

УДК 616-006.4:615.28

DOI: 10.25557/GM.2018.4.9744

Культуры клеток злокачественных новообразований человека в разработке новых противоопухолевых препаратов

Чернов А.Н., Баранцевич Е.П., Галимова Э.С., Галагудза М.М.

Институт экспериментальной медицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, 197341, Санкт-Петербург, ул. Акkuratова, д. 2

Современный эффективный скрининг новых противоопухолевых химиопрепаратов и биологических препаратов на доклиническом этапе невозможен без применения моделей культур опухолевых клеток. К таким моделям относят первичные культуры клеток и клеточные линии опухолей человека, культивируемые в двумерной (2D) и трехмерной (3D) системах. В обзоре обсуждаются различные аспекты применения моделей клеточных культур неоплазий человека, их актуальность в исследованиях противоопухолевой эффективности препаратов.

Ключевые слова: рак, культура клеток, противоопухолевая активность, скрининг *in vitro*, панель линий клеток рака, двумерная (2D) модель культуры клеток, трехмерная (3D) модель культуры клеток.

Для цитирования: Чернов А.Н., Баранцевич Е.П., Галимова Э.С., Галагудза М.М. Культуры клеток злокачественных новообразований человека в разработке новых противоопухолевых препаратов. Патогенез. 2017; 15(4): 13—23

Для корреспонденции: Баранцевич Елена Петровна, e-mail: lenabara2003@inbox.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 03.10.2017

Cell cultures of human malignant tumors in development of new anticancer therapies

Chernov A.N., Barantsevich E.P., Galimova E.S., Galagudza M.M.

V.A. Almazov National Medical Research Center, Akkuratova Str. 2, St. Petersburg 197341, Russian Federation

Current effective preclinical screening of new anticancer chemotherapies and biological medicines requires cancer cell culture models. Such models include primary cell cultures and human tumor cell lines cultured in two-dimensional (2D) and three-dimensional (3D) systems. This review discussed different aspects of using human tumor cell culture models and their relevance for studying efficacy of antitumor drugs.

Keywords: cancer, cell culture, anticancer drug efficacy, *in vitro* screening, panel of cancer cell lines, two-dimensional (2D) model of cell culture, three-dimensional (3D) model of cell culture.

For citation: Chernov A.N., Barantsevich E.P., Galimova E.S., Galagudza M.M. Cell cultures of human malignant tumors in development of new anticancer therapies. Patogenez [Pathogenesis]. 2017; 15(4): 13—23 (in Russian)

For correspondence: Barantsevich Elena Petrovna, e-mail: lenabara2003@inbox.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 03.10.2017

Введение

В последние годы были достигнуты заметные успехи в терапии злокачественных новообразований, что в значительной степени обусловлено введением в клиническую практику новых поколений химических и биологических соединений. Практика показала, что клинические испытания вновь разработанных противораковых препаратов весьма дорогостоящи и при отсутствии надежных данных о безопасности, полученных на доклиническом этапе, могут быть сопряжены с риском развития серьезных побочных эффектов, инвалидизации и летального исхода у онкологических больных. Доклинический скрининг препаратов, таким образом, является важнейшим

этапом, предшествующим введению новых противоопухолевых препаратов в клиническую практику. Для обеспечения релевантных данных на доклиническом этапе исследования новых субстанций необходимо постоянное совершенствование методологии применения клеточных культур.

Стандарты, предъявляемые к проведению доклинических испытаний препаратов в США [1, 2, 3], Великобритании [2], Европейском Союзе [3] и Российской Федерации [4] изложены в «Надлежащей лабораторной практике» (Good Laboratory Practice, GLP) и «Надлежащей практике клеточного культивирования» (Good Cell Culture Practice, GCCP) [1, 5, 6]. В качестве моделей для тестирования химических соединений и препаратов на противо-

опухолевую активность используют гетерогенные и гомогенные панели линий клеток рака, первичные культуры клеток опухолей с применением двумерных (2D), псевдодвумерных и трехмерных систем культур клеток (3D) [1, 4, 6, 7, 8, 9]. Широкому применению культур клеток в качестве моделей послужила простота их использования, а также возможность изучения целого ряда процессов и явлений на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях, которые затруднительно или невозможно исследовать на экспериментальных животных.

В области экспериментальной онкологии с применением двумерной культуральной модели изучают прямое цитотоксическое влияние препаратов, аддитивные, синергические и антагонистические эффекты комбинаций препаратов, механизмы общей лекарственной и перекрестной резистентности, химиочувствительность клеток опухолей пациентов на разных этапах химиотерапии. Однако по современным представлениям двумерные культуры клеток не всегда могут обеспечить достоверный прогноз действия исследуемого препарата *in vivo*. Это связывают с невозможностью воспроизведения в 2D моделях гистоархитектуры и микроокружения опухоли. Поэтому, в последнее время большое внимание уделяют разработке и совершенствованию 3D моделей [10, 11]. Трехмерные системы культур клеток позволяют имитировать условия микроокружения опухоли, гетерогенность ее клеточного состава, патофизиологические, биохимические и молекулярные характеристики, условия развития неоплазии в организме (гипоксия, насыщение ткани кислородом, транспорт химических соединений через физиологические барьеры).

Настоящий обзор посвящен анализу преимуществ и недостатков применения гомогенных и гетерогенных клеточных линий, а также первичных культур клеток в двумерных, псевдодвумерных и трехмерных моделях для скрининга противоопухолевых соединений.

Двумерные (2D) модели культуры клеток опухолей

Двумерная модель подразумевает культивирование опухолевых клеток в монослое, что обеспечивает равномерный доступ к компонентам среды. Технологии двумерного культивирования широко применяются при использовании таких методов оценки противоопухолевой активности химических соединений и биопрепаратов, как метил-тетразолиевый тест (МТТ, 3-(4,5-dimethyl-2-thiazyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide test), тест на колониобразование (CFA, colonic formation assay), дифференциальное окрашивание на цитотоксичность (DiSC, differential staining cytotoxicity assay), оценка жизнеспособности клеток по уровню аденозинтрифосфорной кислоты (АТР cell viability assay), определение лекарственной чувствительности стволовых опухолевых клеток (HTDA, human tumor stem cell drug sensitivity assay) [12, 13, 14, 15, 16].

Однако, монослойная организация культуры не позволяет учитывать воздействие естественного клеточного микроокружения, присутствующего как в организме, так и при конструировании псевдодвумерных и 3D моделей, что влияет на химиочувствительность опухолевых клеток. Кроме того, 2D модели не позволяют оценить фармакокинетику и транспорт химических соединений к опухолевым клеткам. Растущие в 2D условиях клетки обычно более плоские и вытянутые по сравнению с клетками орга-

низма и 3D культур. В основе этого явления лежит измененная экспрессия поверхностных рецепторов, молекул клеточной и межклеточной адгезии. Измененная морфология клеток может оказывать влияние на различные физиологические параметры, включая клеточную пролиферацию, дифференцировку, экспрессию генов и белков, апоптоз [17]. Тем не менее, традиционная двумерная культуральная модель по-прежнему является распространенной тестовой платформой *in vitro* при скрининге лекарственных препаратов.

2D модели клеточных линий опухолей человека в изучении противоопухолевой активности

В 1990 г. Национальным институтом рака США был принят протокол фармацевтического скрининга, включающий тестирование препаратов на панели из 60 линий клеток опухолей человека (NCI60). В панель NCI60 включены клеточные линии рака молочной железы, кишечника, почек, легкого, яичников, простаты, меланомы, лейкоза и опухолей центральной нервной системы [8]. Согласно статистике, ежегодно панель NCI60 используется для скрининга противоопухолевой активности приблизительно 2500 препаратов, по результатам которого только 2% переходят на следующий этап исследований *in vivo*. Противоопухолевый препарат допускается к следующему этапу скрининга *in vivo* в тех случаях, когда вызывает гибель клеток хотя бы одной клеточной линии, обладает уникальным механизмом действия *in vitro*, или же для подавления роста клеток требуется очень низкая его концентрация [8]. Особенностью данного теста является его ориентация не на препарат, а на заболевание, по отношению к которому химическое соединение показало потенциальный терапевтический эффект [7, 9].

Химическая модификация биологически активных соединений природного происхождения является одним из наиболее эффективных подходов в разработке лекарственных препаратов. Так, кумарины являются важным классом природных органических соединений, которые преимущественно встречаются у высших растений и обладают разнообразной фармакологической активностью. О. Galayev и соавторы синтезировали 14 новых гетероциклических соединений из серии 7-гидрокси-8-метил-кумаринов, и на панели NCI60 выявили наибольшую активность индолкумарина 6-(6-фтор-1H-индол-2-ил)-7-гидрокси-4,8-диметил-2H-хромен-2-он в отношении линии клеток НОР-92 немелкоклеточного рака легкого (GI50/TGI/LC50 0,95/4,17/29,9 мкМ/л соответственно) [18]. Группа ученых из США установила противоопухолевую активность у соединения HLBT-100, относящегося к классу флаванонов растения Тилландсия отогнутая (*Tillandsia recurvata*). В антипролиферативном тесте WST-1 флаванон ингибировал рост линий клеток глиобластомы (U87 MG), нейробластомы (IMR-32), рака молочной железы (MDA-MB231), В-клеточного лимфобластного лейкоза (MV4-11), меланомы (A375) и простаты (PC3) в IC50 концентрациях 0,054, 0,05, 0,030, 0,024, 0,003 и 0,031 мкМ/л соответственно. Соединение увеличивало численность клеток в G₁ фазе клеточного цикла, повышало активность каспазы-3 и -7, а также фрагментацию ДНК. Противоопухолевая активность HLBT-100 была установлена также в отношении клеточных линий рака кишечника и яичников [19].

R. Romagnoli и соавторы на панели NCI60 протести- ровали ингибитор полимеризации тубулина 1-(3',4',5'-триметоксифенил)-2-арил-1H-имидазол и его аналоги. Авторы показали, что аналог, содержащий хлор- и этокси-группы в мета- и пара-положениях имидазоль- ного кольца, имеет самое низкое значение IC₅₀ (0,4-3,8 нМ/л) для 7 клеточных линий: HeLa, HT-29, A549, MCF-7, Jurkat, RS411 и HL-60 [20].

