



DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2021.127-149>
УДК 617–089:57.086.13:615.84:616–006

Кріохірургія і фізичні методи в лікуванні онкологічних захворювань

Чиж М. О.¹, ORCID: 0000-0003-0085-296X, e-mail: n.chizh@ukr.net

Белочкіна І. В.¹, ORCID: 0000-0003-0090-2971, e-mail: ibelochkina@ukr.net

Гладких Ф. В.², ORCID: 0000-0001-7924-4048; e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

¹Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, Харків, Україна

²Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

Cryosurgery and physical medicine in treatment of cancer

Chyzh M. O.¹, ORCID: 0000-0003-0085-296X, e-mail: n.chizh@ukr.net

Belochkina I. V.¹, ORCID: 0000-0003-0090-2971, e-mail: ibelochkina@ukr.net

Hladkykh F. V.², ORCID: 0000-0001-7924-4048; e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

²State Organization "Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

кріохірургія, фізичні методи, деструкція, онкологія.

Для цитування:

Чиж М. О., Белочкіна І. В., Гладких Ф. В. Кріохірургія і фізичні методи в лікуванні онкологічних захворювань. *Український радіологічний та онкологічний журнал*. 2021. Т. XXIX. № 2. С. 127–149. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2021.127-149>

Для кореспонденції:

Белочкіна Ірина Владиславівна
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, відділ експериментальної кріомедицини;
вул. Переяславська, буд. 23,
м. Харків, Україна, 61016;
e-mail: ibelochkina@ukr.net

© Чиж М. О., Белочкіна І. В.,
Гладких Ф. В., 2021

РЕЗЮМЕ

Актуальність. На сучасному етапі розвитку онкології кріохірургічний метод лікування займає міцні позиції поряд з іншими хірургічними способами лікування злоякісних пухлин. Проте, особливо при застосуванні кріоаплікаційного методу, радикальна низькотемпературна деструкція пухлин великого розміру стикається з проблемою нерівномірного промерзання тканини всередині та на периферії зони кріоабляції, що призводить до недостатньо повного руйнування всіх пухлинних клітин. Перспективною стратегією підвищення ефективності кріогенного методу лікування, що дозволить максимально проявити потенціал впливу низьких температур на біологічні тканини, є комбіноване його використання з іншими фізичними методами. З іншого боку, попередній кріовплив на пухлинну тканину може бути використаний для підвищення ефективності протипухлинної терапії іншими, зокрема, фізичними методами.

Мета роботи – узагальнення та аналіз даних літератури щодо комбінованого використання низьких температур з іншими фізичними методами лікування для визначення ефективності та перспективності їх застосування в сучасній онкології.

Матеріали та методи. Проведено аналіз робіт, опублікованих у 2000–2020 рр., в яких висвітлювались відомості про вплив низьких температур в комбінації з іншими фізичними методами на біологічні тканини. Після пошуку за ключовими словами по міжнародних та українських базах даних, були відібрані, проаналізовані статті за даною тематикою та включені до списку літератури.

Результати та їх обговорення. З урахуванням патогенетичних механізмів дії низьких температур на біологічні структури в огляді представлені переваги та недоліки застосування кріохірургічного методу у лікувальній практиці. На підставі даних експериментальних та клінічних досліджень показано позитивний ефект комбінованого використання кріохірургічних підходів з іншими фізичними методами при проведенні оперативних втручань з приводу абляції злоякісних новоутворень. На розгляд були представлені публікації, в яких описані результати досліджень щодо комбінації кріохірургії: з попередньою гемодилуцією; радіочастотною та мікрохвильовою гіпертермічною абляцією; лазерною та фотодинамічною терапією; електропорацією. Також представлені сучасні уявлення про

кріоультразвукову терапію, кріонаноабляцію, кріопротонний метод лікування та кріоселекції.

Висновки. Кріохірургія є ефективним малоінвазивним хірургічним методом і займає гідне місце поряд з іншими способами лікування злоякісних пухлин, незважаючи на те, що на сьогодні ще продовжуються дослідження з оптимізації методики впливу низьких температур на біологічні тканини. Комбіноване використання кріохірургічного методу з іншими фізичними методами при абляції пухлин може сприяти ефективності лікування онкологічних хворих.

Keywords:

cryosurgery, physical methods, destruction, oncology.

For citation:

Chyzh MO, Belochkina IV, Hladkykh FV. Cryosurgery and physical medicine in treatment of cancer. *Ukrainian journal of radiology and oncology*. 2021;29(2):127–149. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2021.127-149>

For correspondence:

Belochkina Iryna Vladyslavivna
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Department of Experimental Cryomedicine;
23, Pereyaslavskaya Str., Kharkiv, Ukraine, 61016;
e-mail: ibelochkina@ukr.net

© Chyzh M. O., Belochkina I. V., Hladkykh F. V., 2021

ABSTRACT

Background. At the present stage of oncology development, cryosurgery is keeping up with other surgical options of treating malignant tumors. However, especially when using cryoapplication technique, radical low-temperature destruction of large tumors is challenged with uneven freezing of the tissue inside and on the periphery of the cryoablation zone resulting in insufficient complete destruction of all tumor cells. The long-term strategy of increasing the efficiency of cryogenic treatment, which will maximize the potential for exposure of biological tissues to low temperatures, is its combination with other physical methods. On the other hand, the preliminary cryotherapy of the tumor tissue can be used to increase the efficiency of antitumor therapy by other methods, in particular, physical ones.

Purpose – to summarize and analyze the literature data on applying low temperatures in combination with other physical medicine techniques in order to assess the efficiency and the potential of those in uptodate oncology.

Materials and Methods. The paper deals with analyzing the studies published within the period from 2000 to 2020 outlining the data on the impact of low temperatures on the biological tissues in combination with other physical medicine techniques. After keyword search against international and Ukrainian databases, the papers, focused on this subject area, were sorted out, analyzed and included in the references.

Results. The review presents pros and cons of using cryosurgery in medical practice with due regard for pathogenetic mechanisms of low temperature impact on biological structures. Based on experimental and clinical studies data, a positive effect of cryosurgical approaches in combination with other physical medicine techniques when performing surgical interventions for ablation of malignant neoplasms has been shown. The paper included the contributions describing the findings on combining cryosurgery with: preliminary hemodilution; radiofrequency and microwave hyperthermic ablation; laser and photodynamic therapy; electroporation. Additionally, a contemporary view of cryo-ultrasound therapy, cryonanoablation, cryoradiation treatment and cryoelectrolysis was presented.

Conclusions. Cryosurgery is an effective minimally invasive surgical method keeping up with other methods of treating malignant tumors, despite the fact that these days the research on optimizing the method of exposure of biological tissues to low temperatures is still ongoing. Cryosurgery in combination with other physical medicine techniques in case of tumor ablation can enhance the effectiveness of treating cancer patients.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
16.05.2021

Отримано після рецензування
Received after review
25.05.2021

Прийнято до друку
Accepted for printing
09.06.2021

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами

Робота виконана в рамках наукової роботи Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України «Деструктивні та відновні процеси в тканинах *in vivo* після дії низьких

Relationship with academic programs, plans and themes

The study has been carried out within the scope of the research project of Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine “Destructive and Regenerative Processes in Tissues

температур та біологічно активних речовин». Номер державної реєстрації 0117U000849. Термін виконання 2017–2021 рр., фундаментальна, керівник кандидат медичних наук, старший дослідник, в. о. завідувача відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України України Чиж М. О.

ВСТУП

Сучасний підхід до лікування онкологічних хворих здійснюється на основі загальноприйнятих міжнародних стандартів, що базуються на принципах доказової медицини (Evidence-Based Medicine) та мають на меті покращання якості надання онкологічної допомоги. Згідно з наказом № 554 МОЗ України «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Онкологія» від 17.09.2007 р. прийняті стандарти регламентують вибір методу та схем лікування хворих онкологічного профілю. Для руйнування патологічних новоутворень все частіше застосовують методи малоінвазивної хірургії, зокрема, кріохірургічні [1].

Розробка кріогенного методу є результатом спільних досліджень кріобіологів, інженерів, розробників кріогенної техніки, клініцистів, зокрема онкологів. Теоретичні розрахунки та досвід роботи з використання низьких температур в експериментальних дослідженнях на тваринах стали підґрунтям для впровадження кріохірургічного методу в практичну медицину. На сьогодні кріогенний метод займає міцні позиції поряд з іншими способами лікування злоякісних пухлин. До основних потенційних переваг кріохірургічного методу лікування відносять низьку частоту ускладнень, короткий ліжко-день, нижчу вартість лікування, можливість проведення лікування хворих із тяжкою супутньою патологією і, найважливіше, зниження або запобігання ризику дисемінації та метастазування пухлини завдяки гемо- та лімфостатичному ефекту глибокого заморожування тканин [2–5].

Головною задачею кріохірургії є деструкція патологічно-змінених тканин у межах здорових. Особливістю кріохірургічного способу є деструкція пухлин без їх видалення. Для повної кріодеструкції новоутворень, цільова температура в пухлинному сайті повинна бути не вище -40°C . Механізм кріоушкодження біологічних тканин реалізується під час та після кровотручання на молекулярному, клітинному, тканинному та системному рівнях. Відомо, що після кріохірургічного втручання виникає коагуляційний некроз тканин. Одним з факторів деструктивної дії низьких температур на клітинному рівні є поза- і внутрішньоклітинне кристалоутворення, яке призводить до механічного пошкодження клітин. Зміну осмотичного тиску, рН і дегідратацію вважають додатковими факторами деструкції, до яких особливо чутливі ліпопротеїди клітинних мембран [6]. Саме завдяки досягненню низьких температур у глибині тканин відбувається максимальна деструкція пухлинних клітин шляхом некрозу, що приводить до вивільнення внутрішньоклітинного вмісту, в тому числі ДНК, РНК і специфіч-

in vivo after effect of Low Temperature and Biological Active Substances”, state registration No 0117U000849. Period for performance: 2017–2021, fundamental, led by Candidate of Medical Science, Senior Researcher, Acting Head of Experimental Cryomedicine Department of Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine Mykola O. Chyzh.

INTRODUCTION

The up to date approach to treating cancer patients is based on generally accepted international standards, maintained according to the principles of evidence-based medicine (Evidence-Based Medicine) and aimed at improving the quality of cancer care. According to Order No 554 of the Ministry of Health of Ukraine “On approval of protocols for medical care in the specialty “Oncology” dated 17.09.2007, the adopted standards regulate the choice of method and treatment regimens for cancer patients. Methods of minimally invasive surgery, in particular, cryosurgical ones [1], are increasingly used to destroy pathological neoplasms.

The development of the cryogenic method results from collaborative study of cryobiologists, engineers, cryogenic equipment developers, clinicians, in particular, oncologists. Theoretical calculations and experience in applying low temperatures in experimental animal research have become the basis for introducing the cryosurgical method into practical medicine. Today, the cryogenic method is keeping up with other methods of treating malignant tumors. The main potential advantages of cryosurgical treatment include low incidence of complications, short bed-day, lower cost of treatment, the possibility of treating patients with severe comorbidities and, above all, reducing or preventing the risk of dissemination and metastasis of the tumor due to hemo- and lymphostatic effect of tissue freezing [2–5].

The major challenge of cryosurgery is the destruction of pathologically altered tissues within the healthy ones. A peculiarity of the cryosurgical method is the destruction of tumors without removing them. For complete cryodestruction of tumors, the target temperature at the tumor site should not be higher – 40°C . The mechanism of cryo-damage of biological tissues is fulfilled during and after cryo-intervention at molecular, cellular, tissue and system levels. The coagulation necrosis of tissues is known to appear after cryosurgery. One of the factors of destructive action of low temperatures at the cellular level is extra- and intracellular crystal formation leading to mechanical damage of cells. The changes in osmotic pressure, pH and dehydration are considered as additional factors of destruction, which lipoproteins of cell membranes are particularly sensitive to [6]. Due to reaching low temperatures in the depth of the tissues, the destruction of tumor cells by necrosis is highest possible, which leads to the release of intracellular contents, including DNA, RNA and specific tumor proteins [7]. The immune system recognizes these tumor antigens and provides an immune specific reaction in the form of proliferation and activation of T- and B-cells [9]. Studies have shown that low temperatures can sensitize dendritic cells,

них білків пухлин [7]. Імунна система розпізнає ці антигени пухлини і дає імуноспецифічну реакцію, що проявляється в проліферації і активації Т- і В-клітин [9]. Дослідження показали, що дія низьких температур може сенсibiliзувати дендритні клітини, підвищуючи їх здатність представляти антиген і сприяти секреції ними ІЛ-4, ІЛ-12 та інших цитокінів [10]. Є повідомлення про випадки, коли імуноспецифічна реакція може також впливати на ракові клітини поза первинною пухлиною, що відомо як абскопальний ефект [8]. Таким чином, кріоабляція новоутворень, крім деструкції пухлини, може підсилювати проти-пухлинну імунну відповідь організму, направлену на запобігання рецидиву захворювання та метастазуванню.

Ступінь пошкодження клітин залежить від температурно-часових режимів. Отже, найважливішими параметрами кріодеструкції пухлини є рівень низьких температур, експозиція кріовтручання, швидкість заморожування та відтавання тканин, кількість циклів заморожування-відтавання [3, 5, 11].

В онкології залежно від розташування пухлини використовують кріозрошення, аплікаційну та пенетраційну кріоабляцію. Кріозрошення найчастіше застосовують в дерматології, а також в гастроентерології та ЛОР-практиці в комплексному лікуванні поверхневих новоутворень на слизових оболонках органів з використанням ендоскопічної апаратури. Аплікаційний спосіб, тобто спосіб контактної кріодеструкції дозволяє провести деструкцію більш глибоких патологічнозмінених тканин. Для руйнування великих об'ємів тканин у кріохірургії застосовують пенетраційний спосіб, коли кріозонд занурюють на всю глибину пухлини. Питання відносно вибору технічного способу кріогенного лікування вирішується для кожного конкретного випадку з урахуванням локалізації, розмірів, характеру росту та гістологічної будови пухлини, загального стану хворого, його віку та наявності супутньої патології, тощо. Загалом, кріогенний метод лікування належить до функціонально безпечних методів локального впливу на патологічний осередок [3, 5].

