Профилактическая медицина
2024, т. 27, №4, с. 103-108
https://doi.org/10.17116/profmed202427041103

Russian Journal of Preventive Medicine
2024, vol. 27, no 4, pp. 103-108
https://doi.org/10.17116/profmed202427041103

Достижения и перспективы в области 3D-моделирования меланомы кожи

© С.В. ТИМОФЕЕВА, Т.В. ЧЕМБАРОВА, С.Ю. ФИЛИППОВА, А.О. СИТКОВСКАЯ, И.А. НОВИКОВА, В.В. ПОЗДНЯКОВА, О.В. ХОХЛОВА, Ю.В. ПРЖЕДЕЦКИЙ, Н.А. ЗАХАРОВА, О.Г. ИШОНИНА, Е.В. ШАЛАШНАЯ, О.И. КИТ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

РЕЗЮМЕ

Меланома — злокачественное новообразование, возникающее из меланоцитов кожи, с высокой склонностью к метастазированию. По данным Всемирной организации здравоохранения, за последнее десятилетие заболеваемость меланомой кожи постепенно увеличилась в 7 раз. Так, в 2022 г. во всем мире зафиксировано 130 тыс. случаев заболевания. Известно о большом количестве клинических и эпидемиологических переменных, влияющих на заболеваемость и смертность от меланомы кожи, таких как пол, этническая принадлежность, воздействие ультрафиолетового излучения, анатомическая локализация новообразования и возраст. Уровень выживаемости пациентов с меланомой кожи стал выше в последние годы благодаря достижениям в области таргетной и иммунотерапии, вместе с тем более глубокое понимание биологии меланомы и прогрессирования этого заболевания имеет большое значение для улучшения результатов ее лечения. Разработка трехмерных моделей меланомы кожи, эквивалентных опухоли человека, представляет собой многообещающий метод изучения ее патогенеза, а также потенциальную платформу для скрининга новых терапевтических агентов и разработки персонализированного лечения меланомы кожи.

Ключевые слова: *меланома кожи, 3D-модели, сфероиды, 3D-биопринтинг.*

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:
Тимофеева С.В. — https://orcid.org/0000-0002-5945-5961
Чембарова Т.В. — https://orcid.org/0000-0002-4555-8556
Филиппова С.Ю. — https://orcid.org/0000-0002-4558-5896
Ситковская А.О. — https://orcid.org/0000-0002-6035-1756
Новикова И.А. — https://orcid.org/0000-0002-6496-9641
Позднякова В.В. — https://orcid.org/0000-0002-3782-6899
Хохлова О.В. — https://orcid.org/0000-0001-7413-8393
Пржедецкий Ю.В. — https://orcid.org/0000-0003-3976-0210
Захарова Н.А. — https://orcid.org/0000-0001-7089-5020
Ишонина О.Г. — e-mail: patentrnioi@mail.ru
Шалашная Е.В. — e-mail: eshalashnaya@mail.ru
Кит О.И. — https://orcid.org/0000-0003-3061-6108
Автор, ответственный за переписку: Тимофеева С.В. — e-mail: timofeeva.sophia@gmail.com

КАК ЦИТИРОВАТЬ:
Тимофеева С.В., Чембарова Т.В., Филиппова С.Ю., Ситковская А.О., Новикова И.А., Позднякова В.В., Хохлова О.В., Пржедецкий Ю.В., Захарова Н.А., Ишонина О.Г., Шалашная Е.В., Кит О.И. Достижения и перспективы в области 3D-моделирования меланомы кожи. *Профилактическая медицина.* 2024;27(4):103–108.
https://doi.org/10.17116/profmed202427041103

Achievements and prospects in skin melanoma 3D modeling

© S.V. TIMOFEEVA, T.V. CHEMBAROVA, S.YU. FILIPPOVA, A.O. SITKOVSKAYA, I.A. NOVIKOVA, V.V. POZDNYAKOVA, O.V. KHOKHLOVA, YU.V. PRZHEDETSKY, N.A. ZAKHAROVA, O.G. ISHONINA, E.V. SHALASHNAYA, O.I. KIT

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

ABSTRACT

Melanoma is a malignant neoplasm originating from skin melanocytes and highly prone to metastasis. The World Health Organization reports a 7-time growth in skin melanoma incidence over the past decade. In 2022, 130,000 cases of skin melanoma were registered in the world. Many clinical and epidemiological variables, such as gender, ethnicity, UV exposure, neoplasm localization, and age, have a known impact on skin melanoma incidence and mortality. Survival of skin melanoma has increased in recent years through the achievements in target and immune therapy. A deeper understanding of melanoma biology and progression is of great importance for improving treatment outcomes. Human tumor-equivalent 3D models of skin melanoma are a promising method to study its pathogenesis. They provide a potential platform to screen new therapeutic agents and develop personalized treatments for skin melanoma.

