

DOI: 10.7868/S0041377118090023

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ. НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ

© Н. О. Мележникова,^{1,*} А. П. Домнина,² Т. С. Горячая,² М. А. Петросян¹

¹ Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии
и репродуктологии им. Д. О. Отта, Санкт-Петербург, 199034,
и ² Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064;

* электронный адрес: melenat142@mail.ru

В обзорной статье рассмотрены основные принципы использования клеточных моделей в фармакологии. Обсуждаются преимущества и недостатки фармакологических и токсикологических тест-систем *in vivo* и *in vitro*. Кратко изложены современные методические подходы разработки лекарств, включая модель на базе платформы использования индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC). Представлены возможности использования клеточных и органотипичных моделей в современных фармакологических и токсикологических исследованиях лекарственных препаратов.

Ключевые слова: индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, разработка лекарств, модели *in vitro*, высокопроизводительный скрининг, токсикология

Принятые сокращения: ВПС — высокопроизводительный скрининг лекарств, iPSC — индуцированные плюрипотентные стволовые клетки.

Хорошо известно, что разработка новых лекарственных препаратов представляет собой длительный и трудоемкий процесс, включающий в себя подходы *in silico*, *in vitro* и *in vivo*. Компьютерный прогноз биологической активности позволяет с помощью виртуального скрининга выявить молекулы-кандидаты, дальнейшее исследование которых является перспективным. С помощью химического или микробиологического синтеза получают множество субстанций с принципиально новым химическим составом, испытание которых проводится на различных биологических тест-системах. Потенциальное лекарство проходит ряд доклинических и клинических исследований, в ходе которых сравнивают результаты впервые синтезированных соединений с уже имеющимися на рынке фармакологическими препаратами, выявляют побочные эффекты, широту терапевтического действия, устанавливают наиболее эффективную и безопасную дозу в отношении каждого конкретного заболевания. Временные и финансовые затраты на все исследования и разработки в среднем составляют более 12 лет и более 1 млрд евро. При этом большинство разрабатываемых соединений (около 98 %) так и не выходит на фармацевтический рынок (Edwards et al., 2010).

Наиболее высокая доля молекул-кандидатов отсеивается на ранних этапах исследований, в ходе которых получают предварительную информацию об эффективности и токсичности новых соединений, их фармакокинетики, адсорбции и влиянии на метаболизм. В то же время немалое число потенциальных лекарств снимается на стадии клинических испытаний, где немаловажную роль иг-

рают корректная экстраполяция данных, полученных на животных, различная индивидуальная чувствительность к препарату и как следствие — противоречивые результаты.

В настоящее время исследования на животных в науке считаются «золотым стандартом». Чтобы оценить влияние одного вещества на организм, необходимо поставить эксперименты не менее чем на 430 животных. Классическая проверка одного химического вещества стоит от 500 тыс. до 1 млн долларов и длится не менее 2—3 лет. По данным Британского союза защиты животных, только в различных токсикологических исследованиях ежегодно используют 115 млн животных. Именно на этом этапе выбывает большая часть молекул-кандидатов, что ведет к серьезным издержкам в разработке, не говоря уже об этической стороне вопроса. Однако процесс поиска лекарственных средств можно ускорить и удешевить за счет разработки и усовершенствования новых, экономически более выгодных клеточных и животных моделей. С теоретической точки зрения наиболее подходящая модель для исследования — это патологические клетки, выделенные непосредственно из ткани пациента. Но в большинстве случаев получить образец патологической ткани без операционного вмешательства невозможно. Другой путь — это воссоздание патогенеза заболевания в условиях *in vitro* и *in vivo*. Как правило, для этого используют альтернативные системы, такие как модели животных и иммортализованные клеточные линии.

Поскольку геномы млекопитающих эволюционно схожи, самыми распространенными моделями стали мыши,

крысы, кролики, морские свинки, а также приматы. Однако межвидовые различия усложняют моделирование заболеваний. Расхождение эволюционных линий наших предков произошло около 100 млн лет назад, поэтому люди и мыши приобрели значительные генетические и физиологические различия. Несмотря на то что большинство генов человека и мыши являются ортологами, около 20 % генов не имеют ортолога, а у 1 % нет гомолога (Lin, 2008). На физиологическом уровне мыши и люди также различаются как строением, так и физиологией некоторых органов, сроком наступления половой зрелости, продолжительностью беременности, формированием плаценты, некоторыми аспектами эмбрионального развития, особенно на стадиях гаструляции и органогенеза (Strachan et al., 1997).