До позитивних властивостей дії низьких температур на судини або порожнисті органи можна віднести те, що під їх впливом відбувається загибель клітинних елементів зі збереженням колагенового каркаса. Завдяки цьому ефекту попереджується ризик кровотечі або перфорації як під час кріодеструкції, так і після неї. Тому існує можливість проводити оперативні втручання у важкодоступних місцях та поблизу великих судин [12, 13].

Проте, особливо в ході застосування кріоаплікаційного методу, радикальна низькотемпературна деструкція пухлин великого розміру стикається з проблемою нерівномірного промерзання тканини всередині та на периферії зони кріоабляції, що призводить до недостатньо повного руйнування всіх пухлинних клітин [14, 15].

Для кріопошкодження суттєве значення має стан зв'язаної води в клітинних та тканинних системах. У зв'язаному стані вода зі зниженням температури

increasing their ability to present antigen and promote secreting IL-4, IL-12 and other cytokines by them [10]. There have been reports on cases when immune specific reactions may also affect cancer cells outside the primary tumor, which is known as abscopal effect [8]. Thus, cryoablation of tumors, in addition to tumor destruction, can enhance the body antitumor immune response to prevent recurrence and metastasis.

The degree of cell damage depends on temperature and time modes. Thus, the most crucial parameters of cryodes-truction of the tumor are low temperatures level, exposure to cryotherapy, the rate of freezing and thawing of tissues, and the number of freezing-thawing cycles [3, 5, 11].

In oncology, depending on tumor location, cryoirrigation, application and penetration cryoablation are used. Cryoirrigation is most frequently indicated in dermatology, as well as in gastroenterology and ENT practice in comprehensive treatment of superficial neoplasms on the mucous membranes of organs by means of endoscopic equipment. Application method, i.e. the method of contact cryodes-truction, makes it possible to destruct deeper pathologically altered tissues. Cryosurgery uses the penetration method to destroy large volumes of tissue, when a cryoprobe is immersed to the full depth of the tumor. The question of choosing a technical method of cryogenic treatment is decided for each case individually taking into account location, size, nature of growth and histological structure of the tumor, the general condition of a patient, his/her age, concomitant pathology, etc. In general, the cryogenic method of treatment refers to functionally safe methods of local exposure of the pathological focus [3, 5].

The positive properties of low temperature impact on the blood vessels or hollow organs is the fact that under their influence there is a death of cellular elements while preserving the collagen framework. This effect prevents the risk of bleeding or perforation both during and after cryodestruction. Therefore, it is possible to perform surgery in hard-to-reach places and near large vessels [12, 13].

However, especially when applying the cryoapplication method, radical low-temperature destruction of large tumors is challenged with uneven freezing of tissue inside and on the periphery of the cryoablation zone, leading to insufficient complete destruction of all tumor cells [14, 15].

The state of bound water in cellular and tissue systems is essential for cryo-damage. In the bound state, water may not crystallize at all when the temperature decreases. This, to some extent, explains the resistance of tissues to the local action of low temperatures. If, in addition to the state of water, to take into account the heterogeneous structure of tissues and their metabolism, as well as the contribution of microcirculation, i.e. the blood supply intensity and heat flow activity, it becomes clear that the destruction of large volumes of tissues by cryopreservation is a significant issue requiring to change the tissue state, so that it becomes more sensitive to low-temperature destruction [16, 17]. Applying additional physical methods of tissue exposure for this purpose can contribute to a more complete tumor cryodestruction.

взагалі може не кристалізуватися. Це деякою мірою пояснює стійкість тканин до локальної дії низьких температур. Якщо, крім стану води, врахувати гетерогенну структуру тканин і їх метаболізм, а також внесок мікроциркуляції, тобто інтенсивність кровопостачання та активність теплопритоку, то стає зрозумілим, що руйнування великих об'ємів тканин кріоспособом є значною проблемою, для вирішення якої необхідно так змінити стан тканини, щоб вона стала більш чутливою до низькотемпературного руйнування [16, 17]. Використання з цією метою додаткових фізичних методів впливу на тканину може сприяти більш повній кріодеструкції пухлини.

З іншого боку, попередній кріовплив на пухлинну тканину може бути використаний для підвищення ефективності протипухлинної терапії іншими, у тому числі, фізичними методами.

Мета роботи – узагальнення та аналіз даних літератури щодо комбінованого використання низьких температур з іншими фізичними методами лікування для визначення ефективності та перспективності їхнього застосування в сучасній онкології.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Інформаційний пошук проводили по базах даних PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), ResearchGate (<https://www.researchgate.net/>), «Наукова періодика України» (<http://www.irbis-nbuv.gov.ua/>). Глибина пошуку – 2000–2020 рр. Проведення аналізу резюме статей за ключовими словами: кріохірургія і фізичні методи абляції дозволило конкретизувати пошук. Повнотекстові статті за ключовими словами: кріо- і гіпертермічна абляція, кріоультразвукова терапія, кріонаноабляція, кріохірургія в комбінації з лазерною та фотодинамічною терапією, кріопроменевий метод, кріоелектроліз, кріохірургія і електропорація були відібрані, проаналізовані та включені до списку літератури.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Використання комбінації різних методів лікування вже давно увійшло в медичну практику. Принцип комбінованого способу полягає у послідовному або одночасному застосуванні двох методів спеціального лікування з локальною дією. Саме за комбінованого використання різних методів підвищується ефективність лікування завдяки сумачії – адитивній дії, потенціюванню ефектів двох або декількох терапевтичних методів або, навпаки, комбіноване використання може знизити або нівелювати терапевтичну дію методів.

Проведення кріодеструкції з попередньою гемодилуцією

Одним із методів, який би сприяв посиленню дії кріодеструкції є попереднє проведення гемодилуції. Відомо, що застосування гострої нормоволемічної гемодилуції у поєднанні з технологією контрольованого низького центрального венозного тиску при резекції печінки у хворих на гепатоцелюлярну карциному, зменшує інтраопераційні крововиливи та

On the other hand, the preliminary cryotherapy of the tumor tissue can be used to increase the efficiency of anti-tumor therapy by other methods, including physical ones.

Purpose – to summarize and analyze the literature data on applying low temperatures in combination with other physical medicine techniques in order to assess the efficiency and the potential of those in uptodate oncology.

MATERIALS AND METHODS

Information search was carried out against PubMed database (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), ResearchGate database (<https://www.researchgate.net/>), Scientific Periodicals of Ukraine (<http://www.irbis-nbuv.gov.ua/>). The search depth: 2000–2020. Analyzing the summary of papers by keywords: cryosurgery and physical methods of ablation made it possible to specify the search. Full-text papers by the keywords: cryo- and hyperthermic ablation, cryo-ultrasound therapy, cryonanoablation, cryosurgery in combination with laser and photodynamic therapy, cryoradiation method, cryoelectrolysis, cryosurgery and electroporation were sorted out, analyzed and included in the references.

RESULTS AND DISCUSSION

Applying a combination of different treatment options was included in medical practice for a while now. The combined method principle consists in the sequential or simultaneous application of two methods of special treatment with local action. It is the combined use of different methods that increases the efficiency of treatment due to summation – additive action, potentiation of the effects of two or more therapeutic methods or, on the contrary, the combined use can reduce or eliminate the therapeutic effect of the methods.

Cryodestruction with preliminary hemodilution

One of the methods that would enhance the cryodestruction effect is pre-hemodilution. The use of acute normovolemic hemodilution in combination with the technology of controlled low central venous pressure in liver resection in patients with hepatocellular carcinoma, is known to reduce intraoperative hemorrhage and it does not significantly affect coagulation function [18]. Increasing the volume of circulating blood in the vessels

істотно не впливає на функцію згортання крові [18]. Збільшення об'єму циркулюючої крові в судинах теоретично призводить до збільшення вільної води в біологічних тканинах, і, таким чином, під час кріовпливу підвищується вірогідність появи зародків кристалоутворення, в першу чергу в позаклітинному просторі [19].

На ізольованій печінці свині О.І. Дронов та співавтори показали посилення кріовпливу завдяки попередньому введенню дистильованої води в біологічну тканину. Проведення гемодилуції за 5 хв до початку локального кріовпливу чинить потенціувальний ефект, який проявляється в досягненні більш низьких температур у ділянках, віддалених від робочої поверхні кріоаплікатора. Середня температура у тканині печінки тварин досліджуваної групи на глибині 3 мм від робочої поверхні кріоаплікатора наприкінці 10-ї хвилини другого циклу кріовпливу була на 36°C нижчою, ніж у контрольній [19]. Слід враховувати, що результати, отримані на такій модельній системі, тобто за відсутності спланхнічного кровотоку, не можуть повною мірою відповідати умовам *in vivo*. Проте, ефект від проведення попередньої гемодилуції є ймовірним, що потребує подальших експериментальних і клінічних досліджень.

Комбінація кріо- та гіпертермічної абляції

Для локального підвищення температури в пухлинах створені й успішно застосовуються системи гіпертермічної абляції: радіочастотної, мікрохвильової, причому електроди можуть вводитися як безпосередньо в орган (після лапаротомії), так і черезшкірно під ультразвуковим або променевим контролем [20, 21]. Енергія, що застосовується для нагрівання пухлин, містить енергію мікрохвиль (у діапазоні частот 433 – 2450 МГц), радіочастот (100 кГц – 150 МГц). Гіпертермія є перспективним методом лікування злоякісних новоутворень, який полягає в тому, що ділянки тіла або окремі органи піддаються впливу високої температури (понад 39°C, аж до 44–45°C) [22–24]. Численні дослідження показали, що термочутливість пухлинної тканини при надвисокочастотній (НВЧ) гіпертермії залежить від ступеня васкуляризації і кровотоку в ній, рівня pO_2 і pH і т.ін. [23–25]. Відмінною рисою в лікуванні із застосуванням НВЧ-гіпертермії є те, що тепла енергія виділяється в самих тканинах, а не підводиться конвективно ззовні, при цьому виключається перегрів поверхневих тканин.

Комбінованому використанню кріогенного методу і НВЧ-гіпертермії в експерименті та клініці присвячено багато робіт [16, 21]. В.В. Шафранов показав, що попереднє втручання на зону заморожування мікрохвилями (надвисокочастотне електромагнітне поле) значно збільшує об'єм кріонекрозу і дозволяє використовувати даний метод лікування у разі великих глибоких новоутворень особливо складної анатомічної локалізації, коли проведення інших методів лікування неможливе. Одним із механізмів значного посилення кріонекрозу під час комбінованого використання мікрохвиль є збільшення теплопровідності біологічних

теоретично призводить до збільшення вільної води в біологічних тканинах, і, таким чином, під час кріовпливу підвищується вірогідність появи зародків кристалоутворення, в першу чергу в позаклітинному просторі [19].

On the isolated pig liver, O.I. Dronov et al. showed increased cryotherapy due to the preliminary administered distilled water into biological tissue. Carrying out hemodilution 5 minutes before the onset of local cryotherapy has a potentiating effect, which manifests in reaching lower temperatures in the areas remote from the cryoapplicator working surface. The average temperature in the liver tissue of animals of the study group, at a depth of 3 mm from the cryoapplicator working surface, at the end of the 10th minute of the second cycle of cryo-impact was by 36°C lower than in the control group [19]. It should be taken into consideration that the findings, obtained via such simulating system, i.e. in the absence of splanchnic blood flow, can not fully meet the conditions *in vivo*. However, the effect of previous hemodilution is probable, which requires further experimental and clinical studies.

Combination of cryo- and hyperthermic ablation

Hyperthermal ablation systems have been created and successfully used for local temperature rise in tumors: radiofrequency, microwave; moreover, electrodes can be inserted directly into the organ (after laparotomy) as well as percutaneously under ultrasound or radiation control [20, 21]. The energy used to heat tumors includes microwave energy (in the frequency range 433–2450 MHz), radio frequencies (100 kHz–150 MHz). Hyperthermia is a long-term method of treating malignant neoplasms, which consists in the fact that a part of the body or individual organs are exposed to high temperatures (above 39°C, up to 44–45°C) [22–24]. Numerous studies have shown that the thermal sensitivity of tumor tissue in ultrahigh-frequency (UHF) hyperthermia depends on the degree of vascularization and blood flow in it, the level of pO_2 and pH, etc. [23–25]. A distinctive feature in treatment with the use of microwave hyperthermia is that thermal energy is released in the tissues themselves, and is not supplied convectively from the outside, thus eliminating overheating of surface tissues.

A great number of papers have been focused on combined use of the cryogenic method and microwave hyperthermia in experiment and clinic [16, 21]. V.V. Shafaranov showed that preliminary intervention on the freezing zone by microwaves (ultrahigh-frequency electromagnetic field) significantly increases the volume of cryonecrosis and makes it possible to use this treatment option for large deep tumors of particularly complex anatomical location, when other treatments are not possible. One of the mechanisms of substantial enhancement of cryonecrosis in combined use of microwaves is to increase the thermal conductivity of biological tissues [16]. Under microwaves, polar molecules become excited, resonant phenomena

тканин [16]. Під впливом мікрохвиль полярні молекули переходять у збуджений стан, виникають резонансні явища, що призводить до зміни зони гідратації, розривів внутрішньомолекулярних зв'язків. Це, у свою чергу, дестабілізує структуру води, робить її більш рухомою і чутливою до різних впливів. Таким чином, вплив мікрохвиль має певну точку прикладення, що відповідає задачам кріохірургії [16].

Незважаючи на проведення понад 900 клінічних досліджень за останні 50 років, гіпертермія так і не увійшла в практичну онкологію. Вивчення рандомізованих клінічних досліджень з електромагнітної гіпертермії, виконаних після 1990 р. [26], показало, що з 14 досліджень результати 9 визнані негативними самими авторами [27–29]. Проте сьогодні дослідження з порівняння ефектів та вивчення механізмів комбінованої дії кріо- та гіпертермічної абляції не втрачають актуальності.

В експериментах на свинях був проведений порівняльний аналіз результатів кріо- і мікрохвильової абляції печінки. Комп'ютерна томографія показала, що одразу після мікрохвильової абляції площа ураження була значно більшою, ніж площа після кріохірургічного втручання, тоді як глибина некротичної ділянки була подібною [30]. Через 7 діб зона пошкодження після мікрохвильової абляції збільшилась відносно розмірів, отриманих на першу добу, проте зона після кріоабляції не відрізнялась від первинних розмірів. За результатами дослідження встановлено, що протягом тривалого часу після обох методів лікування можна досягти повного некрозу тканин, але ступінь та глибина некрозу відрізняються: вогнища некрозу після кріоабляції під КТ-зображенням не змінюються, а після мікрохвильової абляції з часом збільшуються. Автори роблять висновки, що ці два методи можуть застосовуватися в комбінації, але параметри виконання процедур потребують подальшого вивчення [30].