Keywords: *skin melanoma, 3D models, spheroids, 3D bioprinting.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Timofeeva S.V. — https://orcid.org/0000-0002-5945-5961
Chembarova T.V. — https://orcid.org/0000-0002-4555-8556
Filippova S.Yu. — https://orcid.org/0000-0002-4558-5896
Sitkovskaya A.O. — https://orcid.org/0000-0002-6035-1756
Novikova I.A. — https://orcid.org/0000-0002-6496-9641
Pozdnyakova V.V. — https://orcid.org/0000-0002-3782-6899
Khokhlova O.V. — https://orcid.org/0000-0001-7413-8393
Przhedetsky Yu.V. — https://orcid.org/0000-0003-3976-0210
Zakharova N.A. — https://orcid.org/0000-0001-7089-5020
Ishonina O.G. — e-mail: patentrnioi@mail.ru
Shalashnaya E.V. — e-mail: eshalashnaya@mail.ru
Kit O.I. — https://orcid.org/0000-0003-3061-6108
Corresponding author: Timofeeva S.V. — e-mail: timofeeva.sophia@gmail.com

TO CITE THIS ARTICLE:
Timofeeva SV, Chembarova TV, Filippova SYu, Sitkovskaya AO, Novikova IA, Pozdnyakova VV, Khokhlova OV, Przhedetsky YuV, Zakharova NA, Ishonina OG, Shalashnaya EV, Kit OI. Achievements and prospects in skin melanoma 3D modeling. *Russian Journal of Preventive Medicine*. 2024;27(4):103–108. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/profmed202427041103

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения, меланома составляет <5% всех случаев рака кожи, но представляет собой наиболее агрессивный подтип, на который приходится примерно 80% смертей, связанных с новообразованиями кожи [1]. В 2021 г., по данным анализа заболеваемости населения России злокачественными новообразованиями и смертности от них, заболеваемость меланомой кожи среди всех выявленных онкологических заболеваний у женщин составила 2%. С 2011 по 2021 г. в России прирост заболевших лиц обоих полов составил 31,62%.

Средний возраст умерших от меланомы кожи за последние 10 лет увеличился с 62,8 до 67,7 года [2].

Меланома возникает в результате злокачественной трансформации меланоцитов, которые представляют собой клетки эпидермиса, содержащие меланин. Эти клетки необходимы для защиты митотически активных кератиноцитов от повреждений, вызываемых ультрафиолетовым (УФ) излучением. Факторами риска развития меланомы помимо воздействия УФ-излучения могут быть наследственные и соматические мутации, однако генетическая предрасположенность является причиной лишь небольшого числа случаев [3].

Меланома — это гетерогенное заболевание со сложной этиологией и патогенезом. Клетки меланомы имеют высокую мутационную нагрузку из-за вызванного ультрафиолетом повреждения ДНК и ошибок репликации ДНК. Следует отметить, что ключевые мутации, инициирующие онкогенез, в генах *NRAS* (NRAS proto-oncogene, GTPase), *BRAF* (B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase) и *NF1* (neurofibromin-1) не связаны с УФ-повреждением, и их триггер неизвестен [4, 5].

Меланомы кожи могут быть классифицированы в две крупные группы по происхождению: вследствие хронического повреждения кожи солнцем (cumulative solar damage, CSD) или периодического воздействия солнца (non-cumulative solar damage, non-CSD). Меланомы CSD, как правило, возникают у пожилых пациентов с наличием в анамнезе других различных видов рака кожи и с высоким кумулятивным воздействием УФ-излучения в течение жизни. Напротив, меланомы non-CSD возникают у людей в возрасте младше 55 лет, чаще у очень светлокожих людей с полиморфными вариантами гена рецептора меланокортина первого типа (*MC1R*). *MC1R* локализован на хромосоме 16q24.3 и кодирует трасмембранный белок, который участвует в формировании пигментации кожи [6]. Меланомы non-CSD обычно ассоциированы с мутацией *BRAF* V600E и демонстрируют сравнительно более низкую мутационную нагрузку [7]. Прогрессирование меланоцитарной неоплазии от нормальных меланоцитов до метастатической меланомы представляет собой многоэтапный процесс, включающий геномные изменения [8].