Иммортализованные клеточные линии, полученные из тканей пациентов, могут обеспечить неограниченный источник материала для испытания лекарств, а также изучения этиологии болезней на молекулярном и клеточном уровнях. С этой целью успешно используются постоянные клеточные линии, полученные из опухолевых тканей, а также создаются новые путем трансдукции различных репортерных конструкций в определенную клеточную модель. Например, исследования рака часто проводят на опухолевых клетках, которые можно легко выделить из тканей пациентов (Turkson, 2017). Однако обычно иммортализованные культуры клеток трансформируют с использованием онкогенных факторов, например SV40 (Maqsood et al., 2013). Как правило, такие линии стабильны по своим характеристикам, но могут значительно отличаться от клеточных культур, полученных из нормальных тканей, вследствие чего оценка воздействия лекарственного препарата может оказаться не вполне корректной. Перечисленные выше факторы вносят определенные ограничения в использование животных моделей и иммортализованных линий клеток доноров для воспроизведения физиологических и патологических характеристик изучаемого заболевания. Кроме того, из-за ограничений доступности некоторых пораженных тканей клеточные линии могут быть получены из других более легкодоступных типов клеток пациента, крови или материала биопсии. Так, в качестве модели *in vitro* для изучения фармакологической активности аналогов прогестерона нами ведутся разработки клеточной модели на основе эндометрия человека (Петросян и др., 2017). Биопсия эндометрия — неинвазивная безболезненная процедура, которая может проводиться как во время диагностической гистероскопии, так и путем аспирационной пайпель-биопсии. Эндометриальные клеточные линии, полученные из биоптатов здоровых доноров, позволяют изучать молекулярно-клеточные механизмы фармакологического действия новых соединений, не сталкиваясь с видовыми различиями. Кроме того, клеточная модель на основе эндометрия человека позволит разработать новый персонализированный подход к назначению препаратов женских половых стероидных гормонов. Таким образом, создание новых и адекватных поставленным задачам клеточных моделей актуально как для фундаментальных, так и для прикладных фармакологических исследований. К тому же в мировой практике использование моделей на основе клеток человека является наиболее перспективным направлением, поскольку результаты с использованием такого подхода наиболее применимы для дальнейших клинических исследований новых лекарственных препаратов.

Способы получения и свойства индуцированных плюрипотентных стволовых клеток

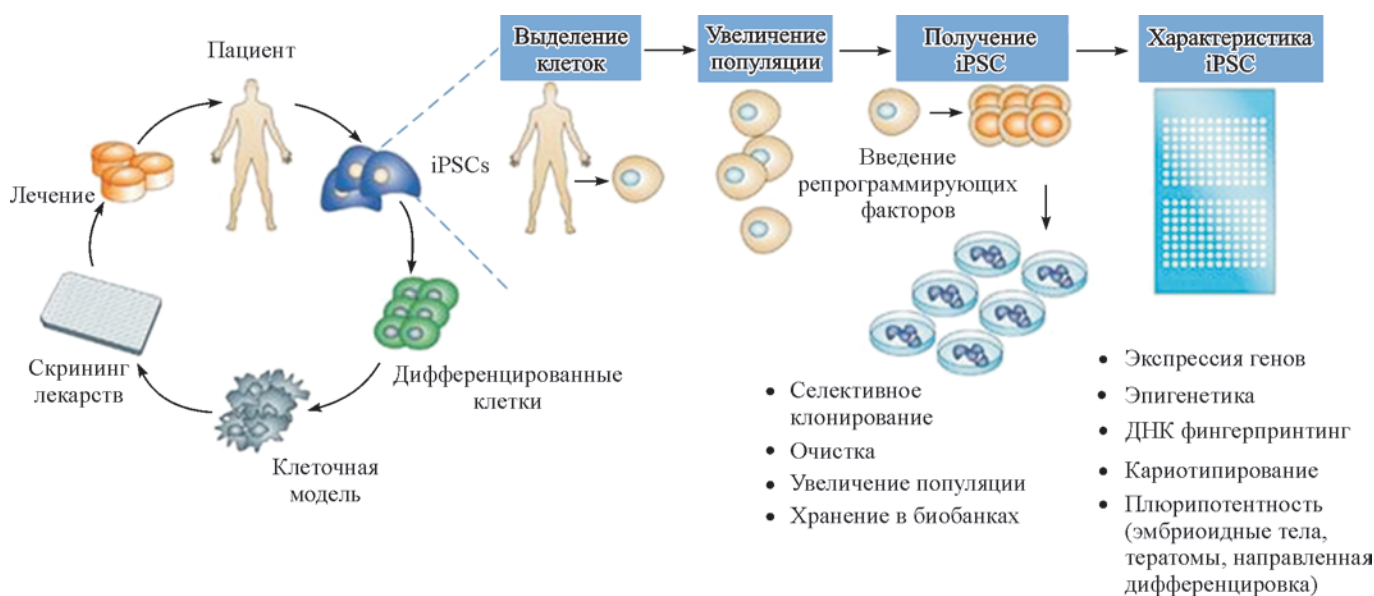
Плюрипотентные стволовые клетки человека превосходят вышеупомянутые подходы благодаря комбинации трех преимуществ: являются нормальными первичными клеточными линиями, способны к неограниченному делению и самообновлению популяции, а под влиянием различных индукторов дифференцируются в любой тип клеток (Hung et al., 2017). Существует несколько способов получения клеточной модели из плюрипотентных стволовых клеток. Эмбриональные стволовые клетки с болезнетворными мутациями можно идентифицировать во время проведения предимплантационной генетической диагностики. Описан другой способ, при котором в здоровые эмбриональные стволовые клетки перенесли ядра из соматических клеток, в результате чего происходил перенос генетического материала пациента в клетки донора (Yamada et al., 2014). Однако исследования с эмбриональными клетками человека также затрагивают этические проблемы, а процедура переноса ядер соматических клеток носит узкоспециализированный характер и доступна далеко не в каждой научно-исследовательской лаборатории.

