



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΘΕΡΜΟΤΗΤΑΣ

**Κρυοχειρουργική: Αρχές – Εφαρμογές – Μοντέλα
Η εναλλακτική της Νανοκρυοχειρουργικής
Προοπτικές και Προκλήσεις για Μηχανικούς και Χειρουργούς**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Αρτσίτας Σωτήριος
(02113588)

Εποπτεία: Καθηγήτρια
Κα Κορωνάκη Ειρήνη

Επίβλεψη:

Αθήνα, Φεβρουάριος 2019

Στην οικογένεια και τους δασκάλους μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΜΕΡΟΣ Ι: ΚΛΑΣΙΚΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο _ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

- 1.1 Η ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ
- 1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο _ ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΣΤΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

- 2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ
- 2.2 ΑΜΕΣΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΒΛΑΒΗ
- 2.3 ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΒΛΑΒΗ
- 2.4 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ ΨΥΞΗΣ
- 2.5 ΟΙ ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΟΙ ΚΥΚΛΟΙ ΤΩΝ ΚΡΥΟΓΟΝΙΚΩΝ ΜΕΣΩΝ
- 2.6 Ο ΚΥΚΛΟΣ ΨΥΞΗΣ – ΑΠΟΨΥΞΗΣ
- 2.7 Η ΚΡΥΟΓΟΝΙΚΗ ΒΛΑΒΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο _ ΠΕΔΙΑ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ

- 3.1 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ
- 3.2 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ ΑΔΕΝΑ
- 3.3 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ
- 3.4 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΝΕΦΡΟΥ
- 3.5 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ
- 3.6 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΟΙΣΟΦΑΓΟΥ
- 3.7 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΗΣ ΤΡΑΧΕΙΑΣ, ΤΩΝ ΒΡΟΓΧΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ
- 3.8 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΩΝ ΑΙΜΟΦΟΡΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ
- 3.9 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΣΤΟΝ ΚΑΡΔΙΑΚΟ ΜΥ
- 3.10 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ
- 3.11 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ
- 3.12 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΟΦΘΑΛΜΟΥ
- 3.13 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΟΥΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ
- 3.14 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ
- 3.15 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΩΣ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΠΑΓΩΓΕΑΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο _ ΕΜΒΑΘΥΝΟΝΤΑΣ ΣΤΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

- 4.1 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ
- 4.2 ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΤΗΝ ΕΥΡΕΙΑ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ
- 4.3 ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΣΤΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ
- 4.4 ΣΥΓΧΡΟΝΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ
- 4.5 ΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

ΜΕΡΟΣ ΙΙ: ΜΕΣΟΛΑΒΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΚΡΥΟΧΕΙΡ/ΚΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο _ ΓΕΝΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΝΑΝΟΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο _ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΣΤΙΣ ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

- 2.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΣΤΟ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΝ ΠΑΓΟΥ
- 2.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΣΤΟ ΘΕΡΜΙΚΟ ΠΕΔΙΟ
- 2.3 ΕΝΙΣΧΥΜΕΝΗ ΚΡΥΟΝΕΚΡΩΣΗ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ
- 2.4 ΘΕΡΜΙΚΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΤΩΝ ΥΓΙΩΝ ΙΣΤΩΝ
- 2.5 ΑΥΞΗΜΕΝΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ ΣΤΗ ΝΑΝΟΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο _ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

- 3.1 ΒΙΟΔΙΑΣΠΩΜΕΝΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΑΠΟ MgO
- 3.2 ΜΑΓΝΗΤΙΚΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ Fe₃O₄
- 3.3 ΠΟΛΥΜΕΡΙΚΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ
- 3.4 ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΡΥΣΟΥ ΜΕ ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ TNF-α

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο _ ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ ΣΤΗ ΝΑΝΟΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο _ ΜΟΝΤΕΛΑ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΘΕΡΜΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

- 5.1 ΜΟΝΤΕΛΟ ΚΛΑΣΙΚΗΣ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ
- 5.2 ΜΟΝΤΕΛΟ ΝΑΝΟΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο _ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ ΤΗΣ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Σκοπός της Διπλωματικής Εργασίας είναι η εν συνόλω επισκόπηση του Επιστημονικού Τομέα της Κρυσχειρουργικής ως προς την αντιμετώπιση ογκολογικών Χειρουργικών παθήσεων με βάση τη διαθέσιμη βιβλιογραφία των τελευταίων δεκαετιών μέσα στις οποίες ο κλάδος αυτός της Χειρουργικής γνώρισε ιδιαίτερη ανάπτυξη και αποτέλεσε το αντικείμενο του ενδιαφέροντος μιας αξιοσημείωτης μερίδας Επιστημόνων ανάμεσα τους Χειρουργοί και Μηχανικοί.

Η παρούσα Πτυχιακή Εργασία χωρίζεται σε δύο δομικά μέρη. Το πρώτο μέρος αφορά την κλασική Κρυσχειρουργική, όπως εφαρμόζεται στην κοινή κλινική πράξη σήμερα. Στο πρώτο κεφάλαιο του πρώτου μέρους αρχικά επιδιώκεται μια βασική διευθέτηση ως προς το αντικείμενο της Κρυσχειρουργικής ως μεθόδου και τεχνικής κατά την εφαρμογή της στην Ιατρική. Στη συνέχεια επιχειρείται μια ιστορική αναδρομή στις εφαρμογές της μεθόδου, από τους προϊστορικούς χρόνους οπότε και αναφέρεται για πρώτη φορά η εφαρμογή ψύχους ως μέθοδος αντιμετώπισης παθολογικών καταστάσεων, μέχρι και σήμερα.

Στο δεύτερο κεφάλαιο του πρώτου μέρους περιγράφονται οι βασικές αρχές που διέπουν τους μηχανισμούς επίδρασης της κρυογονικής θεραπείας στους ιστούς (in vivo και ex vivo) καθώς και μια συνοπτική περιγραφή των συστημάτων που την υποστηρίζουν. Συγκεκριμένα, αρχικά περιγράφονται οι δύο βασικοί μηχανισμοί της κυτταρικής κρυσχειρουργικής βλάβης. Στη συνέχεια αναλύονται οι τεχνολογικές μέθοδοι που εφαρμόζονται κατά τη διαδικασία της κατάψυξης των ιστών προς κρυοκαταστροφή, καθώς και ο έλεγχος της διαδικασίας ψύξης. Έπειτα ακολουθεί μια περιγραφή των θερμοδυναμικών κύκλων των ψυκτικών μέσων που χρησιμοποιούνται στη Κρυσχειρουργική. Στο τέλος του δεύτερου κεφαλαίου επιχειρείται ο ορισμός της έννοιας του κύκλου ψύξης – απόψυξης και η ανάδειξη της σημασίας του για τη μεγιστοποίηση των αποτελεσμάτων της Κρυσχειρουργικής και τέλος περιγράφεται η τυπική κρυογονική βλάβη που προκύπτει μετά την αρχική κατάψυξη και τη συνακόλουθη απόψυξη των ζωντανών ιστών.

Στο τρίτο κεφάλαιο αναλύονται τα κυριότερα πεδία εφαρμογών της Κρυσχειρουργικής και γίνεται αναφορά στις αρχικές μορφές της μεθόδου και η εξέλιξή τους μέχρι σήμερα, στο μεγαλύτερο μέρος των βιολογικών συστημάτων του ανθρώπινου οργανισμού. Ειδικότερα αναφέρονται οι εφαρμογές της Κρυσχειρουργικής στη χειρουργική του ήπατος, του προστάτη αδένου, του δέρματος, του νεφρού, του παγκρέατος, του οισοφάγου, του πνεύμονα, των αγγείων και της καρδιάς, του νευρικού ιστού και του εγκεφάλου, των οστών, του οφθαλμού, του ουρογεννητικού συστήματος και του μαστού. Στο τέλος του κεφαλαίου αναλύεται η δυναμική της Κρυσχειρουργικής ως ανοσολογικός επαγωγέας για την ενεργοποίηση των κυττάρων της άμυνας του οργανισμού εναντίων κακοήθων όγκων.

Στο τέταρτο κεφάλαιο επιχειρείται η εμβάθυνση στη σημασία της Κρυσχειρουργικής στην Ιατρική. Αρχικά περιγράφονται τα πλεονεκτήματα της μεθόδου συγκριτικά με αυτά της κλασικής Χειρουργικής που μέχρι σήμερα αποτελεί τον χρυσό κανόνα στην αντιμετώπιση κακοηθειών στα συμπαγή όργανα. Στη συνέχεια αναλύονται οι κυριότεροι παράγοντες που οδήγησαν στον αρχικό περιορισμό των πραγματικών εφαρμογών της Κρυσχειρουργικής με έμφαση στην έλλειψη ποιοτικά επαρκούς τεχνολογικού εξοπλισμού που θα μπορούσε να εξασφαλίσει προβλέψιμα και αποδοτικότερα αποτελέσματα, συγκριτικά με τις λοιπές διαθέσιμες τεχνικές. Έπειτα επισημαίνονται οι τεχνολογικές εξελίξεις στον τομέα της απεικόνισης που επέτρεψαν όχι μόνο την αναβίωση της μεθόδου, αλλά και την περαιτέρω εξέλιξη της, ώστε πλέον η Κρυσχειρουργική να θεωρείται ως μια από τις λίγες πολλά υποσχόμενες μεθόδους. Ως συμπληρωματική τεχνική στη κλασική χειρουργική η Κρυσχειρουργική πλέον φαίνεται να διαθέτει μια ευρεία μελλοντική προοπτική όχι μόνο

στο επίπεδο της ακριβούς πρόβλεψης των αποτελεσμάτων της, αλλά και στην καθαρή απόδοση της ως προς την κρουοκαταστροφή απλών και σύνθετων αλλοιώσεων, όπως στην περίπτωση βλαβών πλησίον σε μεγάλες αγγειακές δομές που θεωρούνταν κλασικά ανεγχείρητες. Στο τέλος του τέταρτου κεφαλαίου ορίζεται η εξελιγμένη μέθοδος της συνδυασμένης Κρυσχειρουργικής.

Σε αυτή, η κλασική Κρυσχειρουργική συνδυάζεται με τη χρήση ευρέως χρησιμοποιούμενων χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, κρυσπροστατευτικών παραγόντων και νανοσωματιδίων, που αλλάζουν τις θερμικές ιδιότητες τόσο της αλλοίωσης όσο και των πέριξ υγιών ιστών. Οι παραπάνω συνδυαστικές τεχνικές, όπως έδειξαν πολλαπλά πειραματικά μοντέλα, βελτίωσαν σημαντικά το θεραπευτικό προφίλ της Κρυσχειρουργικής σε τέτοιο βαθμό ώστε πλέον ένα μεγάλο μέρος της έρευνας να εστιάζει στην τυποποίηση της χρήσης τους που είναι συνεπώς απαραίτητη για την εξαγωγή του μέγιστου δυνατού αποτελέσματος από τη συνδυασμένη Κρυσχειρουργική.

Το δεύτερο μέρος ουσιαστικά αποτελεί την «πρακτική» συνέχεια του πρώτου και εστιάζει στη μέθοδο της συνδυασμένης Κρυσχειρουργικής, που αφορά στη μεσολαβούμενη από νανοσωματίδια Κρυσχειρουργική, που αναφέρεται συχνά στη βιβλιογραφία και ως Νανοκρυσχειρουργική.

Στο πρώτο κεφάλαιο ορίζεται και αναλύεται ο νεοσύστατος κλάδος της Νανοκρυσχειρουργικής. Στο δεύτερο κεφάλαιο περιγράφεται η επίδραση των νανοσωματιδίων στις θερμοφυσικές ιδιότητες του ιστού - στόχου. Συγκεκριμένα αναλύονται οι επιδράσεις στον σχηματισμό των κρυστάλλων πάγου (που θεωρείται το κύριο φαινόμενο που επάγει την κρυστόκρωση) και στη διαμόρφωση του προφίλ της θερμοκρασιακής κατανομής στους ιστούς. Στη συνέχεια παρατίθεται ο μηχανισμός με τον οποίο η εισαγωγή νανοσωματιδίων οδηγεί σε ενισχυμένη κρυστόκρωση και περιγράφεται η διαδικασία κρυσπροστασίας των πέριξ υγιών ιστών. Τέλος επισημαίνεται το αυξημένο δυναμικό απεικόνισης των ιστών αλλά και της διαδικασίας της κρυσθεραπείας με τη χρήση νανοσωματιδίων.

Στο τρίτο κεφάλαιο αναλύονται τα κυριότερα είδη νανοσωματιδίων που χρησιμοποιούνται στην Κρυσχειρουργική. Ειδικότερα, περιγράφονται τα βιοδιασπώμενα νανοσωματίδια Μαγνησίου, τα μαγνητικά νανοσωματίδια Σιδήρου, τα πολυμερικά νανοσωματίδια και τέλος τα νανοσωματίδια με ικανότητα μεταφοράς θεραπευτικού παράγοντα όπως ο TNF- α .

Στο τέταρτο κεφάλαιο παρατίθενται οι προκλήσεις που περιλαμβάνει η ανάπτυξη όλο και περισσότερων τύπων νανοσωματιδίων και η εισαγωγή τους στην κοινή πρακτική της κρυσθεραπείας.

Στη συνέχεια στο πέμπτο κεφάλαιο περιγράφεται ένα αριθμητικό μοντέλο κλασικής Κρυσχειρουργικής και έπειτα ένα δεύτερο που αφορά στη βελτιστοποίηση ως προς τη χρήση νανοσωματιδίων (ως προς το είδος τους) αλλά και χρήσης πολλαπλών cryogrobes (ως προς τη διεύθετησή τους).

Τέλος το έκτο κεφάλαιο παραθέτει ως επίλογο το μέλλον της Κρυσχειρουργικής με τις προκλήσεις που πρέπει να αντιμετωπιστούν και τις πιθανές δυνατές εφαρμογές της μεθόδου ως συμπληρωματικής της κλασικής Χειρουργικής.

Για τη διεκπεραίωση της παρούσης Διπλωματικής Εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την Καθηγήτρια κα Κορωνάκη Ειρήνη για τη συνολική βοήθεια και εποπτεία που παρείχε κατά τη διάρκεια εκπόνησής της. Μέσα από τις χρήσιμες παρατηρήσεις και τις σχετικές διορθώσεις της κατέστη εφικτή η συνολική παρουσίαση της Κρυσχειρουργικής ως μεθόδου και ως τεχνικής, τόσο από τη σκοπιά του Ιατρικού ενδιαφέροντος όσο και από την τεχνική σκοπιά του Μηχανικού. Ειδικά, όσο αφορά στη τελευταία, ως στόχος τίθεται η ανάλυση, η μοντελοποίηση και η πρόβλεψη των αποτελεσμάτων της μεθόδου κατά την εφαρμογή της στην κλινική πράξη προκειμένου να εξαχθούν τα μέγιστα δυνατά θεραπευτικά αποτελέσματα προς όφελος του ασθενούς.

ΜΕΡΟΣ Ι

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ [1,10]

Η Κρυοχειρουργική περιλαμβάνει τη χρήση θερμοκρασιών υπό του μηδενός για την καταστροφή μη φυσιολογικών ιστών που στη συνέχεια παραμένουν in situ (στην αρχική τους θέση) να καταστραφούν από κύτταρα του ανοσιακού συστήματος και να απορροφηθούν σταδιακά από τον οργανισμό. Το γεγονός ότι οι ιστοί παραμένουν in situ, όπως θα δούμε στη συνέχεια, προσφέρει ένα από τα βασικά πλεονεκτήματα της μεθόδου.

Η θεραπευτική χρήση του ψύχους βρήκε εφαρμογή, για ένα εύλογο χρονικό διάστημα στην Ιατρική, πρωτίστως για τη δυνατότητα που προσφέρει σε ότι αφορά την αναισθησία. Όμως η ιστική βλάβη που μπορεί να προκαλέσει έχει επίσης αναφερθεί από αρχαιοτάτων χρόνων και αναφέρεται τόσο από αστικές όσο και απο στρατιωτικές πηγές, συμπεριλαμβανομένων των ιστορικών αναφορών που περιγράφουν την επίδραση του ψυχρού κλίματος σε διάφορους ιστούς του σώματος. Ωστόσο η ιστορία της Κρυοχειρουργικής είναι πολύ μικρή, και κατά τον 19ο και 20ο αιώνα, ήταν στενά συνυφασμένη με την εξέλιξη της Φυσικής χαμηλών θερμοκρασιών και μηχανολογικών – τεχνολογικών εξελίξεων για την τελειοποίηση των μέσων εφαρμογής ψύχους στους ιστούς. Μια ανασκόπηση της ιστορίας της Κρυοχειρουργικής δείχνει ότι έχει πραγματοποιηθεί αλματώδης εξέλιξη τα τελευταία χρόνια, και ότι κάθε άλμα ήταν συνήθως αποτέλεσμα κάποιας τεχνολογικής καινοτομίας. Το γεγονός ότι η εφαρμογή θερμοκρασιών κάτω από -100 ° C μπορεί να προκαλέσει κυτταρικό θάνατο υποστηρίχθηκε από τις έρευνες του Schreuder. Έτσι αποδείχθηκε ότι η εφαρμογή ψύχους για την καταστροφή ιστών μπορεί να αποτελέσει τη βάση για μια μέθοδο χειρουργικής θεραπείας.

Σήμερα, ο κύριος στόχος της κρυοχειρουργικής είναι η καταστροφή του νοσούντος ιστού, όπως είναι τα καλοήθη και κακοήθη νεοπλασμάτα, με εφαρμογή εξαιρετικά χαμηλής θερμοκρασίας.

1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ [2,9,10,11,13]

Αρχαία Αίγυπτος και Κλασική Αρχαιότητα

Πριν από το 3000 π.Χ., η χρήση ψυχρών επιθεμάτων (κομπρέσες) για την αντιμετώπιση καταγμάτων κρανίου και μολυσμένων τραυμάτων αναφέρεται σε έναν αιγυπτιακό πάπυρο, που καταχωρήθηκε από τον ιστορικό Breasted, ως ο Χειρουργικός πάπυρος του Edwin Smith. Ο συγγραφέας ανέφερε σε δύο τοποθετήσεις του την κρυοθεραπεία: το ένα ήταν από τον αρχικό πάπυρο και το άλλο από υλικό μεταφρασμένο από ιερογλυφικά από τον Breasted.

Το εδάφιο της κρυοθεραπείας μεταφράζεται από τον Breasted ως εξής: "Θα κάνετε για αυτόν δροσερές κομπρέσες αντλώντας τη φλεγμονή από το χείλος της πληγής".

Από την άλλη πλευρά του νομίσματος, η πρόληψη και η θεραπεία ασθενειών ήταν επίσης αντικείμενο μελέτης στην Αρχαία Ελλάδα, ειδικά κατά τον 5^ο π.Χ. αιώνα. Για παράδειγμα ο

Ιπποκράτης τόνιζε τη χρήση ψύχους για τον έλεγχο αιμορραγιών καθώς και τον περιορισμό του οιδήματος τραυματισμένων αρθρώσεων. Επιπλέον, στρατιωτικές επιχειρήσεις σε ορεινές και δύσβατες περιοχές συχνά επέφεραν οξύ τραύμα από ψύχος (κρυοπαγήματα). Για την αντιμετώπιση του φαινομένου αυτού πολλοί στρατηγοί της αρχαιότητας συμπεριλαμβανομένου και του Μεγάλου Αλεξάνδρου του Βασιλείου της Μακεδονίας προέτρεπαν τους στρατιώτες τους να αλείφονται με ζωικής προέλευσης έλαια για την προστασία τους από το ψύχος. Περίπου 300 χρόνια αργότερα, ο Κέλσιος περιέγραψε την όψη του δέρματος μετά από την έκθεση σε ψυχρό περιβάλλον και παρατήρησε την εμφάνιση ξηρής γαγγραινώδους νέκρωσης μετά από έκθεση σε εξαιρετικά χαμηλή θερμοκρασία. Ο Galen περιέγραψε επίσης την απώλεια αισθητικότητας που συνοδεύει την έκθεση σε έντονο ψύχος περί το 170 μ.Χ. στο έργο του «Ο πόνος ως μέσο διάγνωσης».

Από τον 12^ο μέχρι τον 18^ο αιώνα

Αν και παραμένει ανώνυμος, είναι γνωστό ότι στα μέσα του 11^{ου} αιώνα ένας Αγγλοσάξονας μοναχός χρησιμοποίησε το κρύο ως τοπικό αναισθητικό. Υπάρχουν ενδείξεις ότι σχεδόν ακριβώς 500 χρόνια αργότερα, η αναισθησία κατά την ψύξη ήταν γνωστή στους Ιταλούς Ιατρούς και χειρουργούς. Άλλα 100 χρόνια αργότερα, το 1661, ο Thomas Bartholin από την Κοπεγχάγη περιέγραψε τη χρήση του κρύου ως θεραπεία για ένα μεγάλο εύρος καθημερινών ασθενειών. Στα 1665, ο Robert Boyle δημοσίευσε μια μονογραφία για την επίδραση του κρύου σε ζώντες οργανισμούς.

Μια εφεύρεση της αρχές του 18ου αιώνα που είχε καθοριστική επίδραση για την πρόοδο στην κρυοθεραπεία, ήταν το γνωστό μας θερμόμετρο υδραργύρου. Το θερμόμετρο που επινοήθηκε το 1714 από το Fahrenheit και επανεφευρέθηκε από τους Reaumur και Celsius, κατέστησε δυνατόν να μετρηθεί «το πραγματικό ψύχος», ή η θερμοκρασία, κατά την οποία ελάμβαναν χώρα τα γεγονότα. Έτσι οι επιστήμονες μπορούσαν πλέον να επιδιώξουν την επίτευξη χαμηλότερων θερμοκρασιών, να τυποποιήσουν τα πειράματά τους και να μοιραστούν τα αποτελέσματά τους.

Το 1787, ο Spallanzani δημοσίευσε τις έρευνές του με τα αποτελέσματα της εφαρμογής θερμοκρασίας -24 °C σε έντομα, ψάρια, αμφίβια, ερπετά, πτηνά και θηλαστικά. Επίσης, καθιέρωσε ότι το νερό μπορεί να υπάρχει σε χαμηλές θερμοκρασίες (υπό του μηδενός) χωρίς να υφίσταται στερεοποίηση (πάγος), ένα φυσικό φαινόμενο που αργότερα ονομάστηκε υπερψύξη (supercooling).

Κατά τη διάρκεια του πολέμου της Αμερικανικής Ανεξαρτησίας (1775 έως 1783), ο Δρ. James Thatcher σημείωσε στο ημερολόγιό του τις σοβαρές απώλειες των αμερικανικών δυνάμεων από τραύματα εκ ψύχους. Κατέγραψε, για παράδειγμα, ότι κατά τη διάρκεια μιας μαζικής μεταφοράς στρατευμάτων, 500 στρατιώτες ήταν "ελαφρώς κατεψυγμένοι" μετά από μια νύχτα στο ύπαιθρο. Στη διάρκεια των Ναπολεόντειων Πολέμων, ο Χειρουργός του Ναπολέοντα, στρατηγός Jean Larrey (1766 - 1842) έκανε λεπτομερείς παρατηρήσεις των επιδράσεων του ψύχους στους ασθενείς του. Ο στρατηγός Larrey περιέγραψε ερύθημα και φουσκάλες του δέρματος μετά από κατάψυξη, σημειώνοντας επίσης ότι η γάγγραινα δεν ήταν αναπόφευκτη μετά από έκθεση σε ψύχος που δεν ήταν παρατεταμένη. Περιγράφει επίσης την ομαλή επούλωση τραυμάτων που προκλήθηκαν από κρύο. Αξιοποιώντας τις ιδιότητες του κρύου, οι χειρουργοί του Μεγάλου Στρατού του Ναπολέοντα έψυχαν τους ιστούς με επιφανειακή εφαρμογή χιονιού και πάγου για αναισθησία προς διευκόλυνση του ακρωτηριασμού.

Κατά τον 19^ο αιώνα

Οι πρώτες επιτυχείς θεραπείες κακοήθους νόσου με κρυοθεραπεία, αναφέρθηκαν στην Αγγλία μεταξύ 1845 και 1851 από τον Δρ. James Arnott (1797 έως 1883), που χρησιμοποίησε παγωμένα διαλύματα αλατόνευρου σε θερμοκρασίες από 18 ° έως 24 ° C για τη θεραπεία καρκίνου του μαστού και της μήτρας. Ο Δρ. Arnott παρατήρησε, «Η ζελατινοποίηση που συντηρεί τη δευτεροπαθή φλεγμονή και καταστρέφει τη ζωτικότητα του καρκινικού κυττάρου, δεν φαίνεται μόνο να παρατείνει τη ζωή για μια σημαντική περίοδο, αλλά, κατά πάσα πιθανότητα, στο αρχικό στάδιο της νόσου, ασκεί μια αμιγώς θεραπευτική δράση». Έτσι, ο Arnott ήταν πιθανότατα ο πρώτος Ιατρός που χρησιμοποίησε το κρύο για να θεραπεύσει κακοήθειες. Αν και δεν κατόρθωσε να θεραπεύσει τους ασθενείς του, ωστόσο μείωσε σημαντικά τη νοσηρότητα του καρκίνου, ειδικά τον πόνο, ο οποίος ακόμα και σήμερα αποτελεί μια σοβαρή πρόκληση για τον θεράποντα Ιατρό. Το μεγαλύτερο μέρος του έργου του Arnott επικεντρώθηκε στην εφαρμογή κρύου στην αναισθησία.

Αν και τα χαρακτηριστικά αναισθητοποίησης που επιδεικνύουν οι χαμηλές θερμοκρασίες ήταν ήδη αποδεδειγμένα γεγονότα μέχρι τα μέσα του 1800, αναγνωρίστηκε ωστόσο αργότερα ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν χαμηλές θερμοκρασίες για την καταστροφή τμημάτων ενός όγκου. Αν και οι σύγχρονοι του Arnott αναγνώρισαν τη χρησιμότητα της εφαρμογής του κρύου και άρχισαν ακολούθως να χρησιμοποιούν τεχνικές κατάψυξης σε τοπικό επίπεδο, περαιτέρω εξελίξεις στην κρυοχειρουργική έπρεπε να περιμένουν τις τεχνολογικές προόδους, για την ανάπτυξη βελτιωμένων κρυογονικών παραγόντων και μεθόδων.

Ο Γερμανός χειρουργός Johann Friedrich August von Eschsch, ένας σχεδόν σύγχρονος του Arnott και εφευρέτης της μάσκας αιθέρα για αναισθησία, ήταν μια προεξέχουσα φυσιολογία της στρατιωτικής χειρουργικής της εποχής του. Τα συμπεράσματά του από εμπειρίες πεδίου μάχης ξεκίνησαν με θεμελιώδεις αλλαγές στην επείγουσα περίθαλψη, τη διαχείριση νοσοκομείων, την Ιατρική εκπαίδευση και την έρευνα. Ο Von Eschsch παρατήρησε ότι η ψύξη των τραυμάτων μειώνει σημαντικά την τοπική φλεγμονή και το σχηματισμό πύου με αποτέλεσμα στη συνέχεια να εισάγει την κρυοθεραπεία στη χειρουργική πρακτική ρουτίνας. Το μεγάλο του πάθος για αυτή τη θεραπεία οδήγησε στο ψευδώνυμο "Fiete Isebüddel" (το πακέτο πάγου του Fritz).

Έχει διατηρηθεί επίσης η αξιοσημείωτη άποψη του περί των πλεονεκτημάτων της κρυοθεραπείας: «Η εφαρμογή του κρύου ως μέσο καταπολέμησης της υπεραιμίας και των φλεγμονωδών καταστάσεων δεν έχει λάβει την αναγνώριση που της αξίζει σε ένα μη αμελητέο αριθμό σύγχρονων Ιατρών. Αν και ο αριθμός των Ιατρών που αρνούνται τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες του κρύου δεν είναι μεγάλος, πολλοί τις θεωρούν επουσιώδεις. Εγώ ως εκ τούτου, αναμένω απόλυτα, και είμαι διατεθειμένος να αντιμετωπίσω δυναμικές αντιστάσεις από πολλές πλευρές, όταν λέω ότι από όλα τα μέσα που έχουμε στη διάθεσή μας για την καταπολέμηση της φλεγμονής, θεωρώ το κρύο να είναι το πιο σημαντικό. Πράγματι, χωρίς αυτό το μέσο, θα προτιμούσα να μην είμαι χειρουργός».

Το 1883, το Openchowski προσπάθησε να εντοπίσει τη φυσιολογική λειτουργία διαφορετικών περιοχών εντός του εγκεφαλικού φλοιού σκύλων, με στοχευμένη κατάψυξη ιστού. Αυτή παρήγαγε περιφερικούς σπασμούς ή παράλυση και ήταν η πρώτη φορά που πραγματοποιήθηκε η λειτουργική χαρτογράφηση του εγκεφαλικού φλοιού.

Στα τέλη του 19ου αιώνα παρατηρήθηκαν αρκετές σημαντικές ανακαλύψεις στον τομέα της κρυογονικής. Σπρέι αιθέρα και χλωριούχο αιθύλιο χρησιμοποιήθηκαν για ψυχρή αναλγησία, αν και όχι για θεραπευτική καταστροφική κατάψυξη ιστών. Το 1877, ο Cailletet, στη Γαλλία, άρχισε να αναπτύσσει μεθόδους για την αδιαβατική εκτόνωση σε συστήματα αερίων για ψύξη, τα οποία οδήγησαν στην υγροποίηση του οξυγόνου, του αέρα και του αζώτου. Ο υγρός αέρας (-190 °C) ήταν που χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά κλινικά από τους Campbell και White το 1889 για αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών του δέρματος και εφαρμόστηκε τοπικά με στυλό, σπρέι ή ορειχάλκινη συσκευή roll-on.

Από το 1900 έως το 1960

Μετά το 1910, ο υγροποιημένος αέρας φαίνεται να χρησιμοποιήθηκε σπάνια. Το στερεό CO₂ (ξηρός πάγος) ήταν ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος κρυογονικός παράγοντας στις αρχές της δεκαετίας του 1900, και έγιναν προσπάθειες για καινοτομίες που να διευκολύνουν τη χρήση του, όπως ακροφύσια χαλκού ή στυλεοί (probes) συνδεδεμένοι σε πηγή CO₂. Το στερεό διοξείδιο του άνθρακα (-78,5°C) ή χιόνι ανθρακικού οξέος ή ξηρός πάγος, χρησιμοποιήθηκε αρχικά από τον Δρ. William Pusey το 1907, κατά προτίμηση σε μείγμα από αλάτι (NaCl) και πάγο. Αυτή ήταν μία από τις πρώτες επιτυχείς εφαρμογές του κρύου στη θεραπεία δερματικών παθήσεων όπως σπίλοι, κονδυλώματα, και στον δερματικό ερυθρηματώδη λύκο (lupus erythematosus). Όπως ανέφερε, «Έχουμε βρει μια καταστροφική επί των παθολογικών ιστών εφαρμογή, της οποίας η δράση μπορεί να μετρηθεί με ακρίβεια και είναι επομένως ελέγχιμη». Επιπλέον, πίστευε στη δυναμική της Κρυοχειρουργικής ως προς την επίτευξη της ελάχιστης ουλής, μολονότι απέδωσε αυτήν την ιδιότητα στην αναγέννηση των βιώσιμων επιδερμικών κυττάρων αντί για τη διαφαινόμενη αντοχή του κολλαγόνου στο ψύχος.

Το υγρό διοξείδιο του άνθρακα, διατηρούνταν σε χαλύβδινους κυλίνδρους υπό πίεση, περίπου στα 800 psi. Όταν το αέριο διοχετεύονταν στην ατμοσφαιρική πίεση, η ταχεία πτώση της πίεσης (εκτόνωση) που προκαλούντο, είχε σαν αποτέλεσμα να σχηματιστεί ξηρός πάγος (χιόνι CO₂). Το χιόνι στη συνέχεια συμπιεζόταν σε διάφορα σχήματα, κυρίως λεπτούς κυλίνδρους, και χρησιμοποιούνταν για διάφορες θεραπείες, κυρίως σε δερματικές αλλοιώσεις. Εν συνεχεία, η τεχνική αυτή έγινε μια καθιερωμένη θεραπευτική εφαρμογή στη δερματολογία.

Μέχρι τις αρχές του 20ου αιώνα, εκείνοι οι οποίοι χρησιμοποιούσαν συσκευές που παρήγαγαν κρύο τις είχαν συνήθως, προηγουμένως, εφεύρει. Μετά τη αλλαγή του αιώνα, οι δύο αυτές «δεξιότητες» πήραν διαφορετικούς δρόμους. Ένα μεγάλο μέρος τεχνολογίας απαιτούντο πλέον για να αναπτυχθούν μέσα και συστήματα κρυογονικής.

Το 1920, το υγρό οξυγόνο (-182°C) άρχισε να χρησιμοποιείται συχνότερα ως κρυογονικός παράγοντας στην αντιμετώπιση δερματικών παθήσεων. Αλλά το υγρό οξυγόνο είναι δυνητικά επικίνδυνο, διότι υποστηρίζει την καύση και εκρήγνυται εύκολα. Έτσι, δεν έγινε ποτέ δημοφιλές ως κρυογονικό μέσο στη Κρυοχειρουργική. Στα τέλη του 1930, ο Temple Fay, ένας Αμερικανός Νευροχειρουργός, χρησιμοποίησε τοπικά και συστηματικά μέσα ψύξης για τη θεραπεία ασθενών με προχωρημένο καρκίνο, όπως το γλοιβλάστωμα, τη νόσο Hodgkin και άλλα νεοπλασμάτα συμπεριλαμβανομένων και των ευμεγεθών, καρκίνων του τραχήλου της μήτρας και του μαστού.

Το 1942, η ανάπτυξη των χλωροφθορανθράκων ως ψυκτικά μέσα οδήγησε στην κατασκευή των πρώτων κλειστού κύκλου ψυκτικών συστημάτων Κρυοχειρουργικής, δημιουργώντας θερμοκρασίες κάτω από 0°C, για τη θεραπεία της χρόνιας σαλπινγίτιδας. Η συσκευή επιτρέπει ταχεία απόψυξη και απελευθέρωση του μέσου, όταν αυτό απαιτείται. Αυτά τα

ψυκτικά μέσα με χρήση κλειστού τύπου ψυκτικών κύκλων ποτέ δεν έγιναν ιδιαίτερα δημοφιλή λόγω του ότι το εύρος θερμοκρασιών που μπορούσαν να επιτύχουν δεν ήταν τόσο χαμηλό όσο εκείνων που μπορούσαν να επιτύχουν τα σχετικά φθηνότερα συστήματα στερεού διοξειδίου του άνθρακα.

Στις αρχές της δεκαετίας του 1940, ο Karitsa στη Σοβιετική Ένωση και ο Collins στις Ηνωμένες Πολιτείες άρχισαν την ανάπτυξη εμπορικών τεχνικών για τη μεγάλης κλίμακας υγροποίηση υδρογόνου και ηλίου, με το υγρό άζωτο να προκύπτει ως σχετικά άφθονο και χαμηλού κόστους παραπροϊόν. Το υγρό άζωτο, το οποίο μπορεί να φθάσει σε θερμοκρασία -196°C , έγινε τελικώς εμπορικά διαθέσιμο και, το 1950, αυτό το μέσο κρυογονικής εισήχθη στην κλινική πράξη από Allington. Το υγρό άζωτο εφαρμοζόταν τοπικά με μια μπατονέτα και σύντομα έγινε ευρέως χρησιμοποιούμενο για τη θεραπεία δερματικών παθήσεων και ποικίλων μη νεοπλασματικών αλλοιώσεων. Δεν χρησιμοποιήθηκε ιδιαίτερα για κακοήθεις δερματικούς όγκους, διότι με την τεχνική παράγεται μόνο επιφανειακή ψύξη, ίσως μέχρι 2 mm σε βάθος. Πριν από το 1960, οι συσκευές που χρησιμοποιούνται στη Κρυοχειρουργική μπορούσαν να παγώσουν ιστούς σε βάθος μόνο μερικών χιλιοστών. Με λίγες εξαιρέσεις, η ψύξη χρησιμοποιήθηκε κυρίως για την καταστροφή των επιφανειακών στρώματα των ανεπιθύμητων ιστών, με εφαρμογές πιο συχνά στις ειδικότητες της δερματολογίας και της γυναικολογίας.

Η μοντέρνα περίοδος της Κρυοχειρουργικής

Κρυοθεραπεία ως θεραπευτική τεχνική, έλαβε το μεγαλύτερο κίνητρο από την εισαγωγή του πρώτου συστήματος Κρυοχειρουργικής ικανού να παρέχει υγρό άζωτο σε επαρκώς χαμηλή θερμοκρασία (-196°C) σε στυλεούς με κεφαλή, τύπου trocar, με ένα μονωμένο άξονα και ένα θερμοαγωγίμο μεταλλικό άκρο. Το σύστημα ήταν το αποτέλεσμα της συνεργατικής προσπάθειας του Irving Cooper, ενός νευροχειρουργού, και του Arnold Lee, ενός μηχανικού. Ο στυλεός τους με κεφαλή (probe) ήταν ουσιαστικά το πρωτότυπο από το οποίο αναπτύχθηκαν στη συνέχεια όλα τα μελλοντικά κρυοχειρουργικά probes με υγρό άζωτο. Η δυνατότητα της συσκευής να παράγει ανάγγειο κρυότραυμα στο ήπαρ αποδείχθηκε σε ζωικό μοντέλο. Ο σχεδιασμός των κεφαλών επέτρεψε στους χειρουργούς για πρώτη φορά τη θεραπεία αλλοιώσεων βαθιά μέσα σε παρεγχυματικά όργανα, με ελάχιστη τραυματική εμπειρία για τα υπόλοιπα όργανα. Μετά τη νέα κρυοχειρουργική κεφαλή που καθιερώθηκε από τους Cooper και Lee, ο τομέας της Κρυοχειρουργικής έτυχε ταχείας ανάπτυξης που διήρκεσε μέχρι το τέλος του 1960.

Πρέπει να υπογραμμιστεί εδώ, το πρωτοποριακό έργο του Δρ. Irving Cooper στη θεραπεία της νόσου του Parkinson μέσω Κρυοχειρουργικής. Στην εποχή του, η χειρουργική θεραπεία για τον παρκινσονικό τρόπο επικεντρωνόταν σε διάφορες τεχνικές που χρησιμοποιούνται στη διακοπή της πυραμιδικής οδού. Κατά τη διάρκεια μιας υπομετωπιαίας προσπέλασης για μια εγκεφαλική δεσμοτομή, τραυματίστηκε από απροσεξία η πρόσθια χοριοειδής αρτηρία και στη συνέχεια αναγκάστηκε να τη συμπεριλάβει στο κρυότραυμα. Προς μεγάλη του έκπληξη, μετά την ανάνηψη από αναισθησία, ο τρόμος του ασθενούς και ακαμψία καταργήθηκαν χωρίς υπολειμματική ημιπάρεση. Αυτή η απόλυτα αξιοσημείωτη παρατήρηση συνέβαλε στην εστίαση των χειρουργικών προσπαθειών σε στόχους εντός των βασικών γαγγλίων και, στη συνέχεια, εντός του θαλάμου προκειμένου να μετριαστεί ο τρόμος και οι λοιπές κινητικές διαταραχές που συνοδεύουν τη νόσο του Parkinson.

Έτσι χρησιμοποίησε την Κρυοθαλαμεκτομή ως μια χειρουργική τεχνική για τον πρωτοπαθή έλεγχο του τρόμου σε ασθενείς με νόσο του Parkinson.

Το έργο του Δρ. Andrew Gage στη Κρυσχειρουργική ξεκίνησε το 1964, λίγο μετά αφού ο Δρ. Irving Cooper δημοσίευσε τα πρώτα άρθρα για την Κρυσχειρουργική. Αυτό το έτος, οι Gage και Maurice Gonder δοκίμασαν την εφαρμογή και την περεταίρω ανάπτυξη κρυσχειρουργικών συσκευών σε ζώα, όπως την κατάψυξη του προστάτη, του ήπατος, των οστών, και άλλων ιστών. Έγινε προφανές ότι οι τεχνικές αυτές θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να καταστρέψουν ιστούς. Κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του '70 και της δεκαετίας του '80, ο Δρ. Gage πραγματοποίησε εκτεταμένη έρευνα στη Κρυσχειρουργική στα ζώα για να προσδιορίσει τις επιπτώσεις της σε διάφορους ιστούς, συμπεριλαμβανομένης και της διαδικασίας επούλωσης, συνδυάζοντας τη βέλτιστη εφαρμογή τεχνικών για διαφορετικούς τύπους ιστών και θεραπευτικούς σκοπούς.

Περίπου την ίδια εποχή, η τροποποιημένη από τον Δρ. Gonder συσκευή του Cooper, ήταν η πρώτη που χρησιμοποιήθηκε για παθήσεις του προστάτη αδένα. Μία από τις πρώτες ουρολογικές παθήσεις που αντιμετωπίστηκαν με τη Κρυσχειρουργική ήταν αυτή της συμπτωματικής καλοήθους υπερτροφίας του προστάτη. Ουσιαστικά ένα κλειστό σύστημα στυλεού - κεφαλής, χρησιμοποιώντας το υγρό άζωτο, τοποθετούνταν διουρηθρικά. Η τεχνική αυτή ήταν συνήθως εφαρμόσιμη σε ασθενείς με πολύ μεγάλου μεγέθους αδένες με σοβαρά συμπτώματα, που δεν ήταν χειρουργικά υποψήφιοι για συμβατικές διαδικασίες. Για άγνωστους λόγους, στο επίκεντρο της σύγχρονης Κρυσχειρουργικής, με την παρέλευση των ετών, βρέθηκε η αντιμετώπιση των κακοήθων όγκων. Ίσως αυτό εξηγείται, εν μέρει, εξαιτίας του μεγάλου αριθμού των εναλλακτικών, με εξαιρετική απόδοση τότε, ως διαθέσιμων επιλογών για την καλοήγη υπερτροφία του προστάτη αδένα, μέχρι τη στιγμή που αναπτύχθηκε το σύστημα υγρού αζώτου πολλαπλών κεφαλών. Μερικοί επιστήμονες χρησιμοποιούν θερμοζεύγη για την παρακολούθηση της θερμοκρασίας του ιστού σε κρίσιμες περιοχές. Ο Δρ. Jeffrey Cohen ανέπτυξε μια συσκευή διουρηθρικής θέρμανσης για θερμική προστασία της ουρήθρας, διευκολύνοντας έτσι την Κρυσχειρουργική του προστάτη. Μετά από κυστεοσκόπηση εισάγεται ο καθετήρας της θέρμανσης. Οι σειρές των κρυσβελονών (μικρά probes) ενεργοποιούνται στη συνέχεια από μπροστά προς τα πίσω, και, γενικά, ακολουθούν δύο κύκλοι ψύξης - απόψυξης. Το σύστημα στυλεού - κεφαλής Joule - Thomson, επιτυγχάνει την ψύξη με εκτόνωση αερίου και αναπτύχθηκε από τον Δρ. Ahoils, ο οποίος πραγματοποίησε επιτυχή αντιμετώπιση οφθαλμικού καταρράκτη, αλλά η ψύξη του ήταν αργή και οι θερμοκρασίες δεν ήταν αρκετά χαμηλές για την αντιμετώπιση κακοήθων όγκων. Το σύστημα αυτό εξακολουθεί να χρησιμοποιείται ευρέως στην γυναικολογία και την οφθαλμολογία.

Ο Δρ. Charles David Kelman, οφθαλμίατρος, πρωτοπόρησε στην κρυσεξαγωγή του καταρράκτη, τη χρήση της κατάψυξης για την αποκατάσταση αποκολλήσεων του αμφιβληστροειδή, και σχεδίασε πολυάριθμα οφθαλμολογικά κρυσουστήματα στα μέσα της δεκαετίας του 1960.

Ένας θερμαντήρας για την κεφαλή του Cooper αναπτύχθηκε από τον Δρ. William Cahan, οποίος πραγματοποίησε Κρυσχειρουργική της μήτρας με cryoprobes υγρού αζώτου. Επίσης η Κρυσχειρουργική ήταν η πρώτη αναφορά για την θεραπεία της ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας του τραχήλου της μήτρας από τον Crisp. Το αποτέλεσμα ήταν να εγκριθεί γρήγορα, ως πρώτη γραμμής θεραπεία για εστίες ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας του τραχήλου της μήτρας, μετά από κατάλληλη διάγνωση. Δύο δεκαετίες Αργότερα, ο Benedet ανακοίνωσε επίσης εξαιρετικά αποτελέσματα με την Κρυσχειρουργική, για αλλοιώσεις συμβατές με ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία του τραχήλου της μήτρας, έχοντας εφαρμόσει τη θεραπεία σε 555 ασθενείς με σοβαρή δυσπλασία, με ποσοστό αποτυχίας μόνο 5,5%. Οι ερευνητές απέδωσαν το εξαιρετικό ποσοστό επιτυχίας σε προσεκτική επιλογή των ασθενών και σχολαστική τεχνική. Ομοίως, οι Collins και Ostergard που εφάρμοσαν κρυσχειρουργικές

τεχνικές με υγρό άζωτο και μικρότερης ισχύος κρυογονικά μέσα σε ασθενείς με γυναικολογικές φλεγμονώδεις παθήσεις.

Το 1960, οι Zacarian και Adham προσπάθησαν να επιτύχουν μεγαλύτερο βάθος διείσδυσης σε ιστό μέσω της χρήσης στερεών χάλκινων κυλινδρικών δίσκων που είχαν ψυχθεί με εμβάπτιση σε υγρό άζωτο, πριν από την εφαρμογή τους στο δέρμα. Ο χάλκινος δίσκος είχε καλή θερμική χωρητικότητα και καλύτερα χαρακτηριστικά αγωγής θερμότητας από το βαμβάκι που εφαρμοζόταν παλιότερα. Επίσης, κατέστησε δυνατό να ασκηθεί πίεση πάνω στην αλλοίωση. Έτσι κατέστη δυνατή η καταστροφή ιστών σε βάθος 7 mm, αλλά η κατάψυξη μεγάλων περιοχών ιστών, όπως απαιτείται για τη θεραπεία δερματικών κακοηθειών, ήταν ακόμη μια πρόκληση. Το 1960 ο Δρ. Zacarian επινόησε μια τεχνική για τη θεραπεία επιφανειακών αλλοιώσεων σε βάθος αρκετών εκατοστών, χωρίζοντας τη βλάβη σε διάφορα τμήματα και καταψύχοντας ένα τμήμα τη φορά. Η τεχνική αυτή έμεινε γνωστή ως τμηματική Κρυοχειρουργική, χρησιμοποιείται δε για τη θεραπεία καλοηθών, προκακοηθών και κακοηθών αλλοιώσεων του δέρματος. Αργότερα, ο Δρ. Jose Carlos d'Almeida Goncalves δημιούργησε μια τεχνική για τμηματική Κρυοχειρουργική, για τη θεραπεία των όγκων, με διάμετρο 10 mm, πάνω και γύρω από τα βλέφαρα. Το πλεονέκτημα της τεχνικής του Δρ. Goncalves είναι ότι η τελική ουλή είναι πολύ μικρότερη από το μέγεθος του αρχικού όγκου, και στους περισσότερους ασθενείς είναι ανεπαίσθητη.

Ο δερματολόγος Rodney Dawber ερεύνησε το μηχανισμό του τραύματος από το κρύο (κρυοτραύματος), όπως, παράγοντες που προκαλούν άμεση κυτταρική βλάβη, συμπεριλαμβανομένου του ενδοκυττάριου και εξωκυττάριου σχηματισμού πάγου, κυτταρική βλάβη από έκθεση σε υπέρτονο περιβάλλον, ιστική ευαισθητοποίηση στο κρύο, αλλαγές στη μικροκυκλοφορία (αιμοφόρα αγγεία) και ανοσολογικές εκδηλώσεις. Κατέληξε λοιπόν στο συμπέρασμα ότι «η ιστική απάντηση στην κατάψυξη περιλαμβάνει την τοπική νέκρωση, την αγγειακή βλάβη και τελικά εξαιρετική επούλωση».

Το 1968, Ο Ralph Marcove εισήγαγε τη Κρυοχειρουργική στην ορθοπεδική ογκολογία για την αντιμετώπιση πρωτοπαθών και μεταστατικών όγκων των οστών με επαναλαμβανόμενη κατάψυξη. Από τότε, όλο και περισσότεροι ορθοπεδικοί χειρουργοί έχουν υιοθετήσει την τεχνική αυτή για την αντιμετώπιση σκελετικών όγκων, με ενθαρρυντικά κλινικά αποτελέσματα και πειραματικά δεδομένα που έχουν δημοσιευθεί ανά τακτά χρονικά διαστήματα.

Στο Κίεβο κατά τη δεκαετία του '80, ο Δρ. Nikolai Korpan ξεκίνησε θεμελιώδη θεωρητική, πειραματική και κλινική μελέτη στη σύγχρονη Κρυοχειρουργική σε συνεργασία με μηχανικούς και σχεδιαστές. Οι θεωρητικές μελέτες του Korpan έχουν παράσχει περαιτέρω λεπτομέρειες για το ρόλο των μοντέρνων τεχνολογιών στην ανάπτυξη νέων κρυογονικών συστημάτων σε διάφορους τομείς της Ιατρικής, ειδικά στην ογκολογία. Με καινοτόμες μελέτες και νέα πειραματικά μοντέλα ερευνάται πλέον με δυναμικό τρόπο το πεδίο θερμοκρασίας της παγωμένης ζώνης, ορίζονται οι τέσσερις φάσεις της επίδρασης των χαμηλών θερμοκρασιών σε ζώντες ιστούς, και διερευνήθηκε η επίδραση των διεργασιών ψύξης – απόψυξης με θερμοκρασίες κυμαινόμενης έντασης, από -40°C έως -180°C, με συστήματα στυλεού – κεφαλής δισκοειδούς σχήματος, με διάμετρο από 5 έως 50 mm και λαπαροσκοπική χειρουργική βελόνα διαμέτρου 10 mm in vitro.

Η θεωρητική θεμελίωση των πειραμάτων του καθηγητή Korpan στηρίζονται σε πρωτοπόρες μελέτες των βιολογικών συστημάτων (ιστών και κυττάρων) σε ζώα που παρέχουν μια πλατφόρμα για την κατανόηση των μηχανισμών ιστικής βλάβης και της παθογένεσης του κρυοπαγήματος κατά τη διάρκεια της έκθεσης σε πολύ χαμηλή θερμοκρασία. Αυτό δημιουργεί μια νέα αντίληψη σχετικά με τις τεχνικές απαιτήσεις του εξοπλισμού που χρησιμοποιείται στη Κρυοχειρουργική προκειμένου αυτός να ανταποκρίνεται στις

σύγχρονες απαιτήσεις ειδικά στην ογκολογία.

Ένα μοναδικό φαινόμενο που παρατηρήθηκε και ανακαλύφθηκε από τον Δρ. Korpan σε ζώντες ιστούς, ήταν η ιστική μορφολογία ως «έκλειψη Σελήνης» (lunar eclipse), και παρείχε σημαντικές ενδείξεις για τους μηχανισμούς ιστικής βλάβης. Το "lunar eclipse" παρουσιάζεται άμεσα μετά την κατάψυξη, κατά τη διάρκεια της διαδικασίας απόψυξης. Συγκεκριμένα σε πειράματα το λευκωπό – παγωμένο σαν χιόνι παγκρεατικό παρέγχυμα, ως κατεψυγμένο μπλοκ έμοιαζε με πανσέληνο με μία οξεία γραμμή διαφοροποίησης (αποχρωματισμού δηλαδή του παρεγχύματος). Επιπλέον σταδιακά αποχτούσε μια κοκκινωπή απόχρωση και ημισφαιρικό σχήμα, καθώς αναπτυσσόταν σε μέγεθος από την πλευρά των αγγείων προς την περιφέρεια. Γενικότερα οι λευκές σαν χιόνι κρυογονικές βλάβες εξελίσσονταν με τον ίδιο τρόπο σε όλους τους ζωικούς ιστούς. Οι αγγειακές μεταβολές και κυκλοφορική στασιμότητα θεωρούνται συνήθως να είναι από τους κύριους μηχανισμούς βλάβης των βιολογικών ιστών ειδικά στη Κρυοχειρουργική ογκολογία.

Έτσι με την ανακάλυψη του φαινομένου "lunar eclipse" φαίνεται ότι η Κρυοχειρουργική αποτελεί τη πρώτη χειρουργική τεχνική που χρησιμοποιεί την νεοαγγειογένεση, κρυοαπονέκρωση και κρυοαπόπτωση του ίδιου του όγκου στη θεραπεία του καρκίνου. Ο Korpan φαίνεται να ήταν ο πρώτος που καθιέρωσε τις κλινικές και τεχνικές απαιτήσεις για τη σύγχρονη Κρυοχειρουργική, προπαντός, την ανάγκη για την κατάψυξη του ιστού σε εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες και ακολούθως μια σκοπίμως αργή απόψυξη. Επιπλέον, το πρωτοπόρο έργο του Korpan έγινε κυρίως στον καρκίνο του παγκρέατος και σε μεγάλες ηπατικές μεταστάσεις, σε μπλόκ λεμφαδένων, τοπικά προχωρημένο καρκίνο του μαστού, τοποπεριοχική υποτροπή του όγκου και η υποδόρια κρυοχειρουργική θεραπεία του καρκίνου του μαστού και η θεραπευτική ή παρηγορητική ορθοπρωκτική Κρυοχειρουργική. Για πρώτη φορά πραγματοποιήθηκε από τον Korpan τυχαίοποιημένη δοκιμή κατά την οποία συγκρίνεται η απόδοση της Κρυοχειρουργικής του ήπατος με το χρυσό πρότυπο της ηπατεκτομής.

Στη δεκαετία του '90, η ανάπτυξη του διεγχειρητικού υπερήχου και η χρήση του στην παρακολούθηση της διαδικασίας απόψυξης ανανέωσε το ενδιαφέρον στην κρυοθεραπεία. Η χρήση υπερήχων βοήθησε στον εντοπισμό της τοποθεσίας της αλλοίωσης, την τοποθέτηση του συλεού - κεφαλής στην αλλοίωση και την παρακολούθηση της διαδικασίας κατάψυξης - απόψυξης. Αυτό παρείχε ένα μεγάλο πλεονέκτημα σε σχέση με παλαιότερες τεχνικές. Επιπλέον, η ανάπτυξη μιας μεγάλης γκάμας ενδοσκοπικών και διαδερμικών συσκευών στη δεκαετία του '90 έδωσε το έναυσμα για τη χρήση της Κρυοχειρουργικής για την αντιμετώπιση νόσων παρεγχυματικών οργάνων, ιδιαίτερα των όγκων αυτών.

Η αναγέννηση της Κρυοιατρικής τις τελευταίες 2 δεκαετίες έχει επίσης ενθαρρύνει τη Κρυοχειρουργική έρευνα. Η πρώτη μεγάλης κλίμακας μελέτη στην Ευρώπη, περιλαμβάνοντας την αντιμετώπιση του βρογχογενούς καρκινώματος με έναν ειδικά σχεδιασμένο άκαμπτο καθετήρα κρυοχειρουργικής, εκδόθηκε από τον Δρ. Maiwand τον Ιούλιο του 1986 και ακολουθήθηκε από ένα άρθρο του Δρ. Jean-Paul Homasson τον Αύγουστο του ίδιου έτους. Λίγα χρόνια Αργότερα, οι Maiwand και Homasson περιέγραψαν τις κατάλληλες τεχνικές που είχαν αναπτυχθεί, για τη θεραπεία του βρογχογενούς καρκινώματος με Κρυοχειρουργική, ειδικά για ενδοβρογχική νόσο, που πλέον είναι μια κοινή τεχνική και χρησιμοποιείται παγκοσμίως.

Η Κρυοβιολογία συνέβαλε στον τομέα των μεταγρίσεων, των μεταμοσχεύσεων, και στη θεραπεία των όγκων, και όπως διαφαίνεται θα ικανοποιήσει τις Ιατρικές απαιτήσεις της νέας χιλιετίας από την άποψη της αναγέννησης, ιστικής πλαστικότητας, και ελάχιστα επεμβατικής χειρουργικής, προσαρμόζοντας τη χειρουργική επέμβαση και προσφέροντας

ποιότητα ζωής και νέες θεραπευτικές στρατηγικές για ηλικιωμένους ασθενείς. Ο Δρ. Sajio Sumida περιέγραψε τα αποτελέσματα της κρυογονικής θεραπείας από πειραματική και κλινική εμπειρία σε μια βάση σχεδόν 40-ετίας.

Ο Sumida ήδη από το 1970 περιέγραψε επίσης *in vitro* και *in vivo* παρατηρήσεις ενδοκυττάριου και εξωκυττάριου σχηματισμού πάγου και μικροκυκλοφορικής βλάβης ανάλογα με την έκταση της ενδοαγγειακής κατάψυξης μετά από *in situ* κατάψυξη. Η Κρυοχειρουργική για καρκίνο είναι πλέον εφοδιασμένη με τη συνδυασμένη χρήση χημειοθεραπευτικών παραγόντων και ειδικά της υψηλών δόσεων χημειοθεραπείας. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η ενδοφλέβια έγχυση του κρυοκατεψυγμένων αυτόλογων ερυθρών αιμοσφαιρίων ή γενετικώς όμοιων (αλλογενών) βλαστικών κυττάρων διέσωσε βαρέως ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς με λευχαιμία, απλαστική αναιμία, ανοσοποιητική ανεπάρκεια, λέμφωμα, όγκους συμπαγών οργάνων, των οποίων η ανοσοκαταστολή ήταν αποτέλεσμα θανατηφόρα υψηλής δόσης χημειοθεραπείας ή ακτινοβολίας. Είναι ενδιαφέρον και σημαντικό το ότι τα αποψυχθέντα βλαστικά κύτταρα διαφοροποιούνται για να σχηματίσουν αποικίες σε κυτταρικές καλλιέργειες και διαφοροποιούνται όχι μόνο σε κύτταρα αίματος, αλλά επίσης σε επιθηλιακά κύτταρα και ηπατοκύτταρα στο όργανο - στόχο μετά τη μεταμόσχευση

Η βασική έρευνα γύρω από τη κρυοσυντήρηση από τον Δρ. Sumida άνοιξε το δρόμο για την κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται σε εφαρμογές στη Κρυοχειρουργική. Αυτή η συσσωρευόμενη εμπειρία θα μπορεί σύντομα να εξηγήσει το πολύπλοκο φαινόμενο της εξέλιξης του κρυοτραύματος, το οποίο αποτελείται από την ανάπτυξη ενδο- και εξωκυττάριου πάγου, μηχανική και ωσμωτική κυτταρόλυση (ανακρυστάλλωση, κυτταρική αφυδάτωση), κυτταρική ισχαιμία και οίδημα, προοδευτική ενδοαγγειακή πήξη, και, τελικά, νέκρωση, απονέκρωση και απόπτωση.

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 20 ετών, στη Κρυοχειρουργική η θεραπεία των όγκων σε διάφορα όργανα έχει αναφερθεί στο ήπαρ, το πάγκρεας, το ορθό, τον μαστό, το δέρμα, τον πνεύμονα, τον εγκέφαλο, τον προστάτη, τη μήτρα, τη στοματική κοιλότητα, τα οστά, και τον καρδιακό μυ. Μέχρι πρόσφατα, οι συσκευές που χρησιμοποιούνταν στη Κρυοχειρουργική δεν ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματικές και μπορούσαν να καταστρέψουν μόνο επιφανειακές στιβάδες του δέρματος. Η καλύτερη χρήση των σύγχρονων κρυοχειρουργικών μέσων εξαρτάται έντονα από την ανάπτυξη της κρυοτεχνολογίας. Η εμπειρία στην χρήση της Κρυοχειρουργικής για τη θεραπεία ινομυωμάτων της μήτρας και κακοήθων όγκων του νεφρού, του μαστού, του παγκρέατος, και άλλων οργάνων είναι πλέον αθροιστική.

Το 1998, προκειμένου να διερευνηθεί ο ρόλος της Κρυοχειρουργικής για καλοήγη υπερτροφία του προστάτη, πραγματοποιήθηκε μια πιλοτική μελέτη με 3 ασθενείς. Οι στόχοι της διαδικασίας ήταν να μειωθεί ο όγκος της μεταβατικής ζώνης μεταξύ του ορίου πλήρους κυτταρικής νέκρωσης και του ορίου του κρυοτραύματος, αποφεύγοντας βλάβη στην ουρήθρα, του αυχένα της ουροδόχου κύστης, του έξω σφιγκτήρα, του τοιχώματος του ορθού και νευροαγγειακού μίσχου.

Στη σύγχρονη Κρυοχειρουργική στην ουρολογία, η κρυοκαταστροφή πλέον αποτελεί ζωτική θεραπεία για τον καρκίνο του προστάτη. Εκτεταμένη κλινική εμπειρία για την αντιμετώπιση του καρκίνου του προστάτη με Κρυοχειρουργική απέδειξε την αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου στην μείωση του όγκου του προστάτη, όπως μετράται με υπερήχους αλλά και σε βιοψίες μετά τη Κρυοχειρουργική. Η νοσηρότητα είναι χαμηλή σε σύγκριση με άλλες διαδικασίες, και συνεχίζει να μειώνεται, με την προστιθέμενη εμπειρία και την εξέλιξη του εξοπλισμού. Ο στόχος της σύγχρονης κρυοκαταστροφής είναι να συμπεριληφθεί στον ιστό στόχο και μια περιφερική ζώνη υγιούς ιστού ώστε να προκύψει ένα "χειρουργικά αποδεκτό" όριο για τη πλήρη θεραπεία. Η περιπροστατική περιτονία συμπεριλαμβάνεται

στη Κρυοθεραπεία για την κάλυψη εν δυνάμει εξωκαψικής επέκτασης. Έτσι η ελάχιστη επεμβασιμότητα, η επαναληψιμότητα, η χαμηλή νοσηρότητα και ο σύντομος χρόνος αποκατάστασης, σε συνδυασμό με την εξαιρετική αποτελεσματικότητα, όλα συμβάλλουν ώστε η Κρυοχειρουργική να προσφέρει πλέον ελκυστικές και βιώσιμες θεραπευτικές επιλογές στην μάχη εναντίον του καρκίνου του προστάτη.

Ακολουθώντας τις εξελίξεις της σύγχρονης κρυοθεραπευτικής του προστάτη, μπορεί κανείς να αντιληφθεί τις κύριες επιστημονικές και τεχνολογικές τάσεις στην ανάπτυξη της Κρυοχειρουργικής ως μέρος της επιστήμης της Ιατρικής και της τεχνολογίας. Λόγω των περιορισμών της παραπάνω εφαρμογής, έχουν αναπτυχθεί πιο εξελιγμένα συστήματα στυλεού – κεφαλής κλειστού τύπου και αντιπροσωπεύουν ένα σημαντικό βήμα στην εξέλιξη της τεχνολογίας στη Κρυοχειρουργική. Η τεχνολογία αυτή περιλαμβάνει συστήματα πολλαπλών στυλεών – κεφαλών που ελέγχονται με τη χρήση ενός υπολογιστή και ενός μικροεπεξεργαστή, επιτρέποντας τελειοποιηθεί, η υπο πλήρη έλεγχο διαδικασία κρυοκαταστροφής. Οι μεγάλοι μήκους, λεπτοί στυλεοί μπορούν να εισέρχονται βαθιά μέσα στον προστάτη αδένα για πλήρη κάλυψη της έκτασης του, με διαδερμική προσπέλαση. Πολλά εμπορικά κρυογονικά μέσα διατίθενται σήμερα για το κλειστό σύστημα της εφαρμογής. Τα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα μέσα είναι πεπιεσμένο και υπέρψυκτο υγρό άζωτο και αέριο Αργό. Και τα δύο είναι αποτελεσματικά για κατάψυξη. Τα συστήματα υγρού αζώτου αρχικά υπερψύχουν το μέσο και στη συνέχεια το διοχετεύουν υπο πίεση προς τις κεφαλές. Στην πράξη, η ψύξη σε αυτά τα όργανα είναι αργή σε ότι αφορά την αρχική της εγκατάσταση, μιας και απαιτούν αρκετά λεπτά για να δημιουργηθεί μια κατάλληλα χαμηλή θερμοκρασία. Αυτό συμβαίνει επειδή το υγρό άζωτο βράζει καθώς κινείται προς τις κεφαλές που είναι σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ως αποτέλεσμα οι κεφαλές θα πρέπει να ψύχονται από συνεχή εισροή υγρού αζώτου πριν το θερμοκρασιακό ναδίρ. Από την άλλη, τα συστήματα με βάση το αέριο Αργό λειτουργούν μέσω της παροχής υψηλής πίεσης αερίου στη διάταξη στυλεού – κεφαλής και μέσω του φαινομένου Joule Thompson το αέριο εκτονώνεται, με αποτέλεσμα τις καταστροφικά χαμηλές θερμοκρασίες. Για πρώτη φορά, επιπλέον, έχουν αναπτυχθεί νέες επεμβάσεις στη Κρυοχειρουργική και χρησιμοποιούνται με κλινική επιτυχία σε ασθενείς με λεμφαδενικές μεταστάσεις μετά από χειρουργική επέμβαση για καρκίνο του μαστού, μετά χειρουργική εκτομή μελανώματος και υπερνεφρώματος που αρχικά διενεργήθηκαν με συμβατικές μεθόδους.