У роботі [23] подано експериментальне обґрунтування комбінованого застосування локальної кріодеструкції і подальшої НВЧ-гіпертермії на моделі саркоми 37 у мишей і карциноми Герена у шурів. Встановлено, що комбінація кріодеструкції первинного пухлинного вузла з подальшою локальною НВЧ-гіпертермією мала значно більший протипухлинний ефект, ніж монотерапія, оскільки повністю вилікуваних тварин було на 30% більше, порівняно з монотерапією, а тривалість життя тварин збільшилась у 1,5–2 рази, незалежно від гістогенезу первинної пухлини. Протипухлинний ефект зумовлений тим, що після кріодеструкції створюються оптимальні умови для подальшої НВЧ-гіпертермії: виражена гіпоксія пухлинної тканини, порушення мікроциркуляції й розвиток стійкого судинного стазу, зміщення рН в лужний бік [23].

У клінічній практиці після лікування хворих на рак слизової оболонки рота з використанням кріохірургії і локальної НВЧ-гіпертермії отримано кращі функціональні і естетичні результати без додаткових відновлювальних утручань. Поєднання

occur, leading to changes in the hydration zone, breaking intramolecular bonds. This fact, in its turn, destabilizes the water structure, making it more mobile and sensitive to various influences. Thus, the influence of microwaves has a certain point of application, which corresponds to the purpose of cryosurgery [16].

Despite the availability of more than 900 clinical trials over the past 50 years, hyperthermia has not been included in practical oncology. Studying randomized clinical trials on electromagnetic hyperthermia performed after 1990 [26] showed that out of 14 studies, the results of 9 were considered to be negative by the authors themselves [27–29]. However, these days, studies on comparing the effects and exploring the mechanisms of the combined action of cryo- and hyperthermic ablation do not become less of an issue.

Via experiments on pigs, a comparative analysis of the results of cryo- and microwave liver ablation was performed. Computed tomography showed that immediately after microwave ablation, the lesion area was significantly larger than the area after cryosurgery, while the depth of the necrotic area was similar [30]. Seven days later, the area of damage after microwave ablation increased vs the sizes obtained on day 1, but the area after cryoablation did not differ from the original size. Due to the study, it has been found that for a long time after both treatment options, complete tissue necrosis can be achieved, but the degree and depth of necrosis differ: foci of necrosis after cryoablation under CT image do not change, while after microwave ablation they increase over time. The authors conclude that these two methods can be used in combination, but the parameters of the procedures need further study [30].

The paper [23] presents an experimental substantiation of combined use of local cryodestruction and subsequent UHF hyperthermia on simulated sarcoma 37 in mice and Guerin's carcinoma in rats. Combination of cryodestruction of the primary tumor site with subsequent local microwave hyperthermia was revealed to have a significantly greater antitumor effect than monotherapy, since there were 30% more fully cured animals compared with monotherapy, and the life expectancy of animals increased 1.5–2-fold times, regardless of primary tumor histogenesis. The antitumor effect is driven by the fact that after cryodestruction, there are optimal conditions for further UHF hyperthermia: severe hypoxia of tumor tissue, microcirculation disorders and development of persistent vascular stasis, pH shift to the alkaline side [23].

In clinical practice, after treatment of patients with oral mucosal cancer using cryosurgery and local UHF hyperthermia, the best functional and aesthetic results were obtained without additional restorative interventions. Combination of two physical factors has made it possible to significantly increase the degree of tumor destruction, reduce the recurrence rate and, thus, increase the radical nature of treatment. Comprehensive treatment (cryodestruction of the tumor with further, in 24 hours, local UHF hyperthermia in 1.0–1.5 months after chemotherapy) substantially reduced the frequency of recurrences and regional metastases of the tumor. During the first 12 months, the recurrence rate decreased from 31.6 to 7.7%, for

двох фізичних факторів дозволило значно збільшити ступінь деструкції пухлини, знизити частоту рецидивів і, тим самим, підвищити радикальність лікування. Комплексне лікування (кріодеструкція пухлини з подальшою через 24 год. локальною НВЧ-гіпертермією через 1,0 – 1,5 місяці після хіміопроменевої терапії) дозволило значно знизити частоту рецидивів і регіонарних метастазів пухлини. За перші 12 місяців спостереження частота рецидивів зменшилася з 31,6 до 7,7%, за період від 1 до 2 років регіонарних метастазів у досліджуваній групі хворих не було виявлено. У контрольній групі частота регіонарних метастазів складала 34,2% [24].

На моделі мишачої карциноми молочної залози 4T1 було виявлено, що місцева кріотермічна терапія (чергування охолодження рідким азотом та нагрівання радіочастотними хвилями) приводила до значного зменшення віддалених метастазів у легенях та довготривалого поліпшення виживання. Більше того, результати експериментів з повторного виклику пухлини вказували на формування сильної пухлино-специфічної імунної пам'яті після місцевого лікування первинних пухлин. Подальше дослідження показало, що кріотермічна терапія сприяє підвищеному позаклітинному викиду білка теплового шоку Hsp70. Згодом Hsp70 індукував диференціацію Myeloid derived suppressor cells (MDSCs) у зрілі дендритні клітини DC, сприяючи полегшенню опосередкованої MDSCs імуносупресії та, зрештою, активації сильної протипухлинної імунної відповіді [22]. Загалом, незважаючи на критичні висловлювання щодо методу гіпертермії, комбіноване використання кріо- і гіпертермії дозволяє значно збільшити ступінь деструкції злоякісних новоутворень, знизити частоту їх рецидивування і, тим самим, підвищити радикальність лікування.

Кріоультразвукова терапія

Серед хірургічних способів лікування хворих на злоякісні пухлини ЛОР-органів перевага віддається кріоультразвуковій терапії – відносно оптимальному методу лікування пухлин як з точки зору косметичного й функціонального ефекту, так і досягнення максимальної локальної деструктивної дії на пухлинну тканину при мінімальній шкоді оточуючих здорових тканин [31]. У роботі Молотова О.В. та співавторів показано, що використання локальної кріоультразвукової деструкції на тлі модифікації лейкоинтерфероном спостерігається збільшення кількості імунокomпетентних клітин, що забезпечує інтенсивну резорбцію та елімінацію некротизованих мас пухлини, прискорення місцевих репаративних процесів у зоні кріонекрозу з утворенням з'єднувальних структур. Протягом трьох років після лікування комбінованим способом, рецидиви, регіонарні та віддалені метастази були виявлені у 13,5% хворих, а в контролі – у 33,6% хворих.

У гінекологічній практиці для посилення кріопошкодження патологічно змінених тканин шийки матки з успіхом використовується ультразвук малої

а period from 1 to 2 years, the regional metastases in the study group of patients were not detected. In the control group, the frequency of regional metastases was 34.2% [24].

The 4T1 mouse breast cancer model showed that local cryothermal therapy (alternating cooling with liquid nitrogen and heating with radiofrequency waves) was significantly reducing distant lung metastases and improving long-term survival. Moreover, the results of tumor re-triggering experiments indicated the formation of strong tumor-specific immune memory after local treatment of primary tumors. Further research has shown that cryothermal therapy promotes increasing extracellular release of heat shock protein Hsp70. After a while, Hsp70 induced differentiating Myeloid derived suppressor cells (MDSCs) into mature DC dendritic cells, facilitating MDSCs-mediated immunosuppression easing and, ultimately, the activation of a strong antitumor immune response [22]. In general, despite criticizing the method of hyperthermia, combined use of cryo- and hyperthermia can significantly increase the degree of destruction of malignant neoplasms, reduce the frequency of their recurrence and, thus, increase the radical nature of treatment.

Cryo-ultrasound therapy

Among surgical methods of treating patients with malignant tumors of the ENT organs, cryo-ultrasound therapy is preferred as a relatively optimal method of treating tumors both in terms of cosmetic and functional effect, and achieving maximum local destructive effect on tumor tissue with minimal damage to surrounding healthy tissues [31]. Molotov O.V et al. have shown in their paper that in case of applying local cryo-ultrasound destruction on the background of modification by leukiniferon, the increased number of immunocompetent cells is observed, providing intensive resorption and elimination of necrotized tumor masses, acceleration of local reparative processes in the area of cryonecrosis along with the formation of connective structures. Within three years after combination therapy, recurrences, regional and distant metastases were detected in 13.5% of patients, and in control – in 33.6% of patients.

In gynecological practice, low-intensity ultrasound has been successfully used to enhance cryo-damage of pathologically altered cervical tissues [32]. According to the findings of a clinical study, it's been found that applying cryo-ultrasound leads to a larger and deeper area

інтенсивності [32]. За результатами клінічного дослідження встановлено, що застосування кріоультразвукового впливу призводить до більш великої та глибокої зони некрозу, ніж після ізольованого кріохірургічного втручання. Найбільше пошкоджуються тканини в режимах, коли озвучування відбувається як у процесі заморожування, так і відтавання. Крім того, застосування ультразвуку в поєднанні з низькими температурами впливає на швидкість репаративних процесів у бік скорочення термінів регенерації. Так, після комбінованого кріоультразвукового втручання з попереднім озвучуванням формувалася білий еластичний струп, який відторгався самостійно вже на 6-ту – 8-му добу, на відміну від одночасного кріоультразвукового втручання, за якого струп відторгався на 10–14-ту добу. На думку авторів, посилення ефекту кріодеструкції може бути пов'язане з впливом ультразвуку на зародження та збільшення розмірів кристалів льоду, появу дрібнодисперсної кристалічної структури (на етапі заморожування) та можливою інтенсифікацією рекристалізації в ультразвуковому полі (на етапі відтавання) [32].

У роботі М.В. Мерзлікіна показано, що застосування наднизьких температур для резекції пухлин печінки знижує інтраопераційну крововтрату, підвищує абластичність операцій за рахунок деструкції тканин по лінії розтину печінки. Кріодію під час операцій з приводу зло- та доброякісних пухлин печінки можна здійснити у трьох варіантах: кріорезекція за допомогою кріоскальпеля, кріоультразвукового скальпеля і кріовіброскальпеля; звичайна резекція з кріодеструкцією кукси печінки уздовж лінії розтину; кріодеструкція метастазів і гемангіом невеликих розмірів. У цих випадках можливе виконання операції лапароскопічним доступом [33].

Можливість дистанційного впливу на пухлину поширилася завдяки появі нового неінвазивного методу – ультразвукової абляції (High Intensive Focused Ultrasound – HIFU) [20]. Принцип лікувальної дії ультразвуку такий самий, як і в діагностиці, і заснований на здатності ультразвукової хвилі проходити крізь тканини, не пошкоджуючи їх. Під час проходження крізь тканини частина енергії перетворюється на тепло. Під час фокусування ультразвукової хвилі за допомогою спеціальної лінзи при HIFU-впливі температура підвищується досить швидко (протягом 1 с) до мінімального рівня 56°C, що створює цитотоксичний ефект, викликаючи незворотні зміни в тканинах – коагуляційний некроз. Під час HIFU-впливу температура може підвищуватися понад 80°C, за якої ефективно руйнуються пухлинні тканини [34, 35].

Деструктивна дія HIFU-абляції досягається за рахунок поєднаної, майже одночасної, дії трьох процесів: перший – перетворення механічної енергії в теплову, другий – запуск кавітації, третій – пряме пошкодження судин, які живлять пухлину. Внаслідок проведення HIFU-абляції виникає невеликий локальний осередок ушкодження і некрозу, при цьому поверхневі і навколишні тканини залишаються інтактними.

of necrosis than after isolated cryosurgery. Tissues are most damaged in modes when insonification occurs both in freezing and thawing processes. In addition, ultrasound in combination with low temperatures affects the speed of reparative processes in the direction of reducing the regeneration time. Thus, after combined cryo-ultrasound intervention with preliminary insonification, a white elastic scab was formed, which was rejected independently on day 6–8, in contrast to the simultaneous cryo-ultrasound intervention, in which the scab was rejected on day 10–14. According to the authors, the strengthening of cryodestruction effect may be associated with the impact of ultrasound on formation and increase of ice crystal size, appearance of fine crystalline structure (at freezing stage) and possible intensification of recrystallization in the ultrasonic field (at thawing stage) [32].

M.V. Merzlikin shows in his study that using ultra-low temperatures for resection of liver tumors reduces intraoperative blood loss, increases the ablasticity of operations due to tissue destruction along the line of liver dissection. Cryotherapy in operations for malignant and benign liver tumors can be performed in three versions: cryoresection by means of cryoscalpel, cryo-ultrasonic scalpel and cryovibroscalpel; normal resection with cryodestruction of the stump of the liver along the line of dissecting; cryodestruction of metastases and small hemangiomas. In these cases, it is possible to perform the operation via laparoscopic access [33].

The possibility of remote exposure of the tumor has spread due a new non-invasive method, i.e. ultrasonic ablation (High Intensive Focused Ultrasound – HIFU) [20]. The principle of therapeutic action of ultrasound is the same as in diagnosis, and is based on the ability of the ultrasonic wave to pass through the tissues without damaging them. As it passes through the tissue, some energy is converted into heat. When focusing the ultrasonic wave with a special lens under HIFU-exposure, the temperature rises quite rapidly (1s) to a minimal level of 56°C, which creates a cytotoxic effect, causing irreversible changes in tissues – coagulation necrosis. During HIFU exposure, the temperature can rise above 80°C, at which tumor tissues are effectively destroyed [34, 35].

The destructive effect of HIFU-ablation is achieved due to the combined, almost simultaneous action of three processes: 1 – conversion of mechanical energy into heat energy, 2 – cavitation start, 3 – direct damage to the vessels supplying the tumor. As a result of HIFU-ablation there is a small local center of damage and necrosis, while the superficial and surrounding tissues remain intact. In tissues, these processes occur extremely quickly and simultaneously, so coagulation necrosis caused by focused high-intensity ultrasound is due to the total biological effect of all factors [20]. The literature provides only data on comparing the effectiveness of cryo- and HIFU-ablation in treatment of tumors, such as prostate cancer [36, 37].