Один из наиболее значимых результатов с использо- ванием панели NCI60 был получен при анализе противо- опухолевой активности модифицированной борной кис- лоты — бортезомиба, ингибирующего в клетках миеломы активность протеасомы 26S. Механизм гибели клеток ми- еломы заключался в ингибировании ядерного транскрип- ционного фактора κB [21]. Исследователи из Университе- та Хельсинки и Школы медицины Университета Джона Хопкинса идентифицировали ингибитор РНК полимера- зы I — VMH-21, и обнаружили у него противоопухолевый эффект. Авторы показали, что VMH-21 связывается с GC-богатыми последовательностями ДНК и вызывает протеосомно-зависимый распад белка RPA194 — компо- нента большой каталитической субъединицы РНК-поли- меразы I, тем самым ингибируя ее активность [22]. Со- гласно результатам последних исследований, РНК-поли- меразы I является перспективной мишенью для противо- раковой терапии.

A. Sato и соавторы синтезировали новый, менее токсичный по сравнению с предыдущими аналогами CC-1065 и дуокармицином, препарат индолкарбоксамид ML-970 (известный также как AS-I-145 и NSC 716970), который связывается с AT-богатыми последовательности ДНК и алкилирует ДНК [23]. Скрининг на панели NCI60 показал, что ML-970 обладает выраженным проти- воопухолевым действием со средним значением концент- рации 50%-го максимального ингибирования клеточной пролиферации (GI₅₀) 34 нМ/л [24].

Приведенные исследования демонстрируют, что на панели клеточных линий опухолей человека NCI60 мож- но не только оценить противоопухолевый эффект тести- руемых химических соединений и препаратов, но и изу- чить механизмы их действия. Продолжительность теста с использованием панели NCI60 составляет всего 2 суток, что положительно отличает эту модель от других панелей клеточных линий, 3D моделей и первичных культурах клеток [7, 9]. NCI60 до сих пор остается самой мощной панелью линий клеток рака человека для высокопроизво- дительного скрининга противоопухолевых препаратов.

Гетерогенная модель JFCR39 (Japanese Foundation for Cancer Research 39), включающая панель из 39 клеточных линий рака человека в сочетании с базой данных об ак- тивности препаратов основывается на NCI60, но исполь- зуется реже [9, 25]. Подобно NCI60, JFCR39 может пред- сказывать механизм действия или молекулярную мишень противоопухолевого средства с использованием алгори- та COMPARE. Эту панель применили для исследования ингибитора фосфотидилинозитол-3-киназы — ZSTK474 (2-(2-difluoromethylbenzoimidazol-1-yl)-4, 6-dimorpholi- no-1, 3, 5-triazine) и некоторых других противоопухоле- вых средств, которые в дальнейшем вошли в клинические испытания [25].

Из-за ограниченной мощности панели NCI60, испо- льюющей 60 линий раковых клеток для обнаружения биомаркеров, недавно было проведено несколько иссле-

дований с использованием больших коллекций линий ра- ковых клеток, для которых были получены обширные данные фенотипов чувствительности на лекарственные средства по целому ряду цитотоксических и таргетных препаратов. Исследовательские группы из Гарвардского Университета и Массачусетского технологического ин- ститута совместно с компанией «Новартис» создали об- щественный ресурс «Энциклопедия линий клеток рака» (Cancer Cell Line Encyclopedia, CCLE), который объеди- нил данные о геноме рака и противоопухолевых соедине- ниях-кандидатах. Данная база содержит информацию о генетических и фармакологических характеристиках бо- лее 1000 клеточных линий рака человека [26]. Проекты «Геном рака» (Cancer Genome Project, CGP) при Инсти- тUTE Сенгера и «Атлас генома рака» (The Cancer Genome Atlas, TCGA) при Национальном институте рака США включают базу данных «Genomics of Drug Sensitivity in Cancer» (GDSC) с информацией о 1074 клеточных линиях и чувствительности к противоопухолевым препаратам [27]. Оба проекта направлены на поиск мутаций, вызыва- ющих развитие онкологических заболеваний у человека и оценку чувствительности опухолей к химиопрепаратам и биопрепаратам. Таким образом, «Энциклопедия клеточ- ных линий рака», «Геном рака» и «Атлас генома рака» об- легчают проведение фармакогенетических и фармакоге- номных исследований.

Помимо гетерогенных, разработаны и гомогенные мо- дели клеточных линий опухолей человека для тестирова- ния химических соединений и препаратов на противоопу- холевую активность. К ним относятся панели клеточных линий рака молочной железы (Breast cancer cell line panel), колоректального рака (CRC, Colorectal cancer cell line pa- nel) и глиобластомы (GSK, glioblastoma stem cell) [9, 28]. Исследователи из Шеньянского фармацевтического уни- верситета синтезировали тимосапонин А-III — сапонин, выделенный из корневищ растения *Annemarrhena asphode- loides*, который является перспективным соединением для лечения рака, и провели оценку противоопухолевой ак- тивности на панели из шести линий клеток рака молоч- ной железы MCF-7 с использованием МТТ анализа *in vitro* [29]. Полученные результаты показали, что соединения 5h, 5i и 5n проявляют значительную цитотоксическую ак- тивность, превышающую таковую у исходного соедине- ния сарсасапогенина. Дальнейший анализ механизма действия 5n показал, что он задерживал клетки MCF-7 в G₂/M фазе, а также индуцировал апоптоз и некроз.

Американские исследователи на панели рака молоч- ной железы и клеточных линиях эпителиоцитов молоч- ной железы оценили их чувствительность к эверолимусу [30]. Авторы показали, что препарат потенцирует антими- тогенную активность тамоксифена, фулвестранта и трас- тузумаба в клеточных линиях рака молочной железы, экс- прессии рецепторы эстрогена (ER) и эпидермаль- ного фактора роста (HER2). Эверолимус индуцировал остановку клеточного цикла в фазах G₀/G₁ и апоптоз. Действие эверолимуса было ассоциировано с амплифика- цией генов киназы Aurora A (AURKA) и рецептора эпи- дермального фактора роста (HER2, hairy-related 2), сверх- экспрессией генов киназы гликогенситазы 3 альфа (GSK3A, glycogen synthase kinase 3 alpha), регуляторной субъединицы 3 фосфатидилинозитол-3-киназы (PIK3R3, Phosphoinositide 3-kinaseregulatory subunit 3), Kruppel-по- добного фактора 8 (KLF8, Kruppel-like factor 8), мито-

ген-активируемой протеинкиназы 10 (MAPK10, mitogen-activated protein kinase 10), фосфогликолат фосфатазы (PGP, phosphoglycolate phosphatase), рибосомального белка L38 (RPL38, ribosomal protein L38), аланинаминотрансферазы (ALT, alanineaminotransferase) и глиального фибриллярного кислого белка (GFAP, glial fibrillary acidic protein) [30]. Таким образом, применение гомогенной панели клеточных линий рака молочной железы позволило оценить противоопухолевую активность эверолимуса и изучить его молекулярно-генетические детерминанты.

2D модели первичных культур клеток опухолей человека в изучении противоопухолевой активности

В качестве модели *in vitro* для тестирования противоопухолевой активности соединений используют первичные культуры клеток, полученные из клеток тканей или органов пациентов (PDC, patient-derived tumor cell) [7]. Эта модель может иметь различные источники выделения раковых клеток — опухолевая ткань [7], циркулирующие клетки крови [31], асцитная жидкость [32] и плевральный трансудат [33].

А.Е. Freeman и соавторы показали, что после трансплантации 5 млн клеток меланомы тимусэктомированным мышам у них в течение 2,5 месяцев развились опухоли [34], что позволило сделать вывод о сохранении злокачественности клеток неоплазий в условиях первичной культуры.

С. Haglund и соавторы анализировали противоопухолевую активность 14 препаратов (амсакрин, триоксид мышьяка, бортезомиб, цисплатин, цитарабин, доксорубин, эпопозид, 5-фторурацил, гефитиниб, иматиниб, мелфалан, РКС412, рапамицин и винкристин) на первичных культурах клеток, полученных от пациентов с острым лимфобластным лейкозом, острым миелобластным лейкозом, хроническим лимфолейкозом, хроническим миелолейкозом, меланомой, раком яичников, кишечника, молочной железы, почки и немелкоклеточным раком легкого. Был обнаружен выраженный противоопухолевый эффект цисплатина и бортезомиба в отношении клеток рака яичников и миеломы [35].

Исследователи из медицинского центра университета Гамбурга выявили противоопухолевый эффект нилотиниба и иматиниба на первичных культурах опухолевых и стромальных клеток (фибробласты) плексиформной нейрофибромы [36]. А. Witkiewicz и соавторы провели скрининг 500 препаратов и их комбинаций на первичной культуре клеток аденокарциномы протока поджелудочной железы. Наблюдавшиеся различия профилей химиочувствительности культур клеток опухоли среди пациентов не могли быть спрогнозированы с использованием генетического анализа [37]. Q. Gao с соавторами на первичных культурах гепатоцеллюлярного рака показали, что ответ неоплазии на противоопухолевые препараты предопределяется профилем экспрессии генов во всех типах клеток, образующих опухоль (внутриопухолевая гетерогенность) [38]. Таким образом, клетки первичных культур опухолей сохраняют внутриопухолевую гетерогенность, экспрессию генов и белков, присущую новообразованию *in vivo*. Это позволяет использовать модель первичной культуры опухолевых клеток для изучения индивидуальной реакции опухоли конкретного пациента на проводимую терапию.

