3D-сфероиды представляют собой самоорганизующиеся агломераты, в которых воспроизводятся ключевые признаки опухолевой микросреды: градиенты кислорода, глюкозы и величины pH, зонирование по пролиферативной активности (внешние пролиферирующие слои и внутренние зоны с гипоксией), отложение внеклеточного матрикса и плотные межклеточные контакты. Эти факторы формируют физический и диффузионный барьер для проникновения лекарств и модифицируют фармакодинамические ответы (Minchinton, Tannock, 2006; Friedrich et al., 2007; Hirschhaeuser et al., 2010; Edmondson et al., 2014; Zanoni et al., 2016). В результате многие препараты демонстрируют меньшую активность в сфероидах по сравнению с монослоем (Asghar et al., 2015; Guan, Huang, 2022; Nayak et al., 2023).

Так, обработка клеток рака яичников паклитакселом снижала выживаемость и пролиферацию примерно на 40% в 3D-сфероидах, тогда как в 2D-монослое тот же препарат снижал жизнеспособность на ~80% (Loessner et al., 2010). Сравнение 3D-сфероидов и 2D-монослоя клеток линии HCT-116 при действии стандартных (мелфалан, 5-FU, оксалиплатин, иринотекан) и исследуемых (акрифлавин, VLX50) противоопухолевых средств показало высокую активность всех препаратов в 2D-культуре и существенно меньшую — в 3D, причем более зрелые (6-суточные) сфероиды были устойчивее, чем 3-суточные (Karlsson et al., 2012). Это согласуется с вкладом динамических межклеточных взаимодействий в формирование лекарственной толерантности (Hirschhaeuser et al., 2010; Edmondson et al., 2014; Guan, Huang, 2022; Nayak et al., 2023).

Однако повышенная устойчивость сфероидов не является универсальным правилом и зависит от механизма действия препарата и микросреды. Например, для тирапазамина — гипоксия-активируемого цитотоксического агента — клетки в 3D-моделях оказывались более чувствительными, чем в 2D, что отражает влияние гипоксических градиентов на фармакологический эффект (Tung et al., 2011; Nayak et al., 2023). Значимы также такие факторы, как скорость накопления и вымывания препарата, режим дозирования и длительность воздействия, которые по-разному влияют и на 2D-, и на 3D-системы (Minchinton, Tannock, 2006; Friedrich et al., 2007; Salinas-Vera et al., 2022).

Мы получили сфероиды клеток рака молочной железы, динамика и рост которых соответствовали двум фазам: 1—5 сут — фаза уплотнения, связанная с синтезом межклеточного матрикса и образованием межклеточных контактов, а далее фаза роста, сопровождающаяся увеличением диаметра сфероида вследствие пролиферативных процессов. Адгезивные свойства сфероиды MCF-7 проявляют ко вторым суткам, скорость роста монослоя из клеток периферического слоя сфероида составлет 0.193 ± 0.012 мм^2/сут. Окрашивание АО подтвердило неоднородность структуры сфероида и позволило выделить в нем периферическую и центральную зоны с различными интенсивностью и цветом флюоресценции.

2D- и 3D-модели MCF-7 показали разную чувствительность к противоопухолевым препаратам камптотецину и доксорубицину. Оба препарата широко применяются в химиотерапии опухолей. Однако механизм их действия на опухолевую клетку различен. Камптотецин — это природный алкалоид, являющийся ингибитором топоизомеразы, тогда как цитостатическое действие доксорубицина проявляется в образовании свободных радикалов и прямом взаимодействии с ДНК. В наших экспериментах камптотецин проявляет цитотоксическое действие как в случае 2D-модели (о чем свидетельствует снижение относительной жизнеспособности клеток), так и в случае 3D-модели, что подтверждается снижением адгезивных свойств сфероидов и их распадом на мелкие агрегаты клеток. Доксорубицин не продемонстрировал цитотоксического эффекта в случае 2D-модели, но в случае сфероидов также снижал адгезивные свойства и вызывал распад сфероидов на мелкие агрегаты клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенной работы можно сделать вывод о том, что 2D- и 3D-модели демонстрируют как однозначную чувствительность к противоопухолевым препаратам, так и противоположную. Различия в чувствительности 2D- и 3D-моделей могут объясняться как особенностями влияния на клетки и их взаимодействия в каждой из систем, так и зависимостью от механизма действия препарата. Различия лекарственной чувствительности у 2D- и 3D-моделей имеют определенные биофизические и биологические причины, учет которых при использовании культур клеток в качестве тест-систем повышает прогностическую ценность скрининга противоопухолевых препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Согомонян А. С., Шипунова В. О., Соловьев В. Д., Ларионов В. И., Котельникова П. А., Деев С. М.* 2022. Метод получения трехмерных клеточных сфероидов: универсальный инструмент для изучения цитотоксических свойств противоопухолевых соединений in vitro. Acta Naturae. Т. 14. № 1. С. 92. (*Sogomonyan A. S., Shipunova V. O., Soloviev V. D., Larionov V. I., Kotelnikova P. A., Deyev S. M.* 2022. 3D models of cellular spheroids as a universal tool for studying the cytotoxic properties of anticancer compounds in vitro. Acta Naturae. V. 14. P. 92.) https://doi.org/10 10.32607/actanaturae.11603
2. *Asghar W., El Assal R., Shafiee H., Pitteri S., Paulmurugan R., Demirci U.* 2015. Engineering cancer microenvironments for in vitro 3-D tumor models. Mater Today (Kidlington). V. 18. P. 539—553.

