



Изменение экспрессии панцитокератина в культурах, полученных от Люминального А подтипа рака молочной железы

Могиленских А.С.^{1,2} ✉, Дерюгин М.И.^{1,2}, Сазонов С.В.^{1,2}, Демидов С.М.^{1,2}

¹ ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

² ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург

✉ annasajler@yandex.ru



Ключевые слова: Рак молочной железы, люминальный А подтип, панцитокератин, первичные клеточные культуры

Актуальность

В качестве модели для изучения процессов канцерогенеза, а также исследования эффективности действия химиотерапевтических препаратов на опухоли, могут быть использованы первичные клеточные культуры, полученные из клеток пациенток с диагнозом рака молочной железы (РМЖ). При получении культур из образцов Люминального А подтипа зачастую возникают проблемы, связанные с потерей эпителиальной природы в процессе культивирования и, соответственно, утратой экспрессии рецепторов эстрогена.

Цель

Оценить изменения количества эпителиальных опухолевых клеток (ЭОК) в процессе культивирования первичных культур, полученных от Люминального А подтипа РМЖ, с нулевого по пятый пассаж (p0-p5).

Материалы и методы

43 хирургических образца (2019-2025 г.г.)

Критерии включения:

диагноз рак молочной железы,
отсутствие терапии,
наличие добровольного
информированного согласия

Часть материала направлялась в Патологоанатомическое отделение ГАУЗ СО «ИМКТ» для морфологического и молекулярно-биологического исследования с целью определения суррогатного подтипа опухоли (рис.1). Другая часть материала в стерильных условиях отправлялась в Лабораторию клеточных культур ГАУЗ СО «ИМКТ» для получения первичных культур.