Недавний всплеск развития редактирования генов привел к тому, что японскими исследователями Такахаши и Яманакой впервые было осуществлено прямое репрограммирование соматических клеток с помощью набора транскрипционных факторов (Takahashi et al., 2006). В результате появилась возможность вернуть клетки пациента с патологией обратно в плюрипотентное состояние, чтобы понять, какие молекулярные и клеточные изменения ответственны за данную болезнь.

Во-первых, в отличие от первичных клеток индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC) представляют собой неограниченный источник клеток для исследования лекарственных препаратов. Это позволяет создать на основе iPSC банки клеток, которые затем по мере необходимости могут быть использованы как для фундаментальных исследований, так и в перспективе для индивидуализированной клеточной терапии (Медведев, Власов, 2011).

Во-вторых, iPSC позволяют создать уникальную модель конкретного заболевания для проведения доклинических испытаний. При разработке стандартизированных методик эти клетки найдут свое применение и в тест-системах для отбора потенциальных лекарственных соединений. В настоящее время работы по созданию криохранилищ для таких клеток ведутся в Японии, США, России и некоторых европейских странах (Turner et al., 2013).

В-третьих, поскольку iPSC выделены непосредственно из образца ткани пациента, они обладают огромным потенциалом для развития персонализированной медицины, позволяя открывать и тестировать лекарство на основе генетических особенностей пациента и специфических характеристик заболевания (Engle, Pupralla, 2013). Так, например, в 2008 г. консультативный комитет по науке и технике при президенте США сформулировал концепцию «персонализированной медицины», которая требует назначать лекарственные препараты, учитывая генетические особенности пациента и специфические характеристики заболевания с целью увеличения эффективности терапии и снижения побочных эффектов. В настоящее время идет смена парадигм: от традиционного подхода —



Модель исследования и разработки лекарств на базе платформы iPSC.

Процесс обнаружения эффективного лекарственного препарата начинается с образцов ткани пациентов, используемых для получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC). Затем следует направленная дифференцировка в клетки, которые играют решающую роль в определенном заболевании (Grskovic et al., 2011).

«одна универсальная таблетка для всех» — к персонализированному подходу, который учитывает генетическое разнообразие разных пациентов (Hung et al., 2017).

При моделировании заболеваний человека в условиях *in vitro*, так же как и при использовании моделей животных, требуется определить специфичный для каждой патологии фенотип. На рисунке представлена модель современного исследования и разработки лекарств на базе платформы iPSC. Как показано на рисунке, соматические клетки, полученные из ткани пациента (например, фибробласты), репрограммируют в iPSC, несущие генетическую aberrацию, специфичную для определенного заболевания. Полученные клетки дифференцируют по типу клеток, пораженных болезнью (например, нейроны с нейродегенеративным заболеванием). Далее возможны три пути — высокопродуктивный скрининг лекарств (ВПС), персонализированная медицина и направленное исследование ряда потенциальных препаратов (Soldner, Jaenisch, 2012; Moffat et al., 2017).