В тканинах ці процеси відбуваються надзвичайно швидко і одночасно, тому коагуляційний некроз, викликаний фокусованим ультразвуком високої інтенсивності, зумовлений сумарним біологічним ефектом усіх факторів [20]. У літературі наведено лише дані щодо порівняння ефективності крио- та HIFU-абляції в лікуванні пухлин, наприклад, раку простати [36, 37].

Кріонаноабляція

Одним із підходів для вирішення проблеми нерівномірного промерзання тканин є локальне введення наночастинок (НЧ) у пухлину перед проведенням процедури криоабляції [38–40]. Використання НЧ зумовлено здатністю деяких їх видів збільшувати ймовірність утворення внутрішньоклітинного льоду, що призводить до пошкодження цитоскелета, органел та мембран і, як наслідок, до загибелі клітин [10]. Результати експериментів з диференціальної скануючої калориметрії підтвердили, що введення НЧ може посилити гетерогенне зародження крижаного ядра та сприятиме кластеризації зародків льоду. Відомо, що НЧ виявляють також унікальні теплопровідні властивості, завдяки яким ефективність комбінованої криоабляції з використанням НЧ зазвичай перевершує результати звичайних криохірургічних операцій [14, 40, 41].

Для виготовлення НЧ використовується широкий спектр матеріалів, зокрема неорганічні метали, полімери, які біологічно розкладаються, ліпосоми, міцели та напівпровідники. З метою покращення кінетики нуклеації та посилення термодинамічних параметрів застосовують Fe_3O_4 , а для посилення криодеструкції застосовують полімерні НЧ, які змінюють морфологію крижаних кристалів та збільшують теплопровідність. Наночастинки оксиду алюмінію (Al_2O_3) здатні збільшувати швидкість утворення крижаної кулі, тим самим істотно підвищувати ефективність промерзання тканини [14, 41, 42]. Наночастинки оксиду магнію (MgO) збільшують швидкість проморожування за рахунок збільшення теплопровідності. Окрім відмінних теплових властивостей, НЧ MgO є біосумісними речовинами, і здатні до біодеструкції, що дозволяє більш широко їх застосовувати в криохірургічній практиці [14].

Слід зазначити, що використання кріонанохірургічних утручань потребує визначення параметрів криоабляції, що має суттєве значення для ефективної криодеструкції пухлин. Головним чином це стосується швидкості заморожування. Коли швидкість заморожування висока, у розчині не утворюється лід, і клітини не зазнають великих втрат [40]. Тому слід підтримувати оптимальну швидкість охолодження для досягнення інтенсивного формування кристалів льоду. J. Wang в експерименті на клітинних культурах показав, що максимальна ймовірність утворення внутрішньоклітинного льоду спостерігалася при швидкості заморожування $30^\circ\text{C}/\text{хв}$ [40]. Подібні результати були отримані в клітинах ембріональної нирки людини та мікросудинних клітинах ендотелію [40]. На сьогодні ще недостатньо вивчено процеси, які відбуваються під час заморожування в тканинах і органах великих

Cryonanoablation

One of the approaches to solve the issue of uneven tissue freezing is the local introduction of nanoparticles (NP) into the tumor before cryoablation procedure [38–40]. The use of NP is driven by the ability of some species to increase the likelihood of intracellular ice formation, which leads to damage to the cytoskeleton, organelles and membranes and, as a consequence, to cell death [10]. The results of experiments on differential scanning calorimetry confirmed that administering NP can enhance the heterogeneous formation of the ice core and promote the clustering of ice. NPs are known to also show unique thermally conductive properties, due to which the efficiency of combined cryoablation by means of NPs usually exceeds the results of standard cryosurgical operations [14, 40, 41].

A wide range of materials are used to produce NPs, including inorganic metals, biodegradable polymers, liposomes, micelles, and semiconductors. In order to improve the nucleation kinetics and enhance the thermodynamic parameters, Fe_3O_4 is used, while to enhance cryodestruction, polymer NPs are used, which change the morphology of ice crystals and increase thermal conductivity. Nanoparticles of aluminum oxide (Al_2O_3) are able to increase the rate of formation of an ice ball, thereby significantly increasing the efficiency of tissue freezing [14, 41, 42]. Magnesium oxide nanoparticles (MgO) increase the rate of freezing by increasing thermal conductivity. In addition to excellent thermal properties, MgO NPs are biocompatible substances and are capable of biodegradation, which allows them to be more widely used in cryosurgical practice [14].

It is worth pointing out that the use of cryosurgical interventions requires the determination of cryoablation parameters, which is essential for effective cryodestruction of tumors. This mainly concerns the freezing rate. When the freezing rate is high, no ice is formed in the solution and the cells do not suffer large losses [40]. Therefore, the optimal cooling rate should be maintained to achieve intensive formation of ice crystals. J. Wang in an experiment on cell cultures showed that the maximum probability of formation of intracellular ice was observed at a freezing rate of $30^\circ\text{C}/\text{min}$ [40]. Similar results have been obtained in human embryonic kidney cells and microvascular endothelial cells [40]. Up to date, the processes that occur during freezing in tissues and large organs, as well as cryostability of tumors depending on the organs where they are located are not sufficiently studied, and, as a result, the questions on the parameters of tumor freezing in self-cryoablation as well as cryonanosurgery remain open. Sun Zi et al. [43] present an attempt to estimate the distribution of tissue freezing zone in the

розмірів, а також кріостійкість пухлин залежно від органів, де вони розташовані, і, як наслідок, залишаються актуальними питання щодо параметрів заморожування пухлин як при самостійній кріоабляції, так і при кріонанохірургії. У роботі Sun Zi та співавторів [43] подано спробу оцінки розподілу зони проморожування тканин в експерименті. На моделі ізольованої м'язової тканини, печінки і серця свині проведена імітація нанокріохірургічних операцій. Використовували 5%-й водний розчин НЧ Fe_3O_4 , який вводили в тканини ін'єкційно. Контроль температурних полів здійснювали термопарами та інфрачервоним термометром. Встановлено, що крижані кульки мають різний розмір через неоднорідність тканин, і тому параметри кріохірургічних втручань мають залежати від фактичної ситуації. М'язи, печінка та серце різняться за пористістю, вмістом води, щільністю, кровонаповненням, теплопровідністю, питомою теплоємністю тощо, тому кількість НЧ, які мають вводитися в тканину, слід передбачати заздалегідь. Це допоможе здійснити високоякісну контрольовану абляцію тканин пухлини-мішені в ході оперативних втручань [43].

Здатність НЧ неметалевої природи знижувати теплопровідність тканини дозволяє їх також використовувати в кріонанохірургії [38]. Такі НЧ вводяться по краях солідної пухлини для «захисту» здорових тканин перед кріохірургічним втручанням.

Лазерна терапія та кріоабляція

Досить аргументовані і показові результати використання в отоларингологічній практиці кріохірургічних методів лікування в поєднанні з лазерним опромінюванням [44]. Характеристики сучасних хірургічних лазерів (компактність, автономність, відсутність спеціальних зовнішніх систем охолодження, широкий діапазон потужності та довжини хвилі) дозволяють застосовувати їх практично в усіх сферах онкохірургії [44]. А. Miehke та співавт. описали основні механізми взаємодії CO_2 -лазера з тканинами людини, показання до лазерної хірургії гортані, зокрема хордектомія і розтин підзв'язкового стенозу, а також визначили перспективи розширення її використання [44].

Висока ефективність комбінації лазерної терапії та кріохірургії показана у паліативній ветеринарній практиці. За результатами лікування було встановлено, що комбінована CO_2 -лазерна та кріохірургічна абляція практична, економічно вигідна та забезпечує високий естетичний ефект у собак із плоскоклітинним раком носової порожнини, забезпечуючи при цьому прийнятне полегшення місцевих проявів захворювання [45].

Комбінація фотодинамічної терапії та кріоабляції

Важливо зазначити, що в онкохірургії досить часто використовується метод фотодинамічної терапії, який дозволяє отримувати селективне руйнування пухлини з мінімальним пошкодженням навколишніх здорових тканин. Завдяки тому, що речовини для фотодинамічної терапії мають властивість виборчого накопичення в пухлині, уражені патологічним процесом тканини опромінують світлом із довжиною хвилі, що

experiment. Nanocryosurgical operations were simulated in a model of isolated muscle tissue, liver and heart of a pig. A 5% aqueous solution of NP Fe_3O_4 was used, which was injected into the tissues. Temperature fields were monitored by thermocouples and an infrared thermometer. Ice balls were found to have different sizes due to tissue heterogeneity, and therefore the parameters of cryosurgical interventions should depend on the actual situation. Muscles, liver and heart differ in terms of porosity, water content, density, blood supply, thermal conductivity, specific heat, etc., so the number of NPs to be injected into the tissue should be predicted in advance. This will help to perform high-quality controlled ablation of target tumor tissues during surgery [43].

The ability of non-metallic nature of NPs to reduce the thermal conductivity of tissue make it possible to use them in cryonanosurgery [38]. Such NPs are injected along the edges of a solid tumor to “protect” healthy tissues before cryosurgery.

Laser therapy and cryoablation

The results of applying cryosurgical methods of treatment in combination with laser irradiation in ENT practice are well-argued and indicative [44]. The capabilities of modern surgical lasers (small size, autonomy, lack of special external cooling systems, a wide range of power and wavelength) allow them to be used in almost all oncosurgery areas [44]. A. Miehke et al. described the main mechanisms of interaction of CO_2 -laser with human tissues, indications for laser surgery of the larynx, in particular chordectomy and dissection of the ligament stenosis, and identified prospects for its expansion [44].

A high efficiency of combination of laser therapy and cryosurgery is shown in palliative veterinary practice. According to the outcomes of treatment, it was found that combined CO_2 -laser and cryosurgical ablation is reasonable, cost-effective long with providing a high aesthetic effect in dogs with squamous cell carcinoma of the nasal cavity as well as acceptable relief of local manifestations of the disease [45].

Combination of photodynamic therapy and cryoablation

It is noteworthy that the method of photodynamic therapy is frequently used in oncosurgery, which enables obtaining selective destruction of the tumor with minimal damage to surrounding healthy tissues. Due to the fact that substances for photodynamic therapy have the property of selective accumulation in the tumor, the affected tissues are irradiated with light, where a wavelength corresponds to or

відповідна або близька до максимуму поглинання барвника. Як джерела світла застосовують лазерні установки, що дозволяють випромінювати світло певної довжини хвилі і високої інтенсивності [46, 47]. Використання кріохірургічного підходу у комбінації з фотодинамічною терапією висвітлено на прикладах лікування актинічного кератозу [48], але результати рандомізованого дослідження не повідомляються. Для досягнення ремісії у випадках тяжких уражень саме комбіноване застосування кріохірургії з фотодинамічною терапією може дозволити зменшити появу рецидивів цього захворювання [48].

Поєднання кріохірургії та фотодинамічної терапії – альтернатива звичайній хірургії для лікування мультифокальної хвороби Педжета вульви з великими або рецидивуючими проявами у людей похилого віку. В роботі С. Boularda та співавт. [49] описано лікування двох пацієнок з хворобою Педжета і наведені позитивні результати використання кріохірургічних методик у комбінації з фотодинамічною терапією з застосуванням CO₂-лазера. Повна ремісія захворювання у пацієнок настала через 12 місяців після лікування [49].

Заслужує на увагу робота Hou Yi та співавторів [50], в якій подана розробка гібридної платформи, що містить пасту з рідкого металу з вмістом галію та міді. Паста має високу теплопровідність, а наночастинки рідкого металу мають високу фототермічну конверсію, для посилення терапевтичного ефекту мультимодальної терапії. Паста з рідкого металу діє як пов'язка на шкіру з високою теплопровідністю, покращуючи теплопередачу пухлинної тканини під час кріоабляції. З використанням пасти кінцева температура пухлинної тканини була нижчою, а розподіл температури – більш рівномірним, ніж без пасти, що, імовірно, посилило ефект руйнування клітин. Наночастинки з рідкого металу діяли як фототермічні агенти, які збільшували зміни температури під час лазерного опромінення [50]. Таким чином, гібридна платформа може бути водночас посередником у подвійній дії та реалізувати синергічні ефекти в терапії раку.

Кріопроменевий метод

Променева терапія є «класичним», поряд із хіміотерапією, нехірургічним методом боротьби з онкозахворюваннями. Саме наявність відповідного устаткування стала базою для організації провідних науково-дослідних клінічних онкологічних установ. Зокрема, в Україні це існуючі вже понад століття установи, відомі сьогодні як Національний інститут раку (м. Київ) та Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва (м. Харків). Незважаючи на досить високу частоту виникнення тяжких ускладнень внаслідок променевої терапії, зокрема на рівні хромосомного апарату клітин, цей спосіб впливу на злоякісні пухлини залишається дуже затребуваним. Відомо, що ефективність променевої терапії залежить переважно від радіочутливості пухлини. До пухлин з відносно невисокою радіочутливістю належить аденокарцинома ендометрія. В Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Гри-

is close to the maximum dye absorption. As light sources, laser installations are used, which allow to emit light of a certain wavelength and high intensity [46, 47]. The use of a cryosurgical approach in combination with photodynamic therapy has been outlined in the treatment of actinic keratosis [48], however the results of a randomized study have not been reported. To achieve remission in cases of severe lesions, combined use of cryosurgery with photodynamic therapy can reduce the recurrence of this disease [48].

Combination of cryosurgery and photodynamic therapy is an alternative to conventional surgery for treatment of multifocal Paget disease of the vulva with substantial or recurrent manifestations in the elderly. С. Boularda et al. [49] described the treatment of two patients with Paget disease and presented positive outcomes of the use of cryosurgical techniques in combination with photodynamic therapy using CO₂-laser. Complete remission of the disease in patients occurred 12 months after treatment [49].