Люминальный А подтип

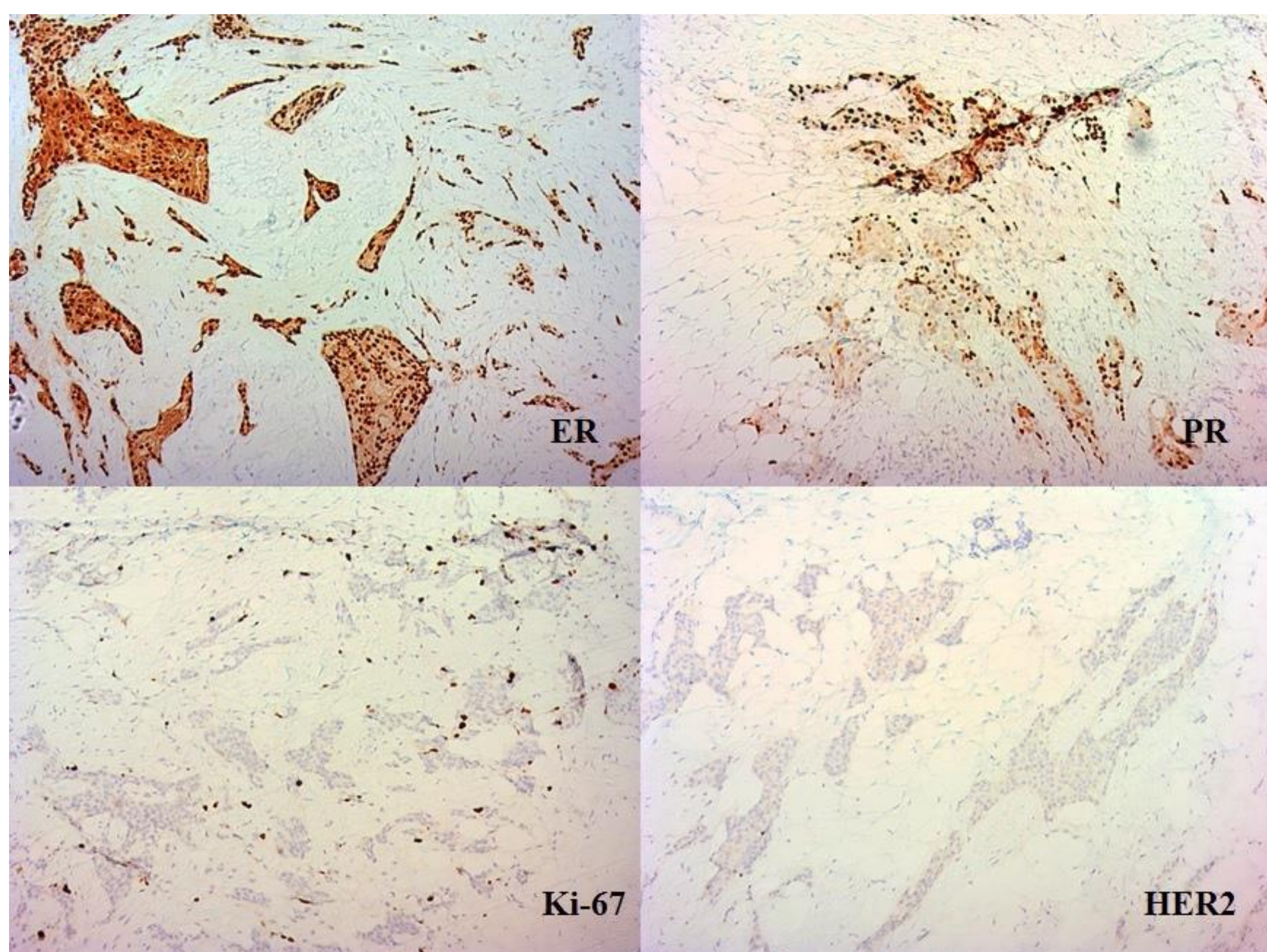


Рис.1 Пример ИГХ исследования, световая микроскопия, ув.100.

ER – экспрессия рецепторов эстрогена (90%, 8 баллов),

PR - рецепторы прогестерона (10%, 4 балла),

Ki-67 – индекс клеточной пролиферации (10%),

HER2 – экспрессия онкобелка (0)

Получено 27 первичных клеточных культур. Пересев осуществлялся на 7-10 сутки. Количество ЭОК оценивали в первичных клеточных культурах с p0-p5 методом проточной цитометрии с применением моноклональных антител к панцитокератину (не менее 5000 событий).

В группу для исследования включено 8 клеточных культур с количеством ЭОК от 5% до 20% на нулевом пассаже.

Обработка данных осуществлялась с помощью методов непараметрической статистики, определялась медиана (Me) и межквартильный размах (IQR), достоверность оценивалась с помощью критерия Манна-Уитни.

Результаты

Количество эпителиальных опухолевых клеток на нулевом пассаже Me 12,6% (IQR = 3,2), min – 8%, max – 18%. На первом пассаже Me 8,0% (IQR = 11,7), min – 1%, max – 21,9% (рис.2).