Ως καθηγητής στο Πανεπιστήμιο της Νέας Υόρκης στην Ιατρική Σχολή και διευθυντής στο αιματολογικό τμήμα, ο Δρ. Arthur Rowe είναι σήμερα ο πρωτοπόρος στην κρυοβιολογία των κυτταρικών σειρών του αίματος. Ο Rowe έχει δημοσιεύσει και διδάξει ευρέως σε ότι αφορά στη κρυοσυντήρηση ερυθρών αιμοσφαιρίων, λευκών αιμοσφαιρίων, αιμοπεταλίων, μυελού των οστών, προγονικών κυττάρων του περιφερικού αίματος, και αίματος ομφάλιου λώρου. Κατά τη διάρκεια των 24 ετών του ως αρχισυντάκτης της εφημερίδας Cryobiology, αναγνώρισε τη σημασία της Κρυοχειρουργικής ως επιστήμη και όχι απλώς ως μια τεχνική. Ήταν αποφασιστικός στην έκδοση άρθρων σχετικών με τη Κρυοχειρουργική από κορυφαίους Ιατρικούς εμπειρογνώμονες στον τομέα. Οι πειραματικές του έρευνες περιέχουν πραγματικά ορόσημα για την πρακτική χρήση χαμηλών θερμοκρασιών σε διάφορους Ιατρικούς τομείς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΣΤΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ [3,41]

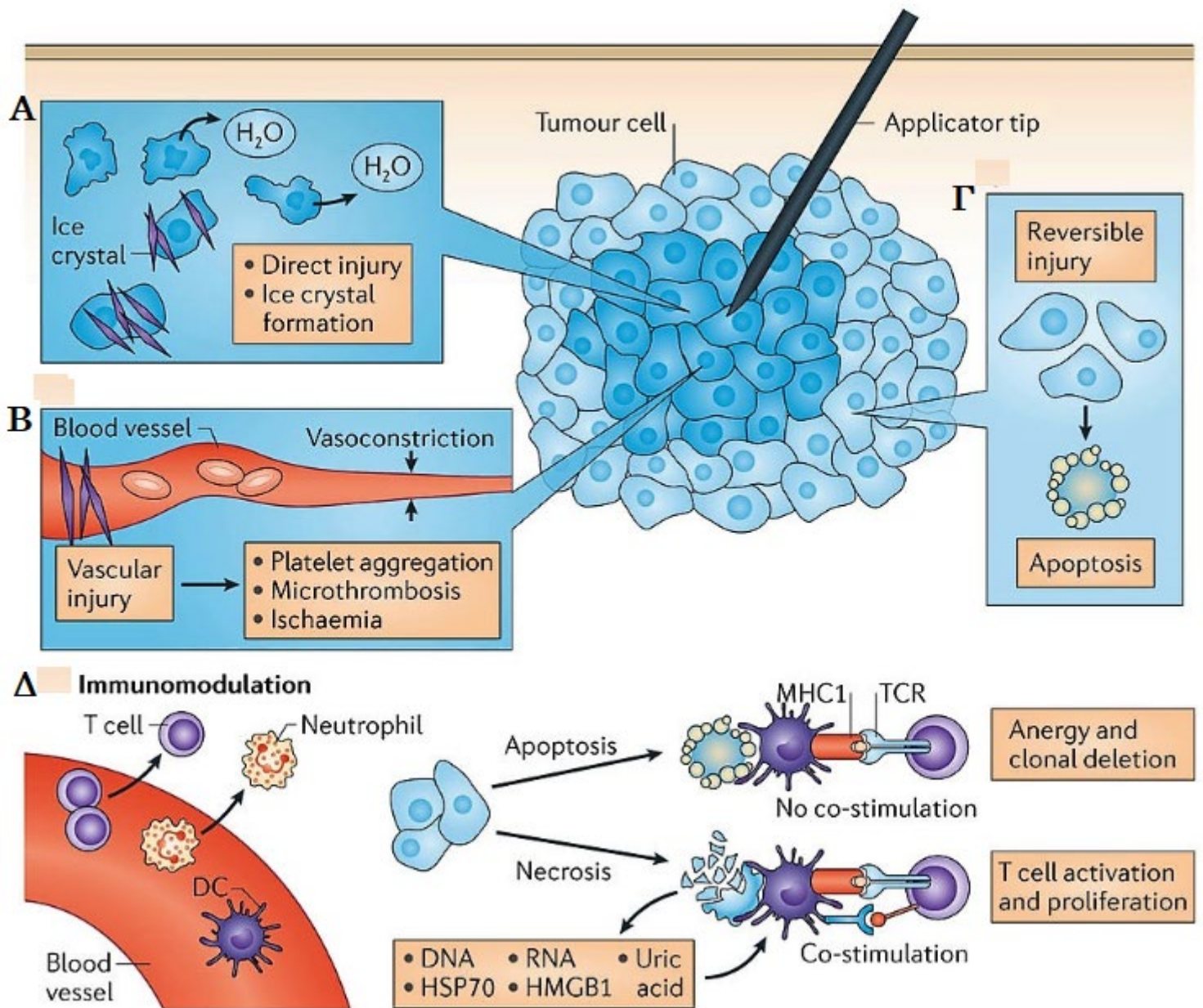
Η Κρυοχειρουργική είναι η χρήση της θερμοκρασίας καταψύξεως προκειμένου να επιτευχθεί μια συγκεκριμένη αντιδραστική απάντηση στον ιστό. Η φύση της αντίδρασης εξαρτάται από τη σοβαρότητα της ιστικής βλάβης κατά την κατάψυξη. Η ελάσσονα κατάψυξη προκαλεί βλάβη που επιφέρει φλεγμονώδη αντίδραση, όμως η μείζονα σκοτώνει τα κύτταρα και επιφέρει καταστροφικά αποτελέσματα στους ιστούς. Η κατανόηση των μηχανισμών της κυτταρικής και ιστικής βλάβης που οφείλεται στην κατάψυξη είναι μόνον περίπου εξήντα χρόνια σε φάση ανάπτυξης. Από τις αρχές του 1960, πειραματικές μελέτες είχαν δείξει ότι η καταστροφή ιστών και κυττάρων από την κατάψυξη οφείλεται σε άμεση κυτταρική βλάβη και αγγειακή στάση που αναπτύσσεται λίγο μετά την απόψυξη. Η σχετική σημασία αυτών των δύο μηχανισμών βλάβης ήταν για πολλά χρόνια ένα σημαντικό θέμα για συζήτηση μεταξύ των κρυοεπιστημόνων. Πολλοί ερευνητές κατά τη μελέτη κρυοπαγημάτων εντυπωσιάστηκαν από την αγγειακή στάση μετά από κατάψυξη, αλλά επίσης ερευνητές κατά τη μελέτη της κρυοσυντήρησης επικεντρώθηκαν στα επιβλαβή αποτελέσματα κατά τον σχηματισμό στο κρυστάλλων πάγου. Ωστόσο είναι σαφές ότι οι δύο αυτοί μηχανισμοί λειτουργούν συνεργικά ως προς την επαγωγή βλάβης σε κατάψυξη ιστού κάθε τύπου ή αιτίας.

Πειράματα που αφορούν την Κρυοχειρουργική σε τοπικό επίπεδο βλάβης από κατάψυξη, οι οποίες ξεκίνησαν πριν από 60 χρόνια, βρέθηκε να παράγουν αλλοιώσεις που μοιάζουν με κρυοπαγήματα. Έρευνες *in vitro* και *in vivo*, έδειξαν ότι ο σημαντικότερος μηχανισμός βλάβης οφείλεται σε άμεση καταστροφή των κυττάρων, η οποία ξεκινά με τους ιστούς που υπόκεινται σε υποθερμία, και η στάση στη μικροκυκλοφορία να αναπτύσσεται μετά την απόψυξη. Η μεγάλη έρευνα, που έχει πραγματοποιηθεί *in vitro* έχει προσφέρει λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τις επιδράσεις της κατάψυξης στα κύτταρα. Ωστόσο έχουν βρεθεί ουσιαστικές διαφορές μεταξύ των αποτελεσμάτων της κατάψυξης των κυττάρων *in vitro* και *in vivo*. Η *in vitro* βλάβη, πραγματοποιείται κατά την απουσία του αγγειακού παράγοντα, και επιτρέπει την εξέταση της επίδρασης των διαφόρων πτυχών των κύκλων κατάψυξης και απόψυξης. Ανεξάρτητα από το αν στοχεύει στη κρυοκαταστροφή ή την κρυοσυντήρηση, η *in vitro* μελέτη είναι ουσιαστικής σημασίας και πρόσφατα έχουν αποσαφηνιστεί οι μοριακοί μηχανισμοί στους οποίους βασίζεται ο πολύπλοκος «καταρράκτης» του κυτταρικού θανάτου. Ωστόσο, στη Κρυοχειρουργική, η επίπτωση της κατάψυξης στην αγγείωση είναι σαφώς μια κρίσιμη και ίσως η δεσπόζουσα αιτία θανάτου των κυττάρων. Με την απόψυξη, η αποτυχία επανασηραγγοποίησης της μικροκυκλοφορίας στον κατεψυγμένο ιστό είναι προοδευτική, οδηγώντας σε αγγειακή στάση σε περίπου 1 ώρα, που εξασφαλίζει το θάνατο των κυττάρων από την ισχαιμία. Ως εκ τούτου η *in vivo* έρευνα γύρω από κρυοχειρουργικές τεχνικές είναι κρίσιμη για την απόκτηση γνώσης για τη θεραπευτική δυναμική της ιστικής κατάψυξης.

Το εύρος των ερευνών σε *in vivo* συστήματα είναι ουσιαστικό και καλύπτει κάθε πτυχή της Κρυοχειρουργικής. Πολλά πειράματα επικεντρώνονται σε τεχνικά χαρακτηριστικά της μεθόδου, δηλαδή, το χειρισμό του κύκλου της κατάψυξης – απόψυξης, για να ενισχυθεί η καταστροφή, ή την επίτευξη μίας εκλεκτικής κυτταρικής βλάβης. Σημαντικό βιβλιογραφικό έργο επίσης διερευνά την παρακολούθηση της διαδικασίας κατάψυξης των ιστών, κυρίως από τη σκοπιά της απεικόνισης, αλλά επίσης και από άλλες τεχνικές. Πολλές έρευνες μελετούν λεπτομερώς τις συνέπειες της κατάψυξης των ιστών σε επίπεδο επούλωσης των

κρυοτραυμάτων που μεταβάλλεται ανάλογα με τη δομή του ιστού.

Η πρόσφατη έρευνα εξετάζει τη συνδυαστική κρυοχειρουργική θεραπεία με κυτταροτοξικά φάρμακα, χημικούς παράγοντες ή ακτινοβολία ως ένα μέσο για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας των θεραπευτικών αποτελεσμάτων. Μέσα από πειράματα *in vitro* και κλινικές μελέτες αρκετοί ερευνητές έχουν αναφερθεί περιστασιακά για να υποστηρίξουν ή να επαληθεύσουν την συνδυασμένη αυτή αποτελεσματικότητα σε ζωικά μοντέλα. Στο Σχήμα 1 απεικονίζεται μια σύνοψη των βασικών μηχανισμών κυτταρικής βλάβης κατά την κρυοθεραπεία.



Σχήμα 1: Μηχανισμοί κυτταρικής βλάβης κατά την Κρυοχειρουργική. (Α) Άμεση κυτταρική βλάβη, (Β) Αγγειακή βλάβη, (Γ) Αναστρέψιμη κυτταρική βλάβη και απόπτωση και (Δ) Ανοσοδιέγερση έναντι του όγκου [Πηγή: Διαδίκτυο].

2.2 ΑΜΕΣΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΒΛΑΒΗ [3,28,31,36,40,43]

Ο ακρογωνιαίος λίθος της άμεσης βλάβης από την κατάψυξη, είναι ο σχηματισμός κρυστάλλων πάγου που απομακρύνει το νερό από τα κύτταρα και οδηγεί ακολούθως σε καταστροφικές εκδηλώσεις σε αυτά. Πρόσφατες έρευνες *in vitro* έχουν εντοπίσει την απόπτωση (γονιδιακώς ελεγχόμενος προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος) ως μηχανισμό άμεσης κυτταρικής βλάβης. Αυτό επιβεβαιώθηκε από τα πειράματα *in vivo* του Steinbach, που απέδειξε ότι ο θάνατος των κυττάρων είναι η νέκρωση στο κεντρικό τμήμα της κρυστογονικής αλλοίωσης και ότι η απόπτωση είναι κυρίαρχη στο περιφερειακό τμήμα της αλλοίωσης και γενικά εμφανής σε 8-12 h μετά την κρυοθεραπεία. Πρόσφατα, η έρευνα του Forest που χρησιμοποίησε έναν όγκο από κυτταρική σειρά ανθρώπινου αδενοκαρκινώματος πνεύμονα, που ενοφθαλμίσθηκε στη ραχιαία περιοχή ποντικών, έδειξε ότι το κεντρικό μέρος της παγωμένης βλάβης ήταν νεκρωτικό, αλλά η περιφερική ζώνη περιείχε αποπτωτικά κύτταρα. Η απόπτωση αυξήθηκε προοδευτικά κατά την περίοδο από 2 έως 8 ώρες μετά την κατάψυξη. Απόπτωση σημειώθηκε επίσης στην περιοχή πέραν των νεκρωτικών ζωνών, όμως τα όρια μεταξύ των δύο δεν ήταν σαφή. Μια δεύτερη αύξηση της νέκρωσης παρατηρήθηκε μετά από 4 ημέρες. Ο Wen πειραματιζόμενος με κρυστοκαταστροφή αδενοκαρκινώματος που μεταμοσχεύθηκε υποδορίως σε ποντίκια, σημείωσε νέκρωση στο κεντρικό τμήμα της νεοπλασίας, που έφθασε στο 68% του όγκου σε 4 ημέρες. Στην περιφερειακή ζώνη της αλλοίωσης, σημείωσε αποπτωτικά κύτταρα, με ενίσχυση των περιγραμμάτων αυτών 8-16 h μετά την κατάψυξη. Η αποπτωτική εκτροπή θεωρήθηκε ότι επάγεται μέσω μιτοχονδριακής βλάβης που οφείλεται στην υπερέκφραση της προαποπτωτικής πρωτεΐνης *bax* και στην ενεργοποίηση κασπασών. Τα περισσότερα πειράματα *in vivo* επιβεβαιώνουν τη σημασία της απόπτωσης ως μηχανισμό κυτταρικού θανάτου μετά από κρυοχειρουργική, κυρίως στην περιφέρεια του κατεψυγμένου ιστού, και ταυτόχρονα καταδεικνύουν μια άμεση συσχέτιση ανάμεσα σε *in vitro* και *in vivo* μελέτες.

2.3 ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΒΛΑΒΗ [3,30,31,37]

Ήδη από νωρίς στη σύγχρονη κρυοχειρουργική, πολλά πειράματα με ποικίλους ιστούς, όπως σε ήπαρ επίμυος, σε δέρμα ποντικών και κουνελιών και παρειά από χάμστερ, έδειξαν την αλληλουχία των γεγονότων που θα ακολουθήσουν την κατάψυξη και απόψυξη και στην απορρύθμιση του κυκλοφορικού συστήματος. Όταν ο ιστός ξεπαγώσει, ο προηγούμενος παγωμένος όγκος των ιστών γίνεται συμπεφορημένος και οιδηματώδης, χαρακτηριστικά τα οποία επεκτείνονται σταδιακά κατά τη διάρκεια των επόμενων ωρών. Η αιτία του οιδήματος είναι η ενδοθηλιακή βλάβη (βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων), που εμφανίζεται ως δυσλειτουργία των διακυτταρικών συνδέσεων, ήδη 2 ώρες μετά την απόψυξη, με αποτέλεσμα την αυξημένη τριχοειδική διαπερατότητα, το οίδημα, τη συνάθροιση αιμοπεταλίων και, τέλος, τη θρόμβωση. Η απώλεια της παροχής αίματος οδηγεί σε νέκρωση, εκτός από την περιφέρεια της κατεψυγμένης μάζας ιστού όπου η θερμοκρασία των ιστών είναι στο εύρος από 0 έως -20 °C βαθμούς. Σε αυτό το θερμοκρασιακό εύρος ορίζεται η συνοριακή ζώνη, όπου αν και πολλά κύτταρα θα πεθάνουν, όμως ορισμένα κύτταρα θα επιβιώσουν. Η σχετική σημασία της άμεσης κυτταρικής βλάβης σε σχέση με τη βλάβη που επάγεται στη μικροκυκλοφορία παραμένει ασαφής, αν και οι δύο φαίνεται να λαμβάνουν χώρα στη κρυοχειρουργική.

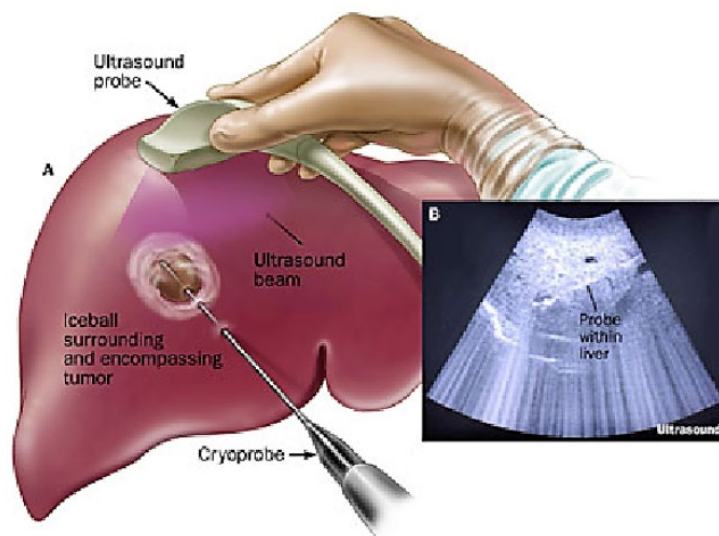
2.4 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ ΨΥΞΗΣ [3,14,22,63,72]

Μια μεγάλη ποικιλία από κρυογονικά μέσα και μεθόδους κατάψυξης με ποικίλες συσκευές έχουν χρησιμοποιηθεί σε πειράματα και θεραπείες Κρυοχειρουργικής. Οι ερευνητές κατά την πρώτη περίοδο του 1900 εξετάζοντας τα κρυοτραύματα που παράγονται από κακώσεις μετά την κατάψυξη διαφόρων ιστών, ανέπτυξαν σημαντικές γνώσεις σχετικά με τη Κρυοχειρουργική. Αυτά τα πειράματα, τα οποία καθόρισαν την τυποποίηση των κρυογονικών αλλοιώσεων και βοήθησαν να ανοίξει ο δρόμος για τη σύγχρονη εποχή της Κρυοχειρουργικής, ξεκίνησαν από τους Cooper και Lee το 1961, όταν αναπτύχθηκε η αυτοματοποιημένη συσκευή ψύξης με υγρό άζωτο ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) για την εφαρμογή σε ιστούς. Χρόνια αργότερα, η ανάπτυξη των συσκευών που ψύχουν πολλαπλές κεφαλές ταυτόχρονα ή διαδοχικά, με υπέρψυκτο υγρό άζωτο, βελτίωσε την κλινική χρησιμότητα των κρυοχειρουργικών τεχνικών. Τα τελευταία χρόνια, το αέριο αργό ($-186\text{ }^{\circ}\text{C}$) και το οξείδιο του αζώτου ($-89,5\text{ }^{\circ}\text{C}$), τα οποία είχαν περιορισμένη χρήση ως κρυογονικά μέσα στο παρελθόν, τέθηκαν σε κοινή χρήση σε συσκευές, ως πεπιεσμένα αέρια, με την ψύξη να προκύπτει κατά την εκτόνωση τους ως φαινόμενο Joule -Thomson (J-T). Η χρήση πεπιεσμένων αέριων, ιδιαίτερα του αργού και του οξειδίου του αζώτου, επέτρεψε την κατασκευή διαφόρων πρακτικών μέσων, συμπεριλαμβανομένων καθετήρων λεπτής βελόνας, καθετήρων με μπαλόνη (cryoballoon) και συσκευών με σφικτηριακούς μηχανισμούς.

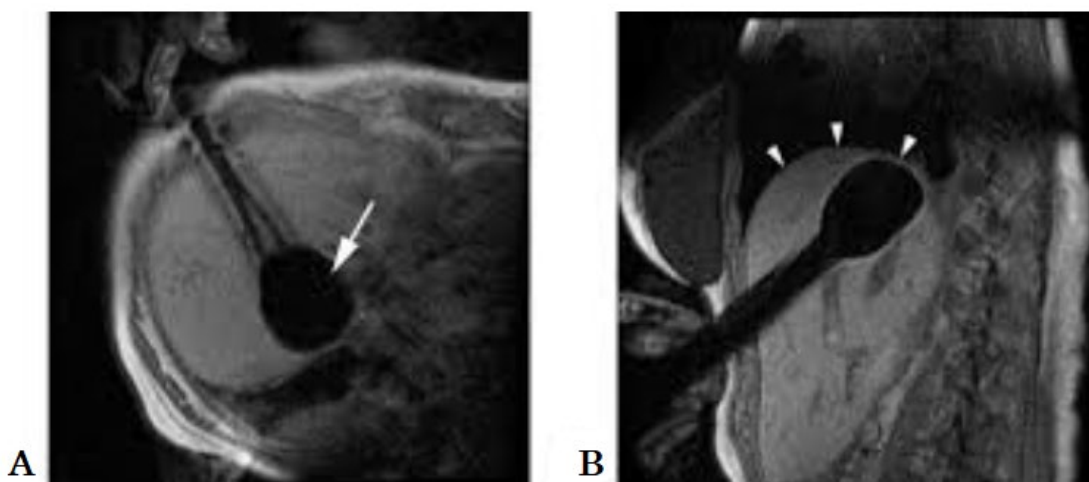
Αυτές οι σύγχρονες συσκευές που ψύχονται από ποικίλα κρυογονικά μέσα, έχουν κάποιες διαφορές στην ικανότητα κατάψυξης, που αφορούν κυρίως τη διαφορά στη δυνατότητα επίτευξης ελάχιστης θερμοκρασίας, η οποία με τη σειρά της σχετίζεται με το ίδιο το μέσο. Ο όγκος των ιστών που καταψύχονται σε μια ενιαία εφαρμογή του cryoprobe σχετίζεται άμεσα με τη θερμοκρασία του, στην περιοχή επαφής με τον ιστό, καθώς και με τη διάρκεια της επαφής. Η θερμική αγωγιμότητα του ιστού είναι επίσης ένας σημαντικός παράγοντας. Η χρήση δύο ή περισσότερων κεφαλών ταυτόχρονα εισάγει ένα μέτρο αβεβαιότητας ως προς τη κατάλληλη θέση και την έκταση των αλληλεπιδράσεων κατά τη διάρκεια της κρυοκαταστροφής. Προκειμένου να ενταχθεί η κατάψυξη ιστών, ως το αποτέλεσμα των δράσεων πολλαπλών κεφαλών, σε ενιαία βάση, έτυχε ιδιαίτερου ενδιαφέροντος και ανάπτυξης ο τομέας του ηλεκτρονικού σχεδιασμού της κρυοθεραπείας ώστε αυτή να προσαρμοστεί καλύτερα και αποδοτικότερα στα γεωμετρικά και φυσικά χαρακτηριστικά του όγκου ιστού προς καταστροφή.

Πολλά πειράματα έχουν επικεντρωθεί στις μεθόδους απεικόνισης και παρακολούθησης της προόδου της κατάψυξης των ιστών. Επιπλέον θερμοζεύγη, σε μορφή βελονών διπλής απόληξης, χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση της θερμοκρασίας του ιστού σε κατάλληλες τοποθεσίες, από νωρίς στη σύγχρονη εποχή της Κρυοχειρουργικής. Το κύριο μειονέκτημα τους όμως είναι ότι δεν παρέχουν μια σφαιρική άποψη της θερμοκρασιακής κατανομής. Η χρήση τεχνικών απεικόνισης, αρχίζοντας με τις θεραπευτικές και πειραματικές εφαρμογές του Onik στα τέλη της δεκαετίας του '80, εισήγαγαν τους υπερήχους ως μια μέθοδο παρακολούθησης της διαδικασίας κατάψυξης. Αυτό οδήγησε στην αναβίωση του ενδιαφέροντος γύρω από την Κρυοχειρουργική κατά τη δεκαετία του '90. Οι υπέρηχοι είναι μια κοινή μέθοδος για την παρακολούθηση της διαδικασίας της κατάψυξης, αλλά έχουν περιορισμούς λόγω της ακουστικής σκιάς πίσω από το παγωμένο όριο του κρυοτραύματος. Η χρήση τους μπορεί, και συχνά πρέπει να συνδυαστεί με τη χρήση θερμοστοιχείων σε κατάλληλα σημεία του ιστού.

Έρευνες για την πρακτικότητα της απεικόνισης με υπολογιστική (αξονική) τομογραφία (CT) και μαγνητικό συντονισμό (MR) σε οθόνη κατά την κατάψυξη του ιστού ακολούθησαν σχετικά γρήγορα. Η υπολογιστική τομογραφία έχει το πλεονέκτημα του ότι παρέχει τρισδιάστατη εικόνα. Η απεικόνιση με μαγνητικό συντονισμό παρέχει μια τρισδιάστατη εικόνα, και με κατάλληλη τροποποίηση λογισμικού μπορεί να προβλέψει τις ισοθερμικές καμπύλες στην έκταση του παγωμένου ιστού. Πειραματικώς έχει αποδειχθεί μια στενή συσχέτιση μεταξύ αυτών των εικόνων από τις τεχνικές παρακολούθησης και του όγκου του κρουοτραύματος. Ο όγκος των κατεστραμμένων ιστών ήταν ελαφρώς λιγότερος από το κατεψυγμένο όγκο που απεικονίζεται διότι τα κύτταρα του ιστού σε εύρος θερμοκρασίας από 0 έως -20 °C δεν καταστρέφονται εντελώς. Άλλες λιγότερο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές παρακολούθησης από άποψη πειραματικού ενδιαφέροντος περιλαμβάνουν τη θερμογραφία και τη μέτρηση ηλεκτρικής αντίστασης, συμπεριλαμβάνοντας και την προσφάτως αναπτυσσόμενη τεχνική της τομογραφίας ηλεκτρικής αντίστασης. Στο Σχήμα 2 φαίνεται η διαδικασία της real-time υπερηχογραφικής απεικόνισης της Κρυστοχειρουργικής Ήπατος. Παρατηρούμε ότι η κεφαλή του υπερήχου τοποθετείται σε κάθετη κατεύθυνση σε σχέση με αυτή του cryoprobe. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται η βέλτιστη απεικόνιση της κρυστοβλάξης. Στο Σχήμα 3 παρουσιάζεται η εικόνα μαγνητικής τομογραφίας κατά τη διάρκεια της Κρυστοχειρουργικής ήπατος (MR assisted Cryosurgery).



Σχήμα 2: Υποβοηθούμενη από υπέρηχο Κρυστοχειρουργική [Πηγή: Διαδίκτυο].



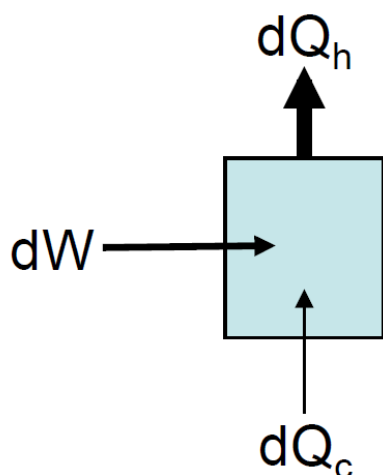
Σχήμα 3: Υποβοηθούμενη από μαγνητικό τομογράφο Κρυστοχειρουργική. (A) Εγκάρσια λήψη, (B) Οβελιαία λήψη [Πηγή: Διαδίκτυο].

2.5 ΟΙ ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΟΙ ΚΥΚΛΟΙ ΤΩΝ ΚΡΥΟΓΟΝΙΚΩΝ ΜΕΣΩΝ [75,76]

Η ιδανική υγραποίηση αερίων

Η υγραποίηση του αζώτου αποτελεί την κύρια διαδικασία παραγωγής υγρού αζώτου, που αποτελεί ίσως τον κυριότερο κρυογονικό παράγοντα στη Κρυοχειρουργική.

Η μεταφορά θερμότητας από μια θερμή δεξαμενή σε μία ψυχρότερη σύμφωνα με το δεύτερο θερμοδυναμικό νόμο απαιτεί την προσφορά ενέργειας. Η διαδικασία αυτή παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.



Σχήμα 4: 2^{ος} Θερμοδυναμικός Νόμος: Η μεταφορά θερμότητας αντίθετα στη θερμοκρασιακή κλίση απαιτεί την προσφορά έργου (dW) [75].

Το ποσό της θερμότητας που μεταφέρεται σχετίζεται με τη μεταβολή της εντροπίας ως εξής:

$$dQ = TdS$$

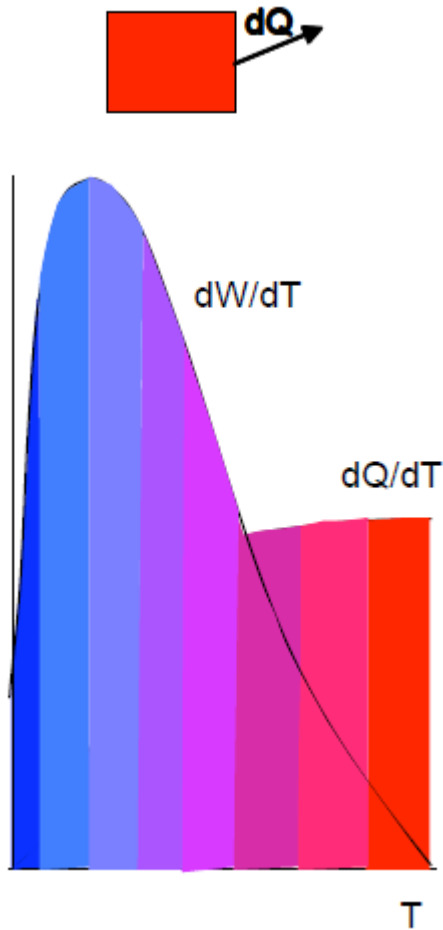
Σε μια ιδανική διαδικασία η εντροπία που σχετίζεται με κάθε θερμορροή (βλ. Σχήμα 4) είναι η ίδια και έτσι προκύπτει:

$$dS = \frac{dQ_c}{T_c} = \frac{dQ_h}{T_h}$$

Σε μια ιδανική διαδικασία το έργο (ενέργεια) που απαιτείται για αυτή τη μεταφορά ενέργειας είναι:

$$dW = dQ_h - dQ_c$$

Κατά τη μεταφορά θερμότητας από ένα μέσο σε ένα άλλο, ψύχοντας το πρώτο κατά dT και απελευθερώνοντας τη θερμότητα αυτή σε μια θερμή δεξαμενή σε θερμοκρασία T_h (Σχήμα 5) έχουμε:



Σχήμα 5: Στον κατακόρυφο άξονα προσδιορίζεται το απαιτούμενο έργο κατά τη μεταφορά ποσού θερμότητας dQ από ένα ψυχρό προς ένα θερμό μέσο ανάλογα με το θερμοκρασιακό προφίλ τους [75].

$$dQ = mc_p dT$$

$$dW = dQ_h - dQ = mc_p \left(\frac{T_h}{T} - 1 \right) dT$$

Λαμβάνοντας υπόψη τη θερμοκρασιακή εξάρτηση της ειδικής θερμότητας $c_p(T)$, το έργο για την ιδανική ψύξη γίνεται:

$$\Delta W = \int_{T_c}^{T_h} mc_p (T) \left(\frac{T_h}{T} - 1 \right) dT$$

Για σύγκριση παραθέτουμε το ποσό της ενέργειας που απαιτείται για την θέρμανση της ίδιας μάζας:

$$\Delta E = \int_{T_c}^{T_h} mc_p (T) dT$$

Η ιδανική υγροποίηση περιλαμβάνει την ψύξη του αερίου και την μετατροπή του από κορεσμένο ατμό σε κορεσμένο υγρό στην κανονική θερμοκρασία βρασμού του.

$$\Delta W = \int_{T_{nbp}}^{T_h} mc_p(T) \left[\frac{T_h}{T} - 1 \right] dT + mh_{f \rightarrow g} \left[\frac{T_h}{T_{nbp}} - 1 \right]$$

Ο πρώτος όρος περιγράφει το έργο αφαίρεσης της αισθητής θερμότητας και ο δεύτερος της λανθάνουσας, με το $h_{f \rightarrow g}$ να είναι η ενθαλπία μετασχηματισμού από την υγρή στην αέρια φάση (αλλαγής φάσης).

Αναδιατάσσοντας τους όρους έχουμε:

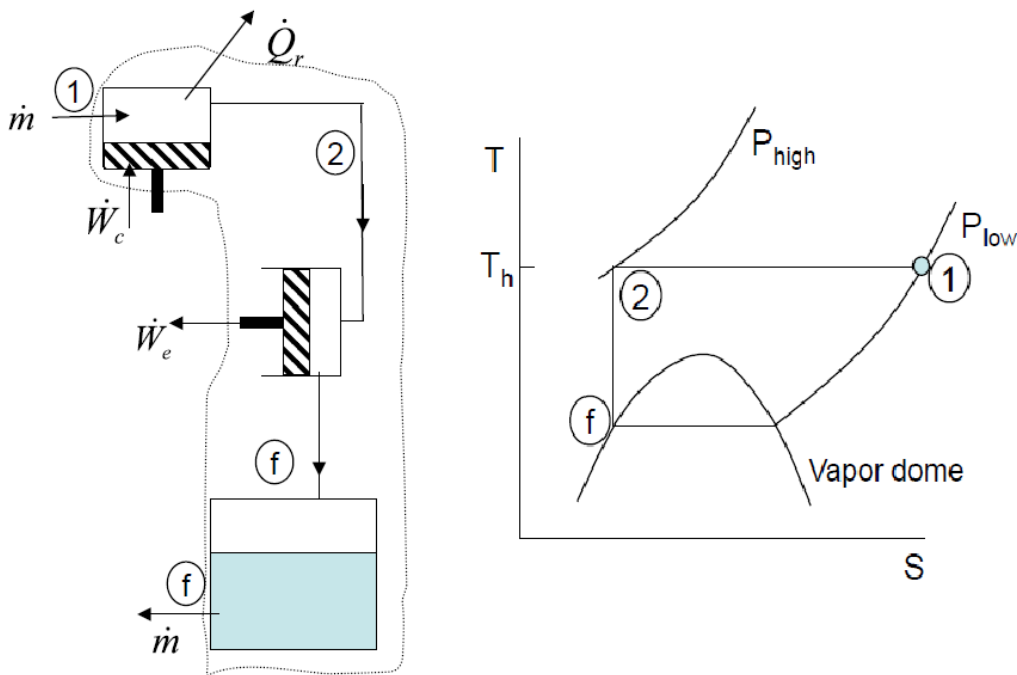
$$\Delta W = mT_h \left[\int_{T_{nbp}}^{T_h} \frac{c_p(T)}{T} dT + \frac{h_{f \rightarrow g}}{T_{nbp}} \right] - m \left[\int_{T_{nbp}}^{T_h} c_p(T) dT + h_{f \rightarrow g} \right]$$

ή

$$\Delta W = mT_h \Delta s - m \Delta h$$

ή τελικά στη μορφή ρυθμών μεταβολής

$$\Delta \dot{W} = \dot{m} T_h \Delta s - \dot{m} \Delta h$$



Σχήμα 6: Ιδανικός κύκλος υγροποίησης αερίου. 1->2 Αδιαβατική συμπίεση με προσφορά έργου \dot{W}_c και αποβολή θερμότητας \dot{Q}_r . 2->f Ισεντροπική εκτόνωση με απόδοση έργου \dot{W}_e και υγροποίηση (f) [75].

Με εφαρμογή του 1^{ου} Θερμοδυναμικού Νόμου: Ισολογισμός ενέργειας με όγκο ελέγχου που περιλαμβάνει ολόκληρο το σύστημα υγροποίησης (βλ. Σχήμα 6).
 Στη μόνιμη κατάσταση (steady state) το σύνολο της ενέργειας που εισέρχεται στο σύστημα ισούται με αυτή που εξέρχεται από αυτό.

$$\dot{W}_c + \dot{m} h_1 = \dot{W}_e + \dot{Q}_r + \dot{m} h_f$$

ή

$$\dot{W}_{net} = \dot{Q}_r - \dot{m}(h_1 - h_f)$$

Με εφαρμογή του 2^{ου} Θερμοδυναμικού Νόμου: Ισολογισμός εντροπίας με όγκο ελέγχου που περιλαμβάνει ολόκληρο το σύστημα υγροποίησης (βλ. Σχήμα 6).
 Στη μόνιμη κατάσταση (steady state) το άθροισμα της εντροπίας μέσα και έξω από το σύστημα ισούται με το μηδέν.

$$\dot{m} s_1 = \dot{m} s_f + \frac{\dot{Q}_r}{T_1} \Rightarrow \dot{Q}_r = T_1 \dot{m}(s_1 - s_f)$$

Συνδυάζοντας τα παραπάνω προκύπτει:

$$\dot{W}_{net} = T_1 \dot{m}(s_1 - s_f) - \dot{m}(h_1 - h_f)$$

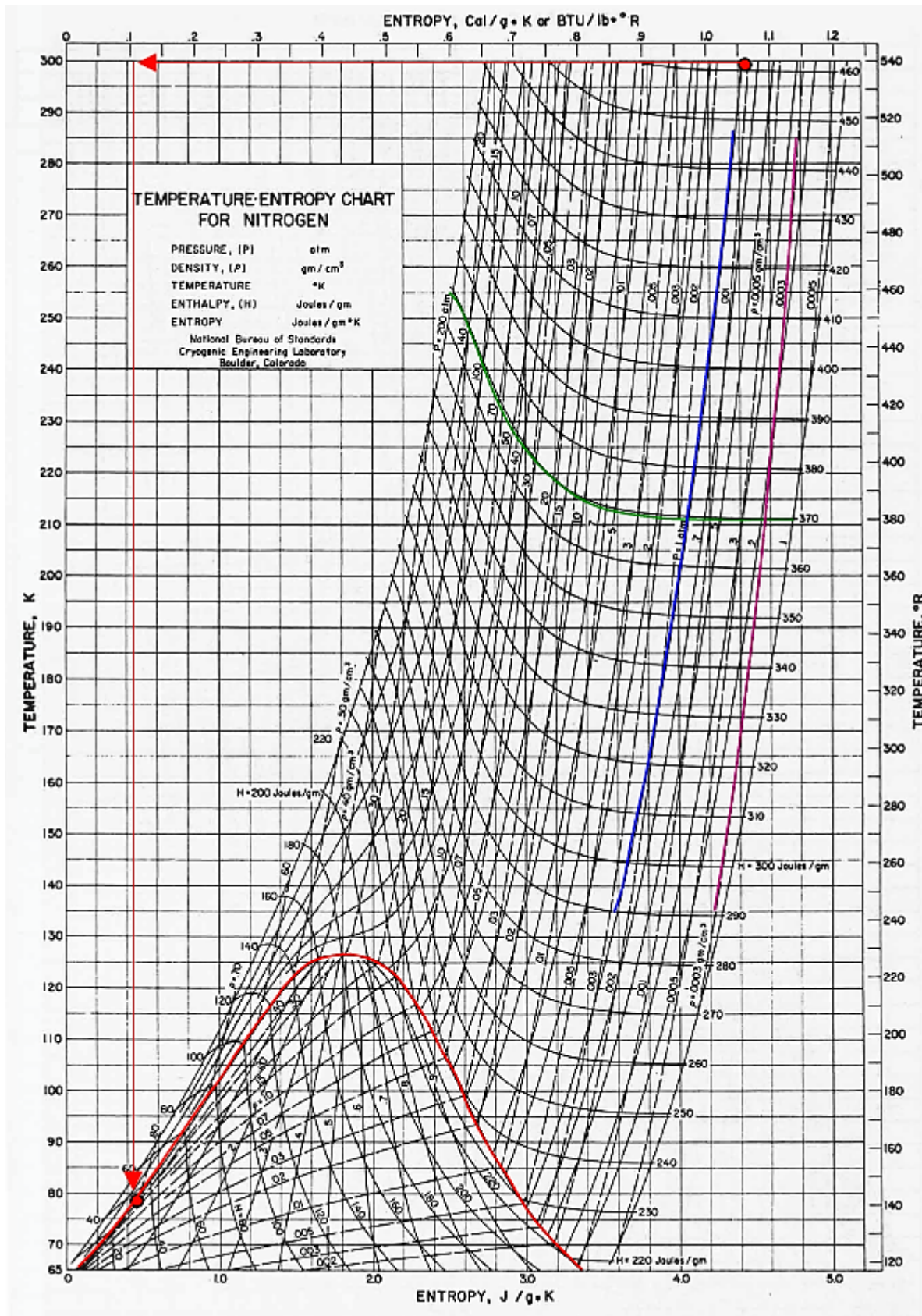
Στον Πίνακα 1 φαίνονται τα απαιτούμενα ποσά ενέργειας για την υγροποίηση αερίων με αρχική κατάσταση $T = 27^\circ\text{C}$ (300K) και $P = 101,3 \text{ KPa}$.

Gas	Normal Boiling Point		Ideal Work of Liquefaction, $-\dot{W}_l/\dot{m}_f$	
	K	°R	kJ/kg	Btu/lb _m
Helium-3	3.19	5.74	8 178	3 516
Helium-4	4.21	7.58	6 819	2 931
Hydrogen, H ₂	20.27	36.5	12 019	5 167
Neon, Ne	27.09	48.8	1 335	574
Nitrogen, N ₂	77.36	139.2	768.1	330.2
Air	78.8	142	738.9	317.7
Carbon monoxide, CO	81.6	146.9	768.6	330.4
Argon, A	87.28	157.1	478.6	205.7
Oxygen, O ₂	90.18	162.3	635.6	273.3
Methane, CH ₄	111.7	201.1	1 091	469
Ethane, C ₂ H ₆	184.5	332.1	353.1	151.8
Propane, C ₃ H ₈	231.1	416.0	140.4	60.4
Ammonia, NH ₃	239.8	431.6	359.1	154.4

Πίνακας 1: Απαιτούμενα ποσά ενέργειας για την υγροποίηση αερίων με αρχική κατάσταση $T = 27^\circ\text{C}$ (300K) και $P = 101,3 \text{ KPa}$. [75].

Παρατηρήσεις στο Θερμοδυναμικό διάγραμμα του αζώτου

Στο Διάγραμμα 1 παρουσιάζεται το θερμοδυναμικό διάγραμμα θερμοκρασίας – εντροπίας για το άζωτο.



Διάγραμμα 1: Διάγραμμα θερμοκρασίας – εντροπίας για το άζωτο [75].

Στο Διάγραμμα 1 παρατηρούμε ότι οι μπλε καμπύλες αντιστοιχούν σε σταθερή πίεση, οι πράσινες σε σταθερή ενθαλπία, οι μωβ σε σταθερή πυκνότητα και η κόκκινη στον κώδωνα ατμών του αζώτου.

Γενικά η ισεντροπική εκτόνωση είναι εξαιρετικά δύσκολο να επιτευχθεί ενώ η ισενθαλπική εκτόνωση (ισενθαλπικός στραγγαλισμός) πολύ ευκολότερη.

Η ψύξη που σχετίζεται με ισενθαλπικό στραγγαλισμό εμφανίζει ιδιότητες πραγματικού αερίου.

Τέλος σημειώνουμε ότι σε υψηλή θερμοκρασία και πίεση η ενθαλπία (h) είναι ανεξάρτητη της πίεσης, ενώ σε οποιαδήποτε άλλη κατάσταση είναι εξαρτημένη.

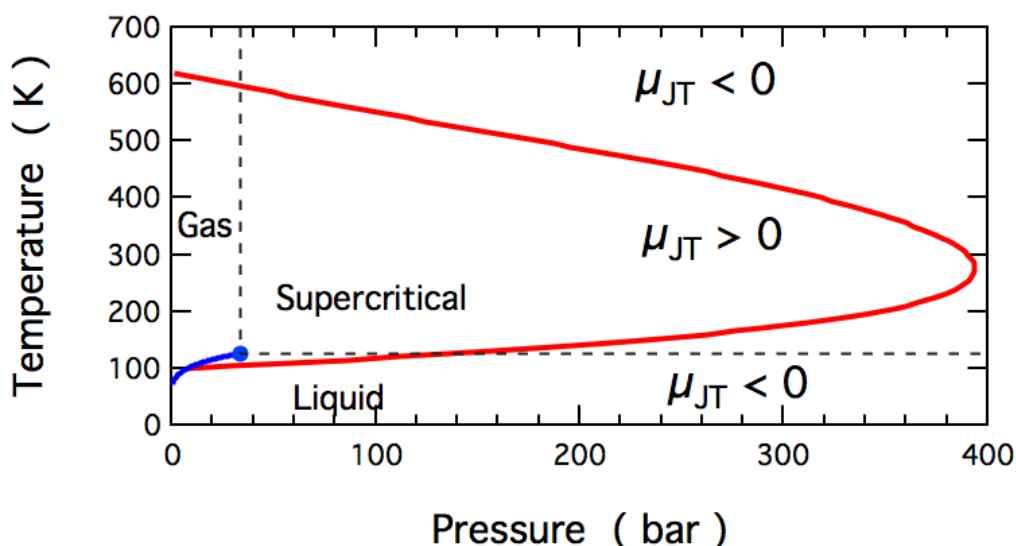
Το φαινόμενο Joule – Thomson

Στη Θερμοδυναμική το φαινόμενο Joule – Thomson, αλλιώς γνωστό ως φαινόμενο Joule – Kelvin, περιγράφει την αλλαγή θερμοκρασίας ενός πραγματικού αερίου ή υγρού όταν εξαναγκάζεται σε ροή μέσω βαλβίδας ενώ παραμένει θερμικά μονωμένο έτσι ώστε να μην επισυμβαίνει ανταλλαγή θερμότητας με το περιβάλλον του. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται στραγγαλισμός ή φαινόμενο Joule – Thomson. Σε θερμοκρασία δωματίου όλα τα αέρια εκτός από το υδρογόνο, το ήλιο και το νέον, ψύχονται με εκτόνωση μέσω του φαινομένου Joule – Thomson όταν στραγγαλίζονται με ροή μέσω μικρού διακένου. Τα τρία παραπάνω αέρια υφίστανται το ίδιο φαινόμενο, όμως σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Χρήση του φαινομένου Joule – Thomson έχουμε στους υγροποιητές, όπως για την παραγωγή υγρού αζώτου προς εφαρμογή στη Κρυσταλλογραφία. Από την άλλη το φαινόμενο αυτό αποτελεί τον μοναδικό μηχανισμό για παραγωγή ψύξης στον Κρυσταλλογραφικό εξοπλισμό με χρήση αερίων όπως διοξειδίου του άνθρακα, ηλίου ή νέου.

Το φαινόμενο έλαβε την ονομασία του από τους James Prescott Joule, William Thomson και Baron Kelvin που το ανακάλυψαν τον 1852. Ακολούθησε μετά το έργο του Joule πάνω στην εκτόνωση κατά Joule στην οποία ένα αέριο υφίσταται ελεύθερη εκτόνωση εν κενώ και η θερμοκρασία του παραμένει αμετάβλητη, αν πρόκειται για ιδανικό αέριο.

Η αδιαβατική (χωρίς ανταλλαγή θερμότητας) εκτόνωση ενός αερίου ενδέχεται να πραγματοποιηθεί με πολλούς τρόπους. Η αλλαγή της θερμοκρασίας που υφίσταται το αέριο κατά την εκτόνωση εξαρτάται όχι μόνο από την αρχική και την τελική πίεση, αλλά επίσης και στο τρόπο με τον οποίο διενεργήθηκε η εκτόνωση. Συγκεκριμένα αν η εκτόνωση είναι αντιστρεπτή, γεγονός που σημαίνει ότι το αέριο ευρίσκεται σε κατάσταση θερμοδυναμικής ισορροπίας συνεχώς, τότε λέμε ότι έχουμε ισεντροπική εκτόνωση. Σε αυτή τη περίπτωση το αέριο αποδίδει έργο κατά την εκτόνωση του και η θερμοκρασία του μειώνεται. Από την άλλη σε μία ελεύθερη εκτόνωση το αέριο δεν παράγει έργο και δεν απορροφά ενέργεια και έτσι η εσωτερική του ενέργεια διατηρείται σταθερή. Με αυτή την εκτόνωση η θερμοκρασία ενός ιδανικού αερίου παραμένει σταθερή, όμως ενός πραγματικού αερίου μειώνεται όταν αυτό ευρίσκεται σε υψηλή θερμοκρασία. Τέλος κατά την εκτόνωση κατά Joule – Thomson στην οποία ένα αέριο ή υγρό σε πίεση P_1 ρέει σε μία περιοχή με χαμηλότερη πίεση P_2 χωρίς σημαντική μεταβολή στην κινητική του ενέργεια, η ενθαλπία παραμένει σταθερή. Σε αντίθεση με την ελεύθερη εκτόνωση το αέριο αποδίδει έργο, με επαγόμενη μεταβολή στην εσωτερική του ενέργεια. Το αν η εσωτερική του ενέργεια αυξάνεται ή μειώνεται καθορίζεται από το αν απορροφάται ή αποδίδεται ενέργεια από το σύστημα.

Η αλλαγή θερμοκρασίας που επιφέρει η εκτόνωση κατά Joule – Thomson ποσοτικοποιείται με τον συντελεστή Joule – Thomson (μ_{JT}). Αυτός ο συντελεστής μπορεί να είναι είτε θετικός (σε ψύξη), είτε αρνητικός (σε θέρμανση). Οι περιοχές στις οποίες ο συντελεστής Joule – Thomson είναι θετικός ή αρνητικός για το μοριακό άζωτο φαίνεται στο Διάγραμμα 2.



Διάγραμμα 2: Τιμές του συντελεστή Joule – Thomson για το μοριακό άζωτο. Μέσα στην περιοχή που οριοθετείται από την κόκκινη καμπύλη, η εκτόνωση κατά Joule – Thomson παράγει ψύξη, ενώ επι τα εκτός αυτής παράγεται θερμότητα. Η συνύπαρξη υγρής και αέριας φάσης καταδεικνύεται από την μπλε καμπύλη και τερματίζεται στο κριτικό σημείο (μπλε τελεία). Οι διακεκομμένες οριοθετούν τις περιοχές όπου το άζωτο ευρίσκεται ως υπερκρίσιμο ρευστό, υγρό ή αέριο [Πηγή Wikipedia].

Παρατηρούμε ότι στη μεγαλύτερη έκταση του Διαγράμματος 2 το άζωτο ευρίσκεται ως υπερκρίσιμο ρευστό, όπου διαθέτει ιδιότητες τόσο υγρού, όσο και αερίου. Ο συντελεστής μ_{JT} είναι αρνητικός τόσο σε πολύ υψηλές όσο και σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, ενώ σε υψηλές πιέσεις είναι αρνητικός σχεδόν σε όλο το θερμοκρασιακό εύρος. Σε χαμηλές πιέσεις ο συντελεστής είναι αρνητικός για υψηλές θερμοκρασίες, ενώ είναι θετικός σε χαμηλές θερμοκρασίες. Σε θερμοκρασίες κάτω από το όριο συνύπαρξης αερίου – υγρού το άζωτο συμπυκνώνεται για να σχηματίσει υγρό και ο συντελεστής γίνεται και πάλι αρνητικός. Έτσι λοιπόν για το αέριο μοριακό άζωτο κάτω από τους 621K, μπορεί να χρησιμοποιηθεί η εκτόνωση Joule – Thomson για την ψύξη του αερίου μέχρι τον σχηματισμό υγρού αζώτου. Το τελευταίο αφορά στη χρήση του φαινομένου Joule – Thomson στους υγροποιητές για την παραγωγή υγρού αζώτου προς χρήση ως κρυογονικό μέσο στη Κρυοχειρουργική. Υπάρχουν δύο βασικοί παράγοντες που μπορούν να αλλάξουν τη θερμοκρασία του ρευστού κατά τη διάρκεια μιας αδιαβατικής εκτόνωσης, η μεταβολή της εσωτερικής ενέργειας ή η αλληλομετατροπή μεταξύ κινητικής και δυναμικής εσωτερικής ενέργειας. Η θερμοκρασία αποτελεί το μέτρο της θερμικής κινητικής ενέργειας (της ενέργειας που σχετίζεται με τη μοριακή κινητικότητα) και έτσι μια μεταβολή στη θερμοκρασία καταδεικνύει μια μεταβολή στη θερμική κινητική ενέργεια. Η εσωτερική ενέργεια είναι το άθροισμα της θερμικής κινητικής ενέργειας και της θερμικής δυναμικής ενέργειας. Έτσι ακόμα και αν η εσωτερική ενέργεια δεν μεταβάλλεται, η θερμοκρασία μπορεί να αλλάξει λόγω αλληλομετατροπής μεταξύ κινητικής και δυναμικής ενέργειας.

Αυτό ακριβώς συμβαίνει κατά την ελεύθερη εκτόνωση με άμεση συνέπεια την πτώση της θερμοκρασίας καθώς το ρευστό εκτονώνεται. Αν το ρευστό προσφέρει η δαπανά εξωτερικό έργο κατά την εκτόνωση του τότε αυτό αντικατοπτρίζεται από τη μεταβολή της συνολικής εσωτερικής ενέργειας. Το γεγονός αυτό χαρακτηρίζει την εκτόνωση κατά Joule – Thomson και μπορεί να παράγει μεγαλύτερη θέρμανση ή ψύξη από αυτή που παρατηρούμε κατά την ελεύθερη εκτόνωση.

Στην εκτόνωση κατά Joule – Thomson η ενθαλπία (H) παραμένει σταθερή. Η ενθαλπία H ορίζεται ως:

$$H = U + PV$$

Όπου U είναι η εσωτερική ενέργεια, P είναι η πίεση και V είναι ο όγκος. Κατά τις συνθήκες εκτόνωσης Joule – Thomson η μεταβολή στην ποσότητα PV αντιπροσωπεύει το έργο που παράγεται από το ρευστό. Αν το PV αυξάνει ισενθαλπικά, δηλαδή με σταθερό H, τότε η εσωτερική ενέργεια U πρέπει να μειώνεται σαν αποτέλεσμα προσφοράς έργου από το ρευστό στο περιβάλλον του. Το γεγονός αυτό επιφέρει μια μείωση της θερμοκρασίας και οδηγεί σε θετικό συντελεστή Joule – Thomson. Από την άλλη μια μείωση του PV σημαίνει ότι προσφέρεται έργο στο ρευστό με αποτέλεσμα να αυξάνεται η εσωτερική του ενέργεια. Αν η αύξηση της εσωτερικής ενέργειας ξεπερνά την αύξηση της δυναμικής ενέργειας, τότε θα υπάρχει μια αύξηση στη θερμοκρασία του ρευστού και ο συντελεστής Joule – Thomson θα είναι αρνητικός.

Για ιδανικό αέριο το γινόμενο PV δεν μεταβάλλεται κατά την εκτόνωση Joule – Thomson. Έτσι δεν επέρχεται αλλαγή στην εσωτερική ενέργεια. Επίσης εφόσον δεν υπάρχει αλλαγή στην θερμική δυναμική ενέργεια, δεν μπορεί να υπάρχει μεταβολή στην θερμική κινητική ενέργεια και συνεπώς στη θερμοκρασία. Ο λόγος του PV του πραγματικού αερίου προς το PV του ιδανικού αερίου για την ίδια θερμοκρασία ονομάζεται παράγοντας συμπιεστότητας και συμβολίζεται με Z. Για ένα αέριο η τιμή του Z είναι τυπικά κάτω από 1 σε χαμηλή θερμοκρασία και πάνω από 1 σε υψηλή θερμοκρασία. Σε χαμηλή πίεση η τιμή του Z πάντοτε τείνει προς το 1 καθώς το αέριο εκτονώνεται. Έτσι σε χαμηλή θερμοκρασία τα Z και PV θα αυξάνονται καθώς το αέριο εκτονώνεται οδηγώντας σε ένα θετικό συντελεστή Joule – Thomson. Σε υψηλή θερμοκρασία τα Z και PV μειώνονται καθώς το αέριο εκτονώνεται και αν αυτή η μείωση είναι σημαντική, τότε ο συντελεστής Joule – Thomson θα είναι αρνητικός.

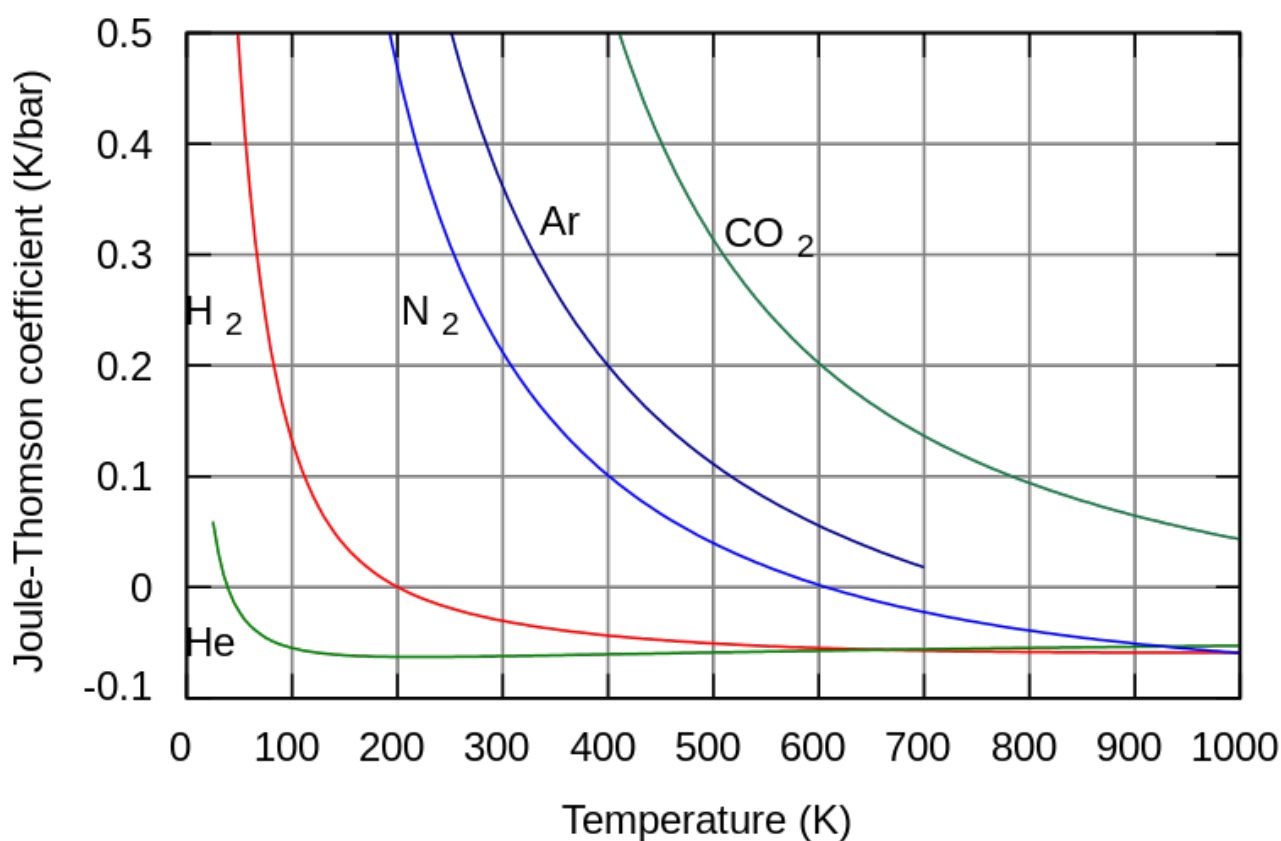
Για τα υγρά και για υπερκρίσιμα ρευστά κάτω από υψηλή πίεση το γινόμενο PV αυξάνεται καθώς η πίεση αυξάνει. Το γεγονός αυτό συμβαίνει καθώς τα μόρια συμπιέζονται μεταξύ τους έτσι ώστε ο όγκος μπορεί οριακά να μειωθεί με εφαρμογή μεγαλύτερης πίεσης. Κάτω από αυτές τις συνθήκες ο συντελεστής Joule – Thomson είναι αρνητικός. Ο φυσικός μηχανισμός που σχετίζεται με το φαινόμενο Joule – Thomson είναι αυτός της ανάπτυξης κρουστικού κύματος με τη διαφορά ότι σε αυτό δεν είναι αμελητέα η μεταβολή στην κινητική ενέργεια της ροής αερίου.

Ο ρυθμός μεταβολής της θερμοκρασίας (T) με την πίεση (P) στο φαινόμενο Joule – Thomson υπο σταθερή ενθαλπία (H) ουσιαστικά είναι ο συντελεστής Joule – Thomson μ_J .

Ο συντελεστής αυτός μπορεί να εκφραστεί ως προς τον όγκο του αερίου V , τη θερμοχωρητικότητα του υπο σταθερή πίεση C_p και τον συντελεστή θερμικής του εκτόνωσης α ως εξής:

$$\mu_{JT} = \left(\frac{\partial T}{\partial P} \right)_H = \frac{V}{C_p} (\alpha T - 1)$$

Οι τυπικές μονάδες για τον συντελεστή Joule – Thomson είναι °C/bar ή K/Pa και εξαρτάται από τον τύπο του αερίου καθώς και την θερμοκρασία και την πίεση αυτού αμέσως πριν από την εκτόνωση (βλ. Διάγραμμα 3). Η εξάρτηση της πίεσης είναι της τάξης των λίγων εκατοστών για πιέσεις μέχρι και 100 bar.



Διάγραμμα 3: Οι συντελεστές Joule – Thomson για διάφορα αέρια σε θερμοκρασία δωματίου [Πηγή Wikipedia].

Όλα τα πραγματικά αέρια έχουν ένα σημείο αναστροφής στο οποίο η τιμή του συντελεστή Joule – Thomson αλλάζει πρόσημο. Η θερμοκρασία αυτού του σημείου ονομάζεται θερμοκρασία αναστροφής Joule – Thomson και εξαρτάται από την πίεση του αερίου πριν την εκτόνωση.

Κατά την εκτόνωση ενός αερίου η πίεση του μειώνεται και έτσι το πρόσημο του dP είναι αρνητικό εξ 'ορισμού. Ο ακόλουθος Πίνακας 2 εξηγεί το πότε το φαινόμενο Joule – Thomson ψύχει ή θερμαίνει ένα πραγματικό αέριο.

If the gas temperature is	then μ_{JT} is	since dP is	thus dT must be	so the gas
below the inversion temperature	positive	always negative	negative	cools
above the inversion temperature	negative	always negative	positive	warms

Πίνακας 2: Περιπτώσεις ψύξης και θέρμανσης ιδανικού αερίου κατά την εκτόνωση του σε σχέση με την αρχική του θερμοκρασία [Πηγή Wikipedia].

Το υδρογόνο και το ήλιο είναι δύο αέρια των οποίων οι θερμοκρασίες αναστροφής Joule – Thomson σε πίεση 1atm είναι πολύ χαμηλές, για παράδειγμα περί τους -228°C (45K) για το ήλιο. Έτσι το ήλιο και το υδρογόνο θερμαίνονται κατά την ισενθαλπική τους εκτόνωση σε τυπικές θερμοκρασίες δωματίου. Για το λόγο αυτό σε κρυοχειρουργικό εξοπλισμό με χρήση ηλίου ως κρυογονικό μέσο προηγείται η ψύξη του κάτω από την θερμοκρασία αναστροφής προκειμένου να επιτυγχάνεται η ψύξη του κατά την τελική του εκτόνωση στο tip του cryoprobe. Από την άλλη, το άζωτο, που χρησιμοποιείται ευρέως ως το αποδοτικότερο κρυογονικό μέσο, και το οξυγόνο που χρησιμοποιήθηκε παλαιότερα για τον ίδιο σκοπό, που ταυτόχρονα αποτελούν τα κυριότερα αέρια του ατμοσφαιρικού αέρα, έχουν θερμοκρασίες αναστροφής 348°C (621K) και 491°C (764K) αντίστοιχα, και έτσι μπορούν να ψύχονται μέσω του φαινομένου Joule – Thomson σε θερμοκρασία δωματίου.

Για ένα ιδανικό αέριο ο συντελεστής Joule – Thomson είναι σταθερά ίσος με μηδέν και έτσι τα ιδανικά αέρια ούτε θερμαίνονται αλλά ούτε και ψύχονται κατά την ισενθαλπική τους εκτόνωση.

