

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-85

РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ «КОЖА-НА-ЧИПЕ» С БАКТЕРИАЛЬНЫМ КОНСОРЦИУМОМ НА ОСНОВЕ СФЕРОИДОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ КЕРАТИНОЦИТОВ И ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА *

DEVELOPMENT OF SKIN-ON-A-CHIP MODEL WITH A BACTERIAL CONSORTIUM BASED ON SPHEROIDS DERIVED FROM HUMAN KERATINOCYTES AND FIBROBLASTS

А. В. Кардош¹, П. Ю. Бикмулина¹, Д. О. Голубчиков^{1,2}, С. В. Цибульников¹, А. И. Шпичка¹, П. С. Тимашев¹

¹Институт регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины Сеченовского университета, Москва

²Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

A. V. Kardosh¹, P. Yu. Bikmulina¹, D. O. Golubchikov^{1,2}, S. V. Tsibulnikov¹, A. I. Shpichka¹, P. S. Timashev¹

¹Institute for Regenerative Medicine, Biomedical Science & Technology Park, Sechenov University, Moscow

²Lomonosov Moscow State University

✉ ankardosh@gmail.com

Аннотация

Разработана релевантная модель кожи на основе микрофлюидного чипа с включением бактериального консорциума. В качестве стартового клеточного компонента использовали сфериоиды из кератиноцитов и фибробластов. Было показано поддержание жизнеспособности клеток в данной системе, а тест на проницаемость и оценка антибактериальной способности гентамицина позволили подтвердить пригодность модели для тестирования лекарств.

Abstract

A relevant skin model was developed based on a microfluidic chip with the inclusion of a bacterial consortium. Spheroids derived from keratinocytes and fibroblasts were used as the starting cellular component. The system was proved to maintain cell viability, and permeability test along with assessment of gentamicin's antibacterial activity confirmed the model's suitability for drug testing.

Заболевания кожи являются одними из самых распространенных в мире: ими страдает примерно треть населения Земли [1]. В связи с этим создание новых лекарственных средств для применения в дерматологии остается актуальной задачей. Трехмерные модели кожи человека *in vitro* все чаще используют в исследованиях, связанных с разработкой и тестированием препаратов для лечения патологий кожи, а отсутствие этических вопросов, высокая воспроизводимость, возможность масштабирования и относительная простота манипулирования сделали их успешной альтернативой животным моделям [2]. Использование микрофлюидных технологий при создании эквивалентов кожи привело к появлению систем «кожа-на-чипе», представляющих собой новый уровень моделей *in vitro*. Такие модели учитывают не только структурные особенности органа, но и воспроизводят его динамическое микроокружение с помощью тока жидкости по микроканалам, что делает возможным перемещение питательных веществ, метаболитов и газов в системе. Благодаря указанным преимуществам «органы-на-чипе» считаются более физиологически релевантными моделями по сравнению со статичными органотипическими культурами [3]. Однако, несмотря на постоянное усложнение архитектуры и клеточного состава систем «кожа-на-чипе», большинство из них не включает микробиом, присутствие которого необходимо для нормального функционирования нативной кожи. Таким образом, целью данного исследования стала разработка комплексной модели кожи на основе микрофлюидного чипа с добавлением бактериального консорциума.

Сфериоиды — шарообразные трехмерные клеточные культуры, которые поддерживают физиологические функции клеток *in vitro*, включая секрецию сигнальных белков, продукцию внеклеточного матрикса и дифференцировку [4]. Поэтому клеточной основой для эквивалента кожи послужили сфериоиды, сформированные из кератиноцитов и фибробластов человека двумя разными способами — смешением двух типов клеток и наслоением кератиноцитов на ядро из фибробластов. Бактериальный консорциум состоял из патогенного штамма *Staphylococcus aureus* и комменсального *Staphylococcus epidermidis*. Предварительное сокультивирование консор-

* Исследование выполнено при поддержке РНФ-БРФИ «Микрогелевая система доставки терапевтических средств с управляемым высвобождением для лечения ожоговых поражений кожи» (проект № 24-45-10012).

© А. В. Кардош, П. Ю. Бикмулина, Д. О. Голубчиков, С. В. Цибульников, А. И. Шпичка, П. С. Тимашев, 2025

циума со сфериодами показало, что эукариотические клетки поддерживают высокий уровень жизнеспособности, сравнимый с контролем, а метаболическая активность клеток возрастает в сокультуре.

Для формирования модели кожи сфериоды высаживали на мембрану из реконструированного коллагена; в течение 4 дней клетки, мигрируя из состава сфериодов, заселяли ее поверхность. Впоследствии эквивалент кожи переносили в мембранный вставку, встроенную в центральную камеру микрофлюидного чипа из полидиметилсилоксана (PDMS), а в питательную среду засевали бактериальный консорциум. По прошествии 4 дней сокультивирования оценивали жизнеспособность с помощью окрашивания живых/мертвых клеток и лактатдегидрогеназного (ЛДГ) теста, морфологию поверхности эквивалента методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), проводили тест на проницаемость с использованием родамина Б и флуоресцеин-5-изотиоцианата (FITC). Кроме того, на примере гентамицина проверяли применимость модели для тестирования антибактериальных препаратов.

Полученные результаты показали, что клетки из сфериодов эффективно заселяют мембрану и остаются достаточно жизнеспособными после сокультивирования с бактериями в микрофлюидной системе. СЭМ выявила адгезию бактерий к поверхности клеток кожи, что свидетельствует о тесном взаимодействии эукариотической и прокариотической составляющих. Тест на проницаемость и оценка антибактериальной активности гентамицина подтвердили пригодность разработанной модели «кожа-на-чипе» для тестирования лекарственных средств.

Литература

1. Flohr C., Hay R. Putting the burden of skin diseases on the global map // British Journal of Dermatology. 2021. Vol. 184 (2). P. 189–190.
2. Imran M., Moyle P. M., Kamato D., Mohammed Y. Advances in, and prospects of, 3D preclinical models for skin drug discovery // Drug Discovery Today. 2024. Vol. 29 (12). P. 104208.
3. Ismayilzada N., Tarar C., Dabbagh S. R. et al. Skin-on-a-chip technologies towards clinical translation and commercialization // Biofabrication. 2024. Vol. 16 (4).
4. Białkowska K., Komorowski P., Bryszewska M., Miłowska K. Spheroids as a Type of Three-Dimensional Cell Cultures-Examples of Methods of Preparation and the Most Important Application // International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21 (17). P. 6225.