Используя робототехнику, обработку данных и управления с программным обеспечением, устройства жидкостной обработки и чувствительные детекторы, ВПС позволяет исследователю быстро проводить миллионы химических, генетических или фармакологических тестов. С помощью этого процесса можно быстро идентифицировать активные соединения, антитела или гены, которые модулируют конкретный бимолекулярный путь. Прежде чем лекарство одобрят и его можно будет назначать пациентам, препараты, отобранные с помощью ВПС, проверяют на токсичность, определяют побочные действия и противопоказания (Avior et al., 2016). До этих этапов исследований доходит небольшое число лекарств, поэтому они проводятся более направленно и углубленно. Эти подходы целесообразны, когда известны основные мишени, механизм болезни, а также потенциальные методы лечения. Поэтому их следует использовать в основном для проверки эффективности лекарственных средств (Haston, Steven, 2016).

Использование клеточных культур в фармакологических и токсикологических исследованиях

Использование клеточных моделей для поиска и изучения лекарственных препаратов все еще находится в зачаточном состоянии. Наиболее широко клеточные культуры используются при изучении неврологических заболеваний, а также в онкологии. Раньше ВПС был больше ориентирован на поиск соединений, которые влияли на плюрипотентность (Barbaric et al., 2010) или раннюю дифференцировку клеток (Casalino et al., 2012), в последние годы набирает темпы скрининг, направленный на конкретные модели заболеваний.

Например, американские ученые провели маломолекулярный скрининг с использованием модели первичных клеток человека с ВИЧ на латентной стадии (Yang et al., 2009). Лекарственные препараты для лечения ВИЧ эффективно подавляют развитие инфекции, но они не способны полностью уничтожить вирус в организме человека. Это обусловлено тем, что лекарства не могут воздействовать на скрытые резервуары латентного вируса в белых клетках крови. Скрытый резервуар для ВИЧ в памяти CD4⁺-Т-клеток остается основным препятствием для ликвидации вируса. Исследование на клеточной модели было проведено для поиска соединения, которое реверсирует латентность без активации клеточного ответа.

На клеточной модели синдрома Райли—Дея был проведен крупномасштабный скрининг 6912 соединений, которые могли повлиять на экспрессию мутантного гена КВКАР, ответственного за развитие данного синдрома (Lee et al., 2012). На нескольких соединениях, например кинетине, проявившем наибольшую активность, сейчас проводят клинические испытания. Схожее исследование проводили на модели синдрома прогерии Хатчинсона—Гилфорда (Blondel et al., 2016). На мезенхимных стволовых клетках, полученных из iPSC, анализировали более 21 000 соединений в попытках найти фармакологический

ингибитор фарнезилирования преламина А. Идентифицировали 11 ингибиторов, включая новый, ранее неизвестный. Возможность дифференцировки iPSC в кардиоциты, гепатоциты, фибробласты и нейроны позволяет проводить прицельный доклинический токсикологический скрининг соединений *in vitro*. Так, например, Динг совместно с коллегами исследовали дифференцировку клеток эмбриональной карциномы мыши под воздействием фармакологического препарата пирролопиримидина и его аналогов и идентифицировали активное соединение TSW119 (Ding et al., 2003). Разработка клеточных моделей для скрининга лекарств ведется и для других патологий — заболеваний сетчатки глаза (Singh et al., 2015), печени (Ware, Khetani, 2017), неврологических (Shcheglovitov et al., 2013) и сердечно-сосудистых (Jung et al., 2012) заболеваний, а также синдрома Тимоти (Pasca et al., 2011) и др.

Превосходными моделями для изучения биологических механизмов, ответственных за возникновение онкологии, несомненно являются раковые клеточные линии. Они позволяют использовать клеточные модели для разработки и тестирования противоопухолевых препаратов, а также для разработок новых методов лечения.

Еще в конце 1980-х годов Национальный институт рака собрал NCI-60-панель, состоящую из 60 линий рака человека, используемую для скрининга соединений для выявления потенциальной противоопухолевой активности (Shoemaker, 2006). Панель содержит клеточные линии лейкемии, меланомы, немелкоклеточного рака легкого и рака головного мозга, яичника, молочной железы, толстой кишки, почек и предстательной железы. Благодаря разнообразию клеточных линий можно сравнивать эффекты тестируемых соединений, а также проводить автоматическое сравнение с базой данных из более чем 88 000 чистых соединений и более 34 000 сырых экстрактов (по состоянию на 6 января 2017 г.).