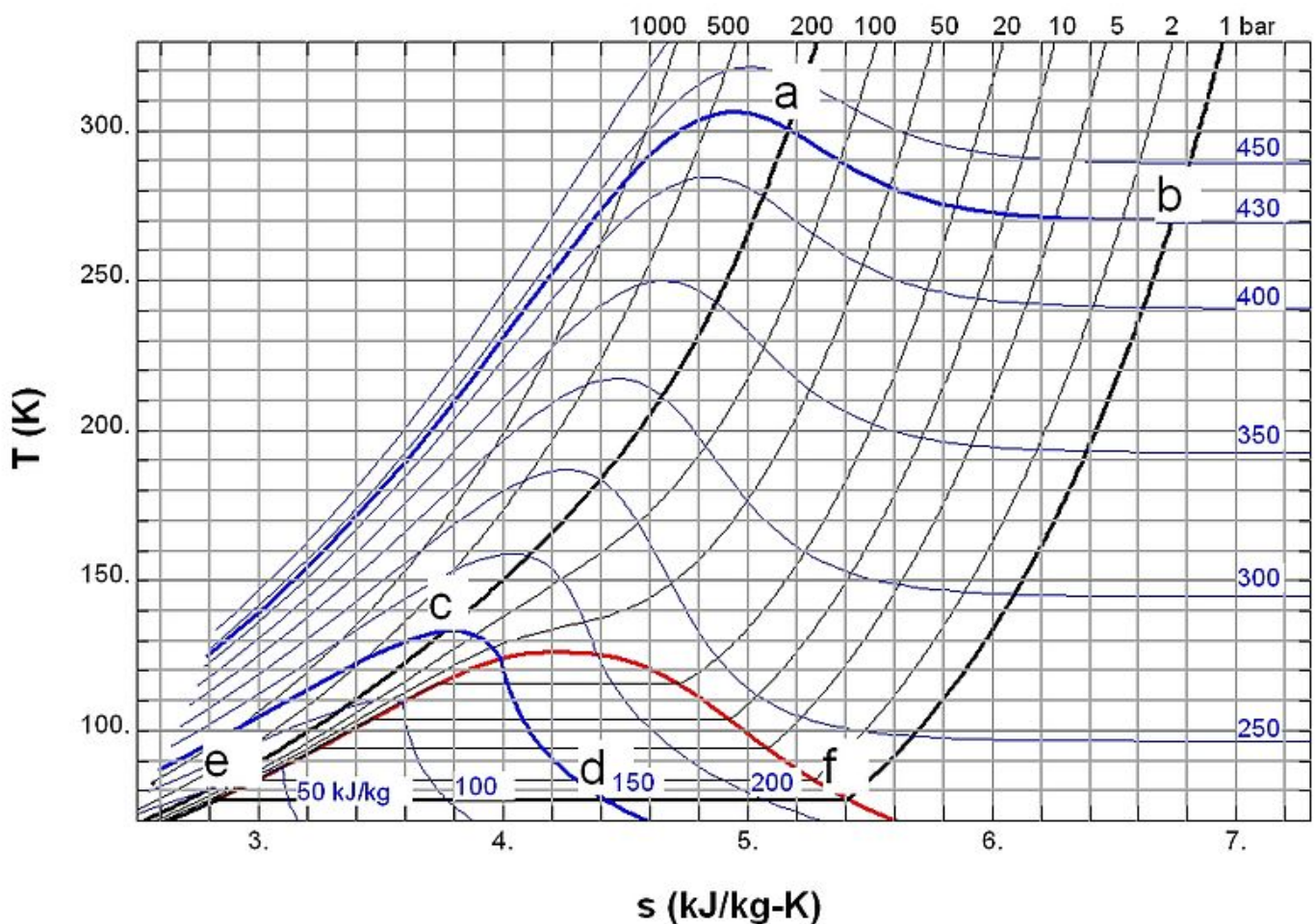
Πρακτικά το φαινόμενο Joule – Thomson επιτυγχάνεται επιτρέποντας την εκτόνωση του αερίου μέσα από έναν στραγγαλιστικό μηχανισμό όπως μια ελεγχόμενη βαλβίδα, η οποία πρέπει να είναι πολύ καλά μονωμένη ώστε να αποτρέπει την ανταλλαγή θερμότητας από και προς το αέριο. Επίσης δεν πρέπει το αέριο που εκτονώνεται να παράγει έργο όπως για παράδειγμα στην πτερύγωση ενός στροβίλου.

Η ψύξη που παράγεται κατά το φαινόμενο Joule – Thomson την καθιστά πολύτιμο εργαλείο στην Κρυοχειρουργική με χρήση συσκευών αερίου. Επίσης γίνεται χρήση του φαινομένου Joule – Thomson και στην τεχνική των Linde – Hampton ως μια τυπική διαδικασία για την υγροποίηση αερίων όπως το άζωτο, το οξυγόνο και το αργό που στη συνέχεια χρησιμεύουν ως ψυκτικά μέσα κρυογονικής.

Ένα αέριο θα πρέπει να ευρίσκεται κάτω από την θερμοκρασία αναστροφής του έτσι ώστε να υγροποιηθεί μέσω του κύκλου των Linde – Hampton. Για το λόγο αυτό οι υγροποιητές απλού κύκλου Linde, με αέριο σε αρχική θερμοκρασία περιβάλλοντος, δεν είναι κατάλληλοι για την υγροποίηση του ηλίου, του υδρογόνου και του νέου. Ωστόσο όπως προαναφέρθηκε το φαινόμενο Joule – Thomson μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την υγροποίηση του ηλίου δεδομένου ότι το αέριο ήλιο αρχικά ψύχεται σε θερμοκρασία κάτωθεν της θερμοκρασίας αναστροφής του (40K) για χρήση ως κρυογονικό μέσο.

Ένας πολύ βολικός τρόπος για την κατανόηση της διαδικασίας του στραγγαλισμού αφορά στη χρήση διαγραμμάτων. Υπάρχουν διαθέσιμοι πολλοί τύποι διαγραμμάτων όπως διαγράμματα H-T (ενθαλπίας – θερμοκρασίας), H-P (ενθαλπίας – πίεσης) κλπ. Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα διαγράμματα είναι τα T-s διαγράμματα (θερμοκρασίας – εντροπίας).

Το Διάγραμμα 4 είναι ένα T-s διάγραμμα για το άζωτο κατά το φαινόμενο Joule – Thomson.



Διάγραμμα 4: Διάγραμμα T-s για το άζωτο. Ο κώδικας κόκκινου χρώματος αναπαριστά τη διφασική περιοχή με την περιοχή χαμηλής εντροπίας ως κορεσμένο υγρό και την περιοχή υψηλής εντροπίας ως κορεσμένο ατμό/αέριο. Οι καμπύλες μαύρου χρώματος αναπαριστούν τη συσχέτιση κατά μήκος των ισοβαρών καμπυλών (P=σταθερό). Οι πιέσεις είναι σε bar. Οι καμπύλες μπλε χρώματος αντιστοιχούν στις ισηθαλπικές (H=σταθερό). Οι καταστάσεις σε έναν τυπικό κύκλο έχουν ως εξής: (a) T=300K, P=200bar, s=5.16KJ/(KgK), H=430 KJ/Kg (b) T=270K, P=1bar, s=6.79KJ/(KgK), H=430 KJ/Kg (c) T=133K, P=200bar, s=3.75KJ/(KgK), H=150 KJ/Kg (d) T=77.2K, P=1bar, s=4.40KJ/(KgK), H=150 KJ/Kg (e) T=77.2K, P=1bar, s=2.83KJ/(KgK), H=28 KJ/Kg [κορεσμένο υγρό στο 1bar] (f) T=77.2K, P=1bar, s=5.41KJ/(KgK), H=230 KJ/Kg (κορεσμένος ατμός στο 1bar) [Πηγή Wikipedia].

Όπως αναφέρθηκε και ανωτέρω κατά τον στραγγαλισμό η ενθαλπία διατηρείται σταθερή. Έτσι στραγγαλιζόμενο το αέριο από πίεση 200bar και θερμοκρασία 300K (σημείο a στο Διάγραμμα 4) ακολουθεί την ισενθαλπική καμπύλη των 430KJ/(KgK). Σε πίεση 1bar καταλήγει στο σημείο b του Διαγράμματος 4, όπου έχει θερμοκρασία 270K. Έτσι ο στραγγαλισμός από τα 200bar στο 1bar αποδίδει ψύξη από θερμοκρασία δωματίου σε θερμοκρασία υπό του μηδενός.

Ο στραγγαλισμός στη συνέχεια από τα 200bar και αρχική θερμοκρασία 133K (σημείο c στο Διάγραμμα 4) στο 1bar οδηγεί στο σημείο d του Διαγράμματος 4, όπου είναι η διφασική περιοχή του αζώτου στη θερμοκρασία των 77.2K.

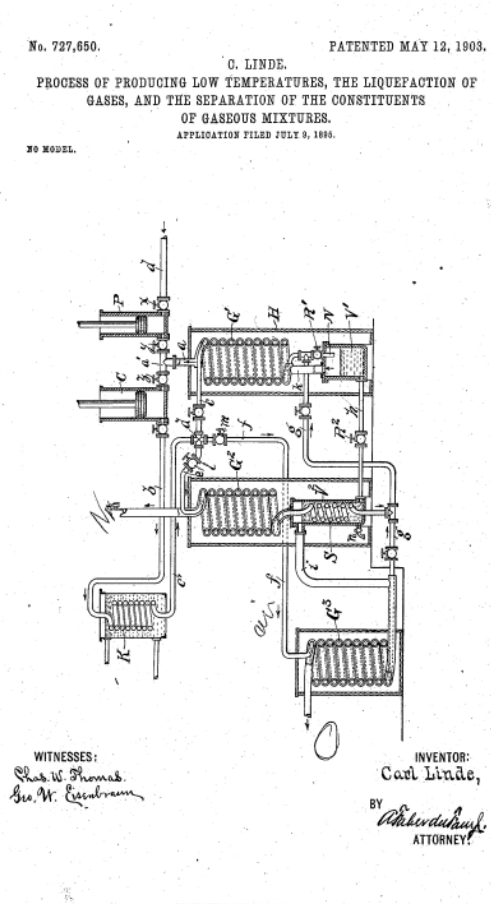
Καθώς η ενθαλπία αποτελεί εξωτερική παράμετρο, η ενθαλπία στο d (h_d) είναι ίση με την ενθαλπία στο e (h_e) πολλαπλασιασμένη επι το κλάσμα μάζας του υγρού στο d (x_d), συν την ενθαλπία στο f (h_f) πολλαπλασιασμένη επι το κλάσμα μάζας του αερίου στην d ($1-x_d$).

Έτσι:

$$h_d = x_d h_e + (1 - x_d) h_f$$

Ο κύκλος των Linde – Hampson

Ο κύκλος των Linde – Hampson χρησιμοποιείται για την υγροποίηση αερίων. Οι Carl von Linde και William Hampson πρότειναν ανεξάρτητα την πατέντα για τον κύκλο το 1895 (βλ. Σχήμα 7).

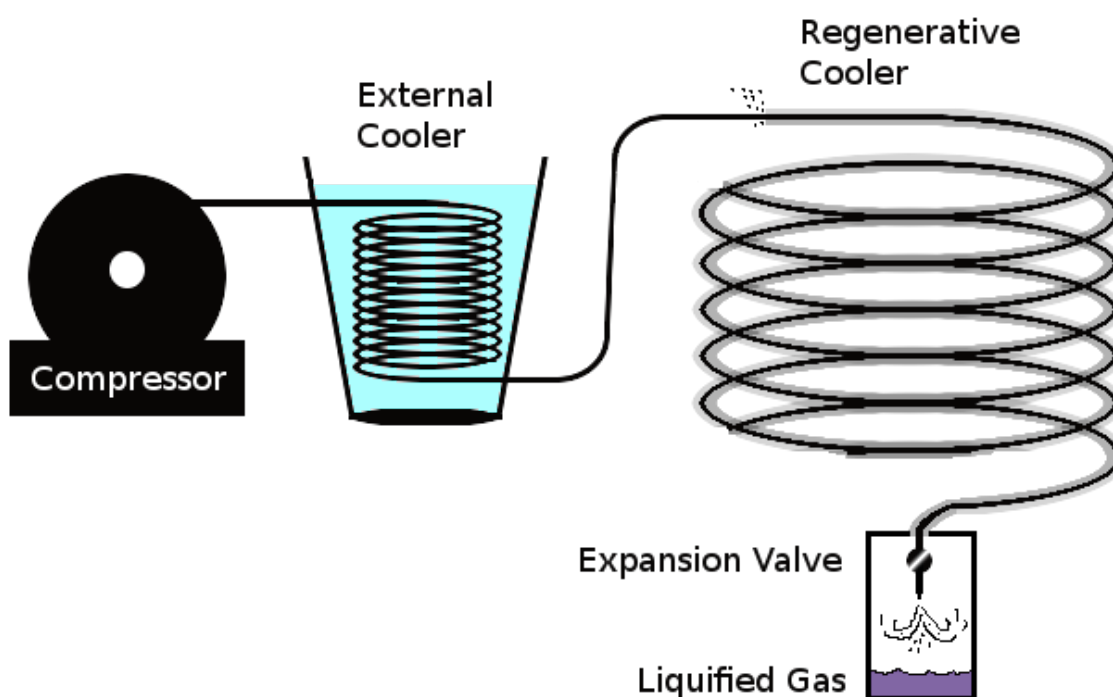


Σχήμα 7: Η πατέντα του Linde για τον ομώνυμο υγροποιητή του το 1895 [Πηγή Wikipedia].

Το σύστημα των Linde – Hampson εισήγαγε την αναγεννητική ψύξη που ουσιαστικά αφορούσε σε ένα σύστημα ψύξης θετικής ανάδρασης. Η διάταξη του εναλλάκτη θερμότητας επιτρέπει μια απόλυτη διαφορά θερμοκρασίας της τάξης των 0,27 °C/atm με χρήση του φαινομένου Joule – Thomson προκειμένου να επιτευχθεί ένα πρώτο στάδιο ψύξης και να εγκατασταθούν οι απαραίτητα χαμηλές θερμοκρασίες ώστε να λάβει χώρα η υγροποίηση του αερίου.

Ο κύκλος των Linde – Hampson διαφέρει από τον αντίστοιχο κύκλο του Siemens μόνο στο μέρος της εκτόνωσης. Έτσι, ενώ στον κύκλο Siemens το αέριο πρέπει να αποδώσει έργο ώστε να μειωθεί η θερμοκρασία του, στον κύκλο Linde – Hampson η μείωση της θερμοκρασίας του αερίου επιτυγχάνεται μέσω του φαινομένου Joule – Thomson.

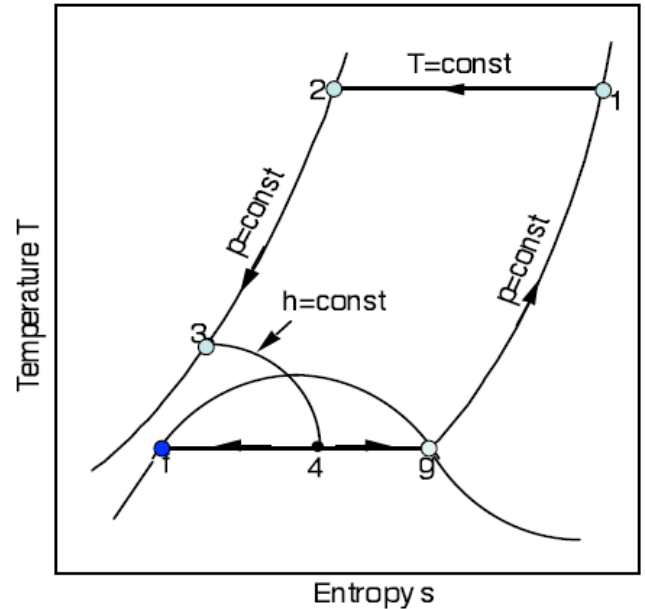
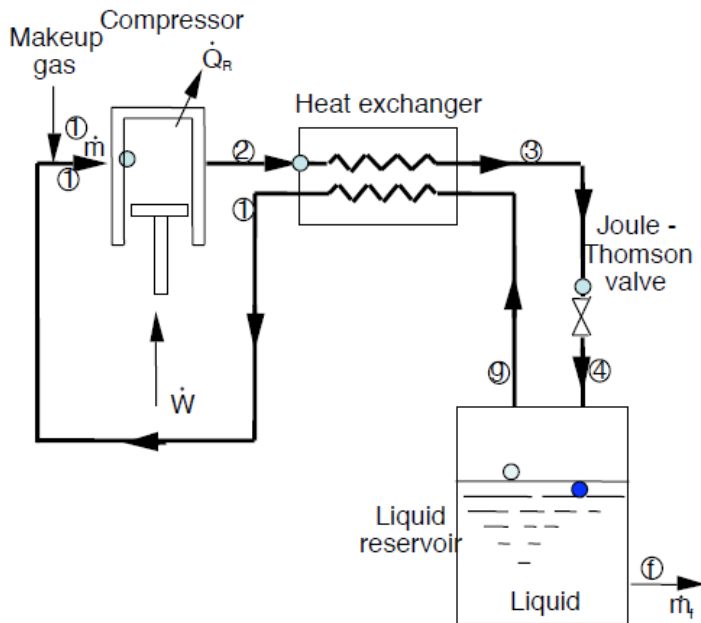
Στον κύκλο Linde – Hampson αρχικά γίνεται πρόσδοση εξωτερικού έργου στο αέριο με συμπίεση, με άμεσο αποτέλεσμα αυτό να θερμαίνεται. Στη συνέχεια το θερμό αέριο αποδίδει ένα μέρος της θερμότητας του σε κατάλληλα ψυχρότερο περιβάλλον μέσα από το οποίο διοχετεύεται. Έπειτα αποδίδει ένα σημαντικότερο μέρος της θερμότητας του σε ψυκτικό μέσο με χρήση εναλλάκτη θερμότητας. Τέλος το αέριο ψύχεται σε τελικό στάδιο με ροή δια στραγγαλιστικής βαλβίδας και αξιοποίηση του φαινομένου Joule – Thomson. Σε αυτό το σημείο το αέριο έχει απωλέσει θερμότητα αλλά με διατήρηση της εσωτερικής του ενέργειας η οποία πλέον είναι υπο τη μορφή δυναμικής εσωτερικής ενέργειας. Επίσης στο σημείο αυτό το αέριο ευρίσκεται στη χαμηλότερη θερμοκρασία μέχρι και αυτό το βήμα. Στη συνέχεια θερμαίνεται συμμετέχοντας ως ψυκτικό μέσο στον εναλλάκτη θερμότητας που προαναφέρθηκε. Έπειτα το αέριο προωθείται εκ νέου στο πρώτο στάδιο της συμπίεσης και επαναλαμβάνει το σύνολο των διεργασιών προκειμένου να επιτευχθεί η περαιτέρω μείωση της θερμοκρασίας του με την αρχική συμπίεση να προσδίδει έργο και συνεπώς να αυξάνει σχετικά την νέα θερμοκρασία εκκίνησης της διαδικασίας. Στο Σχήμα 8 γίνεται μία αδρή περιγραφή της διάταξης που μόλις περιγράφηκε.



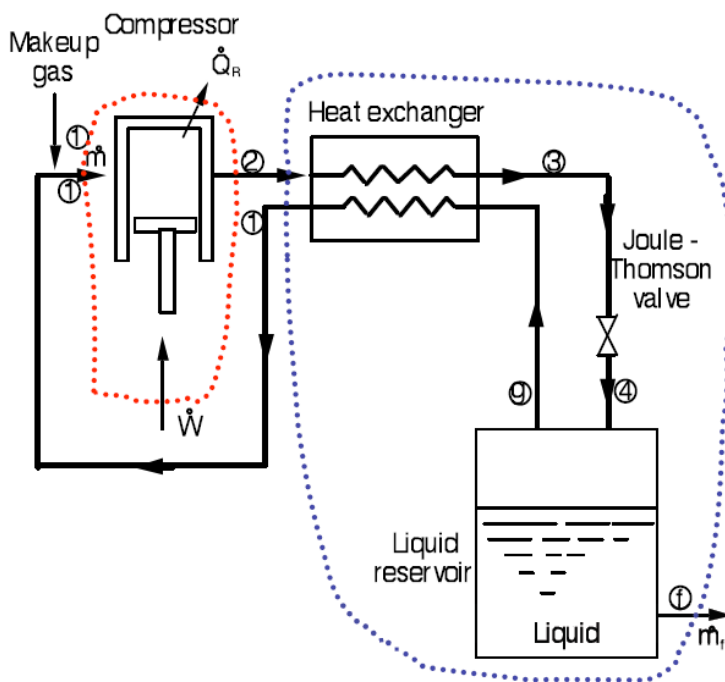
Σχήμα 8: Σχηματική διάταξη του κύκλου των Linde – Hampson [Πηγή Wikipedia].

Σε κάθε κύκλο που ξεκινά με εκ νέου συμπίεση η καθαρή ψύξη είναι μεγαλύτερη από τη θέρμανση του αερίου λόγω αυτής. Έτσι καθώς το αέριο περνά διαδοχικά μέσα από περισσότερους κύκλους τόσο γίνεται ψυχρότερο, αλλά η επίτευξη όλο και χαμηλότερων θερμοκρασιών γίνεται όλο και δυσχερέστερη.

Στο Σχήμα 9 γίνεται μια διαγραμματική περιγραφή του κύκλου των Linde – Hampson.



Σχήμα 9: Διαγραμματική διάταξη του κύκλου των Linde – Hampson. Αρχικά γίνεται προσφορά έργου στο αέριο με ισόθερμη συμπίεση (1->2). Στη συνέχεια μέσω εναλλάκτη με ψυκτικό μέσο το ίδιο το προψυχθέν αέριο ακολουθεί ισόθλιπτη ψύξη (2->3). Έπειτα με χρήση στραγγαλιστικής βαλβίδας ακολουθεί ισηνθαλπική εκτόνωση με περεταίρω ψύξη του αερίου με κατάληξη στη διφασική περιοχή (3->4). Τέλος η αέρια φάση του διφασικού μίγματος αξιοποιείται ως ψυκτικό μέσο στον εναλλάκτη και θερμαίνεται ισόθλιπτα (g->1). Η διαδικασία επαναλαμβάνεται από την αρχή με εκ νέου συμπίεση. [75].



Σχήμα 10: Σχηματική διάταξη του κύκλου των Linde – Hampson. Οριοθέτηση 'όγκων ελέγχου' [75].

Στη μόνιμη κατάσταση (steady state) ο 1^{ος} Θερμοδυναμικός Νόμος γύρω από τον συμπιεστή (βλ. Σχήμα 10_κόκκινη διακεκομμένη γραμμή) δίνει:

$$\dot{W}_c - \dot{Q}_r + \dot{m}(h_1 - h_2) = 0$$

Ο 2^{ος} Θερμοδυναμικός Νόμος γύρω από τον συμπιεστή (βλ. Σχήμα 10_κόκκινη διακεκομμένη γραμμή) με την υπόθεση της ισόθερμης συμπίεσης δίνει:

$$\dot{m} s_1 = \dot{m} s_2 + \frac{\dot{Q}_r}{T_1} \Rightarrow \dot{Q}_r = \dot{m} T_1 (s_1 - s_2)$$

Συνδυάζοντας τα παραπάνω προκύπτει:

$$\frac{\dot{W}_c}{\dot{m}} = T_1 (s_1 - s_2) - (h_1 - h_2)$$

Ο 1^{ος} Θερμοδυναμικός Νόμος στο υπόλοιπο σύστημα εκτός από τον συμπιεστή (βλ. Σχήμα 10_μπλε διακεκομμένη γραμμή) δίνει:

$$\dot{m} h_2 - \left(\dot{m} - \dot{m}_f \right) h_1 - \dot{m}_f h_f = 0 \Rightarrow \dot{m} (h_1 - h_2) = \dot{m}_f (h_1 - h_f)$$

Ορίζουμε στο σημείο αυτό ως απόδοση υγροποίησης το πηλίκο:

$$Y = \frac{\dot{m}_f}{\dot{m}} = \frac{(h_1 - h_2)}{(h_1 - h_f)}$$

Τέλος συνδυάζοντας την απόδοση υγροποίησης με το έργο συμπίεσης προκύπτει:

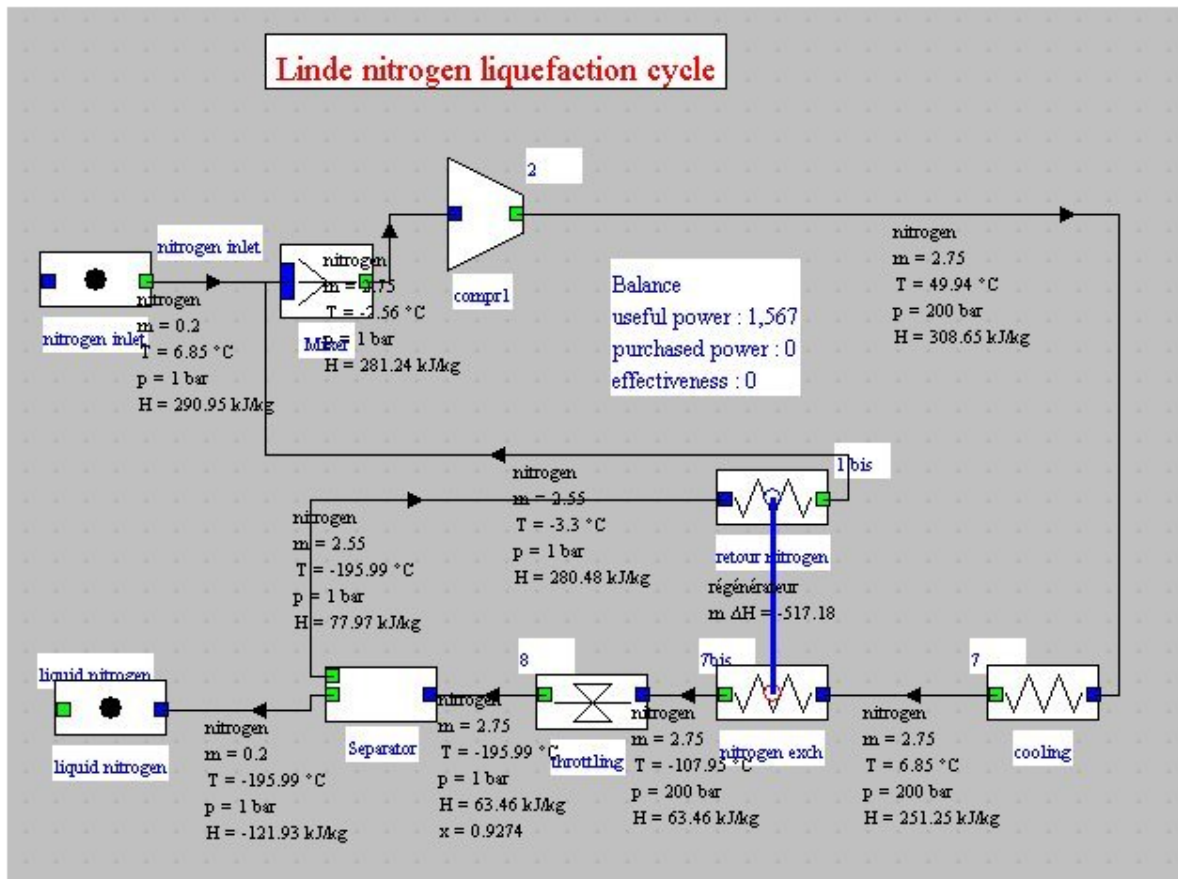
$$\frac{\dot{W}_c}{\dot{m}_f} = \frac{\dot{W}_c}{\dot{m} Y} = \left[T_1 (s_1 - s_2) - (h_1 - h_2) \right] \left(\frac{h_1 - h_f}{h_1 - h_2} \right)$$

Η απόδοση του κύκλου Linde – Hampson για δεδομένη αρχική κατάσταση αερίου και για διάφορα αέρια παρουσιάζεται στο Πίνακα 3.

Fluid	Normal Boiling Point		Liquid Yield $y = \dot{m}_l/\dot{m}$	Work per Unit Mass Compressed		Work per Unit Mass Liquefied		Figure of Merit FOM = \dot{W}_l/\dot{W}
	K	°R		kJ/kg	Btu/lb _m	kJ/kg	Btu/lb _m	
N ₂	77.36	139.3	0.0708	472.5	203.2	6673	2869	0.1151
Air	78.8	142	0.0808	454.1	195.2	5621	2416	0.1313
CO	81.6	146.9	0.0871	468.9	201.6	5381	2313	0.1428
A	87.28	157.1	0.1183	325.3	139.8	2750	1182	0.1741
O ₂	90.18	162.3	0.1065	405.0	174.1	3804	1636	0.1671
CH ₄	111.7	201.1	0.1977	782.4	336.4	3957	1701	0.2758
C ₂ H ₆	184.5	332.1	0.5257	320.9	138.0	611	262	0.5882
C ₃ H ₈	231.1	416.0	0.6769	159.0	68.4	235.0	101.0	0.5976
NH ₃	239.8	431.6	0.8079	363.1	156.1	449.4	193.2	0.7991

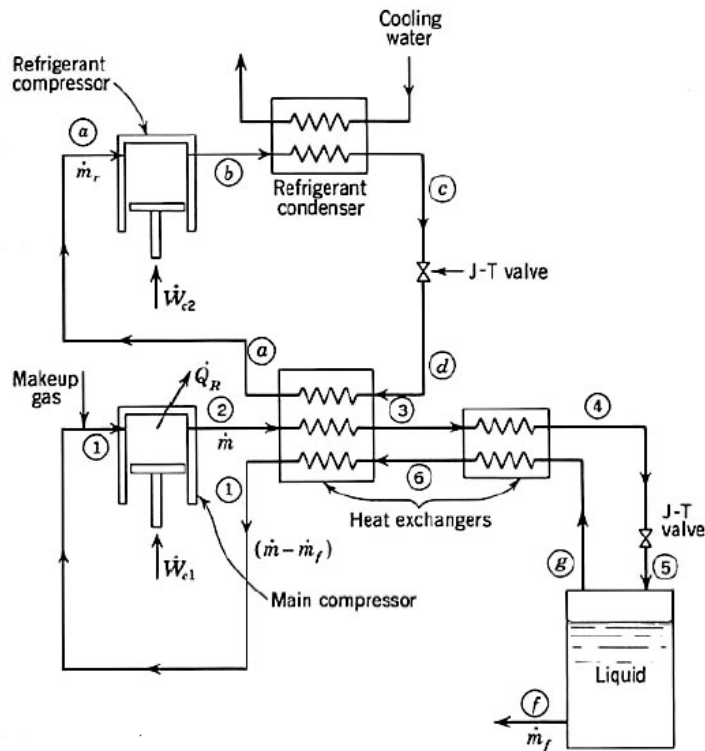
Πίνακας 3: Απόδοση του συστήματος Linde – Hampson με χρήση διαφορετικών ρευστών. P1=101.3KPa P2=20.265MPa T1=T2=300K απόδοση εναλλάκτη 100% και ολική απόδοση συμπίεστη 100% [75].

Στο Σχήμα 11 παρουσιάζεται μια σχηματική διάταξη συστήματος υγροποίησης αερίου με κύκλο Linde – Hampson.

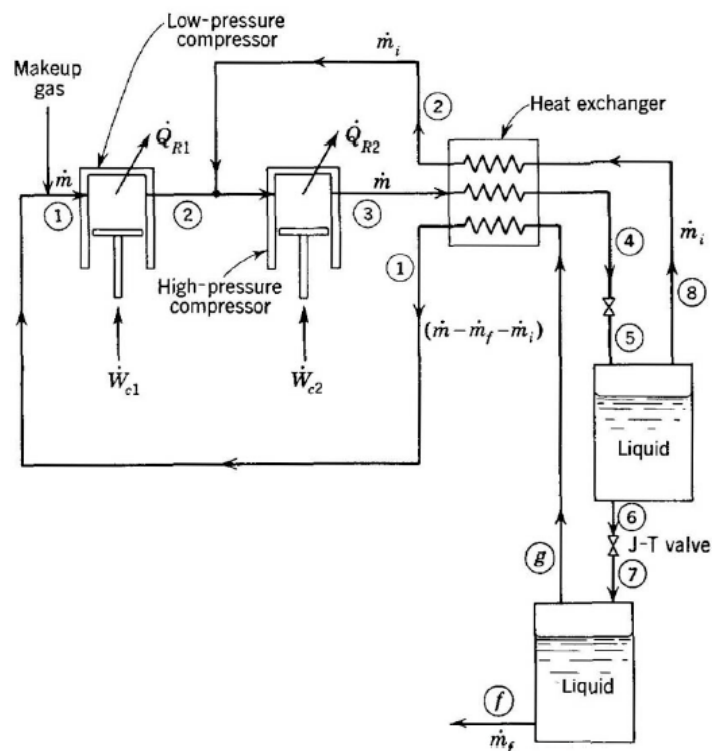


Σχήμα 11: Σχηματική διάταξη με τιμές χαρακτηριστικών μεγεθών σε σύστημα υγροποίησης απλού κύκλου Linde – Hampson [Πηγή Διαδίκτυο].

Στα Σχήματα 12 και 13 παρουσιάζονται δύο εναλλακτικές ενισχυμένων κύκλων Linde – Hampson που χρησιμοποιούνται σε συστήματα υγροποίησης αερίων.



Σχήμα 12: Σχηματική διάταξη ενισχυμένου κύκλου Linde – Hampson με χρήση και δεύτερου ψυκτικού μέσου και επιπλέον εναλλάκτη για την επίταξη της αποβολής θερμότητας από το προς υγροποίηση αέριο [75].



Σχήμα 13: Σχηματική διάταξη ενισχυμένου κύκλου Linde – Hampson με χρήση και δεύτερου συμπιεστή με διπλή ροή ψυχρής αέριας φάσης ως ψυκτικό στον εναλλάκτη [75].

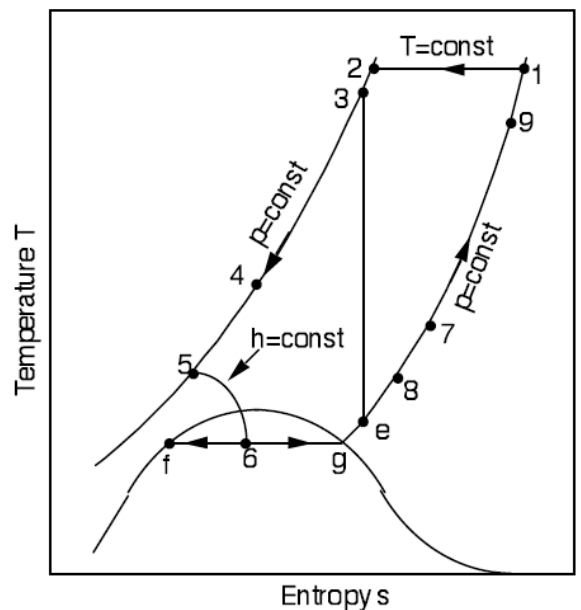
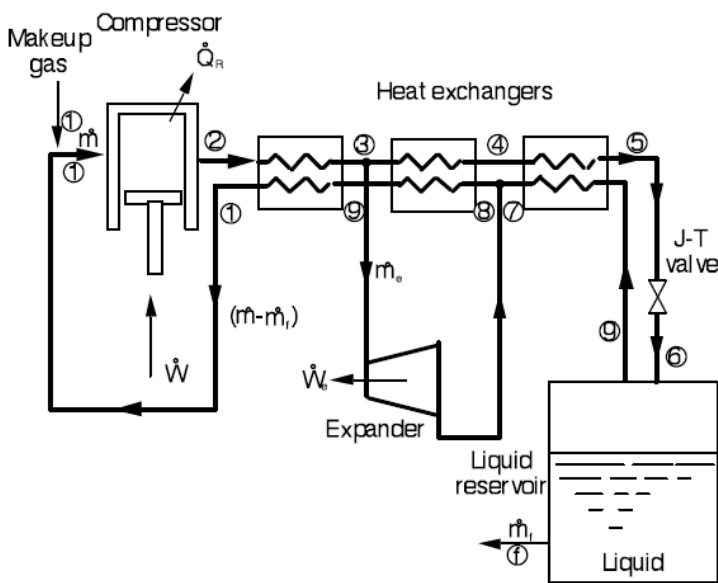
Ο κύκλος του Claude

Ο κύκλος των Linde – Hampson χρησιμοποιεί την ισενθαλπική εκτόνωση η οποία έχει δύο μειονεκτήματα. Αρχικά το έργο της εκτόνωσης χάνεται και στη συνέχεια δεν μπορεί να επιτευχθεί ψύξη αν η θερμοδυναμική κατάσταση του ρευστού δεν επιτρέπει τη μείωση της θερμοκρασίας του μέσω του φαινομένου Joule – Thomson.

Ο Claude πρότεινε έναν κύκλο ο οποίος περιλαμβάνει στρόβιλο και βαλβίδα εκτόνωσης και έχει την ιδιαιτερότητα ότι το σύστημα που τον υποστηρίζει λειτουργεί με ένα και μόνο ρευστό που συμπιέζεται σε μία συγκεκριμένη πίεση. Ο κύκλος του Claude χρησιμοποιείται σε πολλές εγκαταστάσεις υγροποίησης αερίων, κυρίως όμως αέρα.

Το πλεονέκτημα αυτού του κύκλου είναι ότι ο λόγος συμπίεσης μπορεί να είναι σημαντικά μικρότερος από αυτόν σε κύκλο Linde – Hampson. Μια δυσκολία είναι ότι ο στρόβιλος εκτόνωσης δεν μπορεί να λειτουργήσει με καλή απόδοση όταν το ρευστό περιέχει υψηλό ποσοστό ατμών. Η ουσία του κύκλου Claude είναι ο συνδυασμός της ισεντροπικής εκτόνωσης στο στρόβιλο και η ισενθαλπική εκτόνωση στη στραγγαλιστική βαλβίδα που οδηγεί τελικά στην υγροποίηση του αερίου.

Στο Σχήμα 14 ακολουθεί σχηματική και διαγραμματική περιγραφή του κύκλου του Claude.



Σχήμα 14: Σχηματική διάταξη ενισχυμένου κύκλου Claude. Αρχική ισοθερμοκρασιακή συμπίεση του αερίου (1->2). Ισόθλιπτη ψύξη σε εναλλάκτη σε θερμοκρασία δωματίου με ψυκτικό το ίδιο το μέσο (2->3). Στο 3 έχουμε διαχωρισμό της ροής. Ένα 15% περνά μέσα από τον στρόβιλο και υποβάλλεται σε ισεντροπική εκτόνωση με δραστική μείωση της θερμοκρασίας του (3->e), ενώ το υπόλοιπο 85% (κύρια ροή) περνά μέσα από εναλλάκτη και υποβάλλεται σε περεταίρω ισόθλιπτη ψύξη (3->4). Η κύρια ροή ψύχεται ισόθλιπτα επιπλέον με χρήση τρίτου εναλλάκτη (4->5). Η κύρια ροή εκτονώνεται ισόθλιπτα και έχουμε υγροποίηση στη διφασική περιοχή (5->6). Τέλος η ψυχρή αέρια φάση (g) όπως και το συμπύκνωμα από τον στρόβιλο χρησιμοποιούνται ως ψυκτικά μέσα στους εναλλάκτες. [75].

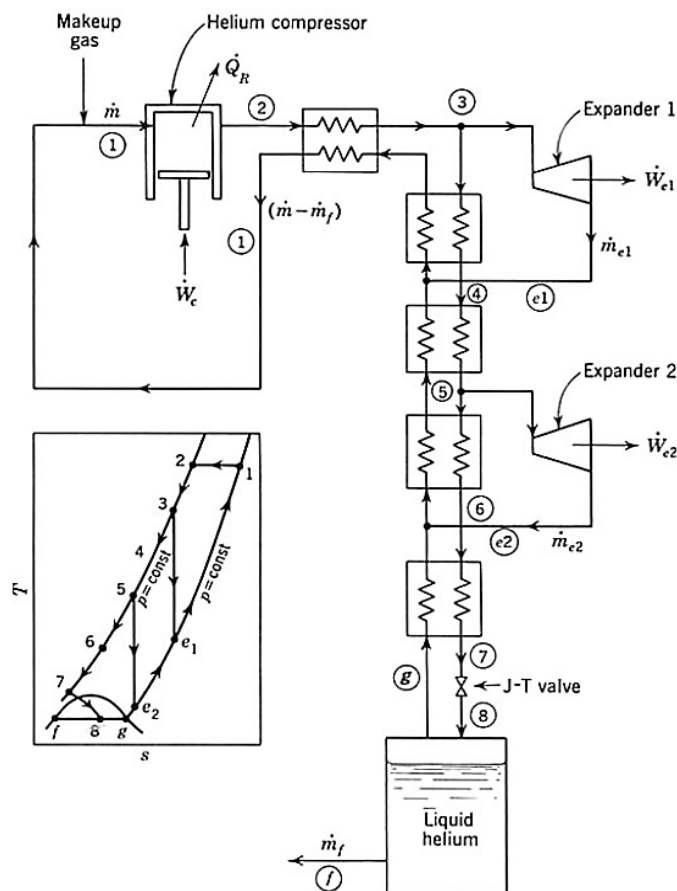
Η ισεντροπική εκτόνωση που χρησιμοποιεί ο κύκλος του Claude οδηγεί σε μεγαλύτερη θερμοκρασιακή πτώση για δεδομένη πτώση πίεσης σε σχέση με την ισενθαλπική εκτόνωση.

Συνδυάζοντας τον 1^ο και τον 2^ο Θερμοδυναμικό Νόμο προκύπτει:

$$\frac{\dot{W}_{net}}{\dot{m}_f} = \frac{\left[T_1 (s_1 - s_2) - (h_1 - h_2) - \frac{\dot{m}_e}{\dot{m}} (h_3 - h_e) \right] (h_1 - h_f)}{\left[(h_1 - h_2) + \frac{\dot{m}_e}{\dot{m}} (h_3 - h_e) \right]}$$

Ο υγροποιητής Collins

Προτάθηκε από τον Sam Collins (MIT) το 1952 για την υγροποίηση του ηλίου, που αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους κρυογονικούς παράγοντες. Ο υγροποιητής αυτός μοιάζει με τον κλασικό κατά Claude με τη διαφορά ότι χρησιμοποιεί δύο διακριτές ισεντροπικές εκτονώσεις ανά κύκλο συμπίεσης και 5 εναλλάκτες θερμότητας με αποτέλεσμα την υψηλότερη απόδοση υγροποίησης (βλ. Σχήμα 15).



Σχήμα 15: Υγροποιητής Collins, MIT, 1952 (75)

2.6 Ο ΚΥΚΛΟΣ ΨΥΞΗΣ – ΑΠΟΨΥΞΗΣ [3,32,42,73,74]

Η κατανόηση των μηχανισμών της κυτταρικής και της ιστικής βλάβης απαιτεί την αναγνώριση των επιπτώσεων του κύκλου ψύξης - απόψυξης, όπως αυτός χρησιμοποιείται στη Κρυοχειρουργική. Κάθε πτυχή του κύκλου ψύξης-απόψυξης ενδέχεται να προκαλεί βλάβη στον ιστό, και μπορεί να ελέγχεται βηματικά. Συνεπώς η γνώση του αποτελέσματος της κάθε φάσης του κύκλου είναι κρίσιμη, αν ο στόχος είναι η πλήρης ή η επιλεκτική καταστροφή των ιστών. Μολονότι τα παρελκόμενα γεγονότα του κύκλου είναι δύσκολο να περιγραφούν με ακρίβεια, σε μια κατεψυγμένη έκταση ιστού, οι ξεχωριστοί ρόλοι του κάθε βήματος στην επαγωγή κρυογονικής βλάβης έχουν αξιολογηθεί σε πολλά πειράματα. Στον Πίνακα 4 φαίνονται τα κύρια κρυοχειρουργικά πρωτόκολλα για κύκλους ψύξης – απόψυξης όπως έχουν καθιερωθεί μέχρι σήμερα.

Simulating parameter	Temperature variation	Conditions
Thawing duration		Passive thawing process Duration of freezing phase = 15 min t_{thaw} = thawing duration = 5 min, 10 min, 15 min
Thawing temperature		T_{max} = initial probe temperature T_{min} = operating probe temperature = 93 K T_{thaw} = passive, 310 K, 290 K
Number of freeze/thaw cycles		Passive thawing process Duration of each thawing cycle = 15 min Number of thawing cycles = 1 or 2

Πίνακας 4: Τα κύρια πρωτόκολλα κύκλων ψύξης – απόψυξης που εφαρμόζονται σήμερα [42]

Ο ρυθμός ψύξης

Πειράματα έχουν δείξει ότι οι ενδοκυττάριοι κρύσταλλοι πάγου, θεωρούνται ως ένα θανατηφόρο επαγόμενο για τα κύτταρα, σχηματίζονται δε σε ένα ευρύ φάσμα ρυθμών ψύξεως, συμπεριλαμβανομένων και αργών ρυθμών. Αυτό είναι σημαντικό για την κατάψυξη των ιστών in vivo, διότι ένα μεγάλο μέρος του κατεψυγμένου όγκου ιστού, υπόκειται μόνο σε αργή ψύξη, που είναι περίπου 10 °C/min ή χαμηλότερη. Αν και η βραδεία ψύξη, τείνει να παράγει εξωκυττάριο πάγο, οι μεγάλοι αυτοί κρύσταλλοι, θεωρούνται μάλλον ακίνδυνοι για το κύτταρο. Κατά περιστάσεις οι κρύσταλλοι αυτοί μπορεί να είναι θανατηφόροι όταν επισυμβαίνουν σε ιστούς με πυκνά στοιβαγμένα κύτταρα (όπως τα κύτταρα μέσα σε όγκους). Μόνο ο ιστός κοντά στη διεπιφάνεια ανταλλαγής θερμότητας στην επιφάνεια του cryoglobe καταψύχεται γρήγορα. Ο ρυθμός ψύξης στα πιο απομακρυσμένα σημεία επιβραδύνεται, καθώς ο όγκος των κατεψυγμένων ιστών διαστέλλεται. Περίπου σε 10-15 min, επιτυγχάνεται η ισορροπία μεταξύ της απώλειας θερμότητας και της θερμότητας που αποκτάται από την παροχή αίματος και πλέον είναι αναμενόμενη μία μικρή μόνο επέκταση της θανάσιμα ψυχρής ζώνης ή αύξηση του βάθους (όγκου) του κρουστραύματος. Διάφορα είδη ιστών έχουν διαφορετικά θερμικά χαρακτηριστικά, τα οποία τροποποιούν τον όγκο των ιστών που καταψύχονται από το cryoglobe. Τα πειράματα in vivo έχουν δείξει ότι ο ρυθμός ψύξης, είτε αργός είτε γρήγορος, δεν είναι τόσο σημαντικός όσο άλλοι παράγοντες στον κύκλο ψύξης – απόψυξης.

Η θερμοκρασία του ιστού

Η θερμοκρασία των ιστών είναι ένας καθοριστικός παράγοντας για την πρόκληση βλάβης. Πειράματα in vivo δείχνουν ότι η αγγειακή στάση μετά την απόψυξη, τροποποιεί την πραγματικά θανατηφόρο θερμοκρασία για τα κύτταρα και παράλληλα καθιέρωσαν ένα μέτρο αβεβαιότητας σχετικά με την κατάλληλη θερμοκρασία στόχο στη Κρυοχειρουργική. Ως οδηγία (guidelines) για την αντιμετώπιση των νεοπλασμάτων, πολλά πειράματα υποδηλώνουν ότι περίπου οι -20 °C είναι επαρκείς για την καταστροφή του ιστού, ωστόσο αυτό θα πρέπει να εξεταστεί με προσοχή. Σίγουρα μια εκτεταμένη καταστροφή ιστού εμφανίζεται στο εύρος -20°C με -30 °C, αλλά η πλήρης καταστροφή των καρκινικών κυττάρων στο εύρος αυτό είναι αβέβαιη και πιθανώς ελλιπής. Ο Neel πειραματιζόμενος με ζωικούς όγκους, καθόρισε την απαιτούμενη θερμοκρασία για την καταστροφή καρκινικών όγκων στους -60 °C, και τόνισε την ανάγκη για επαναλαμβανόμενους κύκλους ψύξης - απόψυξης. Σε πειράματα με διαφορετικούς ζωικούς ιστούς, οι ερευνητές έχουν προσδιορίσει το θανατηφόρο θερμοκρασιακό εύρος στους -40°C έως -50 °C. Οι ποικίλες απόψεις για το θανατηφόρο εύρος θερμοκρασίας, ή με άλλα λόγια, για τη κατάλληλη θερμοκρασία στόχο στη Κρυοχειρουργική για καρκίνο, εξακολουθούν να παραμένουν μέχρι και σήμερα (Πίνακας 5). Ο λόγος για τις αντικρουόμενες απόψεις έγκειται στην χρήση διαφορετικών κυτταρικών σειρών και ιστών σε διάφορες πειραματικές συνθήκες. Η αντίσταση των κυττάρων του καρκίνου δείχνει την ανάγκη για επαναλαμβανόμενους κύκλους ψύξης - απόψυξης. Συνεπώς καθίσταται εύλογο να διατυπωθεί, ότι όταν τα κύτταρα καταψύχονται σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από -40 °C, τότε είναι πιθανό να καταστραφούν από άμεση κυτταρική βλάβη, αλλά το φαινόμενο της αγγειακής στάσης έχει μια ευρύτερη καταστρεπτική επίδραση σε υψηλότερες της κρίσιμης, θερμοκρασίες.

Reference			Cell/tissue	Lethal temp.	F-T cycle
First author	Refs.	Year			
<i>Experiments in vivo single freeze-thaw cycles</i>					
Gage	[64]	1966	Osteocytes, bone, dog	-2 °C	5 min F – slow T
Calams	[23]	1966	Prostate, dog	-4 °C	4 min F – slow T
Grady	[79]	1973	Tumor, liver, rat	-4 °C	Fast F – slow T
Gage	[68]	1979	Melanocytes, skin, dog	-4 °C	4 min F – slow T
Smith	[191]	1974	Liver, rat	-15 °C	3 min F – fast T
Rivoire	[170]	1996	Liver, pig	-15 °C	5 min F – slow T
LeFebvre	[115]	1975	Cheek pouch, hamster	-18 °C	1 min F – fast T
Dow	[45]	1970	Prostate, dog	-20 °C	Sec. F – slow T
Gage	[62]	1982	Skin, dog	-40 °C	3 min F – slow T
Yamada	[216]	1976	Skin, mouse	-40 °C	1 min F – slow T
Gage	[57]	1978	Palate, dog	-40 °C	3 min F – slow T
Neel	[147]	1971	Sarcoma, mouse	-60 °C	6 min F – slow T
Staren	[194]	1997	Adenocarcinoma, rat	-40 °C	15 min F – slow T
Chosy	[29]	1998	Prostate, dog	-40 °C	4 min F – slow T
Seifert	[184]	1998	Cancer, mouse	-60 °C	F-T
El-Shakhs	[53]	1999	Liver, tumor, rat	-38 °C	5 min F – slow T
Rupp	[177]	2002	Kidney, pig	-15 °C	15 min F – slow T
Seifert	[185]	2003	Liver, pig	-15 °C	20 min F – slow T

Πίνακας 5: Οι θανατηφόρες θερμοκρασίες για τα διάφορα είδη κυττάρων [3].

Η διάρκεια της κατάψυξης

Η βέλτιστη διάρκεια της κατάψυξης, δηλαδή το ποσό του χρόνου που πρέπει να παραμένει κατεψυγμένος ο ιστός, δεν είναι αυστηρώς καθορισμένη, αλλά πειραματικά δεδομένα έχουν δείξει ότι η παράταση της κατάψυξης παράγει αποτελεσματικότερα και μεγαλύτερα αποτελέσματα ως προς την ιστική καταστροφή. Ωστόσο, σε γενικές γραμμές, η διάρκεια της κατάψυξης είναι ασήμαντη, εάν ο ιστός διατηρείται σε θερμοκρασία χαμηλότερη από -50 °C. Ωστόσο, η διατήρηση των ιστών για μεγαλύτερες περιόδους στο εύρος -10 °C έως -25 °C θα αυξήσει την καταστροφή, εξαιτίας του «φαινομένου διαλύματος», κατά το οποίο λόγω εξωκυτταρικής παραγωγής πάγου δημιουργείται ωσμωτική πίεση που οδηγεί το νερό εκτός των κυττάρων με αποτέλεσμα την αφυδάτωσή τους. Επίσης σημαντικό είναι το φαινόμενο της ανακρυστάλλωσης, κατά το οποίο με τη σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας οι κρύσταλλοι πάγου αυξάνονται σε μέγεθος καθώς μικρότεροι σε μέγεθος κρύσταλλοι ενώνονται μεταξύ τους, με αποτέλεσμα την μηχανική κυτταρική βλάβη.

Ο ρυθμός απόψυξης

Η αργή απόψυξη των κατεψυγμένων ιστών είναι ένας μείζων καταστρεπτικός παράγοντας. Η κλινική εμπειρία με κρουπαγήματα και με κρουσοσυντήρηση έδειξε ότι η ταχεία θέρμανση αυξάνει τις πιθανότητες επιβίωσης των κυττάρων. Όμως η μεγαλύτερη διάρκεια της απόψυξης προκαλεί μια μεγαλύτερη βλάβη στα κύτταρα μέσω του «φαινομένου διαλύματος», και της ανάπτυξης μεγαλύτερων κρυστάλλων πάγου. Οι μεγάλοι κρύσταλλοι πάγου δημιουργούν διατμητικές δυνάμεις οι οποίες διαταράσσουν τον ιστό. Πειράματα, με ιστούς *in vivo*, έχουν δείξει επίταση της καταστρεπτικής επίδρασης με αργή απόψυξη. Ο Whittaker έδειξε ότι ο ενδοκυτταρικός σχηματισμός κρυστάλλων πάγου είναι περισσότερο εκτεταμένος στο δεύτερο κύκλο ψύξης - απόψυξης και προτείνει ότι αυτό οφείλεται στον περισσότερο χρόνο που διατίθεται για απόψυξη. Με βάση την κλινική εμπειρία από κρουπαγήματα και πειράματα *in vivo*, η απόψυξη πρέπει να είναι αργή, δηλαδή, να καθορίζεται από την αυθόρμητη είσοδο της θερμότητας του σώματος στον κατεψυγμένο όγκο ιστού.

Επανάληψη του κύκλου ψύξης – απόψυξης

Από την αρχή της σύγχρονης Κρυοχειρουργικής, οι αρχικές κλινικές εκθέσεις από το 1965, τόνισαν την ανάγκη για επαναλαμβανόμενη κατάψυξη στην κρυοθεραπευτική του καρκίνου. Η δυσκολία στην καταστροφή των καρκινικών ιστών από την κατάψυξη ήταν ήδη προφανής από την πρώιμη εμπειρία. Ο δεύτερος κύκλος ψύξης – απόψυξης εν γένει παράγει γρηγορότερη και πιο εκτενή ιστική ψύξη, ώστε ο όγκος του κατεψυγμένου ιστού που προκύπτει να επεκτείνεται, και επαγωγικά το όριο της απόλυτης ιστικής καταστροφής να συμπαρασύρεται προς το όριο του κρουοτραύματος.

Οι πειραματικές αποδείξεις που επιβεβαιώνουν την αυξημένη καταστροφική επίδραση του δεύτερου κύκλου είναι καθοριστικές (Πίνακας 6). Το βελτιωμένο καταστροφικό προφίλ των επαναλαμβανόμενων κύκλων ψύξης - απόψυξης είναι περισσότερο εμφανές στη «ζώνη επιβίωσης» μεταξύ -20°C και -30°C όπου ο πρώτος κύκλος εν γένει επιδεικνύει περιορισμένη αποτελεσματικότητα. Βέβαια σε αυτό ακριβώς το θερμοκρασιακό εύρος είναι και περισσότερο αναγκαία μια βελτιωμένη θανατηφόρος επίδραση. Σε ιστό που ευρίσκεται εντός θερμοκρασιών από -40°C έως -50°C , η θερμοκρασία είναι αρκετά χαμηλή για την πλήρη καταστροφή του ιστού σε έναν ενιαίο κύκλο. Ο κυριότερος λόγος για την υιοθέτηση επαναλαμβανόμενων κύκλων ψύξης-απόψυξης είναι ότι επεκτείνεται το θανατηφόρο αποτέλεσμα στη λιγότερο ψυχρή ζώνη, στην περιφέρεια του ιστού - στόχου που έχει οριστεί. Τα αποδεικτικά στοιχεία για τη χρήση των επαναλαμβανόμενων κύκλων ψύξης - απόψυξης είναι τόσο ισχυρά ώστε οι περισσότεροι Ιατροί οι οποίοι χρησιμοποιούν τη Κρυοχειρουργική εφαρμόζουν αυτή την πτυχή της τεχνικής.

Reference			Cell/tissue	Effect
First author	Refs.	Year		
Gill	[74]	1968	Rat liver	Greater volume frozen
Myers	[140]	1969	Tumors, mice	No recurrence
Neel	[147]	1971	Sarcoma, mice	-60°C required
Whittaker	[213]	1975	Oral mucosa, hamster	Larger intracellular ice crystals
Gage	[57]	1978	Palate, dog	Increased destruction
Burge	[19]	1984	Cartilage, pig ear	Greater destruction
Rand	[167]	1985	Mammary cancer, mice	-50°C required
Ravikumar	[168]	1991	Tumor, liver, rat	-35°C required
Dilley	[43]	1993	Liver, sheep	Moved necrosis close to border
Pogrel	[160]	1996	Skin, rat	Wider destruction; -20°C lethal
Staren	[194]	1997	Breast cancer, rat	Enhanced destruction
Woolley	[214]	2002	Kidney, dog	Enhanced destruction
Seifert	[185]	2003	Liver, dog	Larger lesion
Kollmar	[108]	2004	Liver, pig	Enhanced destruction

Πίνακας 6: Πειράματα in vivo με επαναλαμβανόμενους κύκλους ψύξης – απόψυξης [3].

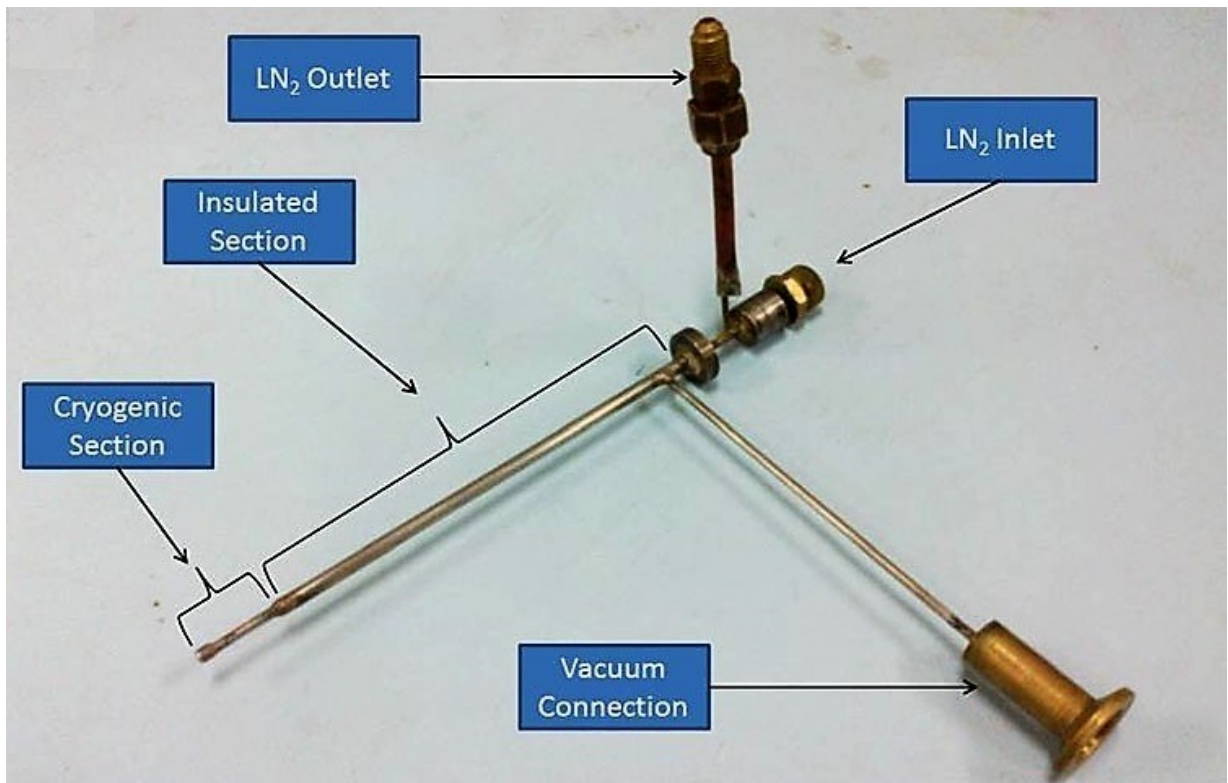
Διάρκεια και μεσοδιάστημα των κύκλων ψύξης – απόψυξης

Το διάστημα μεταξύ ψύξης-απόψυξης κύκλων είναι ένας παράγοντας μεγάλης σημασίας για την πρόκληση ιστικής βλάβης, αλλά λίγη προσοχή έχει δοθεί εν γένει από ερευνητές σε αυτό το σημείο του κύκλου ψύξης-απόψυξης. Ο Whittaker, σε πειράματα με επανάληψη κύκλων σε βλεννογόνο στοματικής κοιλότητας σε χάμστερ, έδειξε ότι ο ενδοκυττάριος σχηματισμός κρυστάλλων πάγου είναι μεγαλύτερος, με την αύξηση του χρόνου μεταξύ δύο διαδοχικών καταψύξεων. Ως εκ τούτου, πρότεινε ότι ο μεγαλύτερος χρόνος του διαστήματος απόψυξης θα αυξήσει την αποτελεσματικότητα της μεθόδου. Περισσότερος χρόνος για απόψυξη όπως προαναφέρθηκε επιτρέπει την ανακρυστάλλωση του πάγου και επιτείνει την ωσμωτική βλάβη. Στη συνέχεια, αφήνοντας τον ιστό στην υποθερμική μεταβατική κατάσταση παρέχεται χρόνος για τον επερχόμενο αποκλεισμό της μικροκυκλοφορίας. Η θερμότητα που προσάγεται στην περιοχή εξασθενεί και ο δεύτερος κύκλος κατάψυξης είναι περισσότερο αποτελεσματικός. Στην κλινική πράξη, λόγω του περιορισμένου χρόνου, η ανάγκη να ολοκληρωθεί η διαδικασία σχετικά γρήγορα είναι τόσο μεγάλη, ώστε πολλοί Ιατροί δεν διαβλέπουν την ανάγκη να περιμένουν την ολοκλήρωση της πλήρους απόψυξης ή να εφαρμόσουν ένα παρατεταμένο χρονικό διάστημα μεταξύ των κύκλων.

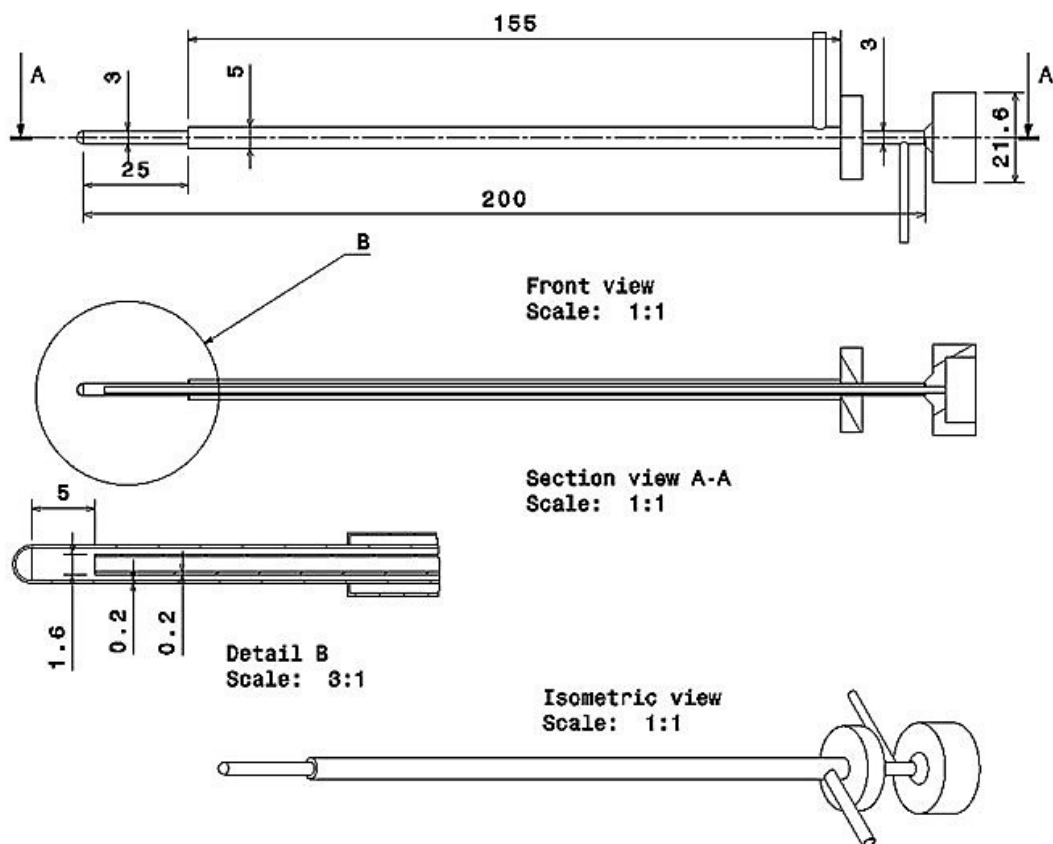
Συνοπτικά, η βέλτιστη τεχνική για την καταστροφή των όγκων είναι το γρήγορο πάγωμα των ιστών σε κατάλληλα χαμηλή θερμοκρασία, η αργή απόψυξη, (η οποία ουσιαστικά αυξάνει τη διάρκεια του κύκλου) και επανάληψη του κύκλου ψύξης-απόψυξης. Η επιλεκτική καταστροφή κυττάρων απαιτεί ουσιαστικά τροποποίηση του σκέλους της ψύξης.

Οι παράμετροι της παροχής μάζας και πίεσης του υγρού αζώτου

Στο Σχήμα 16 παρουσιάζεται ένα τυπικό cryoprobe διαμέτρου 3mm και στο Σχήμα 17 το κατασκευαστικό του σχέδιο. Αρχικά παρατηρούμε τον αγωγό εισόδου του υγρού αζώτου (LN2-inlet) το οποίο στη συνέχεια κυκλοφορεί στο κεντρικό κυλινδρικό διαμέρισμα του cryoprobe. Σε όλη αυτή τη διαδρομή το cryoprobe είναι μονωμένο από ένα περιφερικό δακτυλιοειδές διαμέρισμα στο οποίο εφαρμόζεται κενό (υποπίεση) από ειδικό αγωγό (vacuum connection). Το μονωμένο τμήμα δεν διατρέχει όλο το μήκος του αγωγού, αλλά αφήνει ένα τμήμα στο άκρο του cryoprobe που ονομάζεται ενεργό μήκος αυτού. Σε αυτό το τμήμα το υγρό άζωτο παραλαμβάνει απότομα λόγω μεγάλης θερμοκρασιακής κλίσης θερμότητα από τον προς κρυοκαταστροφή ιστό. Στο σημείο αυτό που λέγεται tip του cryoprobe το υγρό άζωτο τυπικά παραλαμβάνει θερμότητα και βράζει (ατμοποιείται) με αποτέλεσμα τη ραγδαία αύξηση της πίεσης του διφασικού μίγματος στην περιοχή αυτή. Το μέρος της αεριώδους φάσης στο διφασικό μίγμα που προκύπτει, μπορεί να σχηματίζει ένα αέριο φιλμ που παρεμβάλλεται μεταξύ του υγρού αζώτου και της επιφάνειας του tip, λαμβάνοντας ρόλο μόνωσης, γεγονός που γενικά είναι ανεπιθύμητο. Το φαινόμενο αυτό καλείται φαινόμενο Leidenfrost και περιορίζει την κατώτερη θερμοκρασία που μπορεί να έχει το tip. Στη συνέχεια το διφασικό μίγμα απομακρύνεται από το tip μέσω ομόκεντρου περιφερικού διαμερίσματος προς τον αγωγό εξόδου από το cryoprobe (LN2-outlet).

