

Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Специальность: 06.03.01 – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
Бакалаврская работа

АНАЛИЗ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ ПАКЛИТАКСЕЛ И
ЦИСПЛАТИН НА РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЯХ ОПУХОЛИ *IN VITRO*

Работа завершена:

« 5 » 06 2023 г.



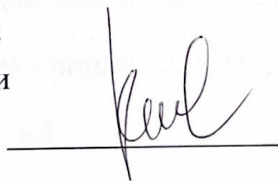
(К. Исаева)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

к.б.н., доцент кафедры генетики

« 6 » 06 2023 г.



(К. В. Китаева)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

« 6 » 06 2023 г.



(А. Р. Каюмов)

Казань – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Микроокружение опухоли.....	9
1.2 Моделирование микроокружения <i>in vitro</i>	11
1.3 Двумерные модели.....	13
1.4 Трехмерные модели.....	15
1.5 Сфероиды.....	17
1.6 Химиорезистентность.....	20
1.6.1 CDDP и проблема химиорезистентности.....	22
1.6.2 Паклитаксел и проблема химиорезистентности.....	23
1.7 Рак молочной железы.....	24
1.8 Колоректальный рак.....	26
Заключение.....	28
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	29
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	29
2.1 Разморозка и культивирование монослойных культур.....	29
2.1.1 Культивирование клеточной линии MCF-7.....	29
2.1.2 Культивирование клеточной линии HCT-15.....	29
2.1.3 Разморозка клеточных линий.....	29
2.1.4 Внесение препаратов.....	30
2.2 Получение и анализ сфероидов из клеток линий MCF-7 и HCT-15.....	30
2.2.1 Создание сфероидов методом «висячая капля».....	30
2.2.2 Культивирование сфероидов в суспензии.....	30
2.3 Культивирование клеток в Матригеле.....	31

2.4 Фазово-контрастная микроскопия	32
2.5 Определение пролиферативной активности клеток	32
2.5.1 Определение пролиферативной активности клеток 2D культур.....	32
2.5.2 Определение пролиферативной активности клеток, культивируемых методом сфероидов	32
2.6 Анализ цитотоксического эффекта противоопухолевых препаратов путем оценки апоптоза клеток.....	33
2.6.1 Анализ цитотоксического эффекта противоопухолевых препаратов на 2D модели путем оценки апоптоза клеток.....	33
2.6.2 Анализ цитотоксического эффекта противоопухолевых препаратов на модели сфероидов путем оценки апоптоза клеток	34
2.7 Статистический анализ	34
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	35
3.1 Создание сфероидов.....	35
3.2 Анализ выживаемости клеток с противоопухолевыми препаратами	35
3.2.1 Анализ жизнеспособности клеток после культивирования клеток с цисплатином.....	36
3.2.2 Анализ жизнеспособности клеток после культивирования клеток с паклитакселом.....	38
3.3 Анализ пролиферативной активности клеток	40
3.3.1 Анализ пролиферации клеток после культивирования с цисплатином..	40
3.3.2 Анализ пролиферации клеток после культивирования с паклитакселом	42
ВЫВОДЫ	45
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	46

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ALDH1A1	Альдегиддегидрогеназа, семейство 1, член 1
BRCA1	Ген рака молочной железы 1
BRCA2	Ген рака молочной железы 2
CAF	Ассоциированные с раком фибробласты
CDDP	Цисплатин
CIMP	Фенотип метилатора CpG-островков
CMS	Консенсусные молекулярные подтипы
DAPI	4',6-диамидино-2-фенилиндол
EGFR	Рецептор эпидермального фактора роста
FBS	Сыворотка крови плодов коровы
FNDC5	Иризин
HER2	Рецептор человеческого эпидермального фактора роста 2 типа
HIF-1	Индуцируемый гипоксией фактор 1
HIF-1 α	Индуцируемый гипоксией фактор 1 α
KRT17	Кератин цитоскелета I типа 1
LL-37	Лейцитин-37
MCP-1	Моноцитарный хемотаксический белок 1
MTS	Внутренняя соль, 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2H-тетразолий)
MSI	Микросателлитная нестабильность
NK-клетки	Натуральные киллеры
NF-kB	Транскрипционный ядерный фактор активации В-клеток
Oct4	Октамер-4
PBS-T	Фосфатно-солевой буфер с Trithon
PMS	Феназинметасульфат
PTEN	Фосфатаза с двойной субстратной специфичностью

PTX	Паклитаксел
SDF-1	Стромальный клеточный фактор-1
TGF β	Трансформирующий фактор роста бета
TME	Микроокружение опухоли
VEGF	Сосудистый эндотелиальный фактор роста
DMEM	Среда Игла, модифицированная по методу Дульбекко
BKM	Внеклеточный матрикс
KPP	Колоректальный рак
PMЖ	Рак молочной железы
РСК	Раковые стволовые клетки
ФСБ	Фосфатно-солевой буфер
ЭДТА	Этилендиаминтетрауксусная кислота
α -MEM	α -модификация среды Игла

ВВЕДЕНИЕ

Хотя в последние десятилетия мы наблюдаем значительный прогресс в диагностике и лечении рака, с увеличением количества онкологических заболеваний появляется необходимость в использовании современных методов терапии. Множество исследований направлены на разработку и клинические испытания новых противоопухолевых препаратов, которые могут значительно улучшить качество лечения больных [Brancato, *et al.*, 2020].

