

## Šūnu līniju iegūšana no krūts vēža slimnieces punkcijas biopsijas pirms neoadjuvantas terapijas un to raksturojums

*Inese Čakstiņa, Valdis Pirsko, Miki Nakazawa-Miklaševiča,  
Marta Priedīte, Rasma Dortāne, Linda Feldmane, Marija Samoviča,  
Arvīds Irmejs, Dace Lapiņa, Zanda Daneberga,  
Jānis Gardovskis, Edvīns Miklaševičs*

*Rīgas Stradiņa universitāte, Onkoloģijas institūts, Latvija*

**Ievads.** Krūts audzējiem ir raksturīgi dažādu, nevienmērīgu šūnu tipu apkopojumi, tāpēc labākai audzēja šūnu heterogenitātes izpratnei nepieciešami padziļināti šo šūnu patoģenēzes pētījumi. Dažādu šūnas procesu salīdzināšanai noteiktos laika periodos (pirms un pēc neoadjuvantas terapijas) izstrādāta standartizēta šūnu iegūšanas un pavairošanas metodika.

**Darba mērķis, materiāls un metodes.** Pētījuma mērķis ir raksturot šūnu līnijas, kas iegūtas no krūts vēža pacientes punkcijas biopsijas pirms neoadjuvantas terapijas uzsākšanas. Mērķa sasniegšanai tika izvirzīti uzdevumi:

- 1) izdalīt un kultivēt šūnas no krūts vēža pacientes pirms neoadjuvantas terapijas punkcijas biopsijas materiāla;
- 2) veikt iegūto šūnu morfoloģisko un augšanas datu analīzi;
- 3) analizēt iegūtās šūnu līnijas pēc dažādu marķierģēnu ekspresijas.

Šūnas tika iegūtas no punkcijas biopsijas materiāla, izmantojot iepriekš izstrādātu secīgas enzimatiskas šķelšanas metodi. Tās tika kultivētas četrās dažādās barotnēs līdz ceturtajai vai piektajai pasāžai (pasāžas ilgums atkarīgs no iegūto šūnu skaita), lai iegūtu turpmākām analizēm, kā arī pacientu individuālo šūnu bankai nepieciešamo šūnu skaitu. Šūnas tika monitorētas un to morfoloģija dokumentēta mikroskopējot. Ģēnu ekspresijas analizēm tika izmantoti uz literatūras datiem balstīti dažādus procesus raksturojošu ģēnu paneļi: proliferācijas, audzēju ierosinošo šūnu, epiteliāli mezenhimālās pārejas, diferenciācijas marķieru, kas iedalīti mazākās grupās (kopējie diferenciācijas marķierģēni, bazālo šūnu, ar Her2 pārekspresiju saistītie bazālo šūnu, bazālo regulatoru, luminālo šūnu, luminālo aizmetņšūnu, kā arī nobriedušu luminālo šūnu regulatoru marķierģēni).

**Rezultāti.** Barotājšūnu slāņa klātbūtne būtiski neietekmē no krūts vēža biopātā iegūto šūnu augšanu R5 barotnē.

Visās iegūtajās šūnu līnijās, *in vitro* pieaugot kultivēšanas laikam, to spēja proliferēt samazinās, par ko liecina gan augšanas dati, gan proliferācijas ģēnu ekspresijas analīze. Cilvēka šūnu klasiskajā kultivēšanas barotnē audzētās šūnu ģēnu ekspresijas profils atšķiras no pārējās barotnēs (samazināts FBS daudzums un piedevu izmantošana) kultivēto šūnu ģēnu ekspresijas profila. Audzēja ierosinošo šūnu klātbūtne iegūtajās šūnu līnijās netika pierādīta.

Pētījumā iekļautai pacientei pēc klīniskās ainas tika diagnosticēts luminālā tipa krūts vēzis. Pēc diferenciācijas ģēnu ekspresijas analīzes var secināt, ka iegūtajās šūnu līnijās ir sastopamas bazālā tipa šūnas. Iespējams, iegūtās populācijas satur šūnas, kurās ir aktivēta epiteliālās diferenciācijas programma, kas ļauj šīm šūnām diferencēties luminālā virzienā, uz ko norāda visas šūnu līnijās paaugstinātā nobriedušu luminālu šūnu regulatoru ģēnu ekspresija.

**Secinājumi.** No pacientes krūts vēža punkcijas biopsijas pirms neoadjuvantas terapijas iegūtas dažādas šūnu populācijas, kas pēc ģēnu ekspresijas profila analīzes uzrāda nosacītu heterogenitāti. Ilgstošas kultivēšanas laikā iegūtajām šūnām samazinās to spēja proliferēt. Pētījumā analizētajās šūnu līnijās ir sastopamas gan šūnas ar bazālā tipa šūnu iezīmēm, gan šūnas, kas spējīgas diferencēties luminālā virzienā. Kultivēšana vienas pasāžas laikā uz barotājšūnu slāņa neietekmē šūnu proliferācijas spēju.

*Valsts pētījumu programmā "Biomedicīna sabiedrības veselībai", projekts Nr. 5 "Personalizēta vēža diagnostika un terapijas efektivitātes noteikšana".*