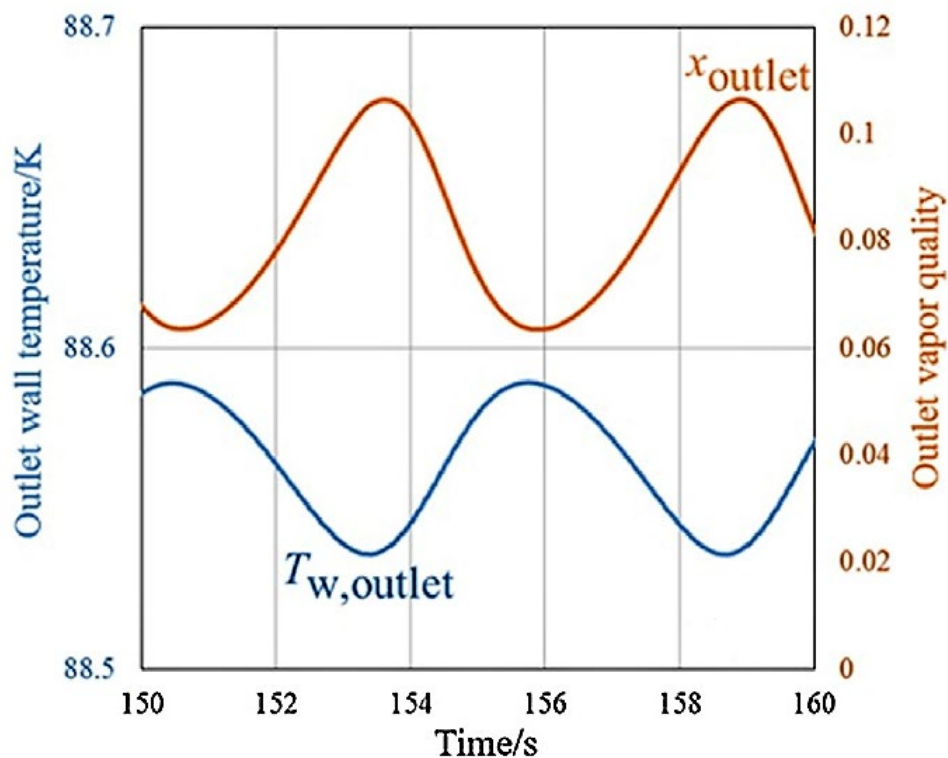


Σχήμα 16: Τυπικό κρυοχειρουργικό cryoprobe διαμέτρου 3mm [74].

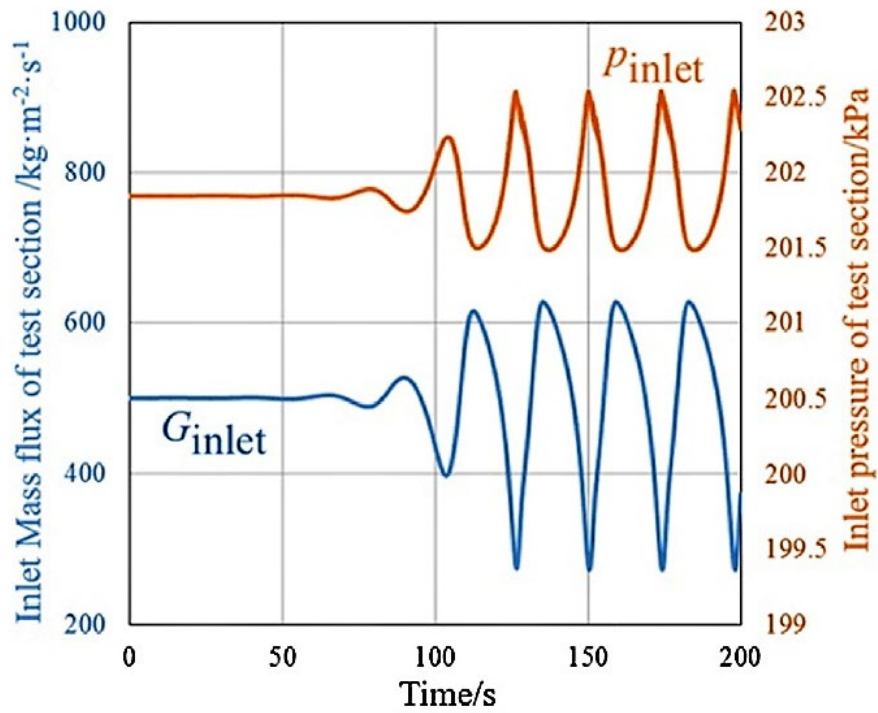


Σχήμα 17: Κατασκευαστικό Σχέδιο του cryoprobe του Σχήματος 4 [74].

Έτσι λοιπόν καθίσταται σαφές ότι στον θερμοδυναμικό κύκλο του υγρού αζώτου που χρησιμοποιείται στη κρυοθεραπεία, δύο μεγέθη που είναι κρίσιμα για την ικανότητα κατάψυξης του ιστού είναι η παροχή μάζας (mass flux) του υγρού αζώτου καθώς και η πίεση του διφασικού μίγματος κατά την έξοδο του από το tip. Από τη μία, η αυξημένη παροχή μάζας του υγρού αζώτου οδηγεί ευθέως σε ταχύτερη κατάψυξη των ιστών αλλά και επίτευξη χαμηλότερης θερμοκρασίας γεγονός το οποίο είναι απόλυτα επιθυμητό σε ότι αφορά την κρυονέκρωση. Από την άλλη όμως, η αύξηση της πίεσης ως συνέπεια της ατμοποίησης του υγρού αζώτου μετά την ανταλλαγή θερμότητας, έχει ανεπιθύμητες επιπτώσεις που ουσιαστικά οδηγούν σε μια μείωση του ρυθμού ψύξης των ιστών αλλά και στον περιορισμό της ελάχιστης θερμοκρασίας που μπορεί να επιτευχθεί, οδηγώντας παράλληλα σε αβεβαιότητα ως προς τις συνθήκες μεταφοράς θερμότητας στο tip του cryoprobe. Η αντிரρόπηση στη αύξηση της πίεσης πραγματοποιείται μέσω συστημάτων αυτομάτου ελέγχου, που παρακολουθούν τις διακυμάνσεις της πίεσης, με αύξηση της παροχής μάζας του υγρού αζώτου. Στο Διάγραμμα 5 παρουσιάζεται η απώλεια της ψυκτικής ισχύος που φαίνεται από τη χαμηλή θερμοκρασία εξόδου του υγρού αζώτου από το tip (δεν έχει επιτευχθεί επαρκής παραλαβή θερμότητας από το ψυκτικό μέσο) με την αύξηση του ποσοστού της αερίως φάσης στο διφασικό μίγμα εξόδου. Στο Διάγραμμα 6, επιπλέον φαίνεται η αντிரρόπηση της αύξησης της πίεσης στο διφασικό μίγμα με αύξηση της παροχής μάζας του υγρού αζώτου προκειμένου να διατηρηθεί ο ρυθμός απορρόφησης θερμότητας από τον ιστό – στόχο.

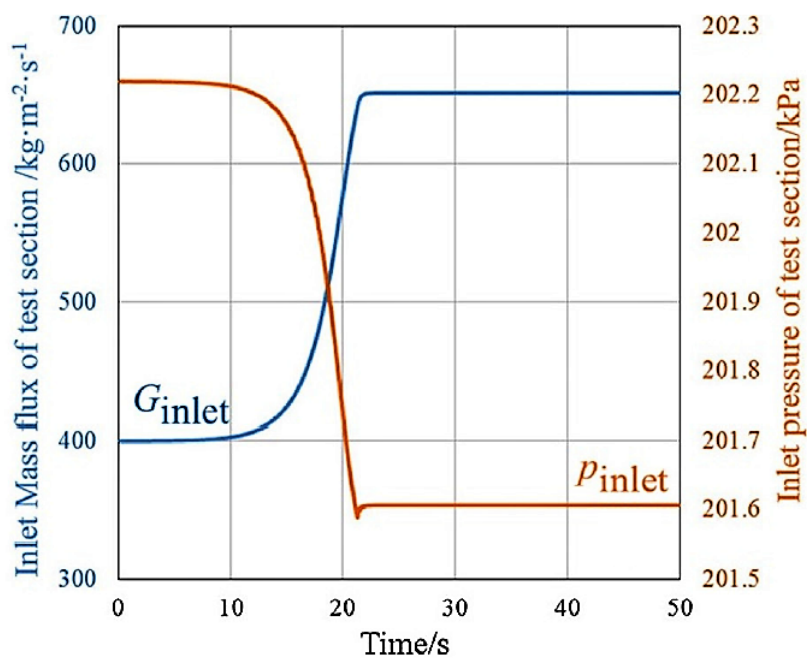


Διάγραμμα 5: Συσχέτιση μεταξύ της θερμοκρασίας στην έξοδο του tip με το ποσοστό της αερίως φάσης στο διφασικό μίγμα [73].

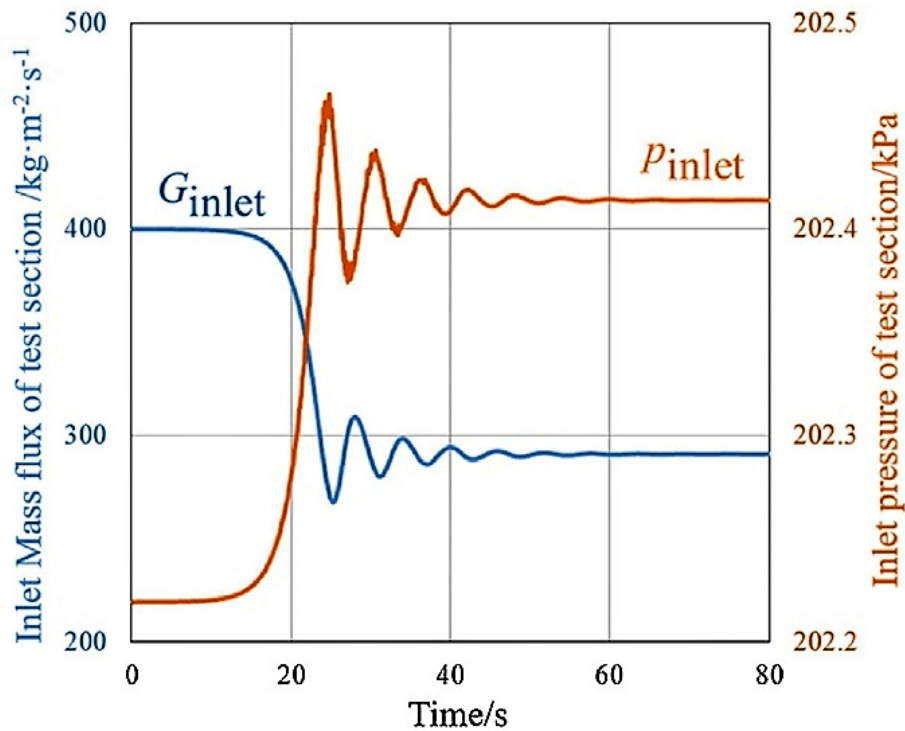


Διάγραμμα 6: Συσχέτιση μεταξύ της παροχής μάζας στην είσοδο του tip με την πίεση στο διφασικό μίγμα [73].

Τέλος στα Διαγράμματα 7 και 8 φαίνεται η απόκριση της πίεσης του διφασικού μίγματος με θετική και αρνητική κλίση της παροχής μάζας στο tip του cryoprobe.



Διάγραμμα 7: Απόκριση της πίεσης του διφασικού μίγματος με θετική κλίση παροχής μάζας [73].



Διάγραμμα 8: Απόκριση της πίεσης του διφασικού μίγματος με αρνητική κλίση παροχής μάζας [73].

2.7 Η ΚΡΥΟΓΟΝΙΚΗ ΒΛΑΒΗ [3,32,33,34,35,48]

Πριν από τη σύγχρονη εποχή της Κρυοχειρουργικής, που ξεκίνησε το 1960, οι τεχνικές τοπικής κατάψυξης χρησιμοποιούνταν κυρίως για την καταστροφή ιστών, όπως ο εγκέφαλος, η καρδιά, το ήπαρ και οι νεφροί ζωικών μοντέλων, για φυσιολογικές μελέτες. Στα πειράματα αυτά περιγράφεται επακριβώς η φύση των κρυογονικών βλαβών (κρυοτραυμάτων) που οι ερευνητές χαρακτήριζαν ως περιοχές περιχαρακωμένης νέκρωσης. Οι περιοχές αυτές διέθεταν ένα μεγάλο κεντρικό νεκρωτικό μέρος που περιβάλλεται από μία στενή περιφερειακή ή διασυνοριακή ζώνη που χαρακτηρίζεται από μερική επιβίωση των κυττάρων. Η περιφερειακή ή διασυνοριακή ζώνη του κρυοτραύματος είναι μια περιοχή με μεγάλο ενδιαφέρον, επειδή ακριβώς σε αυτή ασκούν αποτελεσματικές θεραπευτικές επιπτώσεις, οι επικουρικές, στη συνδυασμένη Κρυοχειρουργική πρακτικές. Στην περιοχή αυτή, ο ρυθμός της ψύξης είναι αργός, η διάρκεια της ψύξης είναι μικρή, η τελική θερμοκρασία βρίσκεται στο εύρος 0 με $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ και η αναθέρμανση στη θερμοκρασία του σώματος είναι αρκετά ταχεία.

Στη ζώνη αυτή, μερικά κύτταρα είναι νεκρωτικά, άλλα αποπτωτικά, και άλλα μπορεί να επιβιώσουν. Τα αποπτωτικά κύτταρα θα γίνουν νεκρωτικά κάτω από τις συνθήκες της διαβαθμισμένης υποξίας που χαρακτηρίζουν την τυπική κρυογονική αλλοίωση. Η πιθανότητα της κυτταρικής επιβίωσης κοντά στην ισόθερμη καμπύλη των $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ είναι μεγάλη γιατί πολλά κύτταρα μπορεί να υπερψύχονται έως $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ή ακόμα και $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ και οι ωσμωτικές ή υποθερμικές συνθήκες ουσιαστικά ανεπαρκούν ως προς την επίτευξη του κυτταρικού θανάτου. Σε αυτή την περιοχή είναι που οι διαφορές στην κυτταρική ευαισθησία στην κατάψυξη καθίστανται προφανείς.

Κυτταρική ευαισθησία στην κατάψυξη

Διάφορα είδη κυττάρων έχουν διαφορετική ευαισθησία σε θερμοκρασίες καταψύξεως. Οι διαφορές αυτές μπορούν να αναγνωριστούν σε ενιαίους κύκλους ψύξης - απόψυξης. Πειράματα δείχνουν ότι οι θερμοκρασίες που οι διαφορές στην κυτταρική ευαισθησία μπορεί να είναι πλέον εμφανείς, ευρίσκονται στο εύρος από 0 σε -30 °C. Υποδόριοι αδένες και θύλακες τριχών γενικά καταστρέφονται σε αυτό το «ζεστό» εύρος θερμοκρασιακών τιμών, αλλά τα κερατινοκύτταρα επιβιώνουν ακόμα και σε θερμοκρασία -30 °C. Πειράματα έχουν δείξει ότι τα οστεοκύτταρα καταστρέφονται περίπου στους -10 °C. Τα μη νεοπλασματικά κύτταρα των νεφρών, του ήπατος και του προστάτη πεθαίνουν περίπου στους -15°C με -20 °C. Επιπλέον οι ινοβλάστες επιδεικνύουν αξιοσημείωτη αντοχή στη βλάβη από κατάψυξη (κρυοβλάβη). Από την άλλη τα καρκινικά κύτταρα δείχνουν μια μεταβλητή συμπεριφορά που ενίοτε φτάνει μέχρι και στην εξαιρετική αντοχή στην κατάψυξη.

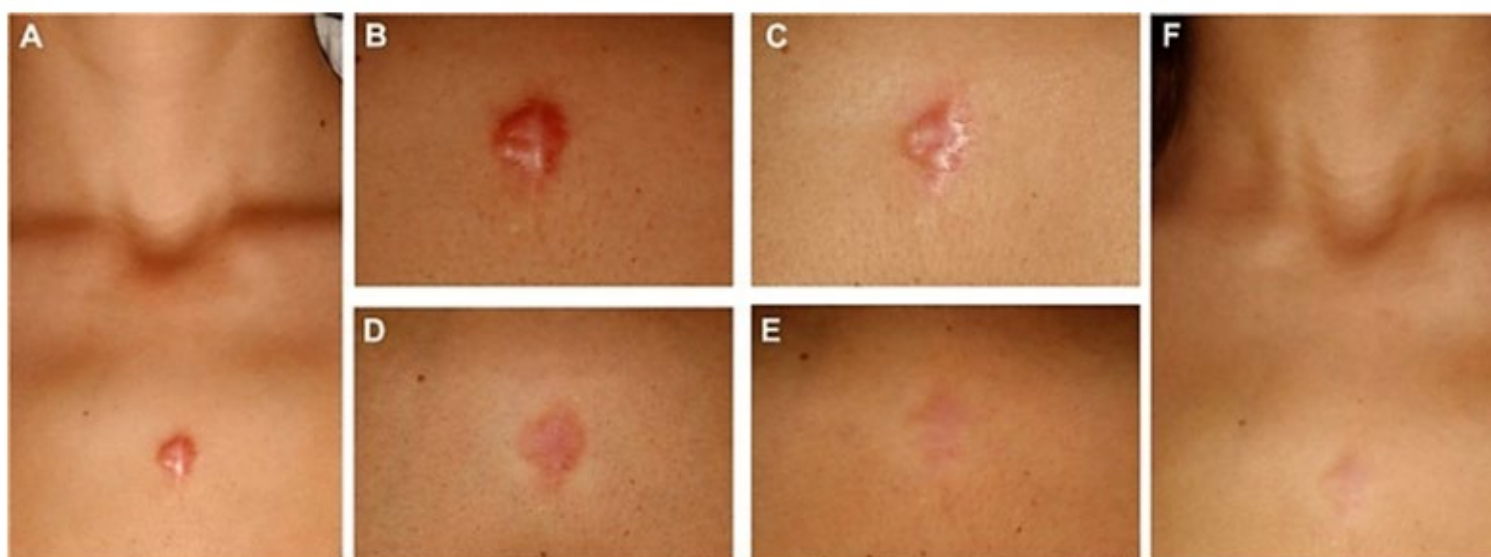
Εκτός από την ευαισθησία των κυττάρων στην κρυοβλάβη, η δομή του ιστού είναι επίσης σημαντική. Έτσι λοιπόν λόγω της αντίστασης των ινοβλαστών και των ινών κολλαγόνου στην κρυοβλάβη, η αρχιτεκτονική των ιστών, μολονότι κυτταρικά αποψιλωμένη, παραμένει ως μια δομή βάσης για την επερχόμενη ιστική επισκευή. Μεγάλα αιμοφόρα αγγεία συνεχίζουν να λειτουργούν ως «αγωγοί» του αίματος. Ο οστικός ιστός εμφανίζεται αμετάβλητος ως προς τα δομικά του μέρη μετά την αποψίλωση από την κατάψυξη. Οι νευρικές δομές επίσης παραμένει άθικτες. Η διατήρηση αυτή της δομής των ιστών είναι εξαιρετικά σημαντική για την επούλωση των τραυμάτων στη Κρυσταλλοχειρουργική.

Επούλωση κρυοτραύματος

Η επούλωση των κρυογονικών βλαβών σχετίζεται με την ένταση της κατάψυξης (ελάχιστη θερμοκρασία και χρονική διάρκεια παραμονής σε αυτή) των ιστών και απο τον τύπο του ιστού. Ελάχιστονες κρυοβλάβες, όπως αυτές που παράγονται από μικρή έκθεση σε θερμοκρασία περίπου -10 °C, είναι πιθανό να οδηγήσουν σε μικρή απώλεια ιστού και θα επουλωθούν γρήγορα. Σε έναν ιστό θερμοκρασίας απο -20°C έως -30 °C, η απώλεια ιστού θα είναι μεγαλύτερη και επίσης σχετίζεται άμεσα με τη θερμοκρασία και τη διάρκεια της κατάψυξης. Η επισκευή – επούλωση της κρυογονικής βλάβης είναι συνήθως ευνοϊκή. Παρά το γεγονός ότι οι ιστοί αποψιώνονται από κύτταρα κατά την κατάψυξη, η δομή της μεσοκυττάριας μήτρας μπορεί να επηρεαστεί λίγο, με αποτέλεσμα η διατήρηση αυτή της αρχιτεκτονικής να αποτελεί έναυσμα και εκμαγείο για την επισκευή. Η επούλωση των τραυμάτων είναι μια ενεργή διαδικασία που ξεκινά με μια φλεγμονώδη αντίδραση στα όρια της αλλοίωσης, που προκαλείται από χημειοτακτικούς παράγοντες. Η αρχική διείδυση ουδετεροφίλων πολυμορφοπυρήνων, και στη συνέχεια μονοπύρηνων κυττάρων, ενισχύεται από μεσολαβητές της φλεγμονής, όπως προσταγλαδίνες, ισταμίνη και κυτταροκίνες.

Αυτή η κυτταρική διήθηση ακολουθεί την υποθερμία και το οίδημα που αναπτύσσεται με την απόψυξη των κατεψυγμένων ιστών. Οι ερευνητές έχουν προτείνει ότι τα φλεγμονώδη κύτταρα συμβάλλουν στην ανάπτυξη της απόπτωσης και την καταστροφή του ιστού - στόχου.

Κατά τον σχηματισμό κοκκιδώδους ιστού, οι ινοβλάστες διαφοροποιούνται σε μυοινοβλάστες και το κατεστραμμένο κολλαγόνο, αντικαθίσταται από νέο κολλαγόνο. Η κυτταρική διήθηση βοηθά στη δημιουργία της νέας αγγείωσης, η οποία είναι κρίσιμη για την διατήρηση της διαδικασίας επισκευής του αποψιλωμένου ιστού. Η καθυστερημένη επούλωση είναι ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά της κρυογονικής βλάβης. Ο χρόνος που απαιτείται για την εκκαθάριση των νεκρωτικών ιστών, είτε με φαγοκυττάρωση ή αποδόμηση, είναι αρκετά περισσότερος σε σύγκριση με εκτομή και πρωτογενή συρραφή των τραυμάτων. Στο Σχήμα 18 φαίνεται η διαδικασία επούλωσης ενός είδους υπερτροφικής ουλής που ονομάζεται χηλοειδές στην περιοχή του στέρνου νεαρής γυναίκας μετά από Κρυοχειρουργική του δέρματος.



Σχήμα 18: Κρυοχειρουργική Δέρματος: Επούλωση υπερτροφικής ουλής (χηλοειδούς) του δέρματος στην περιοχή του στέρνου σε νεαρή γυναίκα. Οι λήψεις έγιναν με μεσοδιάστημα μιας εβδομάδας και είναι εμφανές το εξαιρετικό τελικό αισθητικό αποτέλεσμα [Πηγή: Διαδίκτυο].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΠΕΔΙΑ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΤΗΣ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ

3.1 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ [3,4,7,8,56]

Στα μέσα της δεκαετίας του 1960, αφού ο Cooper δημοσίευσε την ανάπτυξη και τη χρήση αυτοματοποιημένων κρυοχειρουργικών συσκευών, το ενδιαφέρον για την αντιμετώπιση κακοήθων όγκων με κρυοθεραπεία ήταν ιδιαίτερα έντονο, και το όργανο του ήπατος ήταν ένας κοινός τόπος για πειραματισμό, με τη σκέψη της εφαρμογής σε όγκους. Ωστόσο, η κλινική χρήση της Κρυοχειρουργικής για όγκους του ήπατος ήταν πρακτικά ελάχιστη εκείνα τα χρόνια, επειδή ενδεχομένως δεν ήταν διαθέσιμες ικανές τεχνικές απεικόνισης. Έτσι όταν η υπερηχογραφία άρχισε να αναγνωρίζεται ως μια μέθοδος για την παρακολούθηση της διαδικασίας της κατάψυξης των ιστών, η Κρυοχειρουργική επανήλθε στην κλινική χρήση για όγκους του ήπατος στη δεκαετία του '90 και σταδιακά αναπτύχθηκε προσαρμοζόμενη σε διαφορετικές κλινικές περιπτώσεις. Η πιο κοινή χρήση της Κρυοχειρουργικής είναι για

Θεραπεία μεταστατικών όγκων σε ασθενείς με νόσο που θεωρείται ανεξάρτητη λόγω του αριθμού των μεταστατικών εστιών αλλά και της θέσης του όγκου ή λόγω των σοβαρών παραγόντων συννοσηρότητας που σχετίζονται, κυρίως με τη κίρρωση του ήπατος. Σε άλλους ασθενείς, η Κρυοχειρουργική έχει συνδυαστεί με κλασική ηπατική χειρουργική, δηλαδή χειρουργική εκτομή σε ορισμένες αλλοιώσεις, αλλά κατάψυξη σε άλλες αλλοιώσεις in situ.

Η Κρυοχειρουργική μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ηπατική κοίτη που προκύπτει μετά την εκτομή, είτε για να θεραπεύσει τυχόν υπολειμματική νόσο στη γραμμή εκτομής ή για να επεκτείνει τις πιθανότητες ίασης αυξάνοντας το χειρουργικό όριο σε όμορες ευαίσθητες δομές (πχ. μεσαίου μεγέθους αγγειακά στελέχη) ακόμα και όταν η αρχική εκτομή θεωρήθηκε πλήρης. Άλλη χρήση της Κρυοχειρουργικής είναι η κρυοεπικουρική εκτομή, μια μέθοδος κατά την οποία ο καθετήρας εισάγεται εντός της νεοπλασίας και προσκολλάται λόγω πολύ υψηλής διαφοράς θερμοκρασίας στον ιστό. Ο καθετήρας ουσιαστικά χρησιμεύει ως συσκευή για την πρόσφυση του καρκινικού όγκου και την καταστροφή του κέντρου του για να διευκολυνθεί η κλασική εκτομή στην περιφέρεια του.

Οι τεχνικές της ηπατικής Κρυοχειρουργικής έχουν περιγραφεί επαρκώς καλά σε έναν μεγάλο αριθμό πρόσφατων εκθέσεων. Η τοποθέτηση των κρυοχειρουργικών probes σε όγκους του ήπατος πραγματοποιείται μέσω λαπαροτομίας, διαδερμικά ή και λαπαροσκοπικά. Έχουν εν γένει χρησιμοποιηθεί συσκευές που ψύχονται με υγρό άζωτο (-195.8° C) και πεπιεσμένο αέριο αργό (-185.7° C) στην εφαρμοσμένη θεραπευτική. Και οι δύο φαίνεται να είναι αποτελεσματικές με σωστή χρήση. Ανάλογα με το κρυογονικό μέσο που επιλέγεται, θα πρέπει να εφαρμόζεται η βέλτιστη τεχνική κατάψυξης, συμπεριλαμβανομένων των επανειλημμένων κύκλων ψύξης - απόψυξης, προκειμένου να αυξηθεί η βεβαιότητα της κυτταρικής καταστροφής και η αποτελεσματικότητα της θεραπείας.

Γενικά υφίσταται πολυμορφία απόψεων για το μέγεθος, τον αριθμό, και τη θέση των όγκων που μπορούν να καταψυχθούν, αλλά σαφώς και για τον συνολικό όγκο του κατεψυγμένου ήπατος (είναι σημαντικό να προσδιορίζεται), διότι οι μετεγχειρητικές επιπλοκές γίνονται πιο συχνές, όσο ο όγκος των κατεψυγμένων ιστών αυξάνεται. Οι επιπλοκές που χαρακτηρίζουν την ηπατική Κρυοχειρουργική περιλαμβάνουν τη διαταραχή της πήκτικότητας του αίματος (λόγω μείωσης του απόλυτου αριθμού των αιμοπεταλίων), η διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (σοβαρή δυσλειτουργία του πήκτικού μηχανισμού που οδηγεί σε κατανάλωση παραγόντων κατάψυξης και απρόσφορη συνάθροιση αιμοπεταλίων με συνέπεια το συνδυασμό αιμορραγικών και θρομβωτικών φαινομένων) και πολυοργανική ανεπάρκεια επι της βάσης απελευθέρωσης κυτταροκινών.

Σε επιλεγμένους ασθενείς, τα αποτελέσματα της Κρυοχειρουργικής γενικά είναι ευνοϊκά ως προς τη διαχείριση των πρωτοπαθών και μεταστατικών όγκων στο ήπαρ. Στη θεραπεία του πρωτοπαθούς καρκίνου του ήπατος, με υγρό άζωτο ως κρυογονικό μέσο, οι Zhou και Tang ανέφεραν σχετικά με τη μεταχείριση 235 ασθενών με πρωτοπαθή καρκίνο του ήπατος, ότι η Κρυοχειρουργική επιλέγεται κυρίως σε ασθενείς με σοβαρή κίρρωση του ήπατος, με υπόλοιπο νεοπλασίας στο χειρουργικό όριο μετά την χειρουργική εκτομή, ή με όγκο και αλλού στο ήπαρ μετά από μια μεγάλη εκτομή. Σε 235 ασθενείς, η 5-ετής επιβίωση ήταν 39.8%. Η επιβίωση ήταν καλύτερη όταν ο καρκινικός όγκος ήταν μικρότερος 5 cm σε διάμετρο. Ορισμένοι ασθενείς που έλαβαν επικουρική θεραπεία υπό τη μορφή έγχυσης χημειοθεραπευτικών παραγόντων δια της ηπατικής αρτηρίας, απολίνωση κυρίων κλάδων ή χημειοεμβολισμό, επέδειξαν βελτιωμένα αποτελέσματα. Επίσης ο Zhou περιέγραψε και την κρυοηπατεκτομή, κατά την οποία επισυμβαίνει κατάψυξη της νεοπλασίας και εκτομή εν

συνεχία των κατεψυγμένων ιστών, σε 84 ασθενείς. Η 5ετής επιβίωση ήταν 64%. Οι διάφορες τεχνικές που χρησιμοποιούνται σε αυτούς τους ασθενείς κρίθηκαν ασφαλείς και αποτελεσματικές.

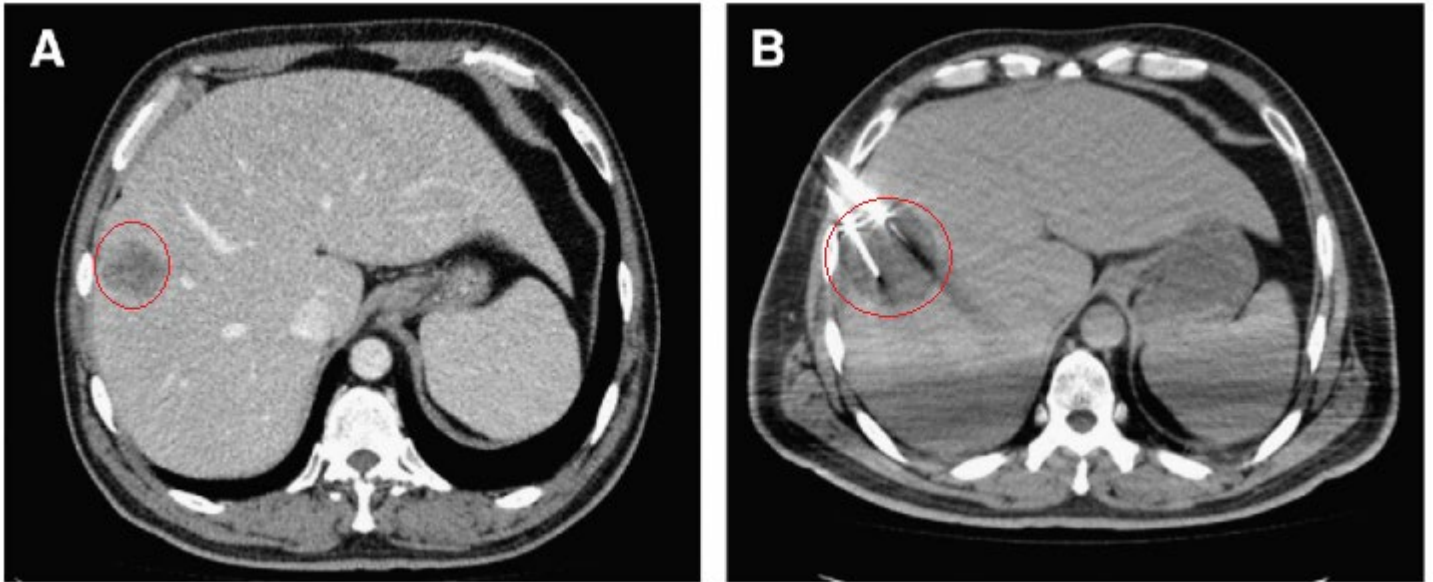
Σημαντικός όγκος δεδομένων είναι πλέον διαθέσιμος στη κρυοχειρουργική θεραπεία του μεταστατικού καρκίνου στο ήπαρ. Η επίπτωση των ποικίλων επιπλοκών, από τις οποίες οι περισσότερες είναι αναστρέψιμες, είναι περίπου 20% με 30%. Οι πλέον κοινές επιπλοκές είναι η αιμορραγία από το τραύμα διείδυσης του ctyogrobe ή από διάρρηξη (cracking) της επιφάνειας του ήπατος, διαταραχές πήξης από μαζική καταστροφή και κατανάλωση αιμοπεταλίων, συρίγγια απο το χοληφόρο δέντρο, πλευριτική συλλογή και πολυοργανική ανεπάρκεια. Η λειτουργική οργανική ανεπάρκεια (πνεύμονες, νεφροί, κ.λπ.) είναι μια σοβαρή επιπλοκή, πιθανότατα από τεράστια απελευθέρωση κυτταροκινών, και μπορεί να αποβεί μοιραία. Η μετεγχειρητική θνησιμότητα που αναφέρεται βιβλιογραφικά κυμαίνεται μεταξύ 2% έως 5%. Μακροπρόθεσμα τα ποσοστά επιβίωσης ποικίλλουν σημαντικά, με την επιλογή του ασθενούς να είναι ένας σχετικά βασικός παράγοντας. Η μέση επιβίωση πάνω από 2 χρόνια αναφέρθηκε ως ένα τυπικό συμπέρασμα πολλών εκθέσεων.

Άλλες πρόσφατες εκθέσεις παρείχαν επιπλέον δεδομένα. Στην έκθεση του Weaver, 39 (39%) από τους 136 ασθενείς ήταν ζωντανοί με μέση επιβίωση τους 37 μήνες. Ο Ruers ανέφερε ένα ποσοστό 68% επιβίωσης για 30 ασθενείς, 2 χρόνια μετά Κρυοχειρουργική. Η επανάληψη της κατάψυξης της κρυοθεραπευμένης θέσης ήταν 9%. Ο Kerkar σημείωσε ποσοστά επιβίωσης 48% και 28% σε 3 και 5 έτη, αντίστοιχα. Η ανάγκη επανάληψης της κατάψυξης της προηγουμένης κρυοθεραπευμένης θέσης ήταν 5%. Ο Seifert πέτυχε μια 5ετή επιβίωση 26% σε 55 ασθενείς, η οποία ήταν συγκρίσιμη με ασθενείς οι οποίοι είχαν κλασική ηπατεκτομή για όγκο. Στην ανάγκη επανάληψης της θεραπευτικής επέμβασης το ποσοστό ήταν υψηλότερο στη Κρυοχειρουργική συγκριτικά με την ηπατεκτομή.

Η συχνότητα επανάληψης επισημαίνει την ανάγκη για συνδυαστική θεραπεία, η οποία συνήθως είναι χημειοθεραπεία. Με επικουρική χημειοθεραπεία από την ηπατική αρτηρία, οι Seifert και Morris δημοσίευσαν μια 2-ετή επιβίωση σε ποσοστό 56%, που ήταν μια σαφής βελτίωση συγκριτικά με την απλή Κρυοχειρουργική. Πιο συχνά, τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα δίνονται συστηματικά και φαίνεται να έχουν συνεργικό, με τη Κρυοχειρουργική, αποτέλεσμα, αλλά ο χρόνος και η μέθοδος της χορήγησης τους είναι ένα εκκρεμές ακόμη θέμα. Ορισμένα πρόσφατα πειράματα *in vitro* υπέδειξαν ότι τα χημειοθεραπευτικά πρέπει να δίνονται πριν και κατά τη διάρκεια της διαδικασίας καταψύξεως. Όμως τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται σε πλήρεις δόσεις αμέσως μετά τη Κρυοχειρουργική, μπορεί να επιδεινώσουν το πρόβλημα με τη διαταραχή πήξης στη μετεγχειρητική περίοδο. Ίσως η καλύτερη μέθοδος είναι μετρονομική (κατά ώσεις) θεραπεία, με χαμηλές δόσεις, καθ' όλη τη διάρκεια της θεραπείας.

Συνοπτικά, στους όγκους του ήπατος η καλύτερη διαχείριση είναι η χειρουργική εκτομή, η οποία και προσφέρει την ευκαιρία για μεγαλύτερη επιβίωση και πιθανώς θεραπεία. Δυστυχώς, η πλειοψηφία των ασθενών με καρκίνο του ήπατος, με πρωτογενή ή δευτερογενή καρκίνο προερχόμενο κυρίως από το παχύ έντερο, δεν είναι κατάλληλοι για χειρουργική εκτομή. Συνεπώς όταν η εκτομή δεν είναι από πρακτικής άποψης εφικτή, τότε η Κρυοχειρουργική βρέθηκε να είναι μια ασφαλής και αποτελεσματική θεραπεία.

Στο Σχήμα 19 φαίνεται η εισαγωγή δύο ctyogrobes στον δεξιό λοβό του ήπατος για κρυοθεραπεία ηπατικής βλάβης που έχει διαγνωσθεί με αξονική τομογραφία.



Σχήμα 19: Κρυοχειρουργική Ήπατος: (Α) Εγκάρσια τομή αξονικής τομογραφίας όπου φαίνεται η βλάβη στον δεξιό λοβό του Ήπατος, (Β) Εγκάρσια τομή αξονικής τομογραφίας όπου επιβεβαιώνεται η ορθή τοποθέτηση δύο cryoprobes στην περιοχή της προηγούμενης βλάβης με σκοπό την κρυοκαταστροφή της [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.2 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ ΑΔΕΝΑ [3,4,8]

Η κρυοχειρουργική διαχείριση των νόσων του προστάτη αδένου ξεκίνησε ως μια διουρηθρική διαδικασία στα μέσα της δεκαετίας του 1960, και έγινε σύντομα μια διαπερινεϊκή επέμβαση, που είχε σχεδόν εγκαταλειφθεί στα μέσα της δεκαετίας του 1970, και έτυχε μιας αναγέννησης στις αρχές της δεκαετίας του 1990 ως συνέπεια της προόδου που σημειώθηκε στις νέες τεχνολογίες. Το ανανεωμένο ενδιαφέρον είχε τη βάση του στη χρήση της υπερηχογραφίας στο να παρακολουθεί την διαδικασία κατάψυξης, και στην ανάπτυξη βελτιωμένων κρυοχειρουργικών συσκευών. Νέες συσκευές Κρυοχειρουργικής ευνοούσαν τη χρήση των πέντε έως οκτώ διαμέτρου 3-mm probes και μεταβλητό αριθμό καθετήρων τύπου βελόνας (17-gauge) στα πλαίσια μιας πρότυπης συσκευής όπως αυτή που χρησιμοποιείται σε εμφυτεύματα βραχυθεραπείας. Οι εν λόγω προδιαγραφές έχουν βελτιώσει σημαντικά τη δυνατότητα εφαρμογής της Κρυοχειρουργικής ως επέμβαση για τη θεραπεία του καρκίνου του προστάτη. Με την πάροδο των ετών έως και σήμερα, έχουν χρησιμοποιηθεί κρυοθεραπευτικές συσκευές για κάθε στάδιο της νόσου, συμπεριλαμβανομένης και της παρηγορικής θεραπείας σε προχωρημένο καρκίνο ή και επίμονη ασθένεια μετά από ακτινοβολήση.

Τα αποτελέσματα της κρυοκαταστροφής στον προστάτη αδένου βελτιώθηκαν, ως αποτέλεσμα της μεγαλύτερης κατανόησης των μηχανισμών κατάψυξης, της βελτιωμένης τεχνικής που βασίζεται στη γνώση, και στις τεχνολογικές προδιαγραφές. Σύγχρονης τεχνολογίας συσκευές περιλαμβάνουν πολλαπλές κεφαλές, αερόψυκτες συσκευές με αέριο αργό, συμπεριλαμβανομένου καθετήρα διουρηθρικής θέρμανσης, και θερμοαισθητήρες σε

κρίσιμες περιοχές, όπως ο νευροαγγειακός μίσχος, η κορυφή του προστάτη, και η περιτονία του Denonvilliers ανάμεσα στον προστάτη και το ορθό. Δύο κύκλοι ψύξης - απόψυξης είναι απαραίτητοι και η κατάψυξη απεικονίζεται με υπερηχογραφήματα και θερμοαισθητήρες (θερμοζεύγη τύπου T). Η κρίσιμη θερμοκρασία των -40°C πρέπει να παράγεται στα όρια του προστάτη. Αυτή η τεχνική έχει αποφέρει αποτελέσματα που εμφανίζονται να είναι ανταγωνιστικά σε σχέση με άλλες μορφές θεραπείας.

Τυπικά αποτελέσματα της μεθόδου περιγράφονται σε μια πολυκεντρική μελέτη που αναφέρθηκε από τον Han και αφορούσε 106 ασθενείς, οι οποίοι έλαβαν διαδερμική Κρυοχειρουργική. Οι επιπλοκές περιελάμβαναν ακράτεια σε ένα μικρό ποσοστό των ασθενών, αλλά δεν αναφέρθηκαν ορθοδερματικά συρίγγια, γεγονός το οποίο είναι μια τεράστια βελτίωση σε σχέση με τις πρώτες εφαρμογές της Κρυοχειρουργικής στη χειρουργική του προστάτη αδένου. Σε 12 μήνες, το 75% των ασθενών ήταν ελεύθεροι τόσο κλινικά όσο και βιοχημικά. Ο Long σε μελέτη του με 975 ασθενείς κατέληξε σε μέση επιβίωση της τάξης των 2 ετών και δήλωσε ότι η 5ετής επιβίωση ήταν 63%, όπως προσδιορίστηκε από τις τιμές του ειδικού προστατικού αντιγόνου - PSA $< 1,0\text{ ng/ml}$. Στην έκθεση αυτή, η συνολική θετική βιοψία του αδένου ήταν σε ποσοστό 18%. Ο Donnelly σημείωσε 5-ετή επιβίωση 89% σε 76 ασθενείς. Σε ορισμένους ασθενείς απαιτείται επανάληψη της Κρυοχειρουργικής. Ο Prepelica περιέγραψε τη χρήση Κρυοχειρουργικής για περιοριζόμενο στον αδένου καρκίνο σε 65 υψηλού κινδύνου ασθενείς, και επέτυχε 100% επιβίωση (83,3% χωρίς υποτροπή βιοχημικών δεικτών) σε παρακολούθηση 35 μηνών. Κατέληξε δε στο συμπέρασμα ότι η Κρυοχειρουργική ήταν μια εφικτή επιλογή της θεραπείας του καρκίνου του προστάτη.

Η εμπειρία με την παρηγορική κρυοθεραπεία για επίμονο καρκίνο του προστάτη μετά από ακτινοβολία είναι γενικά θετική. Οι Chin και Touma κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η 5-ετής ελεύθερα νόσου περίοδος επετεύχθη σε ποσοστό 40%, με βάση τα βιοχημικά δεδομένα (PSA). Ο Ghafar κατά την κρυοθεραπεία 38 ανδρών με καρκίνο που συνεχίστηκε και μετά την ακτινοβολία, πέτυχε βιοχημικώς ελεύθερη περίοδο 2 ετών σε ποσοστό 74%. Ο Bahh επιπλέον πέτυχε 7ετή ελεύθερα βιοχημικής υποτροπής περίοδο σε ποσοστό περίπου 60% και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η Κρυοχειρουργική είναι αποτελεσματική για τοπικά επιβεβαιωμένο καρκίνο του προστάτη μετά την αποτυχία της ακτινοβολίας.

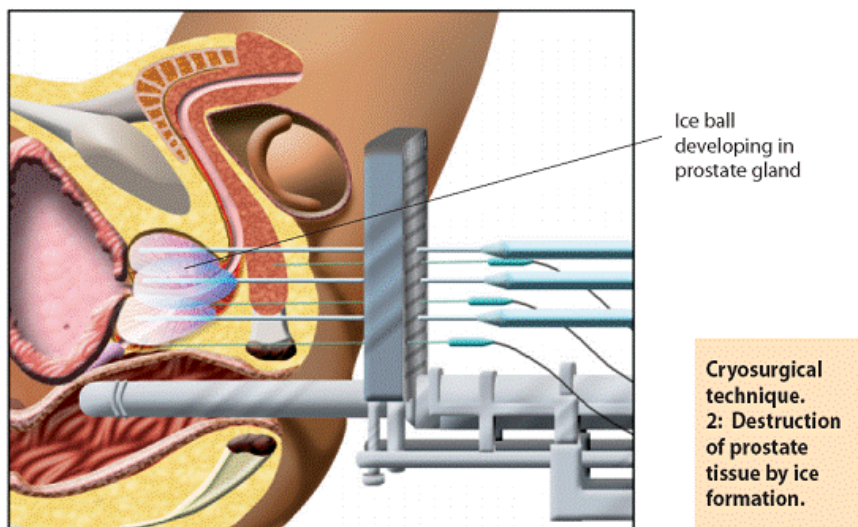
Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται στην κρυοκαταστροφή του προστάτη επιδέχονται βελτίωσης, σε τέτοιο βαθμό ώστε να μπορεί να αποβεί ακόμη πιο επωφελής ως μέθοδος για τους ασθενείς. Ο Rukstalis έκανε ουσιαστικές προτάσεις για τις κατευθύνσεις που μπορούν να τροποποιήσουν την Κρυοχειρουργική του προστάτη, όπως την υπολογιστική καθοδήγηση για τον βέλτιστο σχεδιασμό της θεραπείας. Επίσης χαρακτήρισε τη συνδυασμένη κρυοθεραπεία με χημειοθεραπεία, να είναι ασφαλώς απαραίτητη στη Κρυοχειρουργική του προστάτη.

Ο Onik, μετά από προσεκτική εξέταση βιοψιών, διατήρησε τον νευροαγγειακό μίσχο χειριζόμενος με κρυοθεραπεία μόνο την πλευρά του προστάτη που είχε αποδειχθεί να πάσχει από καρκίνο. Όμως ο Rukstalis σε μελέτη βιοψιών μετά από τυπική ριζική προστατεκτομή βρήκε πολυεστιακό καρκίνο στο 79,5% των δειγμάτων. Αυτό το εύρημα θα εξασθενήσει μάλλον τον αρχικό ενθουσιασμό για εστιακή κρυοκαταστροφή στη χειρουργική του προστάτη αδένου. Ωστόσο, η πιθανότητα να διατηρείται η σεξουαλική λειτουργία με την Κρυοχειρουργική έχει προκαλέσει το ενδιαφέρον και το αντικείμενο αυτό θα αποτελέσει αντικείμενο μελλοντικής έρευνας και κλινικών δοκιμών.

Συνοπτικά, η Κρυοχειρουργική του προστάτη αδένου συνεχίζει να εξελίσσεται λόγω των μοριακών μελετών για την επίδραση της κατάψυξης σε ιστό, λόγω των τροποποιήσεων

κατά την παρακολούθηση της διεργασίας, και λόγω της ανάπτυξης των νέων συσκευών. Υπάρχει μεγάλη ανάγκη όμως πλέον, να εντοπιστούν αποτελεσματικές κρυοεπικουρικές θεραπείες, έτσι ώστε να διασφαλίζεται η καταστροφή σε κάπως υψηλότερες θερμοκρασίες καταψύξεως απ' ό,τι σήμερα. Η Κρυοχειρουργική, όπως εφαρμόζεται σήμερα, συνήθως θεωρείται ασφαλής και αποτελεσματική σε επιλεγμένους ασθενείς με καρκίνο του προστάτη αδένου. Τέλος η θεραπεία θεωρείται ότι είναι εξίσου αποτελεσματική με την κλασική χειρουργική θεραπεία ή την ακτινοβολία.

Στο Σχήμα 20 παρουσιάζεται η διαδερμική – διαπερινεϊκή είσοδος των cryoprobes στην Κρυοχειρουργική του προστάτη αδένου.



Σχήμα 20: Κρυοχειρουργική του Προστάτη αδένου: Διαπερινεϊκή προσπέλαση για την κρυοχειρουργική του προστάτη με τη βοήθεια διορθικής υπερηχογραφικής καθοδήγησης [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.3 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ [3,6,8,48]

Η Κρυοχειρουργική αποτελεί μια αποδεκτή τεχνική για τη θεραπεία των καρκίνων του δέρματος, από τους οποίους οι περισσότεροι είναι μικροί και εύκολα αντιμετωπίζονται με χειρουργική εκτομή και άλλες τοπικά καταστρεπτικές μεθόδους θεραπείας. Οι κρυοχειρουργικές τεχνικές, συνήθως συνδυάζονται με εκπαρηκτική της βλάβης και ανοιχτό σύστημα ψεκασμού υγρού αζώτου, και έχουν αλλάξει λίγο, κατά τη διάρκεια πολλών ετών. Η ανάγκη για εκπαρηκτική έχει αμφισβητηθεί, αλλά είναι ένας χρήσιμος τρόπος να μειωθεί το μέγεθος των όγκων, έτσι ώστε να διευκολυνθεί εν συνεχεία η κατάψυξη. Στη διαχείριση μικρών βασικοκυτταρικών και ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων (< 2 cm σε διάμετρο επιφάνειας), ο Kuflik με 30-ετή εμπειρία με 4.406 καρκίνους του δέρματος, επέτυχε ίση σε ποσοστό μεγαλύτερο από 98%. Ο Graham περιέγραψε παρόμοια αποτελέσματα. Οι Kokoska και Scheinfeld, σε μια ανασκόπηση διαφόρων μελετών, αναφέρθηκαν σε κάπως μικρότερο ποσοστό θεραπείας, αλλά το συμπέρασμα ήταν ότι η Κρυοχειρουργική είναι μια αποτελεσματική μέθοδος θεραπείας για βασικοκυτταρικά καρκινώματα. Οι Nordin και Stenquist περιγράφοντας 5-ετή αποτελέσματα στην κρυοχειρουργική θεραπεία 100 ασθενών με καρκίνο του εξωτερικού αυτιού, δημοσίευσαν μία μόνο υποτροπή και

κατέληξαν στο ότι η εκκυρήνιση που ακολουθείται από την κατάψυξη ήταν μια ασφαλής θεραπεία.

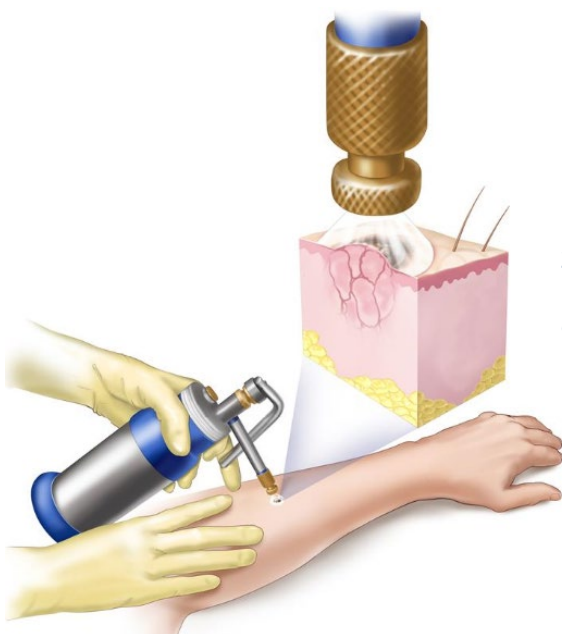
Η Κρυοχειρουργική είναι καταλληλότερη για όγκους με ευδιάκριτα όρια. Όταν τα όρια του καρκίνου είναι πλημμελώς καθορισμένα ή δυσδιάκριτα, μια εναλλακτική μέθοδος θεραπείας, όπως η μικρογραφική χειρουργική, είναι η καλύτερη επιλογή. Η υποτροπή βασικοκυτταρικού καρκινώματος απαιτεί επιθετικές στρατηγικές κατάψυξης.

Τα βασικοκυτταρικά καρκινώματα των βλεφάρων απαιτούν ειδική μνεία. Σε αυτά περιγράφεται υψηλό ποσοστό ίασης, μεγαλύτερο από 95% μετά από παρατεταμένη εφαρμογή κρυοθεραπείας, όπως αναφέρεται σε αρκετές μελέτες. Οι Lindgren και Larko δεν ανέφεραν υποτροπές σε 219 ασθενείς. Ο Buschmann πέτυχε 95% ίαση μετά από 5 χρόνια παρακολούθησης, η οποία έφτασε έως 99% μετά τη δεύτερη κρυοχειρουργική θεραπεία. Τα κοσμητικά αποτελέσματα των παραπάνω εκθέσεων ήταν εν γένει εξαιρετικά.

Ωστόσο τα μελανώματα, σπάνια αντιμετωπίζονται με Κρυοχειρουργική, μολονότι τα μελανοκύτταρα είναι ευαίσθητα στο κρύο και μπορούν εύκολα να καταστραφούν από τις τυπικές θερμοκρασίες κατάψυξης. Οι Itoh και Tanaka αναφέρθηκαν στη διαχείριση 10 ασθενών με μελάνωμα και συστήνουν τη Κρυοχειρουργική ως θεραπευτική επιλογή πρώτης γραμμής στη θεραπεία του. Το πλεονέκτημα της χειρουργικής εκτομής ουσιαστικά έγκειται στην ύπαρξη παρασκευάσματος για ιστολογική εξέταση. Η Κρυοχειρουργική έχει κριθεί ως μια αποτελεσματική θεραπευτική επιλογή για κακοήθη εφηλίδα, αλλά με υποτροπή σε επίπεδο 10%. Έτσι η χειρουργική εκτομή, επιτρέποντας την εξέταση των χειρουργικών ορίων εκτομής, μπορεί να είναι μια καλύτερη θεραπευτική επιλογή.

Προχωρημένοι ανιάτοι καρκίνοι του δέρματος ή σε άλλες θέσεις συμπεριλαμβανομένου και του δέρματος όπως στα πλαίσια μελανώματος και καρκίνων του μαστού και του οφθαλμού, έχουν αντιμετωπισθεί με κρυοχειρουργικές τεχνικές προς ανακούφιση των συμπτωμάτων. Η επιθετική κατάψυξη έχει αποδώσει, περιστασιακά, εντυπωσιακά αποτελέσματα. Κοινά οφέλη είναι η μείωση του μεγέθους των όγκων, η ανακούφιση του πόνου, και η αποφυγή δύσσομων εκκρίσεων.

Συνοπτικά, οι κρυοχειρουργικές τεχνικές αποδίδουν άριστα κοσμητικά αποτελέσματα και έχουν καθιερωθεί στη δερματολογική πρακτική για την αντιμετώπιση των μικρών καρκίνων του δέρματος (εκτός μελανώματος). Τέλος χρησιμοποιούνται και σε προχωρημένους καρκίνους του δέρματος σαν παρηγορική θεραπεία. Στο Σχήμα 21 παρουσιάζεται η χρήση φορητής συσκευής κρυοθεραπείας, που χρησιμοποιείται ευρέως στην αντιμετώπιση δερματικών παθήσεων.



Σχήμα 21: Κρυοχειρουργική Δέρματος: Χρήση φορητής κρυοχειρουργικής συσκευής για την κρυοκαταστροφή δερματικών αλλοιώσεων [Πηγή: Διαδίκτυο].

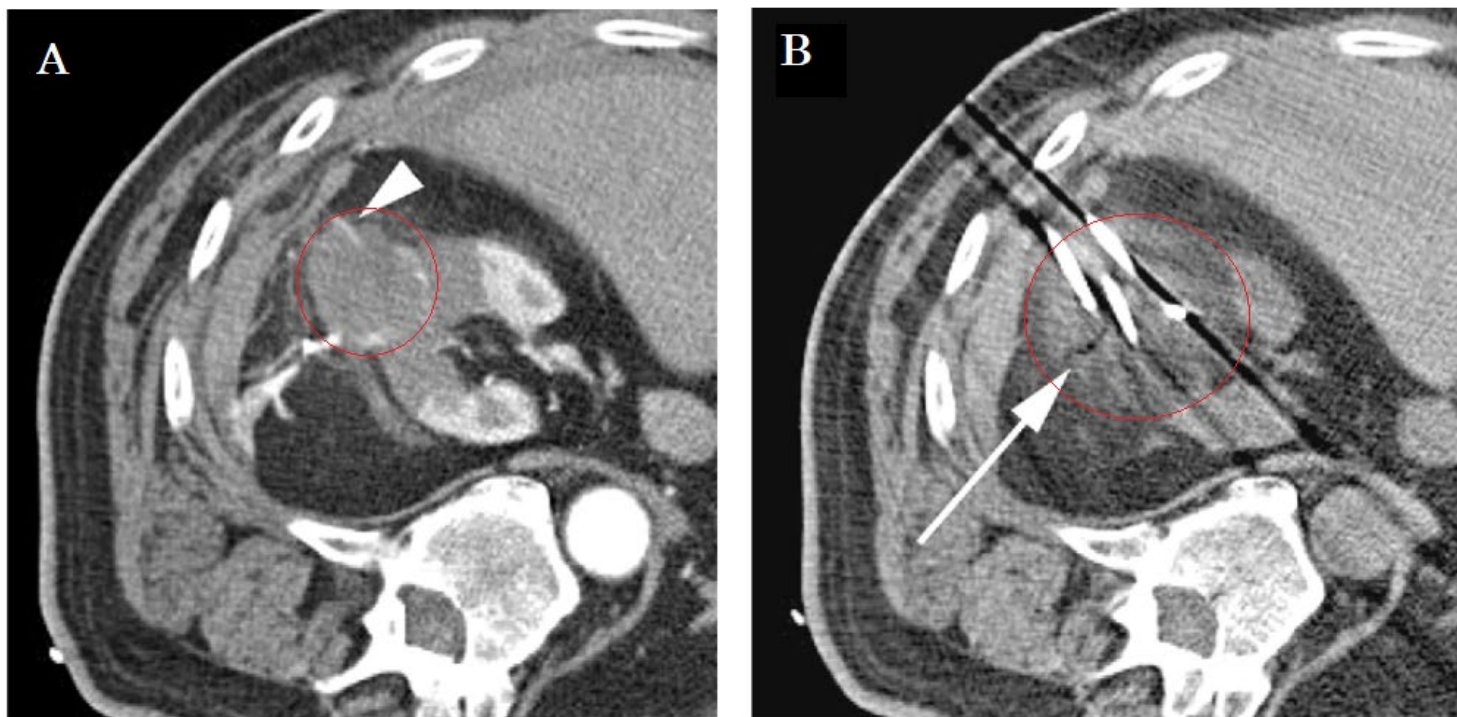
3.4 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΝΕΦΡΟΥ [3,6,8]

Τα αποτελέσματα της κατάψυξης του νεφρού έλαβαν ιδιαίτερης προσοχής σε πειράματα σε ζώα. Σε γενικές γραμμές, αυτές οι έρευνες έδειξαν ότι η τυπική κρυογονική αλλοίωση, αφορούσε ουσιαστικά πηκτικού τύπου κεντρική νέκρωση αντίστοιχα προς στον ιστό που προηγουμένως υπέστη κρυογονική θεραπεία, η οποία επουλώνεται με τη μορφή ινώδους ουλής σε αρκετές εβδομάδες. Η ασφάλεια της διαδικασίας καθορίστηκε, και η κλινική της εφαρμογή ξεκίνησε στα μέσα της δεκαετίας του '90, όταν διάφορες λειτουργικές προσεγγίσεις περιγράφονταν σχετικά, και έκτοτε, η κλινική εμπειρία με τη μέθοδο έχει επεκταθεί σημαντικά. Οι κλινικές μελέτες συχνά περιλαμβάνουν την επιλογή ασθενών, με όγκους μικρότερους από 3 cm σε διάμετρο, με περιφερικά λειτουργικό νεφρικό παρέγχυμα και εκείνων στους οποίους η διατήρηση των νεφρών ήταν κριτικής σημασίας. Επιπλέον, η αύξηση των ρυθμών της έγκαιρης ανίχνευσης των νεφρικών όγκων ενθάρρυνε την υιοθέτηση συντηρητικών θεραπευτικών μέτρων, όπως η μερική νεφρεκτομή ή κρυοκαταστροφή ως εναλλακτική στη κλασική νεφρεκτομή. Η επιτυχία των νεότερων τεχνικών απεικόνισης να παρακολουθούν την διαδικασία κατάψυξης και της διαθεσιμότητας λεπτών cryoglobes ήταν βασικοί τεχνολογικοί παράγοντες που διευκόλυναν την εφαρμογή και τη διάδοση της Κρυοχειρουργικής.

Η εμπειρία με τη νεφρική Κρυοχειρουργική είναι σχετικά πρόσφατη, αλλά τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα ακόμα ευρίσκονται σε φάση ωρίμανσης. Ο Davoli αναφερόμενος σε 48 ασθενείς, με μια μέση παρακολούθηση 5 ετών, διαπίστωσε ότι το 12,5% είχε εμμένουσα νόσο κατά τη διάρκεια της περιόδου αυτής. Το 87,5% ως ποσοστό επιβίωσης ελεύθερας νόσου, βελτιώθηκε σε 97,5%, μετά την επανάληψη της μεθόδου. Ο Gill αναφερόμενος σε 51 ασθενείς με μονόπλευρους όγκους οι οποίοι υπεβλήθησαν σε λαπαροσκοπική χειρουργική νεφρική κρυοκαταστροφή και παρακολούθηση 3 ετών, εμφάνισαν ένα 98% ποσοστό επιβίωσης ελεύθερας νόσου. Τα αποτελέσματα αυτά ενθαρρύνουν τη συνεχή εφαρμογή της νεφρικής Κρυοχειρουργικής ως ελάχιστα επεμβατική και συντηρητική διαδικασία σε επιλεγμένους ασθενείς. Παρόμοιες απόψεις εκφράστηκαν και από άλλους ιατρούς, χρησιμοποιώντας τεχνικές κρυοκαταστροφής.

Συνοπτικά, η ασφάλεια της Κρυοχειρουργικής στην αντιμετώπιση μικρών όγκων των νεφρών αποδεικνύεται από πρόσφατη κλινική εμπειρία. Η λαπαροσκοπική χειρουργική προσέγγιση είναι ιδιαίτερα δημοφιλής, ασφαλής και αποτελεσματική. Η παρακολούθηση της διαδικασίας κατάψυξης με υπερήχους είναι συνήθης, αλλά η απεικόνιση του μαγνητικού συντονισμού παρέχει ορισμένα σαφή πλεονεκτήματα. Η ωρίμανση των κλινικών αποτελεσμάτων επιβεβαιώνει την αποτελεσματικότητα των κρυοθεραπευτικών τεχνικών για μικρούς νεφρικούς όγκους σε επιλεγμένους ασθενείς. Όμως τα μακροπρόθεσμα τα δεδομένα είναι αναγκαία για τον καθορισμό των οριστικών πλεονεκτημάτων της μεθόδου στη διαχείριση των νεφρικών όγκων.

Στο Σχήμα 22 φαίνεται η είσοδος τριών cryoglobes στην περιοχή όγκου δεξιού νεφρού με τη βοήθεια αξονικής τομογραφίας.



