

**Доказательство состоятельности противоопухолевой терапии
криоконсервированными клетками фетальной печени
в экспериментальной модели рака молочной железы**

Н.А. БОНДАРОВИЧ, М.В. ОСТАНКОВ, А.В. КУЗНЯКОВ, О.В. ЧЕЛОМБИТЬКО, А.Н. ГОЛЬЦЕВ
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

**Evidence for Consistency of Anticancer Therapy with Cryopreserved
Fetal Liver Cells in Experimental Model of Breast Cancer**

N.A. BONDAROVICH, M.V. OSTANKOV, A.V. KUZNYAKOV, O.V. CHELOMBITKO, A.N. GOLTSEV
*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine*

Целесообразность применения клеток фетальной печени (КФП) для лечения рака молочной железы обоснована широким спектром продуцируемых ими биологически активных субстанций. В опубликованных нами работах подтверждается состоятельность лечения данной патологии и криоконсервированных КФП [Goltsev A.N. *et al.*, 2009], причем в схемах превентивного их применения. Криоконсервирование КФП – обязательный компонент технологического процесса их применения в эксперименте и клинике. Одним из методов ранней диагностики и оценки эффективности превентивной терапии рака молочной железы является мониторинг стволовых раковых клеток (СРК) в молочной железе.

Цель данного исследования – оценить содержание СРК в МЖ экспериментальных животных с генетически детерминированным развитием рака МЖ до и после превентивной терапии криоконсервированными КФП.

Мышам линии СЗН/Не, генетически детерминированным к развитию рака МЖ, в 6 месяцев вводили криоконсервированные или нативные КФП 14 суток гестации в концентрации 1 или 5×10^6 клеток. КФП криоконсервировали по двухэтапной программе на программном замораживателе УОП-06 под защитой 10% ДМСО. Контролем были мыши линии СВА/Н, СЗН/Не без лечения и мыши линии СЗН/Не, которым вводили клетки взрослой печени (КВП). Оценку содержания СРК в МЖ мышей проводили методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител к антигенам CD44, CD24 в 7 месяцев. Кроме того, оценивали выживаемость животных к 16-му месяцу, а также частоту развития опухоли у выживших к этому сроку мышей.

В МЖ 7-месячных мышей линии СЗН/Не без лечения методом цитофлуориметрического анализа были идентифицированы клетки с фенотипом CD44^{hi}, относящиеся к наиболее инвазивным СРК, и отмечено увеличение концентрации субпопуляции клеток с фенотипом CD44⁺CD24⁻. Продемонстрировано максимальное снижение количества СРК после превентивной терапии криоконсервированными КФП в концентрации 5×10^6 и нативными КФП в концентрации 1×10^6 , что коррелировало со снижением частоты развития опухоли и повышением выживаемости животных. Терапевтический эффект был присущ именно фетальному материалу, так как введение КВП не оказывало такого действия.

The feasibility of using fetal liver cells (FLCs) for the treatment of breast cancer is proved by a wide spectrum of biologically active substances produced by them. Our published studies confirm the feasibility of treatment of this pathology and cryopreserved FLCs [Goltsev A.N. *et al.*, 2009], notably in the schemes of their preventive use. Cryopreservation of FLCs is a mandatory component in the technological process of their application in experiment and clinics. One of the methods for early diagnostics and evaluation of the efficiency of preventive therapy of breast cancer is to monitor the cancer stem cells (CSCs) in mammary gland (MG).

The research aim was to evaluate the content of CSCs in MG of experimental animals with genetically determined development of breast cancer prior to and after preventive therapy with cryopreserved FLCs.

Mice C3H/He of 6 months genetically determined to the development of breast cancer were injected with cryopreserved or native FLCs of 14 gestation days in the concentrations of 1 or 5×10^6 cells. FLCs were cryopreserved by two-step program with programmable freezer UOP-06 under 10% DMSO protection. CBA/H and C3H/He mice without treatment and C3H/He mice injected with adult liver cells (ALCs) were the control. Evaluation of the CSC content in MG of 7-month-old mice was performed by flow cytometry with monoclonal antibodies to CD44, CD24 antigens. In addition the survival of animals was evaluated to the 16th month as well as tumor incidence in the mice survived by this time.

In MG of C3H/He 7-month-old mice without treatment by flow cytometric analysis the cells with the phenotype CD44^{hi} referred to the most invasive CSCs were identified and an increased concentration of subpopulation of cells with the phenotype CD44⁺CD24⁻ was noted. Maximum reduction of CSC number after preventive therapy with cryopreserved FLCs in a dose of 5×10^6 and native FLCs in a concentration of 1×10^6 was demonstrated. This correlated with a reduction of tumors incidence and increase of animal survival. The therapeutic effect was characteristic for a fetal material as the introduction of ALCs did not affect in such a way.