Для ранней диагностики меланомы необходимо учитывать генетические и клеточные структурные модификации, такие как аномалии коллагеноподобных последовательностей или структурных белков, наследственные онкогенные мутации, УФ-индуцированные мутации ДНК, молекулярные сигнальные пути.

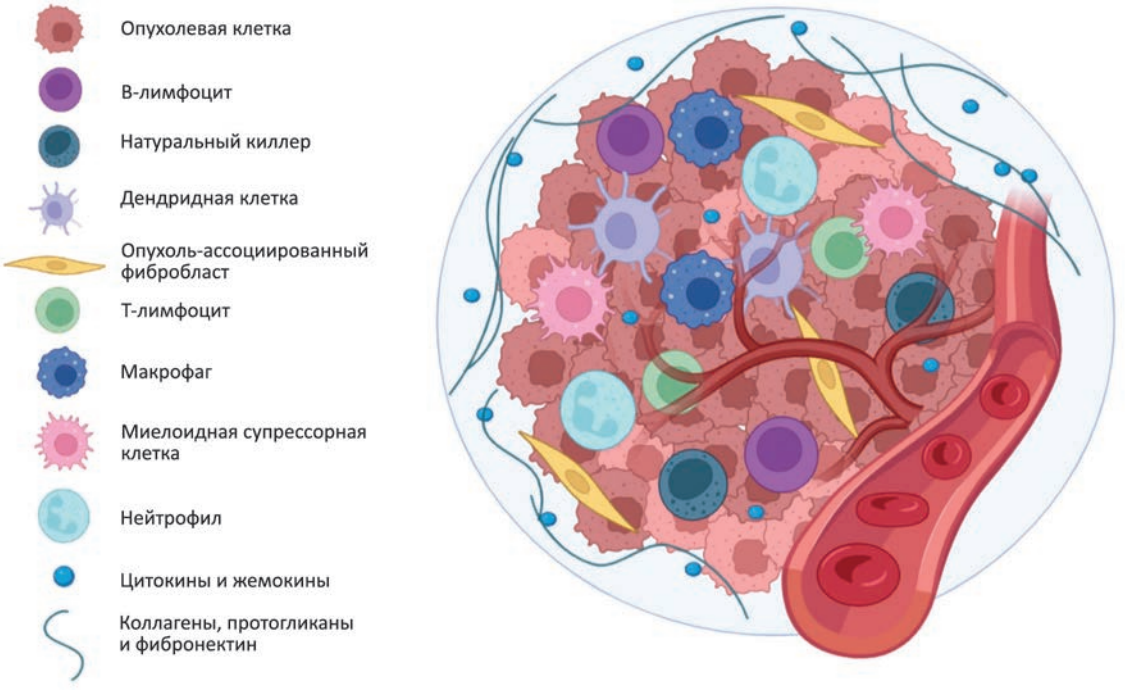
Монослойные культуры клеток меланомы

Культивирование клеток меланомы человека *in vitro* включает их выделение из послеоперационного материала и выращивание в виде монослоя. Скрининг веществ, потенциально обладающих цитотоксичностью в отношении клеток меланомы, в большинстве исследований выполняется с использованием монослойных культур [9]. Эти методики просты в применении и сыграли важную роль в продвижении понимания биологии опухолей, однако в двумерных культурах опухолевые клетки организуются в монослой, тогда как приближенной к условиям *in vivo* является трехмерная модель, с помощью которой можно проследить динамику опухолевого роста [10]. Двумерные культуры не отражают многие комплексные свойства микроокружения меланомы *in vivo* **(см. рисунок на цв. кклейке)**.

В частности, культуры клеток не могут воспроизводить взаимодействия клеток меланомы с внеклеточным матриксом (extracellular matrix, ECM) и межклеточные коммуникации, необходимые для регулирования пролиферации, адгезии и протеолитического расщепления микроокружения, ответственного за метастазирование опухоли. Состав и трехмерная структура ECM подвергаются непрерывному ремоделированию во время прогрессирования опухоли [11]. По данным литературы, клетки, культивируемые

К статье *С.В. Тимофеевой и соавт.* «Достижения и перспективы в области 3D-моделирования меланомы кожи»

To the article by *S.V. Timofeeva et al.* «Achievements and prospects in skin melanoma 3D modeling»



Микроокружение опухоли (схематическое изображение).
Опухолевая экосистема состоит из гетерогенной популяции, образованной опухолевыми клетками, опухоль-ассоциированными фибробластами, супрессорными клетками миелоидного происхождения и иммунными клетками. Взаимодействие между этими компонентами играет важную роль в росте, прогрессии и метастазировании опухоли.