Еще в 1967 г. в Москве на базе Научно-исследовательского института морфологии человека была основана коллекция экспериментальных опухолей нервной системы и нейральных опухолевых клеточных линий. Экспонаты коллекции используются в рамках российского и международного научного сотрудничества как экспериментальные модели для разработки и оценки эффективности средств и методов противоопухолевой терапии. Так, например, штамм глиомы крысы 101.8. был использован в отечественных и международных научных исследованиях, связанных с оценкой кинетики транспорта, распределения, токсичности, действия противоопухолевого антибиотика доксорубинина в комплексе с наночастицами различного состава (Gelperina et al., 2010). Кроме того, в течение многих лет исследователи оценивали цитотоксичность фармакологических препаратов, сравнивая клинические значения с результатами, полученными на клетках, выделенных ими самостоятельно (Ferreira et al., 2013).

Различные линии раковых клеток проявляли разные ответы на цитотоксические противораковые лекарственные средства. Так, линии рака толстой кишки более устойчивы к ДНК-интеркалирующим препаратам, а линии рака молочной железы или лейкемии более чувствительны (Finlay, Baguley, 1984). Коупленд и его коллеги проверили цитотоксичность противоопухолевого препарата на различных клеточных линиях рака предстательной железы и подтвердили, что препарат более эффективен для андрогеннезависимого метастатического рака простаты (Copeland et al., 2007). Кроме того, для изучения

противоопухолевых препаратов разработаны модели *in vitro* глиомы (O'Duibhir et al., 2017) и колоректального рака (Quartararo et al., 2015). Обе эти модели поддаются редактированию генома и используются для ВПС.

В фармакологических исследованиях также используют и нормальные клеточные модели, т. е. без патологий, которые позволяют изучать раздражающее действие лекарственных препаратов, фототоксичность, абсорбцию вещества через кожу, ее барьерную функцию и др. В настоящее время известны коммерческие органотипичные и реконструированные модели эпидермиса, такие как EPISKIN, EpiDerm и Full Thickness. На указанных моделях были выполнены опыты с изучением повреждающего действия большого количества химических веществ (Гильдеева, 2015).

Кроме того, исследования токсичности фармакологических агентов проводят на первичных культурах клеток (гепатоцитах, эпителиоцитах, кератиноцитах и хондроцитах), а также на культурах тканей, выделенных из организма животных или человека. Для этого используют постоянные клеточные линии человека: клетки гепатомы человека (Hep G2), карциномы шейки матки (HeLa), клетки карциномы гортани (Hep2), лейкозные лейкоциты (HL-60), клетки немелкоклеточного рака легких (A-549), нейробластомы (NB-1), эпителиальные клетки синовиальной жидкости (McCo), остеосаркомы (Mg-63) и др. Тестирование новых молекул на различных клеточных линиях предоставляет широкую информацию о потенциальных эффектах химических веществ и их специфическом действии (Holme, Dybing, 2002).

Особое внимание уделяется изучению токсичности на клеточных культурах при разработке моделей барьерных систем организма. Уже есть ряд успехов в воспроизведении эпителиального барьера, который является первым препятствием на пути проникновения ксенобиотика в организм. Для исследований интерстициального барьера наибольшее развитие получили модели процессов абсорбции с использованием клеточных линий HT-29 и Caco-2 (Дмитруха, 2013). Относительно гематоэнцефалического барьера, что является важным для многих токсичных веществ, то в этом направлении разрабатываются трехмерные модели, содержащие глиальные и эндотелиальные клетки (клеточные линии MDCK) (Irvine et al., 1999).

Большую ценность представляют созданные органотипичные модели, например модель глаза для изучения местного раздражающего действия в качестве замены теста Драйзера на кроликах. Система клеточных культур, аналогичная головному мозгу, разработана для тестирования нейротоксичности. Очень важным для развития органотипичных моделей является то, что для них используют микропористый субстрат, который поддерживает физиологически важные параметры для изучения трансцеллюлярного транспорта и клеточно-тканевых реакций (Трахтенберг и др., 2008). Проведенные исследования показали, что реконструированные модели, имитирующие нормальные ткани *in vitro*, имеют хорошую корреляцию с системным токсическим действием, определяемым у животных (Pfaller et al., 2001).