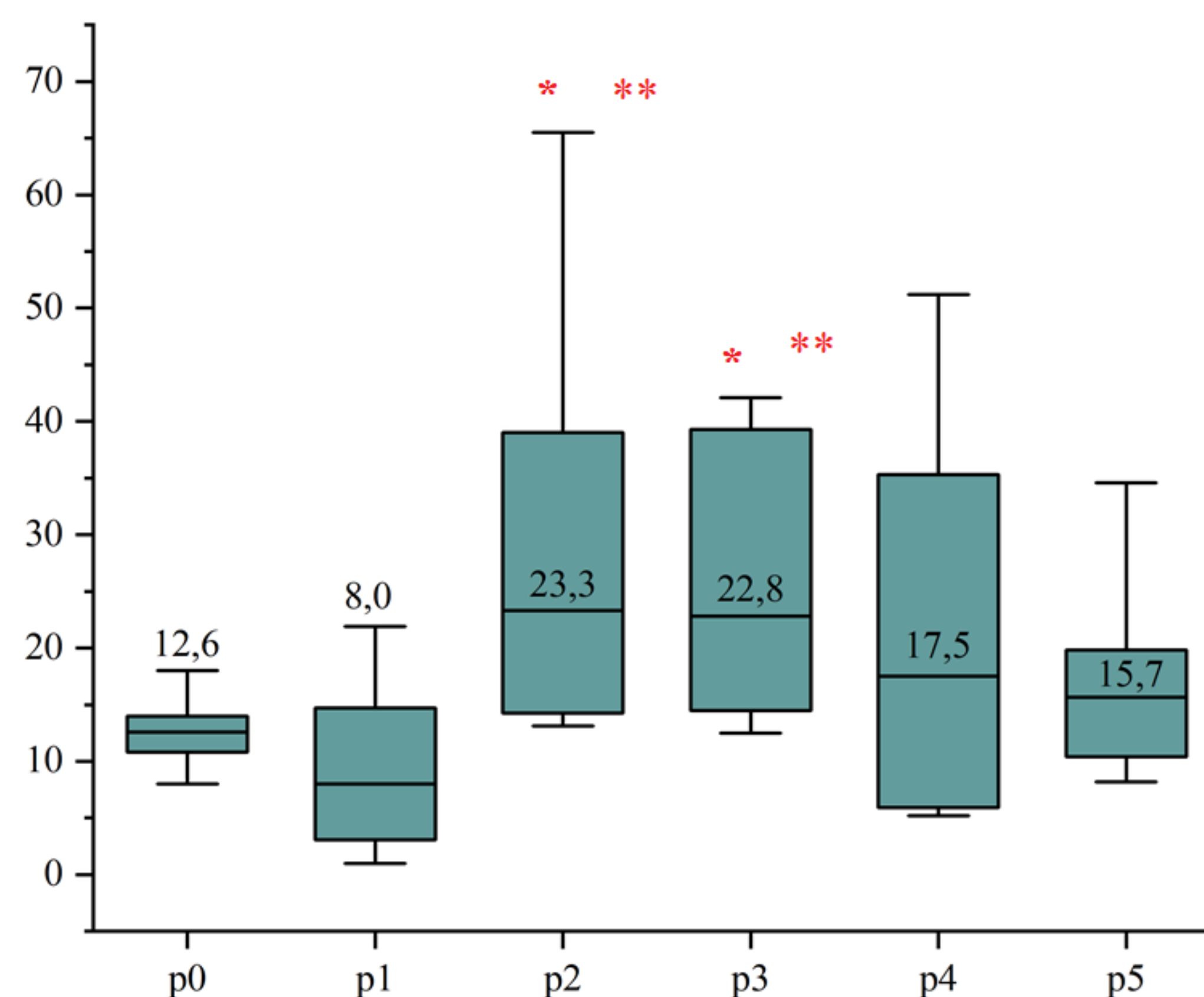


Рис.2 Количество ЭОК в первичных клеточных культурах РМЖ с p0-p5, %

* достоверные различия с p0, при $p \leq 0,05$

** достоверные различия с p1, при $p \leq 0,05$

На втором пассаже количество клеток с экспрессией панцитокератина увеличивается в два раза по сравнению с нулевым ($p=0,02$) и первым пассажами ($p=0,03$), Me составила 23,3% (IQR = 24,8), min – 13,1%, max – 65,5%. На третьем пассаже количество эпителиальных клеток не изменяется, достоверное отличие от нулевого пассажа $p=0,03$ и от первого пассажа $p=0,01$, Me 22,8% (IQR = 24,8), min – 12,5 %, max – 42,1% (рис.3).

На четвертом и пятом пассажах снижается количество клеток, Me на p4 17,5% (IQR = 29,4), min – 5,2 %, max – 51,2% и Me на p5 15,7% (IQR = 9,4), min – 8,2 %, max – 34,6 % Отсутствуют достоверные различия с нулевым пассажем.