The paper of Hou Yi et al. [50], presenting the development of a hybrid platform that includes a paste of liquid metal containing gallium and copper, is especially noteworthy. The paste has a high thermal conductivity, while liquid metal nanoparticles have a high photothermal conversion, to enhance the therapeutic effect of multimodal therapy. The liquid metal paste acts as a bandage on the skin with high thermal conductivity, improving the heat transfer of tumor tissue during cryoablation. With the use of the paste, the final temperature of the tumor tissue was lower, and the temperature distribution was more uniform than without the paste, which probably increased the effect of cell destruction. Liquid metal nanoparticles acted as photothermal agents that increased temperature changes during laser irradiation [50]. Thus, the hybrid platform can simultaneously mediate dual action and fulfill synergistic effects in cancer therapy.

Cryoradiation method

Radiation therapy is a “classic”, along with chemotherapy, non-surgical method of fighting cancer. It is the availability of appropriate equipment that has become the basis for establishing the leading research clinical oncology institutions. In particular, in Ukraine these are the institutions known today as National Cancer Institute (Kyiv) and Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology (Kharkiv). Despite the relatively high incidence of severe complications due to radiation therapy, especially at the level of chromosomal apparatus of cells, this method of exposure of malignant tumors remains highly-demanded. The efficiency of radiation therapy is known to mainly depend on tumor radiosensitivity. Tumors with relatively low radiosensitivity include endometrial adenocarcinoma. At Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology S.P. Grigoriev, Professor O.A. Mykhanovskiy conducted fundamental studies of the efficiency of cryo-destruction of the tumor in radiation therapy of patients

гор'єва Національної академії медичних наук України» професором О.А. Міхановським були проведені фундаментальні дослідження ефективності кріодеструкції пухлини під час променевого лікування хворих на рак тіла матки. За результатами вивчення кріопроменевого патоморфозу раку ендометрія та карциноми Герена шурів, яка є радіорезистентною пухлиною і за морфологічними особливостями найбільш близькою до аденокарциноми ендометрія, був встановлений оптимальний часовий інтервал, 24 години, між кріодеструкцією і опромінюванням, і відзначена небезпечність подовження цього інтервалу до 48 годин [51, 52]. Часткова кріодеструкція, проведена за 24 години до опромінювання, не змінювала тенденції пухлинних клітин до диференціації під впливом радіаційної дії, але значно знижувала проліферацію в пухлині. Кріодеструкція за 48 годин до опромінювання також не перешкождала радіаційно зумовленій диференціації клітин карциноми Герена, але викликала посилення процесів поділу і появу недиференційованих радіорезистентних форм, що є несприятливими ознаками. Порівняно з лікуванням променевим методом передпроменева кріодеструкція пухлини на 22,2% підвищувала п'ятирічну виживаність хворих на рак тіла матки. Кріопроменеве лікування розглядається як метод вибору у випадках високого операційного ризику. Цитогенетичні дослідження засвідчили відсутність впливу кріопроцедури на радіочутливість хромосом у клітинах нормальних тканин, проте у хворих із передпроменевою кріодеструкцією пухлини спостерігалось менш інтенсивне підвищення виходу дицентриків та кілець на аберагентну клітину, що корелювало з ефектом зниження частоти поліплоїдів і ендореplikацій, на відміну від накопичення геномних порушень у осіб без кріодеструкції пухлини. Такий модифікувальний вплив передпроменевої кріопроцедури на цитогенетичні показники у ході променевої терапії пов'язують з посиленою циркуляцією лімфоцитів між опроміненою і неопроміненою зонами тіла. Це можна розглядати як один з механізмів зниження ризику розвитку місцевих променевих реакцій у пацієнок, яким проводили передпроменеву кріодеструкцію пухлини [53].

У Російському онкологічному науковому центрі імені М.М. Блохіна розроблено новий кріопроменевий метод лікування хворих із місцево-поширеними та рецидивуючими формами базально- і плоскоклітинного раку шкіри голови [54, 55]. Безпосередньо перед кожним сеансом променевої терапії проводилося локальне охолодження пухлини до досягнення температури заморожування на межі пухлини і здорової тканини. Опромінення виконували протягом 5 днів (з 2-денною перервою) у разовій локальній дозі 2,0–2,5 Гр до досягнення сумарної вогнищевої дози 60–70 Гр. Застосування за показаннями кріопроменевого методу дозволило досягти задовільних результатів лікування. Стійке одужання було досягнуто у 93 (98,9%) з 94 хворих із первинними формами раку шкіри і у 14 (77,7%) із 18 пацієнтів з рецидивним раком шкіри після терапії в інших установах [54]. Завдяки

with uterine cancer. According to the results of studying cryoradiation pathomorphosis of endometrial cancer and Guerin's carcinoma of rats, which is a radioresistant tumor, morphologically more similar to endometrial adenocarcinoma, the optimal time interval, 24 hours, between cryodestruction and irradiation was determined along with specifying hazards of prolonging this interval up to 48 hours [51, 52]. Partial cryodestruction performed 24 hours before irradiation did not change the tendency of tumor cells to differentiate under radiation, but it significantly reduced tumor proliferation. Cryodestruction, performed 48 hours before irradiation, also did not interfere with radiation-induced differentiation of Guerin's carcinoma cells, but it caused intensification of division processes and the appearance of undifferentiated radioresistant forms, which were unfavorable features. Compared to radiation therapy, pre-radiation cryodestruction of the tumor increased the five-year survival of uterine cancer patients by 22.2%. Cryoradiation is considered as treatment of choice in cases of high surgical risk. Cytogenetic studies showed no effect of cryotherapy on radiosensitivity of chromosomes in normal tissue cells, however, in patients with pre-radiation cryodestruction of the tumor, less intensive increase in appearance of dicentric and rings on the aberrant cell was observed, correlating with the effect of reducing the frequency of polyploids and endoreplications, as opposed to accumulation of genome disorders in patients without tumor destruction. Such a modifying effect of pre-radiation cryotherapy on cytogenetic parameters in radiation therapy is associated with increased lymphocyte circulation between irradiated and non-irradiated areas of the body. This can be considered as one of the mechanisms to reduce the risk of local radiation reactions in patients who underwent pre-radiation cryodestruction of the tumor [53].

A new cryoradiation method for treating patients with locally advanced and recurrent forms of basal and squamous cell carcinoma of the scalp was developed at N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center [54, 55]. Immediately before each radiation therapy session, local cooling of the tumor was performed until freezing temperature at the border of the tumor and healthy tissue. Irradiation was being performed 5 days long (with a 2-day break) in a single local dose of 2.0–2.5 Gy until a total focal dose of 60–70 Gy was reached. Applying cryoradiation if medically required have made it possible to achieve satisfactory treatment outcomes. Sustained recovery was achieved in 93 (98.9%) out of 94 patients with primary skin cancer and in 14 (77.7%) out of 18 patients with recurrent skin cancer after treatment at other institutions [54]. Due to preserving the forms and functions of local tissues, it was possible to maintain a high quality of life and ensure full rehabilitation. The obtained long-term results are as good as other methods of treatment along with avoiding traumatic surgery in the vast majority of patients. Thus, cryoradiation method, applied in accordance with the developed indications, allowed to improve the results and open a new potential in treating patients with primary cases and recurrences of basal and squamous cell carcinoma of the face.

збереженню форм і функцій місцевих тканин вдалося зберегти високу якість життя і забезпечити повноцінну реабілітацію. Отримані віддалені результати не поступаються іншим методам лікування, при цьому у абсолютної більшості хворих вдалося уникнути травматичних оперативних утручань. Таким чином, кріопроменевий метод, застосований відповідно до розроблених показань, дозволив поліпшити результати і відкрити нові можливості в лікуванні хворих з первинними випадками та рецидивами базально-та плоскоклітинного раку шкіри обличчя.

У клінічне дослідження J.M. Vergnon та співавторів [56] було задіяно 38 пацієнтів з симптоматичною обструктивною пухлиною трахеї або головного бронха, яких пролікували спочатку кріотерапією, проведеною під загальним наркозом, а потім зовнішнім опроміненням. Встановлено, що кріотерапія, яка була оцінена при бронхоскопії, є ефективною у 26 із 38 пацієнтів. Після опромінення у 17 з 26 пацієнтів не виявлено залишкової бронхіальної пухлини. Найкраща виживаність була пов'язана як з ефективністю первинної деструкції пухлини методом кріотерапії, так і з лікуванням, викликаним опроміненням (медіана, 560 днів). Позитивний результат отриманий у 65% (17/26) випадків, тобто, кращий, ніж 35%, про які зазвичай повідомляють лише після опромінення. Ці результати свідчать про ефективність посилення опромінення кріотерапією [56]. Результати експериментальних і клінічних досліджень показали, що кріодеструкція злоякісного новоутворення за визначених режимів сенсibiliзує клітини до подальшої променевої дії, що може сприяти підвищенню ефективності лікування [56, 57].

Кріоелектроліз

До нових тенденцій розвитку кріохірургії слід віднести кріоелектроліз – нова малоінвазивна хірургічна методика абляції тканин, яка поєднує методи електролітичної абляції з кріохірургією [58]. Метод електрохімічного лізису полягає в деструкції пухлинної тканини, розташованої між парою електродів, за рахунок літичної дії луку (гідроксиду натрію) і кислоти (соляної кислоти), яка утворюється в зоні катода й анода відповідно. Крім того, електричне поле викликає потік води (електроосмос) від анода до катода і відповідно виникає набряк біля катода і зневоднення тканин навколо анода. Лізис посилюється прямим впливом постійного електричного струму. Електролітична абляція потребує дуже низьких постійних струмів (від десятків до сотень мА) і дуже низьких напруг (від одного до декількох десятків вольт) [58]. Зона впливу може суттєво поширюватися за рахунок збільшення кількості електродів, які вводяться в пухлину [59].

З використанням оптичних вимірювань та вимірювань струмів в експериментальних дослідженнях було показано, що електроліз може також відбуватися під час заморожування фізіологічного розчину при мінусових температурах, вище евтектичної температури для розчину солі, і що поширення фронту pH

The clinical study by J.M. Vergnon et al. [56] enrolled 38 patients with symptomatic obstructive tumor of the trachea or main bronchus, who were treated first with cryotherapy under general anesthesia, and then exposed to external irradiation. Cryotherapy, assessed by bronchoscopy, was found to be effective in 26 out of 38 patients. No residual bronchial tumor was detected after irradiation in 17 out of 26 patients. The best survival was associated with both the efficacy of primary tumor destruction by cryotherapy and radiation-induced treatment (median, 560 days). A positive result was obtained in 65% (17/26) cases, i.e., it was better than 35% usually reported only after irradiation. These outcomes indicate the effectiveness of enhanced irradiation by cryotherapy [56]. The results of experimental and clinical studies have shown that cryodestruction of a malignant neoplasm under certain regimens sensitizes cells to further radiation exposure, which may increase the effectiveness of treatment [56, 57].

Cryoelectrolysis

Current trends in cryosurgery include cryoelectrolysis which is a new minimally invasive surgical technique of tissue ablation, combining electrolytic ablation with cryosurgery [58]. The electrochemical lysis method consists in the destruction of tumor tissue located between a pair of electrodes due to the lytic action of alkali (sodium hydroxide) and acid (hydrochloric acid), which are formed in the cathode and anode zone, respectively. Besides, the electric field causes a flow of water (electro-osmosis) from the anode to the cathode and, accordingly, there is swelling near the cathode and dehydration of the tissues around the anode. Lysis is enhanced by direct exposure to direct electric current. Electrolytic ablation requires very low direct currents (from dozens to hundreds of mA) and very low voltages (from one to several dozens of volts) [58]. The affected area can expand significantly due to increasing the number of electrodes inserted into the tumor [59].

Using optical and current measurements, experimental studies have shown that electrolysis can also occur during freezing of normal saline in sub-zero temperatures, higher than the eutectic temperature for saline solution, and that spreading pH front does not virtually depend on temperature [60]. Electrolysis occurs in high subzero temperatures during the freezing process as well as during thawing.

практично не залежить від температури [60]. Електроліз відбувається як за високих мінусових температур під час процесу заморожування, так і протягом розморожування. Особливий характер змін температури та електричних струмів у процесі відігрівання заморожених тканин автори пояснюють великою кількістю енергії, яка має бути видалена на зовнішньому краю замороженої ділянки через перетворення твердої/рідкої фази на цій межі.

Концепція кріоелектролітичної абляції, яку запропонував F. Lugnani та співавт. [61] полягає в тому, що на орган-мішень спочатку впливають електролізом для отримання цитотоксичних продуктів електролізу в заданому об'ємі; після чого пухлина піддається кріовпливу для збільшення локальної концентрації та дії на внутрішню частину клітини продуктів електролізу. Це призводить до скорочення часу для проведення електролізу і, як наслідок, до зменшення концентрацій цитотоксичних продуктів електролізу та скорочення циклів заморожування-відтавання під час проведення кріоабляції.

Експерименти з тканинами тварин показали, що кріоелектроліз більш ефективний при абляції клітин, ніж кріохірургія або електролітична абляція окремо [60], що сприяє ефективності кріохірургічних втручань.

Кріохірургія та електропорація

Жоден метод лікування – від розробки концепції до клінічного застосування так швидко не був впроваджений в медичну практику, як електропорація. У техніці електропорації використовуються імпульсні електричні поля, які націлені на пошкодження тканин. Ефект ураження електричним струмом в тому, що він створює пори нанорозмірів у клітинній мембрані, порушуючи внутрішньоклітинний гомеостаз [62]. Реалізація електропорації відбувається за такими етапами: зарядка та поляризація мембрани; дестабілізація структури мембрани та створення гідрофільних пор; збільшення та стабілізація радіусу пори; повторне закриття пори і виживання клітин або загибель через появу великих дефектів [63]. Формування нанопор залежно від впливу електричного току може бути короткочасним або постійним, тому виділяють оборотну і незворотну електропорацію.

В експериментальній роботі J. Edd та співавт. [64] вивчали ефект незворотної електропорації, викликану одним імпульсом тривалістю 20 мкс з напругою 1000 В/см, *in vivo* на печінці щурів. Під час гістологічного дослідження через три години після імпульсу на оброблених ділянках печінки з фіксованою перфузією автори спостерігали оклюзію мікросудин, некроз ендотеліальних клітин і діapedез, що призвело до ішемічного пошкодження паренхіми і масивного скупчення еритроцитів у синусоїдах. Проте архітектура великих кровоносних судин була збереженою. Автори також провели математичний аналіз, який показав, що це пошкодження за своєю природою було нетепловим [64]. Ще однією перевагою незворотної електропорації є більш швидке загоєння рани та менше утворення сполучної тканини.