3. *Baker B. M., Chen C. S.* 2012. Deconstructing the third dimension – how 3D culture microenvironments alter cellular cues. J. Cell Sci. V. 125. P. 3015.
4. *Bloom H. J., Richardson W. W.* 1957. Histological grading and prognosis in breast cancer. Br. J. Cancer. V.11. P. 359.
5. *Brajša K., Trzun M., Zlatar I., Jelić D.* 2016. Three-dimensional cell cultures as a new tool in drug discovery. Period. Boil. V. 118. P. 59.
6. *Breslin S., O'Driscoll L.* 2013.Three-dimensional cell culture: the missing link in drug discovery. Drug Discov. V. 18. P. 240.
7. *Edmondson R., Broglie J. J., Adcock A. F., Yang L.* 2014. Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. Assay Drug. Dev. Technol. V. 12. P. 207.
8. *Chen G., Liu W., Yan B.* 2022. Breast cancer MCF-7 cell spheroid culture for drug discovery and development. J. Cancer Ther. V. 13. P. 117.
9. *Costa E. C., Moreira A. F., de Melo-Diogo D., Gaspar V. M., Carvalho M. P., Correia I. J.* 2016. 2016. 3D Tumor spheroids: an overview on the tools and techniques used for their analysis. Biotechnol. Adv. V. 34. P. 1427.
10. *Falkenberg N., Höfig I., Rosemann M., Szumielewski J., Richter S., Schorpp K., Hadian K., Aubele M., Atkinson M. J., Anastasov N.* 2016. Three-dimensional microtissues essentially contribute to preclinical validations of therapeutic targets in breast cancer. Cancer Med. V. 5. P. 703.
11. *Fong E. L., Harrington D. A., Farach-Carson M. C., Yu H.* 2016. Heralding a new paradigm in 3D tumor modeling. Biomaterials. V. 108. P. 197.
12. *Frankel A., Man S., Elliott P., Adams J., Kerbel R. S.* 2000. Lack of multicellular drug resistance observed in human ovarian and prostate carcinoma treated with the proteasome inhibitor PS-341. Clin. Cancer Res. V. 6. P. 3719.
13. *Friedrich J., Ebner R., Kunz-Schughart L. A.* 2007. Experimental anti-tumor therapy in 3-D: spheroids — old hat or new challenge?. Int. J. Radiat. Biol. V. 83. P. 849.
https://doi.org/10.1080/09553000701727531
14. *Froehlich K., Haeger J. D., Heger J., Pastuschek J., Photini S. M., Yan Y., Lupp A., Pfarrer C., Mrowka R., Schleußner E., Markert U. R., Schmidt A.* 2016. Generation of multicellular breast cancer tumor spheroids: comparison of different protocols. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia. V. 21. P. 89.
15. *Fujimori A., Gupta M., Hoki Y., Pommier Y.* 1996. Acquired camptothecin resistance of human breast cancer MCF-7/C4 cells with normal topoisomerase I and elevated DNA repair. Mol. Pharmacol. V. 50. P. 1472.
16. *Guan X., Huang S.* 2022. Advances in the application of 3D tumor models in precision oncology and drug screening. Front. Bioeng. Biotechnol. V. 10. Art. ID: 1021966.
https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1021966
17. *Habanjar O., Diab-Assaf M., Caldefie-Chezet F., Delort L.* 2021. 3D Cell culture systems: tumor application, advantages, and disadvantages. Int. J. Mol. Sci. V. 22. Art. ID: 12200.
https://doi.org/10.3390/ijms222212200
18. *Han J., Chang H., Giricz O., Lee G. Y., Baehner F. L., Gray J. W., Bissell M. J., Kenny P. A., Parvin B.* 2010. Molecular predictors of 3D morphogenesis by breast cancer cell lines in 3D culture. PLoS Comput. Biol. V. 6. Art. ID: e1000684.
19. *Hirschhaeuser F., Menne H., Dittfeld C., West J., Mueller-Klieser W., Kunz-Schughart L. A.* 2010. Multicellular tumor spheroids: an underestimated tool is catching up again. J. Biotechnol. V. 148. P. 3.
https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.01.012
20. *Hong S., Song J.* M. 2022. 3D bioprinted drug-resistant breast cancer spheroids for quantitative in situ evaluation of drug resistance. Acta Biomater. V.138. P. 228.
https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.10.031
21. *Imamura Y., Mukohara T., Shimono Y., Funakoshi Y., Chayahara N., Toyoda M., Kiyota N., Takao S., Kono S., Nakatsura T., Minami H.* 2015. Comparison of 2D- and 3D-culture models as drug-testing platforms in breast cancer. Oncol. Rep. V. 33. P. 1837.
22. *Karlsson H., Fryknäs M., Larsson R., Nygren P.* 2012. Loss of cancer drug activity in colon cancer HCT-116 cells during spheroid formation in a new 3-D spheroid cell culture system. Exper. Cell Res. V. 318. P. 1577.
23. *Kim J. B., Stein R., O'Hare M. J.* 2004. Three-dimensional in vitro tissue culture models of breast cancer a review. Breast Cancer Res. Treat. V. 85. P. 281.
24. *Lan S., Ma L., Tang C.* 2025. A clinically translatable 2.5D lung adenocarcinoma organoid platform derived from malignant pleural effusions for precision drug screening and tumor-immune-stromal modeling. Biomed. Pharmacother. V. 193. Art. ID: 118712.