M. Schmidt и соавторы на 50 первичных культурах аденокарциномы молочной железы выявили значимую ($p=0,007$) ассоциацию между экспрессией мРНК рецепторов прогестерона и снижением чувствительности клеток к паклитакселу. Опухоли стадий T3 и T4 были значимо ($p=0,013$) более устойчивы к химиопрепарату, чем опухоли стадий T1 и T2. Вместе с тем, рецепторы к эстрогену, N стадия и возраст пациентов не влияли на химиочувствительность клеток опухоли [39]. Авторы показали, что первичные культуры клеток аденокарциномы молочной железы сохраняют экспрессию рецепторов к эстрогенам и прогестерону, особенности T и N стадий опухоли, растущей в организме, а при изучении чувствительности клеток гормон-зависимых опухолей к химиопрепаратам следует учитывать экспрессию рецепторов андрогенов, эстрогенов, а также пол пациентов.

J.W. Jang и соавторы протестировали пириметамин на первичных культурах клеток рака печени и клеточных линиях Huh7 и Fa2N-4 гепатоцеллюлярной карциномы человека. Ученые выявили, что пириметамин усиливает образование лизосом, высвобождение из них катепсина B и активацию апоптоза через каспаза-3-зависимый механизм [40].

Таким образом, в гомогенных по клеточному составу типах опухолей, растущих в условиях первичной культуры, возможно, как и на клеточных линиях, изучение механизма действия тестируемых химических соединений и препаратов. Гетерогенность клеточного состава опухолей в первичных культурах не позволяет точно идентифицировать молекулярный механизм действия испытываемых препаратов или химических соединений, поскольку присутствие неопухолевых клеток оказывает непосредственное влияние (за счет выделения цитокинов, хемокинов, ростовых факторов, пептидов) на раковые клетки. Опухолевые клетки в первичной культуре имеют ограниченное время жизни, что лимитирует использование этой модели [32, 33, 38].

Создание в Национальном институте рака США Национального банка моделей, включающего как клеточные линии, так и первичные культуры клеток, свидетельствует о перспективности и необходимости применения первичных культур клеток [41], несмотря на упомянутые ограничения.

Псевдодвумерные модели культуры клеток

В основе организации псевдодвумерных моделей клеточных культур лежит сокультивирование раковых клеток с неопухолевыми клеточными элементами экстрацеллюлярного матрикса (ECM, extracellular matrix) — фибробластами, эндотелиоцитами и стволовыми клетками. Разработке такого рода моделей послужили данные о влиянии компонентов ECM на гистоархитектуру, иммунные характеристики и ангиогенез опухолей, пролиферацию, дифференцировку, миграцию раковых клеток и их чувствительность к химио- и биопрепаратам [42]. Кроме того, воздействие на солидные опухоли с плотным ECM противоопухолевых препаратов может быть снижено вследствие их неспособности проникать через плотно организованную структуру матрикса и достигать раковых клеток [43]. На диффузию препаратов через ECM, передачу сигналов в раковые клетки, прогрессирование и приобретение злокачественного фенотипа опухолью могут оказы-

вать влияние физические свойства (жесткость, топография, интерстициальное давление жидкости, доступность лиганда, циклическое напряжение и напряжение сдвига) его компонентов [44].

В Институте рака Гарвардской медицинской школы (США), культивируя клеточные линии множественной миеломы RPMI-8226 и U266 с костномозговыми стромальными клетками HS5, наблюдали усиление устойчивости опухолевых клеток к мелфалану, циклофосфамиду, протеасомному ингибитору бортезомибу и ингибитору онкогена MUC1 GO-203. Совместное выращивание стромальных клеток с миеломными повышало в последних экспрессию онкогена MUC1 и ингибировало апоптоз через стимуляцию интерлейкином-6 JAK-STAT3 (JAK-STAT3, Janus kinase/signal transducers and activators of transcription) сигнального пути. Таким образом, сокультивирование клеток стромы костного мозга с клетками миеломы снижало чувствительность клеток миеломы к химиопрепаратам, ингибиторам протеасомы и онкогена MUC1 посредством активации интерлейкина-6 и JAK-STAT3 сигнального пути [45]. Китайские исследователи использовали межлуночную систему с проницаемой пористой мембраной для совместного культивирования мезенхимальных стволовых клеток костного мозга (МСК-КМ) и клеточных линий рака желудка SGC7901, КАТО-III, MKN45 и AGS. МСК-КМ повышали устойчивость к цисплатину CD133-положительных клеток рака желудка через ингибирование BAX (Bcl-2 associated X protein), апоптоза, активацию Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) и АКТ (PI3K/Akt, phosphoinositide-3-kinase-protein kinase B/Akt) сигнального пути. Использование этого механизма может повысить эффективность химиотерапии рака желудка [46]. В Техасском университете установили, что адипоциты костного мозга секретировали адипокины лептин и адипсин, которые в свою очередь стимулировали аутофагию и активировали экспрессию белков, участвующих в аутофагии Atg3, Atg5, LC3-I/II, а также подавляли апоптоз и активацию каспаз-9, -3 в клеточных линиях миеломы человека ARP-1, U266 и ARK. В результате реализации этого механизма раковые клетки приобретали устойчивость к мелфалану, доксорубину, дексаметазону и бортезомибу. Аутофагия клеток меланомы запускалась при активации JAK-STAT3 сигнального пути [47]. Коллектив японских исследователей разработал мультикомпонентную культуральную систему, в которой клетки мелкоклеточного WA-hT и немелкоклеточного рака легкого A549 культивировались со стромальными фибробластами WA-mFib и провоспалительными моноцитами THP-1. Фибробласты повышали устойчивость раковых клеток к химиопрепарату, в то время как моноциты активировали в опухолевых клетках тимидинфосфорилазу, которая способствовала превращению проформы препарата 5'-DFUR (5'-deoxy-5-fluorouridine) в активную форму и тем самым усиливала восприимчивость клеток рака легкого к химиопрепарату [48]. Чувствительность клеток рака легкого A549 и WA-hT к цисплатину зависела от присутствия и качественного состава клеток опухолевого микроокружения.

Таким образом, псевдодвумерные модели культур клеток широко применяются для изучения влияния опухолевого микроокружения на чувствительность раковых клеток к химио- и биопрепаратам, установления их молекулярных механизмов действия.

Трехмерные (3D) модели культуры клеток опухолей

В последние годы наблюдается тенденция к более широкому использованию трехмерных клеточных культур для тестирования противоопухолевых соединений [49]. В процессе 3D культивирования клетки растут внутри трехмерного каркаса или матрикса с трехмерной архитектурой, формируя многослойную модель ткани опухоли [50]. Выделяют следующие типы трехмерных культур опухолевых клеток: опухолевые сфероиды, опухолевые органоиды, многоклеточные слои и 3D модели на микрочипах [7, 9, 51, 52].

Многочисленные исследования показали, что опухолевые клетки в трехмерных моделях проявляют более высокую химиоустойчивость, чем клетки в монослойных культурах [53]. Конструирование 3D моделей культур опухолевых клеток включает их совместное выращивание со стволовыми и стромальными клетками. Присутствие в 3D моделях стромальных клеток опухолевого микроокружения и измененная химиочувствительность делают указанные модели идеальными для изучения феномена множественной лекарственной устойчивости [54].

Однако, повсеместному использованию 3D моделей препятствует продолжительность (31 и более суток), трудоемкость и невысокая производительность [7, 9, 51, 53, 55]. До настоящего времени не определен оптимальный состав компонентов для матрикса 3D моделей. Природные полимеры обладают значительным биологическим разнообразием, не обеспечивают оптимальных механических свойств. Кроме того, их применение сопряжено с более высоким риском иммунного ответа и затрудняет точный учет исследуемых параметров. Синтетические материалы имеют низкую биоактивность, переменный размер гнезд роста неоплазии в 3D культурах. Получаемые гнезда роста раковых клеток в культуре обычно меньше по объему, чем метастазы в организме [7]. Широкое применение трехмерных культур опухолевых клеток ограничивают сложности, связанные с визуализацией клеток внутри модельной системы, что сопряжено с необходимостью выполнения гистологических срезов и их окрашивания [7, 9, 53, 55]. Применение флуоресцентной микроскопии плоскостного освещения дает возможность наблюдать за клетками в трехмерных условиях [7]. В настоящее время технологии 3D культивирования менее разработаны по сравнению с монослойными клеточными культурами. Кроме того, число методов оценки противоопухолевой активности, предполагающих использование трехмерных моделей, ограничено.

Применение культуральных 3D моделей предусматривает проведение оценки ответа гистокультур на препараты (HDRA, histoculturedrugresponseassay), *ex vivo* анализа программированной клеточной гибели (EVA/PCD, *ex vivo* analysis of programmed cell death), CD-DST (collagen gel drop letembedded culture drug sensitivity test) [56, 57].

А.А. Rizvanov и соавторы разработали модельную систему на основе сокультивирования мультипотентных мезенхимных стволовых клеток (ММСК) из зачатков третьего моляра человека с клетками нейробластомы SH-SY5Y на тонком слое матригеля [58]. Исследователи наблюдали быстрое формирование структур, в центре которых располагались ММСК, а по периферии — клетки нейробластомы. Такая структурная организация опухоле-

вых клеток повышает их устойчивость к испытуемым химическим соединениям [58]. Подобные сфероиды могут имитировать строение солидных опухолей с плохой васкуляризацией или микрометастазов [7].

Разрабатываются 3D модели культур с использованием микрофлюидной технологии: микроколичества жидкости (10^{-8} - 10^{-6} л), проходя по микроканалам чипа, позволяют выявить градиенты распределения тестируемых химических соединений внутри ткани [59]. E. Yildiz-Ozturk и соавторы на подобной модели изучили цитотоксический эффект карнозной кислоты и доксорубицина в отношении клеток рака молочной железы (MCF-7 и MDAMB231) и неопухолевых эпителиоцитов молочной железы MCF-10A. Авторы показали, что карнозная кислота проявляла выраженную цитотоксичность по отношению к клеткам MDAMB231, а доксорубин — в отношении клеток MCF-7 [60]. В указанной модели особенности транспорта препаратов к клеткам-мишеням имитируют физиологические барьеры *in vivo*.