Tumor microenvironment (a scheme).
The tumor microenvironment is comprised of a heterogeneous population formed by tumor cells, tumor-associated fibroblasts, myeloid suppressor cells, and immune cells. Interaction between these components plays an important role in tumor growth, progression, and metastasis.

в 3D-моделях, более устойчивы к противоопухолевым препаратам, чем 2D-культуры [12]. По этим причинам разработка трехмерных моделей меланомы обладает потенциалом в преодолении разрыва между двумерными культурами и меланомой *in vivo*.

Последние разработки в области 3D-моделирования меланомы человека

Условно можно выделить два подхода к созданию опухолевых 3D-моделей: создание сфероидов и 3D-биопринтинг.

Сфероиды из клеток меланомы

Клеточные сфероиды представляют собой трехмерные структуры, которые образуются в результате самосборки путем межклеточной адгезии [13].

За последние 10 лет разработано большое количество 3D-моделей меланомы в виде сфероидов. Самая первая трехмерная модель сфероида опухоли создана в начале 70-х годов XX века [14, 15], а один из первых трехмерных сфероидов непосредственно меланомы описан в 1973 г. J. Folkman и M. Hochberg [16]. Первая трехмерная модель меланомы основана на клеточной линии меланомы B16 у мышей. В 1981 г. разработана модель кожи *in vitro* с использованием фибробластов крыс. Фибробласты культивировали с коллагеном и эндотелиальными клетками. Сфероиды меланомы, полученные непосредственно из опухолевого материала человека, описаны в 1984 г. [17]. Наконец, в 2000 г. несколько исследовательских групп разработали различные подходы к созданию гуманизированных трехмерных полноформатных моделей меланомы [13]. В то время как большинство из них использовали де-эпидермальную дерму человека (de-epidermized derma, DED) в качестве дермального слоя, на который сверху высевались клетки меланомы, кератиноциты и/или фибробласты [18, 13] другие исследователи разработали первую полностью клеточную трехмерную модель меланомы человека с использованием фибробластов и коллагена для формирования дермальной основы с добавлением сверху клеток меланомы и кератиноцитов [19]. Одна из первых полностью клеточных трехмерных полноформатных моделей меланомы человека с интегрированными эндотелиальными клетками и без DED в качестве дермальной основы разработана в 2013 г. [20]. В 2013 г. H. Vörsmann и соавт. создали трехмерную модель меланомы человека, основанную на интегрированных сфероидах, а не на отдельных клетках меланомы [21]. В 2018 г. опубликована клеточная трехмерная органотипическая сфероидная модель меланомы человека. Модель включала определенное количество зрелых и дифференцированных сфероидов меланомы, интегрированных в трехмерную конструкцию, состоящую из первичных ювенильных кератиноцитов и фибробластов и приближенную по архитектуре к настоящей коже человека. Клеточный состав и статус дифференцировки интегрированных сфероидов меланомы сходны с метастазами меланомы кожи *in vivo* [15].

3D-биопринтинг моделей меланомы

3D-биопринтинг позволяет моделировать живые ткани, которые включают в себя различные типы клеток, в сложной и заданной исследователем пространственной архитектуре. Преимущество таких моделей заключается в том, что организация ткани может быть полностью спроектирована заранее, а материал, являющийся основой модели, может быть химически или механически отвержден для получения желаемой механической устойчивости ткани [22, 23].

В 2017 г. разработана 3D-модель эквивалента меланомы кожи (melanoma skin equivalent, MSE) человека для изучения миграции, пролиферации и инвазии клеток двуклеточных линий меланомы человека (WM35 и SK-MEL-28) [24].

