

Исследование содержания стволовых раковых клеток как дополнительный критерий оценки эффективности превентивной терапии онкопатологии криоконсервированными клетками фетальной печени

Н.А. БОНДАРОВИЧ, О.В. САФРАНЧУК, М.А. СИРОУС
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Study of Content of Cancer Stem Cells as Additional Assessment Criterion for Efficiency of Preventive Therapy of Oncological Pathologies with Cryopreserved Fetal Liver Cells

N.A. BONDAROVICH, O.V. SAFRANCHUK, M.A. SIROUS
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Изучение механизмов канцерогенеза продемонстрировало наличие в опухолях стволовых раковых клеток (СРК), ответственных за инициацию и распространение рака. При раке молочной железы (РМЖ) СРК представлены гетерогенной популяцией, которая объединяет CD44⁺CD24⁻, CD44^{hi}, CD133⁺-клетки, локализуемые не только в опухоли, но и в нормальных тканях молочной железы (МЖ). Выявление этих клеток может иметь важное диагностическое значение, а также помочь в выборе методов лечения онкопатологии. Один из таких методов – введение в организм криоконсервированных клеток фетальной печени (КФП) до клинической манифестации опухоли.

Цель работы – идентификация клеток с предполагаемым фенотипом СРК в МЖ мышей линий С3Н с генетически детерминированным развитием РМЖ без лечения или превентивно леченных криоконсервированными КФП.

Эксперименты проведены на 16-месячных мышках-самках линии С3Н и СВА (контроль). Мыши линии С3Н были разделены на 7 групп: I – без видимых проявлений РМЖ; II – с одной опухолью; III – с двумя и более опухолями; IV–VII – животные, которым в 6 месяцев превентивно были введены криоконсервированные КФП или нативные КФП в двух дозах (1 и 5×10⁶). Для определения содержания СРК в тканях МЖ на проточном цитометре FACS Calibur использовали моноклональные антитела к рецепторам CD44, CD24, CD133.

У мышей I группы по отношению к контролю выявлено высокое содержание предполагаемых СРК CD44⁺CD24⁻, CD133⁺ и обнаружены клетки CD44^{hi}. При манифестации опухолевого процесса содержание этих клеток зависело от степени распространенности опухолевого процесса. Наиболее высокий уровень популяций СРК установлен у мышей III группы (с несколькими опухолями). Для мышей II группы (с единичной опухолью) характерно наличие клеток CD44^{hi} при низком содержании CD133⁺-клеток. Уровень СРК у мышей леченных групп был значительно ниже, чем в I группе, при этом клетки CD44^{hi} не выявлялись. Тем не менее максимальное приближение данных показателей к контрольным наблюдали в III и IV группах, что коррелировало с более высокой выживаемостью животных этих групп.

Таким образом, была показана обратная корреляция уровня СРК с эффективностью проводимой превентивной терапии КФП.

Результаты проведенных экспериментов позволили установить связь между содержанием СРК и степенью распространенности опухолевого процесса у мышей линии С3Н.

Investigation of cancerogenesis mechanisms demonstrated the presence in tumours of cancer stem cells (CSCs) responsible for initiation and expansion of cancer. At breast cancer (BC) the CSCs are represented by heterogeneous population comprising CD44⁺CD24⁻, CD44^{hi}, CD133⁺ cells, localized not only in a tumour, but also in normal tissues of mammary gland (MG). The revealing of these cells may have an important diagnostic value as well as can help in the choice of the treatment methods in oncological pathology case. One of these methods is the introduction into organism of cryopreserved fetal liver cells (FLCs) prior to clinical manifestation of tumour.

The research aim is identification of cells with supposed phenotype of CSCs into MGs of C3H mice with genetically determined development of BC with no treatment and preventively treated with cryopreserved FLCs.

The experiments were carried-out in 16 months female C3H mice and in the CBA control ones. C3H mice were divided into 7 groups: 1 – with no visible manifestations of BC; 2 – with one tumour; 3 – with two or more tumours; 4–7 groups were the animals preventively injected at 6 months with either cryopreserved FLCs (1 and 5×10⁶) or native ones (1 and 5×10⁶) in double doses. For determining the CSCs in MG tissues with FACS Calibur flow cytometer there were used monoclonal antibodies to CD44 CD24, CD133 receptors.

In mice of I group in respect to the control the high content of supposed CSCs CD44⁺CD24⁻, CD133⁺ as well as CD44^{hi} cells are found. During manifestation of tumour process the content of these cells depended on the tumour incidence rate. The highest level of CSCs population was observed in mice of III group (with several tumours). For mice of II group (with single tumour) the presence of CD44^{hi} cells under low content of CD133⁺ cells was characteristic. The level of CSCs in treated groups of mice was significantly lower than in I group, herewith no CD44^{hi} cells were revealed. Nevertheless maximum approaching of these parameters to the control was observed in III and IV groups, that correlated to higher survival of animals from these groups.

Thus, an opposite correlation of CSCs level with the efficiency of carried-out preventive therapy with FLCs was shown.

The results of performed experiments enabled to establish the relationship between the content of CSCs and degree of tumour expansion rate in C3H mice.