В Канзасском университете США исследовали антимитотическую активность 10 препаратов (паклитаксел, алимта, закзима, доксорубин, винорелбин, гемцитабин, 17-ААg, цисплатин, KU174 и KU363) на трехмерной коллагеновой модели и монослойных клеточных линиях рака легкого A549, H358. Восприимчивость H358 клеток в 3D модели к паклитакселу, KU174, алимте, закзиму, доксорубину, винорелбину, KU363 и 17-ААg значительно отличалась от таковой в перевиваемых клеточных культурах. Чувствительность этой линии клеток к цисплатину и гемцитабину в 3D и монослойных моделях не отличалась [61]. Y. Imamura и соавторы сравнили действие паклитаксела и доксорубина на клетки рака молочной железы (BT-549, BT-474 и T-47D), культивируемых в виде монослойных перевиваемых линий и 3D сфероидов [62]. Оказалось, что клетки BT-549, BT-474 и T-47D в 3D модели проявляли повышенную устойчивость к химиопрепаратам по сравнению с перевиваемыми клеточными линиями. В клонных линиях паклитаксел индуцировал экспрессию проапоптотического фермента — поли-(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP), в отличие от 3D сфероидов, демонстрируя возможность защиты клеток рака молочной железы в 3D модели от апоптоза [62].

Раковые клетки в 3D моделях проявляли более высокую химиоустойчивость, чем клетки в монослойных культурах. В основе этого явления лежит изменение экспрессии генов, каскадов внутриклеточных сигнальных путей по сравнению с 2D моделями [7, 9, 51, 53, 55].

В многоклеточных слоях клетки выращивают на микропористой тефлоновой мембране, покрытой коллагеном и погруженной в большой объем постоянно циркулирующей ростовой среды, что приводит к формированию симметричного многоклеточного слоя с ядром из некротических клеток и окружающих его жизнеспособных клеток [54]. Корейские исследователи на модели многоклеточных слоев клеточной линии колоректального рака человека DLD-1 изучили проницаемость и распределение паклитаксел-родамина и доксорубина в нескольких концентрациях. Доксорубин в течение 1 часа проходил через многоклеточные слои раковых клеток, накапливаясь спустя 3 часа. Однако полного проникновения паклитаксел-родамина не наблюдалось даже спустя 72 часа, что позволило предположить зависимость накопления химиопрепаратов в раковых клетках многоклеточного слоя от

концентрации, а не времени воздействия [63]. Таким образом, применение модели многоклеточных слоев позволяет оценить скорость диффузии лекарственных препаратов в опухолевом микроокружении, их распределение и накопление в раковых клетках.

Особый интерес представляет разработанная канадскими учеными трехмерная культуральная модель опухолевых органоидов, которая включает клетки аденокарциномы поджелудочной железы и плюрипотентные стволовые клетки, формирующие протоки и ацинусы железы в культуре и *in vivo*. Таким образом, раковые клетки в этой модельной системе поддерживают различную степень дифференцировки, гистоархитектуру, фенотипическую гетерогенность первичной опухоли и сохраняют специфические условия организма пациента, включая гипоксию, насыщение ткани кислородом, эпигенетические маркеры и чувствительность к препаратам [64]. Кроме того, 3D модели опухолевых органоидов могут имитировать структуру, функциональные, биохимические и механические особенности живых органов (легкое, печень, почка, кость, мозг, глаз и др.) и моделировать схемы терапевтического воздействия [65].

Заключение

Применение культур клеток злокачественных новообразований человека для тестирования противоопухолевой активности соединений повысило эффективность доклинического скрининга химических и биологических соединений и способствовало введению в клиническую практику новых поколений противораковых препаратов. Двумерные модели культур клеток до настоящего времени остаются наиболее широко применяемыми системами культивирования, которые с наименьшими трудозатратами позволяют не только оценить цитотоксический и цитостатический эффекты тестируемых соединений, но и выявить их механизм действия, молекулярные мишени, а также определить индивидуальную чувствительность опухолевых клеток пациентов.

В отличие от гомогенных 2D моделей, создание псевдодвумерных и 3D моделей является более сложным и трудоемким процессом. Однако применение такого рода модельных систем позволяет исследовать ряд процессов, изучение которых было возможно лишь на живых организмах, в первую очередь на экспериментальных животных. Особенно перспективной представляется недавно разработанная трехмерная культуральная модель опухолевых органоидов: раковые клетки в этой модельной системе поддерживают различную степень дифференцировки, гистоархитектуру, и фенотипическую гетерогенность первичной опухоли. Использование 3D моделей создает возможность для оптимизации количества лабораторных животных в экспериментах *in vivo*.

Таким образом, использование культур раковых клеток для скрининга противоопухолевых препаратов при соблюдении ряда условий позволяет моделировать гистологический тип, стадию, степень злокачественности опухоли, внутриопухолевую клеточную гетерогенность, экспрессию рецепторов, гормонов, ростовых факторов, белков и генов множественной лекарственной устойчивости, диффузию и накопление препаратов в опухолевых клетках. Эти признаки составляют основные характеристики развития новообразований, которые учитываются при разработке и клиническом применении химио- и биопрепаратов.

