен препарат Цисплатин-ЛЭНС (ЛЭНС-ФАРМ, Россия). Через 24 часа инкубации с препаратом был проведен MTS-тест (смесь 20:1 реагентов CellTiter96 AQueous MTS Reagent Powder (Promega, США) и феназин метосульфата (Sigma-Aldrich, США) соответственно).

Результаты. Жизнеспособность клеток в двойной и тройной ко-культурах увеличилась на 29,7% и 16,6% относительно нативных клеток в монокультуре M14 соответственно, что может говорить о поддерживающей роли МСК в ко-культуре. Жизнеспособность МСК с цисплатином относительно контроля уменьшилась на 12,9%. Жизнеспособность M14 уменьшилась на 17,7%; МКПК - на 2,2% относительно контроля. Это позволяет говорить о цитотоксическом действии препарата на клетки. Жизнеспособность клеток в двойной и тройной ко-культурах в присутствии цисплатина, даже при наличии МСК, уменьшилась на 3,9 и 8,8% относительно нативных клеток в монокультуре M14. Следовательно, препарат может блокировать активность как клеток опухоли, так и клеток в опухолевом микроокружении. Но жизнеспособность в данном случае выше, чем монокультуры клеток M14 с цисплатином, что может говорить о положительном влиянии МСК на развитие опухоли. Кроме того, жизнеспособность клеток в тройной ко-культуре относительно двойной уменьшилась на 13,1% в контроле без цисплатина и на 5% в ко-культуре с цисплатином. Можно предположить, что иммунные клетки ингибируют развитие опухоли, связанное с наличием МСК. Есть тенденция к снижению цитотоксического действия цисплатина на клетки в тройной ко-культуре, что может объясняться синергичным влиянием клеток опухолевого микроокружения [1].

**Источники и литература**

- 1) 1. Chen, S. H., Chang, J. Y. New Insights into Mechanisms of Cisplatin Resistance: From Tumor Cell to Microenvironment // International journal of molecular sciences, 2019. No.17. 4136.
- 2) 2. Kitaeva, Kristina V et al. Cell Culture Based in vitro Test Systems for Anticancer Drug Screening// Frontiers in bioengineering and biotechnology, 2020. No. 8 322.
- 3) 3. Whiteside, T L. The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth// Oncogene, 2008. No. 27,45.