

Корреляция между stemness-like-состоянием клеток аденокарциномы Эрлиха и количеством циклов замораживания-отогрева

О.А. Дябина¹, Ю.А. Винник², М.В. Останков¹, Н.А. Бондарович¹, А.Н. Гольцев¹

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

²Харьковская медицинская академия последипломного образования, г. Харьков

Correlation in Stemness-Like State of Ehrlich Carcinoma Cells and Number of Freeze-Thawing Cycles

O.A. Diabina¹, Yu.A. Vinnik², M.V. Ostankov¹, N.A. Bondarovich¹, A.N. Goltsev¹

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

²Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkov, Ukraine

Метод криодеструкции нашел широкое применение при лечении онкологических заболеваний. Дискутабельным остается вопрос относительно выбора условий криовоздействия на опухолевую ткань, в частности температурных режимов, кратности воздействия, количества циклов. Особое внимание уделяется изучению влияния холода на структурные и функциональные характеристики стволовых раковых клеток (СРК), активность которых определяет инициацию и метастазирование опухолей.

Цель исследования – проведение сравнительного анализа влияния однократного и многократного замораживания на структурные и функциональные свойства стволовых раковых клеток в динамике развития аденокарциномы Эрлиха (АКЭ).

Клетки АКЭ получали на 7-е (АКЭ-7) и 14-е (АКЭ-14) сутки их культивирования *in vivo* в перитонеальной полости мышей линии BALB/c. Клетки замораживали однократно и многократно (2–4 раза) в асцитической жидкости. Функциональный потенциал размороженных клеток оценивали по интенсивности роста опухоли (объем асцитической жидкости и концентрация клеток) к 7- и 14-м суткам культивирования, одновременно определяя методом проточной цитофлуориметрии содержание в ней наиболее канцерогенных CD44^{high}- и продвинутых в дифференцировке CD44⁺CD24⁻-клеток.

Установлен разный характер изменения функционального статуса СРК с указанным фенотипом после однократного и многократного криовоздействия в зависимости от этапа развития опухолевого процесса. При однократном криовоздействии функциональный потенциал 7-суточной «молодой» культуры был ингибирован, тогда как в отношении 14-суточной «старющей» культуры АКЭ – «ревитализирующий» эффект. После двух- и трехкратного цикла замораживания-отогрева пролиферативная активность клеток обоих сроков роста была ингибирована. При этом в АКЭ-14 была более выраженной, чем у клеток «молодой» культуры. После четырехкратного замораживания-отогрева в суспензиях клеток АКЭ-7 и АКЭ-14 наблюдалось полное отсутствие CD44^{high}-клеток и их пролиферативной активности.

Полученные данные демонстрируют очевидную необходимость применения многократного криовоздействия на АКЭ с целью инактивации функционального статуса СРК и роста опухоли. Значимость многократного криовоздействия на опухолевую ткань возрастает по мере «старения» опухоли, что должно быть принято во внимание при использовании криохирургических методов в клинической онкологии.

Cryoablation is widely used in treatment of oncology diseases. The question as for selecting the conditions of cryoeffect on tumor tissue, in particular, temperature regimens, number of cycles has remained disputable. Special attention is paid to studying the influence of the cold exposure on structural and functional characteristics of cancer stem cells (CSCs), which activity determines the initiation and metastasis of tumors.

In this regard, effect of single and multiple freezing on CSCs in Ehrlich carcinoma (EC) development dynamics was analyzed in this investigation.

EC cells were obtained to the 7th (EC-7) and 14th (EC-14) day of their culturing *in vivo* in peritoneal cavity of BALB/c mice. The cells were single and multiple (2–4 times) frozen in ascitic fluid. Functional potential of thawed cells was assessed on intensity of tumor growth (volume of ascitic fluid and cell concentration) to the 7th and 14th culturing day with simultaneous determination of the content of the most cancerogenic CD44^{high} and advanced in differentiation CD44⁺CD24⁻ cells by flow cytometry.

We found a different pattern of changes in functional state of CSCs with stated phenotype following single and multiple cryoexposure depending on the stage of malignancy. In particular, single cryoeffect caused inhibition of functional potential in ‘young’ culture, whilst in case of ‘ageing’ culture it did ‘revitalizing’ effect. After two and three-fold freeze-thawing cycle the proliferative activity of both type of cell culture was inhibited, moreover, in EC-14 it was in greater extent. After four-fold freeze-thawing EC-7 and EC-14 suspensions had no sign of CD44^{high} cells and their proliferation.

The findings demonstrate the evident need of multiple cryoexposure cycles when treating EC with the purpose of CSC function inhibition and tumor growth stop. This necessity increases with the tumor ageing that should be taken into account in clinical oncology when using cryosurgical methods.