Σχήμα 22: Κρυοχειρουργική Νεφρού: (Α) Εγκάρσια τομή αξονικής τομογραφίας στην οποία καταδεικνύεται όγκος του δεξιού νεφρού, (Β) Εγκάρσια τομή αξονικής τομογραφίας στην οποία επιβεβαιώνεται η τοποθέτηση τριών cryoprobes στον προαναφερθέντα όγκο κατά τη διάρκεια της κρυοθεραπείας [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.5 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ [3,6,8]

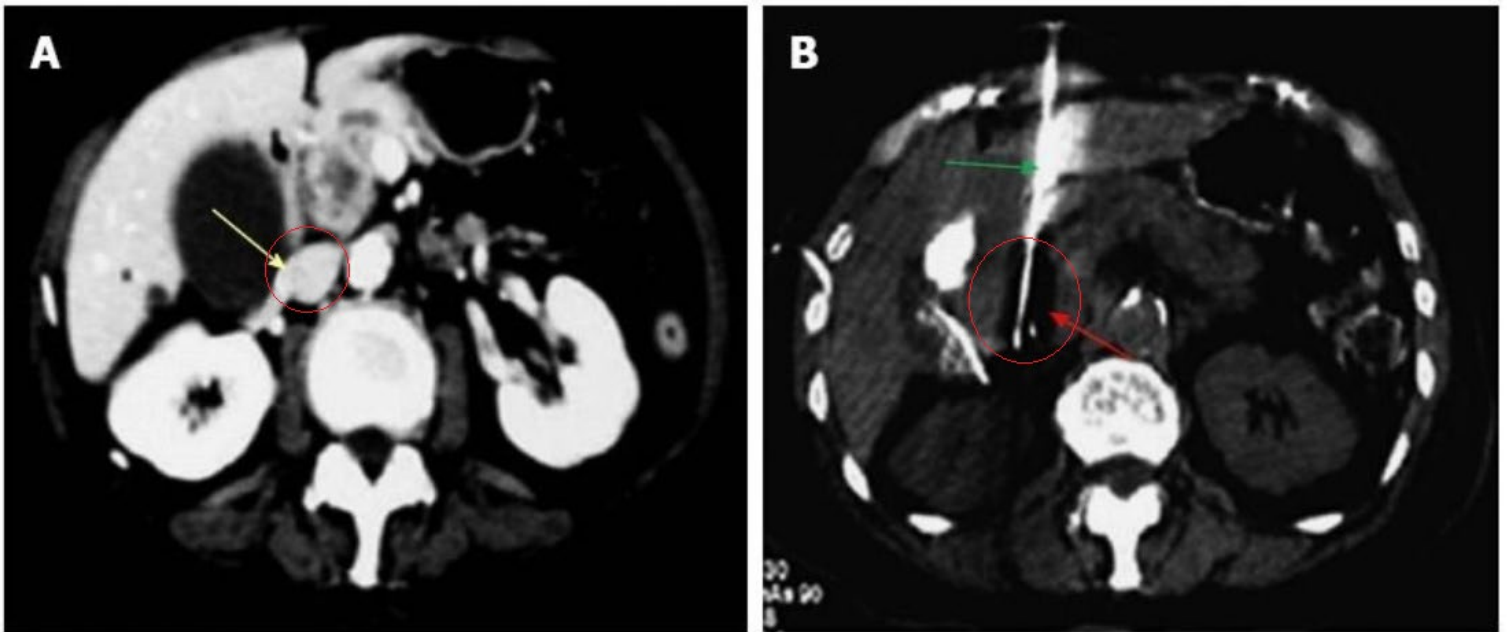
Η Κρυοχειρουργική θεραπεία των όγκων του παγκρέατος έχει μόνο λίγες κλινικές δοκιμές, παρόλο που το ενδιαφέρον για μια πιθανή εφαρμογή έχει εκδηλωθεί από πολλά χρόνια πριν. Η κατάψυξη μη νεοπλασματικών τμημάτων παγκρέατος κυνών γενικά προκαλεί μια φλεγμονώδη απόκριση, με νέκρωση και καταστροφή της κανονικής αρχιτεκτονικής, και τελικά επούλωση σχηματισμό ινώδους συνδετικού ιστού. Τα παγκρεατικά ένζυμα του ορού μετά την κρυοθεραπεία εμφανίζουν μια ραγδαία αύξηση, και παραμένουν σε υψηλές τιμές για αρκετές ημέρες κατά τη διάρκεια των πειραμάτων. Πρόσφατα πειράματα με κατεύθυνση στην κατάψυξη ενός σημαντικού μέρους του πάγκρεας κυνών που είχαν αναπτύξει τεχνητά επαγόμενη οξεία παγκρεατίτιδα είχαν σαν αποτέλεσμα τη μειωμένη δραστηριότητα των παγκρεατικών ενζύμων και τη χαμηλότερη θνησιμότητα σε σύγκριση με το μη θεραπευμένο πλήθος ελέγχου. Εν γένει τα πειράματα δείχνουν ότι η παγκρεατική Κρυοχειρουργική σαν επέμβαση είναι καλώς ανεκτή και πιθανώς διαθέτει θεραπευτική δυναμική.

Η εμπειρία με παγκρεατικούς όγκους είναι σχετικά περιορισμένη. Ο Patiutko χρησιμοποίησε την Κρυοχειρουργική σε 30 ασθενείς με τοπικά προχωρημένο καρκίνο του παγκρέατος και δημοσίευσε θετικά αποτελέσματα σχετικά με την ανακούφιση του πόνου και την αύξηση της επιβίωσης. Ο Kovach περιέγραψε την αντιμετώπιση 9 ασθενών με ανεγχείρητα παγκρεατικά καρκινώματα. Τελικά αναπτύχθηκε ήπια μετεγχειρητική παγκρεατίτιδα και τελικά βελτίωση των επώδυνων συμπτωμάτων, αλλά με τη βοήθεια

κρυοεπικουρικής θεραπείας. Παρόμοια οφέλη επιτεύχθηκαν και από τον Korpan.

Στην τελική αξιολόγηση, η κλινική εφαρμογή της Κρυοχειρουργικής στον εξαιρέσιμο παγκρεατικό καρκίνο είναι μάλλον απίθανη. Για ανεγχείρητο καρκίνο, επιλεγμένοι ασθενείς μπορούν να επωφεληθούν από την Κρυοχειρουργική για την ανακούφιση του πόνου, ιδιαίτερα εάν αναπτυχθεί μια τεχνική για την κρυοτραυματική απονεύρωση της περιοχής του κοιλιακού πλέγματος.

Στο Σχήμα 23 φαίνεται η είσοδος ενός μονήρους cryoprobe στην περιοχή της κεφαλής του παγκρέατος υπο αξονική τομογραφία με σκοπό την κρυοκαταστροφή του, αφού είχε προηγηθεί προηγούμενη διαγνωστική προσπέλαση επίσης με την ίδια εξέταση.



Σχήμα 23: Κρυοχειρουργική Παγκρέατος: (A) Εγκάρσια τομή αξονικής τομογραφίας στην οποία καταδεικνύεται όγκος στην περιοχή της κεφαλής του παγκρέατος (B) Εγκάρσια τομή αξονικής τομογραφίας στην οποία επιβεβαιώνεται η τοποθέτηση ενός cryoprobe στον προαναφερθέντα όγκο κατά τη διάρκεια της κρυοθεραπείας [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.6 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΟΙΣΟΦΑΓΟΥ [3,6,8]

Η εμπειρία με την κατάψυξη του οισοφάγου κατευθύνθηκε σε μια δυναμική για τη κλινική εφαρμογή στις παθήσεις του οισοφάγου και επίσης στη πρόληψη της βλάβης κατά την κατάψυξη των γειτονικών δομών, και ιδιαίτερα του περικαρδίου. Ο Rodgers κατέψυξε τον περιφερικό οισοφάγο σε γάτες στους -70°C έως -80°C για 2 min με cryoprobe. Παρήχθησαν επιφανειακά έλκη, αλλά χωρίς απώλεια της οισοφαγικής λειτουργίας. Πιο εντατική κατάψυξη παρήγαγε βαθύτερη βλάβη και διάτρηση του οισοφάγου.

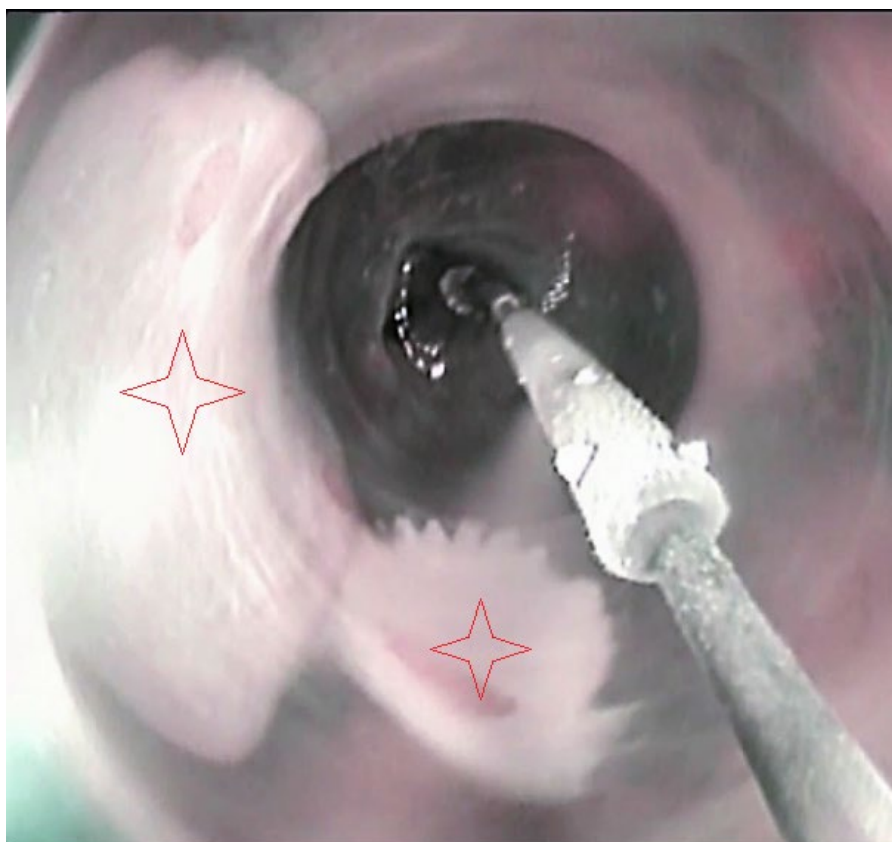
Η ενδοσκοπική κατάψυξη του οισοφάγου αναφέρθηκε από τον Pasricha που ψέκασε τον βλεννογόνο του οισοφάγου σκύλων με υγρό άζωτο για 2-4 sec. Προέκυψε επιφανειακή νέκρωση του βλεννογόνου, που επουλώθηκε εν συνεχεία με κυτταρική διήθηση και επαναεπιθηλιοποίηση. Παρόμοια ενδοσκοπικά πειράματα έγιναν από τον Johnston, ο οποίος ψέκασε τον περιφερικό οισοφάγο χοίρων με υγρό άζωτο για 10-60 sec έως ότου ο βλεννογόνος να καταστεί επισκοπικά λευκωπός. Η βλάβη που αναπτύχθηκε, περιελάμβανε

επιφανειακές ρηχές διαβρώσεις περίπου 2 mm, με επέκταση στον υποβλενογόνο χιτώνα. Περιμετρική κατάψυξη, η οποία έγινε σε τρεις χοίρους, οδήγησε σε στένωση του οισοφάγου.

Επειδή η οισοφαγική βλάβη έχει αναφερθεί συχνά μετά το πάγωμα των πνευμονικών φλεβών στην αντιμετώπιση της κολπικής μαρμαρυγής, ορισμένα πειράματα έχουν κατευθυνθεί στη κατάψυξη του οισοφάγου από την εξωτερική επιφάνεια. Οι Aupperle και Doll περιέγραψαν κατάψυξη μέσα από τους καρδιακούς κόλπους και των πνευμονικών φλεβών στα πρόβατα, χρησιμοποιώντας cryogroabe θερμοκρασίας $-160\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 2 min, της εξωτερικής επιφάνειας του οισοφάγου σε πρόβατα, και σημείωσαν βλάβη της μυϊκής στιβάδας, αλλά το επιθήλιο παρέμεινε ανέπαφο. Ο Ripley εφάρμοσε κατάψυξη της τραχηλικής μοίρας του οισοφάγου μόσχων με cryogroabe διαμέτρου κεφαλής 6,5 mm σε θερμοκρασία $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, για 5min χωρίς να περιγράφεται πλήρους πάχους νέκρωση.

Συνοπτικά, έχει πλήρως αποδειχθεί η ευαισθησία του οισοφαγικών ιστών, και ιδιαίτερα του βλεννογόνου, στην κατάψυξη. Η ιστοική απόκριση καταδεικνύει ότι η Κρυοχειρουργική μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμη στην διαχείριση των δυσπλαστικών νόσων της περιοχής. Οισοφαγική βλάβη έχει βρεθεί να ακολουθεί συχνά την κρυοθεραπεία των πνευμονικών φλεβών για κολπική μαρμαρυγή, αλλά δεν είναι πιθανό να είναι διατοχωματική.

Στο Σχήμα 24 παρουσιάζεται η κρυοκαταστροφή με χρήση cryogroabe διατεινόμενου άκρου (τύπου cryoballoon) βλεννογονικών αλλοιώσεων στην περιοχή του κατώτερου τριτημορίου του οισοφάγου.



Σχήμα 24: Κρυοχειρουργική Οισοφάγου: Χρήση cryogroabe διατεινόμενου άκρου (cryoballoon) για την κρυοθεραπεία βλεννογονικών αλλοιώσεων στο κάτω τριτημόριο του οισοφάγου. Σημειώνονται με άστρα οι περιοχές των αλλοιώσεων. Το cryoballoon εμφανίζεται σε πλήρη σύμπτυξη. [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.7 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΗΣ ΤΡΑΧΕΙΑΣ, ΤΩΝ ΒΡΟΓΧΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ [3,8,52]

Η εμπειρία γύρω από την κρυοχειρουργική θεραπεία των βρογχικών νεοπλασιών που αποφράσσουν τους αεραγωγούς έχει διευρυνθεί τα τελευταία χρόνια και ένας αξιοσημείωτος αριθμός εργασιών περιγράφουν καταπραϊντικά οφέλη, όπως είναι η διατήρηση του αεραγωγού, η βελτίωση της δύσπνοιας, και ο έλεγχος των αιμόπτυσης. Η εμπειρία του Maiwand και του Ασημακόπουλου είναι αξιοσημείωτη για το πεδίο εφαρμογής της. Εφάρμοσαν την βρογχοσκοπική κρυοθεραπεία με αερόψυκτη κρυοχειρουργική κεφαλή από μονοξειδίο του αζώτου σε 521 ασθενείς με προχωρημένη απόφραξη των βρόγχων από τραχειοβρογχικούς καρκίνους. Ο αεραγωγός απελευθερώθηκε, επιτρέποντας τον επαναερισμό των ατελεκτασικών τμημάτων των πνευμόνων. Επίσης περιορίστηκε η αιμόπτυση, ο βήχας, και ο πόνος. Σε μια μεταγενέστερη έκθεση, σύγκριναν τα αποτελέσματα 172 ασθενών που έλαβαν δύο ή περισσότερες κρυοχειρουργικές θεραπείες με 157 ασθενείς που είχαν μόνο μία. Και οι δύο ομάδες είχαν σημαντική βελτίωση των συμπτωμάτων, αλλά στους ασθενείς που είχαν επανειλημμένες κρυοθεραπευτικές συνεδρίες τα αποτελέσματα ήταν κάπως καλύτερα.

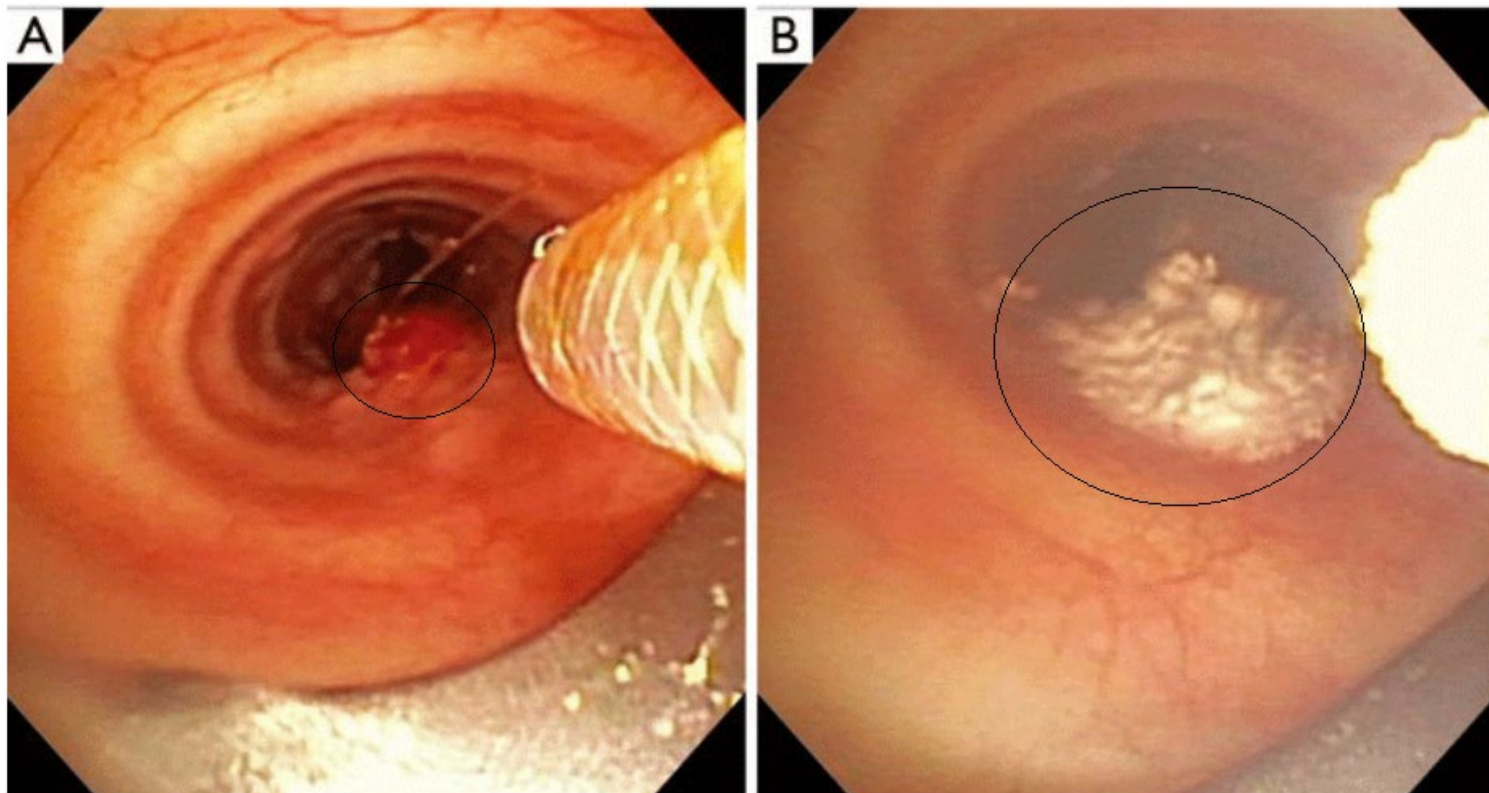
Τα ίδια οφέλη αναφέρθηκαν και από τον Marasso και σε μια ομάδα 234 ασθενών (με 183 κακοήθεις όγκους) και τραχειοβρογχική απόφραξη, το όφελος αφορούσε επίσης στη λύση της ατελεκτασίας και τη βελτίωση της δύσπνοιας. Με την εξασφάλιση του αεραγωγού, η θεραπευτική λύση της ακτινοβολίας είναι καλύτερα ανεκτή και μπορεί να καταστρέψει το νεοπλασματικό υπόλοιπο των όγκων, όπως αναφέρθηκε από τον Vergnon σε μια μικρή ομάδα ασθενών. Σε μια παραλλαγή στην τεχνική, ο Marasso χρησιμοποίησε καταστροφή με χρήση ραδιοσυχνότητας RFA (radiofrequency ablation), την οποία ακολούθησε κρυοθεραπεία για την αντιμετώπιση ανεγχείρητων βρογχικών νεοπλασιών. Ο λόγος για αυτό το συνδυασμό των θεραπειών, ήταν το γεγονός ότι η κρουονέκρωση διαρκεί αρκετές ημέρες μέχρι να αναπτυχθεί. Η RFA χρησιμοποιήθηκε για να ανοίξει τον βρογχικό αυλό, και τότε η κρυοχειρουργική, κάπως ασφαλέστερα, χρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία του υπολειμματικού καρκινικού όγκου του βρογχικού τοιχώματος. Σε μια άλλη παραλλαγή στην τεχνική, ο Hetzel χρησιμοποίησε cryogrope ψυχόμενο από μονοξειδίο του αζώτου, το οποίο καθοδηγείτο μέσω βρογχοσκοπίου, για την καταστροφή της νεοπλασίας. Μετά από σύντομη κατάψυξη, το συσσωμάτωμα του κατεψυγμένου όγκου διαχωρίστηκε από το βρόγχο. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε μέχρι το σύνολο του εξωφυτικού μέρος του όγκου να αφαιρεθεί. Η διαδικασία αυτή χρησιμοποιήθηκε σε 60 ασθενείς, και επέτυχε γρήγορη ανακούφιση από την απόφραξη στο 61% των ασθενών, και ήταν μερικώς επιτυχής στο 22%.

Συνοπτικά, η ενδοβρογχική κρυοχειρουργική έχει αποδειχθεί μια ασφαλής και αποτελεσματική μέθοδο για την παρηγορητική θεραπεία του ανεγχείρητου και αποφράσσοντος βρογχικού καρκίνου. Προφανώς, όμως, η τεχνική πρέπει να ανταγωνίζεται με άλλες μεθόδους θεραπείας, συμπεριλαμβανομένης της θεραπείας με λέιζερ, της βραχυθεραπείας, και τον ηλεκτροκαυτηριασμό, που επίσης μπορεί να ανοίξει άμεσα τον αποφραγμένο βρογχικό αυλό. Η κρυοθεραπεία έχει δύο άλλες χρήσεις για τη θεραπεία καρκίνου των πνευμόνων. Η πρώτη αφορά στις πνευμονικές μεταστάσεις. Μια εκτενής αναφορά από την Κίνα περιγράφει την εφαρμογή κρυοχειρουργικής θεραπείας των πνευμονικών μεταστάσεων σε 112 ασθενείς, από το 1973 έως το 1993. Η 5-ετής επιβίωση ήταν 28%. Συχνά η κρυοχειρουργική ήταν συνδυασμένη, με τη χορήγηση εμβολίου για αναερόβια κορυνοβακτηρίδια ως ανοσοενισχυτικό μέσο και με αποτελέσματα που κρίθηκαν ασφαλή και αποτελεσματικά.

Μια εναλλακτική προσέγγιση ήταν η διαδερμική κρυοκαταστροφή, που ανέφερε ο Kawamura ο οποίος αντιμετώπισε 35 όγκους σε 20 ασθενείς. Όπως ήταν αναμενόμενο, εμφανίστηκαν ως επιπλοκές πνευμοθώρακας και αιμόπτυση. Η τεχνική τους ήταν εφικτή, ελάχιστα επεμβατική και ικανοποιητική στον τοπικό έλεγχο της νόσου.

Η δεύτερη χρήση της κρυοθεραπείας στον πνεύμονα αφορά στην βρογχοσκοπική θεραπεία του πρώιμου βρογχικού καρκίνου, δηλαδή του καρκίνου *in situ* ή του μικροδιηθητικού καρκινώματος. Ο Deygas αντιμετώπισε 35 ασθενείς με πρώιμο επιφανειακό βρογχογενές καρκίνωμα με ενδοσκοπική κρυοθεραπεία. Μετά από τους τουλάχιστον 12 μήνες της αξιολόγησης, 7 ασθενείς είχαν υποτροπιάσει και χρειάζονταν πρόσθετη θεραπεία. Γενικά η κρυοθεραπεία θεωρείται η καλύτερη επιλογή για ασθενείς αυτού του σταδίου, αλλά δεν έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες που να συγκρίνουν τη κρυοθεραπεία με εναλλακτικές επιλογές θεραπείας, συμπεριλαμβανομένης της φωτοδυναμικής θεραπείας, τη θεραπεία με λέιζερ, ηλεκτροκαυτηριασμό, ή τη χειρουργική επέμβαση. Ο Vergnon επιθεώρησε τις επιλογές της θεραπείας και πρότεινε ότι συχνά οι ανωτέρω θεραπευτικές μέθοδοι θα μπορούσαν να συνδυάζονται με χημειοθεραπεία.

Συνοπτικά, οι κρυοχειρουργικές τεχνικές είναι αποτελεσματικές στην ανακούφιση των βρογχικών νεοπλασματικών αποφράξεων. Η εξασφάλιση του αεραγωγού διευκολύνει στη συνέχεια την ακτινοβολήση που αποτελεί βασικό σκέλος στη θεραπεία. Με εξαίρεση το όφελος έναντι της βρογχικής απόφραξης, οι προοπτικές για την κρυοχειρουργική στη θεραπευτική των όγκων του πνεύμονα φαίνονται στενές και απαιτούν επιπρόσθετες μελέτες. Στο Σχήμα 25 παρουσιάζεται η κρυοθεραπεία ενδοαυλικής αλλοίωσης κύριου βρόγχου με χρήση εύκαμπτου cryoprobe.



Σχήμα 25: Κρυοχειρουργική Τραχείας και Βρόγχων: Χρήση εύκαμπτου cryoprobe, κατά τη διάρκεια βρογχοσκόπησης, για την κρυοθεραπεία εξωφυτικής ενδοαυλικής βλάβης σε κύριο βρόγχο. Σημειώνεται η περιοχή της βλάβης πριν και μετά την εφαρμογή της θεραπείας [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.8 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΩΝ ΑΙΜΟΦΟΡΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ [3,8,45,47]

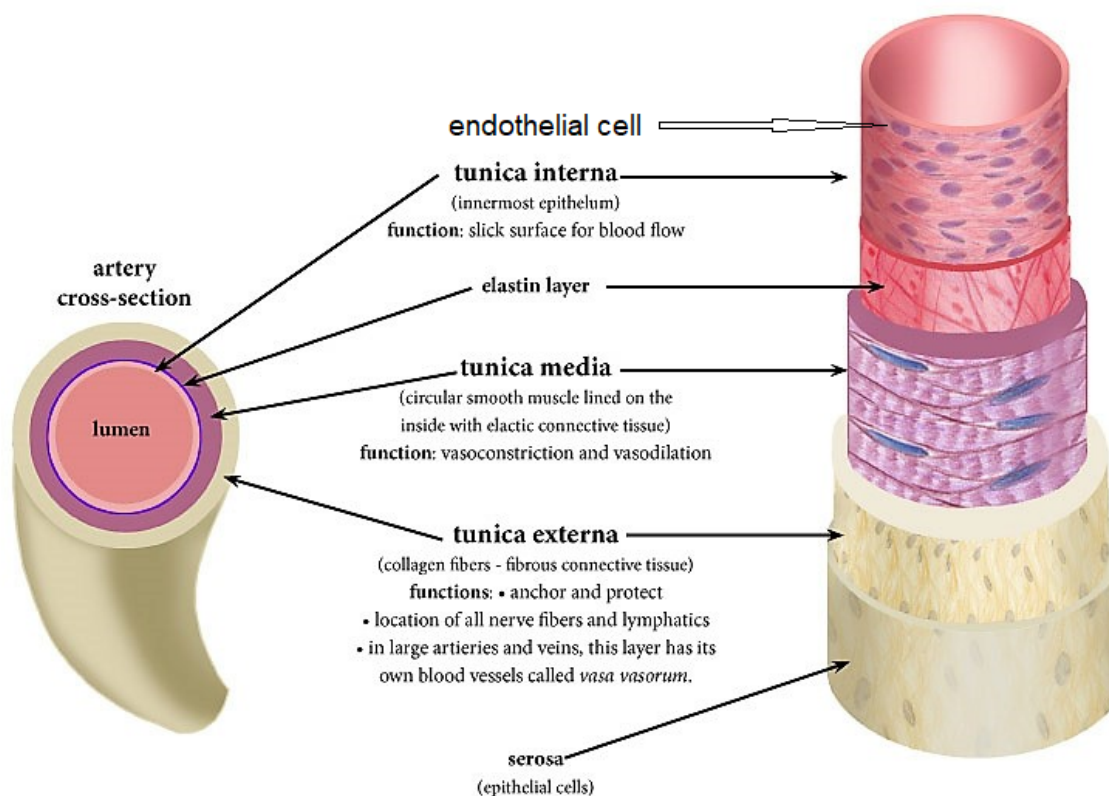
Η αντίδραση των μεγάλων αρτηριών και φλεβών στη κατάψυξη *in situ* περιγράφεται σε εκθέσεις, που χαρακτηρίζουν την πειραματική κρυογονική βλάβη σε ένα μεγάλο εύρος αιμοφόρων αγγείων. Τα μεγάλα αιμοφόρα αγγεία είναι εξαιρετικά ανθεκτικά στη δομική αλλαγή (βλ. Σχήμα 26) μετά από κατάψυξη και η λειτουργία τους ως αγωγός του αίματος δεν εμφανίζεται ιδιαίτερα επηρεασμένη. Η βλάβη παρουσιάζεται ως απώλεια ενδοθηλιακών κυττάρων και ως μια σχετική διαταραχή της αρχιτεκτονικής του αρτηριακού τοιχώματος. Η διαδικασία της επούλωσης περιλαμβάνει την ανάπτυξη των λείων μυϊκών ινών, τη πάχυνση του μυϊκού χιτώνα και την αναγέννηση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Κατά το χρονικό αυτό διάστημα η λειτουργία των αρτηριών σχετικά με την παροχή του αίματος συνεχίζεται. Τα αποτελέσματα της κατάψυξης των μεγάλων στεφανιαίων αρτηριών ήταν επίσης παρόμοια, αλλά έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, διότι τα αγγεία αυτά παίζουν σημαντικό ρόλο στην καρδιακή λειτουργία, έτσι οι αρτηρίες αυτές θα αναφερθούν και στη συνέχεια σε σχέση με τη Κρυοχειρουργική του καρδιακού μύ. Όμως ενώ οι μεγάλες αρτηρίες συνεχίζουν να επιτελούν τη φυσιολογική τους λειτουργία, γενικά, όσο μικρότερο είναι το αιμοφόρο αγγείο τόσο πιο σοβαρή είναι η βλάβη από την κρυοθεραπεία, και τόσο πιθανότερο είναι να αναπτυχθεί καθυστερημένη θρόμβωση. Σε επίπεδο μικροκυκλοφορίας, η θρόμβωση μετά από κατάψυξη είναι σχεδόν βέβαιο ότι θα συμβεί.

Στα περισσότερα από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν, οι μεγάλες φλέβες, όπως η μηριαία φλέβα, η πυλαία φλέβα, και η κάτω κοίλη φλέβα είχαν παγώσει. Οι μελέτες αυτές, λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι οι μεγάλες φλέβες αποτελούνται κυρίως από ινώδη ιστό και έχουν ελάχιστο ή καθόλου μυϊκό χιτώνα, ουσιαστικά δεν έδειξαν βασικές διαφορές από τις αλλαγές που παρατηρήθηκαν στις αρτηρίες. Ο Macintosh σε πειράματα με κατάψυξη της πυλαίας φλέβας σε χοίρους, απέδειξε το ίδιο χαρακτηριστικό της πύκνωσης των λείων μυϊκών ινών και τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών με ελάχιστες αλλαγές στη δομή των αγγείων. Σε καμία από τις φλέβες που εξετάστηκαν δεν εντοπίστηκε απόφραξη από ενδοαγγειακούς θρόμβους. Πρόσφατα πειράματα εξέτασαν την επίδραση της κατάψυξης της οπισθοθηλατικής μοίρας της κάτω κοίλης φλέβας. Αυτά τα πειράματα έδειξαν ότι η κάτω κοίλη φλέβα, παρόλο που καταστράφηκε από την κατάψυξη, ακόμη και στο βαθμό της πλήρους τοιχωματικής νέκρωσης, πέρασε στη φάση της επισκευής χωρίς επιπλοκές.

Πειράματα για τον έλεγχο της υπερτροφίας των λείων μυϊκών ινών που ακολουθεί συνήθως μετά από αγγειοπλαστική, προκαλώντας στένωση των αγγείων, έχουν συμπεριλάβει την κατάψυξη του εμπλεκόμενου αγγείου με κρυοκαθετήρα ή κρυομπαλόνι. Ο Cheema εξέτασε τις επιπτώσεις της ενδοαγγειακής κρυοθεραπείας στο αρτηριακό τοίχωμα που βρισκόταν σε φάση ανακατασκευής (*remodeling*) μετά από αγγειοπλαστική με μπαλόνι, στην λαγόνια αρτηρία κουνελιών. Ανακάλυψε ότι η κατάψυξη δεν παρήγαγε κανένα όφελος σε σύγκριση με το μπαλόνι αγγειοπλαστικής από μόνο του. Η συσσώρευση κολλαγόνου στα τρία στρώματα της αρτηρίας συνέβαλε στο καθυστερημένο ενεργητικό *remodeling* του τοιχώματος της αρτηρίας που υπέστη αγγειοπλαστική με μπαλόνι. Σε αυτά τα πειράματα, η μέση θερμοκρασία του αρτηριακού τοιχώματος ήταν $-26\text{ }^{\circ}\text{C}$, η οποία μπορεί να είναι πολύ χαμηλή για να επιτευχθεί πλεονέκτημα από την άποψη της επιλεκτικής δράσης. Ο Tanguay χρησιμοποιώντας μπαλόνι αγγειοπλαστικής προκειμένου να παράγει αγγειακή βλάβη στην καρωτίδα αρτηρία χοίρων, ακολουθούμενη από ενδοαυλική κατάψυξη σε αρκετά θερμοκρασιακά πρωτόκολλα, διαπίστωσε ότι η κατάψυξη στους $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ είχε σαν αποτέλεσμα την αυξημένη πυκνότητα του κολλαγόνου. Αργότερα η ενδοαυλική στένωση παρεμποδίστηκε από την βελτίωση του αγγειακού *remodeling*. Το όφελος αποδόθηκε στο

αυξημένο ποσοστό της σύνθεσης του κολλαγόνου. Η θερμοκρασία του αρτηριακού τοιχώματος δεν αναφέρθηκε.

Τα *in vitro* πειράματα είναι ιδιαίτερα σημαντικά για το ζήτημα του ελέγχου της υπερτροφίας των λείων μυϊκών ινών. Ο Hollister υπέβαλε καλλιεργημένα ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα στεφανιαίας αρτηρίας και λεία μυϊκά κύτταρα σε ένα εύρος θερμοκρασιών κατάψυξης. Τα πειράματα έδειξαν ότι τα λεία μυϊκά κύτταρα ήταν περισσότερο ευαίσθητα σε ψυκτική βλάβη από τα ενδοθηλιακά κύτταρα στο εύρος από 0 έως 15 °C. Η διαφορά ήταν μικρή, αλλά άφησε να εννοηθεί ότι μπορεί να είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί μια θερμοκρασία ψύξης που θα διαφυλάσσει τα ενδοθηλιακά κύτταρα και θα παρεμποδίζει την υπερτροφία των λείων μυϊκών κυττάρων. Σε παρόμοια πειράματα, ο Tatsutani εργαζόμενος με καλλιεργημένα κύτταρα αρτηριακού ιστού και λεία μυϊκά κύτταρα, διαπίστωσε ότι τα λεία μυϊκά κύτταρα ήταν επιρρεπή σε κατάψυξη, με επαγωγή απόπτωσης στο εύρος από -5°C έως -15°C, γεγονός το οποίο οδήγησε στο συμπέρασμα ότι η ενδοαγγειακή κρυοθεραπεία ίσως να περιορίσει την ενδοαυλική επέκταση των λείων μυϊκών κυττάρων και συνεπώς να μειώσει την επίπτωση της επαναστενώσεως. Οι Grassl και Bischof εργαζόμενοι με ένα *in vitro* μοντέλο ισοδύναμο ιστού, με κατάψυξη λείων μυϊκών κυττάρων, δημοσίευσε ένα 30% επιβίωσης στους -11 °C. Ο Yiu αναφέρθηκε στην ευαισθησία των αγγειακών κυττάρων σε θερμοκρασία -10 °C και περιέγραψε μια αυξημένη αποπτωτική τάση που προκύπτει από ένα δεύτερο κύκλο υπέρψυξης. Αυτές οι ποικίλες εκθέσεις *in vitro* πειραμάτων είναι γενικά σε συμφωνία μεταξύ τους και δείχνουν την ανάγκη για περισσότερα πειράματα *in vivo* προκειμένου να καθοριστεί καλύτερα το εύρος της θερμοκρασίας που θα επιτρέπει τη διατήρηση των ενδοθηλιακών κυττάρων ενώ θα αναστέλλει την ανάπτυξη των λείων μυϊκών ινών που εμπλέκονται στην ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας. Ως συμπληρωματική – κρυοεπικουρική θεραπεία, η χρήση των φαρμακευτικών ή βιολογικών παραγόντων μπορεί να διευκολύνει τη διαδικασία αυτή.



Σχήμα 26: Η ανατομία του αρτηριακού ιστού [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.9 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΣΤΟΝ ΚΑΡΔΙΑΚΟ ΜΥ [3,8]

Μεγάλος όγκος πειραματικών μελετών περιέγραψε λεπτομερώς τις επιπτώσεις της κατάψυξης στο σκελετικό μυ, τις καρδιακές βαλβίδες, τα αιμοφόρα αγγεία, καθώς και το σύστημα αγωγής της καρδιάς και πλέον είναι διαθέσιμες για ανασκόπηση. Το μυοκάρδιο είναι ευαίσθητο στη κατάψυξη και επουλώνεται με αντικατάσταση του νεκρωμένου ιστού με ινώδη ιστό. Όταν διαπιστώθηκε το δυναμικό για την κλινική εφαρμογή της κρυοθεραπείας στις διαταραχές του καρδιακού ρυθμού, και καθώς σταδιακά εξελίσσονταν όλο και πιο σύγχρονες νέες συσκευές Κρυοχειρουργικής, σταδιακά αναπτύχθηκε ένα έντονο ενδιαφέρον για πειραματισμό. Πολλά πειράματα επιβεβαίωσαν ξανά τη μορφή της κρυογονικής βλάβης που περιέγραψαν οι Haas και Taylor χρόνια νωρίτερα. Αυτά τα πειράματα, συχνά ερευνούν τις ηλεκτροφυσιολογικές επιδράσεις, επιδεικνύουν αποτελεσματικότητα στη δημιουργία κοιλιακών αλλοιώσεων από κατάψυξη χωρίς να προκαλείται σοβαρή καρδιακή δυσλειτουργία. Ακόμα και οι θηλοειδείς μύες της αριστερής κοιλίας καταψύχθηκαν χωρίς να προκαλούν σοβαρές επιπτώσεις στη λειτουργία της μιτροειδούς βαλβίδας.

Πειράματα, με την κατάψυξη της αριστερής κοιλίας σε ζώα, έδειξαν δυσκολία στην παραγωγή διατοιχωματικής αλλοίωσης στην παλλόμενη καρδιά. Ο Lustgarten χρησιμοποιώντας έναν καθετήρα με διάμετρο κεφαλής 3 cm και ψυχόμενο ενεργό μήκος 6 mm στην άκρη του probe, χρησιμοποίησε θερμοκρασία -90°C για 4 λεπτά, που μπορούσε να παράγει μια κοιλιακή βλάβη σε βάθος μόνο μόνο 2,7 mm. Ωστόσο, ο Wadhwa, κατάφερε να παράξει διατοιχωματικές κοιλιακές αλλοιώσεις στην παλλόμενη καρδιά σκύλων χρησιμοποιώντας για κατάψυξη καθετήρα 10F στους -79.6°C ή ψυχρότερο. Ο Masroor, ήταν σε θέση να παράξει διατοιχωματικού βαθμού δεξιά κοιλιακή κρυοβλάβη κατά την κατάψυξη μυοκαρδίου σε χοίρους. Ο Kettering προκάλεσε μεγάλου μήκους γραμμικές αλλοιώσεις με cryoprobe στο μυοκάρδιο χοίρων με πολλαπλά σημεία εφαρμογής στους -75°C για 4 λεπτά. Ο Milla χρησιμοποίησε μια νέα διάταξη σύλληψης ιστού για τη κατάψυξη των κόλπων. Ο στόχος αυτών των πειραμάτων ήταν το σύστημα αγωγής της καρδιάς, δηλαδή ο φλεβόκομβος (SA), ο κολποκοιλιακός κόμβος (AV) και περιφερικά κύτταρα του ερεθισματοαγωγού συστήματος.

Το ενδιαφέρον στην καρδιακή Κρυοχειρουργική επικεντρώνεται στην αντιμετώπιση διαταραχών του συστήματος αγωγής, κυρίως τις ταχυαρρυθμίες. Το σύστημα αγωγής, συμπεριλαμβανομένων των κομβικών δομών και των μυοκαρδιακών κυττάρων, είναι ευαίσθητο στην κατάψυξη. Ο Harrison προκάλεσε κολποκοιλιακά μπλόκ (διακοπή του ερεθίσματος μεταξύ κόλπων και κοιλιών) σε σκύλους με την κατάψυξη στους -55°C έως -60°C με επαφή στη θερμοκρασία αυτή για περίπου 2 min. Επίσης άλλοι ερευνητές έχουν παράξει κολποκοιλιακά μπλόκ σε ζώα με ποικίλες συσκευές. Ο κολποκοιλιακός κόμβος, αν υποβληθεί σε μια ήπια κρυοβλάβη από 0 έως -5°C , όπως προκύπτει με καθετήρα που εφαρμόζεται επί του ιστού στους -30°C , για 1 - 2 λεπτά, θα χάσει προσωρινά τη λειτουργία του και θα προκύψει ένας προσωρινός καρδιακός αποκλεισμός που θα διατηρηθεί μέχρι ο κόμβος να επαναθερμανθεί. Μερική βλάβη και καθυστερημένη ανάκαμψη θα παρουσιαστούν στο εύρος από -5°C έως -15°C , ενώ μόνιμος κολποκοιλιακός αποκλεισμός θα επιτευχθεί με την κατάψυξη στους -70°C με -75°C , που επιφέρει την ψύξη του ιστού με θερμοκρασία περίπου -20°C για 4 λεπτά. Ο Dubuc χρησιμοποιώντας ένα τυπικό cryoprobe, ανέφερε ότι ήταν απαραίτητη η εφαρμογή της στρατηγικής διπλού κύκλου. Ο Avitall παρήγαγε κολποκοιλιακό μπλόκ σε σκύλους τοποθετώντας ένα μπαλόνι, σε απόσταση 10-19 mm από τον στεφανιαίο κόλπο και ψύξη του μπαλονιού για περίπου -76°C για 3 λεπτά. Δημιουργήθηκαν διατοιχωματικού βαθμού αλλοιώσεις κατά την αύλακα του κολποκοιλιακού κόμβου.

Πρόσφατα, έχει αποδειχθεί ως μηχανισμός για την κολπική μαρμαρυγή/πτερυγισμό, η σημασία που έχουν εξειδικευμένες ίνες μυοκαρδιακής αγωγής που εκτείνονται στις

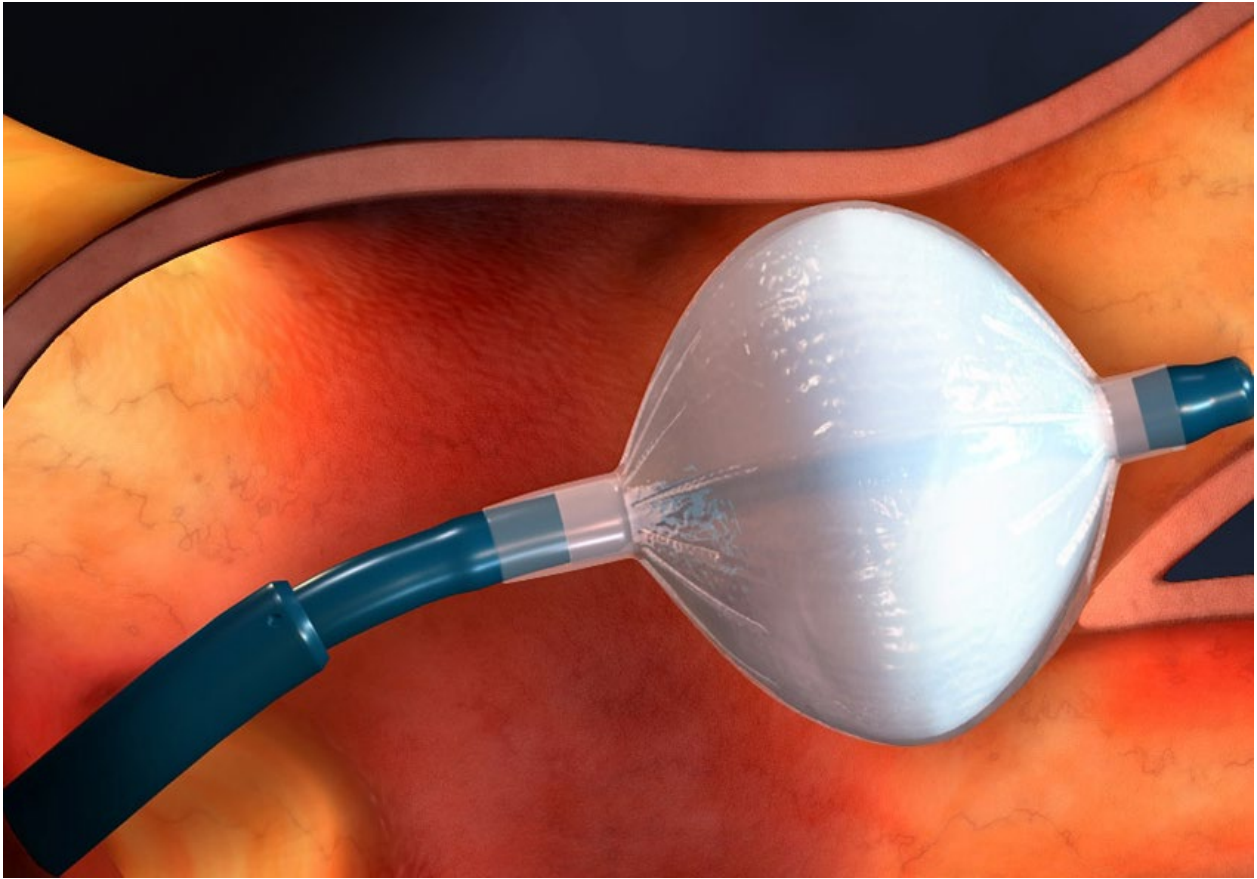
πνευμονικές φλέβες μετά από τη διασταύρωση τους με το δεξιό κόλπο. Τα πειράματα έδειξαν ότι οι ίνες αυτές μπορούν να καταστραφούν από την κατάψυξη, χρησιμοποιώντας ποικίλες συσκευές σε θερμοκρασίες -65°C έως -80°C για περίπου 4 λεπτά για να παράγουν κρυογονικές αλλοιώσεις που να περιβρογχίζουν τις πνευμονικές φλέβες. Το δεξιό φρενικό νεύρο ευρίσκεται σε πλάνο κινδύνου κατά τη διαδικασία ενώ δεν υφίσταται ο κίνδυνος στένωσης της. Ο Avitall, χρησιμοποιώντας την τεχνολογία cryoballoon (κρυοασκός που διατείνεται ελεγχόμενα και καταψύχει τους πέριξ ιστούς) που τοποθετείται στις πνευμονικές φλέβες σε σκύλους, επέτυχε την ηλεκτρική απομόνωση στη διασταύρωση με τον κόλπο αλλά τα περισσότερα από τα πειραματόζωα εμφάνισαν αιμόπτυση στις πρώτες 24-48 h που οφείλεται στην επέκταση της κατάψυξης μέσα στον πνευμονικό παρέγχυμα. Η κατάψυξη μπορεί να διαπεράσει τα εξωτερικά στρώματα του οισοφάγου, αλλά πρακτικά δεν παρήχθησαν διατοιχωματικού βαθμού οισοφαγικά τραύματα.

Η κατάψυξη του μυοκαρδίου της καρδιάς, προκάλεσε ανησυχία, ως συνέπεια της κατάψυξης των στεφανιαίων αρτηριών που παρατηρήθηκε σε πειράματα σχετικά με αυτό το θέμα. Ο Mīkat χρησιμοποίησε μια κρυοχειρουργική κεφαλή περίπου 5 mm σε διάμετρο για να καταψύξει το διχασμό της αριστερής πρόσθιας κατιούσας στεφανιαίας αρτηρίας, αναστέλλοντας τη ροή του αίματος. Χρησιμοποιήθηκαν δύο κύκλοι ψύξης - απόψυξης σε θερμοκρασία -40°C έως -50°C για 2 έως 3 λεπτά ο καθένας. Η απόψυξη ήταν αργή μεταξύ των κύκλων. Σε μια εβδομάδα μετά από τραυματισμό, οι αρτηρίες, επέδειξαν τοιχωματική κρυογονική βλάβη συμπεριλαμβανομένης της νέκρωσης και την παρουσίας φλεγμονωδών κυττάρων. Στην εσωτερική ελαστική ζώνη παρατηρήθηκαν διακοπές της συνέχειας με τοιχωματική πάχυνση και με την παρουσία λείων μυϊκών κυττάρων. Επιπλέον παρατηρήθηκε ενδοθηλιακή διάβρωση, η οποία οδήγησε σε θρόμβωση στις μεσαίες και μικρές αρτηρίες σε μία εβδομάδα. Ο Misaki με απευθείας κατάψυξη της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας σε πρόβατα, περιέγραψε μόνο ελάχιστες αλλαγές της αρτηριακής δομής και ότι το αγγείο παρέμεινε ξεκάθαρα βατό μετά την κρυογονική βλάβη. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και από άλλους ερευνητές. Τα πειράματα του Bakker έδειξαν ότι οι μικρές στεφανιαίες αρτηρίες υπέκυψαν σε θρόμβωση μετά την ολοκλήρωση της κατάψυξης.

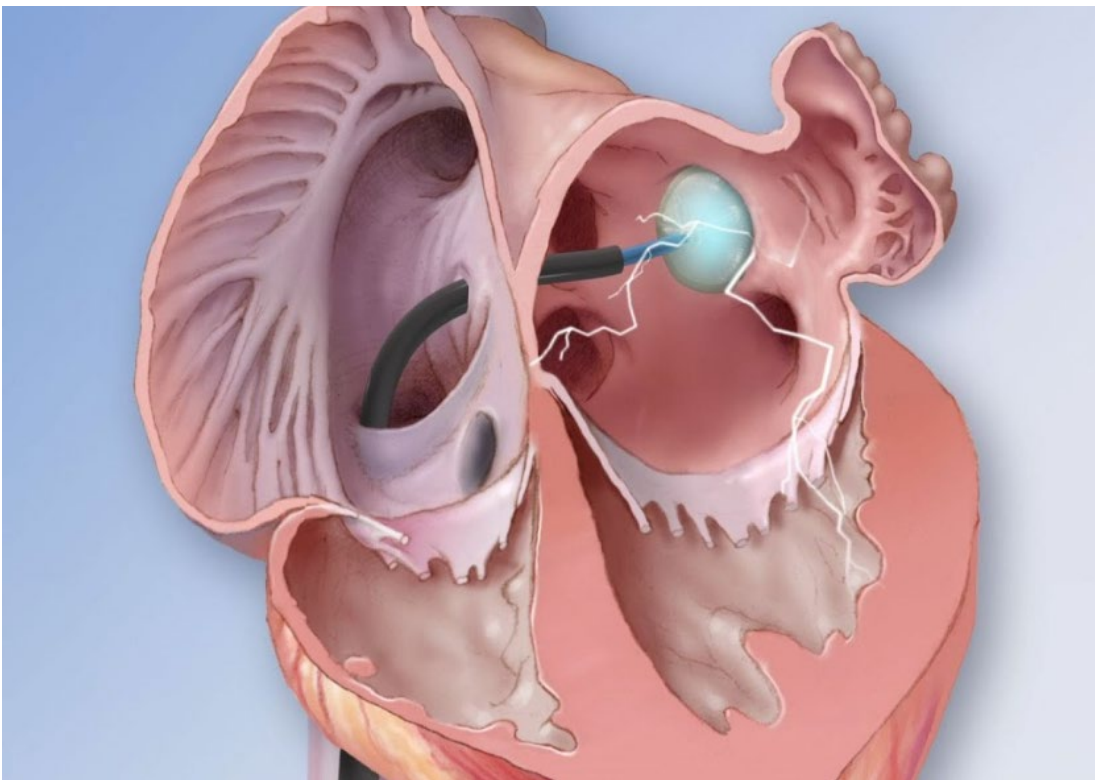
Συνοπτικά λοιπόν, οι καρδιακοί ιστοί είναι ευαίσθητοι στη κρυοκαταστροφή. Το πάγωμα του μυοκαρδίου παράγει την τυπική κεντρονεκρωτική βλάβη, με επούλωση που καταλήγει στο σχηματισμό ουλής από ινώδη ιστό. Οι στεφανιαίες αρτηρίες αντιδρούν στην κατάψυξη κατά τρόπο παρόμοιο με εκείνο των κύριων αρτηριών σε άλλες τοποθεσίες. Μετά τη κατάψυξη, η επούλωση συνεχίζεται με την ανάπτυξη των λείων μυϊκών ινών και τοιχωματική υπερπλασία, συρρικνώνοντας έτσι τον αυλό. Οι αλλαγές αυτές οργανώνονται και επουλώνονται αργά κατά τη διάρκεια αρκετών μηνών, όμως λειτουργούν φυσιολογικά, διατηρώντας την παροχή του αίματος, ενώ η επούλωση συνεχίζει να λαμβάνει χώρα. Εκτενής κλινική χρήση της Κρυοχειρουργικής στην αντιμετώπιση των ταχυαρρυθμιών είναι το κίνητρο για έναν ευρύ κύκλο πειραμάτων.

Στο Σχήμα 27 φαίνεται η χρήση cryoballoon για την αντιμετώπιση της αθηρωματικής νόσου των στεφανιαίων αγγείων.

Στο Σχήμα 28 παρουσιάζεται η χρήση cryoballoon για την κρυοθεραπεία ενδοκαρδιακής αλλοίωσης, όπως για παράδειγμα έκτοπου δεματίου που προκαλεί αρρυθμίες.



Σχήμα 27: Κρυοχειρουργική Μυοκαρδίου: Χρήση cryogrope αυτοδιατεινόμενου άκρου (cryoballoon) σε αγγειοπλαστική των στεφανιαίων αγγείων λόγω στεφανιαίας νόσου. [Πηγή: Διαδίκτυο].



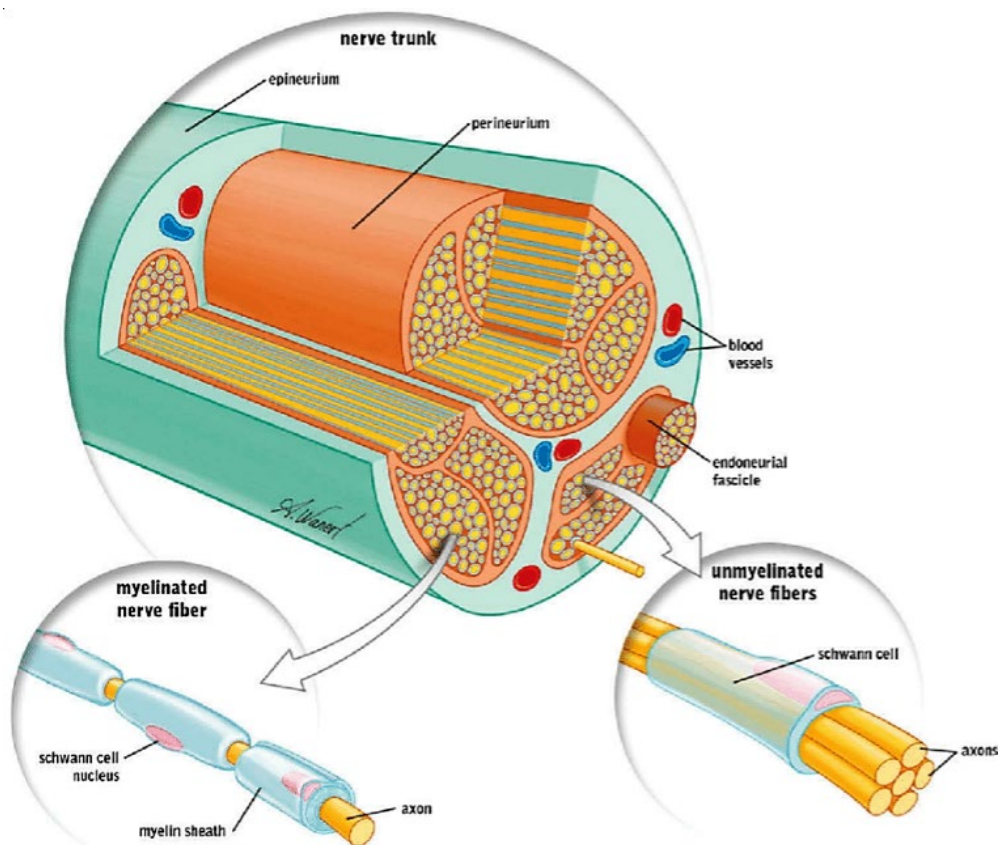
Σχήμα 28: Κρυοχειρουργική Μυοκαρδίου: Χρήση cryogrope αυτοδιατεινόμενου άκρου (cryoballoon) σε κρυοθεραπεία ενδοκαρδιακής βλάβης [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.10 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ [3,8]

Περιφερικά νεύρα

Η λεπτομερής και εξαιρετική έκθεση από τον Denny-Brown το 1945 γύρω από τις ιστολογικές αλλαγές στο νευρικό ιστό που προκαλούνται κατά την κατάψυξη, αφορούσε κυρίως τις πρώτες μελέτες που επικεντρώθηκαν στην επίδραση του ψύχους επι των ιστών και ειδικότερα στα κρυσπαγήματα. Ως κύριος παράγοντας βλάβης θεωρήθηκε η ισχαιμία σε όλες αυτές τις αρχικές μελέτες. Ωστόσο διαπιστώθηκε ότι οι δομές του περινευρίου και του επινευρίου των νευρικών ιστών (βλ. Σχήμα 29) διατηρούνται κατά την κατάψυξη, μολονότι αυτά παρουσιάζουν μια έντονη φλεγμονώδη αντίδραση. Ακριβώς αυτές οι δομές αποδείχθηκε ότι υπηρετούν ως μεσολαβητής, παρέχοντας μια σταθερή δομή για την αναγέννηση των νευραξόνων και την ικανότητα των νεύρων να αναγεννηθούν μετά την κατάψυξη.

Αργότερα, το ανανεωμένο ενδιαφέρον γύρω από τη Κρυοχειρουργική ώθησε αρκετούς ερευνητές σε πειραματισμό γύρω από την επίδραση της κρυοβλάβης επι του νευρικού ιστού που ουσιαστικά έδειξε παρόμοια αποτελέσματα, μολονότι χρησιμοποιήθηκαν πιο αυστηρές στρατηγικές κατάψυξης. Τα πειράματα απέδειξαν ότι τα νεύρα είναι ευαίσθητα στη κρυογονική βλάβη. Η αντίδραση του νευρικού ιστού εξαρτάται από τη θερμοκρασία. Η προσωρινή απευαισθητοποίηση των νεύρων παρουσιάζεται γύρω στο εύρος 0 έως -5 °C. Και αυτό το ήπιο κρυότραυμα είναι αναστρέψιμο όταν ακολουθεί επαναθέρμανση, με το νεύρο να λαμβάνει τελικά την αρχική του μορφή. Σε κάπως χαμηλότερη θερμοκρασία από τους -5 °C, η επιστροφή των νευρικών λειτουργιών μπορεί να καθυστερήσει για αρκετές ώρες ή ημέρες. Μόνιμη απευαισθητοποίηση παράγεται σε θερμοκρασιακό εύρος περίπου -15 °C έως -20 °C και χάνεται οριστικά. Εάν «θήκη» (το περίβλημα) του περιφερικού νεύρου δεν καταστραφεί, τότε η λειτουργία των αισθήσεων και η κινητική λειτουργία είναι πολύ πιθανό να επιστρέψουν μετά από ένα χρονικό διάστημα, ίσως και μήνες στην περίπτωση μεγάλων νεύρων όπως το προσωπικό και ιδίως το ισχιακό.



Σχήμα 29: Η ανατομία του νευρικού ιστού [Πηγή: Διαδίκτυο].

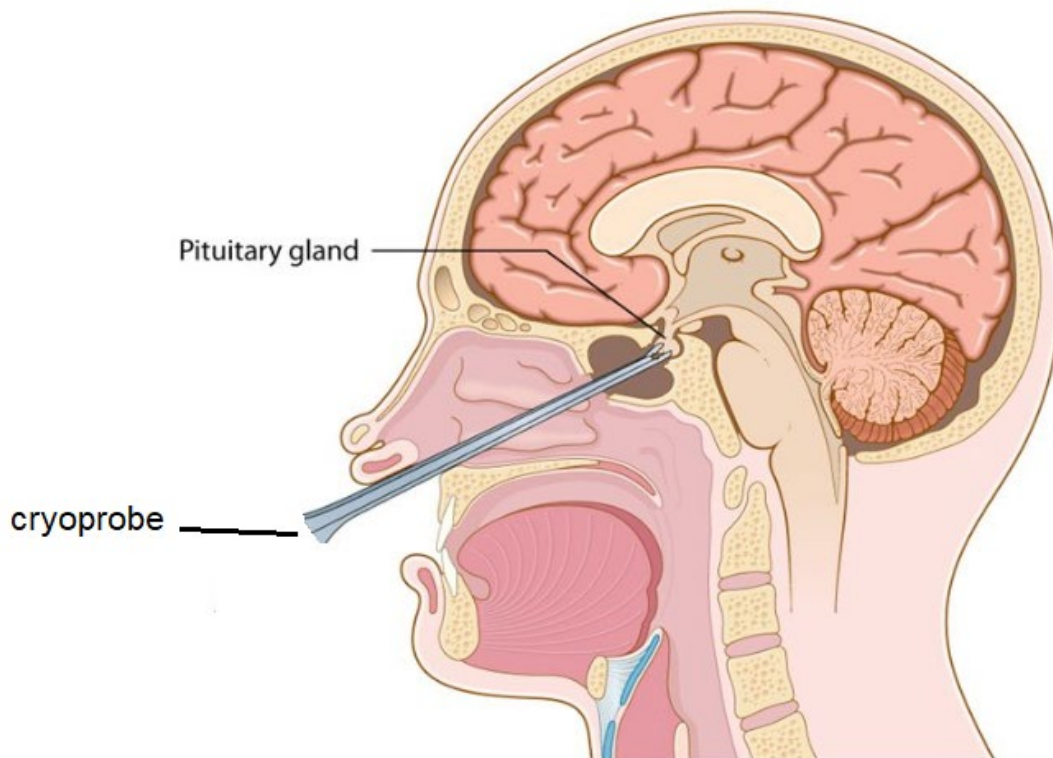
Εγκέφαλος

Η τοπική κατάψυξη του εγκεφάλου έχει μακρά ιστορία. Η αρχική εμπειρία, με την εργασία των Hass και Taylor, ήταν προσανατολισμένη στην παθοφυσιολογία της νόσου και εξετάστηκε λεπτομερώς σε αρκετές πρώιμες εκθέσεις. Τα αποτελέσματα της κατάψυξης του εγκεφάλου καταδείχθηκαν λεπτομερώς με τα πειράματα του Walder, ο οποίος χρησιμοποίησε διατάξεις υγρού αζώτου, με κεφαλές διαμέτρου 2.6mm, ψυχόμενες στους -180 °C, για να παράγουν κατάψυξη επι του εγκεφαλικού ιστού γάτας. Οι ιστικές θερμοκρασίες παρακολουθούνταν από θερμοζεύγη τύπου T τοποθετημένα σε απόσταση περίπου 1,5 mm το ένα από το άλλο.

Γενικά η θερμική ισορροπία στην αλλοίωση εγκαταστάθηκε σε 10 περίπου λεπτά κατάψυξης. Η απόψυξη ακολουθήθηκε από οίδημα του προηγούμενως κατεψυγμένου ιστού, και η αιμορραγία απο διάρρηξη (cracking) ήταν σπάνια. Επίσης παρατηρήθηκαν αγγειακή στάση και απόφραξη. Κατά τη διαδικασία της επούλωσης της κρουονεκρωτικής ζώνης, παρατηρήθηκε η κυτταρική διείδυση κυρίως λευκοκυττάρων και μεσοδερματικών κυττάρων. Κατά την 5η ημέρα μετά την κατάψυξη, παρατηρήθηκε η ανάπτυξη ενός πυκνού τριχοειδικού δικτύου και πολλαπλασιασμός των ινοβλαστών που είχαν εισχωρήσει στην αλλοίωση. Η τελική επούλωση απαιτήσε περισσότερο από 2 εβδομάδες και συχνά ακολουθήθηκε από σχηματισμό υγρικής κύστης. Επίσης περιεγράφηκε η αναστρεψιμότητα της ιστικής κρυσταλλοποίησης σε υψηλότερες θερμοκρασίες κατάψυξης για λιγότερο από 30 sec.

Πολλοί ερευνητές έχουν προκαλέσει τοπικές αλλοιώσεις του εγκεφάλου μετά από την κατάψυξη για ποικίλους σκοπούς. Μερικά πειράματα μελέτησαν την επούλωση των τραυμάτων, ενώ άλλα επικεντρώθηκαν στην θεραπεία του εγκεφαλικού τραύματος ή την αντιμετώπιση των όγκων του εγκεφάλου. Η πρόοδος στην κλινική εφαρμογή της Κρυσταλλοποίησης στη θεραπεία των παθήσεων του εγκεφάλου εξαρτάται κυρίως από τη βελτίωση του ελέγχου της απεικόνισης. Ο Quigley έδειξε ότι οι υπολογιστικές τομογραφικές - στερεοτακτικές τεχνικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρακολούθηση του κρυσταλλοποίησης του εγκεφάλου μετά από κατάψυξη σε σκύλους. Πρόσφατες μελέτες από τον Tacke έχουν δείξει ότι, μετά την κατάψυξη του μετωπιαίου λοβού σε χοίρους, με απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI) παρέχεται ακριβής παρακολούθηση της διαδικασίας εξέλιξης του κρυσταλλοποίησης και την παρακολούθηση της μετέπειτα ιστικής νέκρωσης. Στη μελέτη αυτή, η απεικόνιση με MRI θεωρήθηκε ανώτερη αυτής της υπολογιστικής τομογραφίας (CT) ως προς την απεικόνιση της κρυσταλλοποίησης στον εγκέφαλο. Η τομογραφία ηλεκτρικής αντίστασης μπορεί επίσης να αποδειχθεί χρήσιμη.

Συνοπτικά, η κατάψυξη μπορεί να παράγει την τυπική περιγεγραμμένη βλάβη στον εγκέφαλο. Αυτό παρέχει ένα καλό μοντέλο για παθοφυσιολογικές μελέτες της εγκεφαλικής βλάβης και παρέχει ορισμένες δυνατότητες για την εφαρμογή της κρυσταλλοποίησης στον εγκεφαλικό ιστό εφόσον μπορούν να επιτευχθούν περαιτέρω βελτιώσεις στις τεχνικές απεικόνισης. Στο Σχήμα 30 παρουσιάζεται η διαρρινική υπομετωπιαία προσπέλαση για την Κρυσταλλοποίηση του πρόσθιου κρανιακού βόθρου. Σε αυτό το είδος επέμβασης η Κρυσταλλοποίηση βρίσκει κυρίως εφαρμογή στην κρυσταλλοποίηση αδενωμάτων της υπόφυσης.