Список литературы

1. Strovel J., Sittampalam S., Coussens N.P., Hughes M., Inglese J., Kurtz A., Andalibi A., Patton L., Austin Ch., Baltezor M., Beckloff M., Weingarten M., Weir S. *Assay Guidance Manual Early drug discovery and development guidelines: for academic researchers, collaborators, and start-up companies*. Bethesda: the National center for advancing translational sciences; 2012.
2. Geraghty R.J., Capes-Davis A., Davis J.M., Downward J., Freshney R.I., Knezevic I., Lovell-Badge R., Masters J.R., Meredith J., Stacey G.N., Thraves P., Vias M. Cancer Research UK. Guidelines for the use of cell lines in biomedical research. *Brit. J. Cancer*. 2014; 111(6): 1021-46. DOI: 10.1038/bjc.2014.166.
3. Roi A.J., Grune V. *The Eurl ECVAM search guide data retrieval procedures basic principles* (original title: «The ECVAM search guide — good search practice on animal alternatives»). Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2013.
4. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н., Верстакова О.Л., Журавлева М.В., Лепяхин В.К., Коробов Н.В., Меркулов В.А., Орехов С.Н., Сакаева И.В., Утешев Д.Б., Яворский А.Н. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Часть первая. Под ред. А.Г. Муляра, О.Н. Чиченкова. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.
5. Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Применение принципов GLP к краткосрочным исследованиям: Межд. стандарт. ГОСТ 31886-2012-М. Введ. в РФ 01.01.13. М.: Сандартинформ; 2013. 20 с.
6. Bal-Price A., Coecke S. *Guidance on Good Cell Culture Practice (GCCP)*. *Cell Culture Techniques. Series: Neuromethods*. Springer; 2011; 56: 1-25.
7. Мингалеева Р.Н., Соловьева В.В., Блатт Н.Л., Ризванов А.А. Применение культур клеток и тканей для скрининга противоопухолевых препаратов invitro. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2013; VIII(2): 20-8.
8. Skehan P., Storeng R., Scudiero D., Monks A., McMahon J., Vistica D., Warren J.T., Bokesch H., Kenney S., Boyd M.R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Nat. Cancer Inst.* 1990; 82(13): 1107-12.
9. Niu N., Wang L. *In vitro* human cell line models to predict clinical response to anticancer drugs. *Pharmacogenomics*. 2015; 16(3): 273-85. DOI: 10.2217/pgs.14.170.
10. Smalley K.S.M., Lioni M., Noma K., Haass N., Herlyn M. *In vitro* three-dimensional tumor microenvironment models for anticancer drug discovery. *Expert. Opin. Drug Discov.* 2008; 3: 1-10. DOI: 10.1517/17460441.3.1.1.
11. Weigelt B., Garjar C.M., Bissell M.J. The need for complex 3D culture models to unravel novel pathways and identify accurate biomarkers in breast cancer. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2014; 69-70: 42-51. DOI: 10.1016/j.addr.2014.01.001.
12. Takebayashi K., Mekata E., Sonoda H., Shimizu T., Endo Y., Tani T. Clinical potential of the anticancer drug sensitivity test for patients with synchronous stage IV colorectal cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2013; 72(1): 217-22. DOI: 10.1007/s00280-013-2189-7.
13. D'Arcangelo M., Todaro M., Salvini J., Benfante A., Colorito M.L., D'Incecco A., Landi L., Apuzzo T., Rossi E., Sani S., Stasi G., Cappuzzo F. Cancer stem cells sensitivity assay (STELLA) in patients with advanced lung and colorectal cancer: a feasibility study. *PLoS One*. 2015; 10(5): e0125037. DOI: 10.1371/journal.pone.0125037.
14. Von Hoff D.D., Clark G.M., Stogdill B.J., Sarosdy M.F., O'Brien M.T., Casper J.T., Mattox D.E., Page C.P., Cruz A.B., Sandbach J.F. Prospective clinical trial of a human tumor cloning system. *Cancer Res.* 1983; 43(4): 1926-31.
15. Galluzzi L., Vitale I., Michels J., Brenner C., Szabadkai G., Harel-Bellan A., Castedo M., Kroemer G. Systems biology of cisplatin resistance: past, present and future. *Cell Death Dis.* 2014; 5: e1257. DOI: 10.1038/cddis.2013.428.
16. Kwon H.Y., Kim I.K., Kang J., Sohn S.K., Lee K.Y. *In vitro* adenosine triphosphate-based chemotherapy response assay (ATP-CRA) as a predictor of clinical response to fluorouracil-based adjuvant chemotherapy in stage II colorectal cancer. *Cancer Res. Treat.* 2016; 48(3): 970-7. DOI: 10.4143/crt.2015.140.
17. Tibbitt M.W., Anseth K.S. Hydrogels as extracellular matrix mimics for 3D cell culture. *Biotechnol. Bioeng.* 2009; 103(4): 655-63. DOI: 10.1002/bit.22361.
18. Galayev O., Garazd Y., Garazd M., Lesyk R. Synthesis and anticancer activity of 6-heteroaryl coumarins. *Eur. J. Med. Chem.* 2015; 105: 171-81. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.10.021.
19. Lowe H.I.C., Toyang N.J., Watson C.T., Ayeah K.N., Bryant J. HLB-100: a highly potent anti-cancer flavanone from *Tillandsia recurvata* (L.). *Cancer Cell Int.* 2017; 17: 38. DOI: 10.1186/s12935-017-0404-z.
20. Romagnoli R., Baraldi P.G., Prencipe F., Oliva P., Baraldi S., Tabrizi M.A., Lopez-Cara L.C., Ferla S., Brancale A., Hamel E., Ronca R., Bortolozzi R., Mariotto E., Basso G., Viola G. Design and synthesis of potent *in vitro* and *in vivo* anticancer agents based on 1-(3',4',5'-trimethoxyphenyl)-2-aryl-1H-imidazole. *Sci. Rep.* 2016; 6: 26602. DOI: 10.1038/srep26602.
21. Adams J. Development of the proteasome inhibitor PS-341. *Oncologist*. 2002; 7(1): 9-16.
22. Peltonen K., Colis L., Liu H., Trivedi R., Moubarek M.S., Moore H.M., Bai B., Rudek M.A., Bieberich C.J., Laiho M. A targeting modality for destruction of RNA polymerase I that possesses anticancer activity. *Cancer Cell*. 2014; 25(1): 77-90. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.12.009.
23. Sato A., McNulty L., Cox K., Kim S., Scott A., Daniell K., Summerville K., Price C., Hudson S., Kiakos K., Hartley J.A., Asao T., Lee M. A novel class of *in vivo* active anticancer agents: achiral seco-amino- and seco-hydroxycyclopropylbenz[e]indolone (seco-CBI) analogues of the duocarmycins and CC-1065. *J. Med. Chem.* 2005; 48: 3903-18. DOI: 10.1021/jm050179u.
24. Rayburn E., Wang W., Li M., Zhang X., Xu H., Li H., Qin J.J., Jia L., Covey J., Lee M., Zhang R. Preclinical pharmacology of novel indolecarboxamide ML-970, an investigative anticancer agent. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2012; 69(6): 1423-31. DOI: 10.1007/s00280-012-1851-9.
25. Kong D., Yamori T. JFCR39, a panel of 39 human cancer cell lines, and its application in the discovery and development of anticancer drugs. *Bioorg. Med. Chem.* 2012; 20(6): 1947-51. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.01.017.
26. Barretina J., Caponigro G., Stransky N., Venkatesan K., Margolin A.A., Kim S., Wilson C.J., Lehar J., Kryukov G.V., Sonkin D., Reddy A., Liu M., Murray L., Berger M.F., Monahan J.E., Morais P., Meltzer J., Korejwa A., Jane-Valbuena J., Mapa F.A., Thibault J., Bric-Furlong E., Raman P., Shipway A., Engels I.H., Cheng J., Yu G.K., Yu J., Aspesi P. Jr., de Silva M., Jagtap K., Jones M.D., Wang L., Hatton C., Palesscandolo E., Gupta S., Mahan S., Soungnez C., Onofrio R.C., Liefeld T., MacConaill L., Winckler W., Reich M., Li N., Mesirov J.P., Gabriel S.B., Getz G., Ardlie K., Chan V., Myer V.E., Weber B.L., Porter J., Warmuth M., Finan P., Harris J.L., Meyerson M., Golub T.R., Morrissey M.P., Sellers W.R., Schlegel R., Garraway L.A. The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. *Nature*. 2012; 483(7391): 603-7. DOI: 10.1038/nature11003.
27. Genomics of Drug Sensitivity in Cancer. www.cancerrxgene.org/translation/CellLine (дата обращения 29.06.2017).
28. Xie Y., Bergstrom T., Jiang Y., Johansson P., Marinescu V.D., Lindberg N., Segerman A., Wicher G., Niklasson M., Baskaran S., Sreedharan S., Everlien I., Kastemar M., Hermansson A., Elfineh L., Libard S., Holland E.C., Hesselager G., Alafuzoff I., Westermarck B., Nelander S., Forsberg-Nilsson K., Uhrbom L. The human glioblastoma cell culture resource: validated cell models representing all molecular subtypes. *Ebiomedicine*. 2015; 2(10): 1351-63. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.08.026.
29. Wang W., Wang D., Wang Z., Yao G., Li X., Gao P., Li L., Zhang Y., Wang S., Song S. Synthesis of new sarsasapogenin derivatives with cytotoxicity and apoptosis-inducing activities in human breast cancer MCF-7 cells. *Eur. J. Med. Chem.* 2017; 127: 62-71. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.12.011.
30. Hurvitz S.A., Kalous O., Conklin D., Desai A.J., Dering J., Anderson L., O'Brien N.A., Kolarova T., Finn R.S., Linnartz R., Chen D., Slamon D.J. *In vitro* activity of the mTOR inhibitor everolimus, in a large panel of breast cancer cell lines and analysis for predictors of response. *Breast. Cancer Res. Treat.* 2015; 149(3): 669-80. DOI: 10.1007/s10549-015-3282-x.
31. Yu M., Bardia A., Aceto N., Bersani F., Madden M.W., Donaldson M.C., Desai R., Zhu H., Comaills V., Zheng Z., Wittner B.S., Stojanov P., Brachtel E., Sgroi D., Kapur R., Shioda T., Ting D.T., Ramaswamy S., Getz G., Iafrate A.J., Benes C., Toner M., Maheswaran S., Haber D.A. Cancer therapy. *Ex vivo* culture of circulating breast tumor cells for individualized testing of drug susceptibility. *Science*. 2014; 345(6193): 216-20. DOI: 10.1126/science.1253533.
32. Lee J.Y., Kim S.Y., Park C., Kim N.K., Jang J., Park K., Yi J.H., Hong M., Ahn T., Rath O., Schueler J., Kim S.T., Do I.G., Lee S., Park S.H., Ji Y.I., Kim D., Park J.O., Park Y.S., Kang W.K.,