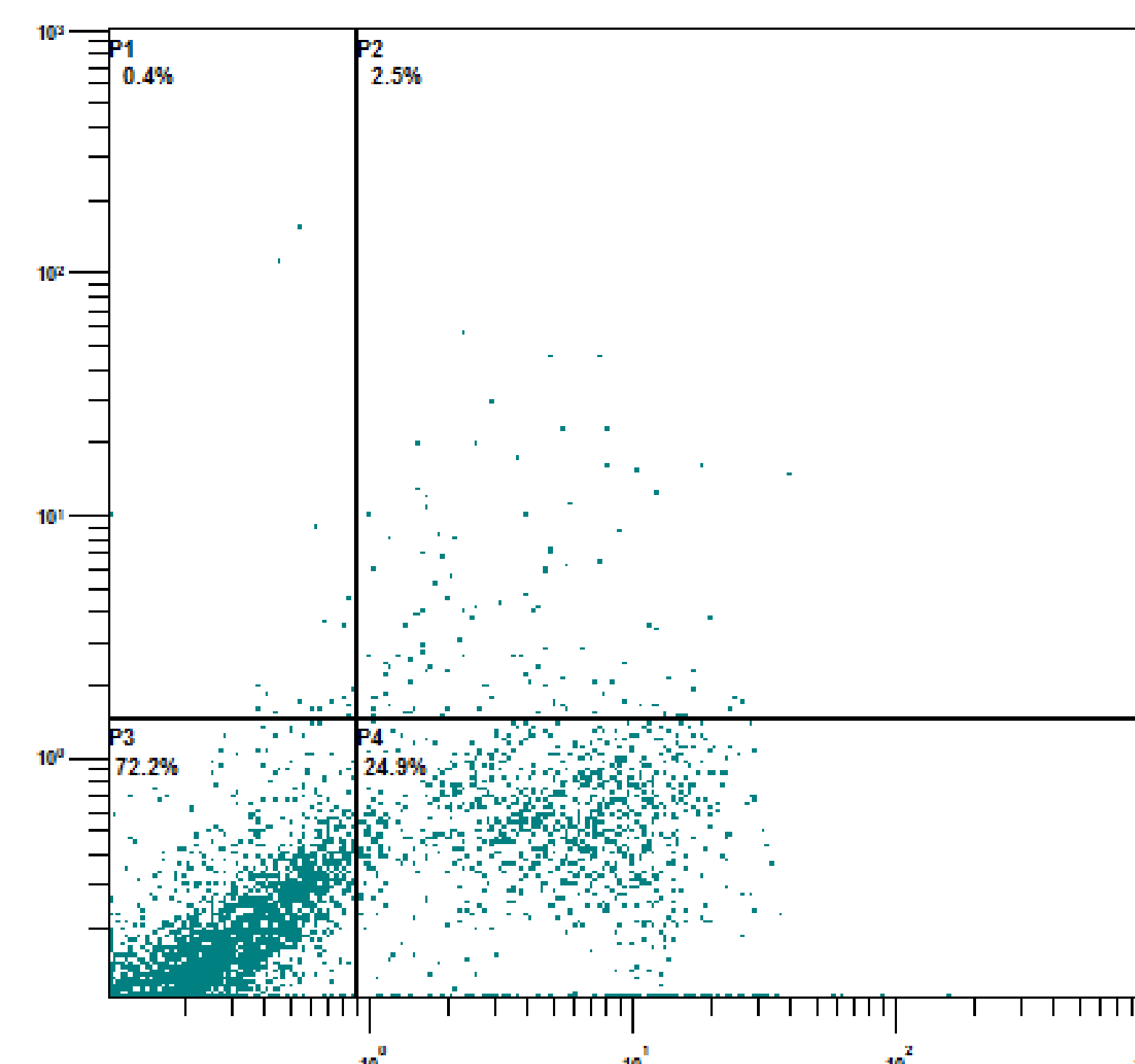


Рис.3 Экспрессия панцитокератина в первичных клеточных культурах РМЖ Люминального А подтипа методом проточной цитометрии.

Пример: третий пассаж.

Распределение клеток: нижний левый квадрант – клетки без экспрессии, нижний правый квадрант –клетки с экспрессией цитокератинов, в %

Заключение

Установлено увеличение количества клеток с экспрессией цитокератина в первичных клеточных культурах РМЖ Люминального А подтипа в два раза на втором и третьем пассажах, по сравнению с нулевым. При дальнейшем культивировании количество эпителиальных клеток снижается до исходного уровня. Механизм выявленных изменений по числу ЭОК связан с активацией апоптоза в клетках.