Σχήμα 30: Κρυοχειρουργική Εγκεφάλου: Διαρρινική υπομετωπιαία προσπέλαση για την Κρυοχειρουργική της υπόφυσης [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.11 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ [3,8]

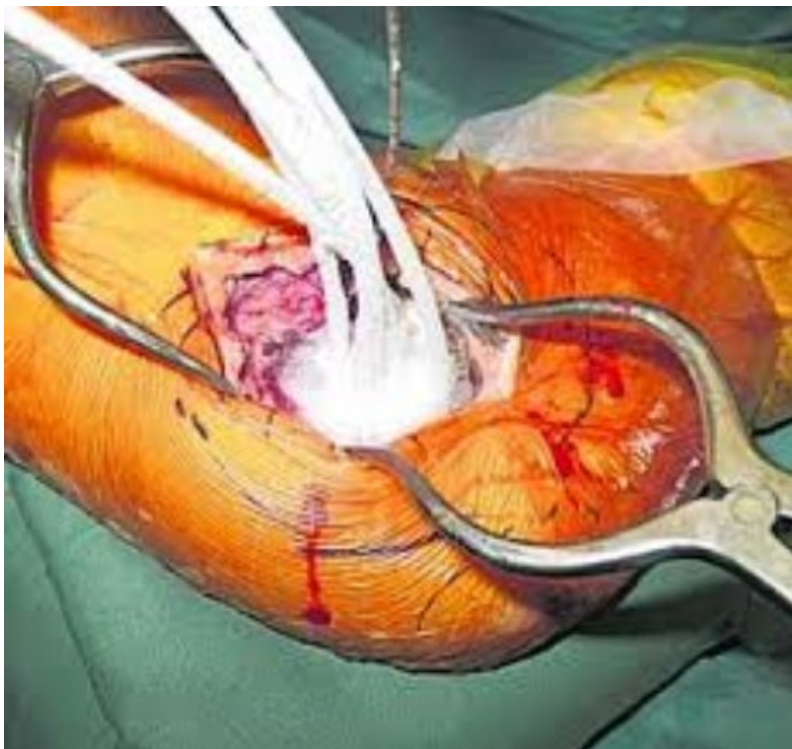
Τα οστεοκύτταρα είναι πολύ ευαίσθητα στην κατάψυξη. Πειράματα με κατάψυξη της διάφυσης του μηριαίου οστού σκύλων με απευθείας έγχυση υγρού αζώτου μέσω αγωγών από καουτσούκ, έδειξαν ότι τα οστεοκύτταρα πεθαίνουν σε θερμοκρασίες ψυχρότερες από $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ και ότι η νέκρωση του οστού ήταν προοδευτική και αργή, με αντικατάσταση από νέο οστό σε διάστημα περίπου ενός έτους. Η οστική επισκευή βρισκόταν σε άμεση εξάρτηση από την αποκατάσταση της παροχής αίματος. Καθώς τα νεόπλαστα αιμοφόρα αγγεία διεισδύουν στην αποψιλωμένη ζώνη του μηριαίου οστού, η αντικατάσταση του νεκρού οστού από νέο είναι αργή. Κατά τη διαδικασία αυτή η μορφή και η λειτουργία του μηριαίου οστού είχε διατηρηθεί κατά την κατάψυξη. Ωστόσο η δομή του οστού είχε αποδυναμωθεί με αποτέλεσμα τη μείωση της αντοχής του λόγω της διαδικασίας της αποδόμησης, έτσι τα κατάγματα ήταν πλέον μια κοινή επιπλοκή λόγω του βάρους που φέρουν τα οστά αυτά, περίπου 3 μήνες μετά την κατάψυξη. Ο Porkeu χρησιμοποίησε μικροσκοπικά cryoprobes που ψύχονταν με υγρό άζωτο για να επάγει την κατάψυξη του κνημιαίου και μηριαίου οστού σε πρόβατα. Το cryoprobe ήταν σε θερμοκρασία $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$. Σε απόσταση 1 cm η θερμοκρασία ήταν $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ και ελέγχθηκε νέκρωση σε θερμοκρασία έως και $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Σε πειράματα με αιγοειδή, ο Keijser δημιούργησε κενά στην μηριαία διάφυση, κατέψυξε τα όρια με cryoprobe υγρού αζώτου και γέμισε τα κενά με οστικά μοσχεύματα από το στέρνο. Τα μοσχεύματα απορροφήθηκαν σε 10 εβδομάδες και δεν επιτάχυναν την επούλωση των κρουσ τραυμάτων. Από την άλλη πλευρά, ο Rogrel δημιουργώντας κενό στην κάτω γνάθο χοίρων, κατέψυξε τα όρια με σπρέι υγρού αζώτου, παράγοντας νέκρωση περίπου 1 mm και εν συνεχεία γέμισε το ελάττωμα με αυτογενές οστικό μόσχευμα από την κάτω γνάθο. Στην περίπτωση αυτή τα οστικά μοσχεύματα οδήγησαν σε βελτιωμένα θεραπευτικά αποτελέσματα ως προς την επούλωση.

Και άλλα πειράματα έχουν δείξει ότι τα οστεοκύτταρα είναι ευαίσθητα στην κατάψυξη. Η διαδικασία της επισκευής του οστού εξαρτάται από την επαναγγείωση, η οποία διευκολύνει την ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων, την απορρόφηση του νεκρού οστού, και την αντικατάστασή του από νέο οστό σε μια μακρά διαδικασία επούλωσης. Η διάρκεια εξαρτάται από τον όγκο του οστού που καταψύχθηκε. Η αντοχή των οστών είναι μειωμένη κατά τη διάρκεια της επισκευής. Η χρήση οστικών μοσχευμάτων και συνεπικουρικών παραγόντων μπορεί να προσθέσει ισχύ και να διευκολύνει την επούλωση. Τα πειράματα αυτά υποστήριξαν στη σημερινή ημέρα τη μεταχείριση επιλεγμένων όγκων οστών με εκκυρήνιση και επικουρική κρυοθεραπεία.

Στο Σχήμα 31 παρουσιάζεται η κρυοθεραπεία όγκου του έσω κόνδυλου του μηριαίου οστού. Στα Σχήματα 32 και 33 παρουσιάζεται η κρυοχειρουργική για όγκο στην περιοχή του γόνατος, στην πρώτη περίπτωση με άμεση έγχυση υγρού αζώτου επι της αρθρώσεως και στη δεύτερη με χρήση δύο cryoprobes.



Σχήμα 31: Κρυοχειρουργική Οστών: Κρυοθεραπεία όγκου στον έσω κόνδυλο του μηριαίου οστού. Δεξιά φαίνεται το οστικό κενοτόπιο μετά τη θεραπεία. Για λόγους ενίσχυσης μετά την κρυοχειρουργική του σκελετού εγχέονται στην περιοχή ειδικά υλικά που στερεοποιούνται εξώθερμα και παρέχουν στήριξη στους γύρω ιστούς. [Πηγή: Διαδίκτυο].



Σχήμα 32: Κρυοχειρουργική Οστών: Κρυοθεραπεία όγκου στην περιοχή της άρθρωσης του γόνατος. Ο όγκος καταστρέφεται με άμεση έγχυση υγρού αζώτου και στη συνέχεια είτε αφήνεται in situ είτε αφαιρείται [Πηγή: Διαδίκτυο].



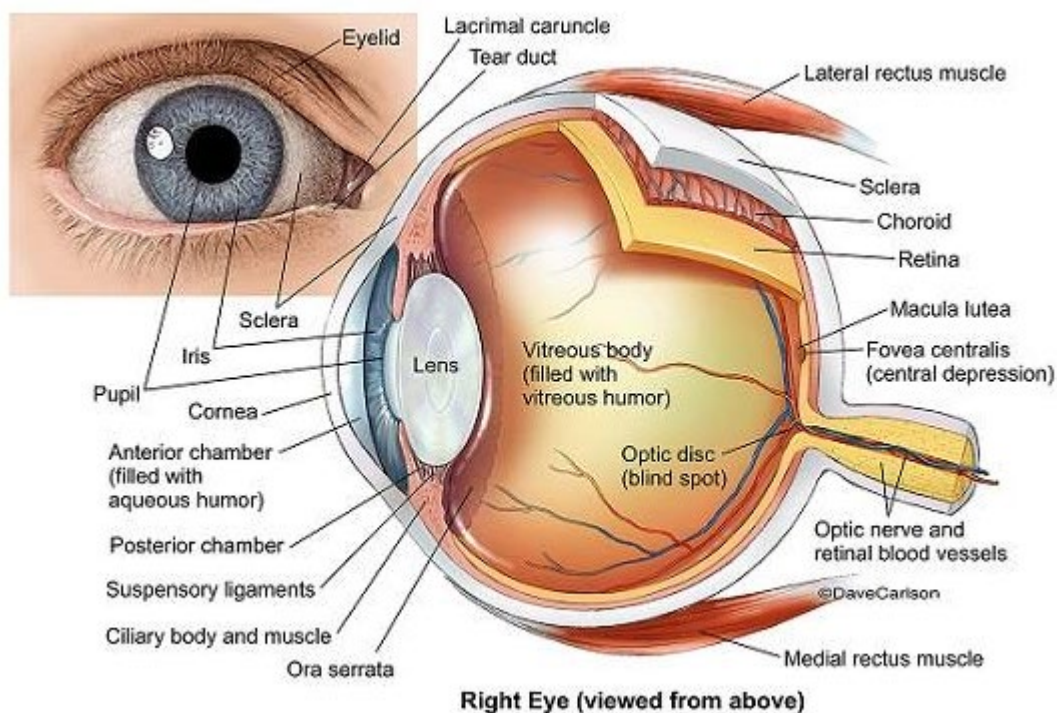
Σχήμα 33: Κρυοχειρουργική Οστών: Κρυοθεραπεία όγκου στην περιοχή της άρθρωσης του γόνατος. Ο όγκος καταστρέφεται με χρήση δύο cryoprobes [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.12 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΟΦΘΑΛΜΟΥ [3,8]

Η Κρυοχειρουργική του οφθαλμού έλαβε ιδιαίτερη προσοχή σε πειράματα το 1960. Η χρήση της κατάψυξης μέσα από το φακό (Σχήμα 34) σε γάτες και κουνέλια προετοίμασε το δρόμο για τη χρήση των κρυογονικών τεχνικών για την αντιμετώπιση του καταρράκτη, η οποία στη συνέχεια αποτέλεσε το έναυσμα και για άλλα πειράματα. Ο Lincoff χρησιμοποίησε θερμοκρασίες σε εύρος από -10°C έως -20°C για λίγα δευτερόλεπτα επι του αμφιβληστροειδούς σε κουνέλια, γάτες και σκύλους. Αυτή η κρυοβλάβη προκάλεσε οίδημα και συμφόρηση του αμφιβληστροειδούς. Τα ραβδία και τα κωνία καθώς και τα γαγγλιακά κύτταρα καταστράφηκαν, αλλά τα μεγαλύτερα αιμοφόρα αγγεία και οι ίνες του σκληρού χιτώνα ήταν ιδιαίτερα ανθεκτικά στη κρυογονική βλάβη. Μερικά κύτταρα του μελάγχρου επιθηλίου καταστράφηκαν. Η επούλωση ήταν επίσης ευνοϊκή. Κατά τη χρήση της Κρυοχειρουργικής για το σκοπό αυτό, οι δοκιμές έδειξαν ότι η κατάλληλη θερμοκρασία του cryoglobe ήταν οι -20°C για 2-5 sec. Ο Geyer ανέφερε ότι η ενδοφθάλμια πίεση θα αυξηθεί κατά τη διάρκεια της οφθαλμικής κρυοθεραπείας σε ζωικά μοντέλα. Ο Whitmore ανέφερε ότι η κρυοθεραπεία του πρόσθιου τμήματος του αμφιβληστροειδούς δια του σκληρού χιτώνα σε νεαρά κουνέλια, επιβραδύνει την ανάπτυξη και ωρίμανση των προσθίων και οπισθίων τμημάτων των οφθαλμών τους. Αργότερα οι Axel και Siegel ανέφεραν ότι η κρυοθεραπεία των περιφερικών τμημάτων του αμφιβληστροειδούς σε κουνέλια οδήγησε στην επιμήκυνση του οφθαλμού.

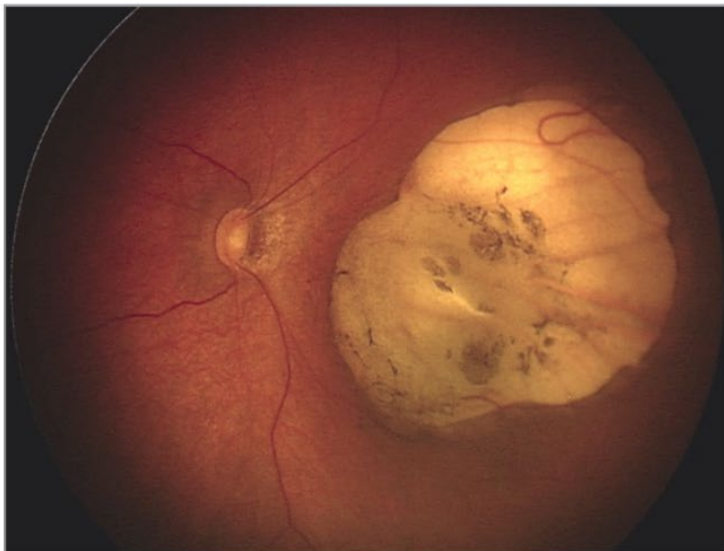
Τα πρώτα πειράματα καθόρισαν τη σημερινή χρήση της Κρυοχειρουργικής σε οφθαλμικές νόσους, συμπεριλαμβανομένου του καταρράκτη, της αποκόλλησης του αμφιβληστροειδούς και του γλαυκώματος, αλλά η εφαρμογή της για την αντιμετώπιση των όγκων παραμένει ακόμα περιορισμένη.

Στο Σχήμα 35 φαίνεται η εφαρμογή κρυοθεραπείας στη καθήλωση του αμφιβληστροειδούς χιτώνα σε ασθενή με αποκόλληση και στο Σχήμα 36 παρουσιάζεται η κρυοκαταστροφή του φακού σε επέμβαση για καταρράκτη.

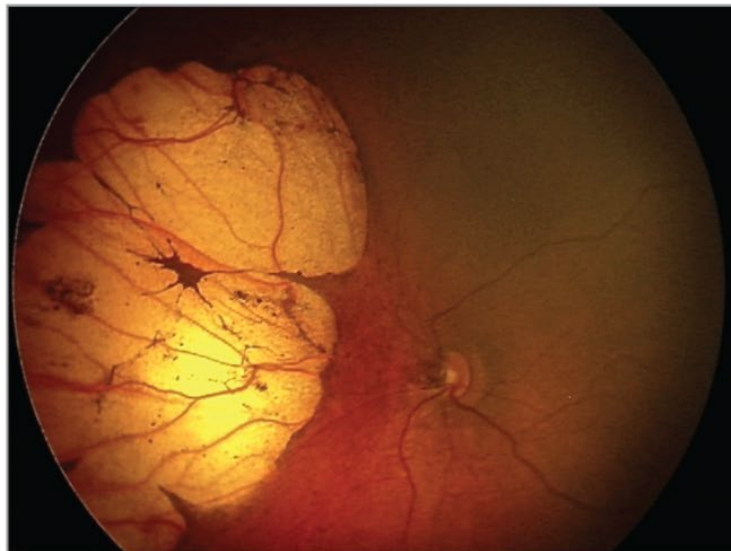


Σχήμα 34: Η ανατομία του οφθαλμού [Πηγή: Διαδίκτυο].

A Right eye



B Left eye



Σχήμα 35: Κρυοχειρουργική Οφθαλμού: Καθήλωση αμφιβληστροειδούς χιτώνα επι του σκληρού με τη βοήθεια cryogrober (κρυοπηξία αμφιβληστροειδούς) σε ασθενή με αποκόλληση του αμφιβληστροειδούς [Πηγή: Διαδίκτυο].



Σχήμα 36: Κρυοχειρουργική Οφθαλμού: Κρυοκαταστροφή οφθαλμικού φακού σε ασθενή με καταρράκτη πριν την αφαίρεση και την αντικατάστασή του [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.13 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΟΥΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ [3,8]

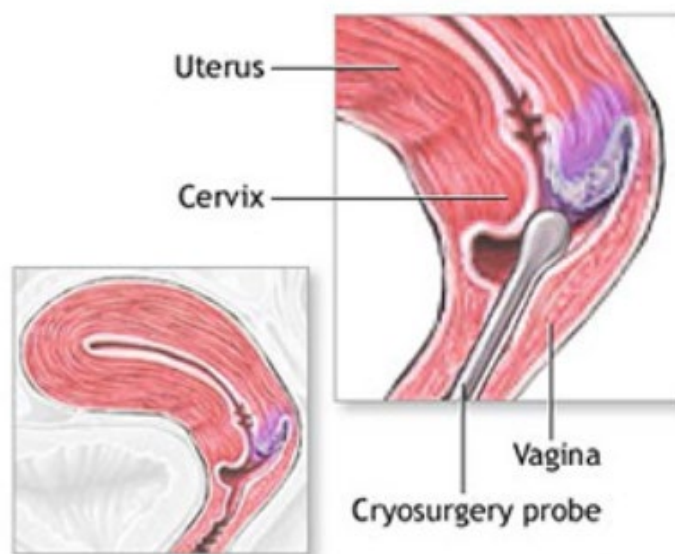
Μήτρα

Η Κρυοχειρουργική έχει χρησιμοποιηθεί εδώ και πολλά χρόνια στη θεραπευτική των τόσο των φλεγμονωδών παθήσεων του τραχήλου της μήτρας όσο και της επιθηλιακής δυσπλασίας του οργάνου και σαν αποτέλεσμα αυτού, πλέον δεν είναι ιδιαίτερα δημοφιλής ο πειραματισμός σε ζωικά μοντέλα. Ωστόσο, η κατάψυξη της μήτρας ιστών προκαλεί την τυπική κρυογονική αλλοίωση, συμπεριλαμβανομένου και του ενδομητρίου απο κουνέλι, όπως φαίνεται από τις εργασίες του Cahan. Ο Droegemueller διερεύνησε την κρυοκαταστροφή των σαλπίνγων ως μια πιθανή μέθοδο στείρωσης. Στην παρούσα κλινική πράξη, σε ανταγωνισμό με άλλες κατεστρεπτικές τεχνικές, η Κρυοχειρουργική χρησιμοποιείται για τη θεραπεία ινομυμάτων της μήτρας και άλλων εντοπισμένων παθήσεων του ενδομητρίου.

Ουροδόχος κύστη

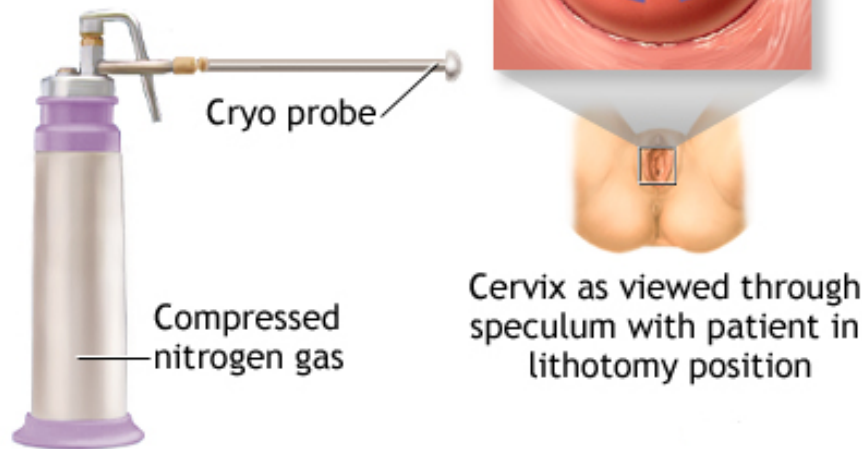
Τα αποτελέσματα της κατάψυξης της ουροδόχου κύστης ερευνήθηκαν σε κύνες από τον McDonald το 1950, ο οποίος χρησιμοποίησε συμπιεσμένο αέριο διοξείδιο του άνθρακα προκειμένου να παγώσει μια μεταλλική πλάκα σε επαφή με τον ιστό, καταλήγοντας σε τυπικές νεκρωτικές βλάβες. Στην έκθεση του αυτή περιλαμβάνονταν κλινικές οδηγίες για τη χρήση της μεθόδου σε νεοπλάσματα της ουροδόχου κύστης. Πρόσφατα, χρησιμοποιώντας τη σύγχρονη τεχνολογία, ο Permpromkosol εξέτασε τις μορφολογικές αλλοιώσεις της ουροδόχου κύστης χοίρων μετά από κατάψυξη και παρήγαγε μια ελέγξιμη κρυογονική βλάβη με διατοιχωματικού βαθμού νέκρωση χρησιμοποιώντας έναν ενιαίο αλλά και επαναλαμβανόμενους κύκλους ψύξης - απόψυξης. Δεν προέκυψε διάτρηση του οργάνου. Μολονότι η κρυοκαταστροφή όγκων της ουροδόχου κύστης έχει δοκιμασθεί σε λίγους ασθενείς πριν από χρόνια, η πρόσφατη κλινική χρήση είναι εν γένει σπάνια.

Στο Σχήμα 37 φαίνεται η διακολπική προσέγγιση για κρυοθεραπεία αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας, ενώ στο Σχήμα 38 η χρήση φορητής κρυοχειρουργικής συσκευής για το σκοπό αυτό.



Σχήμα 37: Κρυοχειρουργική Μήτρας: Κρυοκαταστροφή αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας με διακολπική προσέγγιση [Πηγή: Διαδίκτυο].

Compressed nitrogen gas flows through a cryo probe making the metal cold enough to freeze and destroy the abnormal cervical tissue



Σχήμα 38: Κρυοχειρουργική Μήτρας: Χρήση φορητής συσκευής Κρυοχειρουργικής για την αντιμετώπιση αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας με διακολπική προσέγγιση [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.14 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ [3,8,51]

Τα τελευταία χρόνια, οι κρυοχειρουργικές τεχνικές είχαν περιορισμένες κλινικές δοκιμές για τη διαχείριση των καρκίνων του μαστού. Ο Staren έδειξε ότι με τη κατάψυξη καταστρέφονται μικρά επαγόμενα αδενοκαρκινώματα σε αρουραίους, και επεσήμανε τη σημασία της επίτευξης της θερμοκρασίας των -40°C ή χαμηλότερης καθώς και το βελτιωμένο κρυοκαταστρεπτικό προφίλ που συνεπάγεται η παράταση της κατάψυξης και οι επαναλαμβανόμενοι κύκλοι ψύξης - απόψυξης. Σε πειράματα σε όγκους μαστού προβάτων, ο Rabin απέδειξε τη μακρά διαδικασία επούλωσης. Πειράματα σε αιγοειδή από τον Otterson κατέληξαν σε παρόμοια αποτελέσματα και ενθάρρυναν νέες μελέτες σε ανθρώπινα μοντέλα.

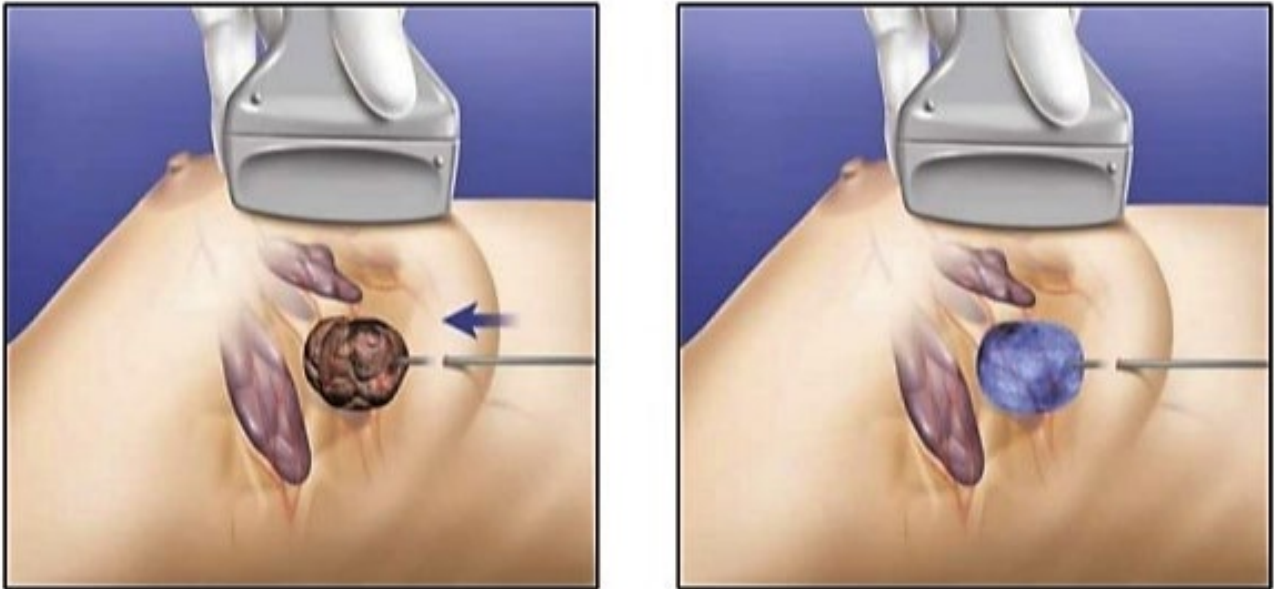
Οι κλινικές δοκιμές που έχουν πραγματοποιηθεί είναι λίγες. Ο Sabel σε πολυκλινικές μελέτες, χρησιμοποίησε την υπερηχογραφικώς κατευθυνόμενη Κρυοχειρουργική σε 29 ασθενείς με καρκίνους του μαστού $< 2\text{ cm}$ σε διάμετρο. Οι προηγουμένως κατεψυγμένοι ιστοί εξαιρέθηκαν από 1 έως 4 εβδομάδες αργότερα. Οι μικροί καρκίνοι, δηλαδή, όσοι ήταν μικρότεροι από 1 cm σε διάμετρο, είχαν καταστραφεί με επιτυχία. Ο Tafra πραγματοποίησε εκτομή του καρκίνου, ενώ ήταν ήδη σε κατεψυγμένη μορφή και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η τεχνική αυτή ήταν ανώτερη από τις συνήθεις ευρείες τοπικές εκτομές. Τρεις εκθέσεις του περιέγραψαν τη κρυοχειρουργική θεραπεία ινοαδενωμάτων, μια κοινή μορφή καλοήθων όγκων του μαστού. Η θεραπεία εμφάνισε άκρως ικανοποιητικά αποτελέσματα, και έτσι πλέον η τεχνική θεωρείται ασφαλής και αποτελεσματική.

Στη διαχείριση των τοπικά προχωρημένων ή ανεγχείρητων κακοηθειών του μαστού, οι κρυοχειρουργικές τεχνικές έχουν μακρά ιστορία, που χρονολογείται από το 1850. Πρόσφατα, οι Tanaka και Suzuki ανέφεραν αξιοσημείωτα οφέλη, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης του μεγέθους του όγκου, ανακούφιση από τον πόνο, και παρατεταμένη επιβίωση. Ο Sugiyama συνδύασε την Κρυοχειρουργική με την ταυτόχρονη χρήση του ανοσοενισχυτή OK-432 και χημειοθεραπείας, και πέτυχε ουσιαστικά οφέλη από την άποψη του ελέγχου της ανάπτυξης των όγκων. Κατέληξε δε στο συμπέρασμα ότι τα αποτελέσματα

αυτά ευνοούν τη συνδυαστική Κρυσχειρουργική με την τοπική έγχυση OK-432 και την ενδοαγγειακή ταυτόχρονη χορήγηση χημειοθεραπευτικών παραγόντων.

Κρίνοντας από τα αποτελέσματα αυτά, χρήση της Κρυσχειρουργικής για καλοήθεις όγκους όπως ινοαδενώματα, φαίνεται να είναι ασφαλής και αποτελεσματική. Επιπλέον η χρήση της μεθόδου ως πρώτης γραμμής θεραπεία για μικρούς καρκίνους, αφήνοντας τον κρυσνεκρωμένο καρκίνο in situ, δεν είναι δυνατόν να γίνει αποδεκτή, κυρίως διότι δεν υπάρχει παρασκεύασμα για ιστολογική εξέταση. Αλλά η κρυσεπικουρούμενη συμβατική εκτομή μπορεί να αποδειχθεί ως μια ιδιαίτερα πολύτιμη τεχνική. Όταν η κρυσθεραπεία χρησιμοποιείται ως παρηγορητική θεραπεία στα πλαίσια ανεγχείρητων τοπικά προχωρημένων καρκίνων, μπορεί να συμβάλλει αποφασιστικά στη μείωση του μεγέθους του όγκου και στη βελτίωση πολλών από τα συνοδά συμπτώματα.

Στο Σχήμα 39 παρουσιάζεται η κρυσχειρουργική αντιμετώπιση όγκου μαστού υπο υπερηχογραφική καθοδήγηση.



Σχήμα 39: Κρυσχειρουργική Μαστού: Χρήση υπερήχων για την καθοδήγηση σε κρυσχειρουργική αντιμετώπιση όγκου μαστού [Πηγή: Διαδίκτυο].

3.15 ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΩΣ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΠΑΓΩΓΕΑΣ [3,26,38,39]

Η ανοσολογική απόκριση σε κατάψυξη ήταν το αντικείμενο μιας περιεκτικής ανασκόπησης από τον Sabel. Οι Shulman και Ablin έδειξαν ότι εμφανίστηκαν ειδικά για συγκεκριμένους τύπους ιστών αντισώματα στον ορό των κουνελιών μετά τη κατάψυξη του προστάτη. Ως εκ τούτου θεωρήθηκε ότι η ρήξη της κυτταρικής μεμβράνης από την κατάψυξη απελευθερώνει επαρκές αντιγονικό φορτίο που με τη σειρά του επάγει τη δημιουργία αντισωμάτων.

Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί ότι η ενεργοποίηση του ανοσολογικού μηχανισμού έναντι ενός «ξένου» στοιχείου ως προς τον οργανισμό, είναι μια πολύπλοκη διαδικασία η οποία αναφέρεται ως ανοσολογική αντίδραση και περιλαμβάνει δύο βασικά σκέλη. Το πρώτο καλείται κυτταρικού τύπου ανοσολογική απόκριση και μεσολαβείται από κυτταρικές σειρές εξειδικευμένων τύπων Τ λεμφοκυττάρων και το δεύτερο καλείται χυμική ανοσία και εξυπηρετείται από εξαιρετικά εξειδικευμένες κυτταρικές σειρές Β λεμφοκυττάρων που λέγονται πλασματοκύτταρα και ο βασικός τους φυσιολογικός ρόλος είναι η παραγωγή αντισωμάτων. Τα αντισώματα είναι πρωτεϊνικές δομές που αποτελούνται από δύο βασικές περιοχές: μια σταθερή περιοχή που αφορά στη σύνδεση του πρωτεϊνικού μορίου με κυτταρικές δομές του οργανισμού και μια μεταβλητή περιοχή που προκύπτει με ανασυνδυασμό των υπερμεταβλητών περιοχών γονιδίων που εμπλέκονται με την παραγωγή αντισωμάτων (αναδιάταξη τμημάτων γενετικού κώδικα στα κύτταρα αυτά). Οι τελευταίες «προσαρμόζονται» κατά κάποιον τρόπο σε «ξένες» δομές με μεγάλη ακρίβεια προσδίδοντας στα αντισώματα τη μοναδική ιδιότητα να προσδένονται κατά το μοντέλο «κλειδί – κλειδαριά» σε συγκεκριμένες περιοχές «ξένων» στοιχείων και να τα απενεργοποιούν στο σύνολό τους ή να οδηγούν στη φαγοκυττάρωση τους από τα μακροφάγα λευκά αιμοσφαίρια. Τα δύο παραπάνω σκέλη του ανοσιακού συστήματος μετά την ενεργοποίησή τους ενισχύονται, συντηρούνται και τερματίζονται με τη μεσολάβηση κυτταροδραστικών ουσιών που καλούνται κυτταροκίνες. Έτσι η κυτταρική και η χυμική (από την Ελληνική λέξη χυμός) ανοσία αν και συχνά περιγράφονται διακριτά, ωστόσο δεν δρουν ξεχωριστά λόγω της διασταυρούμενης δράσης των κυτταροκινών και στα δύο αυτά σκέλη. Ίσως το σημαντικότερο βήμα στην ανοσολογική απόκριση είναι η αρχική ενεργοποίηση του αμυντικού μηχανισμού του οργανισμού. Αρχικά πρέπει να τονιστεί ότι για η αρχική ενεργοποίηση του μηχανισμού περιλαμβάνει την ευαισθητοποίηση συγκεκριμένων τύπων κυττάρων που ανήκουν στα Τ λεμφοκύτταρα και φέρουν τη χαρακτηριστική πρωτεΐνη CD4 στην επιφάνειά τους και λέγονται βοηθητικά Τ λεμφοκύτταρα. Η ευαισθητοποίηση γίνεται έναντι συγκεκριμένων τμημάτων του «ξένου» στοιχείου που λέγεται αντιγόνο, μετά τον κατακερματισμό του από μακροφάγα και την επίσης εξειδικευμένη διαδικασία της αντιγονοπαρουσίασης που λαμβάνει χώρα στους επιχώριους (πλησιέστερους συνήθως) λεμφαδένες. Τη διαδικασία αυτή μπορούν να αναλάβουν πολλά από τα κύτταρα της μη ειδικής ανοσίας (μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα κλπ.) που αρχικά επεξεργάζονται το ξένο και στη συνέχεια επάγουν την ενεργοποίηση πιο ειδικών κυττάρων και μηχανισμών.

Μετά την αρχική ενεργοποίηση μέσω της αντιγονοπαρουσίασης, το ποιο σκέλος θα υπερισχύσει καθορίζεται από το πρωτεϊνικό μόριο στο οποίο είναι συνδεδεμένο το αντιγόνο κατά την «παρουσίαση» του. Τα εν λόγω πρωτεϊνικά μόρια ανήκουν στην οικογένεια του μείζονος συμπλέγματος ανοσοσυμβατότητας (MHC). Η σημασία του MHC έγινε γνωστή κυρίως μέσα από τον επιστημονικό κλάδο των μεταμοσχεύσεων και της ανοσολογικής απόρριψης των μοσχευμάτων. Η σημασία των πρωτεϊνικών μορίων του MHC είναι τόσο μεγάλη ώστε να καθορίζει το φάσμα εμπλοκής στην ανοσολογική απόκριση τόσο της κυτταρικού όσο και της χυμικού σκέλους. Έτσι μόρια που ανήκουν στο MHC τύπου Ι αναλαμβάνουν κυρίως την αντιγονοπαρουσίαση «ξένων» στοιχείων που βρίσκονται στο εσωτερικό των κυττάρων (ιοί, μυκοβακτηρίδια, τροποποιημένες κυτταρικές πρωτεΐνες που δυνητικά μπορούν να αναγνωριστούν ως «ξένες» κλπ.), ενώ μόρια που ανήκουν στο MHC

τύπου II αναλαμβάνουν κυρίως την αντιγονοπαρουσίαση «ξένων» εξωκυττάρων στοιχείων (βακτηρίδια, μύκητες, πρωτόζωα κλπ.). Τα μόρια τύπου MHC I επάγουν μια κυρίως κυτταρικού τύπου ανοσία που καταλήγει συνήθως σε λύση του κυττάρου που φέρει τον «ξένο» παράγοντα που είναι κυτταρικά μεσολαβούμενη από τα T κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα με τη χαρακτηριστική πρωτεΐνη CD8 στην επιφάνειά τους. Από την άλλη τα μόρια τύπου MHC II επάγουν μια κυρίως χυμικού τύπου ανοσιακή απόκριση με τη διαφοροποίηση B λεμφοκυττάρων σε πλασματοκύτταρα και την επαγόμενη παραγωγή αντισωμάτων που δρουν καταστρεπτικά για τον «ξένο» παράγοντα προσδεδεμένα επι αυτού. Η κρυοχειρουργική έχει βρεθεί σε αρκετές μελέτες ότι επάγει λόγω της κυτταρικής λύσης την αύξηση των πρωτεϊνικών μορίων που ανήκουν στο MHC τύπου I, στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων, με αποτέλεσμα τελικά να επάγει μια κυτταρικά μεσολαβούμενη ανοσιακή απόρριψη του αναγνωρισθέντος ως ξένου στοιχείου, που μπορεί να είναι συνεπώς τα κύτταρα ενός όγκου που λόγω μεταλλάξεων εκφράζουν στην επιφάνειά αλλά και το εσωτερικό τους «ξένες» πρωτεΐνες.

Το ενδιαφέρον για την ανοσολογική απάντηση αυξήθηκε αισθητά το 1970 όταν ο Soanes περιέγραψε την εξάλειψη μεταστατικών αλλοιώσεων μετά την επαναλαμβανόμενη κατάψυξη του καρκίνου του προστάτη σε ασθενείς. Στα επόμενα χρόνια, πολλά πειράματα στράφηκαν προς τη μελέτη της φύσης και του αποτελέσματος της ανοσολογικής αντίδρασης. Ορισμένοι ερευνητές περιέγραψαν ουσιαστικό όφελος, αλλά άλλοι όχι, με αποτέλεσμα η αξία της κρυοθεραπείας στην ανοσολογική ενεργοποίηση να μην έχει αποδειχθεί μέχρι σήμερα οριστικά και συνεπώς να είναι δύσκολο να κρίνουμε. Πολλοί ερευνητές έχουν βρει ότι υφίσταται όφελος κατά την κρυοθεραπεία από ειδικές δράσεις στο ανοσολογικό σύστημα από την επαγωγή της παραγωγής αντικαρκινικών αντισωμάτων, τα οποία είναι κυτταροτοξικά, ή μέσω της ενεργοποίησης των κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων με τη μεσολάβηση κυτταροκινών. Μερικοί ερευνητές έχουν επίσης προτείνει ότι η ανοσολογική απόκριση θα μπορούσε να ενισχυθεί με επικουρικούς παράγοντες.

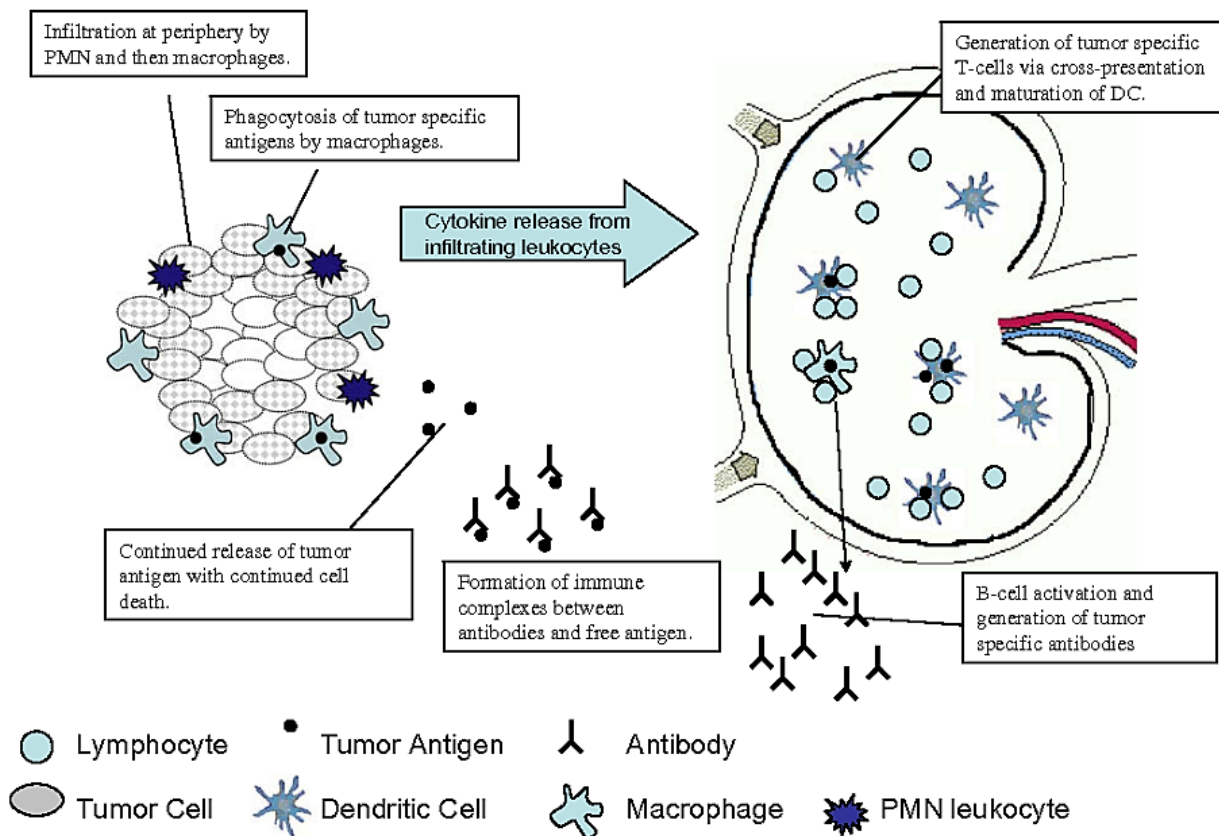
Όφελος επίσης εντοπίστηκε πειραματικά μετά την κατάψυξη επαγόμενων νεοπλασμάτων και στη συνέχεια επανενοφθαλμισμό του νεοπλάσματος στο ανοσοποιημένο πειραματόζωο. Ο Neel υποστήριξε την ενίσχυση της αντικαρκινικής ειδικής ανοσίας μετά από κρυοχειρουργική σε πειραματικά επαγόμενους όγκους. Σε πειράματα με ποντίκια, στα οποία ο ίδιος νεοπλασματικός όγκος (έτσι παραμένει σταθερό το μεμβρανικό πρωτεϊνικό προφίλ του) επανενοφθαλμίστηκε 5 εβδομάδες μετά την αρχική αντιμετώπιση της πρωτοπαθούς εστίας με κρυοχειρουργική, αποδείχθηκαν στοιχεία ανοσολογικής αντίδρασης έναντι του όγκου. Οι Neel και Ritts ανέφεραν ότι η αύξηση της κρυοεπαγόμενης ανοσολογικής ενεργοποίησης, ως ειδική απόρριψη του όγκου, ήταν μεγαλύτερη μετά από εκτομή του όγκου 24h μετά την κατάψυξη του *in situ*. Υποστήριξαν επίσης ότι το μεγαλύτερο μέρος της ανοσολογικής ευαισθητοποίησης που ακολουθεί μετά την κρυονέκρωση του όγκου επισυμβαίνει στις πρώτες 24h. Ο Lubaroff χρησιμοποιώντας ένα μεταμοσχεύσιμο αδενοκαρκίνωμα του προστάτη σε αρουραίους, συμπέρανε ότι η κατάψυξη κατέστρεφε το νεόπλασμα και προκαλούσε χυμική (με παραγωγή αντισωμάτων) καθώς και κυτταρική ανοσολογική ανταπόκριση εναντίων αντιγόνων των καρκινικών κυττάρων.

Ποντίκια με όγκους που αντιμετωπίζονται με κατάψυξη και επικουρική χορήγηση εμβολίου κατά της φυματίωσης (BCG), που είναι γνωστό ότι λειτουργεί ως ανοσοενισχυτικός παράγοντας, είχαν επαρκή ανοσία που τα προστάτεψε από τον επανενοφθαλμισμό με το νεόπλασμα. Ο Miya πραγματοποίησε μελέτες ενοφθαλμίζοντας μεταστατικό όγκο μαστού ποντικίου στο μηρό θηλυκών ποντικών. Μετά από 7 ημέρες, ο καρκινικός όγκος υποβλήθηκε σε κατάψυξη σε δύο κύκλους, με τη μέθοδο της επαφής σε cryoglobe στους $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$. Κατόπιν παρατηρήθηκε ανοσολογική αντίσταση στον επανενοφθαλμισμό του νεοπλάσματος που αποδόθηκε στη κρυοχειρουργική και αυξήθηκε βαθμιαία μετά από 6 εβδομάδες, και χαρακτηρίστηκε ως αντικαρκινική κρυοεπαγόμενη ανοσία.

Από την άλλη πλευρά, πολλά πειράματα δεν έδειξαν κανένα όφελος που θα μπορούσε να αποδοθεί σε ανοσολογική απάντηση. Ο Hoffmann εργαζόμενος σε ποντίκια με Dunning AT-1 καρκίνο του προστάτη, εξετάζοντας για ανοσολογικό όφελος, βρήκε μια μετρήσιμη ανοσολογική απόκριση σε επίπεδο τίτλου αντισωμάτων στον ορό, αλλά καθόλου περιορισμό στην ανάπτυξη του νεοπλασματος. Η άποψη του ήταν ότι η επίδραση της Κρυσχειρουργικής σε αυτό το σύστημα του καρκινικού όγκου περιορίστηκε στις συνήθεις κυτταρικές και αγγειακές μεταβολές, δηλαδή σε σχηματισμό ενδοκυττάρων και εξωκυττάρων κρυστάλλων πάγου και αποκλεισμό της μικροκυκλοφορίας αντίστοιχα. Ορισμένες έρευνες έδειξαν αυξημένη ανάπτυξη του νεοπλασματος μετά από Κρυσχειρουργική και επίσης άλλες κατέδειξαν αρνητικές επιπτώσεις της μεθόδου επί του ανοσιακού συστήματος ουσιαστικά αναστέλλοντας ή καθυστερώντας την ανάπτυξη ανοσολογικής απάντησης. Οι Blackwell, Charman, και Washington, σε μια σειρά τριών εκθέσεων σχετικά με τις επιπτώσεις από την κατάψυξη περίπου του 35% του ήπατος σε αρουραίους και πρόβατα, περιέγραψαν επαγόμενη οξεία πνευμονική βλάβη, την οποία και απέδωσαν σε απελευθέρωση κυτταροκινών. Ο Seifert καταψύχοντας το 50% του ήπατος σε αρουραίους, σημείωσε σημαντική αύξηση των επιπέδων κυτταροκινών στον ορό, και πρόκληση οξείας ηπατικής και νεφρικής βλάβης, πιθανόν από μεσολάβηση των κυτταροκινών που απελευθερώνονται από το ήπαρ. Ο Joosten περιέγραψε επίσης αυξημένα επίπεδα κυτταροκινών στον ορό μετά τη κατάψυξη όγκων που εμφυτεύονται σε ποντίκια .

Συνοπτικά, οι εργασίες αυτές αντικατοπτρίζουν μια ποικιλία απόψεων σχετικά με τα οφέλη της ανοσολογικής απάντησης μετά τη Κρυσχειρουργική. Αν και τα πειράματα με ζώα δείχνουν τον έλεγχο της ανάπτυξης του όγκου μετά από την εφαρμογή τεχνικών κατάψυξης ειδικά μετά τη χορήγηση ανοσοενισχυτικών παραγόντων, η κλινική εμπειρία μέχρι τώρα δεν έχει δείξει κάποιο σαφές όφελος από την Κρυσχειρουργική επί των νεοπλασιών στον άνθρωπο, που μπορεί να αποδοθεί σε ειδική αντινεοπλασματική ανοσολογική απάντηση. Από την άλλη πλευρά όμως, είναι σαφές ότι η αύξηση του συνολικού όγκου των ιστών που καταστράφηκαν από την κατάψυξη, οδηγεί σε αυξημένη πιθανότητα για μετεγχειρητική οξεία βλάβη των πνευμόνων και οξεία ηπατική δυσλειτουργία. Επίσης ενδεχομένως να επάγει μια συστηματική απάντηση στην ιστική βλάβη ως πολυοργανική ανεπάρκεια (cygoshock), η οποία έχει αποδοθεί στην απελευθέρωση κυτταροκινών και συναφών προϊόντων λόγω της εκτεταμένης κυτταρικής λύσης. Τέλος, εφόσον έχει περιγραφεί αναλυτικά η κρυσεπαγόμενη ανοσολογική ενεργοποίηση έναντι κυττάρων του όγκου σε ζωικά μοντέλα, είναι αναγκαία περαιτέρω έρευνα ως προς την αντινεοπλασματική κρυσανοσοποίηση.

Στο Σχήμα 40 παρουσιάζεται η κρυσανοσολογική ενεργοποίηση των διαφόρων κυτταρικών πληθυσμών των λευκών αιμοσφαιρίων και των λεμφοκυττάρων έναντι νεοπλασματικών αντιγόνων.



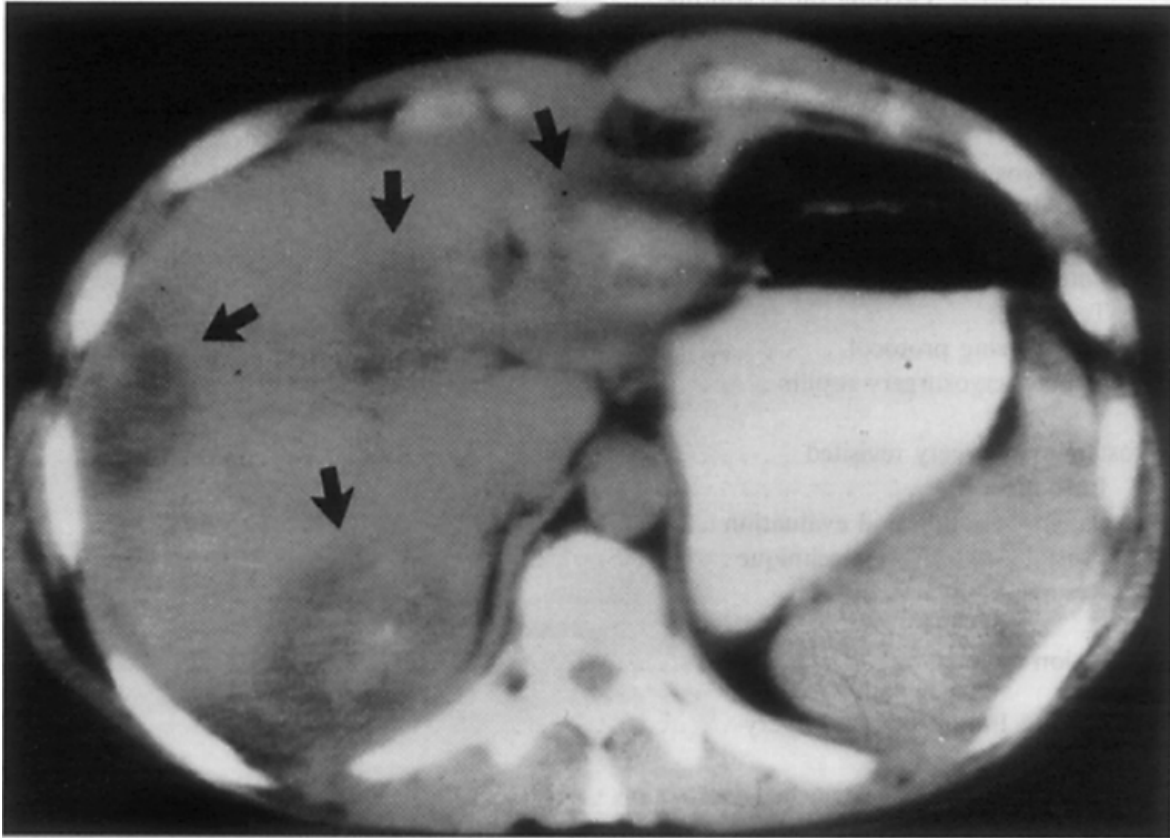
Σχήμα 40: Επαγόμενη από την Κρυοχειρουργική ανοσιακή απόκριση. Οι κυτταρικοί πληθυσμοί των λεμφοκυττάρων και των λευκών αιμοσφαιρίων ευαισθητοποιούνται στους επιχώριους λεμφαδένες από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs) και εν συνεχεία εκδηλώνουν την αντινεοπλασματική τους βιολογική δράση [Πηγή: Διαδίκτυο].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΕΜΒΑΘΥΝΟΝΤΑΣ ΣΤΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

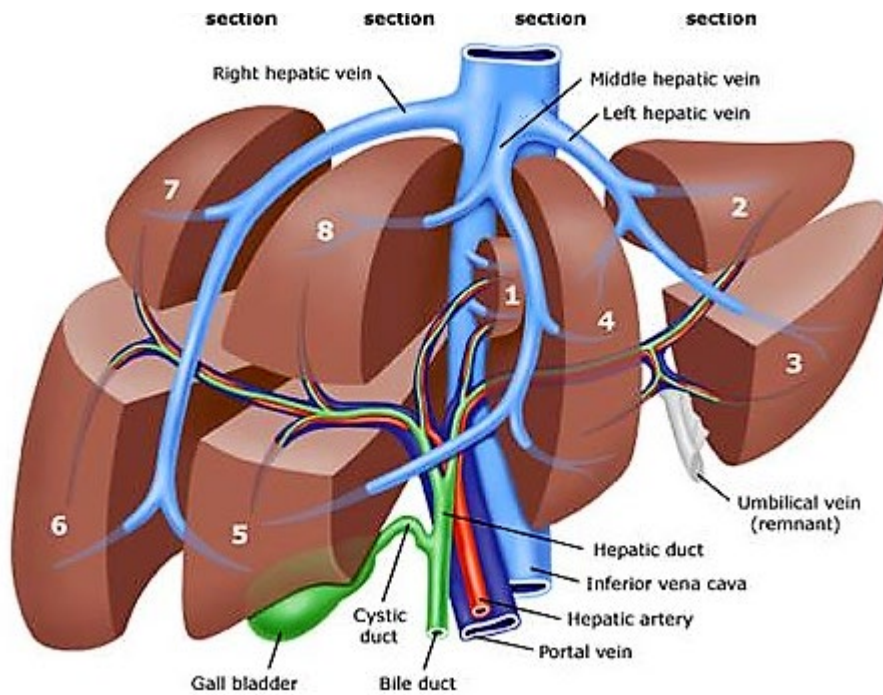
4.1 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ [4]

Η Κρυοχειρουργική είναι μια πολύ εστιακή θεραπεία

Το cryoablate τοποθετούμενο εντός της αλλοίωσης την καταστρέφει με ελάχιστη απώλεια του γύρω φυσιολογικού ιστού όταν συγκρίνεται με μια τυπική χειρουργική εκτομή. Αυτή η διατήρηση των ιστών που προκύπτει μετά από Κρυοχειρουργική είναι ιδιαίτερα σημαντική στη χειρουργική ήπατος, πνευμόνων και εγκεφάλου, όπου η παρουσία του περίεξ φυσιολογικού ιστού είναι ιδιαίτερα κρίσιμη για την ομαλή λειτουργία του οργάνου. Αυτό το πλεονέκτημα της Κρυοχειρουργικής δίνει στους ασθενείς με πολλαπλές αλλοιώσεις του ήπατος την ευκαιρία να αντιμετωπίζονται επαρκώς με μειωμένες πιθανότητες να αντιμετωπίσουν μετεγχειρητική ηπατική δυσλειτουργία (Σχήμα 41 και Σχήμα 42).



Σχήμα 41: Ασθενής άμεσα μετά από Κρυσχειρουργική Ήπατος στον οποίο σημειώνονται οι τέσσερις εστίες που υπεβλήθησαν σε κρυσθεραπεία (βέλη). Ο ελάχιστος επεμβατικός χαρακτήρας της Κρυσχειρουργικής ως εστιακής θεραπείας επέτρεψε την διατήρηση του μεγαλύτερου μέρους του υγιούς ηπατικού παρεγχύματος (βλ. Σχήμα 30) [4].



Σχήμα 42: Η ανατομία του Ήπατος [Πηγή: Διαδίκτυο].

Η Κρυσχειρουργική συμβάλλει στη διατήρηση των αγγειακών δομών

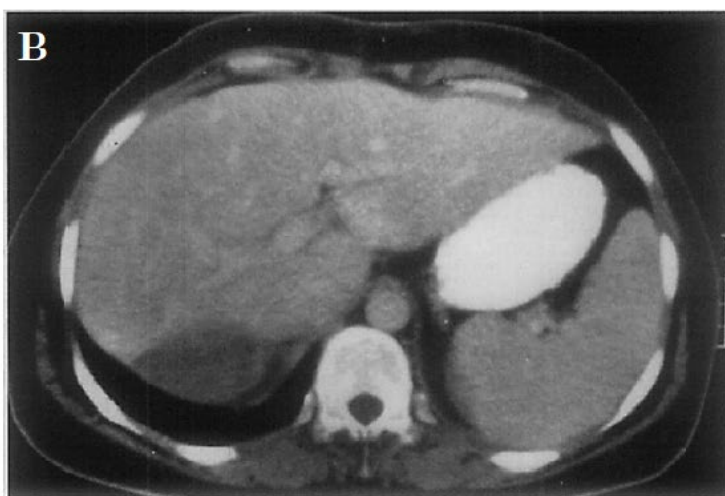
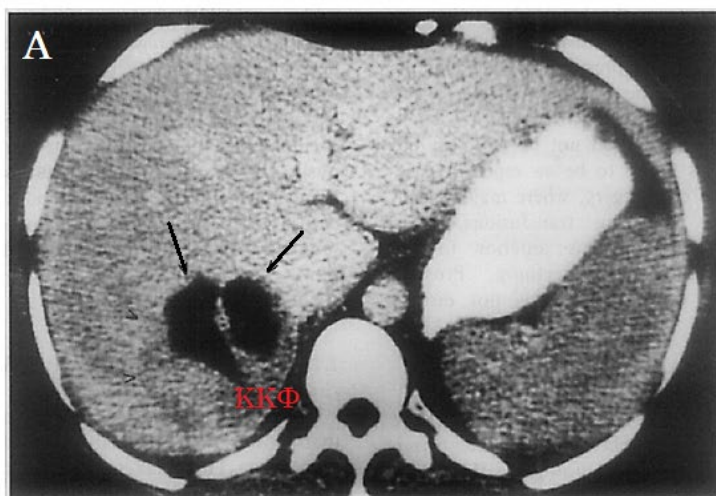
Η αρχική πειραματική εργασία του Gage έδειξε ότι σε όσα αφορά τα μεγάλα αγγεία, όταν αυτά καταψύχονται διατηρείται η ακεραιότητα των ελαστικών τους τοιχωμάτων και ότι παρά την αποψίλωση τους, συνεχίζουν κατά προτεραιότητα (ανάλογα με το μέγεθος τους) να λειτουργούν ως αγωγός του αίματος χωρίς αποδείξεις για θρόμβωση, σχηματισμό ανευρύσματος ή ρήξης. Ο Gage αναγνώρισε ότι αυτό θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν πλεονέκτημα στην Κρυσχειρουργική του Ήπατος όπου οι κακοήθεις αλλοιώσεις δίπλα στα μεγάλα αγγεία χαρακτηρίζονται συχνά ως ανεγχείρητες. Ο ίδιος θεωρούσε ότι οι αλλοιώσεις πλησίον των ηπατικών φλεβών, ή της κάτω κοίλης φλέβας, ή της πυλαίας φλέβας, θα μπορούσαν να αντιμετωπιστούν και να καταστραφούν με Κρυσχειρουργική χωρίς διακοπή της παροχής αίματος στο ήπαρ (Σχήμα 43). Το πλεονέκτημα αυτό μπορεί να τοποθετήσει πολλούς ασθενείς με μια φαινομενικά ευνοϊκή βιολογία του όγκου, έστω και αν αυτός ευρίσκεται σε δύσκολη τοποθεσία, σε μια κατηγορία δυνητικά εγχειρήσιμων περιπτώσεων όγκων.

Επιπλέον, το χαρακτηριστικό αυτό της Κρυσχειρουργικής μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πλεονέκτημα στον εγκέφαλο καθώς και πνευμονικό παρέγχυμα.

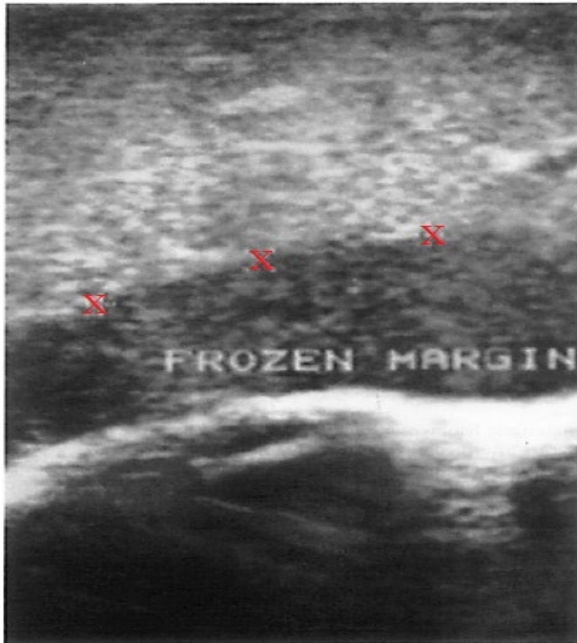
Η Κρυσχειρουργική καταστρέφει ανώμαλες επιφάνειες που τυπικά δεν είναι εξαιρέσιμες

Το χαρακτηριστικό αυτό είναι ιδιαίτερα χρήσιμο στη Κρυσχειρουργική του ήπατος, όπου τα θετικά χειρουργικά όρια μίας αλλοίωσης που έχει εξαιρεθεί μπορούν να «αποστειρωθούν» με την τοποθέτηση μιας επίπεδης κεφαλής cryoglobe στην οριακή επιφάνεια.

Αυτό το πλεονέκτημα της Κρυσχειρουργικής βοηθά να διευρυνθεί το πεδίο των χειρουργικά εξαιρέσιμων αλλοιώσεων και η «διάσωση» εκτομών όπου το αναγκαίο χειρουργικό όριο του 1cm δεν είχε επιτευχθεί (Σχήμα 44).



Σχήμα 43: (Α) Προεγχειρητική αξονική τομογραφία σε ασθενή με πολλαπλές αλλοιώσεις λόγω μεταστατικού λειομυοσαρκώματος στο Ήπαρ. Η μεγάλη αλλοίωση (βέλος) ευρίσκεται κοντά στην κάτω κοίλη φλέβα (ΚΚΦ), γεγονός που καθιστά τον συγκεκριμένο όγκο μη εξαιρέσιμο. (Β) Τρία χρόνια μετά την Κρυσχειρουργική Ήπατος, η μεγάλη αλλοίωση έχει πλέον αντικατασταθεί από υποπυκνωτικό (κουστικό) στοιχείο. Πέντε χρόνια μετά ο ασθενής δεν είχε κανένα σημάδι υποτροπής της νόσου και ευρισκόταν σε πλήρη κλινικοεργαστηριακή ύφεση [4].



Σχήμα 44: Στο διπλανό Σχήμα φαίνεται ένα διεγχειρητικό υπερηχογράφημα ασθενούς κατά τη διενέργεια Κρυοχειρουργικής Ήπατος. Η αρχική βλάβη είχε εξαιρεθεί χειρουργικά με θετικό όμως όριο εκτομής (περιείχε καρκινικά κύτταρα στην ταχεία βιοψία) και η Κρυοχειρουργική χρησιμοποιήθηκε για την «αποστείρωση» των χειρουργικών ορίων σε βάθος ιστού 1cm. Η παγωμένη περιοχή του Ήπατος απεικονίζεται ως υποηχοϊκή (μαύρου χρώματος) και το πρόσθιο όριο της υπερηχοϊκό (λευκού χρώματος). Σημειώνονται τα εν τω βάθει όρια της κρυοβλάβης. Σημειώνεται ότι η υπερηχογραφική λήψη γίνεται σε άξονα κάθετο ως προς αυτόν του cryoprobe [4].

Η Κρυοχειρουργική ελαχιστοποιεί την αιμορραγία

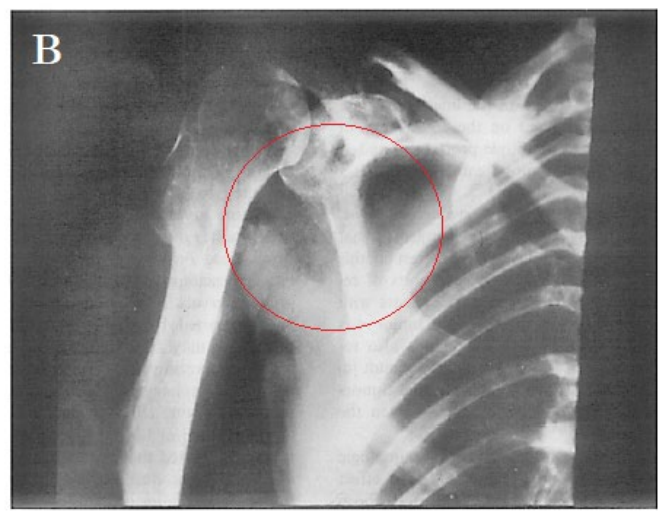
Κρυοχειρουργική σχετίζεται με ελάχιστη αιμορραγία. Δεδομένου ότι ο ιστός δεν εξαιρείται από τον ασθενή, ο έλεγχος της αιμορραγίας από μια ευρεία χειρουργική κοίτη δεν είναι απαραίτητος (Σχήμα 45). Μόνο η αιμορραγία από το χώρο όπου ο καθετήρας (cryoprobe) διατρύπα το όργανο πρέπει να ελέγχεται. Η αιμορραγία από αυτή τη περιοχή συνήθως ελέγχεται εύκολα με την πίεση ή γεμίζοντας την σπη με Gelfoam ή κάποιο άλλο αιμοστατικό παράγοντα. Επίσης σημαντική αιμορραγία επισυμβαίνει πιο σπάνια στη Κρυοχειρουργική, προς το συμφέρον του ασθενούς, λόγω του γεγονότος ότι τα μεγάλα αγγεία δεν χρειάζεται να εξαιρεθούν, αλλά μένουν ανέπαφα. Αυτό είναι μια ιδιαίτερα χρήσιμη πτυχή στη Κρυοχειρουργική του προστάτη αδένου, όπου παρουσιάζονται συχνά μεγάλες αιμορραγίες, που σχεδόν πάντα απαιτούν μεταγγίσεις αίματος, λόγω κάκωσης του φλεβώδους δικτύου εμπροσθεν του προστάτη. Η Κρυοχειρουργική του προστάτη, από την άλλη, δεν θα διαταράξει τα αγγεία αυτά.