3D-модель MSE напечатана с использованием клеток DED человека, указанных выше клеточных линий меланомы, меченых флюорофорами (Mel Im GFP и MV3dc) в комбинации с Matrigel и двумя различными типами коммерчески доступных биочернил. В работе использовался биопринтер Cellink (Cellink, Швеция), в основе работы которого лежит принцип пневматической экструзии. Перед печатью суспензии клеток смешаны в соотношении 1:11 с разными гидрогелями (чернилами) (Cellink Bioink, Cellink RGD, GelXA или GelXA Laminink+) производства Cellink (Швеция) до конечной концентрации 10^5 клеток/мл и раскапаны в картриджи (Cellink, Швеция). Для печати с Matrigel клетки смешивали в соотношении 1:11 до конечной концентрации 10^5 клеток/мл и переносили в картридж. После полимеризации чернил все конструкции покрывали соответствующей культуральной средой и инкубировали при 37 °C во влажной среде с 8% содержанием CO_2 в течение 14 дней. В результате продемонстрирована пригодность всех протестированных биочернил для биопечати с клетками меланомы. Клетки в напечатанных моделях оставались жизнеспособными в течение 14 дней культивирования. Исследуемые линии клеток меланомы при культивировании продемонстрировали некоторые отличия в зависимости от биочернил, использованных для печати. В Matrigel клетки были способны распространяться, пролиферировать и образовывать плотные сети по всей конструкции, а в биочернилах на основе альгината клетки не пролиферировали. В биочернилах на основе метакрилата желатина клетки пролиферировали кластерами [24].

Несмотря на существование сфероидных и биопечатных моделей меланомы кожи, остается нерешенной проблема разработки модели, способной более полно воспроизводить различные особенности патогенеза, микроокружения, процессов прогрессирования и метастазирования опухоли, архитектуры и клеточного состава кожи. Поэтому актуальной задачей остается разработка полноформатных моделей меланомы, которые смогут наиболее приближенно к условиям *in vivo* имитировать описанные выше существенные особенности заболевания [25].

Полноформатные 3D-модели кожи

За последнее десятилетие значительно возрос интерес к использованию биопринтинга для изготовления искусственной кожи. Такие разработки имеют потенциал для моделирования меланомы. В идеале модель кожи с меланомой должна включать эпидермальный, дермальный и гиподермальный слои, придатки кожи (например, волосяные фолликулы и потовые железы), пигментацию (меланоциты) и функционирующую сосудистую сеть. По мере развития технологий биопринтинга и дизайна биочернил стало возможным создание многослойных моделей кожи [26—31].

Биопринтинг придатков кожи, таких как волосяные фолликулы и потовые железы, является важным направлением в разработке биомиметических моделей кожи в связи

с их ролью в терморегуляции, поддержании гомеостаза и способствовании заживлении ран. H.E. Abaci и соавт. в 2018 г. разработали модель волосяного фолликула с помощью 3D-биопринтинга [32]. Результаты *in vitro* продемонстрировали дифференцировку кератиноцитов в специфические ростки волос, а длительное культивирование показало выпячивание волосяных фолликулов за пределы конструкции.

Пигментация кожи является одним из основных аспектов разработки жизнеспособной модели меланомы. Поэтому исследования в области биопечати с использованием меланоцитов и оценке производства ими меланина имеют решающее значение. Например, в 2018 г. W.L. Ng и соавт. изготовили трехмерные пигментированные модели кожи человека с использованием 3D-биопринтинга. Конструкции созданы с использованием трех различных типов клеток кожи (кератиноцитов, меланоцитов и фибробластов от трех разных доноров кожи), и они продемонстрировали такую же пигментацию (бледную пигментацию), что и доноры кожи [33]. D. Min и соавт. напечатали полнослойную модель кожи с пигментацией. Гистологический анализ модели показал наличие дермального и эпидермального слоев, а также конечную дифференциацию кератиноцитов, которые сформировали роговой слой. Кроме того, отмечена пигментация в виде веснушек на дермо-эпидермальном переходе, возникшая без использования УФ-излучения или химических раздражителей [34].

Не менее важна васкуляризация моделей кожи, так как долгосрочная жизнеспособность биопечатной конструкции зависит от создания функциональной сосудистой сети [35—37]. При прогрессировании меланомы ключевую роль в росте опухоли и метастазировании играет сосудистая сеть, поэтому васкуляризированные дермальные и гиподермальные компоненты в модели меланомы кожи обеспечат среду, более приближенную к таковой *in vivo*. Есть разработки, представляющие собой искусственные аналоги здоровой кожи.

M. Yanez и соавт. в 2015 году использовали струйную биопечать для изготовления двухслойного кожного трансплантата с эндотелиальными клетками человеческих микрососудов, встроенными между коллагеновым дермальным и эпидермальным слоями, содержащими фибробласты и кератиноциты соответственно. Гистологический анализ показал, что полученный трансплантат кожи имеет сходный вид с естественной кожей, а толщина дермы и эпидермиса приближалась к таковой в нормальной коже [38].

