

Особенности модификации морфофункциональной организации раковых стволовых клеток аденокарциномы Эрлиха после криоконсервирования

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

Peculiarities of Modification of Morphofunctional Organization of Cancer Stem Cells of Ehrlich Adenocarcinoma After Cryopreservation

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

Изучение особенностей воздействия факторов криоконсервирования на злокачественно трансформированные клетки и ткани имеет особую значимость. Как в случае криодеструкции тканевых субстратов, так и при необходимости сохранения потенциала перевиваемых культур опухолевых линий основной мишенью действия факторов криоконсервирования являются стволовые раковые клетки (СРК). Одной из удобных моделей для исследования воздействия низких температур на опухолевые клетки в целом и СРК, в частности, является асцитическая форма аденокарциномы Эрлиха (АКЭ).

Цель работы – оценить структурно-функциональные характеристики СРК на разных этапах роста АКЭ и характер их изменений после воздействия факторов криоконсервирования.

Объектом исследования были клетки АКЭ. Эксперименты выполнены на 7-месячных самках мышей BALB/c, которым клетки АКЭ вводили внутрибрюшинно. АКЭ получали на 7- и 14-е сутки (АКЭ-7, АКЭ-14), затем криоконсервировали в асцитической жидкости без применения криопротекторов по двухэтапной программе. Экспрессию маркеров CD44⁺/24⁻ и CD44^{high} оценивали на проточном цитофлуориметре. Жизнеспособность клеток определяли при помощи пропидий йодида.

При оценке экспрессии маркеров CD44⁺/24⁻ и CD44^{high} на клетках АКЭ до и после криоконсервирования показано, что только определенная часть клеток, экспрессирующих на своей поверхности маркеры СРК, подвергается отрицательному влиянию криоконсервирования. Показано, что СРК разных сроков культивирования по-разному изменяют функции после аналогичных условий криоконсервирования. Такого рода изменения состояния СРК существенно влияли на темп удвоения количества клеток, кратность увеличения абсолютного количества клеток в перитонеальной полости как интегрального показателя интенсивности развития опухолевого процесса. Обсуждаются вопросы значимости исходного состояния исследуемого биообъекта в определении его криолабильности.

Study of the effect peculiarities of cryopreservation factors on malignantly transformed cells and tissues is of special value. Both in the case of cryodestruction of tissue substrates and when it is necessary to preserve the potential of inoculated cultures of tumour lines the main targets of the action of cryopreservation factors are cancer stem cells (CSCs). One of convenient models for studying the effect of low temperatures on tumour cells in a whole and on CSCs, in particular, is ascitic form of Ehrlich adenocarcinoma (EAC).

The research aim is to estimate structural and functional characteristics of CSCs at various stages of EAC and the character of their changes after cryopreservation effect.

The research objects were EAC cells. The experiments were performed in 7 months' female BALB/c mice, which were introduced intraperitoneally with EAC. EAC cells were obtained to the 7th and 14th days (EAC-7 and EAC-14), then they were cryopreserved in ascitic fluid with no cryoprotectants according to two-step program. The expression of CD44⁺/24⁻ and CD44^{high} markers in EAC cells prior to and after cryopreservation was estimated by means of flow cytometer. Cell viability was determined using propidium iodide (PI).

During estimation of the expression of CD44⁺/24⁻ and CD44^{high} markers in EAC cells prior to and after cryopreservation it has been shown that only certain part of cells expressing on their surface CSCs markers are subjected to negative effect of cryopreservation. It has been demonstrated that CSCs of different culturing terms in a different way change the functions after the analogous cryopreservation conditions. These changes in the state of CSCs significantly affected the rate of cell number duplication, enlargement factor of absolute number of cells in peritoneal cavity as an integral index of the intensity of tumour development. The questions about the value of initial state of the studied biological object in determining its cryolability are under discussion.