Η Κρυοχειρουργική συμβάλλει στη νευρική αναγέννηση

Επειδή η Κρυοχειρουργική δεν προκαλεί πλήρη μετουσίωση πρωτεϊνών, όπως η θέρμανση, τα περιφερικά νεύρα όταν καταψύχονται υφίστανται αξονικό εκφυλισμό ωστόσο, τα νευρικά περιβλήματα παραμένουν άθικτα. Αυτό επιτρέπει την μερική έως ολική αναγέννηση νευρικών ινών καθώς οι νευράξονες τους βρίσκουν μία χωρίς εμπόδια διαδρομή μέσω της οποίας μπορούν να αναπτυχθούν εκ νέου. Αυτό το φαινόμενο της νευρικής αναγέννησης έχει χρησιμοποιηθεί ως πλεονέκτημα σε ορθοπαιδικές επεμβάσεις στις οποίες οι όγκοι της πυέλου ή των άκρων μπορούν να καταψυχθούν με τη διατήρηση των άκρων και την ενδεχόμενη επανάκτηση της μυϊκής λειτουργίας με τη σταδιακή ανάνηψη των νευρικών δομών που είχαν καταψυχθεί προηγουμένως (Σχήμα 46). Αυτό το φαινόμενο της νευρικής αναγέννησης μπορεί να συνεισφέρει στην επανάκτηση της γενετήσιας λειτουργίας μετά την καταστροφή του όγκου στη Κρυοχειρουργική του προστάτη αδένου.



Σχήμα 45: Οι σκούρες περιοχές που καταδεικνύονται με τα βέλη αντιπροσωπεύουν τα σημεία εισόδου των cryoglobes. Η κάθε οπή έχει σφραγιστεί με αιμοστατικό σπόγγο για αποφυγή αιμορραγίας [4].



Σχήμα 46: (A) Χονδροσάρκωμα δεξιάς ωμοπλάτης που καταψύχθηκε en block (συνολικά) μαζί με αγγεία και νεύρα και σημαίνεται στην εικόνα (B) Έξι χρόνια αργότερα είναι φανερή η ύφεση με πλήρη τη λειτουργικότητα του δεξιού άνω άκρου [4].

Η Κρυοχειρουργική προσφέρει αναισθητικό αποτέλεσμα, εξαιρετική επούλωση και αντίσταση σε λοιμώξεις

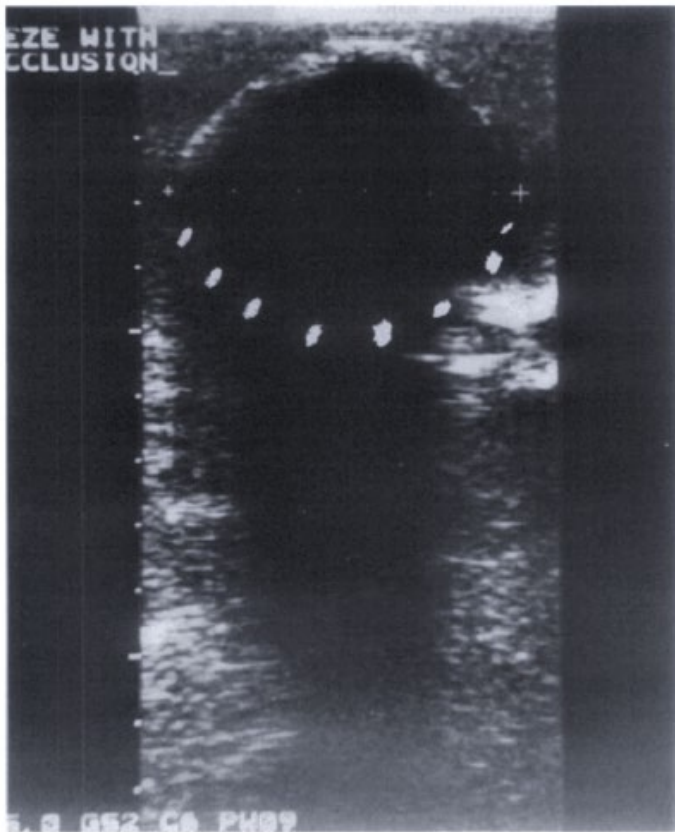
Η κρυογονική βλάβη είναι κατ' ουσία μια ανώδυνη αλλοίωση που δείχνει να εμφανίζει ελάχιστο αρχικό περιφερικό οίδημα ή φλεγμονή. Αυτό το γεγονός καθιστά τη Κρυοχειρουργική καλώς ανεκτή ως θεραπευτική παρέμβαση. Οι αλλοιώσεις έχουν βρεθεί να είναι σχετικά ανθεκτικές σε λοιμώξεις και να επιδεικνύουν εξαιρετική επούλωση με ελάχιστη δημιουργία ουλής και διατήρηση των ιστικών πλάνων. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα θερμικά τραύματα που έχουν εν πολλοίς τα αντίθετα χαρακτηριστικά.

Η Κρυοχειρουργική προσφέρει μια μεγάλη σχετική επιφάνεια κατάψυξης για δεδομένο cryogrobe

Το cryogrobe υγρού αζώτου παράγει ψύχος με θερμοκρασία κάτω των -196°C . Λόγω αυτής της πολύ απότομης διαβάθμισης της θερμοκρασίας, μπορεί να προκύψει μια σχετικά μεγάλη δέσμευση κατεψυγμένου όγκου - χώρου για ένα δεδομένο μέγεθος cryogrobe. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με το αποτέλεσμα που επιφέρουν τα θερμικά τραύματα που περιορίζονται σε μέγεθος λόγω θερμικής μεταβολής που είναι η μισή από αυτή που επιτυγχάνει μια τυπική κρυογονική κεφαλή. Για παράδειγμα, με τα νεότερα κρυοχειρουργικά cryogrobes μπορεί να προκύψει κρυογονική αλλοίωση διαμέτρου 4,5 cm με τη χρήση ενός 3-mm διαμέτρου cryogrobe (Σχήμα 3). Αυτό επιτρέπει την καταστροφή σχετικά μεγάλων αλλοιώσεων με το ελάχιστο τραύμα που σχετίζονται με ένα μικρό cryogrobe. Η κρυοχειρουργική κατάψυξη έχει επίσης ένα τεχνικό πλεονέκτημα, ότι όταν αν για παράδειγμα απαιτείται επιπλέον ενεργό μήκος ψύξης (είναι το μήκος του tip του cryogrobe το οποίο δεν είναι μονωμένο και συνεπώς επισυμβαίνει μεταφορά θερμότητας μεταξύ ιστού και cryogrobe), η υποπίεση της μόνωσης στην περιφέρεια του cryogrobe μπορεί εύκολα να αλλάξει, αποκαλύπτοντας μια μεγαλύτερη επιφάνεια κατάψυξης στον ιστό. Αυτό έρχεται σε αντίθεση, για παράδειγμα, με τη μέσω laser καταστροφή του ηπατικού ιστού, στον οποίο η ακτίνα λέιζερ μπορεί να δημιουργήσει αλλοίωση περίπου 1,5 cm σε διάμετρο με το μήκος της αλλοίωσης που δημιουργείται να είναι ελαφρώς μεγαλύτερο αλλά από την άλλη να λείπει η μεταβλητότητα.

Η Κρυοχειρουργική προσφέρει μια σχετικά προβλέψιμη γεωμετρία κατάψυξης

Όταν το cryogrobe τοποθετείται στην περιοχή της βλάβης, η κατάψυξη πραγματοποιείται σε μια σχετικά σταθερή σχέση με το cryogrobe και με πολύ προβλέψιμο τρόπο, παράγει μια σφαιρικού ή κυλινδρικού σχήματος κρυοβλάβη ανάλογα με το ενεργό μήκος κατάψυξης του καθετήρα. Αυτό είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό, επειδή επιτρέπει τον ακριβή σχεδιασμό της διαδικασίας με αξιόπιστη δυνατότητα καταστροφής της προκαθορισμένης περιοχής (βλ. Σχήμα 47). Το χαρακτηριστικό αυτό έρχεται σε αντίθεση για παράδειγμα, με τον ψεκασμό ή την ενδοαγγειακή χορήγηση αιθανόλης που χρησιμοποιείται για την καταστροφή αλλοιώσεων σε ηπατοκυτταρικό καρκίνο (HCC) στο οποίο η εξάπλωση της ψεκαζόμενης αιθανόλης είναι απρόβλεπτη και εξαρτάται από την συνοχή της νεοπλασίας. Αυτό απαιτεί πολλαπλές διαδικασίες και εν καιρώ οδηγεί σε ανεπαρκή θεραπεία των όγκων.



Σχήμα 47: Κατεψυγμένος όγκος διαμέτρου 5cm στο Ήπαρ. Το όριο της κατεψυγμένης ζώνης εμφανίζει υπερηχογενή χαρακτήρα με ακουστική σκιά (μαύρο χρώμα) οπισθίως. Η διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο υποτιθέμενο εν τω βάθει όριο της κατάψυξης. Για την επίλυση του προβλήματος της ακουστικής σκιάς ο άξονας της υπερηχογραφικής κεφαλής τοποθετείται κάθετα σε αυτόν του cngorgrobe έτσι ώστε το εν των βάθει όριο κατάψυξης να απεικονίζεται καλύτερα [4].

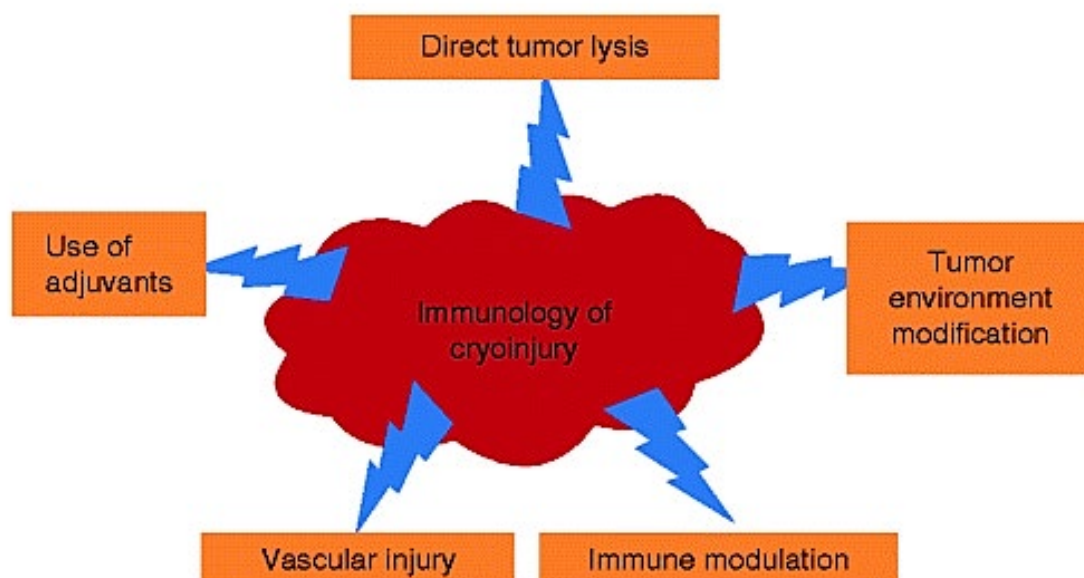
Η Κρυοχειρουργική προσφέρει ένα πιθανό ανοσολογικό όφελος

Ένα πεδίο αντιπαράθεσης σχετικά με τη Κρυοχειρουργική είναι αυτό της κρυοεπαγόμενης ανοσολογικής απάντησης. Το ενδιαφέρον σε αυτή την πτυχή της Κρυοχειρουργικής δημιουργήθηκε από εκθέσεις που περιγράφουν την ύφεση ή ακόμα και εξάλειψη της μεταστατικής νόσου σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη στους οποίους ο πρωτοπαθής όγκος αντιμετωπίστηκε με Κρυοχειρουργική. Μια παρόμοια απόκριση περιγράφηκε επίσης σε σχέση με την Κρυοχειρουργική του βρογχογενούς καρκίνου του πνεύμονα από τον Ulschmidt, στην οποία οι 4 από τους 20 ασθενείς στους οποίους οι μεταστατικές βλάβες είχαν υποστεί κρυοκαταστροφή στον ένα πνεύμονα, εμφάνισαν πλήρη αναστροφή της νόσου στον άλλο πνεύμονα ο οποίος έπασχε επίσης από μεταστατικές βλάβες. Στην ερώτηση του ποια θα μπορούσε να είναι η βάση για μια τέτοια κρυοανοσολογική απόκριση, η απάντηση που από πολλούς προτάθηκε ήταν η Κρυοθεραπεία. Λόγω της κυτταρικής λύσης που επάγει, χωρίς εμφανή μετουσίωση των κυτταρικών πρωτεϊνών, έχει αναχθεί σε in vivo αντικαρκινικό εμβόλιο εναντίων καρκινικών αντιγόνων. Τα αντιγόνα αυτά με μικρές διαφορές από τις φυσιολογικές πρωτεΐνες, που επίσης προηγουμένως δεν είχαν εκτεθεί στους ανοσιακούς μηχανισμούς του οργανισμού μπορεί πλέον να αναγνωριστούν και να καταστραφούν.

Παρακινούμενες από αυτές τις αρχικές κλινικές παρατηρήσεις, οι μελέτες στον τομέα της Κρυοανοσολογίας κατέδειξαν μια ειδική κατά του όγκου τόσο κυτταρική όσο και χυμική ανοσία. Μια μεταγενέστερη μικρή κλινική μελέτη από τον Horan, χρησιμοποιώντας δύο ξεχωριστούς κύκλους κατάψυξης με ενδιάμεση περίοδο 6 εβδομάδων έδειξε εξάλειψη της μεταστατικής νόσου σε έναν ασθενή, ενώ προσέφερε επίσης σημαντική ανακούφιση του πόνου των οστών στην πλειοψηφία των ασθενών.

Μετέπειτα ερευνητές στη δεκαετία του 1970 και του 1980 ερευνώντας τη κρυοανοσολογική ανταπόκριση σε ασθενείς που υποβάλλονταν σε Κρυοχειρουργική δεν βρήκαν καμία επαρκή για ογκοκρίση κρυοεπαγόμενη ανοσοαπάντηση. Δυστυχώς, οι μελέτες αυτές δεν αξιολογούσαν τους ασθενείς ως προς την ανοσολογική τους επάρκεια (όπως προτείνεται σήμερα) ή δεν εφάρμοσαν την κρυοθεραπεία με τον πιο αποτελεσματικό τρόπο, με πολλαπλούς κύκλους ψύξης - απόψυξης σε κατάλληλα χρονικά διαστήματα. Έχει προταθεί από τον Ablin και υποστηρίζεται από μελέτες σε επαγόμενους όγκους σε ζωικά μοντέλα, ότι πιθανώς να υφίσταται μια διφασική ανοσοαπάντηση μετά την κατάψυξη με κυτταροτοξικές επιπτώσεις που προκαλούνται από Τ λεμφοκύτταρα καθώς και μια ενδεχομένως δυσμενής για τον οργανισμό ογκοενισχυτική επίπτωση μέσω της παραγωγής αντισωμάτων που δεσμεύουν τα κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα ή ενισχύουν τη δράση των Τ κατασταλτικών λεμφοκυττάρων (που αναστέλλουν την ενεργοποίηση και τη διάδοση της κυτταρικής ανοσίας). Ανέφερε ότι η πιο αποτελεσματική κρυοανοσοθεραπεία θα μπορούσε να παραχθεί από τη διαμόρφωση των δύο αυτών αλληλοσυγκρουόμενων σκελών.

Αρκεί να πούμε ότι ο αριθμός των περιπτώσεων της αυθόρμητης μεταστατικής εξάλειψης μετά την κατάψυξη της πρωτοπαθούς εστίας αναφέρεται έντονα στη βιβλιογραφία (Σχήμα 48) και εμφανίζεται να παρατηρείται σε μεγαλύτερη συχνότητα από ό,τι θα περίμενε κανείς. Είναι σαφές ότι η ανοσολογία της κρυοθεραπείας καλό είναι να εξεταστεί επισταμένως με τις σύγχρονες ανοσολογικές μεθόδους, ιδίως σε σχέση με τις νέες εργασίες που διεξάγονται γύρω από την κρυοθεραπεία στον προστάτη, το ήπαρ και τους πνεύμονες.



Σχήμα 48: Οι διάφορες κατευθύνσεις της κρυοεπαγόμενης ανοσολογικής απόκρισης [Πηγή: Διαδίκτυο].

4.2 ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΤΗΝ ΕΥΡΕΙΑ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ [4]

Παρά τα πολλά πλεονεκτήματα όπως περιγράφονται παραπάνω, που προωθούν τη χρήση της κρυοθεραπείας ως θεραπεία πρώτης γραμμής στη Χειρουργική Ογκολογία, με εξαίρεση λίγες απομονωμένες περιπτώσεις όπως αυτή της Δερματολογίας, η Κρυοχειρουργική δεν κατάφερε μέχρι σήμερα να επικρατήσει έναντι της κλασσικής χειρουργικής εκτομής. Οι λόγοι για τους οποίους η Κρυοχειρουργική εμφανίζει έλλειψη αποδοχής σε μη δερματολογικές παθήσεις οφείλεται κυρίως στις τεχνικές ανεπάρκειες της διαδικασίας. Έτσι η κρυοθεραπεία πλέον χρησιμοποιείται κυρίως σε τοπικά προχωρημένα, μεταστατική ή και ανεγχείρητη νόσο με σκοπό τον έλεγχο της, τοπικά, και την ανακούφιση του ασθενούς από συγκεκριμένα συμπτώματα, ως παρηγορητική θεραπεία, εξασφαλίζοντας το μέγιστο αποτέλεσμα από την άποψη της ποιότητας ζωής του.

Η Κρυοχειρουργική εμφανίζει αδυναμία ως προς την πλήρη πρόσβαση στον όγκο

Το πρώτο σημαντικό πρόβλημα που ανέκυψε κατά την αρχική εφαρμογή της μεθόδου ήταν η αδυναμία της να εκτιμήσει πλήρως την έκταση του όγκου. Πριν από τις τεχνικές απεικόνισης της σύγχρονης εποχής: Μαγνητικός Συντονισμός (MR), Υπολογιστική Τομογραφία (CT) και υπερηχογράφημα πραγματικού χρόνου, οι νεοπλασίες απεικονίζονταν από την έμμεση επίδραση της μάζας τους στις πέριξ φυσιολογικές δομές ή των αγγειακών ανωμαλιών του νεοπλάσματος που γίνονταν εμφανείς στην αγγειογραφία. Κατά τη διάρκεια αυτής της προηγούμενης περιόδου της Κρυοχειρουργικής, τα όρια της νεοπλασίας δεν μπορούσαν να εκτιμηθούν πλήρως κατά την εφαρμογή της τεχνικής. Ακόμη και οι ηπατικοί όγκοι που ήταν ορατοί στην επιφάνεια του ήπατος ήταν δύσκολο να θεραπευτούν κρυοχειρουργικά επειδή συχνά είχαν ακανόνιστο σχήμα με περίπλοκες σχέσεις με την ηπατική αγγείωση. Αυτή η έλλειψη ικανότητας ως προς την οπτικοποίηση του νεοπλάσματος άμεσα και έμμεσα, προκάλεσε δυσκολίες στην ασφαλή τοποθέτηση των cryoprobes εντός του όγκου και η Κρυοχειρουργική περιορίστηκε σε επιφανειακή κατάψυξη των ορατών αλλοιώσεων. Εφόσον η κατάψυξη από κεφαλές επιφανείας είναι περιορισμένη ως προς τη διείσδυση, σε βάθος περίπου το ήμισυ της διαμέτρου της κεφαλής, ενώ πλευρικός μπορεί να επεκτείνεται αρκετά περισσότερο, η κατάψυξη ακόμη και μικρών όγκων στην επιφάνεια του ήπατος λυπών, οδηγεί σε κρυοκαταστροφή μεγάλων περιοχών του κανονικού ιστού για να επιτευχθεί το απαιτούμενο βάθος της κατάψυξης, περιορίζοντας σημαντικά την εφαρμογή της μεθόδου.

Η Κρυοχειρουργική εμφανίζει αδυναμία ως προς τη δυναμική απεικόνιση της διαδικασίας κατάψυξης

Αυτό είναι άλλο ένα αποτέλεσμα αυτής της ανεπαρκούς απεικόνισης του όγκου. Η διαδικασία της κατάψυξης πριν από τη μοντέρνα απεικόνιση, παρακολουθούνταν από μετρήσεις θερμοκρασίας με θερμοστοιχεία στο όριο της νεοπλασίας. Ακόμα και οι μικρές αποκλίσεις στην τοποθέτηση του άκρου της βελόνας, οδηγούσε σε ανακριβείς μετρήσεις, ενώ πρακτικοί λόγοι απαγόρευαν τη τοποθέτηση αρκετών θερμοζευγών ώστε να επιτυγχάνεται οποιαδήποτε χρήσιμη πληροφορία ως προς την κατανομή της θερμοκρασίας γύρω αλλά και μέσα στον όγκο.

Η Κρυοχειρουργική εμφανίζει αδυναμία ως προς τον χρησιμοποιούμενο εξοπλισμό για την κατάψυξη ιστού

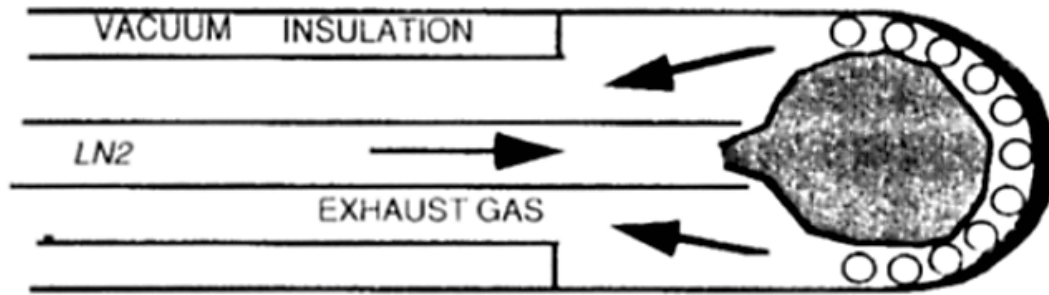
Σε συνδυασμό με τα ανεπαρκή τεχνολογικά μέσα για την απεικόνιση της νεοπλασίας, την καθοδήγηση και την τοποθέτηση του cryogroboe και την παρακολούθηση της διαδικασίας κατάψυξης, μια επιπλέον τροχοπέδη στην πρόοδο της Κρυοχειρουργικής σε ότι αφορά τη θεραπεία των όγκων ήταν η ανεπάρκεια σε αποτελεσματικά συστήματα κατάψυξης. Ο σχεδιασμός ενός τυπικού cryogroboe φαίνεται παρακάτω (Σχήμα 49 και Σχήμα 50). Το cryogroboe αποτελείται βασικά από ένα εξωτερικό χαλύβδινο περίβλημα με αμβλύ άκρο και έναν εσωτερικό σωλήνα που δεν επικοινωνεί με τον πρώτο και με τον μεταξύ τους χώρο να διαθέτει μόνωση κενού, έτσι ώστε μόνο η κορυφή να παγώνει. Το κρυογονικό μέσο παρέχεται στο άκρο του καθετήρα από έναν εσωτερικό σωλήνα και αφού παραλάβει θερμότητα απάγεται από το αμέσως εξωτερικό διαμέρισμα προς τον συλλέκτη.

Όταν το υγρό άζωτο (που είναι το κρυογονικό μέσο επιλογής για τη θεραπεία των κακοήθων όγκων, λόγω των εξαιρετικά χαμηλών θερμοκρασιών που επιτυγχάνει και την ευρεία διαθεσιμότητα του) βγαίνει από το σωλήνα τροφοδοσίας και χτυπά το ζεστό μη μονωμένο εσωτερικό επιφανείας της άκρης (tip) του cryogroboe, βράζει και υφίσταται αλλαγή φάσης σε αέριο. Αυτό δημιουργεί ένα στρώμα από φυσαλίδες αέρα ανάμεσα στο υγρό και το μέταλλο που ουσιαστικά μονώνει το cryogroboe από το υγρό. Η κατάσταση αυτή ονομάζεται "φαινόμενο βρασμού κατά Leidenfrost" και περιορίζει τη θερμοκρασία στην κορυφή ενός cryogroboe υγρού αζώτου στους περίπου - 160°C. Επιπρόσθετα, η τεράστια αύξηση του όγκου όταν το υγρό άζωτο μετατρέπεται σε αέριο δημιουργεί ένα μεταβλητό βαθμό εμπλοκής στη συσκευή παροχής, που περιορίζει τη ροή του υγρού αζώτου (LN2) στην κεφαλή, που με τη σειρά του περιορίζει την δυνατότητα κατάψυξης και το ελάχιστο μέγεθος cryogroboe που μπορεί να κατασκευαστεί. Όσο μεγαλύτερο είναι το cryogroboe τόσο μεγαλύτερη είναι η ροή του υγρού και η επιφάνεια επαφής με τον ιστό και τόσο μεγαλύτερος είναι ο κατεψυγμένος όγκος ιστού που μπορεί να προκύψει. Ωστόσο οι μεγάλες κεφαλές επιφέρουν αύξηση του ιστικού κρυοτραύματος γεγονός που περιορίζει την προσεγγίσεις της αλλοίωσης στην περίπτωση που επιθυμούμε την αυστηρή διατήρηση των πέριξ υγιών ιστών.

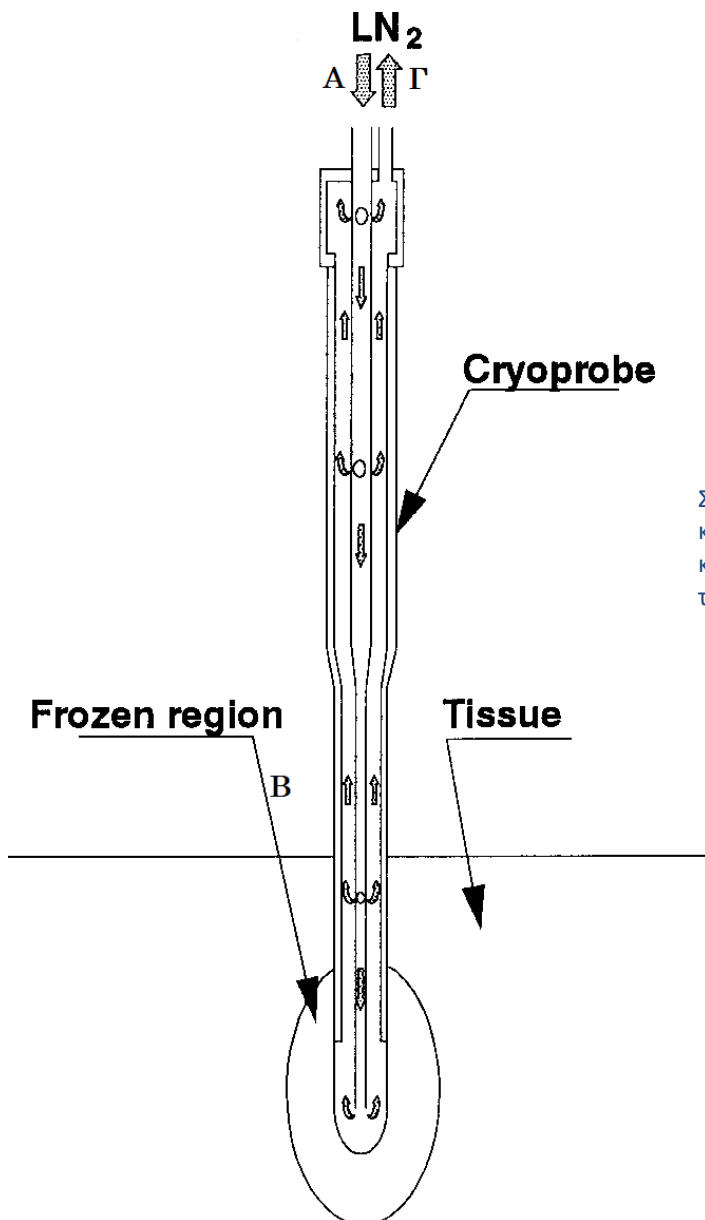
Ο παλαιότερος κρυοχειρουργικός εξοπλισμός είχε μόνο μία κεφαλή διαθέσιμη ανά κρυογονικό μηχάνημα. Όταν αντιμετωπιζόταν όγκος του οποίου οι διαστάσεις ήταν μεγαλύτερες από τον όγκο κατάψυξης που θα μπορούσε να παραγάγει ένα συγκεκριμένο cryogroboe, τότε ήταν αναγκαίες οι πολλαπλές τοποθετήσεις ενός cryogroboe για την πλήρη κάλυψη της αλλοίωσης. Αυτό επιτυγχανόταν με επικάλυψη των κατεψυγμένων όγκων. Λόγω της δυσκολίας στην προσπάθειά του να καλυφθεί ένας μεγάλος όγκος από την επικάλυψη όγκων κατάψυξης, η επαρκής ψύξη ολόκληρου του όγκου γινόταν πολύ δύσκολη, με αποτέλεσμα πολλαπλές θεραπευτικές αποτυχίες (Σχήμα 51).

Η χρήση ενός cryogroboe περιορίζει επίσης το σχήμα του όγκου κατάψυξης σε σφαίρα ή κύλινδρο. Αυτό το σχήμα, ωστόσο, συχνά δεν ταιριάζει με το όργανο ή με το σχήμα του νεοπλάσματος, απαιτώντας έτσι την κατάψυξη πέριξ υγιούς ιστού προκειμένου να είναι πλήρης η κρυοκαταστροφή της νεοπλασίας. Σε όργανα όμως όπως ο προστάτης, όπου δομές όπως το ορθό δεν πρέπει να καταψυχθούν και είναι κοντά στο όργανο - στόχο, η χρήση ενός και μόνο cryogroboe δεν είναι βιώσιμη επιλογή.

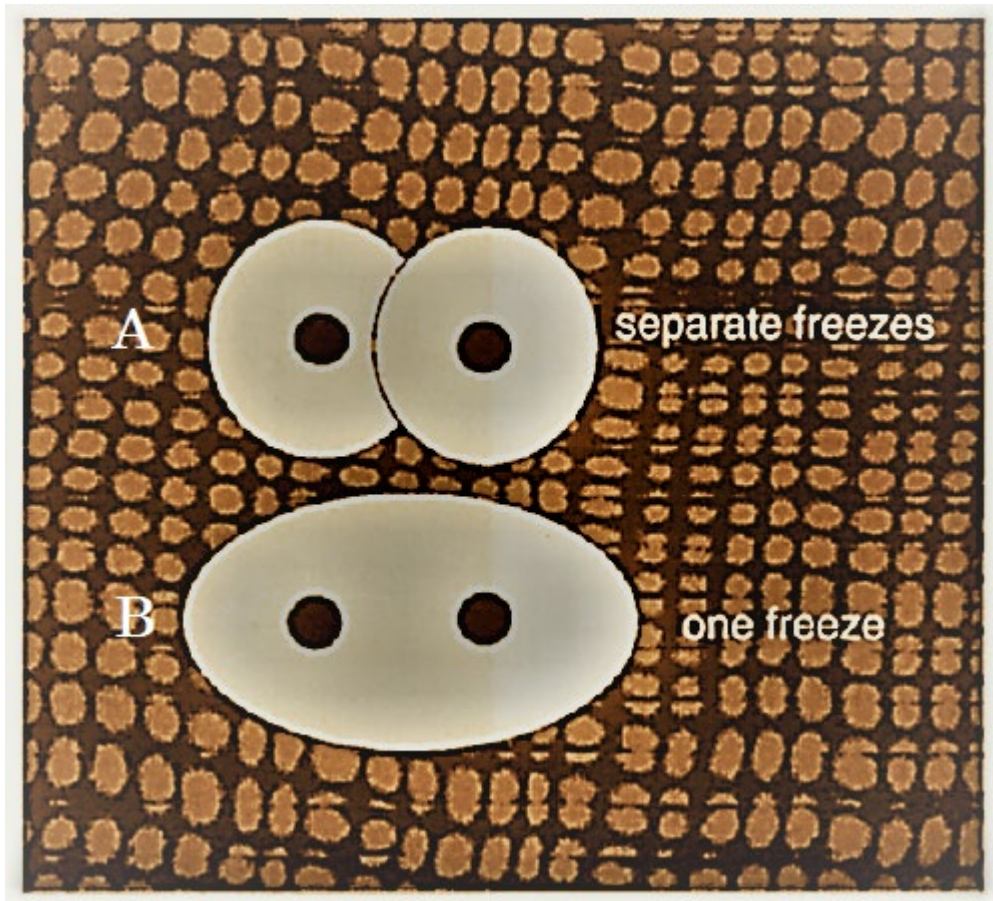
LN2 CRYOPROBE



Σχήμα 49: Σχηματική απεικόνιση του tip ενός συμβατικού cryoprobe. Το ψυκτικό μέσο (υγρό άζωτο_LN2) προσάγεται στην κεφαλή με τον εσωτερικό αγωγό τροφοδοσίας. Καθώς το υγρό άζωτο ρέει προς την κεφαλή έρχεται σε επαφή με το θερμό κάλυμμα, όπου επισυμβαίνει η μεταφορά θερμότητας, και υφίσταται βρασμό (αεριοποίηση). Έτσι σχηματίζεται ένα στρώμα από φυσαλίδες που παρεμβάλλεται μεταξύ της υγρής φάσης και του καλύμματος μονώνοντας ουσιαστικά το άκρο. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα η θερμοκρασία του tip να μην μπορεί να πέσει κάτω από τους -160°C [4].



Σχήμα 50: Σχηματική απεικόνιση ενός τυπικού cryoprobe (A) κεντρικός αγωγός εισόδου του υγρού αζώτου, (B) κατεψυγμένος όγκος ιστού, (Γ) περιφερικός αγωγός εξόδου του υγρού αζώτου [21].



Σχήμα 51: Σχηματική απεικόνιση κατεψυγμένων όγκων που προκύπτουν κατά την εφαρμογή δύο cryoglobes (A) διαδοχική ενεργοποίηση των cryoglobes, (B) ταυτόχρονη ενεργοποίηση των cryoglobes. Παρατηρούμε τη σημαντική από άποψη κρυοκαταστροφής ιστού αλλαγή του σχήματος της βλάβης που προκύπτει [4].

4.3 ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΣΤΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ [4]

Σε πραγματικό χρόνο μέσω υπερήχων επιλύονται τρία βασικά προβλήματα που είχαν σχέση με Κρυοχειρουργική:

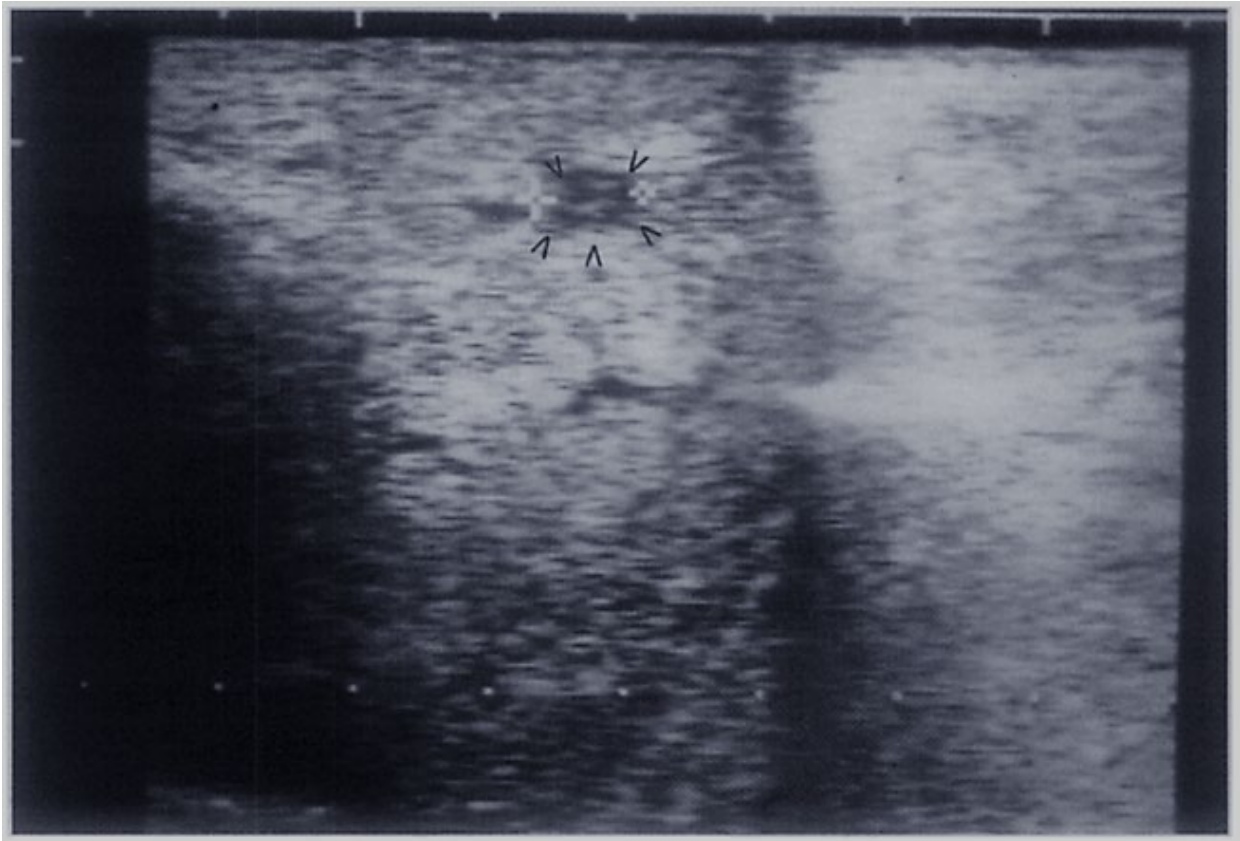
Απεικονίζοντας τον όγκο

Είναι γνωστό ότι ο διεγχειρητικός υπέρηχος είναι ένα εξαιρετικό μέσο απεικόνισης των όγκων του ήπατος, αφού φαίνεται να είναι η πιο ευαίσθητη μέθοδος απεικόνισης για την ανίχνευση αλλοιώσεων στο ήπαρ (Σχήμα 52). Ο διεγχειρητικός υπέρηχος έχει παρατηρηθεί να υπερέχει της αξονικής τομογραφίας (CT), των απλών υπερήχων, της μαγνητικής τομογραφίας (MRI) και της χειρουργικής ψηλάφησης, δεν είναι ασυνήθιστο να ανιχνεύσει όγκους διαμέτρου 5 mm που δεν είχαν αποκαλυφθεί από όλα τα άλλα μέσα. Ο διεγχειρητικός υπέρηχος είναι επίσης σε θέση να δείξει με εξάισια λεπτομέρεια τη σχέση των όγκων με μείζονες ηπατικές αγγειακές δομές, βοηθώντας έτσι στην καθοδήγηση της χειρουργικής εκτομής καθώς και στη κρυοθεραπεία

Στον προστάτη, οι εξελίξεις στον διορθικό υπέρηχο είχαν το πιο σημαντικό αντίκτυπο, επιτρέποντας την ανάπτυξη νέων κρυοχειρουργικών διαδικασιών για τον καρκίνο του

προστάτη. Ενώ ο διορθικός υπέρηχος δεν είναι τόσο ευαίσθητος όπως ο διεγχειρητικός, εντούτοις τα καταφέρνει στο να οριοθετεί την έκταση των όγκων, στην εξαιρετική επίσης απεικόνιση των ορίων του αδένου με την οπτικοποίηση των γύρω δομών, όπως οι σπερματοδόχοι κύστες, η ουροδόχος κύστη και το ουρογεννητικό διάφραγμα.

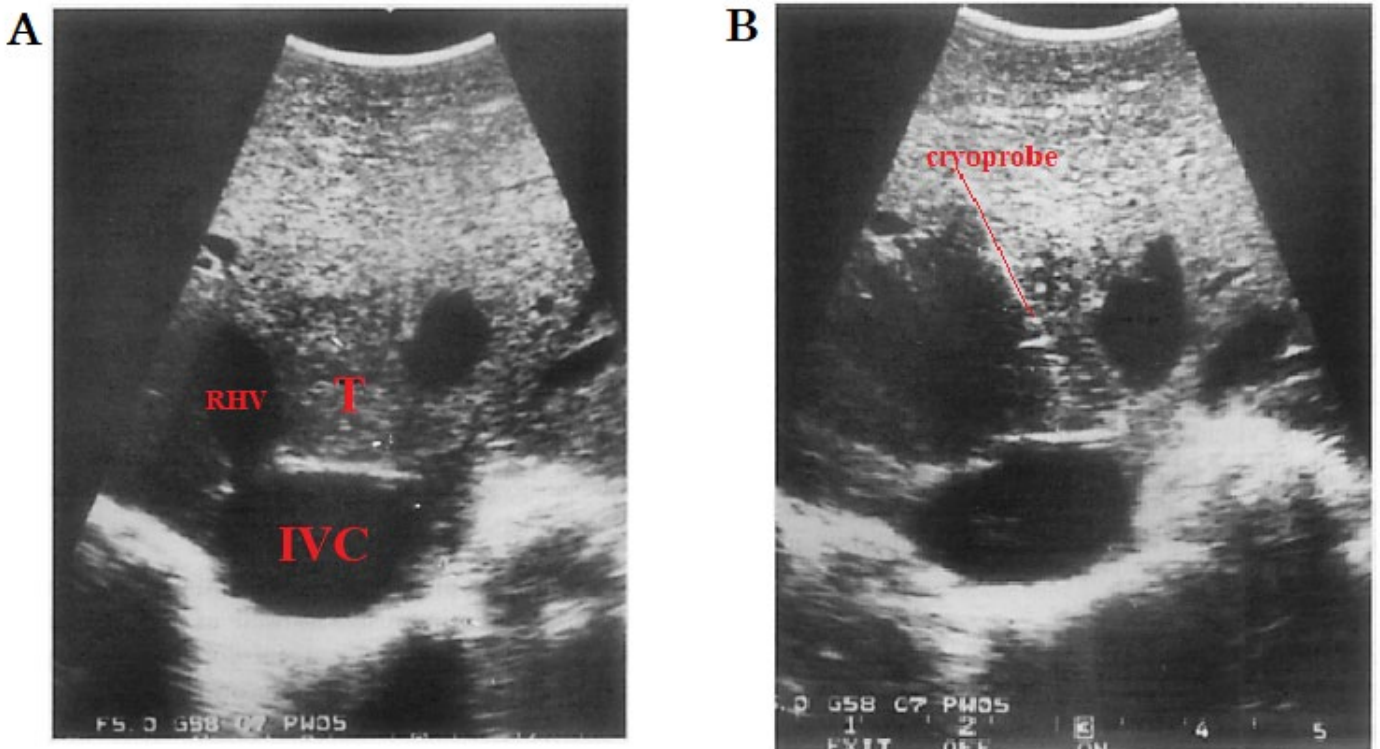
Το γεγονός αυτό επέτρεψε την εφαρμογή της μεθόδου στην ολική εκτομή του αδένου χρησιμοποιώντας Κρυοχειρουργική.



Σχήμα 52: Σημειώνεται εντός του Ήπατος μια μικρή μεταστατική εστία. Η παραπάνω λήψη προέρχεται από διεγχειρητικό υπερηχογράφημα. Η τεχνική αυτή απεικόνισης έχει αποδειχθεί ως η πλέον ευαίσθητη για τον εντοπισμό ενδοπαρεγχυματικών αλλοιώσεων. Η χρήση του διεγχειρητικού υπερήχου κατά τη κρυοθεραπεία αποτελεί τον χρυσό κανόνα στη σύγχρονη Κρυοχειρουργική σε ότι αφορά στον εντοπισμό της βλάβης, την τοποθέτηση των cryoprobes και την παρακολούθηση της κρυοβλάβης [4].

Καθοδηγώντας το cryoprobe

Εκτός από τον καθορισμό των ορίων του όγκου που πρέπει να καταστραφεί αλλά και των γύρω ιστών που πρέπει να διατηρηθούν, οι υπέρηχοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολύ αποτελεσματικά ως στερεοτακτική μέθοδος καθοδήγησης των cryoprobes μέσα στη μάζα του νεοπλάσματος. Αυτή η καθοδήγηση πραγματικού χρόνου των cryoprobes με εξαιρετική ακρίβεια είναι ένας επιπλέον παράγοντας που έχει καταστήσει την εφαρμογή της Κρυοχειρουργικής σε συμπαγή όργανα εφικτή (Σχήμα 53).



Σχήμα 53: Κρυοχειρουργική Ήπατος (λήψη συμβατικού υπερηχογραφήματος): (Α) Υποηχοϊκός όγκος πλησίον της δεξιάς ηπατικής φλέβας (RHV) και της κάτω κοίλης φλέβας (IVC) που είναι μη εξαιρεσιμος με βάση τις αρχές της κλασικής Χειρουργικής, (Β) Υπερηχογραφική επιβεβαίωση της ορθοτοπικής τοποθέτησης του cryoprobe [4].

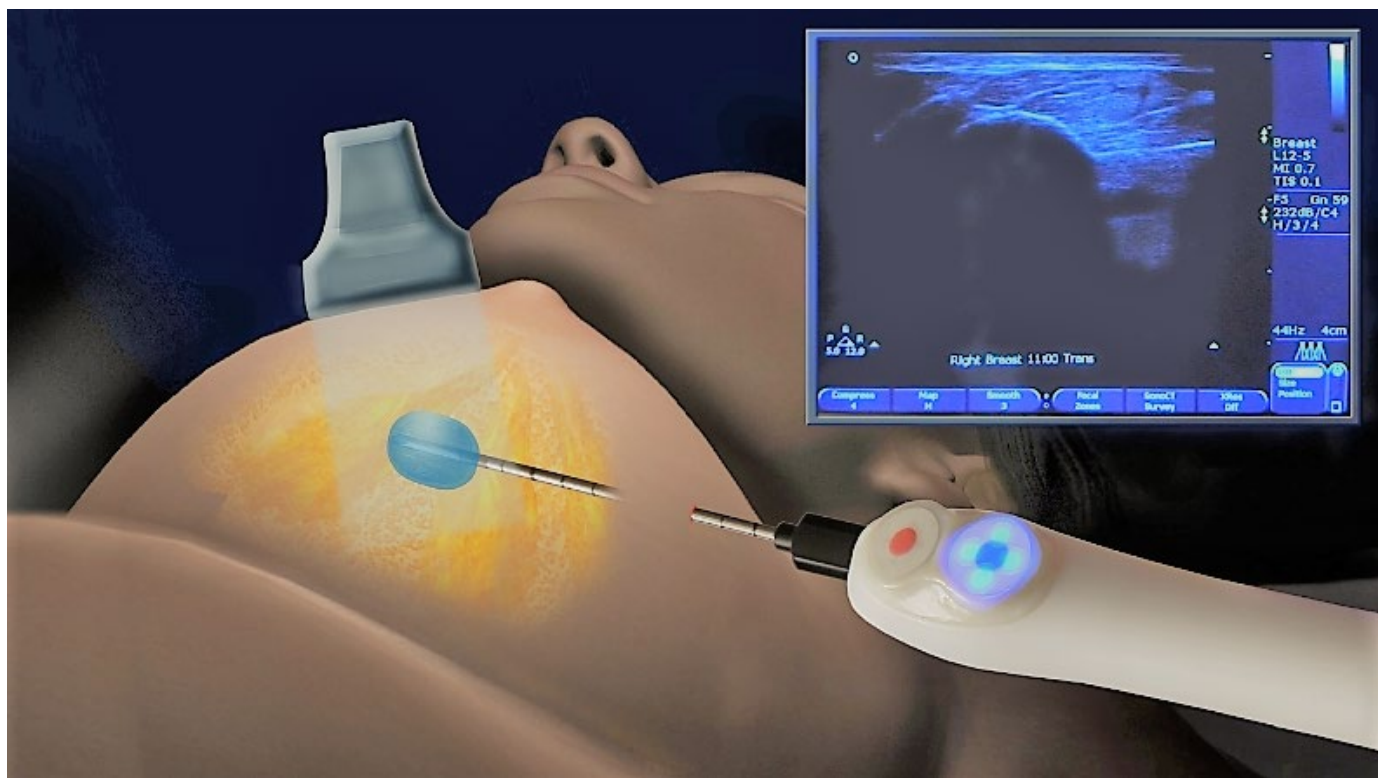
Απεικονίζοντας τη διαδικασία κατάψυξης

Ο υπέρηχος σε πραγματικό χρόνο έχει αποδειχθεί ότι είναι σε θέση να απεικονίσει την κατάψυξη, όπως συμβαίνει, επιτρέποντας την τεκμηρίωση ότι η παγωμένη ζώνη έχει εντελώς περιλάβει ολόκληρη την έκταση της νεοπλασίας. Τα υπερηχογραφικά χαρακτηριστικά των κατεψυγμένων ιστών περιεγράφηκαν για πρώτη φορά από τον Onik το 1984 σε *in vitro* ήπαρ βοοειδών. Το προωθούμενο όριο κατάψυξης, λόγω του ότι αντανακλά όλα τα προσπίπτοντα ηχητικά κύματα, εμφανίζεται ως υπερηχητική στεφάνη, και επειδή ο ήχος δεν διαπερνά τον πάγο, με ανάπτυξη ακουστικής σκιάς πίσω του. Επόμενα πειράματα σε ζωντανά ζωικά μοντέλα όπως στο ήπαρ σκύλου, επιβεβαίωσαν τα πορίσματα της απεικόνισης της παγωμένης ζώνης και έδειξε ότι ο φυσιολογικός ηπατικός ιστός αφού καταψυχθεί και αποψυχθεί, άλλαζε ηχογένεια με ένα χαρακτηριστικό τρόπο, εμφανιζόμενος ως ηποηχοϊκός συγκρινόμενος με τον φυσιολογικό μη κατεψυγμένο ιστό ήπατος (Σχήμα 47). Αυτό το εύρημα, όπως αποδείχτηκε σε παθολογική εξέταση ενός ασθενούς στον οποίο αρχικά πραγματοποιήθηκε η κατάψυξη του όγκου και στη συνέχεια η κατάψυξη του, επέτρεψε την επιβεβαίωση των κρυοχειρουργικών ορίων.

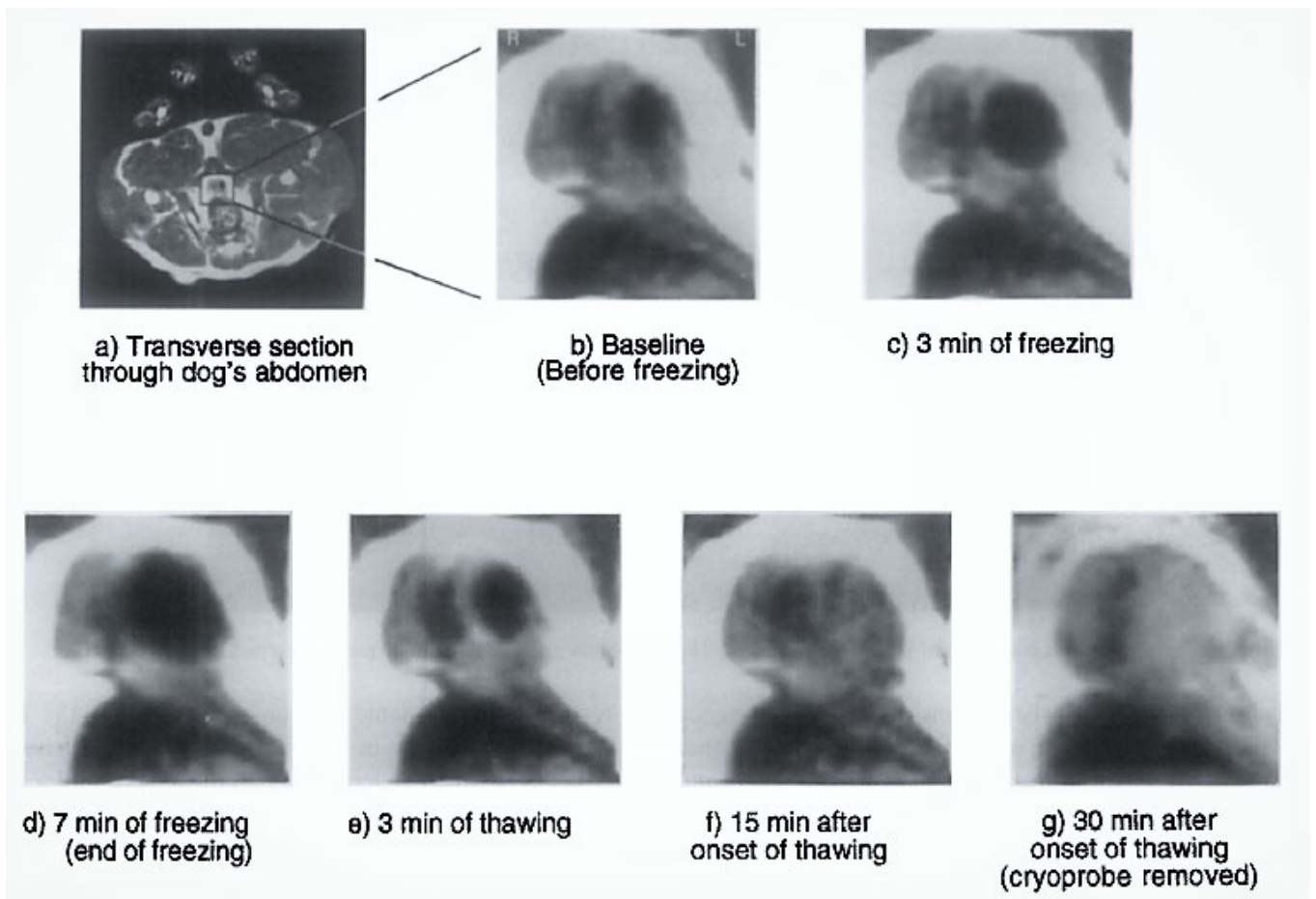
Εξαιτίας αυτών των προόδων της σύγχρονης απεικόνισης, σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα η Κρυοχειρουργική κατέστη εφικτή, με τους υπέρηχους να επιτρέπουν την

οπτικοποίηση του όγκου, την ακριβή τοποθέτηση των cyborgs, καθώς επίσης την παρακολούθηση της διαδικασίας κατάψυξης. Η ικανότητα του υπερήχου πραγματικού χρόνου να παρέχει μια πλήρη τρισδιάστατη προβολή του οργάνου συνεχώς, καθώς και η φορητότητα του, επιτρέπει το να είναι διαθέσιμη μια βολική απεικόνιση διεγχειρητικά, καθιστώντας την υπερηχογραφική παρακολούθηση στη Κρυοχειρουργική του ήπατος και του προστάτη απαραίτητη και αναπόσπαστη αυτή τη στιγμή.

Η απεικόνιση με υπερήχους, ωστόσο, δεν στερείται περιορισμών. Σε αντίθεση με την απεικόνιση υπερηχογραφικά προσπελάσιμων οργάνων όπως ο μαστός (Σχήμα 54), η πρόσβαση των υπερήχων σε ορισμένα όργανα όπως ο εγκέφαλος, απαιτεί την ανάπτυξη ενός ακουστικού παραθύρου που παρέχονται μέσω οστού, δηλαδή μια οστική οπή στο κρανίο, για να επιτρέψει στους υπερήχους να διαπεράσουν το εγκεφαλικό ιστό. Εφόσον ο κατεψυγμένος ιστός δεν επιτρέπει τη διείσδυση των ηχητικών κυμάτων, ο κατεψυγμένος όγκος προκαλεί ακουστική σκιά, σκεπάζοντας λεπτομέρειες πίσω από την παγωμένη ζώνη. Αυτός ο περιορισμός επομένως απαιτεί την απεικόνιση του συνόλου του κατεψυγμένου ιστού από πολλές κατευθύνσεις, που μερικές φορές είναι δύσκολο, ιδιαίτερα στον προστάτη. Μολονότι ακόμη με πολλούς κλινικούς περιορισμούς, η απεικόνιση με μαγνητικό συντονισμό (MR) έχει αποδειχθεί ότι είναι σε θέση να οπτικοποιεί πλήρως την κατάψυξη με καμία σκιά καθώς και να παρέχει επίσης ένα γραφικό περιβάλλον επίδειξης θερμοκρασιακής κατανομής πέριξ της παγωμένης ζώνης (οι κατεψυγμένοι ιστοί δεν παράγουν σήμα στο μαγνητικό συντονισμό). Τα χαρακτηριστικά αυτά του MR θα μπορούσαν να αποδειχθούν ιδιαίτερα χρήσιμα κάποια μέρα στην Κρυοχειρουργική του εγκεφάλου (Σχήμα 55).



Σχήμα 54: Κρυοχειρουργική Μαστού: Καθοδηγούμενη Κρυοχειρουργική από συμβατική – φορητή συσκευή υπερήχων. Παρατηρούμε την κάθετη φορά του άξονα της κεφαλής υπερήχων σε σχέση με αυτόν του cyborg, γεγονός που επιτρέπει την καλύτερη απεικόνιση του εν τω βάθει ορίου του κατεψυγμένου όγκου ιστού [Πηγή: Διαδίκτυο].



Σχήμα 55: Κρυοχειρουργική Προστάτη αδένα: παρουσιάζονται διαδοχικές λήψεις από μαγνητική τομογραφία κατά τη διάρκεια της κρυοθεραπείας. Η σκοτεινή περιοχή αφορά στον όγκο καταψυγμένου ιστού που δεν παράγει σήμα στις ακολουθίες του μαγνητικού συντονισμού (MRI) [4].

Παρεμβατικές ραδιογραφικές τεχνικές

Προκειμένου να καταστεί εφικτή η κρυοκαταστροφή μεγάλων όγκων, είναι ακόμα απαραίτητη η χρήση μεγάλων cryoprobes (διαμέτρου 8 mm) σε πολλαπλές θέσεις. Εξαιτίας του μεγέθους τους, οι οποιοδήποτε χειρισμοί ως προς την τοποθέτησή τους κατά τη διαδικασία του χειρουργείου μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική απώλεια υγιών ιστών. Η έλευση όμως ορισμένων, επεμβατικής ακτινολογίας, τεχνικών έχει πλέον ανοίξει νέους ορίζοντες στη Κρυοχειρουργική. Για παράδειγμα χρησιμοποιώντας μια μικρή βελόνα εντοπισμού η οποία προκαλεί ελάχιστο τραύμα, γίνεται ο εντοπισμός του κατάλληλου σημείου για αρχικοποίηση της θεραπείας. Στη συνέχεια με οδηγό τη βελόνα εντοπισμού και με χρήση κατάλληλου λογισμικού μπορεί να γίνει η είσοδος πολλαπλών cryoprobes στις βέλτιστες θέσεις. Οι τεχνικές αυτές που εφαρμόζονται σήμερα στη διαπερινεϊκή Κρυοχειρουργική του προστάτη, προσφέρουν ικανοποιητικά αποτελέσματα με το ελάχιστο τραύμα για τον ασθενή.

4.4 ΣΥΓΧΡΟΝΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ [4,14,15,16,17,18,19,20,21]

Πλέον είναι διαθέσιμος βελτιωμένος κρυοχειρουργικός εξοπλισμός ο οποίος προσφέρει πολλαπλές κεφαλές για την κατάψυξη ιστών, καθεμία από τις οποίες έχει βελτιωθεί σημαντικά ως προς τη δυνατότητα ψύξης. Επιπλέον, τα συστήματα αυτά παρέχουν μεγαλύτερη χωρητικότητα ψυκτικού μέσου και πολύ μικρές κεφαλές που δεν ήταν προηγουμένως κατασκευαστικά εφικτές. Οι βελτιώσεις αυτές έγιναν δυνατές μετά από ένα σημαντικό αριθμό τεχνικών προόδων, η σημαντικότερη από τις οποίες ήταν η χρήση υγρού αζώτου σε ημίρρευστη μορφή ως κρυογονικό μέσο. Όταν εφαρμοστεί κενό (υποπίεση) σε υγρό άζωτο, το υγρό μερικώς αλλάζει φάση και λαμβάνει μια ημίρρευστη μορφή. Με αυτή την αλλαγή φάσης, το άζωτο γίνεται πιο κρύο (- 206°C). Το υγρό άζωτο που διοχετεύεται διαμέσου ενός πηνίου ψύξης που περιβάλλεται από ημιρρευστοποιημένο άζωτο μπορεί να υπερψυχθεί. Αυτή η υπέρψυξη επιτρέπει στο υγρό άζωτο να αφαιρεί τη θερμότητα από τον ιστό χωρίς αλλαγή φάσης για το ίδιο και χωρίς συνεπώς να μετατρέπεται σε αέριο. Αυτό περιορίζει το «φαινόμενο βρασμού κατά Leidenfrost» που συζητήθηκε προηγουμένως. Έτσι επιτρέπεται στο εξωτερικό τμήμα της κεφαλής να γίνει πιο κρύο. Ο ελαχιστοποιημένος σχηματισμός αερίου επιτρέπει στο κρυογονικό μέσο να ρέει μέσω ενός cryogrobes μικρότερου μεγέθους.

Επειδή αυτό το υγρό ρέει τώρα με υψηλότερη παροχή, και πολλές φορές μέσω πολλαπλών cryogrobes, η κατανάλωση σε υγρό άζωτο είναι εξαιρετικά υψηλή. Αυτή η κατάσταση θα απαιτούσε συλλέκτη (dewer) που θα ήταν απαγορευτικά μεγάλος. Αυτό το νέο κρυοχειρουργικό σύστημα που είναι σήμερα διαθέσιμο από την Cryomedical Sciences Inc., Rockville, Maryland (Σχήμα 57) λύνει αυτό το πρόβλημα με ένα σύστημα διπλού συλλέκτη που συλλέγει το υγρό άζωτο και το ανακυκλώνει.

Το αποτέλεσμα ενός τέτοιου συστήματος στη Κρυοχειρουργική του ήπατος, για παράδειγμα, είναι ότι μπορούν να εφαρμοστούν πλέον για το ήπαρ μικρότερες κεφαλές που παράγουν λιγότερη τραυματική εμπειρία, και επίσης μπορούν πλέον να αντιμετωπίζονται περιοχές όπου ήταν δύσκολο να γίνουν χειρισμοί με μεγάλες κεφαλές. Η μεγαλύτερη δυνατότητα κατάψυξης των πιο αποδοτικών κεφαλών επιτρέπει την κρυοκαταστροφή μεγαλύτερων αλλοιώσεων από ότι ήταν προηγουμένως δυνατό, με πιο αποτελεσματική κατάψυξη κοντά μεγάλα αγγεία.

Όταν ο νέος αυτός εξοπλισμός χρησιμοποιείται στη Κρυοχειρουργική του προστάτη, οι μικρότερες κεφαλές του, με αυξημένη δυνατότητα κατάψυξης, επιτρέπουν την εφαρμογή της διαδικασίας διαδερμικά (και συγκεκριμένα διαπερινεϊκά) (Σχήμα 20). Τα πολλαπλά (5) cryogrobes τοποθετούνται σε διάταξη που επιτρέπει τη «χειραγώγηση» του κατεψυγμένου όγκου ακριβώς στο σχήμα του προστάτη αδένου.

Η Κρυοχειρουργική, χρησιμοποιώντας αυτές τις νέες τεχνικές και δυνατότητες, σήμερα πλέον έχει σημαντικό αντίκτυπο στη θεραπεία του καρκίνου στο ήπαρ και τον προστάτη.

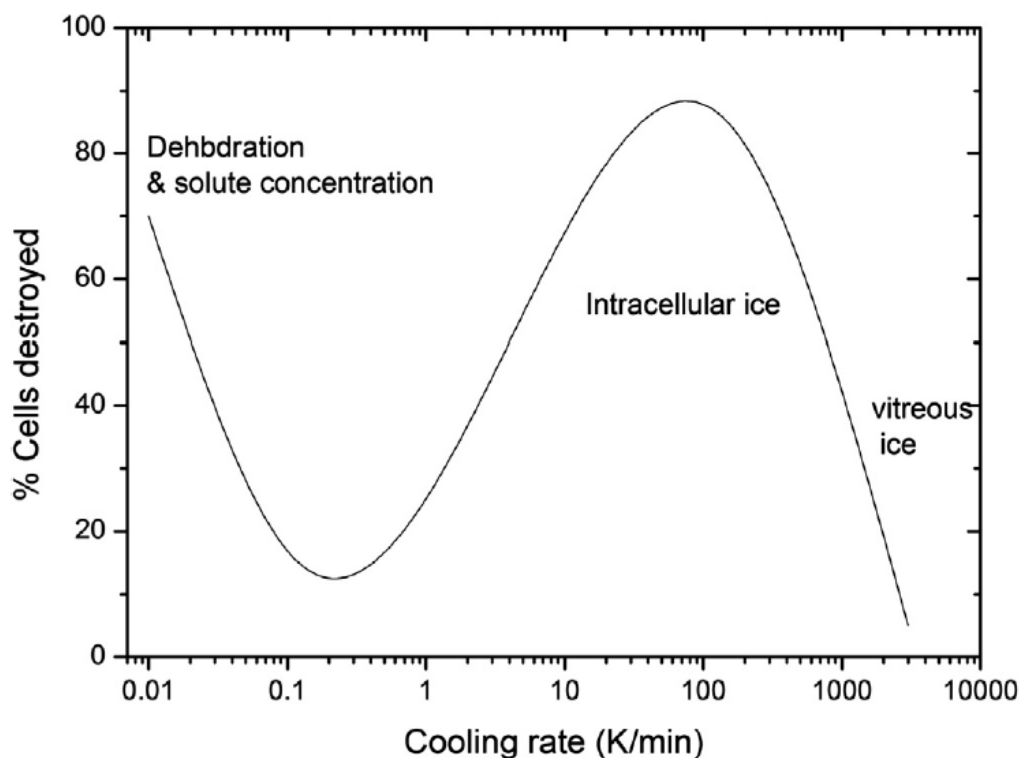


Σχήμα 56: Σύγχρονος φορητός κρυοχειρουργικός στυλεός για την αντιμετώπιση δερματικών αλλοιώσεων [Πηγή: Διαδίκτυο].