A special nature of changes in temperature and electric currents in the process of heating the frozen tissues, is attributed by the authors to large amount of energy that must be removed at the outer edge of the frozen area via transformation of solid/liquid phase at this border.

The concept of cryoelectrolytic ablation suggested by F. Lugnani et al. [61] is that the target organ is first exposed to electrolysis to produce cytotoxic electrolysis products in a specified volume; after that the tumor is exposed to cryotherapy to increase the local concentration and action on the inner part of the cell of electrolysis products. This leads to reducing the time for electrolysis and, as a consequence, to decreasing concentrations of cytotoxic electrolysis products and shortening the freeze-thaw cycles during cryoablation.

Experiments with animal tissues have shown that cryoelectrolysis is more effective in cell ablation than cryosurgery or electrolytic ablation alone [60], contributing to the effectiveness of cryosurgery.

Cryosurgery and electroporation

None of the treatment options in the world, from concept development to clinical use, has been introduced into medical practice as quickly as electroporation. The electroporation technique uses pulsed electric fields aimed at damaging tissues. The effect of electric shock consists in creating nanoscale pores in the cell membrane, disrupting intracellular homeostasis [62]. Fulfilling the electroporation occurs at the following stages: charging and polarization of the membrane; destabilization of the membrane structure and creation of hydrophilic pores; increase and stabilization of the pore radius; re-closure of pores and cell survival or cell death due to the appearance of large defects [63]. The formation of nanopores, depending on the influence of electric current, can be short-term or permanent, so there is reversible and irreversible electroporation.

In the experimental paper, J. Edd et al. [64] studied the effect of irreversible electroporation caused by a single impulse lasting 20 μ s with 1000 V/cm of voltage, *in vivo* in the rat liver. In histological examination three hours after the impulse on the treated areas of the liver with fixed perfusion, the authors observed microvascular occlusion, endothelial cell necrosis and diapedesis, which led to ischemic damage to the parenchyma and a massive accumulation of erythrocytes in the sinusoids. However, the architecture of large blood vessels was preserved. The authors also performed a mathematical analysis that showed that this damage was non-thermal in nature. Another advantage of irreversible electroporation is faster wound healing and less connective tissue formation.

The authors believe that the successful outcomes of the procedure are related to the intensity of the applied electric field, the total impulse duration, as well as the

Автори вважають, що успішні результати процедури пов'язані з напруженістю прикладеного електричного поля, загальною тривалістю імпульсу, а також з тимчасовим режимом доставки імпульсів. Найкращі результати отримані після використання 80 імпульсів по 100 мкс при 0,3 Гц з відношенням напруги до відстані 2500 В/см. Цей протокол викликав повну регресію в 12 з 13 пухлин.

Більш високий відсоток регресії пухлин зазначали у пацієнтів з середнім розміром пухлини 1 см у ділянках з підвищеним ризиком для проведення хірургічних маніпуляцій: периваскулярна зона або новоутворення, розташовані близько до жовчних протоків. Низький відсоток регресії спостерігали у пацієнтів, які лікувалися з приводу метастазів у печінку та розміром пухлини більше 5 см [62].

У майбутньому планується об'єднати кріохірургічний метод лікування з електропорацією. Цей підхід обумовлений тим, що зі зниженням температури тканини дія електричного поля обмежується охолодженою зоною, і, крім того, охолодження збільшує напруженість електричного поля. З іншого боку, підвищена осмоляльність зовнішнього клітинного середовища, що викликана дією низьких температур, сприяє зниженню напруги електричного струму під час застосування електропорації [62]. Тобто розвиток цього напрямку, за наявності протилежно спрямованих впливів попереднього заморожування тканини на напруженість електричного поля, потребує подальшого теоретичного і експериментального відпрацювання режимів кріодії і електропорації для досягнення оптимального результату.

ВИСНОВКИ

Кріохірургія є ефективним малоінвазивним хірургічним методом і займає гідне місце серед інших способів лікування злоякісних пухлин незважаючи на те, що на сьогодні продовжуються дослідження щодо оптимізації методик впливу низьких температур на біологічні тканини. Маючи низку переваг над існуючими методами абляції, зокрема за рахунок кріоімунологічної складової, кріохірургія є альтернативним способом традиційного хірургічного лікування.

Потенційно підвищити ефективність кріодеструкції, в тому числі апікаційної кріодеструкції глибоко розташованих пухлин великих об'ємів, може поєднання її з методами гемодилуції, наноабляції, електролізу, електропорації, ультразвукової та фотодинамічної терапії. Проте, більшість цих підходів залишається на рівні модельних експериментів.

Незважаючи на наявність клінічного досвіду поєднання кріовпливу з НВЧ-гіпертермією, лазерною, ультразвуковою, фотодинамічною або променевою терапією, відносно широко в практичну онкологію увійшли методи кріоультразвукової і, особливо, кріопроменевої терапії. Попередня кріодія може підвищувати радіочутливість злоякісних клітин і частково компенсує негативні побічні ефекти опромінювання.

Аналіз літературних даних показав, що незважаючи на потенційний ефект різних фізичних методів в

temporary mode of impulse delivery. The best outcomes were obtained after applying 80 impulses of 100 μ s at 0.3 Hz with voltage/distance ratio of 2500 V/cm. This protocol caused complete regression in 12 out of 13 tumors.

A higher percentage of tumor regression was observed in patients with a mean tumor size of 1 cm in areas with increased risk for surgery: perivascular area or tumors located close to the bile ducts. A low regression rate was observed in patients treated for liver metastases and tumor size greater than 5 cm [62].

In the future, cryosurgical treatment is being planned to be combined with electroporation. This approach is due to the fact that when the temperature of the tissue decreases, the action of the electric field is limited to the cooled zone, and, in addition, cooling increases the electric field strength. On the other hand, the increased osmolality of the external cellular environment, caused by the action of low temperatures, helps to reduce the voltage of electric current during electroporation [62].

In other words, the development of this direction, if there are opposite directed effects of pre-freezing of the tissue on the electric field strength, requires further theoretical and experimental adjustment of cryoaction and electroporation modes to achieve optimal results.

CONCLUSIONS

Cryosurgery is an effective minimally invasive surgical method keeping up with other methods of treating malignant tumors, despite the fact that these days the research on optimizing the method of exposure of biological tissues to low temperatures is still ongoing. Having a number of advantages over existing ablation methods, especially due to the cryoimmunological component, cryosurgery is an alternative method of traditional surgical treatment.

The combination of hemodilution, nanoablation, electrolysis, electroporation, ultrasound and photodynamic therapy can potentially increase cryodestruction efficiency, including application cryodestruction of large deep-seated tumors. However, most of these approaches remain at the level of simulated experiments.

Despite the clinical experience in combination of cryotherapy with UHF-hyperthermia, laser, ultrasound, photodynamic or radiation therapy, the methods of cryoultrasound and, especially, cryoradiation therapy were quite widely introduced into practical oncology. Pre-cryotherapy can increase the radiosensitivity of malignant cells and partially compensate the negative side effects of radiation.

Literature data analysis has shown that despite the potential effect of different physical methods in combination with cryosurgery to confirm the effectiveness of

комбінації з криохірургією для підтвердження ефективності лікування онкологічних хворих у довгостроковій перспективі необхідні подальші проспективні та рандомізовані дослідження.

treatment of cancer patients in the long run, further prospective and randomized studies are essential.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Компендіум. Лікарські засоби. URL: <https://compendium.com.ua/uk/tutorials-uk/onkologiya/rozdil-nbsp-5-printsipi-likuvannya-patsiyentiv-zizloyakisnimi-novoutvorenniyami>
2. Baust J. G., Gage A. A., Bjerklund Johansen T. E., Baust J. M. Mechanisms of Cryoablation: Clinical Consequences on Malignant Tumors. *Cryobiology*. 2014. Vol. 68 №1. P. 1–11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2013.11.001>
3. Чиж Н. А. Эндоскопическая криохирургия. *Проблемы криобиологии и криомедицины*. 2017. Т. 27, № 1. С. 3–18. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo27.01.003>
4. Чиж Н. А., Сандомирский Б. П. Криохирургия. Перегрузка и обновление. *Клінічна хірургія*. 2011. № 6. С. 53–55. URL: <https://hirurgiya.com.ua/index.php/journal/issue/view/37/6-2011>
5. Прохоров Г. Г., Яковлев А. М., Прохоров Д. Г. Основы клинической криомедицины. СПб-М.: «Книга по требованию». 2017. 608 с.
6. Белоус А. М. Грищенко. В. И. Криобиология. К.: *Наукова думка* 1994. 432 с.
7. Jansen M. C., Van Hillegersberg R., Schoots I. G. et al. Cryoablation induces greater inflammatory and coagulative responses than radiofrequency ablation or laser induced thermotherapy in a rat liver model. *Surgery*. 2010. Vol. 147, № 5. P. 686–95. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.surg.2009.10.053>
8. Aarts B. M., Klompenhouwer E. G., Rice S. L. Cryoablation and immunotherapy: an overview of evidence on its synergy. *Insights into Imaging*. 2019. P. 1–12. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13244-019-0727-5>
9. Basu S., Binder R. J., Suto R. et al. Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NF-kappa B pathway. *International immunology*. 2000. Vol. 12(11). P. 1539–1546. DOI: <https://doi.org/10.1093/intimm/12.11.1539>
10. Гольцев А. М., Бондарович М. О., Бабенко Н. М. та ін. Використання наноматеріалів у криобіології та криомедицині. *Проблеми криобіології і криомедицини*. 2020. Т. 30, № 4. С. 313–330. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo30.04.313>
11. Чиж Н. А. Криогенная техника в малоинвазивной хирургии. *Проблеми криобіології і криомедицини*. 2018. Т. 28, № 3. С. 200–211. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo28.03.200>
12. Xu K., Korpan N., Niu L. Modern cryosurgery for cancer. *World Scientific*. 2012. 901 p.
13. Yiu W., Basco M. T., Aruny J. E., Cheng S. W. Cryosurgery: a review. *The International journal of angiology*. 2007. Vol. 16, №1. P. 1–6. DOI: 10.1055/s-0031-1278235

REFERENCES

1. Compendium. Medicines. URL: <https://compendium.com.ua/uk/tutorials-uk/onkologiya/rozdil-nbsp-5-printsipi-likuvannya-patsiyentiv-zizloyakisnimi-novoutvorenniyami>
2. Baust JG, Gage AA, Johansen TEB, Bauste JM. Mechanisms of cryoablation: Clinical consequences on malignant tumors. *Cryobiology*. 2014;68(1):1–11. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2013.11.001>
3. Chizh, NA. Endoscopic Cryosurgery. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2017;27(1):3–18. (In English). DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo27.01.003>
4. Chizh NA, Sandomirskiy BP. Cryosurgery. Overloading and renewal. *Klinicheskaya khirurgiya*. 2011;(6):53–55. (In Russian). URL: <https://hirurgiya.com.ua/index.php/journal/issue/view/37/6-2011>
5. Prokhorov GG, Yakovlev AM, Prokhorov DG. Fundamentals of Clinical Cryomedicine. SPb-M.: “Book on demand”. 2017;608. (In Russian).
6. Belous AM, Grischenko VI. Cryobiology. Kyiv: *Scientific thought*. 1994;432. (In Russian).
7. Jansen MC, van Hillegersberg R, Schoots IG et al. Cryoablation induces greater inflammatory and coagulative responses than radiofrequency ablation or laser induced thermotherapy in a rat liver model. *Surgery*. 2010;147(5):686–95. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.surg.2009.10.053>
8. Aarts BM, Klompenhouwer EG, Rice SL. Cryoablation and immunotherapy: an overview of evidence on its synergy. *Insights into Imaging*. 2019;1–12. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13244-019-0727-5>
9. Basu S, Binder RJ, Suto R et al. Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NF-kappa B pathway. *International immunology*. 2000;12(11):1539–46. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1093/intimm/12.11.1539>
10. Goltsev A, Bondarovich M, Babenko N et al. Use of Nanomaterials in Cryobiology and Cryomedicine. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2020;30(4):313–30. (In English). DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo30.04.313>
11. Chizh NA. Cryogenic Equipment in Minimally Invasive Surgery. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*, 2018;28(3):200–11. (In English). DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo28.03.200>
12. Xu K, Korpan N, Niu L. Modern cryosurgery for cancer. Singapore: *World Scientific*. 2012;901. (In English).
13. Yiu W, Basco MT, Aruny JE, Cheng SW. Cryosurgery: a review. *The International journal of angiology*. 2007;16(1):1–6. (In English). DOI: 10.1055/s-0031-1278235