Заключение

Целью любого биомедицинского исследования является научный прогресс, именно поэтому стоит направить основные усилия не на улучшение моделей животных,

которые часто недостаточно эффективны и надежны, а сделать более приоритетным разработку и использование новых методов *in vitro*, основанных на человеческих тканях и клетках.

Технология iPSC является в настоящее время одной из самых перспективных в плане изучения молекулярных механизмов клеточных патологий в условиях персонализированного подхода, создания эффективных тест-систем для поиска и скрининга фармакологических препаратов, а также разработки подходов к клеточной терапии различных заболеваний человека. Тот факт, что клеточная модель позволяет получать iPSC из индивидуальных дифференцированных соматических клеток больных и здоровых пациентов, открывает большие перспективы в развитии персонализированной медицины.

Развитие такой технологии в дальнейшем позволит существенным образом сократить эксперименты по тестированию фармакологических препаратов на животных и расширить их на клетках человека. Возможность дифференцировки клеток iPSC в кардиомиоциты, гепатоциты, фибробласты, нейроны и др. позволит проводить прицельный доклинический токсикологический скрининг соединений *in vitro*. Способность моделировать клеточно-специфические расстройства зависит от хорошо продуманных и проработанных протоколов выделения, ведения и дифференцировки культур. Сейчас уже существует возможность получить некоторые типы зрелых и функциональных клеток, но ученые продолжают работать над новыми типами и увеличением их популяции.

Несмотря на многообещающее будущее клеточных методов, основанных на iPSC, по-прежнему существуют значительные препятствия между их возможностями и их реализацией. Однако нет сомнения, что в будущем появится возможность смоделировать практически любое генетическое заболевание, будь оно моногенное, хромосомное или комплексное, и использовать такую модель для изучения фармакологической активности, токсических действий и побочных эффектов новых лекарственных препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 18-015-00449-А).