- Kim K.M., Park W.Y., Lim H.Y., Lee J. Patient-derived cell models as preclinical tools for genome-directed targeted therapy. *Oncotarget*. 2015; 6(28): 25619-30. DOI: 10.18632/oncotarget.4627.
33. Roscilli G., De Vitis C., Ferrara F.F., Noto A., Cherubini E., Ricci A., Mariotta S., Giarnieri E., Giovagnoli M.R., Torrisi M.R., Bergantino F., Costantini S., Fenizia F., Lambiase M., Aurisicchio L., Normanno N., Ciliberto G., Mancini R. Human lung adenocarcinoma cell cultures derived from malignant pleural effusions as model system to predict patients chemosensitivity. *J. Transl. Med.* 2016; 14: 61. DOI: 10.1186/s12967-016-0816-x.
34. Freeman A.E., Hoffman R.M. *In vivo*-like growth of human tumors *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1986; 83: 2694-8.
35. Haglund C., Aleskog A., Nygren P., Gullbo J., Hoglund M., Wickstrom M., Larsson R., Lindhagen E. *In vitro* evaluation of clinical activity and toxicity of anticancer drugs using tumor cells from patients and cells representing normal tissues. *Cancer. Chemother. Pharmacol.* 2012; 69(3): 697-707. DOI: 10.1007/s00280-011-1746-1.
36. Jiang W., Mautner V.F., Friedrich R.E., Kluwe L. Preclinical assessment of the anticancer drug response of plexiform neurofibroma tissue using primary cultures. *J. Clin. Neurol.* 2015; 11(2): 172-7. DOI: 10.3988/jcn.2015.11.2.172.
37. Witkiewicz A.K., Balaji U., Eslinger C., McMillan E., Conway W., Posner B., Mills G.B., O'Reilly E.M., Knudsen E.S. Integrated patient-derived models delineate individualized therapeutic vulnerabilities of pancreatic cancer. *Cell Rep.* 2016; 16(7): 2017-31. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.07.023.
38. Gao Q., Wang Z.C., Duan M., Lin Y.H., Zhou X.Y., Worthley D.L., Wang X.Y., Niu G., Xia Y., Deng M., Liu L.Z., Shi J.Y., Yang L.X., Zhang S., Ding Z.B., Zhou J., Liang C.M., Cao Y., Xi-long L., Xi R., Shi Y.Y., Fan J. Cell culture system for analysis of genetic heterogeneity within hepatocellular carcinomas and response to pharmacologic agents. *Gastroenterology*. 2017; 152(1): 232-42.e4. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.09.008.
39. Schmidt M., Bremer E., Hasenclever D., Victor A., Gehrman M., Steiner E., Schiffer I.B., Gebhardt S., Lehr H.A., Mahlke M., Hermes M., Mustea A., Tanner B., Koelbl H., Pilch H., Hengstler J.G. Role of the progesterone receptor for paclitaxel resistance in primary breast cancer. *Br. J. Cancer*. 2007; 96(2): 241-7. DOI: 10.1038/sj.bjc.6603538.
40. Jang J.W., Song Y., Kim K.M., Kim J.S., Choi E.K., Kim J., Seo H. Hepatocellular carcinoma-targeted drug discovery through image-based phenotypic screening in co-cultures of HCC cells with hepatocytes. *BMC Cancer*. 2016; 16(1): 810. DOI: 10.1186/s12885-016-2816-x.
41. National Cancer Institute. <https://dtp.cancer.gov/respositories.html> (дата обращения 21.12.2016)
42. Pickup M.W., Mouw J.K., Weaver V.M. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO Rep.* 2014; 15(12): 1243-53. DOI: 10.15252/embr.201439246.
43. Jaganathan H., Gage J., Leonard F., Srinivasan S., Souza G.R., Dave B., Godin B. Three-dimensional *in vitro* co-culture model of breast tumor using magnetic levitation. *Sci. Rep.* 2014; 4: 6468. DOI: 10.1038/srep06468.
44. Levental K.R., Yu H., Kass L., Lakins J.N., Egeblad M., Erler J.T., Fong S.F., Csiszar K., Giaccia A., Weninger W., Yamauchi M., Gasser D.L., Weaver V.M. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling. *Cell*. 2009; 139(5): 891-906. DOI: 10.1016/j.cell.2009.10.027.
45. Bar-Natan M., Stroopinsky D., Luptakova K., Coll M.D., Apel A., Rajabi H., Pyzer A.R., Palmer K., Reagan M.R., Nahas M.R., Karp Leaf R., Jain S., Arnason J., Ghobrial I.M., Anderson K.C., Kufe D., Rosenblatt J., Avigan D. Bone marrow stroma protects myeloma cells from cytotoxic damage via induction of the oncoprotein MUC1. *Br. J. Haematol.* 2017; 176(6): 929-38. DOI: 10.1111/bjh.14493.
46. Ji N., Yu J.W., Ni X.C., Wu J.G., Wang S.L., Jiang B.J. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells increase drug resistance in CD133-expressing gastric cancer cells by regulating the PI3K/AKT pathway. *Tumour Biol.* 2016; 37(11): 14637-51. DOI: 10.1007/s13277-016-5319-0.
47. Liu Z., Xu J., He J., Liu H., Lin P., Wan X., Navone N.M., Tong Q., Kwak L.W., Orlowski R.Z., Yang J. Mature adipocytes in bone marrow protect myeloma cells against chemotherapy through autophagy activation. *Oncotarget*. 2015; 6(33): 34329-41. DOI: 10.18632/oncotarget.6020.
48. Yamazoe H., Hagihara Y., Kobayashi H. Multi-component co-culture system of cancer cells and two types of stromal cells for *in vitro* evaluation of anticancer drugs. *Tissue Eng. Part C Methods*. 2016; 22(1): 20-9. DOI: 10.1089/ten.TEC.2015.0188.
49. Xu Z., Gao Y., Hao Y., Li E., Wang Y., Zhang J., Wang W., Gao Z., Wang Q. Application of a microfluidic chip-based 3D co-culture to test drug sensitivity for individualized treatment of lung cancer. *Biomaterials*. 2013; 34(16): 4109-17. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.02.045.
50. Costa E.C., Moreira A.F., de Melo-Diogo D., Gaspar V.M., Carvalho M.P., Correia I.J. 3D tumor spheroids: an overview on the tools and techniques used for their analysis. *Biotechnol. Adv.* 2016; 34(8): 1427-41. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2016.11.002.
51. Li L., Lu Y. Optimizing a 3D culture system to study the interaction between epithelial breast cancer and its surrounding fibroblasts. *Cancer*. 2011; 2: 458-66.
52. Kiyohara Y., Yoshino K., Kubota S., Okuyama H., Endo H., Ueda Y., Kimura T., Kimura T., Kamiura S., Inoue M. Drug screening and grouping by sensitivity with a panel of primary cultured cancer spheroids derived from endometrial cancer. *Cancer Sci.* 2016; 107(4): 452-60. DOI: 10.1111/cas.12898.
53. Mcmillin D.W., Negri J.M., Mitsiades C.S. The role of tumour stromal interactions in modifying drug response: challenges and opportunities. *Natl. Rev. Drug Discov.* 2013; 12(3): 217-28. DOI: 10.1038/nrd3870.
54. Elliott N.T., Yuan F. A review of three-dimensional *in vitro* tissue models for drug discovery and transport studies. *J. Pharm. Sci.* 2010; 100(1): 59-74. DOI: 10.1002/jps.22257.
55. Raghavan S., Ward M.R., Rowley K.R., Wold R.M., Takayama S., Buckanovich R.J., Mehta G. Formation of stable small cell number three-dimensional ovarian cancer spheroids using hanging drop arrays for preclinical drug sensitivity assays. *Gynecol. Oncol.* 2015; 138(1): 181-9. DOI: 10.1016/j.ygyno.2015.04.014.
56. Kiyohara Y., Yoshino K., Kubota S., Okuyama H., Endo H., Ueda Y., Kimura T., Kimura T., Kamiura S., Inoue M. Drug screening and grouping by sensitivity with a panel of primary cultured cancer spheroids derived from endometrial cancer. *Cancer Sci.* 2016; 107(4): 452-60. DOI: 10.1111/cas.12898.
57. Lee S.W., Kim Y.M., Kim M.B., Kim D.Y., Kim J.H., Nam J.H., Kim Y.T. *In vitro* chemosensitivity using the histoculture drug response assay in human epithelial ovarian cancer. *Acta Med. Okayama*. 2012; 66(3): 271-7. DOI: 10.18926/AMO/48567.
58. Rizvanov A.A., Yalvac M.E., Shafiqullina A.K., Salafutdinov I.I., Blatt N.L., Sahin F., Kiyasov A.P., Palotas A. Interaction and self-organization of human mesenchymal stem cells and neuroblastoma SH-SY5Y cells under co-culture conditions: A novel system for modeling cancer cell micro-environment. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2010; 76(2): 253-9. DOI: 10.1016/j.ejpb.2010.05.012.
59. Lovitt C.J., Shelper T.B., Avery V.M. Evaluation of chemotherapeutics in a three-dimensional breast cancer model. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2015; 141(5): 951-9. DOI: 10.1007/s00432-015-1950-1.
60. Yildiz-Ozturk E., Gulce-Iz S., Anil M., Yesil-Celiktas O. Cytotoxic responses of carnosis acid and doxorubicin on breast cancer cells in butterfly-shaped microchips in comparison to 2D and 3D culture. *Cytotechnology*. 2017; 69(2): 337-47. DOI: 10.1007/s10616-016-0062-3.
61. Nirmalanandhan V.S., Duren A., Hendricks P., Vielhauer G., Sittampalam G.S. Activity of anticancer agents in a three-dimensional cell culture model. *Assay Drug Dev. Technol.* 2010; 8(5): 581-90. DOI: 10.1089/adt.2010.0276.
62. Imamura Y., Mukohara T., Shimono Y., Funakoshi Y., Chayahara N., Toyoda M., Kiyota N., Takao S., Kono S., Nakatsura T., Minami H. Comparison of 2D- and 3D-culture models as drug-testing platforms in breast cancer. *Oncol. Rep.* 2015; 33(4): 1837-43. DOI: 10.3892/or.2015.3767.
63. Lee J.H., Lee J.H., Na K., Song S.C., Lee J., Kuh H.J. The distribution and retention of paclitaxel and doxorubicin in multicellular layer cultures. *Oncol. Rep.* 2012; 27(4): 995-1002. DOI: 10.3892/or.2012.1650.
64. Huang L., Holtzinger A., Jagan I., BeGora M., Lohse I., Ngai N., Nostro C., Wang R., Muthuswamy L.B., Crawford H.C., Arrowsmith C., Kalloger S.E., Renouf D.J., Connor A.A., Cleary S., Schaeffer D.F., Roehrl M., Tsao M.S., Gallinger S., Keller G., Muthuswamy S.K. Ductal pancreatic cancer modeling and drug screening using human pluripotent stem cell- and patient-derived tumor organoids. *Nat Med.* 2015; 21(11): 1364-71. DOI: 10.1038/nm.3973.
65. Pickup M.W., Mouw J.K., Weaver V.M. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO Rep.* 2014; 15(12): 1243-53. DOI: 10.15252/embr.201439246.