25. *Le B. A. M., Nguyen L. B. L., Lam D. T. P., Lam C. T., Nguyen N. T., Nguyen V. T., Bui H. T.* 2024. Agarose-based 3D culture improved the developmental competence of oocyte-granulosa complex isolated from porcine preantral follicle. Theriogenology. V. 223. P. 11.
https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2024.04.010

26. *Liu C., Liu Y., Xu X., Wu H., Xie H., Chen L., Lu T., Yang L., Guo X., Sun G.* 2015. Potential Effect of Matrix Stiffness on the Enrichment of Tumor Initiating Cells under Three-Dimensional Culture Conditions. Exp. Cell Res. V. 330. P. 123—134.

27. *Liu Y., Johnson J., Zhang H., Huang P., Li L.* 2025. Direct transfer of multicellular tumor spheroids grown in agarose microarrays for high-throughput mass spectrometry imaging analysis. Anal Bioanal Chem. V. 417. P. 3021.
https://doi.org/10.1007/s00216-025-05843-x

28. *Loessner D., Stok K. S., Lutolf M. P., Hutmacher D. W., Clements J. A., Rizzi S. C.* 2010. Bioengineered 3D platform to explore cell–ECM interactions and drug resistance of epithelial ovarian cancer cells. Biomaterials. V. 31. Art. ID: 8494.
https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.07.064

29. *Lovitt C. J., Shelper T. B., Avery V. M.* 2015. Evaluation of chemotherapeutics in a three-dimensional breast cancer model. J. Cancer Res. Clin. Oncol. V. 141. P. 951.
https://doi.org/10.1007/s00432-015-1950-1

30. *Martin K. J., Patrick D. R., Bissel M. J., Fournier M. V.* 2008. Prognostic breast cancer signature identified from 3D culture model accurately predicts clinical outcome across independent datasets. PloS one. V. 3. Art. ID: e2994.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002994

31. *Minchinton A., Tannock I.* 2006. Drug penetration in solid tumours. Nat. Rev. Cancer. V. 6. P. 583.
https://doi.org/10.1038/nrc1893

32. *Moreno Valtierra M., Urue Corral A., Jiménez-Avalos J.A.* 2024. Patterned PVA hydrogels with 3D Petri dish® micro-molds of varying topography for spheroid formation of HeLa cancer cells: *in vitro* assessment. Gels. V. 10. P. 518.
https://doi.org/10.3390/gels10080518

33. *Nayak P., Bentivoglio V., Varani M., Signore A.* 2023. Three-dimensional in vitro tumor spheroid models for evaluation of anticancer therapy: recent updates. Cancers (Basel). V. 15. Art. ID: 4846.
https://doi.org/10.3390/cancers15194846

34. *Pawlik T. M., Souba W. W., Sweeney T. J., Bode B. P.* 2000. Amino acid uptake and regulation in multicellular hepatoma spheroids. J. Surg. Res. V. 91. P. 15.