B.S. Kim и соавт. разработали платформу для биопринтинга полнослойной васкуляризированной модели кожи. Напечатная конструкция состояла из нескольких видов биочернил, перфузируемых сосудистых каналов и васкуляризированных дермальных и гиподермальных слоев [27]. Все это обеспечивает сложную микросреду, которую потенциально можно расширить, включая в нее придатки кожи. Такая платформа может быть использована в качестве основы для моделирования меланомы.

Перспективы

Злокачественная меланома является основной причиной смерти от рака кожи. Для борьбы с этим агрессивным заболеванием важно понимать, какие генетические факторы и триггеры лежат в основе возникновения и прогрессирования меланомы, а также динамику микроокружения опухоли. Несмотря на то что существующие 2D-модели предоставили основную информацию о прогрессировании злокачественных процессов, они не полностью пригодны для изучения рака, поскольку не воспроизводят условия *in vivo*.

Для преодоления барьера между монослойной культурой опухолевых клеток и опухолью *in vivo* используются 3D-модели, которые точнее, чем 2D-культуры, воссоздают микросреду нативной ткани, а также взаимодействия между клетками и внеклеточным матриксом.

Несмотря на то что удалось достичь значительного прогресса в разработке 3D-моделей меланомы, все еще существует пробел в создании моделей, полноценно имитирующих настоящую кожу, что также является важным аспектом в изучении меланомы. Такие модели необходимы, поскольку кожа представляет собой сложную ткань, которая имеет различия в зависимости от расы (пигментация, влияющая на количество поглощаемого УФ-излучения), расположения на разных частях тела (количество волосяных фолликулов, потовые железы и толщина), а также возраста (эластичность и деградация внеклеточного матрикса).

Биопринтинг трехмерных моделей меланомы с использованием клеток, полученных от пациентов, может предоставить платформу для разработки персонализированного лечения.

Кроме того, достижения в области биопринтинга открывают возможности разработки моделей редких подтипов меланомы, таких как увеальная и меланома слизистых оболочек. В настоящее время стремительно развивается область биопринтинга роговицы, и будущие исследования могут включать увеальный тракт [39]. Прогресс в биопечати эквивалентов кожи человека также может быть полезен в изучении немеланомных видов рака кожи, таких как карцинома из клеток Меркеля, базальноклеточная карцинома, плоскоклеточная карцинома и карцинома сальных желез.

Заключение

Рост заболеваемости и высокая смертность от меланомы кожи свидетельствуют о том, что более глубокое изучение этого заболевания и поиск новых терапевтических средств являются необходимостью.

Одним из наиболее прогрессивных методов изучения злокачественных процессов в целом и меланомы в том числе является их трехмерное моделирование, позволяющее *in vitro* воссоздать условия, приближенные к таковым *in vivo*. Что касается меланомы, на настоящий момент уже существуют 3D-модели как на основе сфероидов, так и созданные с использованием 3D-биопечати. Однако ни одна из существующих моделей меланомы кожи не нашла широкого применения на практике.

Поэтому имеется потребность в создании трехмерных тканевых конструкций, учитывающих недостатки предыдущих моделей и наиболее полно имитирующих человеческую кожу и процессы, происходящие в ней. В моделировании меланомы такие конструкции помогут наиболее точно воссоздать условия, в которых развивается злокачественный процесс в живом организме.

Помимо возможности углубленного изучения биологии и патогенеза меланомы, 3D-модели имеют потенциал в качестве платформы для более эффективного скрининга новых терапевтических подходов и разработки персонализированного лечения.