References

1. Strovel J., Sittampalam S., Coussens N.P., Hughes M., Inglese J., Kurtz A., Andalibi A., Patton L., Austin Ch., Baltezor M., Beckloff M., Weingarten M., Weir S. *Assay Guidance Manual Early drug discovery and development guidelines: for academic researchers, collaborators, and start-up companies*. Bethesda: the National center for advancing translational sciences; 2012.
2. Geraghty R.J., Capes-Davis A., Davis J.M., Downward J., Freshney R.I., Knezevic I., Lovell-Badge R., Masters J.R., Meredith J., Stacey G.N., Thraves P., Vias M. *Cancer Research UK Guidelines for the use of cell lines in biomedical research*. *Brit. J. Cancer*. 2014; 111(6): 1021-46. DOI: 10.1038/bjc.2014.166.
3. Roi A.J., Grune B. *The Eurl ECVAM search guide data retrieval procedures basic principles* (original title: «The ECVAM search guide — good search practice on animal alternatives»). Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2013.
4. Mironov A.N., Bunyatyan N.D., Vasiliev A.N., Verstakova O.L., Zhuravleva M.V., Lepakhin V.K., Korobov N.V., Merkulov V.A., Orekhov S.N., Sakayeva I.V., Uteshev D.B., Yavorsky A.N. [A guidance to preclinical drug research]. Part One. Ed. A.G. Mulyar, O.N. Chichenkova. M.: Grif & K; 2012. 944 p. (in Russian).
5. [Principles of Good Laboratory Practice (GLP). Application of GLP principles to short-term studies]: Interstate. standard. GOST 31886-2012-M. — Introduce. In Russian Federation 01.01.13. M.: Sandartinform; 2013. 20 p. (in Russian).
6. Bal-Price A., Coecke S. *Guidance on Good Cell Culture Practice (GCCP)*. *Cell Culture Techniques. Series: Neuromethods*. Springer; 2011; 56: 1-25.
7. Mingaleeva R.N., Solovieva V.V., Blatt N.L., Rizvanov A.A. [Application of cell and tissue cultures for potential anti-cancer/oncology drugs screening *in vitro*]. *Cellular transplantology and tissue engineering*. 2013; VIII(2): 20-8. (in Russian).
8. Skehan P., Storeng R., Scudiero D., Monks A., McMahon J., Vistica D., Warren J.T., Bokesch H., Kenney S., Boyd M.R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Nat. Cancer Inst*. 1990; 82(13): 1107-12.
9. Niu N., Wang L. *In vitro* human cell line models to predict clinical response to anticancer drugs. *Pharmacogenomics*. 2015; 16(3): 273-85. DOI: 10.2217/pgs.14.170.
10. Smalley K.S.M., Lioni M., Noma K., Haass N., Herlyn M. *In vitro* three-dimensional tumor microenvironment models for anticancer drug discovery. *Expert Opin. Drug Discov*. 2008; 3: 1-10. DOI: 10.1517/17460441.3.1.1.
11. Weigelt B., Garjar C.M., Bissell M.J. The need for complex 3D culture models to unravel novel pathways and identify accurate biomarkers in breast cancer. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2014; 69-70: 42-51. DOI: 10.1016/j.addr.2014.01.001.
12. Takebayashi K., Mekata E., Sonoda H., Shimizu T., Endo Y., Tani T. Clinical potential of the anticancer drug sensitivity test for patients with synchronous stage IV colorectal cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol*. 2013; 72(1): 217-22. DOI: 10.1007/s00280-013-2189-7.
13. D'Arcangelo M., Todaro M., Salvini J., Benfante A., Colorito M.L., D'Incecco A., Landi L., Apuzzo T., Rossi E., Sani S., Stasi G., Cappuzzo F. Cancer stem cells sensitivity assay (STELLA) in patients with advanced lung and colorectal cancer: a feasibility study. *PLoS One*. 2015; 10(5): e0125037. DOI: 10.1371/journal.pone.0125037.
14. Von Hoff D.D., Clark G.M., Stogdill B.J., Sarosdy M.F., O'Brien M.T., Casper J.T., Mattox D.E., Page C.P., Cruz A.B., Sandbach J.F. Prospective clinical trial of a human tumor cloning system. *Cancer Res*. 1983; 43(4): 1926-31.
15. Galluzzi L., Vitale I., Michels J., Brenner C., Szabadkai G., Harel-Bellan A., Castedo M., Kroemer G. Systems biology of cisplatin resistance: past, present and future. *Cell Death Dis*. 2014; 5: e1257. DOI: 10.1038/cddis.2013.428.
16. Kwon H.Y., Kim I.K., Kang J., Sohn S.K., Lee K.Y. *In vitro* adenosine triphosphate-based chemotherapy response assay (ATP-CRA) as a predictor of clinical response to fluorouracil-based adjuvant chemotherapy in stage II colorectal cancer. *Cancer Res. Treat*. 2016; 48(3): 970-7. DOI: 10.4143/crt.2015.140.
17. Tibbitt M.W., Anseth K.S. Hydrogels as extracellular matrix mimics for 3D cell culture. *Biotechnol. Bioeng*. 2009; 103(4): 655-63. DOI: 10.1002/bit.22361.
18. Galayev O., Garazd Y., Garazd M., Lesyk R. Synthesis and anticancer activity of 6-heteroaryl coumarins. *Eur. J. Med. Chem*. 2015; 105: 171-81. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.10.021.
19. Lowe H.I.C., Toyang N.J., Watson C.T., Ayeah K.N., Bryant J. HLB-100: a highly potent anti-cancer flavanone from *Tillandsia recurvata* (L.). *Cancer Cell Int*. 2017; 17: 38. DOI: 10.1186/s12935-017-0404-z.
20. Romagnoli R., Baraldi P.G., Prencipe F., Oliva P., Baraldi S., Tabrizi M.A., Lopez-Cara L.C., Ferla S., Brancale A., Hamel E., Ronca R., Bortolozzi R., Mariotto E., Basso G., Viola G. Design and synthesis of potent *in vitro* and *in vivo* anticancer agents based on 1-(3',4',5'-trimethoxyphenyl)-2-aryl-1H-imidazole. *Sci. Rep*. 2016; 6: 26602. DOI: 10.1038/srep26602.
21. Adams J. Development of the proteasome inhibitor PS-341. *Oncologist*. 2002; 7(1): 9-16.
22. Peltonen K., Colis L., Liu H., Trivedi R., Moubarek M.S., Moore H.M., Bai B., Rudek M.A., Bieberich C.J., Laiho M. A targeting modality for destruction of RNA polymerase I that possesses anticancer activity. *Cancer Cell*. 2014; 25(1): 77-90. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.12.009.
23. Sato A., McNulty L., Cox K., Kim S., Scott A., Daniell K., Summerville K., Price C., Hudson S., Kiakos K., Hartley J.A., Asao T., Lee M. A novel class of *in vivo* active anticancer agents: achiral seco-amino- and seco-hydroxycyclopropylbenz[e]indolone (seco-CBI) analogues of the duocarmycins and CC-1065. *J. Med. Chem*. 2005; 48: 3903-18. DOI: 10.1021/jm050179u.
24. Rayburn E., Wang W., Li M., Zhang X., Xu H., Li H., Qin J.J., Jia L., Covey J., Lee M., Zhang R. Preclinical pharmacology of novel indolecarboxamide ML-970, an investigative anticancer agent. *Cancer Chemother. Pharmacol*. 2012; 69(6): 1423-31. DOI: 10.1007/s00280-012-1851-9.
25. Kong D., Yamori T. JFCR39, a panel of 39 human cancer cell lines, and its application in the discovery and development of anticancer drugs. *Bioorg. Med. Chem*. 2012; 20(6): 1947-51. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.01.017.
26. Barretina J., Caponigro G., Stransky N., Venkatesan K., Margolin A.A., Kim S., Wilson C.J., Lehar J., Kryukov G.V., Sonkin D., Reddy A., Liu M., Murray L., Berger M.F., Monahan J.E., Morais P., Meltzer J., Korejwa A., Jane-Valbuena J., Mapa F.A., Thibault J., Bric-Furlong E., Raman P., Shipway A., Engels I.H., Cheng J., Yu G.K., Yu J., Aspesi P. Jr., de Silva M., Jagtap K., Jones M.D., Wang L., Hatton C., Palesscandolo E., Gupta S., Mahan S., Sougnez C., Onofrio R.C., Liefeld T., MacConaill L., Winckler W., Reich M., Li N., Mesirov J.P., Gabriel S.B., Getz G., Ardlie K., Chan V., Myer V.E., Weber B.L., Porter J., Warmuth M., Finan P., Harris J.L., Meyerson M., Golub T.R., Morrissey M.P., Sellers W.R., Schlegel R., Garraway L.A. The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. *Nature*. 2012; 483(7391): 603-7. DOI: 10.1038/nature11003.
27. Genomics of Drug Sensitivity in Cancer. www.cancerrxgene.org/translation/CellLine (Retrieved 29.06.2017).
28. Xie Y., Bergstrom T., Jiang Y., Johansson P., Marinescu V.D., Lindberg N., Segerman A., Wicher G., Niklasson M., Baskaran S., Sreedharan S., Everlien I., Kastemar M., Hermansson A., Elfineh L., Libard S., Holland E.C., Hesselager G., Alafuzoff I., Westermarck B., Nelander S., Forsberg-Nilsson K., Uhrbom L. The human glioblastoma cell culture resource: validated cell models representing all molecular subtypes. *Ebiomedicine*. 2015; 2(10): 1351-63. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.08.026.
29. Wang W., Wang D., Wang Z., Yao G., Li X., Gao P., Li L., Zhang Y., Wang S., Song S. Synthesis of new sarsasapogenin derivatives with cytotoxicity and apoptosis-inducing activities in human breast cancer MCF-7 cells. *Eur. J. Med. Chem*. 2017; 127: 62-71. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.12.011.
30. Hurvitz S.A., Kalous O., Conklin D., Desai A.J., Dering J., Anderson L., O'Brien N.A., Kolarova T., Finn R.S., Linnartz R., Chen D., Slamon D.J. *In vitro* activity of the mTOR inhibitor everolimus, in a large panel of breast cancer cell lines and analysis for predictors of response. *Breast. Cancer Res. Treat*. 2015; 149(3): 669-80. DOI: 10.1007/s10549-015-3282-x.
31. Yu M., Bardia A., Aceto N., Bersani F., Madden M.W., Donaldson M.C., Desai R., Zhu H., Comaills V., Zheng Z., Wittner B.S., Stojanov P., Brachtel E., Sgroi D., Kapur R., Shioda T., Ting D.T., Ramaswamy S., Getz G., Iafrate A.J., Benes C., Toner M., Maheswaran S., Haber D.A. Cancer therapy. *Ex vivo* culture of circulating breast tumor cells for individualized testing of drug susceptibility. *Science*. 2014; 345(6193): 216-20. DOI: 10.1126/science.1253533.
32. Lee J.Y., Kim S.Y., Park C., Kim N.K., Jang J., Park K., Yi J.H., Hong M., Ahn T., Rath O., Schueler J., Kim S.T., Do I.G., Lee S., Park S.H., Ji Y.I., Kim D., Park J.O., Park Y.S., Kang W.K.,