14. Di D. R, He Z. Z, Sun Z. Q, Liu J. A new nano-cryosurgical modality for tumor treatment using biodegradable MgO nanoparticles. *Nanomedicine*. 2012. Vol. 8, № 8 1233–1241. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2012.02.010>
15. Robilotto A. T., Baust J. M., Van Buskirk R. G. et al. Temperature dependent activation of differential apoptotic pathways during cryoablation in a human prostate cancer model. *Prostate cancer and prostatic diseases*. 2013. Vol. 16, № 1. 41–49. DOI: <https://doi.org/10.1038/pcan.2012.48>
16. Шафранов В. В., Тен Ю. В., Резницкий В. Г., Циганов Д. И., Кожевников В. А. Комбинированное микроволновое и криовоздействие на биоткани в эксперименте и клинике. *Криобиология*. 1988. № 4. С. 27–32.
17. Bischof J. Nanowarming: A new concept in tissue and organ preservation. *Cryobiology*. 2015. Vol. 71, № 1. 176 p. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2015.05.051>
18. Guo J. R., Shen H. C., Liu Y. et al. Effect of Acute Normovolemic Hemodilution Combined with Controlled Low Central Venous Pressure on Blood Coagulation Function and Blood Loss in Patients Undergoing Resection of Liver Cancer Operation. *Hepato-gastroenterology*. 2015. Vol. 140, № 62. P. 992–996. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26902043/>
19. Dronov O. I., Khomenko D. I., Vakunets P. P., Teteryna V. V. Температурні показники після криовпливу, потенційованого дистильованою водою, на експериментальній моделі печінки свині за умов відсутності спланхнічного кровотоку. *Проблеми криобиології та криомедицини*, 2017. Т. 27, № 4. С. 348–355. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo27.04.348>
20. Свиридова Т. И., Бруслик С. В., Ветшев П. С. Дистанционная локальная деструкция опухолей печени. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова*. 2013. Т. 8, № 4. С. 112–117. URL: http://www.pirogov-vestnik.ru/upload/uf/9ad/magazine_2013_4.pdf
21. Chicheł A., Skowronek J., Kubaszewska M., Kaniowski M. Hyperthermia – description of a method and a review of clinical applications. *Reports of practical oncology and radiotherapy*. 2007. Vol. 12, № 5. P. 267–275. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1507-1367\(10\)60065-X](https://doi.org/10.1016/S1507-1367(10)60065-X)
22. Zhu J., Zhang Y., Zhang A. et al. Cryo-thermal therapy elicits potent anti-tumor immunity by inducing extracellular Hsp70-dependent MDSC differentiation. *Scientific reports*. 2016. Vol. 6. P. 1–12. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep27136>
23. Самадов В. Х., Кузьменко А. П., Захарычев В. Д. Оценка противоопухолевого эффекта комбинированного применения криоабляции и микроволновой гипертермии в эксперименте. *Проблеми криобиології*. 2012. Vol. 22, № 3. P. 484–490. URL: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/52>
14. Di DR, He ZZ, Sun ZQ, Liu J. A new nano-cryosurgical modality for tumor treatment using biodegradable MgO nanoparticles. *Nanomedicine*. 2012;8(8):1233–41. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2012.02.010>
15. Robilotto AT, Baust JM, Van Buskirk RG et al. Temperature dependent activation of differential apoptotic pathways during cryoablation in a human prostate cancer model. *Prostate cancer and prostatic diseases*. 2013;16(1):41–9. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/pcan.2012.48>
16. Shafranov VV, Ten YuV, Reznitsky VG, Tsiganov DI, Kozhevnikov VA. Combined microwave and cryotherapy on biological tissues in experiment and clinic. *Cryobiology*. 1988;4:27–32. (In Russian).
17. Bischof J. Nanowarming: A new concept in tissue and organ preservation. *Cryobiology*. 2015;71(1):176. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2015.05.051>
18. Guo JR, Shen HC, Liu Y et al. Effect of Acute Normovolemic Hemodilution Combined with Controlled Low Central Venous Pressure on Blood Coagulation Function and Blood Loss in Patients Undergoing Resection of Liver Cancer Operation. *Hepato-gastroenterology*. 2015;140(62):992–6. (In English). URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26902043/>
19. Dronov OI, Khomenko DI, Vakunets PP, Teteryna VV. Temperature Changes During Cryo-effect Potentiated With Distilled Water Assessed in Porcine Liver Model Without Splanchnic Blood Flow. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2017;27(4):348–55. (In Ukraine). DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo27.04.348>
20. Sviridova TI, Bruslik SV, Vetshev PS. Remote local destruction of liver tumors. *Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*. 2013;8(4):112–7. (In Russian). URL: http://www.pirogov-vestnik.ru/upload/uf/9ad/magazine_2013_4.pdf
21. Chicheł A, Skowronek J, Kubaszewska M, Kaniowski M. Hyperthermia – description of a method and a review of clinical applications. *Reports of practical oncology and radiotherapy*. 2007;12(5):267–75. (In English). DOI: [https://doi.org/10.1016/S1507-1367\(10\)60065-X](https://doi.org/10.1016/S1507-1367(10)60065-X)
22. Zhu J, Zhang Y, Zhang A et al. Cryo-thermal therapy elicits potent anti-tumor immunity by inducing extracellular Hsp70-dependent MDSC differentiation. *Scientific reports*. 2016;6:1–12. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/srep27136>
23. Samadov, VH, Kuzmenko AP, Zaharychev VD. Evaluation of Antitumor Effect of Combined Application of Cryoablation and Microwave Hyperthermia in the Experiment. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2012;22(3):484–90. (In Russian). URL: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/52>
24. Samedov VH, Zakharychev VD, Mosyn OA. Cryosurgery with local microwave hyperthermia in oral cavity cancer treatment. *Clinical Oncology*. 2013;10(2):98–100. (In Russian). URL: <https://doi.org/10.1016/j.cro.2013.02.001>

24. Самедов В. Х., Захарычев В. Д., Мосин О. А. Криохирургия с локальной СВЧ-гипертермией в лечении больных раком слизистой оболочки полости рта. *Клінічна онкологія*. 2013, Т. 10, № 2. С. 98–100. URL: <https://www.clinicaloncology.com.ua/wp/wp-content/uploads/2013/06/244.pdf>
25. Szasz A. Hyperthermia, a modality in the wings. *Journal of cancer research and therapeutics*. 2007; Vol. 3, № 1. P. 56–66. DOI: <https://doi.org/10.4103/0973-1482.31976>
26. Roussakow S. Critical Analysis of Electromagnetic Hyperthermia Randomized Trials: Dubious Effect and Multiple Biases. *Conference Papers in Medicine*. 2013; Article ID 412186. 31 p.
27. Perez C. A., Pajak T., Emami B. et al. Randomized phase III study comparing irradiation and hyperthermia with irradiation alone in superficial measurable tumors. Final report by the Radiation Therapy Oncology Group. *American journal of clinical oncology*. 1991; Vol. 14, № 2. P. 133–141. DOI: <https://doi.org/10.1097/00000421-199104000-00008>
28. Engin K., Tupchong L., Moylan D. J. et al. Randomized trial of one versus two adjuvant hyperthermia treatments per week in patients with superficial tumours. *International journal of hyperthermia*. 1993; Vol. 9, № 3. P. 327–340. DOI: <https://doi.org/10.3109/02656739309005034>
29. Vasanthan A., Mitsumori M., Park J. H. et al. Regional hyperthermia combined with radiotherapy for uterine cervical cancers: a multi-institutional prospective randomized trial of the international atomic energy agency. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2005; Vol. 61, № 1. P. 145–153. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2004.04.057>
30. Niu L., Li J., Zeng J., Zhou L. et al. Comparison of percutaneous cryoablation with microwave ablation in a porcine liver model. *Cryobiology*. 2014; Vol. 68, № 2. P. 194–199. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2014.01.005>
31. Молотов А. В., Заболотный Д. И., Лукач Э. В. Комбинированное применение лейкинферона и криоультразвуковой терапии у больных со злокачественными опухолями ЛОР-органов. *Журнал ушных, носовых и горловых болезней*. 1994. № 4. С. 64–66.
32. Запорожан В. Н., Хаит О. В., Рикберг А. Б., Бакай С. А. Криоультразвуковая терапия доброкачественных заболеваний шейки матки. *Криобиология и криомедицина*. 1983. Вып. 12. С. 64–69.
33. Мерзликин Н. В., Цхай В. Ф., Бражникова Н. А. Криохирургия опухолей печени. *Сибирский онкологический журнал*. 2018. Vol. 17, № 2. P. 41–48. DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2018-17-2-41-48>
34. Шевченко Ю. Л., Карпов О. Э., Ветшев П. С., Бруслик С. В. Возможности HIFU-технологии в лечении пациентов с опухолями в многопрофильном стационаре. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова*. 2009. www.clinicaloncology.com.ua/wp/wp-content/uploads/2013/06/244.pdf
35. Szasz A. Hyperthermia, a modality in the wings. *Journal of cancer research and therapeutics*. 2007; Vol. 3(1):56–66. (In English). DOI: <https://doi.org/10.4103/0973-1482.31976>
26. Roussakow S. Critical Analysis of Electromagnetic Hyperthermia Randomized Trials: Dubious Effect and Multiple Biases. *Conference Papers in Medicine*. 2013; Article ID 412186: 31p. (In English).
27. Perez CA, Pajak T, Emami B et al. Randomized phase III study comparing irradiation and hyperthermia with irradiation alone in superficial measurable tumors. Final report by the Radiation Therapy Oncology Group. *American journal of clinical oncology*. 1991; Vol. 14(2):133–41. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1097/00000421-199104000-00008>
28. Engin K, Tupchong L, Moylan DJ et al. Randomized trial of one versus two adjuvant hyperthermia treatments per week in patients with superficial tumours. *International journal of hyperthermia*. 1993; Vol. 9(3):327–40. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3109/02656739309005034>
29. Vasanthan A, Mitsumori M, Park JH et al. Regional hyperthermia combined with radiotherapy for uterine cervical cancers: a multi-institutional prospective randomized trial of the international atomic energy agency. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2005; Vol. 61(1):145–53. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2004.04.057>
30. Niu L, Li J, Zeng J, Zhou L et al. Comparison of percutaneous cryoablation with microwave ablation in a porcine liver model. *Cryobiology*. 2014; Vol. 68(2):194–9. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2014.01.005>
31. Molotov AV, Zabolotnyy DI, Lukach EV. Combined use of leukiniferon and cryo-ultrasound therapy in patients with malignant tumors of the ENT organs. *Journal of Ear, Nose and Throat Diseases*. 1994; Vol. 4:64–6. (In Russian).
32. Zaporozhan VN, Khait OV, Rikberg AB, Bakay EA. Cryo-ultrasound therapy of benign diseases of the cervix. *Cryobiology and Cryomedicine*. 1983; Vol. 12:64–9. (In Russian).
33. Merzlikin NV, Tskhai VF, Brazhnikova NA. Cryosurgery of liver tumors. *Siberian Journal of Oncology*. 2018; Vol. 17(2):41–8. (In Russian). DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2018-17-2-41-48>
34. Shevchenko YuL, Karpov OE, Vetshev PS. Opportunities provided by the hifu-technology for treatment of oncologic patients in a multi-profile hospital. *Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*. 2009; Vol. 4(2):3–8. (In Russian). URL: http://www.pirogov-vestnik.ru/upload/uf/f7a/magazine_2009_2.pdf
35. Nazarenko GI, Chen VSH, Dzhan L, Khitrova AN. Ultrasound ablation-HIFU high-tech organ-preserving alternative to surgical treatment of tumors. 2008; 87. (In Russian).

- Т. 4, № 2. С. 3–8. URL: http://www.pirogov-vestnik.ru/upload/uf/f7a/magazine_2009_2.pdf
35. Назаренко Г. И., Чен В. Ш., Джан Л., Хитрова А. Н. Ультразвуковая абляция-HIFU высокотехнологичная органосохраняющая альтернатива хирургического лечения опухолей 2008. 87 с.
 36. Aus G. Current Status of HIFU and Cryotherapy in Prostate Cancer. *A Review. European Urology*. 2006. Vol. 50, № 5. P. 927–934. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2006.07.011>
 37. Siddiqui K. M., Billia M., Williams A., Alzahrani A., Chin J. L. Comparative Morbidity of Ablative Energy Based Salvage Treatments for Radio-recurrent Prostate Cancer. *Canadian Urological Association journal*. 2015. Vol. 9, № 9–10. P. 325–329. URL: <http://dx.doi.org/10.5489/cuaj.3113>
 38. Liu J., Deng Z-S. Nano-cryosurgery: advances and challenges. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2009. Vol. 9, № 8. P. 4521–4542. DOI: <https://doi.org/10.1166/jnn.2009.1264>
 39. Yan J-F., Liu J. Nanocryosurgery and its mechanisms for enhancing freezing efficiency of tumor tissues. *Nanomedicine*. 2008. Vol. 4, № 1. P. 79–87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2007.11.002>
 40. Hou Y., Sun Z., Rao W., Liu J. Nanoparticle-mediated cryosurgery for tumor therapy. *Nanomedicine: NBM*. 2018. Vol. 14. P. 493–506. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.11.018>
 41. Ye P., Kong Y., Chen Xi., Li W. et al. Fe₃O₄ nanoparticles and cryoablation enhance ice crystal formation to improve the efficiency of killing breast cancer cells. *Oncotarget*. 2017. Vol. 8, № 7. P. 11389–11399. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13859>
 42. Yu T. H., Liu J., Zhou Y. X. Selective freezing of target biological tissues after injection of solutions with specific thermal properties. *Cryobiology*. 2005. Vol. 50, № 2. P. 174–182. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2005.01.001>
 43. Sun Z., Yan J., Rao W., Liu J. Particularities of Tissue Types in Treatment Planning of Nano Cryosurgery. *3rd IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems*. 2008. P. 885–889. DOI: <https://doi.org/10.1109/NEMS.2008.4484465>
 44. Miehlike A., Chilla R., Vollrath M. Cryosurgery and laser surgery in the treatment of malignant and benign laryngeal processes. *ORL; journal for oto-rhino-laryngology and its related specialties*. 1979. Vol. 41, № 5. P. 273–287. DOI: <https://doi.org/10.1159/000275446>
 45. Ierace M. K., Canfield M. S., Peters-Kennedy J., Kane C. W. Combined carbon dioxide laser and cryosurgical ablation of rostral nasal septum squamous cell carcinoma in 10 dogs. *Veterinary dermatology*. 2017. Vol. 28. P. 435–436. DOI: <https://doi.org/10.1111/vde.12683>
 46. Juarranz A., Jaén P., Sanz-Rodríguez F., Cuevas J., González S. Photodynamic therapy of cancer. Basic principles and applications. *Clinical & translational oncology*. 2008. Vol. 10, № 3. P. 148–154. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12094-008-0172-2>
 47. Benov L. Photodynamic therapy: current status and future directions. *Medical principles and practice*. 2015;24(1):P. 14–28. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1159/000362416>
 48. Heppt MV, Steeb T, Ruzicka T, Berking C. Cryosurgery combined with topical interventions for actinic
 36. Aus G. Current Status of HIFU and Cryotherapy in Prostate Cancer. A Review. *European Urology*. 2006;50(5):927–34. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2006.07.011>
 37. Siddiqui KM, Billia M, Williams A, Alzahrani A, Chin JL. Comparative Morbidity of Ablative Energy Based Salvage Treatments for Radio-recurrent Prostate Cancer. *Canadian Urological Association journal*. 2015;9(9–10):325–9. (In English). URL: <http://dx.doi.org/10.5489/cuaj.3113>
 38. Liu J, Deng Z-S. Nano-cryosurgery: advances and challenges. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2009;9(8):4521–42. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1166/jnn.2009.1264>
 39. Yan J-F, Liu J. Nanocryosurgery and its mechanisms for enhancing freezing efficiency of tumor tissues. *Nanomedicine*. 2008;4(1):79–87. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2007.11.002>
 40. Hou Y, Sun Z, Rao W, Liu J. Nanoparticle-mediated cryosurgery for tumor therapy. *Nanomedicine: NBM*. 2018;14:493–506. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.11.018>
 41. Ye P, Kong Y, Chen Xi, Li W et al. Fe₃O₄ nanoparticles and cryoablation enhance ice crystal formation to improve the efficiency of killing breast cancer cells. *Oncotarget*. 2017;8(7):11389–99. (In English). DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13859>
 42. Yu TH, Liu J, Zhou YX. Selective freezing of target biological tissues after injection of solutions with specific thermal properties. *Cryobiology*. 2005;50(2):174–82. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2005.01.001>
 43. Sun Z, Yan J, Rao W, Liu J. Particularities of Tissue Types in Treatment Planning of Nano Cryosurgery. *3rd IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems*. 2008;885–9. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1109/NEMS.2008.4484465>
 44. Miehlike A, Chilla R, Vollrath M. Cryosurgery and laser surgery in the treatment of malignant and benign laryngeal processes. *ORL; journal for oto-rhino-laryngology and its related specialties*. 1979;41(5):273–87. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1159/000275446>
 45. Ierace MK, Canfield MS, Peters-Kennedy J, Kane CW. Combined carbon dioxide laser and cryosurgical ablation of rostral nasal septum squamous cell carcinoma in 10 dogs. *Veterinary dermatology*. 2017;28:435–6. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1111/vde.12683>
 46. Juarranz A, Jaén P, Sanz-Rodríguez F, Cuevas J, González S. Photodynamic therapy of cancer. Basic principles and applications. *Clinical & translational oncology*. 2008;10(3):148–54. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1007/s12094-008-0172-2>
 47. Benov L. Photodynamic therapy: current status and future directions. *Medical principles and practice*. 2015;24(1):P. 14–28. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1159/000362416>
 48. Heppt MV, Steeb T, Ruzicka T, Berking C. Cryosurgery combined with topical interventions for actinic