Для эффективного создания новых противоопухолевых препаратов необходимо использовать модели рака, которые полностью отражают его гетерогенность и включают компоненты его микроокружения. В настоящее время двумерные (2D) опухолевые модели *in vitro* являются основной моделью, однако, у них есть ряд существенных недостатков, таких как отсутствие сложной структуры, гетерогенности клеточного состава, взаимодействия с микроокружением и полноценных межклеточных контактов [Kitaeva, *et al.*, 2020]. С точки зрения скрининга лекарств 2D-модели могут быть полезны для выявления потенциальных лекарственных кандидатов, но они могут не точно предсказать ответ на лекарство *in vivo* из-за ограниченных свойств.

В связи с этим разрабатываются трехмерные (3D) модели опухолей, имеющие свойства, сближающие их с естественной опухолью. В исследованиях рака применяют трехмерные модели *in vitro*, которые являются компромиссом между двумерными культурами изолированных раковых клеток и сложными ксенотрансплантатами у животных-хозяев с ослабленным иммунитетом [Atat, *et al.*, 2022]. Для создания более биомиметических 3D-моделей рака используются различные стратегии, включая предоставление соответствующих матричных компонентов, совместное культивирование различных типов клеток в пространственно релевантный способ, мониторинг и контроль уровней гипоксии,

высвобождения ангиогенных факторов раковыми клетками в ответ на гипоксию.

Одним из перспективных направлений в онкологии является создание сфероидов, которые очень близки к настоящей опухоли по своим свойствам и организации. Такая модель может быть создана из большинства типов опухолей, что позволяет создавать биобанки с материалами пациентов для скрининга лекарств и облегчения разработки терапевтических средств. Это делает их более точными моделями для доклинического исследования противоопухолевых препаратов, чем использование 2D культур. Использование сфероидов также поможет расширить понимание биологии опухолей и ее микроокружения, разработать новые платформы *in vitro* для тестирования лекарств и создать новые терапевтические стратегии [Gilazieva Z., et al., 2020].

Целью работы являлось сравнение устойчивости 3D и 2D моделей клеток колоректального рака линии HCT-15 и клеток аденокарциномы протоков молочной железы линии MCF-7 при культивировании с препаратами цисплатин и паклитаксел.

В работе решались следующие **задачи**:

1) Создать модели опухолей на основе клеток колоректального рака линии HCT-15 и рака молочной железы линии MCF-7 *in vitro*: двумерной модели опухоли при помощи культурального пластика и трехмерной модели опухоли при культивировании на аналоге внеклеточного матрикса Матригель.

2) Создать трехмерные модели опухолей на основе клеток колоректального рака и рака молочной железы линии HCT-15 и MCF-7 *in vitro* методом сферообразования.

3) Оценить цитотоксическое влияние противоопухолевых препаратов цисплатин и паклитаксел на клетки колоректального рака и рака молочной железы линии HCT-15 и MCF-7 на двумерной модели опухоли, трехмерной модели опухоли при культивировании на аналоге внеклеточного



АНТИПЛАГИАТ
ОБНАРУЖЕНИЕ ЗАИМСТВОВАНИЙ

СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

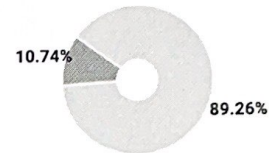
о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Исаева Карина Олеговна
Самоцитирование
рассчитано для: Исаева Карина Олеговна
Название работы: Исаева Диплом антиплагиат
Тип работы: Не указано
Подразделение: КФУ

РЕЗУЛЬТАТЫ

СОВПАДЕНИЯ	10.74%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	89.26%
ЦИТИРОВАНИЯ	0%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%



ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 26.05.2023

Структура документа: Проверенные разделы: основная часть с.1-32
Модули поиска: ИПС Адилет; Библиография; Сводная коллекция ЭБС; Интернет Плюс; Сводная коллекция РГБ; Цитирование; Переводные заимствования (RuEn); Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu); Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Переводные заимствования издательства Wiley; eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ: аналитика; СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация; Модуль поиска "КПФУ"; Медицина; Диссертации НББ; Коллекция НБУ; Перефразирования по eLIBRARY.RU; Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика; Перефразирования по Интернету; Перефразирования по Интернету (EN); Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Патенты СССР, РФ, СНГ; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Издательство Wiley; Переводные заимствования

Работу проверил: Бабынин Эдуард Викторович

ФИО проверяющего

Дата подписи:

Подпись проверяющего



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.