

3D-КУЛЬТУРА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ НЕК293, КАК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ В ОНКОЛОГИИ

Цымбалюк В.В.

Курский государственный медицинский университет
НИИ экспериментальной медицины (зав. лаб. морфологии и клеточных технологий,
к.м.н., доцент Мишина Е. С.)

Аннотация. В настоящее время онкологические заболевания все чаще выявляются у лиц молодого и среднего возраста, ставя под угрозу как прогноз для жизни, так и для трудоспособности. Сегодня развитие клеточных технологий позволяет нам использовать линии опухолевых клеток, сформированных не только в качестве двумерного монослоя, но и в трехмерной форме, позволяющей моделировать течение онкопроцессов и испытывать новые лекарственные вещества в условиях, наиболее приближенных к клиническим. Целью исследования является оценка 3D-культуры опухолевых клеток линии НЕК293 при тестировании химиопрепаратов, в сравнении с монослоем. Двумерную и трехмерную культуры сравнивали с помощью оценки устойчивости клеток в возрастающих концентрациях химиопрепаратов по показателю ЛД50. Доксорубицин в плоской культуре обладает антипролиферативным эффектом, проявляющимся в большей степени за счет выраженной цитотоксичности, по сравнению с цисплатином. 3D-культура более устойчива к действию химиопрепаратов в отношении деления клеток, что связано с ее поверхностной зоной роста, и воздействием на нее действующего вещества, и в то же время одинаково подвержена цитотоксическому эффекту, как и двумерная культура.

Ключевые слова: сфероиды, экспериментальная модель, онкология, НЕК293, доксорубицин.

Актуальность. В настоящее время онкологические заболевания все чаще выявляются у лиц молодого и среднего возраста, ставя под угрозу как прогноз для жизни, так и для трудоспособности. Исследования новых молекул направлены на выявление их активности в отношении опухолевой ткани и достижение безопасности для здоровых клеток [1]. Использование классических животных моделей является дорогостоящим и эффективным методом, но сегодня развитие клеточных технологий позволяет нам использовать линии опухолевых клеток, сформированных не только в качестве двумерного монослоя, но и в трехмерной форме, позволяющей моделировать течение онкопроцессов и испытывать новые лекарственные вещества в условиях, наиболее приближенных к клиническим [2].

Целью исследования является оценка 3D-культуры опухолевых клеток линии НЕК293 при тестировании химиопрепаратов, в сравнении с монослоем.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе НИИ экспериментальной медицины Курского государственного медицинского университета. Из опухолевых клеток линии НЕК293 были получены два типа опухолевых культур. Двумерная – в виде монослоя на дне культурального флакона, и трехмерная – в виде сфероидов, сформированная с помощью посева на неадгезивную матрицу на основе агарозы. Опытные группы в первый день культивирования обрабатывали химиопрепаратами: доксорубицином и цисплатином в концентрации 35мкМ. Результат их антипролиферативного эффекта в монослое оценивали по числу клеток в 1 мл с помощью камеры Горяева на 7 сутки, в 3D-культуре – по объему сфероидов, так как объем сфероида прямо зависит от числа составляющих клеток [3]. Результат цитотоксического эффекта в монослое – окрашивали трипановым синим и оценивали по числу живых клеток в 1 мл с помощью камеры Горяева. Двумерную и трехмерную культуры сравнивали с помощью оценки устойчивости клеток в возрастающих концентрациях химиопрепаратов по показателю ИД50 и ЛД50. Результаты обрабатывали статистически в Microsoft Excel 2016.

Результаты и обсуждение. При оценке двумерной культуры опухолевых клеток линии НЕК293 в контрольной группе получена концентрация $120,2 \pm 8,1$ тыс. кл/мл. Концентрация опухолевых клеток в двумерной культуре после обработки доксорубицином и цисплатином составила $15,6 \pm 1,6$ тыс. кл/мл и $30,8 \pm 1,2$ тыс. кл/мл. Живых клеток при применении доксорубицина $5,7 \pm 2,6$ тыс. кл/мл (36,4%), а при применении цисплатина $13,5 \pm 4,2$ тыс. кл/мл (43,9%). Доксорубицин в плоской культуре обладает антипролиферативным эффектом, проявляющимся в большей степени за счет выраженной цитотоксичности, по сравнению с цисплатином.

Сравнение двух типов культуры клеток показало, что клетки более устойчивы к действию химиопрепаратов в виде сфероидов. Так ИД50 доксорубицина в 3D-культуре составило $0,12 \pm 0,03$ мкМ, а в плоской культуре $0,02 \pm 0,01$ мкМ. В отношении цисплатина тенденция подтверждается ИД50 соответственно $8,1 \pm 0,02$ мкМ и $1,7 \pm 0,04$ мкМ. Однако, при оценке цитотоксического эффекта установлено, что ЛД 50 доксорубицина для сфероидов и монослоя отличаются незначительно 26 ± 3 мкМ и 24 ± 4 мкМ, ЛД 50 цисплатина 120 ± 5 мкМ и 142 ± 10 мкМ соответственно.

Выводы. Доксорубицин в плоской культуре обладает антипролиферативным эффектом, проявляющимся в большей степени за счет выраженной цитотоксичности, по сравнению с цисплатином. 3D-культура более устойчива к действию химиопрепаратов в отношении деления клеток, что связано с ее поверхностной зоной роста, и воздействием на нее действующего вещества, и в то же время одинаково подвержена цитотоксическому эффекту, как и двумерная культура.

Список литературы

1. Мингалеева Р. Применение культур клеток и тканей для скрининга противоопухолевых препаратов *in vitro*/ Мингалеева Р. et al.// Гены и Клетки. – 2013. – Vol. 8, № 2. – Р. 20–28.
2. Балалаева, И.В. Сфероиды HER2-положительной аденокарциномы молочной железы человека как модель для тестирования 232 противоопухолевых иммунотоксикантов/ Балалаева И. В. и др.// Acta Naturae. – 2017. – Т. 9, № 1 (32). – С. 40–46.
3. Кошелева Н. Технология создания мультипотентных сфероидов из мезенхимных стромальных клеток лимба для репарации поврежденных тканей глаза/ Кошелева Н. и др.// Патологическая физиология экспериментальная терапия. – 2016. – Т. 60, № 4. – С. 160–167.

ДИНАМИКА МАССОВОГО КОЭФФИЦИЕНТА ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ КАДМИЕМ

Чертова Р.Ю., Усачев М. А., Артемова И. А., Королев Е. В.

Курский государственный медицинский университет

Кафедра биологии, медицинской генетики и экологии (научные руководители
- зав. каф. д.б.н., профессор Королев В. А., доцент, к.б.н. Бабкина Л. А.)

Аннотация. Интегральным показателем общего состояния животных при интоксикации служит массовый коэффициент органа. Печень и почки являются органами мишенями действия кадмия. Изучена динамика массового коэффициента печени и почек экспериментальных половозрелых самцов крыс линии Wistar при субхронической интоксикации кадмием. В течение 28 дней экспериментальные животные получали ацетат кадмия с питьевой водой (15 мл/сутки) в дозировке $1/50$ LD₅₀. Большая изменчивость данного показателя выявлена для печени, что возможно обусловлено более выраженным ее участием в детоксикации кадмия. Выявлено статистически значимое снижение массового коэффициента печени экспериментальных животных по сравнению с контрольной группой на 7, 14 и 21 день поступления кадмия с питьевой водой, что возможно обусловлено торможением пролиферации клеток и синтетической активности. При дальнейшем