Список литературы

- Гильдеева, Г. Н. 2015. Актуальные проблемы доклинических исследований: переход к альтернативной *in vitro*-токсикологии. Вестник Росздравнадзора. 5 : 59—62. (Gildeeva G. N. 2015. Topical issues of pre-clinical studies: transition to alternative *in vitro* toxicology. Vestnik Roszdravnadzora. 5 : 59—62.)
- Дмитруха Н. Н. 2013. Культура клеток как *in vitro* модель в токсикологических исследованиях. Киев: Medix anti-aging. 3 (33) : 50—55. (Dmitrukha N. N. 2013. Culture of cells as an *in vitro* model in toxicological studies. Kiev: Medix anti-aging. 3 (33) : 50—55.)
- Медведев С. П., Власов В. В. 2011. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки. Новосибирск: Изд-во Сиб. отд. РАН. 215 с. (Medvedev S. P., Vlasov V. V. 2011. Induced pluripotent stem cells. Novosibirsk: Publ. House SB RAS. 215 p.)
- Петросян М. А., Мележниковна Н. О., Домнина А. П., Андрияшина В. А., Горячая Т. С., Петрова Л. И., Малышева О. В., Разыграев А. В., Полякова В. О., Сапронов Н. С. 2017. Поиск новой клеточной модели для изучения фармакологической активности аналогов прогестерона. Цитология. 59 (10) : 676—684. (Petrosyan M. A., Melezhnikova N. O., Domnina A. P., Andryushina V. A., Goryachaya T. S., Petrova L. I., Malysheva O. V., Rasygraev A. V., Polyakova V. O., Sapronov N. S. 2018. A search for a new cellular model to study the pharmacological activity of progesterone analogues. Tsitologiya. 59 (10) : 676—684.)
- Трахтенберг И. М., Коваленко В. Н., Кокишарьова Н. В., Жмицько П. Г., Чумак В. Т., Баула А. П. 2008. Альтернативные методы и тест системы. Лекарственная токсикология. Киев: Авиценна. 272 с. (Trakhtenberg I. M., Kovalenko V. N., Koksharyova N. V., Zhminko P. G., Chumak V. T., Baula A. P. 2008. Alternative methods and system test. Drug Toxicology. Kiev: Avicenna. 272 p.)
- Avior Y., Sagi I., Benvenisty N. 2016. Pluripotent stem cells in disease modelling and drug discovery. Nature Rev. Mol. Cell Biol. 17 : 170—182.
- Barbaric I., Gokhale P. J., Andrews P. W. 2010. High-content screening of small compounds on human embryonic stem cells. Biochem. Soc. Trans. 38 : 1046—1050.
- Blondel S., Egesipe A.-L., Picardi P., Jaskowiak A.-L., Notaricola M., Ragot J., Nissan X. 2016. Drug screening on Hutchinson Gilford progeria pluripotent stem cells reveals aminopyrimidines as new modulators of farnesylation. Cell Death Disease. 7 : 2105.
- Casalino L., Magnan D., De Falco S., Filosa S., Minchiotti G., Patriarca E. J., De Cesar D. 2012. An automated high throughput screening-compatible assay to identify regulators of stem cell neural differentiation. Mol. Biotechnol. 50 : 171—180.
- Copeland R. L., Das J. R., Bakare O., Enwerem N. M., Berhe S., Hillaire K., Kanaan Y. M. 2007. Cytotoxicity of 2, 3-dichloro-5, 8-dimethoxy-1, 4-naphthoquinone in androgen-dependent and -independent prostate cancer cell lines. Anticancer Res. 27 : 1537—1546.
- Ding S., Wu T. Y., Brinker A., Peters E. C., Hur W., Gray N. S., Schultz P. G. 2003. Synthetic small molecules that control stem cell fate. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 100 : 7632—7637.
- Edwards L., Fox A., Stonier P. 2010. Principles and practice of pharmaceutical medicine. 3rd ed. Oxford: Wiley-Blackwell. 800 p.
- Engle S. J., Puppala D. 2013. Integrating human pluripotent stem cells into drug development. Cell Stem Cell. 12 : 669—677.
- Ferreira D., Adega F., Chaves R. 2013. The importance of cancer cell lines as *in vitro* models in cancer methylome analysis and anticancer drugs testing. In: Oncogenomics and cancer proteomics—novel approaches in biomarkers discovery and therapeutic targets in cancer. Oncogen. Cancer Proteomics. 6 : 139—166.
- Finlay G. J., Baguley B. C. 1984. The use of human cancer cell lines as a primary screening system for antineoplastic compounds. Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 20 : 947—954.
- Gelperina S., Maksimenko O., Khalansky A., Vanchugova L., Shipulo E., Abbasova K., Berdiev R., Wohlfart S., Nazarenko P., Chepurnova N., Kreuter J. 2010. Drug delivery to the brain using-surfactant-coated poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles: influence of the formulation parameters. Eur. J. Pharm. Biopharm. 74 : 157—163.
- Grskovic M., Javaherian A., Strulovici B., Daley G. Q. 2011. Induced pluripotent stem cells — opportunities for disease modeling and drug discovery. Nature Rev. Drug Discovery. 10 : 915.
- Haston K. M., Steven F. 2016. Clinical trials in a dish: the potential of pluripotent stem cells to develop therapies for neurodegenerative diseases. Ann. Rev. Pharm. Toxicol. 56 : 489—510.
- Holme J. A., Dybing E. 2002. The use of *in vitro* methods for hazard characterisation of chemicals. Toxicol. Lett. 127 (1—3) : 135—141.
- Hung S. S., Khan S., Lo C. Y., Hewitt A. W., Wong R. C. 2017. Drug discovery using induced pluripotent stem cell models of neurodegenerative and ocular diseases. Pharmacol. Therapeutics. 177 : 32—43.
- Irvine J. D., Takahashi L., Lockhart K., Cheong J., Tolan J. W., Selick H. E., Grove J. R. 1999. MDCK (Madin-Darby canine kidney) cells: a tool for membrane permeability screening. J. Pharm. Sci. 88 : 28—33.
- Jung C. B., Moretti A., Mederos y Schnitzler M., Iop L., Storch U., Bellin M., Laugwitz K.-L. 2012. Dantrolene rescues arrhythmogenic RYR2 defect in a patientspecific stem cell model of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. EMBO Mol. Med. 4 : 180—191.