35. *Pinto B., Henriques A. C., Silva P., Bousbaa H.* 2020. Three-dimensional spheroids as *in vitro* preclinical models for cancer research. Pharmaceutics. V. 12. Art. ID: 1186.
https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12121186

36. *Russo M., Cejas C. M., Pitingolo G.* 2022. Advances in microfluidic 3D cell culture for preclinical drug development. Progress Mol. Biol. Translat. Sci. V. 187. P. 163.
https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2021.07.022

37. *Pulze L., Congiu T., Brevini T., Grimaldi A., Tettamanti G., D'Antona P., Baranzini N., Acquati F., Ferraro F., Eguileor M.* 2020. MCF7 Spheroid development: new insight about spatio/temporal arrangements of TNTs, amyloid fibrils, cell connections, and cellular bridges. Int. J. Mol. Sci. V. 21. Art. ID: 155400.
https://doi.org/10.3390/ijms21155400

38. *Salinas-Vera Y. M., Valdés J., Pérez-Navarro Y., Mandujano-Lazaro G., Marchat L. A., Ramos-Payán R., Nuñez-Olvera S. I., Pérez-Plascencia C., López-Camarillo C.* 2022. Three-dimensional 3D culture models in gynecological and breast cancer research. Frontiers in oncology. V.12. Art. ID: 826113.
https://doi.org/10.3389/fonc.2022.826113

39. *Sia D., Moeini A., Labgaa I., Villanueva A.* 2015. The future of patient-derived tumor xenografts in cancer treatment. Pharmacogenomics. V. 16. P 1671.
https://doi.org/10.2217/pgs.15.102

40. *Sharma N. K., Kumar A., Kumari A., Tokar E. J., Waalkes M. P., Bortner C. D., Williams J., Ehrenshaft M., Mason R. P., Sinha B. K.* 2015. Nitric oxide down-regulates topoisomerase i and induces camptothecin resistance in human breast MCF-7 tumor cells. PloS one. V. 10. Art. ID: 0141897
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141897

41. *Shu Y., Li B., Ma H.* 2024. Three-dimensional breast cancer tumor models based on natural hydrogels: a review. J. Zhejiang Univ. Sci. B. V. 25. P. 736.
https://doi.org/10.1631/jzus.b2300840

42. *Shukla P., Bera A. K., Yeleswarapu S., Pati F.* 2024. High throughput bioprinting using decellularized adipose tissue-based hydrogels for 3D breast cancer modeling. Macromol. Biosci. V. 24. Art. ID: 00035. https://doi.org/10.1002/mabi.202400035

43. *Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A.* 2021. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J. Clin. V. 71. P. 209.

44. *Tung Y. C., Hsiao A. Y., Allen S. G., Torisawa Y. S., Ho M., Takayama S.* 2011. High-throughput 3D spheroid culture and drug testing using a 384-hanging drop array. Analyst. V. 136. P. 473.

45. *Urzì O., Gasparro R., Costanzo E., De Luca A., Giavaresi G., Fontana S., Alessandro R.* 2023. Three-dimensional cell cultures: the bridge between in vitro and in vivo models. J. Mol. Sci. V. 24. Art. ID: 12046. https://doi.org/10.3390/ijms241512046

46. *Zanoni M., Piccinini F., Arienti C., Zamagni A., Santi S.., Polico R., Bevilacqua A., Tesei A.* 2016. 3D tumor spheroid models for in vitro therapeutic screening: a systematic approach to enhance the biological relevance of data obtained. Sci. Rep. V. 6. P. 19103.

47. *Zhang C. R., Qiu X. Q., Dai Y.* 2023. The prospects for bioprinting tumor models: recent advances in their applications. Bio-Des Manuf. V. 6. P. 661.

48. *Zhang Y., Ji Y., Liu S., Li J., Wu J., Jin Q., Liu X., Duan H., Feng Z., Liu Y., Zhang Y., Lyu Z., Song F., Song F., Yang L., Liu H., Huang Y.* 2025. Global burden of female breast cancer: new estimates in 2022, temporal trend and future projections up to 2050 based on the latest release from GLOBOCAN. J. Natl. Cancer Cent. V. 5. P. 287.

49. *Zhu J., Zheng S., Liu H., Wang Y., Jiao Z., Nie Y., Wang H., Liu T., Song K.* 2021. Evaluation of anti-tumor effects of crocin on a novel 3D tissue-engineered tumor model based on sodium alginate/gelatin microbead. Int. J. Biol. Macromol. V. 174. P. 339. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.181