



Модель плаценты-на-чипе *in vitro* для оценки транспорта и токсичности химиотерапевтических препаратов

Ключевые слова:

плацента, химиотерапия, рак молочной железы, транспорт

Keywords:

Placenta, chemotherapy, breast cancer, transport

Князев Е.Н.^{1,2}, Христинченко А.Ю.^{1,3}, Герасименко Т.Н.¹, Киндеева О.В.^{1,4}, Петров В.А.^{1,5}, Сахаров Д.А.^{1,6}

¹ ООО НТЦ «БиоКлиникум»

115088, Российская Федерация, г. Москва, ул. Угрешская, д. 2, стр.85, эт.1, пом.13

² ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук

117997, Российская Федерация, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

117997, Российская Федерация, г. Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, д. 1

⁴ ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет»

690091, Российская Федерация, г. Владивосток, ул. Суханова, д. 8

⁵ ФГБУН Институт нанотехнологий микроэлектроники Российской академии наук

119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинский проспект, 32А

⁶ ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»

125047, Российская Федерация, г. Москва, А-47, Миусская площадь, д. 9

E-mail: e.knyazev@bioclinicum.com

In vitro placenta-on-a-chip model for assessing the transport and toxicity of chemotherapeutic drugs

Knyazev E.N.^{1,2}, Khristichenko A.Y.^{1,3}, Gerasimenko T.N.¹, Kindeeva O.V.^{1,4}, Petrov V.A.^{1,5}, Sakharov D.A.^{1,6}

¹ SRC BioClinicum

2/85 Ugrashskaya str., Moscow, 115088, Russian Federation

² Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences

16/10, Miklukho-Maklaya str., GSP-7, Moscow, 117997, Russian Federation

³ D. Rogachev Federal Scientific and Clinical Center for Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology

1 Samory Mashela, Moscow, 117198, Russian Federation

⁴ Far Eastern Federal University

8 Sukhanova Str., Vladivostok, 690091, Russian Federation

⁵ Institute of Nanotechnologies of Microelectronics of the Russian Academy of Sciences

32A Leninsky Prospect, Moscow, 119991, Russian Federation

⁶ Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia

9 Miusskaya Square, Moscow, 125047 A-47, Russian Federation

E-mail: e.knyazev@bioclinicum.com

Цель. Исследование трансплацентарного транспорта и токсичности ксенобиотиков у беременных женщин ограничено по этическим соображениям. Модели плаценты *ex vivo* имеют большую вариабельность и низкую частоту успеха, а животные модели *in vivo* отличаются от человека по анатомии, генотипу и протеому. Модель плаценты-на-чипе *in vitro* на основе человеческих клеток с микроциркуляцией среды является компромиссом, позволяющим изучать плацентарный барьер с хорошей воспроизводимостью и относительной простотой выполнения экспериментов. Нами был изучен транспорт и токсичность препаратов, входящих в состав стандартного режима химиотерапии FAC при раке молочной железы у беременных женщин.

Методы. Клеточная линия хориокарциномы BeWo b30, схожая по свойствам с клетками цитотрофобласта, выращивалась в среде DMEM с 2 mM L-глутамина, содержанием глюкозы 4,5 г/л, 10% FBS, 1x раствором заменимых аминокислот Gibco MEM NEAA, 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина в культуральных вставках, вырезанных из 96-луночного планшета Transwell, помещенных в микрофлюидный чип с циркуляцией среды. Клетки высевали с плотностью 10000 кле-

ток на вставку. Через 7 дней к клеткам на 1 ч добавляли 5-фторурацил (25 мкг/мл), доксорубин (125 мкг/мл), циклофосамид (150 мкг/мл) или все три препарата одновременно. Контрольные клетки культивировали в присутствии 0,05% ДМСО. Перед добавлением препаратов и через 1 и 24 ч после добавления препаратов измеряли импедансный спектр монослоя клеток. Концентрацию препаратов, прошедших через модель плацентарного барьера, определяли методом ВЭЖХ-МС/МС. Жизнеспособность клеток оценивали с использованием набора реагентов CellTiter-Blue.

Результаты. После 1 ч инкубации с лекарственными средствами трансэпителиальное электрическое сопротивление (TEER) снижалось в экспериментальных и контрольных группах в среднем с 90 до 25 Ом·см², а через 24 ч TEER составляло 67,3±17,9 Ом·см² для контроля, 67,8 ± 16,4 Ом·см² для циклофосамида, 90,0±20,1 Ом·см² для 5-фторурацила и снизился до 16 Ом·см² для доксорубина и смеси препаратов. Жизнеспособность клеток существенно не различалась между контролем, 5-фторурацилом и циклофосамидом, но снижалась до 40±9% от контроля при воздействии доксорубина и смеси препаратов. Проницаемость модели для 5-фторурацила составила

1,3–1,5% из-за высокой гидрофильности молекулы, доксорубицина — 0,3–1,1% из-за большого размера и высокой степени связывания с белками и ДНК, а циклофосфамид проникал сквозь барьер на 7,3–8% из-за липофильности, малого размера и низкой связываемости с белками.

Заключение. Разработанная модель плаценты на чипе *in vitro* подходит для оценки транспорта и токсичности ксенобиотиков, включая известные и разрабатываемые химиотерапевтические препараты.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы», соглашение 14.588.21.0007, уникальный идентификатор: RFMEFI58817X0007.