

**Оценка клеточной смерти и выживаемости при криогенном воздействии
на тканеинженерной модели рака простаты человека**
**Characterization of Cell Death and Survival Within Cryogenic Lesions
Using a Tissue Engineered Human Prostate Cancer Model**

A. T. ROBILOTTO^{1,2}, J. M. BAUST², R. G. VAN BUSKIRK^{1,2}, A. A. GAGE³, J. G. BAUST²

¹CPSI Biotech, Inc., New York, USA

²Institute of Biomedical Technology, State University of New York, Binghamton, New York, USA

Основным ограничивающим фактором криохирургической абляции было определение количества погибших клеток при криогенных воздействиях. Несмотря на огромные достижения в моделировании тепловых профилей зоны замораживания с целью определения наилучшего местоположения криозонда и продолжительности криовоздействия, необходимо провести дополнительные исследования для определения процента клеток, выживших или погибших при конкретной температуре в зоне криовоздействия. Для отображения уровня клеточной гибели при определенных температурах во время криовоздействия в данной работе была использована недавно разработанная тканеинженерная модель рака простаты человека.

Клетки рака предстательной железы человека (PC-3) помещали в коллагеновые матрицы диаметром 40 мм и толщиной 3 мм с плотностью 2×10^6 клеток/мл. Перед замораживанием матрицы были сложены по 10 шт (общая высота 30 мм), помещены в солевой раствор при 37°C, а затем заморожены с использованием криозонда калибра 17 (криохирургический аппарат Galil Seed Net® Gold). Температуру в зоне криовоздействия контролировали набором термопар типа T. Через 24 ч после отогрева матрицы исследовали с помощью тестов на целостность мембран для визуализации зон полного, частичного и минимального разрушения клеток. Результаты показали, что одиночная игла криозонда калибра 17 через 15 мин криовоздействия создает эллиптическую зону замораживания длиной ~45 мм, диаметром ~34 мм в самом широком месте. Кроме того, при использовании разработанной нами модели были выявлены гибель/выживаемость клеток в зоне криовоздействия в соответствующих тепловых зонах. При температурах ниже -60°C живых клеток не было, при -40°C выжило примерно 5% клеток, при -20°C около 75%, а при температурах выше -20°C - 85% и более в одном цикле замораживания.

Показано, что при использовании тканеинженерных моделей рака простаты человека можно соотнести уровни клеточной гибели/выживаемости с конкретными тепловыми зонами в зоне криогенного воздействия. Такие данные могут предоставить врачам дополнительные параметры для оптимизации криохирургических процедур путем обеспечения необходимого воздействия на клетки абляционных температур.

Since its inception, a major limiting factor of cryosurgical ablation has been determining the extent of cell death within the cryogenic lesion. Although great strides have been made in modelling the thermal profile of the freeze zone to aid a proper probe placement and freeze duration, much remains to be accomplished in determining the percentage of cells that survive or perish at a specific isotherm within the lesion. To that end, we have employed a recently developed tissue engineered human prostate cancer model for use in mapping the levels of cell death at specific temperatures within the cryogenic lesion.

Human prostate cancer (PC-3) cells were suspended in collagen matrices 40 mm in diameter and 3 mm thick at a density of 2×10^6 cells/ml. Just prior to freezing, matrices were stacked ten high (30 mm), placed in a 37°C saline bath, and then frozen using a 17-gauge cryoprobe (Galil Seed Net® Gold cryosurgical device). Temperatures were monitored through out the cryogenic lesion using an array of type T thermocouples. At 24 hr post-thaw, matrices were assessed using membrane integrity assays to visualize the zone of complete, partial, and minimal cell destruction. Results show that a single 17-gauge cryoneedle generated an elliptical freeze zone of ~45 mm in length with a diameter of ~34 mm at its widest point after 15 min of freezing. Additionally, by utilizing our engineered model, cell death/survival was visualized within the lesion and mapped to specific thermal zones. At temperatures below -60°C no cell survival was observed, at 40°C approximately 5% of cells survive, at -20°C there was approximately 75% survival, and at temperatures above -20°C cell survival was at or above 85% for a single freeze cycle.

We have shown that by employing our engineered human prostate model we can begin to correlate levels of cell death/survival to specific thermal zones within the cryogenic lesion. Ultimately, such data may provide physicians with additional parameters for the optimization of cryosurgical procedures by ensuring proper exposure of cells to ablative temperatures.