Участие авторов: концепция и дизайн исследования — С.В. Тимофеева; И.А. Новикова, О.И. Кит, сбор и обработка материала — Т.В. Чембарова, С.Ю. Филиппова, А.О. Ситковская, И.А.; статистический анализ данных — В.В. Позднякова, О.В. Хохлова, Ю.В. Пржедецкий, Н.А. Захарова; написание текста — С.В. Тимофеева; редактирование — О.Г. Ишонина, Е.В. Шалашная.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*. 2020;70(1):7-30. https://doi.org/10.3322/caac.21590
2. *Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность)*. Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шахзадовой А.О. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2022.
Zlokachestvenny'e novoobrazovaniya v Rossii v 2021 godu (zabolevaemost' i smertnost'). Pod red. Kaprina A.D., Starinskogo, V.V., Shaxzadovoj A.O. M.: MNIOI im. P.A. Gercena — filial FGBU «NMICz radiologii» Minzdrava Rossii; 2022. (In Russ.).
3. Casalou C, Moreiras H, Mayatra JM, et al. Loss of 'Epidermal Melanin Unit Integrity' in Human Skin During Melanoma-Genesis. *Frontiers in Oncology*. 2022;27(12):878336. https://doi.org/10.3389/fonc.2022.878336
4. Muñoz-Couselo E, Adelantado EZ, Ortiz C, et al. NRAS-mutant melanoma: current challenges and future prospect. *OncoTargets and Therapy*. 2017; 10:3941-3947. https://doi.org/10.2147/OTT.S117121
5. Eddy K, Shah R, Chen S. Decoding Melanoma Development and Progression: Identification of Therapeutic Vulnerabilities. *Frontiers in Oncology*. 2021;10:626129. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.626129
6. Shain AH, Bastian BC. From melanocytes to melanomas. *Nature Reviews. Cancer*. 2016;16(6):345-358. https://doi.org/10.1038/nrc.2016.37
7. Leonardi GC, Falzone L, Salemi R, et al. Cutaneous melanoma: From pathogenesis to therapy (Review). *International Journal of Oncology*. 2018; 52(4):1071-1080. https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4287
8. Leong SP, Mihm MC Jr, Murphy GF, et al. Progression of cutaneous melanoma: implications for treatment. *Clinical and Experimental Metastasis*. 2012;29(7):775-796. https://doi.org/10.1007/s10585-012-9521-1
9. Carvalho MP, Costa EC, Correia, IJ. Assembly of breast cancer heterotypic spheroids on hyaluronic acid coated surfaces. *Biotechnology Progress*. 2017;33:1346-1357. https://doi.org/10.1002/btpr.2497
10. Jensen C, Teng Y. Is It Time to Start Transitioning From 2D to 3D Cell Culture? *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2020;6(7):33. https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00033
11. Malandrino A, Trepat X, Kamm RD, Mak M. Dynamic filopodial forces induce accumulation, damage, and plastic remodeling of 3D extracellular matrices. *PLOS Computational Biology*. 2019;15(4):e1006684. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006684
12. Edmondson R, Broglie JJ, Adcock AF, Yang L. Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. *Assay and Drug Development Technologies*. 2014;12(4):207-218. https://doi.org/10.1089/adt.2014.573
13. Gilazieva Z, Ponomarev A, Rutland C, et al. Promising Applications of Tumor Spheroids and Organoids for Personalized Medicine. *Cancers*. 2020; 12(10):2727. https://doi.org/10.3390/cancers12102727
14. Marconi A, Quadri M, Saltari A, Pincelli C. Progress in melanoma modelling in vitro. *Experimental Dermatology*. 2018;27(5):578-586. https://doi.org/10.1111/exd.13670
15. Müller I, Kulms D. A 3D Organotypic Melanoma Spheroid Skin Model. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*. 2018;(135):57500. https://doi.org/10.3791/57500
16. Stępień EŁ, Karimi H, Leszczyński B, Szczepanek M. Melanoma SPpheroids as a Model for Cancer Imaging Study. *Acta Physica Polonica*. 2020;51(1): 159-163. https://doi.org/10.5506/APhysPolB.51.159
17. Gotwals P, Cameron S, Cipolletta D, et al. Prospects for combining targeted and conventional cancer therapy with immunotherapy. *Nature Reviews. Cancer*. 2017;17(5):286-301. https://doi.org/10.1038/nrc.2017.17
18. Syn NL, Teng MWL, Mok TSK, Soo RA. De-novo and acquired resistance to immune checkpoint targeting. *The Lancet. Oncology*. 2017;18(12):e731-e741. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30607-1
19. Baudino TA. Targeted Cancer Therapy: The Next Generation of Cancer Treatment. *Current Drug Discovery Technologies*. 2015;12(1):3-20. https://doi.org/10.2174/1570163812666150602144310
20. Fukuhara H, Ino Y, Todo T. Oncolytic virus therapy: A new era of cancer treatment at dawn. *Cancer Science*. 2016;107(10):1373-1379. https://doi.org/10.1111/cas.13027
21. Vörsmann H, Groeber F, Walles H, et al. Development of a human three-dimensional organotypic skin-melanoma spheroid model for in vitro drug testing. *Cell Death and Disease*. 2013;4(7):e719. https://doi.org/10.1038/cddis.2013.249
22. Belgodere JA, King CT, Bursavich JB, et al. Engineering Breast Cancer Microenvironments and 3D Bioprinting. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2018;6:66. https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00066
23. Langer EM, Allen-Petersen BL, King SM, et al. Modeling Tumor Phenotypes in Vitro with Three-Dimensional Bioprinting. *Cell Reports*. 2019;26(3): 608-623.e6. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.12.090
24. Haridas P, McGovern JA, McElwain SDL, Simpson MJ. Quantitative comparison of the spreading and invasion of radial growth phase and metastatic melanoma cells in a three-dimensional human skin equivalent model. *Peer J*. 2017;5:e3754. https://doi.org/10.7717/peerj.3754
25. Rebecca VW, Somasundaram R, Herlyn M. Pre-clinical modeling of cutaneous melanoma. *Nature Communications*. 2020;11(1):2858. https://doi.org/10.1038/s41467-020-15546-9
26. Kim BS, Kwon YW, Kong JS, et al. 3D cell printing of in vitro stabilized skin model and in vivo pre-vascularized skin patch using tissue-specific extracellular matrix bioink: A step towards advanced skin tissue engineering. *Biomaterials*. 2018;168:38-53. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.03.040
27. Kim BS, Gao G, Kim JY, Cho DW. 3D Cell Printing of Perfusable Vascularized Human Skin Equivalent Composed of Epidermis, Dermis, and Hypodermis for Better Structural Recapitulation of Native Skin. *Advanced Healthcare Materials*. 2019;8(7):e1801019. https://doi.org/10.1002/adhm.201801019
28. Jin R, Cui Y, Chen H, et al. Three-dimensional bioprinting of a full-thickness functional skin model using acellular dermal matrix and gelatin methacrylamide bioink. *Acta Biomaterialia*. 2021;131:248-261. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.07.012
29. Jorgensen AM, Varkey M, Gorkun A, et al. Bioprinted Skin Recapitulates Normal Collagen Remodeling in Full-Thickness Wounds. *Tissue Engineering. Part A*. 2020;26(9-10):512-526. https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0319
30. Barros NR, Kim HJ, Gouidie MJ, et al. Biofabrication of endothelial cell, dermal fibroblast, and multilayered keratinocyte layers for skin tissue engineering. *Biofabrication*. 2021;13(3):10.1088/1758-5090/aba503. https://doi.org/10.1088/1758-5090/aba503
31. Pontiggia L, Van Hengel IA, Klar A, et al. Bioprinting and plastic compression of large pigmented and vascularized human dermo-epidermal skin substitutes by means of a new robotic platform. *Journal of Tissue Engineering*. 2022;13:20417314221088513. https://doi.org/10.1177/20417314221088513
32. Abaci HE, Coffman A, Doucet Y, et al. Tissue engineering of human hair follicles using a biomimetic developmental approach. *Nature Communications*. 2018;9(1):5301. https://doi.org/10.1038/s41467-018-07579-y