- Kim K.M., Park W.Y., Lim H.Y., Lee J. Patient-derived cell models as preclinical tools for genome-directed targeted therapy. *Oncotarget*. 2015; 6(28): 25619-30. DOI: 10.18632/oncotarget.4627.
33. Roscilli G., De Vitis C., Ferrara F.F., Noto A., Cherubini E., Ricci A., Mariotta S., Giarnieri E., Giovagnoli M.R., Torrisi M.R., Bergantino F., Costantini S., Fenizia F., Lambiase M., Aurisicchio L., Normanno N., Ciliberto G., Mancini R. Human lung adenocarcinoma cell cultures derived from malignant pleural effusions as model system to predict patients chemosensitivity. *J. Transl. Med.* 2016; 14: 61. DOI: 10.1186/s12967-016-0816-x.
34. Freeman A.E., Hoffman R.M. *In vivo*-like growth of human tumors *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1986; 83: 2694-8.
35. Haglund C., Aleskog A., Nygren P., Gullbo J., Hoglund M., Wickstrom M., Larsson R., Lindhagen E. *In vitro* evaluation of clinical activity and toxicity of anticancer drugs using tumor cells from patients and cells representing normal tissues. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2012; 69(3): 697-707. DOI: 10.1007/s00280-011-1746-1.
36. Jiang W., Mautner V.F., Friedrich R.E., Kluwe L. Preclinical assessment of the anticancer drug response of plexiform neurofibroma tissue using primary cultures. *J. Clin. Neurol.* 2015; 11(2): 172-7. DOI: 10.3988/jcn.2015.11.2.172.
37. Witkiewicz A.K., Balaji U., Eslinger C., McMillan E., Conway W., Posner B., Mills G.B., O'Reilly E.M., Knudsen E.S. Integrated patient-derived models delineate individualized therapeutic vulnerabilities of pancreatic cancer. *Cell Rep.* 2016; 16(7): 2017-31. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.07.023.
38. Gao Q., Wang Z.C., Duan M., Lin Y.H., Zhou X.Y., Worthley D.L., Wang X.Y., Niu G., Xia Y., Deng M., Liu L.Z., Shi J.Y., Yang L.X., Zhang S., Ding Z.B., Zhou J., Liang C.M., Cao Y., Xi-long L., Xi R., Shi Y.Y., Fan J. Cell culture system for analysis of genetic heterogeneity within hepatocellular carcinomas and response to pharmacologic agents. *Gastroenterology*. 2017; 152(1): 232-42.e4. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.09.008.
39. Schmidt M., Bremer E., Hasenclever D., Victor A., Gehrman M., Steiner E., Schiffer I.B., Gebhardt S., Lehr H.A., Mahlke M., Hermes M., Mustea A., Tanner B., Koelbl H., Pilch H., Hengstler J.G. Role of the progesterone receptor for paclitaxel resistance in primary breast cancer. *Br. J. Cancer*. 2007; 96(2): 241-7. DOI: 10.1038/sj.bjc.6603538.
40. Jang J.W., Song Y., Kim K.M., Kim J.S., Choi E.K., Kim J., Seo H. Hepatocellular carcinoma-targeted drug discovery through image-based phenotypic screening in co-cultures of HCC cells with hepatocytes. *BMC Cancer*. 2016; 16(1): 810. DOI: 10.1186/s12885-016-2816-x.
41. National Cancer Institute. <https://dtp.cancer.gov/respositories.html> (Retrieved 21.12.2016)
42. Pickup M.W., Mouw J.K., Weaver V.M. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO Rep.* 2014; 15(12): 1243-53. DOI: 10.15252/embr.201439246.
43. Jaganathan H., Gage J., Leonard F., Srinivasan S., Souza G.R., Dave B., Godin B. Three-dimensional *in vitro* co-culture model of breast tumor using magnetic levitation. *Sci. Rep.* 2014; 4: 6468. DOI: 10.1038/srep06468.
44. Levental K.R., Yu H., Kass L., Lakins J.N., Egeblad M., Erler J.T., Fong S.F., Csiszar K., Giaccia A., Weninger W., Yamauchi M., Gasser D.L., Weaver V.M. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling. *Cell*. 2009; 139(5): 891-906. DOI: 10.1016/j.cell.2009.10.027.
45. Bar-Natan M., Stroopinsky D., Luptakova K., Coll M.D., Apel A., Rajabi H., Pyzer A.R., Palmer K., Reagan M.R., Nahas M.R., Karp Leaf R., Jain S., Arnason J., Ghobrial I.M., Anderson K.C., Kufe D., Rosenblatt J., Avigan D. Bone marrow stroma protects myeloma cells from cytotoxic damage via induction of the oncoprotein MUC1. *Br. J. Haematol.* 2017; 176(6): 929-38. DOI: 10.1111/bjh.14493.
46. Ji N., Yu J.W., Ni X.C., Wu J.G., Wang S.L., Jiang B.J. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells increase drug resistance in CD133-expressing gastric cancer cells by regulating the PI3K/AKT pathway. *Tumour Biol.* 2016; 37(11): 14637-51. DOI: 10.1007/s13277-016-5319-0.
47. Liu Z., Xu J., He J., Liu H., Lin P., Wan X., Navone N.M., Tong Q., Kwak L.W., Orlowski R.Z., Yang J. Mature adipocytes in bone marrow protect myeloma cells against chemotherapy through autophagy activation. *Oncotarget*. 2015; 6(33): 34329-41. DOI: 10.18632/oncotarget.6020.
48. Yamazoe H., Hagihara Y., Kobayashi H. Multi-component co-culture system of cancer cells and two types of stromal cells for *in vitro* evaluation of anticancer drugs. *Tissue Eng. Part C Methods*. 2016; 22(1): 20-9. DOI: 10.1089/ten.TEC.2015.0188.
49. Xu Z., Gao Y., Hao Y., Li E., Wang Y., Zhang J., Wang W., Gao Z., Wang Q. Application of a microfluidic chip-based 3D co-culture to test drug sensitivity for individualized treatment of lung cancer. *Biomaterials*. 2013; 34(16): 4109-17. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.02.045.
50. Costa E.C., Moreira A.F., de Melo-Diogo D., Gaspar V.M., Carvalho M.P., Correia I.J. 3D tumor spheroids: an overview on the tools and techniques used for their analysis. *Biotechnol. Adv.* 2016; 34(8): 1427-41. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2016.11.002.
51. Li L., Lu Y. Optimizing a 3D culture system to study the interaction between epithelial breast cancer and its surrounding fibroblasts. *Cancer*. 2011; 2: 458-66.
52. Kiyohara Y., Yoshino K., Kubota S., Okuyama H., Endo H., Ueda Y., Kimura T., Kimura T., Kamiura S., Inoue M. Drug screening and grouping by sensitivity with a panel of primary cultured cancer spheroids derived from endometrial cancer. *Cancer Sci.* 2016; 107(4): 452-60. DOI: 10.1111/cas.12898.
53. Mcmillin D.W., Negri J.M., Mitsiades C.S. The role of tumour stromal interactions in modifying drug response: challenges and opportunities. *Natl. Rev. Drug Discov.* 2013; 12(3): 217-28. DOI: 10.1038/nrd3870.
54. Elliott N.T., Yuan F. A review of three-dimensional *in vitro* tissue models for drug discovery and transport studies. *J. Pharm. Sci.* 2010; 100(1): 59-74. DOI: 10.1002/jps.22257.
55. Raghavan S., Ward M.R., Rowley K.R., Wold R.M., Takayama S., Buckanovich R.J., Mehta G. Formation of stable small cell number three-dimensional ovarian cancer spheroids using hanging drop arrays for preclinical drug sensitivity assays. *Gynecol. Oncol.* 2015; 138(1): 181-9. DOI: 10.1016/j.ygyno.2015.04.014.
56. Kiyohara Y., Yoshino K., Kubota S., Okuyama H., Endo H., Ueda Y., Kimura T., Kimura T., Kamiura S., Inoue M. Drug screening and grouping by sensitivity with a panel of primary cultured cancer spheroids derived from endometrial cancer. *Cancer Sci.* 2016; 107(4): 452-60. DOI: 10.1111/cas.12898.
57. Lee S.W., Kim Y.M., Kim M.B., Kim D.Y., Kim J.H., Nam J.H., Kim Y.T. *In vitro* chemosensitivity using the histoculture drug response assay in human epithelial ovarian cancer. *Acta Med. Okayama*. 2012; 66(3): 271-7. DOI: 10.18926/AMO/48567.
58. Rizvanov A.A., Yalvac M.E., Shafiqullina A.K., Salafutdinov I.I., Blatt N.L., Sahin F., Kiyasov A.P., Palotas A. Interaction and self-organization of human mesenchymal stem cells and neuroblastoma SH-SY5Y cells under co-culture conditions: A novel system for modeling cancer cell micro-environment. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2010; 76(2): 253-9. DOI: 10.1016/j.ejpb.2010.05.012.
59. Lovitt C.J., Shelper T.B., Avery V.M. Evaluation of chemotherapeutics in a three-dimensional breast cancer model. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2015; 141(5): 951-9. DOI: 10.1007/s00432-015-1950-1.
60. Yildiz-Ozturk E., Gulce-Iz S., Anil M., Yesil-Celiktas O. Cytotoxic responses of carnosis acid and doxorubicin on breast cancer cells in butterfly-shaped microchips in comparison to 2D and 3D culture. *Cytotechnology*. 2017; 69(2): 337-47. DOI: 10.1007/s10616-016-0062-3.
61. Nirmalanandhan V.S., Duren A., Hendricks P., Vielhauer G., Sittampalam G.S. Activity of anticancer agents in a three-dimensional cell culture model. *Assay Drug Dev. Technol.* 2010; 8(5): 581-90. DOI: 10.1089/adt.2010.0276.
62. Imamura Y., Mukohara T., Shimono Y., Funakoshi Y., Chayahara N., Toyoda M., Kiyota N., Takao S., Kono S., Nakatsura T., Minami H. Comparison of 2D- and 3D-culture models as drug-testing platforms in breast cancer. *Oncol. Rep.* 2015; 33(4): 1837-43. DOI: 10.3892/or.2015.3767.
63. Lee J.H., Lee J.H., Na K., Song S.C., Lee J., Kuh H.J. The distribution and retention of paclitaxel and doxorubicin in multicellular layer cultures. *Oncol. Rep.* 2012; 27(4): 995-1002. DOI: 10.3892/or.2012.1650.
64. Huang L., Holtzinger A., Jagan I., BeGora M., Lohse I., Ngai N., Nostro C., Wang R., Muthuswamy L.B., Crawford H.C., Arrowsmith C., Kalloger S.E., Renouf D.J., Connor A.A., Cleary S., Schaeffer D.F., Roehrl M., Tsao M.S., Gallinger S., Keller G., Muthuswamy S.K. Ductal pancreatic cancer modeling and drug screening using human pluripotent stem cell- and patient-derived tumor organoids. *Nat. Med.* 2015; 21(11): 1364-71. DOI: 10.1038/nm.3973.
65. Pickup M.W., Mouw J.K., Weaver V.M. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO Rep.* 2014; 15(12): 1243-53. DOI: 10.15252/embr.201439246.

Сведения об авторах

Чернов Александр Николаевич — научный сотрудник отдела микробиологии, клеточных технологий и молекулярной биологии Центра доклинических и трансляционных исследований.

Баранцевич Елена Петровна — доктор медицинских наук, заведующая отделом микробиологии, клеточных технологий и молекулярной биологии Центра доклинических и трансляционных исследований.

Галимова Эльвира Сафуановна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела микробиологии, клеточных технологий и молекулярной биологии Центра доклинических и трансляционных исследований.

Галагудза Михаил Михайлович — доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, директор.