47. Benov L. Photodynamic therapy: current status and future directions. *Medical principles and practice*. 2015. Vol. 24, Suppl 1. P. 14–28. DOI: <https://doi.org/10.1159/000362416>
48. Heppt M. V., Steeb T., Ruzicka T., Berking C. Cryosurgery combined with topical interventions for actinic keratosis: a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Dermatology*. 2019. Vol. 180. P. 740–748. DOI: <https://doi.org/10.1111/bjd.17435>
49. Boularda C., Duval Modeste A. B., Boulliea M. C., Marpeaub L., Courvillec P., Joly P. Traitement de la maladie de Paget vulvaire par cryochirurgie et photothérapie dynamique topique Cryosurgery and photodynamic therapy for the treatment of Paget's disease of the vulva: Two cases. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*. 2013. Vol. 140, № 4. P. 282–286. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.annder.2013.01.425>
50. Hou Yi., Zhang Pengju., Wang Dawei., Liu Jing. Liquid Metal Hybrid Platform-Mediated Ice-Fire Dual Noninvasive Conformable Melanoma Therapy. *ACS applied materials & interfaces*. 2020. Vol. 12. P. 27984–27993. DOI: <https://dx.doi.org/10.1021/acsami.0c06023>
51. Лукашова О. П., Міхановський О. А. Морфофункціональний стан клітин карциноми Герена після фракційного рентгенівського опромінення та спільної дії крио- й радіаційного факторів. *Український радіологічний журнал*. 2007. Т. 15, № 3. С. 344–351.
52. Лукашова О. П., Міхановський А. А., Слободянюк О. В. и др. Ультраструктура аденокарциноми ендометрия после криолучевой терапии в сумарных дозах 10, 20 и 30 гр. *Український радіологічний журнал*. 2012. Т. 20, № 1. С. 25–31.
53. Vinnikov V. A., Mikhanovskiy A. A., Maznik N. A. Cytogenetic abnormalities in peripheral lymphocytes of patients with uterine carcinoma treated with radiation therapy: effects of pre-irradiation tumor cryodestruction. *Experimental Oncology*. 2003. Vol. 25, № 4. P. 279–284.
54. Пустынский И. Н., Ткачев С. И., Таболинская Т. Д., Алиева С. Б. Криохирургическое и криолучевое лечение больных раком кожи свода черепа. *Опухоли головы и шеи*. 2015. Т. 5, № 3. С. 24–30. DOI: <https://doi.org/10.17650/2222-1468-2015-5-3-24-30>
55. Пустынский И. Н., Таболинская Т. Д., Ткачев С. И. и др. Лечение больных с местнораспространенными рецидивами рака кожи лица крио-лучевым методом. *Сибирский онкологический журнал*. 2017. Т. 16, № 6. С. 67–72. DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2017-16-6-67-72>
56. Vergnon J. M., Schmitt T., Alamartine E., Barthelemy J. C., Fournel P., Emonot A. Initial combined cryotherapy and irradiation for unresectable non-small cell lung cancer. *Chest*. 1992. Vol. 102. P. 1436–1440. DOI: <https://doi.org/10.1378/chest.102.5.1436>
57. Slanina S., Bazhutova G., Pustynskiy I., Lubaev V., Yagubov A. Survival of the cultured human tumor cells exposed to cryo-radiation treatment. *7-th International Conference of Anticancer Research*. 2004;3608. (In English).
58. Nilsson E., Von Euler H, Berendson J. et al. Electrochemical treatment of tumours. *Bioelectrochemistry*. 2000;51(1):1–11. (In English). DOI: [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(99\)00073-2](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(99)00073-2)
59. Fosh BG, Finch JG, Lea M et al. Use of electrolysis as an adjunct to liver resection. *British Journal of Surgery*. 2002;89(8):999–1002. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2168.2002.02134.x>
- keratosis: a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Dermatology*. 2019;180:740–8 (In English). DOI: <https://doi.org/10.1111/bjd.17435>
49. Boularda C, Duval Modeste AB, Boulliea MC, Marpeaub L, Courvillec P, Joly P. Traitement de la maladie de Paget vulvaire par cryochirurgie et photothérapie dynamique topique Cryosurgery and photodynamic therapy for the treatment of Paget's disease of the vulva: Two cases. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*. 2013;140(4):282–6. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.annder.2013.01.425>
50. Hou Yi, Zhang Pengju, Wang Dawei, Liu Jing. Liquid Metal Hybrid Platform-Mediated Ice-Fire Dual Noninvasive Conformable Melanoma Therapy. *ACS applied materials & interfaces*. 2020; 12:27984–93. (In English). DOI: <https://dx.doi.org/10.1021/acsami.0c06023>
51. Lukashova VA, Mikhanovsky AA. Morphofunctional state of Guerin's carcinoma after fractionated X-ray irradiation and joint simultaneous action of cryo- and radiation factors. *Ukrainian journal of radiology*. 2007;15(3):344–51. (In Ukrainian).
52. Lukashova OP, Mikchanovsky OA, Slobodianiuk OV et al. Ultrastructure of endometrium adenocarcinoma after cryoradiation therapy at total doses of 10, 20 and 30 GY. *Ukrainian journal of radiology*. 2012;20(3):25–31. (In Russian).
53. Vinnikov VA., Mikhanovskiy AA. Maznik NA. Cytogenetic abnormalities in peripheral lymphocytes of patients with uterine carcinoma treated with radiation therapy: effects of pre-irradiation tumor cryodestruction. *Experimental Oncology*. 2003; 25(4):279–84. (In English).
54. Pustynskiy IN, Tkachev SI, Tabolinovskaya TD, Alieva SB. Cryosurgical and cryoradiation treatments in patients with calvarial skin cancer. *Head and Neck Tumors (HNT)*. 2015;5(3):24–30. (In Russian.) DOI: <https://doi.org/10.17650/2222-1468-2015-5-3-24-30>
55. Pustynskiy IN, Tabolinovskaya TD, Tkachev SI et. al. Cryo-radiotherapy for local lyadvanced recurrent skin cancer of the face. *Siberian journal of oncology*. 2017;16(6):67–72. (In Russian). DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2017-16-6-67-72>
56. Vergnon JM, Schmitt T, Alamartine E, Barthelemy JC, Fournel P, Emonot A. Initial combined cryotherapy and irradiation for unresectable non-small cell lung cancer. *Chest*. 1992;102.1436–40. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1378/chest.102.5.1436>
57. Slanina S, Bazhutova G, Pustynskiy I, Lubaev V, Yagubov A. Survival of the cultured human tumor cells exposed to cryo-radiation treatment. *7-th International Conference of Anticancer Research*. 2004;3608. (In English).
58. Nilsson E, Von Euler H, Berendson J. et al. Electrochemical treatment of tumours. *Bioelectrochemistry*. 2000;51(1):1–11. (In English). DOI: [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(99\)00073-2](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(99)00073-2)
59. Fosh BG, Finch JG, Lea M et al. Use of electrolysis as an adjunct to liver resection. *British Journal of Surgery*. 2002;89(8):999–1002. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2168.2002.02134.x>

58. Nilsson E., Von Euler H., Berendson J. et al. Electrochemical treatment of tumours. *Bioelectrochemistry*. 2000. Vol. 51, № 1. P. 1–11. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(99\)00073-2](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(99)00073-2)
59. Fosh, B. G., Finch J. G., Lea M. et al. Use of electrolysis as an adjunct to liver resection. *British Journal of Surgery*. 2002. Vol. 89, № 8. P. 999–1002. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2168.2002.02134.x>
60. Lugnani F., Zanconati F., Marcuzzo T. et al. A Vivens Ex Vivo Study on the Synergistic Effect of Electrolysis and Freezing on the Cell Nucleus. *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10, № 12. P. 1–16. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145133>
61. Lugnani F., Macchioro M., Rubinsky B. Cryoelectrolysis – electrolytic processes in a frozen physiological saline medium. *Peer J*. 2017. P. 1–18. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.2810>
62. Mucciardi G., Magno C., Inferrera A., Lugnani F. Cryosurgery and Irreversible Electroporation: The State of the Art, Advantages, and Limitations. *Handbook of Electroporation*. Springer. Cham. 2016. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-26779-1_110-1
63. Weaver J. C., Chizmadzhev J. A. Theory of electroporation: a review. *Bioelectrochem Bioenergy*. 1996. Vol. 41, № 2. P. 135–160. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(96\)05062-3](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(96)05062-3)
64. Edd J. F., Horowitz L., Davalos R. V., Mir L. M., Rubinsky B. In vivo results of a new focal tissue ablation technique: irreversible electroporation. *IEEE transactions on bio-medical engineering*. 2006. Vol. 53, № 7. P. 1409–1415. DOI: <https://doi.org/10.1109/TBME.2006.873745>
60. Lugnani F., Zanconati F., Marcuzzo T et al. A Vivens Ex Vivo Study on the Synergistic Effect of Electrolysis and Freezing on the Cell Nucleus. *PLoS ONE*. 2015;10(12):1–16. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145133>
61. Lugnani F, Macchioro M, Rubinsky B. Cryoelectrolysis – electrolytic processes in a frozen physiological saline medium. *Peer J*. 2017;1–18. (In English). DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.2810>
62. Mucciardi G, Magno C, Inferrera A, Lugnani F. Cryosurgery and Irreversible Electroporation: The State of the Art, Advantages, and Limitations. *Handbook of Electroporation*. Springer. Cham. 2016. (In English). DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-26779-1_110-1
63. Weaver JC, Chizmadzhev JA Theory of electroporation: a review. *Bioelectrochem Bioenergy*. 1996; 41(2): 135–160. (In English). DOI: [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(96\)05062-3](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(96)05062-3)
64. Edd JF, Horowitz L, Davalos RV, Mir LM, Rubinsky B In vivo results of a new focal tissue ablation technique: irreversible electroporation. *IEEE transactions on bio-medical engineering*. 2006;53(7):1409–15. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1109/TBME.2006.873745>

Перспективи подальших досліджень

Перспективними є подальші дослідження впливу низьких температур на біологічні тканини та оптимізація параметрів крихірургічного методу для досягнення максимального деструктивного ефекту в органі-мішені.

Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Інформація про фінансування

Робота фінансується видатками Державного бюджету України.

Prospects for further research

Further studying the effect of low temperatures on biological tissues and optimizing the parameters of the cryosurgical method to achieve the maximum destructive effect in the target organ are promising.

Conflict of interest

The authors state no conflict of interest.

Funding information

Financed by the state budget of Ukraine.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Чиж Микола Олексійович – кандидат медичних наук, старший дослідник, виконуючий обов'язки завідувача відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України; вул. Переяславська, буд. 23, м. Харків, Україна, 61016;

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Chyzh Mykola Oleksiiovich – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, act. Head of Experimental Cryomedicine Department of Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine; 23, Pereyaslavskya Str., Kharkiv, Ukraine, 61016;

e-mail: n.chizh@ukr.net
моб.: +38 (097) 361-68-61

Внесок автора: розробка концепції статті, підбір літературних джерел, обробка, аналіз інформації, написання тексту статті.

Белочкіна Ірина Владиславівна – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України; вул. Переяславська, буд. 23, м. Харків, Україна, 61016;

e-mail: ibelochkina@ukr.net
моб.: +38 (097) 252-55-12

Внесок автора: написання тексту статті, підготовка статті до друку.

Гладких Федір Володимирович – молодший науковий співробітник групи променевої патології та паліативної медицини Відділу радіології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, 61024, Україна;

e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
моб.: +38 (099) 782-78-72

Внесок автора: ідея, літературний пошук, допомога у підготовці статті до друку.

e-mail: n.chizh@ukr.net
ph: +38 (097) 361-68-61

Author contributions: study concept development, processing and analyzing information, literature sourcing, writing the article.

Belochkina Iryna Vladyslavivna – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Senior Researcher of Experimental Cryomedicine Department of Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine; 23, Pereyaslavska Str., Kharkiv, Ukraine, 61016;

e-mail: ibelochkina@ukr.net
ph: +38 (097) 252-55-12

Author contributions: writing the article, preparing the article for printing.

Hladkykh Fedir Volodymyrovych – Junior Research fellow of Radiation Pathology and Palliative Medicine Group of Radiology Department of State Organization “Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, 61024 Ukraine;

e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
ph: +38 (099) 782-78-72

Author contributions: idea, literature sourcing, preparing the article for printing.