- Lee G., Ramirez C. N., Kim H., Zeltner N., Liu B., Radu C., Studer L. 2012. Largescale screening using familial dysautonomia induced pluripotent stem cells identifies compounds that rescue IKBKAP expression. *Nature Biotechnol.* 30 : 1244—1248.
- Lin J. H. 2008. Applications and limitations 2 of genetically modified mouse models in drug discovery and development. *Curr. Drug Met.* 9 : 419—438.
- Maqsood M. I., Matin M. M., Bahrami A. R., Ghasrol-dasht M. M. 2013. Immortality of cell lines: challenges and advantages of establishment. *Cell Biol. Int.* 37 : 1038—1045.
- Moffat J. G., Vincent F., Lee J. A., Eder J., Prunotto M. 2017. Opportunities and challenges in phenotypic drug discovery: an industry perspective. *Nature Rev. Drug Discovery.* 16 : 531.
- O'Duibhir E., Carragher N. O., Pollard S. M. 2017. Accelerating glioblastoma drug discovery: convergence of patient-derived models, genome editing and phenotypic screening. *Mol. Cell. Neurosci.* 80 : 198—207.
- Paşca S. P., Portmann T., Voineagu I., Yazawa M., Shcheglovitov A., Paşca A. M., Dolmetsch R. E. 2011. Using iPSC-derived neurons to uncover cellular phenotypes associated with Timothy syndrome. *Nature Med.* 17 : 1657—1662.
- Pfaller W., Balls M., Clothier R., Coecke S., Dierickx P., Ekwal B., Schmuck G. 2001. Novel advanced *in vitro* methods for long-term toxicity testing. *ATLA-NOTTINGHAM.* 29 : 393—426.
- Quartararo C. E., Reznik E., deCarvalho A. C., Mikkelsen T., Stockwell B. R. 2015. High-throughput screening of patient-derived cultures reveals potential for precision medicine in glioblastoma. *ACS Med. Chem. Lett.* 6 : 948—952.
- Shcheglovitov A., Shcheglovitova O., Yazawa M., Portmann T., Shu R., Sebastiano V. 2013. SHANK3 and IGF1 restore synaptic deficits in neurons from 22q13 deletion syndrome patients. *Nature.* 503 : 267—271.
- Shoemaker R. H. 2006. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen. *Nat. Rev. Cancer.* 6 : 813—823.
- Singh R., Ruchira S., David K., Guzewicz K. E., Jackelyn M., Molly W., Gamm D. M. 2015. Pharmacological modulation of photoreceptor outer segment degradation in a human ips cell model of inherited macular degeneration. *Molecular therapy. J. Amer. Soc. Gene Ther.* 23 : 1700—1711.
- Soldner F., Jaenisch R. 2012. Medicine. iPSC disease modeling. *Science.* 338 : 1155—1156.
- Strachan T., Lindsay S., Wilson D. I. 1997. Molecular genetics of early human development. New York: Acad. Press. 280 p.
- Takahashi K., Yamanaka S. 2006. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 126 : 663—676.
- Turkson J. 2017. Cancer drug discovery and anticancer drug development. In: *The molecular basis of human cancer.* New York: Humana Press. 695—707.
- Turner M., Leslie S., Martin N. G., Peschanski M., Rao M., Taylor C. J., Trounson A., Turner D., Yamanaka S., Wilmot I. 2013. Toward the development of a global induced pluripotent stem cell library. *Cell Stem Cell.* 13 : 382—384.
- Ware B. R., Khetani S. R. 2017. Engineered liver platforms for different phases of drug development. *Trends in Biotechnol.* 35 : 172—183.
- Yamada M., Johannesson B., Sagi I., Burnett L. C., Kort D. H., Prosser R. W., Egli D. 2014. Human oocytes reprogram adult somatic nuclei of a type 1 diabetic to diploid pluripotent stem cells. *Nature.* 510 : 533—536.
- Yang H. C., Xing S., Shan L., O'Connell K., Dinoso J., Shen A., Zhang H. 2009. Small-molecule screening using a human primary cell model of HIV latency identifies compounds that reverse latency without cellular activation. *J. Clin. Invest.* 119 : 3473—3486.

Поступила 30 V 2018

PRESENT AND FUTURE OF CELLULAR TECHNOLOGY IN PHARMACOLOGICAL RESEARCH

N. O. Melezhnikova,^{1,*} A. P. Domnina,² T. S. Goryachaya,² M. A. Petrosyan¹

¹ D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, 199034,
and ² Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064;

* e-mail: melenat142@mail.ru

The article contains information about the basic principles of the use of cellular models in pharmacology. The advantages and disadvantages of pharmacological and toxicological test systems *in vivo* and *in vitro* are discussed. The modern methodical approaches to drug development, including the model based on the platform using induced pluripotent stem cells (iPSC) are briefly described. The possibilities of using cellular and organotypic models in modern pharmacological and toxicological studies of medicinal products are presented.

Key words: induced pluripotent stem cells, drug development, *in vitro* models, high-throughput screening, toxicology