33. Ng WL, Qi JTZ, Yeong WY, Naing MW. Proof-of-concept: 3D bioprinting of pigmented human skin constructs. *Biofabrication*. 2018;10(2):025005. https://doi.org/10.1088/1758-5090/aa9e1e

34. Min D, Lee W, Bae IH, et al. Bioprinting of biomimetic skin containing melanocytes. *Experimental Dermatology.* 2018;27(5):453-459. https://doi.org/10.1111/exd.13376

35. Jain RK, Au P, Tam J, et al. Engineering vascularized tissue. *Nature Biotechnology*. 2005;23(7):821-823. https://doi.org/10.1038/nbt0705-821

36. Vyas C, Pereira R, Huang B, et al. Engineering the vasculature with additive manufacturing. *Current Opinion in Biomedical Engineering.* 2017;2:1-13. https://doi.org/10.1016/j.cobme.2017.05.008

37. Тимофеева С.В., Шамова Т.В., Ситковская А.О. 3D-биопринтинг микроокружения опухоли: последние достижения. *Журнал общей биологии*. 2021;82(5):389-400.
Timofeeva SV, Shamova TV, Sitkovskaya AO. 3D bioprinting of tumor microenvironment: Recent achievements. *Zhurnal obshhej biologii*. 2021;82(5): 389-400. (In Russ.).
https://doi.org/10.31857/S0044459621050067

38. Yanez M, Rincon J, Dones A, et al. In vivo assessment of printed microvasculature in a bilayer skin graft to treat full-thickness wounds. *Tissue Engineering. Part A.* 2015;21(1-2):224-233. https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2013.0561

39. Kilic Bektas C, Hasirci V. Cell loaded 3D bioprinted GelMA hydrogels for corneal stroma engineering. *Biomaterials Science.* 2019;8(1):438-449. https://doi.org/10.1039/c9bm01236b

Поступила 12.09.2023
Received 12.09.2023
Принята к печати 02.10.2023
Accepted 02.10.2023