Σχήμα 57: Σύγχρονη κρυοχειρουργική μονάδα 5 στροφοβες για εφαρμογή στη κρυοθεραπεία του Ήπατος [Πηγή: Διαδίκτυο].

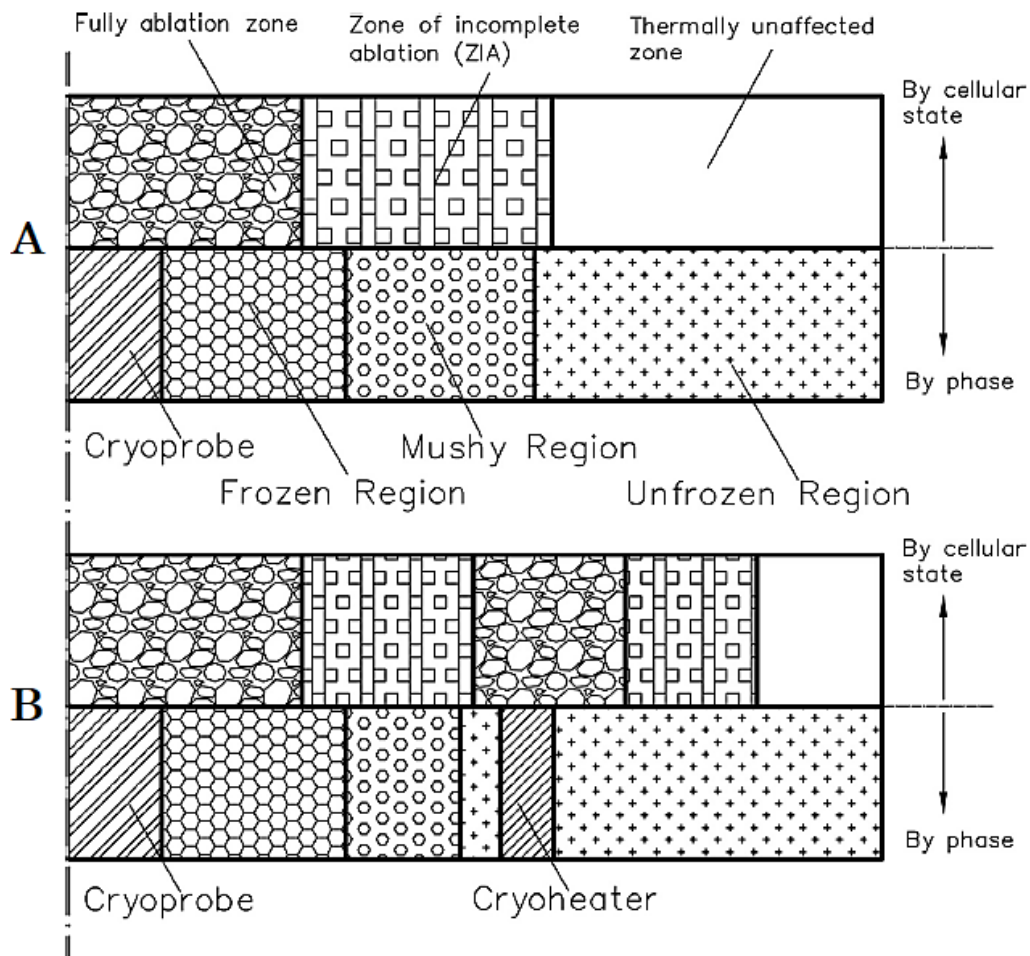
Στη σύγχρονη εποχή της Κρυοχειρουργικής είναι υψίστης σημασίας να κατανοηθεί η σύνδεση μεταξύ του μηχανισμού κατάψυξης και κρυονέκρωσης του ιστού, ώστε να προσδιοριστεί ο παράγοντας κλειδί που να επιτρέπει στους Χειρουργούς να επιτύχουν τα μέγιστα μέσα από αυτή. Είναι γενικά αποδεκτό το γεγονός ότι ο ενδοκυττάριος σχηματισμός πάγου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην κρυοβλάβη επάγοντας σχεδόν πάντα κρυονέκρωση είτε από παροδικές ηλεκτρικές διεγέρσεις στα όρια των κρυστάλλων από συγκέντρωση φορτίων είτε δημιουργώντας κρίσιμη κλίση ωσμωτικής πίεσης σε όλο το μήκος της κυτταρικής μεμβράνης. Σε ότι αφορά τη θερμοκρασία συνήθως η περιοχή της πλήρους κρυονέκρωσης οροθετείται κάτω από τους -50°C και επιτυγχάνεται με αρκετούς κύκλους ψύξης - απόψυξης όπως έχει γίνει γνωστό από την κλινική εμπειρία για μια αποτελεσματική θεραπεία. Ωστόσο, ο φυσικός μηχανισμός καταστροφής κυττάρων κατά τη διάρκεια της ψύξης-απόψυξης, ιδιαίτερα κατά την κατάψυξη και απόψυξη των περιφερικών ζωνών δεν ελεγχόταν αποτελεσματικά με τον μέχρι τώρα διαθέσιμο κρυοχειρουργικό εξοπλισμό. Στην κατεύθυνση αυτή τα μοντέρνα συστήματα επικεντρώνονται σε διατάξεις που θα μπορούν να ελέγχουν τις διαδικασίες ψύξης αλλά κυρίως απόψυξης της περιφερικής ζώνης του κροστράυματος με συνέπεια την σαφώς αποτελεσματικότερη κρυονέκρωση, μιας και στη ζώνη αυτή παρατηρείται σημαντική κυτταρική επιβίωση. Μερικές μελέτες έχουν ορίσει ως κύριο παράγοντα κρυονέκρωσης συγκεκριμένες θερμοκρασίες που πρέπει να επιτευχθούν προκειμένου να επέλθει το επιζητούμενο θανατηφόρο αποτέλεσμα, ενώ άλλες θεωρούν τον ρυθμό ψύξης και απόψυξης ως τον βασικό παράγοντα στη μέθοδο. Μολονότι υπάρχουν πολλά έργα που μελετούν το μηχανισμό κρυονέκρωσης που περιλαμβάνει ένα μόνο κύκλο ψύξης-απόψυξης, λίγα έχουν αναλύσει ποσοτικά τις συνέπειες αρκετών επικαλυμμένων κύκλων ψύξης - απόψυξης στη καταστροφή των κυττάρων. Στο Διάγραμμα 9 φαίνεται η συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού καταστροφής των κυττάρων με τον ρυθμό ψύξης.



Διάγραμμα 9: Το ποσοστό καταστροφής των κυττάρων σε σχέση με τον ρυθμό ψύξης. Παρατηρούμε ότι υπάρχουν δύο ζώνες βέλτιστου ρυθμού ψύξης για μέγιστο ποσοστό καταστροφής, η μία με χαμηλό και η άλλη με ενδιάμεσο ρυθμό ψύξης. Εξαιρετικά ταχεία κατάψυξη οδηγεί σε υαλοποίηση των ιστών και χαμηλά ποσοστά κρυονέκρωσης [20].

Νεότερες μελέτες οδήγησαν στην ανάπτυξη συσκευών που να μπορούν να ρυθμίζουν τον κατεψυγμένο όγκο με αποτέλεσμα τον καλύτερο έλεγχο της κρουονεκρωτικής ζώνης, εξασφαλίζοντας την προαπαιτούμενη θερμοκρασία πλήρους κυτταρικής καταστροφής. Προς την επίτευξη αυτού του είδους του ελέγχου έχουν εισαχθεί νέες συσκευές θέρμανσης οι κρυοθερμαντήρες (cryoheaters) που έχουν τη μορφή μικρότερων καθετήρων από το cryoprobe που αναπτύσσονται στην επιθυμητή περιφέρεια γύρω από το πρώτο. Τα cryoheaters θερμαίνοντας περιφερικά της περιοχής στόχου ρυθμίζουν τη κλίση θερμοκρασίας και συνεπώς την ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου. Στις περιπτώσεις αυτές, η κεφαλή του cryoheater δεν διατηρείται σε θερμοκρασία υψηλότερη από τους 40°C προς αποφυγή του φαινομένου της ιστικής διάρρηξης (cracking).

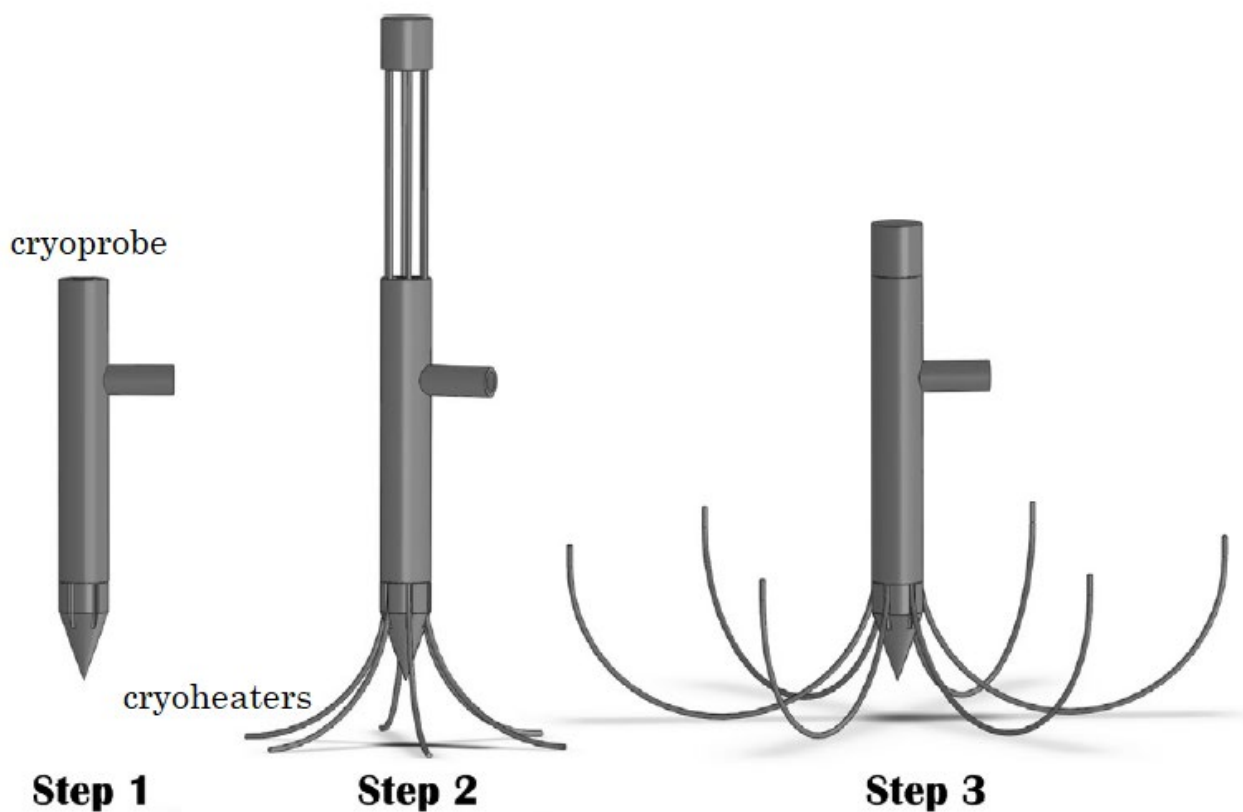
Στο Διάγραμμα 10 φαίνονται οι μορφολογικές διαφορές καθώς και οι διαφορές στην κατάσταση επιβίωσης του κυτταρικού πληθυσμού σε ένα συμβατικό cryoprobe και σε ένα υβριδικό cryoprobe νέας τεχνολογίας. Στη δεύτερη περίπτωση παρατηρούμε ότι περιορίζεται σημαντικά η αβέβαιη ζώνη της μερικής κυτταρικής νέκρωσης (zone of incomplete ablation - ZIA). Έτσι λοιπόν τα σύγχρονα υβριδικά cryoprobes που φέρουν πτυσσόμενα cryoheaters τα οποία και προωθούνται στην περιφέρεια είναι περισσότερο ακριβή, αποτελεσματικά και ασφαλή ειδικά σε ότι αφορά στην καταστροφή κακοήθων όγκων. Επίσης όπως φαίνεται τα υβριδικά cryoprobes συμβάλουν επίσης και στην αποτελεσματικότερη προστασία των περίξ υγιών ιστών.



Διάγραμμα 10: Συμμετρικό διάγραμμα ταξινόμησης των ιστών με βάση την φάση και την κυτταρική κατάσταση επιβίωσης. (A) Συμβατικό cryoprobe, (B) Υβριδικό cryoprobe [20].

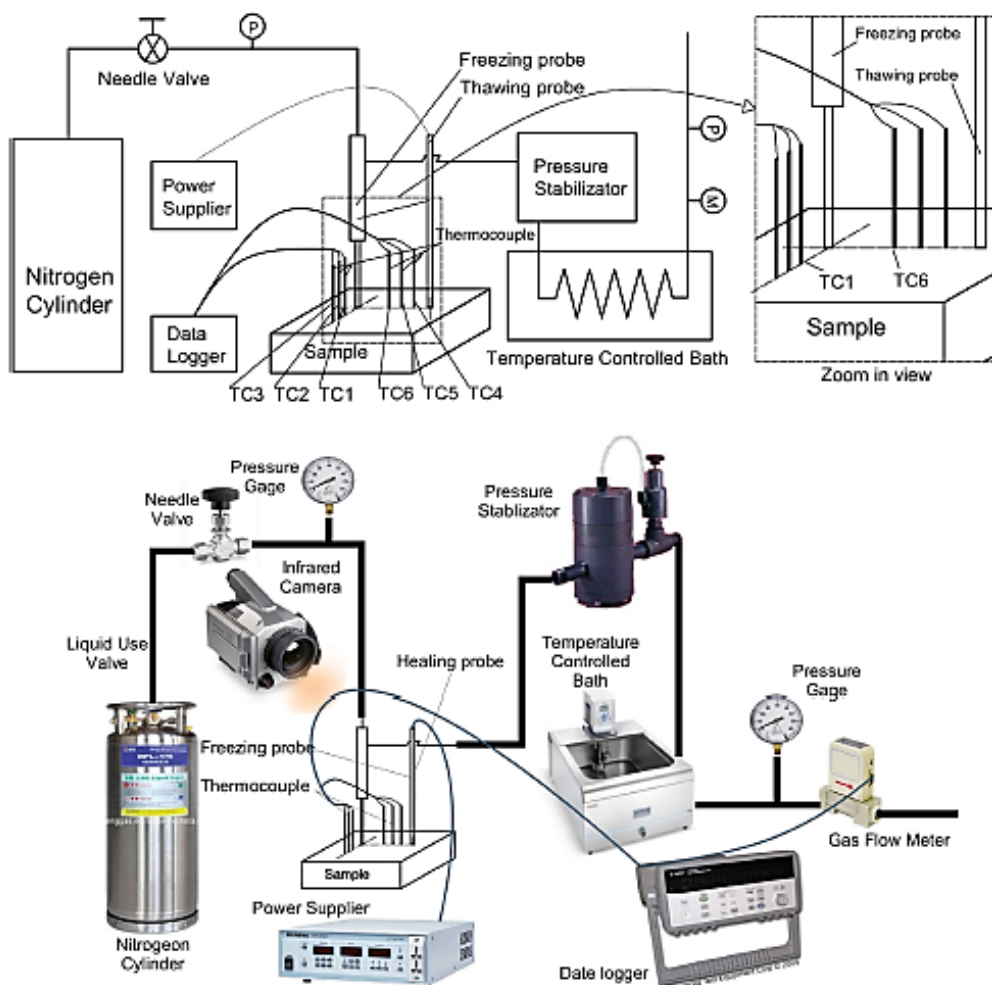
Χρησιμοποιώντας ένα και μόνο cryoheater, το αποτέλεσμα είναι συνήθως περιορισμένο όσον αφορά την κρυοκαταστροφή μεγάλων όγκων ιστών. Επίσης μια πολύπλοκη δομή ιστών μειώνει περαιτέρω την αξιοπιστία ενός υβριδικού cryoprobe με ένα μοναδικό cryoheater. Από την άλλη η αποτελεσματικότητα των κρυοχειρουργικών διαδικασιών στις μέρες μας απέκτησε μεγάλο ενδιαφέρον στην αντιμετώπιση μεγάλων νεοπλασιών, συχνά ακανόνιστου σχήματος. Για να αντιμετωπιστεί αυτό το πρόβλημα, η κοινή κρυοθεραπευτική προσέγγιση έχει συνδυαστεί με πολλαπλά cryoheaters για την επέκταση της περιοχής κρυονέκρωσης. Ωστόσο, η χωροταξία των κεφαλών (cryoprobe και cryoheaters) πρέπει να σχεδιάζεται προσεκτικά καθώς μια ακατάλληλη τοποθέτηση μπορεί να προκαλέσει μεγαλύτερη θερμική καταστροφή υγιών ιστών ή να προκαλέσει ανεπαρκή κρυοβλάβη στο στον καρκινικό ιστό - στόχο.

Έτσι έχουν κατασκευαστεί υβριδικά cryoprobes που συνήθως φέρουν τέσσερις ή έξι κεφαλές θέρμανσης και προσφέρουν μη ομοιόμορφη και ελεγχόμενη κατάψυξη ιστών που είναι ικανή να προσαρμόζεται σε ανομοιόμορφες χωρικά βλάβες με κατάλληλη προσαρμογή των διαφορών θερμοκρασίας μεταξύ του cryoprobe και καθενός από τα cryoheaters. Το τελευταίο μάλιστα χαρακτηρίζει τις ανωτέρω διατάξεις ως συσκευές κατευθυνόμενης κατάψυξης. Μια τέτοια συσκευή φαίνεται στο Σχήμα 58.



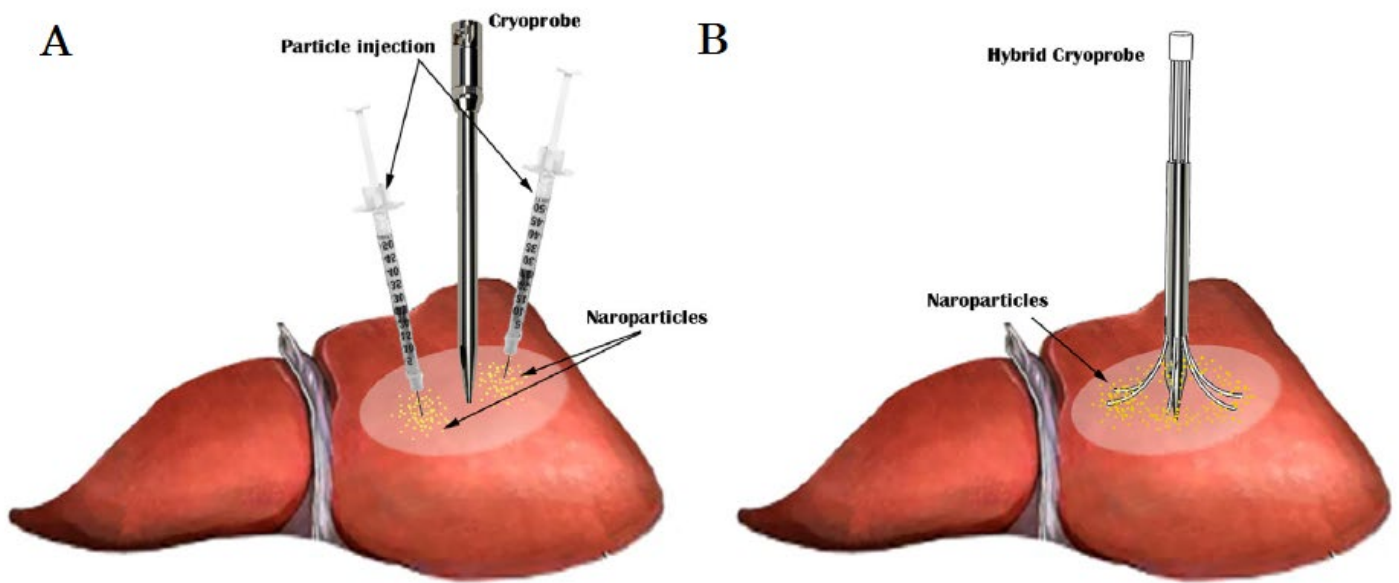
Σχήμα 58: Διαδικασία ανάπτυξης του υβριδικού cryoprobe με έξι cryoheaters στη θέση του ιστού – στόχου. Step_1: Τοποθέτηση του cryoprobe στον ιστό, Step_2: Προώθηση των cryoheaters μέσα από το κύριο στέλεχος του cryoprobe, Step_3: Ανάπτυξη των cryoheaters στις τελικές τους θέσεις [20].

Το σχηματικό διάγραμμα της εγκατάστασης εμφανίζεται στο Σχήμα 59. Το υπό πίεση υγρό άζωτο είναι αποθηκευμένο σε έναν κύλινδρο και απελευθερώνεται ελεγχόμενα με χρήση βαλβίδας τύπου βελόνης (needle valve). Ένα τυπικό cryoprobe διαμέτρου 6 mm προκαλεί την εξάτμιση του ψυκτικού μέσου σε ένα μικρό θάλαμο αφού περάσει από ένα ακροφύσιο που βρίσκεται κοντά στην άκρη του cryoprobe. Επιπλέον εφαρμόζεται περιφερικά ένα στρώμα κενού ώστε να μονωθεί ένα τμήμα του cryoprobe. Μια ελεγχόμενη πηγή θερμότητας εξασφαλίζει την θέρμανση των cryoheaters που ελέγχουν την ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου. Η πηγή είναι ελεγχόμενη από μια γραμμική πηγή ισχύος εναλασσόμενου ρεύματος. Επιπρόσθετα έξι λεπτά θερμοζεύγη τύπου T, χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της θερμοκρασίας του ιστού (TC1 TC3 TC4 TC5) και εν γένει είναι γραμμικώς ευθυγραμμισμένα σε ίση απόσταση 5 mm μεταξύ τους. Η απόσταση μεταξύ της TC1 και του κέντρου του cryoprobe είναι περίπου 7 mm, ενώ οι μετρήσεις θερμοκρασίας αποθηκεύονται στη μνήμη ηλεκτρονικού υπολογιστή με τη βοήθεια ειδικού αναλογοψηφιακού μετατροπέα (ADC). Η συνολική διάταξη φαίνεται στο Σχήμα 59.



Σχήμα 59: Διάταξη σύγχρονου κρυοχειρουργικού συστήματος με υβριδικά cryoprobes [20].

Μια άλλη μέθοδος για τον έλεγχο του κατεψυγμένου όγκου που προκύπτει κατά την κρυοθεραπεία είναι η έγχυση νανοσωματιδίων που όπως θα δούμε και στη συνέχεια ανάλογα με το είδος τους μπορούν να τροποποιούν κατάλληλα τις θερμικές ιδιότητες του ιστού – στόχου. Έτσι η μέθοδος αυτή μπορεί να συνδυάζεται με τη χρήση εξοπλισμού με υβριδικά cryoprobes ώστε να παρέχεται συνεργικό αποτέλεσμα ως προς τη μετάδοση θερμότητας και συνεπώς αποτελεσματικότερη κρυονέκρωση της βλάβης. Στο Σχήμα 60 φαίνεται ο συνδυασμός της έγχυσης νανοσωματιδίων με τη χρήση υβριδικών cryoprobes.



Σχήμα 60: (Α) Έγχυση νανοσωματιδίων στην περιοχή – στόχο προκειμένου να επιτευχθούν οι επιθυμητές τοπικές θερμικές ιδιότητες, (Β) Ολοκλήρωση της κρυοκαταστροφής της βλάβης με χρήση υβριδικού cryoprobe. Η διαδικασία αυτή παρέχει αυξημένη αποτελεσματικότητα κρυονέκρωσης λόγω βελτιστοποίησης των θερμοφυσικών χαρακτηριστικών του ιστού σε συνδυασμό με το έλεγχο της διαδικασίας απόψυξης [20].

4.5 ΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ [4,29,54]

Πολλά πρόσφατα πειράματα έχουν στόχο τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας των μεθόδων της Κρυοχειρουργικής. Ο ουσιαστικότερος στόχος για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας αφορά στη διαχείριση της περιφέρειας του κρυογονικού τραύματος όπου η κυτταρική καταστροφή είναι μερική. Η συνδυασμένη Κρυοχειρουργική εμπεριέχει τη χρήση επικουρικών παραγόντων σε συνδυασμό με τη «κλασική» Κρυοχειρουργική, όπως χημικές ουσίες, κυτταροτοξικά φάρμακα ή ακτινοβολία και έχει αποδειχθεί να συμβάλει στην ολοκλήρωση της καταστροφής των κυττάρων στην περιφέρεια της κρυογονικής βλάβης.

Τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα κατά του καρκίνου είναι οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενοι επικουρικοί θεραπευτικοί παράγοντες. Η χημειοθεραπεία κατά του καρκίνου έχει χρησιμοποιηθεί σε ασθενείς οι οποίοι έλαβαν επίσης κρυοχειρουργική θεραπεία απο πολλά χρόνια, κατά τις διάφορες κλινικές εφαρμογές της Κρυοχειρουργικής για κακοήθεις νόσους, στα τέλη του 1960 και 1970. Ωστόσο, σε αυτά τα χρόνια, δεν έγινε καμία ουσιαστική προσπάθεια για την ενσωμάτωση των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων στην κρυοχειρουργική θεραπεία με συντονισμένο τρόπο. Η κοινή κλινική χρήση των

κυτταροτοξικών φαρμάκων με τη Κρυοχειρουργική γίνεται με τη χορήγηση τους στη συστηματική κυκλοφορία μέσω μείζονος φλεβικού στελέχους και αυτό έχει γενικά μια θετική γενική επίδραση, αν και όχι χωρίς κινδύνους όταν χρησιμοποιούνται πλήρεις θεραπευτικές δόσεις. Ο μηχανισμός του επαγόμενου οφέλους έχει ερευνηθεί συστηματικά. Οι Cooper και Fraser χορήγησαν κυκλοφωσφαμίδη σε ποντίκια με υποδοριώς εμφυτευμένο σάρκωμα 3 μέρες πριν από έναν ενιαίο κύκλο ψύξης - απόψυξης των 2 min σε ένα cryoglobe θερμοκρασίας -70 °C, που εφαρμοζόταν άμεσα πάνω στον όγκο. Η συνδυασμένη θεραπεία προσέφερε περισσότερες περιπτώσεις θεραπείας σε σχέση με τη Κρυοχειρουργική από μόνη της. Επίσης υποστήριξαν μια επαγόμενη από την κυκλοφωσφαμίδη κυτταρικού τύπου ανοσία. Μια πρόσφατη έρευνα επικεντρώνεται στο μηχανισμό των ευεργετικών δράσεων που προβλέπονται από τα in vitro πειράματα του Clarke, τα οποία έδειξαν ότι ο συνδυασμός της κατάψυξης και της χορήγησης 5-φθοριοουρακίλης προκαλεί μια μεγαλύτερη μείωση στη κυτταρική επιβίωση είτε από την κατάψυξη είτε από τον χημειοθεραπευτικό παράγοντα. Το αποτέλεσμα αυτό συνεπάγεται ότι τα αντικαρκινικά φάρμακα προωθούν απόπτωση που κυρίως επισυμβαίνει στην περιφερική ζώνη της κρυοβλάβης.

Τα πειράματα του Wang μελέτησαν την επίδραση της Κρυοχειρουργικής με επικουρική χορήγηση 5-φθοριοουρακίλης στην απόπτωση των κύτταρων γλοιώματος (όγκος του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος) που εμφυτεύονται σε ποντίκια. Συμπέρανε ότι, παρόλο που τόσο η Κρυοχειρουργική όσο και το χημειοθεραπευτικό φάρμακο μπορούν να προκαλέσουν απόπτωση ανεξάρτητα το ένα από το άλλο, ωστόσο ο συνδυασμός τους ενισχύει το θεραπευτικό αποτέλεσμα επι των κυττάρων του γλοιώματος. Άλλος μηχανισμός οφέλους από τη συνδυαστική χρήση κρυοθεραπείας και χημειοφαρμάκων προτάθηκε από τους Mir και Rubinsky, οι οποίοι κατά την κατάψυξη κυττάρων μελανώματος in vitro, διαπίστωσαν ότι τα κύτταρα έγιναν διαπερατά στη μπλεομυκίνη. Το φάρμακο αυτό συνήθως δεν διαπερνά τα κύτταρα, έτσι ώστε τα πειράματα αυτά να μπορούν να αποκτήσουν θεραπευτικές ενδείξεις. Το όφελος της κρυοεπικουρικής χημειοθεραπείας ήταν επίσης εμφανές στα ενδιαφέροντα πειράματα του Forest, ο οποίος χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο ανθρώπινου καρκίνου του πνεύμονα εμφυτευμένο σε ποντίκια εφάρμοσε Κρυοχειρουργική, χημειοθεραπεία (Vinorelbine) ή και τα δύο συνδυαστικά. Η συνδυασμένη θεραπεία είχε καλύτερο αποτέλεσμα στη μείωση του όγκου συγκριτικά με το κάθε σκέλος της μεμονωμένα. Επίσης αποδόθηκε στη Κρυοχειρουργική το φαινόμενο της καθυστερημένης αγγειογένεσης στην περιοχή του όγκου μετά τη κρυοθεραπεία που έχει βρεθεί να μειώνει την πιθανότητα της τοπικής υποτροπής της νόσου.

Παρά το γεγονός ότι η χρήση των χημειοθεραπευτικών ως συμπλήρωμα της κλασικής κλινικής Κρυοχειρουργικής είναι πλέον κοινή και θεωρείται επωφελής, ωστόσο η βέλτιστη δόση και το χρονοδιάγραμμα της χορήγησης τους δεν είναι σαφώς καθορισμένα. Το κλειδί για την αποτελεσματική χρήση των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων βρίσκεται στο ότι αν η χορήγηση λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της κρυοχειρουργικής διαδικασίας, οι θεραπευτικές ουσίες θα συσσωρευτούν ή θα παγιδευτούν στην περιοχή του όγκου ως αποτέλεσμα της αναπτυσσόμενης απόφραξης της μικροκυκλοφορίας. Αυτό το χρονοδιάγραμμα της χορήγησης των φαρμάκων υποστηρίζεται από τα πειράματα του Benson, ο οποίος παράγοντας κρυογονική βλάβη στη γλώσσα σκύλου, παρατήρησε ότι το εγχεόμενο διάλυμα κυανού του μεθυλενίου παρέμεινε εγκλωβισμένο στην προηγουμένως κατεψυγμένη περιοχή, καθώς η μικροκυκλοφορία σταδιακά αποτύγγανε να διατηρήσει την βατότητα της κατά την περίοδο της απόψυξης. Στη συνέχεια, επέκτεινε την αρχή αυτή με τη χρήση μεθοτρεξάτης ως συμπλήρωμα στη Κρυοχειρουργική του καρκίνου του στόματος. Ο Ikekawa, διερεύνησε την επίδραση του συνδυασμού Κρυοχειρουργικής και κυτταροτοξικών φαρμάκων σε πειράματα με καρκινικούς όγκους μελανώματος σε ποντίκια. Τα αντικαρκινικά φάρμακα, πεπλομυκίνη και αδριαμυκίνη, χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκώς. Όταν η χορήγηση έγινε μετά τη Κρυοχειρουργική, τα χημειοθεραπευτικά βρέθηκαν να ήταν

παγιδευμένα στην περιοχή του όγκου. Αντίθετα όταν τα φάρμακα δόθηκαν πριν από τη Κρυσχειρουργική, δεν ήταν παγιδευμένα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το χρονοδιάγραμμα της χορήγησης των χημειοθεραπευτικών ήταν πολύ σημαντική παράμετρος. Ο Homasson έδειξε ότι η μπλεομυκίνη, χορηγούμενη ενδοφλεβίως σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα παραμένει παγιδευμένη στον όγκο μέχρι και 15 ημέρες μετά τη Κρυσχειρουργική .

Η τοπικά χορηγούμενη χημειοθεραπεία, δηλαδή η διάθεση των χημειοθεραπευτικών απευθείας στην περιοχή των υπο ανάπτυξη όγκων, είναι μια ελκυστική θεραπευτική επιλογή που βρίσκεται αυτή τη στιγμή σε φάση εξέλιξης. Ο Le Rivert χρησιμοποιώντας καρκινικά κύτταρα από προστατικό νεόπλασμα που εμφυτεύτηκαν υποδορίως σε ποντίκια, μετά την κατάψυξη του καρκινικού όγκου σε ένα ενιαίο κύκλο, προχώρησε στην εμφύτευση μικροκαψουλών 5-φθοριουρακίλης στην περιφέρεια των όγκων. Το αποτέλεσμα ήταν συνυφασμένο με τη διαπίστωση ενός δραματικού περιορισμού στην ανάπτυξη του νεοπλάσματος. Στο Διάγραμμα 7 φαίνεται η διαφορά στην επιβίωση των κυττάρων του όγκου από κλασική και συνδυασμένη με χημειοθεραπεία Κρυσχειρουργική στην άμεση μετεγχειρητική περίοδο.

Ο Goel εμφυτεύοντας κύτταρα από καρκίνο του προστάτη στο ραχιαίο δέρμα και στα οπίσθια άκρα ποντικών, ως μοντέλο για Κρυσχειρουργική, χορήγησε στην περιοχή της νεοπλασίας υδατοδιαλυτό παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF- α) τοπικά ή συστηματικά ενδοφλεβίως και στη συνέχεια προχώρησε στη κατάψυξη του όγκου. Το αποτέλεσμα ήταν η αύξηση του ορίου θερμοκρασίας για νέκρωση (δηλαδή η επίτευξη κρυστάλλωσης σε υψηλότερη θερμοκρασία από την πειραματική, με χρήση της Κρυσχειρουργικής μόνο) και η μείωση του μεγέθους του όγκου από τη συνδυασμένη θεραπεία. Σε μια σχετική έρευνα, η κατάψυξη του δέρματος για τη θεραπεία όγκων σε ένα μοντέλο γυμνών ποντικών, ο Yang χρησιμοποίησε διάλυμα TNF- α ως επικουρικό παράγοντα και απέδειξε ότι η χρήση του υδατοδιαλυτού παράγοντα προκάλεσε το θάνατο των κυττάρων από την ενεργοποίηση δύο διακριτών μηχανισμών. Ο πρώτος αφορούσε την αποπτωτική διαδικασία και ο δεύτερος τη φλεγμονώδη.

Η ακτινοθεραπεία χρησιμοποιείται ευρέως στην θεραπεία πολλών όγκων που αντιμετωπίζονται επίσης με Κρυσχειρουργική. Ωστόσο, ως επικουρική θεραπεία, ο χρονισμός της χορήγησης της ακτινοβολίας δεν είναι σαφής. Πειράματα *in vitro* έχουν δείξει ότι η ακτινοευαισθησία των κυττάρων που καταψύχονται είναι σημαντικά αυξημένη.

Θα περίμενε κανείς ότι η ακτινοθεραπεία και η Κρυσχειρουργική, συνδυαζόμενες και συγχρονισμένες με κάποιο τρόπο, θα ενισχύσουν την αποτελεσματικότητα και των δύο.

Η χρήση αντιψυκτικών πρωτεϊνών, οι οποίες είναι γλυκοπρωτεΐνες που μπορούν να τροποποιήσουν τον σχηματισμό κρυστάλλων πάγου, έχει ερευνηθεί ήδη μέχρι σήμερα, εκτενώς ως εναλλακτικός επικουρικός παράγοντα στη Κρυσχειρουργική. Οι Koushafar και Rubinsky εργαζόμενοι με κύτταρα από καρκίνο του προστάτη έδειξαν ότι οι καταστροφικές συνέπειες της κατάψυξης εμφανίζονται να ενισχύονται με τη χρήση αντιψυκτικών πρωτεϊνών. Οι ενδοκυττάριοι κρύσταλλοι πάγου, πλέον σχηματίζονταν σε υψηλότερες θερμοκρασίες κατάψυξης, με αποτέλεσμα να προκαλείται μια περισσότερο εκτεταμένη μηχανική φθορά των κυττάρων. Τα πειράματα *in vivo* από τον Pham με γυμνά ποντίκια με υποδορίως εμφυτευμένο μεταστατικό καρκίνο του προστάτη, έδειξαν ότι η προεγχειρητική έγχυση αντιψυκτικής πρωτεΐνης στη νεοπλασία πριν από την κατάψυξη, βελτιώνει την καταστροφική επίδραση της κρυσθεραπείας. Χρησιμοποιώντας εναιώρημα αντιψυκτικών πρωτεϊνών ως επικουρική κρυσθεραπεία σε υποδόριο νεόπλασμα αρουραίου από καρκινικά κύτταρα προστατικού όγκου, ο Muldrew δημοσίευσε ότι ένας διπλός κύκλος ψύξης - απόψυξης με χορήγηση αντιψυκτικών πρωτεϊνών εντός του όγκου παρείχε καλύτερη ιστική κρυστάλλωση σε σχέση με τη μέθοδο της απλής ψύξης - απόψυξης ενός κύκλου και μόνο. Υποστήριξε ότι η αντιψυκτική πρωτεΐνη μπορεί να επιφέρει καλύτερα αποτελέσματα όταν χορηγείται στο μεσοδιάστημα μεταξύ των κύκλων της ψύξης - απόψυξης, διάστημα κατά το οποίο αναπτύσσεται η αγγειακή στάση, η οποία θα

διατηρήσει τον παράγοντα σε αλληλεπίδραση με τον όγκο για περισσότερο χρόνο.

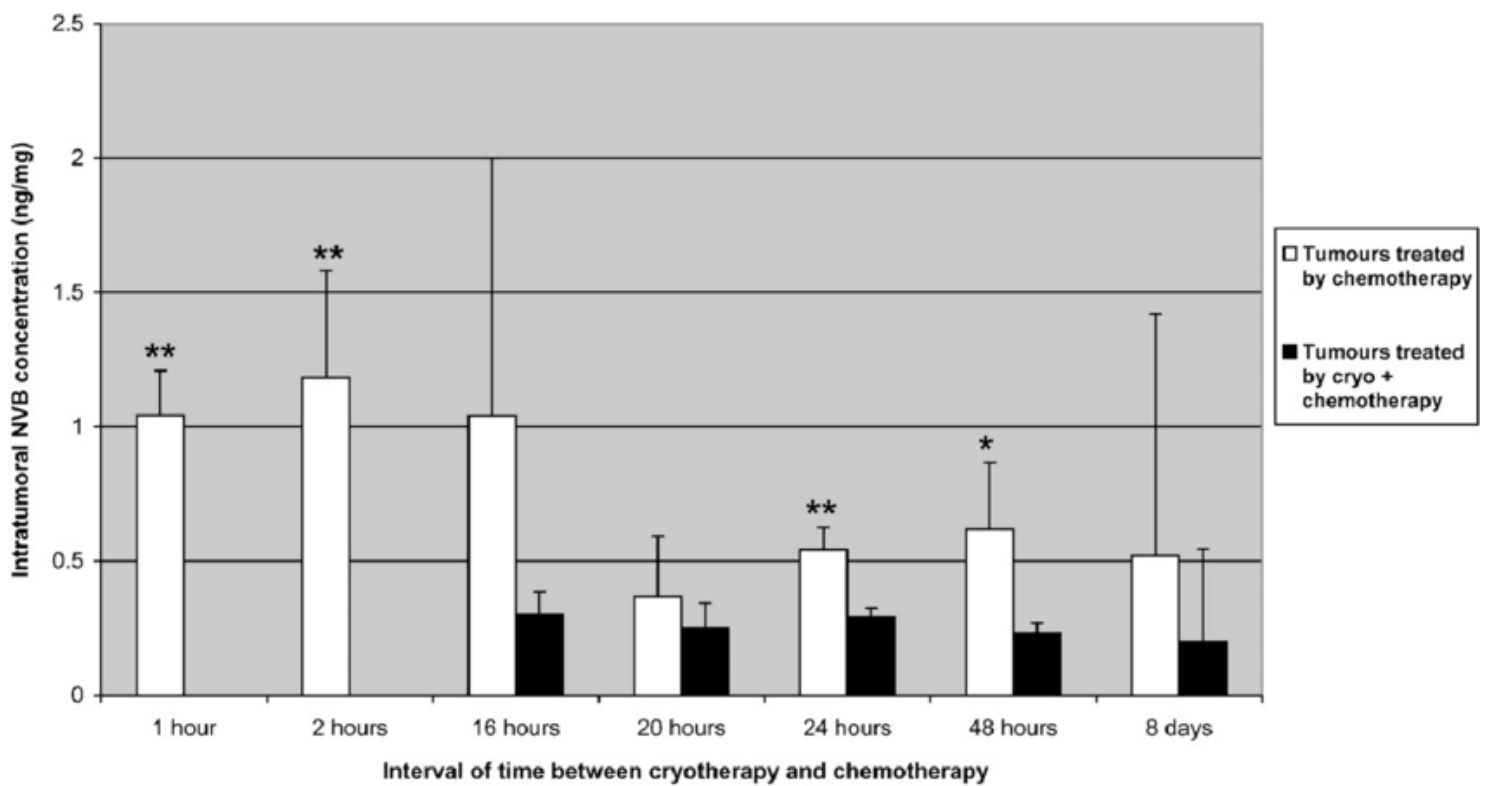
Σήμερα, ως κύριοι κρυοπροστατευτικοί (αντιψυκτικοί) παράγοντες χρησιμοποιούνται κυρίως το διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO), το κολλοειδές υδροξυεθύλιο (HES) και η γλυκερίνη. Σε πρόσφατη πειραματική μελέτη από τον McGann, πραγματοποιήθηκε η τεχνική της κατάψυξης δύο σταδίων για να εξεταστεί ο ρόλος των παραπάνω κρυοπροστατευτικών παραγόντων κατά τη διάρκεια της ψύξης. Ινοβλάστες από χάμστερ καταψύχθηκαν σε διάφορες υπό του μηδενός θερμοκρασίες και, στη συνέχεια, αποψύχθηκαν ή καταψυχθήκαν περαιτέρω στους -196°C πριν την απόψυξη. Τα κύτταρα βρέθηκε να καταστρέφονται σε διάφορες συγκεντρώσεις του διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO), που είναι ένα κυτταροδιαπερατό μόριο, ή του κολλοειδούς υδροξυεθυλίου (HES), που δεν είναι κυτταροδιαπερατό, κατά την κατάψυξη. Τα αποτελέσματα έδειξαν διαφορετικές προστατευτικές δράσεις των DMSO και HES. Οι διαφορές αυτές επαληθεύτηκαν με γλυκερίνη είτε ως έναν διαπερατό ή μη διαπερατό παράγοντα. Η γλυκερίνη είναι γνωστό ότι ασκεί την κρυοπροστατευτική της δράση ως ενδοκυττάριος παράγοντας σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες του μηδενός και ως εξωκυττάριος παράγοντας σε θερμοκρασίες υπο του μηδενός.

Τα αποτελέσματα είναι συνεπή με την αρχή ότι η κρυοπροστασία βασίζεται στην αποφυγή ή ελαχιστοποίηση της ενδοκυττάριας κατάψυξης και την ελαχιστοποίηση της κυτταρικής βλάβης από υπεροσμωτικό περιβάλλον, με υψηλή συγκέντρωση διαλυμένων ουσιών (πρόκειται για το φαινόμενο διαλυτότητας που προκαλείται από την έξοδο ύδατος από το κύτταρο και την επερχόμενη κυτταρική αφυδάτωση λόγω εξωκυττάριας σχηματισμού κρυστάλλων πάγου κατά τη διάρκεια της κατάψυξης), και στο ότι η φυσικοχημική δράση τόσο των μεμβρανοδιαπερατών όσο και των μη μεμβρανοδιαπερατών παραγόντων επιτρέπει στα κύτταρα να επιβιώσουν στο υπεροσμωτικό περιβάλλον αυτό. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι μεμβρανοδιαπερατοί και οι μη μεμβρανοδιαπερατοί παράγοντες εκπληρώνουν τη φυσιολογική τους λειτουργία με διαφορετικούς τρόπους. Οι διεισδυτικές ουσίες δημιουργούν το κατάλληλο περιβάλλον για τη μείωση της κυτταρικής περιεκτικότητας σε νερό, σε θερμοκρασίες αρκετά χαμηλότερες, ώστε να μειώνονται οι επιβλαβείς επιπτώσεις της συγκέντρωσης διαλυμένων ουσιών στα κύτταρα. Οι μη διεισδυτικές ουσίες ρυθμίζουν ωσμωτικά την έξοδο του ενδοκυτταρικού ύδατος κατά τις πρώτες φάσεις της κατάψυξης σε θερμοκρασίες μεταξύ -10°C και -20°C , όταν αυτές αποχτήσουν επαρκείς συγκεντρώσεις στο εξωκυττάρια υγρό.

Εν ολίγοις, η χρήση επικουρικών παραγόντων είναι μια ελκυστική μέθοδος για την αύξηση της αποτελεσματικότητας της Κρυοχειρουργικής. Η επιλογή των κυτταροτοξικών (χημειοθεραπευτικών) φαρμάκων πρέπει να είναι κατάλληλη για την καταπολέμηση των κακοήθων όγκων που αποτελούν το στόχο της κρυοθεραπείας και επίσης το χρονοδιάγραμμα της χορήγησης τους να είναι το βέλτιστο. Το ογκοκαταστροφικό τους αποτέλεσμα είναι απαραίτητο στην περιφέρεια του όγκου, όπου αναμένονται θερμοκρασίες που τυπικά δεν αρκούν στο να εξαλείψουν όλα τα κύτταρα και όπου η χειραγώγηση της απόπτωσης καθίσταται συνεπώς απαραίτητη για την αύξηση της απόδοσης της μεθόδου. Το χρονοδιάγραμμα της χορήγησης των χημειοθεραπευτικών για το μέγιστο όφελος δεν είναι ακόμη σαφές. Ίσως η συνεχής, χαμηλής δόσης, χημειοθεραπεία αποτελεί την καλύτερη επιλογή. Επιπλέον η χρήση κρυοπροστατευτικών παραγόντων μπορεί να αποδειχθεί μια εξαιρετικά χρήσιμη τεχνική στη διαχείριση των ζωνών κρυοκαταστροφής γύρω από το σημείο εφαρμογής του cryoprobe. Στο πλαίσιο αυτό τα τελευταία χρόνια βρίσκεται υπο ανάπτυξη μια νέα μέθοδος στη συνδυασμένη Κρυοχειρουργική που αφορά στο συνδυασμό της πρώτης με νανοσωματίδια που ανάλογα με το είδος τους μπορούν να τροποποιούν κατάλληλα τις θερμικές ιδιότητες της αρχικής βλάβης αλλά και των πέριξ υγιών ιστών προκειμένου να βελτιστοποιηθεί το προφίλ της

κρυοθεραπείας τόσο ως προς τη κρυονέκρωση του όγκου, όσο και στον περιορισμό της κατάψυξης των πέριξ υγιών ιστών. Η πλήρης περιγραφή της μεθόδου θα ακολουθήσει στο δεύτερο μέρος μαζί με την ανάπτυξη ενός ενιαίου μοντέλου για τη μελέτη, τη πρόβλεψη της εξέλιξης, αλλά και τον καθορισμό των απαραίτητων παραμέτρων για μια περισσότερο αποτελεσματική κλινική εφαρμογή της.

Στο Διάγραμμα 11 παρουσιάζεται η επιβίωση των νεοπλασματικών κυττάρων συγκριτικά για την περίπτωση της χρήσης της συμβατικής Κρυοχειρουργικής και την περίπτωση της συνδυασμένης Κρυοχειρουργικής. Η σύγκριση πραγματοποιείται για τον προσδιορισμό του βέλτιστου μεσοδιαστήματος ως προς την χορήγηση χημειοθεραπευτικών παραγόντων. Όπως φαίνεται από το διάγραμμα η μέγιστη αντινεοπλασματική δράση για τη συνδυασμένη Κρυοχειρουργική προκύπτει όταν η χορήγηση της χημειοθεραπείας ακολουθεί την κρυοθεραπεία με μεσοδιάστημα άνω των 48 ωρών.



Διάγραμμα 11: Σύγκριση μεταξύ της συμβατικής και της συνδυασμένης Κρυοχειρουργικής ως προς το βέλτιστο μεσοδιάστημα μετά την κρυοθεραπεία για τη χορήγηση χημειοθεραπευτικών παραγόντων ως προς την επιβίωση των νεοπλασματικών κυττάρων του όγκου. Είναι εμφανής η σχετική υπεροχή της συνδυασμένης Κρυοχειρουργικής όταν εφαρμόζεται μεσοδιάστημα μεγαλύτερο από 48 ώρες μέχρι και 8 ημέρες [Πηγή: Διαδίκτυο].

ΜΕΡΟΣ II

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΓΕΝΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΝΑΝΟΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ [23,61,62]

Η Κρυοχειρουργική, που ονομάζεται επίσης κρυοθεραπεία ή κρυοκαταστροφή, είναι μια τεχνική που χρησιμοποιεί την κατάψυξη για να καταστρέψει τους ανεπιθύμητους ιστούς. Η θεραπεία γίνεται ολοένα και πιο δημοφιλής διότι έχει αρκετά κλινικά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με την παραδοσιακή χειρουργική. Συγκεκριμένα, είναι λιγότερο επεμβατική και λιγότερο δαπανηρή και προκαλεί λιγότερο πόνο, αιμορραγία και άλλες επιπλοκές που συχνά προκύπτουν από τη χειρουργική επέμβαση. Συνεπώς η Κρυοχειρουργική απαιτεί πολύ μικρότερο χρόνο αποκατάστασης και παραμονής στο νοσοκομείο από τις παραδοσιακές χειρουργικές εκτομές.

Η Κρυοχειρουργική δεν μπορεί ακόμη να θεωρηθεί ως πρώτη γραμμή θεραπεία για τον καρκίνο. Ωστόσο, είναι ταχύτατα αναπτυσσόμενη ως εναλλακτική λύση στις παραδοσιακές θεραπείες, καθώς ο τομέας της Κρυοχειρουργικής έχει επεκταθεί ευρέως από τη στιγμή της αρχικής του σύλληψης. Σε πολλές κλινικές περιπτώσεις διαπιστώθηκε ότι η κατάψυξη από μόνη της δεν μπορεί να καταστρέψει τη στοχοθετημένη νεοπλασία, ως αποτέλεσμα της ανεπαρκούς ή ακατάλληλης καταψυγμένης έκτασης γύρω από το cryoglobe. Οι γύρω υγιείς ιστοί μπορεί από την άλλη να υποστούν κρυονέκρωση εξαιτίας της μεγάλης ποσότητας ψύχους που απελευθερώνεται από την κεφαλή κατάψυξης. Για το λόγο αυτό έχουν προταθεί αρκετές επικουρικές θεραπείες για την αύξηση της αποτελεσματικότητας της Κρυοχειρουργικής, όπως αναφέρθηκε και στο προηγούμενο μέρος. Χημικοί επικουρικοί όπως τα αντινεοπλασματικά χημειοθεραπευτικά φάρμακα, οι αντιψυκτικές πρωτεΐνες, τα ανοσοενισχυτικά αμινοξέα όπως η γλυκίνη και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων τύπου α (TNF-α σε μορφή διαλύματος) έχουν ερευνηθεί για το σκοπό αυτό. Η χρήση ανοσοενισχυτικών παραγόντων έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει την καταστροφή και την απεικόνιση, και ενδεχομένως να μειώνει την τοπική υποτροπή της νόσου. Ωστόσο, παρά το ότι η έννοια της ανοσολογικής υποβοήθησης στη Κρυοχειρουργική προκάλεσε αρχικά μεγάλο ενδιαφέρον, πολλές προκλήσεις πρέπει να αντιμετωπιστούν πριν να είναι δυνατή μια δυναμική κλινική εφαρμογή. Αυτό περιλαμβάνει το πώς θα γίνει η επιλογή της πλέον κατάλληλης κρυοεπικουρικής αγωγής, και το πώς να καθορίζεται το μεσοδιάστημα μεταξύ του ανοσοενισχυτικού και της κρυοθεραπείας.

Η Νανοκρυοχειρουργική επομένως έχει προταθεί για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της κατάψυξης της συμβατικής κρυοχειρουργικής διαδικασίας. Ο βασικός μηχανισμός της Νανοκρυοχειρουργικής υποστηρίζει την χορήγηση νανοσωματιδίων (NPs) με ευνοϊκές φυσικές ή και χημικές ιδιότητες σε ιστούς-στόχους. Τα NPs τότε χρησιμεύουν ως βοηθητική θεραπεία ή φάρμακο μεταφοράς, είτε για τη μεγιστοποίηση της ροής θερμότητας, τη ρύθμιση της κατεψυγμένης ζώνης, καθώς και την τροποποίηση του προσανατολισμού του κατεψυγμένου όγκου κατά τον σχηματισμό του είτε για την αποφυγή κρυοβλάβης στους γύρω υγιείς ιστούς. Οι μηχανισμοί της Νανοκρυοχειρουργικής απεικονίζεται στο κέντρο του Σχήματος 61.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 61, τα κορυφαία χαρακτηριστικά της Νανοκρυσταλλικής μπορούν να συνοψιστούν ως εξής:

- I. Με χρήση NPs, η ενδοκυττάρια αφυδάτωση είναι πιο έντονη.
- II. Η χρήση NPs βελτιώνει τον σχηματισμό κρυστάλλων πάγου και, έτσι, βελτιώνει το προφίλ αποτελεσματικότητας ως προς την καταστροφή του καρκινικού όγκου.
- III. Αποδυναμώνει την κατάψυξη σε υγιείς ιστούς και έτσι επιτυγχάνει τη θερμική τους προστασία.
- IV. Ενισχύει την ανάπτυξη των κρυστάλλων πάγου στη φάση της ανακρυστάλλωσης και έτσι εγγυάται την πλήρη καταστροφή της νεοπλασίας.
- V. Τα NPs, μπορούν να βελτιώσουν ποιοτικά την αντίθεση εικόνας κατά την απεικόνιση και παρέχουν καλύτερη εικόνα προσανατολισμού και διενέργειας της κρυσταλλικής διαδικασίας.

Σε πρόσφατες μελέτες, η εισαγωγή νανοσωματιδίων οξειδίου του Μαγνησίου (MgO NPs) σε καρκινικά κύτταρα βρέθηκε να βελτιώνει σημαντικά τη θερμική αγωγιμότητα των κυττάρων, η οποία οδήγησε σε βελτίωση του καταστρεπτικού αποτελέσματος της κατάψυξης. Η έγχυση των υψηλής θερμικής αγωγιμότητας NPs στην περιοχή του καρκινικού όγκου επίσης μείωσε την τελική θερμοκρασία, οδήγησε σε αύξηση του ρυθμού κατάψυξης και αύξησε τον όγκο των κρυστάλλων πάγου σε σύγκριση με την απουσία των MgO NPs.

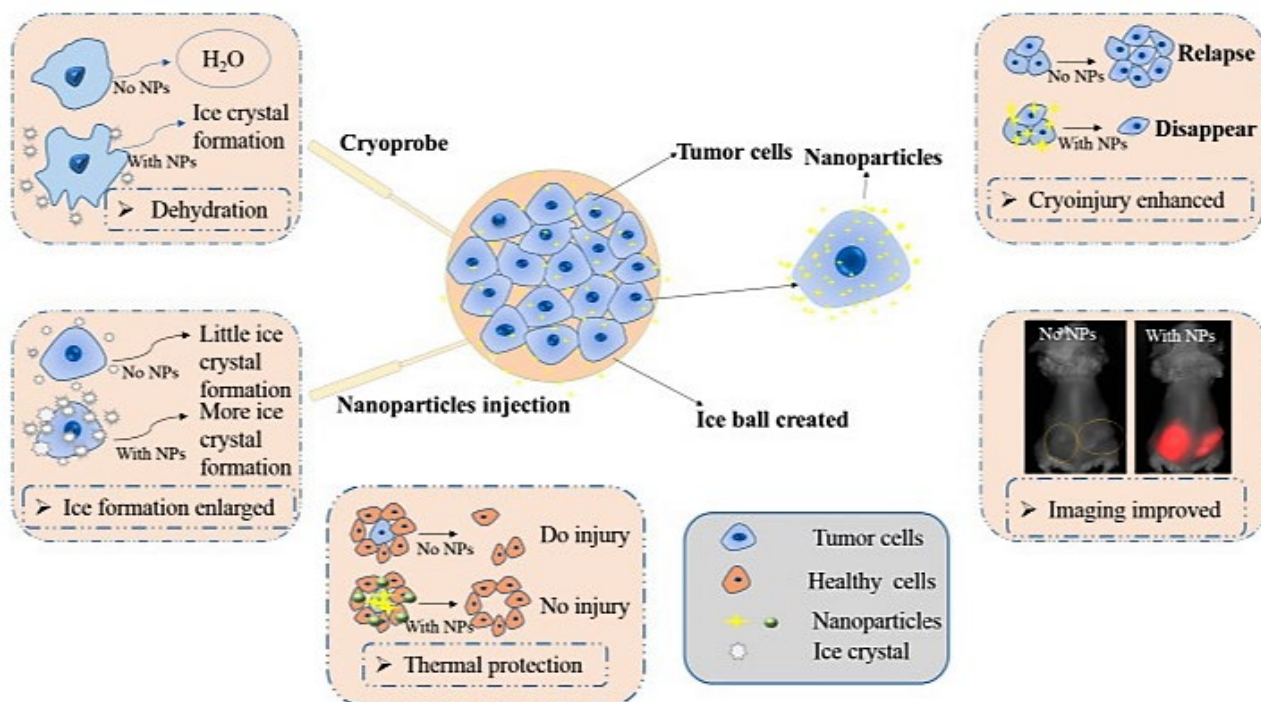
Η φόρτιση των ιστών με NPs, επίσης, κατέστησε ευκολότερο το να επιτευχθεί η ετερογενής πυρηνοποίηση, που παρέχει υψηλότερη πιθανότητα για ενδοκυττάρια σχηματισμό πάγου (IIF) και, συνεπώς, βελτίωση του προφίλ της κρυσταλλικής καταστροφής της νεοπλασίας. Τα NPs έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για να μεταφέρουν αντινεοπλασματικά φάρμακα ή παράγοντες που προάγουν την αντιαγγειογένεση για την περαιτέρω καταστροφή του όγκου. Για παράδειγμα, η χρήση διαλύματος NPs με επίστρωση χρυσού που μεταφέρουν TNF- α βρέθηκε να αυξάνει το όριο θερμοκρασίας για τη νέκρωση όγκων από $-14,0 \pm 1,6^\circ\text{C}$ σε $1,5 \pm 3,7^\circ\text{C}$, και όταν συνδυάζεται με Κρυσταλλική, διαπιστώθηκε καθυστέρηση της ανάπτυξης των όγκων και μείωση του ποσοστού επιβίωσης των κυττάρων όγκου. Ένα σύντομο χρονοδιάγραμμα των εξελίξεων της NP - μεσολαβούμενης Κρυσταλλικής παρουσιάζεται στο Σχήμα 62. Η πλέον πρώιμη έκθεση ως προς τη χρήση NPs για την ενίσχυση της Κρυσταλλικής ήταν το 2005, κατά την οποία χρησιμοποιήθηκαν NPs αλουμινίου για τη ρύθμιση της κρυστάλλωσης των κυττάρων του όγκου με κατευθυνόμενη κατάψυξη. Τα NPs αλουμινίου προώθησαν τη βλάβη από κατάψυξη στους ιστούς - στόχους, αποτρέποντας παράλληλα την κρυσταλλική βλάβη στους φυσιολογικούς ιστούς. Το 2007, προτάθηκε για πρώτη φορά η χρήση αντιψυκτικών πρωτεϊνών (AFPs) για ενίσχυση του κρυσταλλικού. Το 2008, οι Yan και Liu απέδειξαν την αποτελεσματικότητα της των νανοσωματιδίων Αργύρου και Χρυσού (Ag NPs και Au NPs αντίστοιχα), και των Fe₃O₄ NPs (που είναι παραμαγνητικά νανοσωματίδια) ως βοηθητικά μέσα στη Κρυσταλλική. Το 2011, η χρήση βιοαποικοδομήσιμων MgO NPs φάνηκε να βελτιώνει το κρυσταλλικό αποτέλεσμα στη θεραπεία όγκων. Το 2013 η ενσωματωμένη σε νανοσωματίδια δοξορουβικίνη (doxorubicin) (nDOX) συνδυαζόμενη με κρυσταλλική αναφέρθηκε να εξαλείφει σχεδόν όλα τα βλαστικά καρκινικά κύτταρα (ποσοστό επιβίωσης από 16,6% σε 0.6%). Η Νανοκρυσταλλική μπορεί επίσης να παρέχει μια βελτιωμένη εικόνα στις τεχνικές απεικόνισης στην κλινική Κρυσταλλική, γεγονός που αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη εξέλιξη.

Πολλά πλεονεκτήματα έχουν αναγνωρισθεί για το συνδυασμό της νανοτεχνολογίας και της Κρυσταλλικής με αποτέλεσμα να προκύπτουν συνεχώς νέες δυναμικές εφαρμογές αλλά και προκλήσεις. Πιο λεπτομερείς και ολοκληρωμένες μελέτες είναι αναγκαίες σήμερα για την καλύτερη καταγραφή των επιπτώσεων της χρήσης νανοσωματιδίων στη

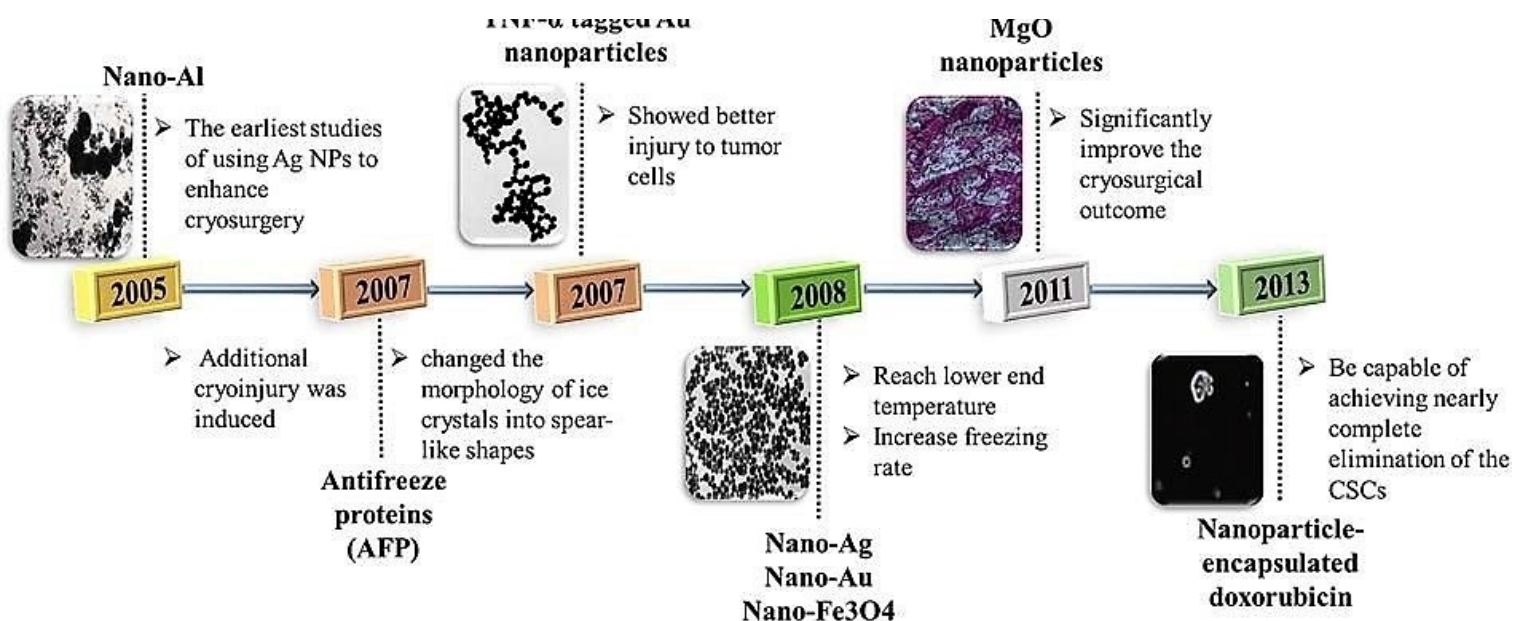
Κρυοχειρουργική.

Εν ολίγοις, ο νεοσύστατος τομέας της Νανοκρυοχειρουργικής είναι πιθανό να διευρύνει τα όρια της νάνο-βιοϊατρικής μηχανικής.

Η NP-μεσολαβούμενη Κρυοχειρουργική είναι πιθανό να καταστεί μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική αγωγή στο εγγύς μέλλον.



Σχήμα 61: Διαγραμματική περιγραφή Νανοκρυοχειρουργικής στην οποία τα κύτταρα – στόχοι είναι φορτισμένα με νανοσωματίδια (NPs). Η κατάψυξη εξελίσσεται ακτινικά ως προς την κεφαλή του cryoprobe και προς τα έξω και οι κρύσταλλοι πάγου που σχηματίζονται συσσωματώνονται για να σχηματίσουν τον κατεψυγμένο όγκο ιστού. Το ρόζ πλαίσιο αντιστοιχεί στα προηγμένα χαρακτηριστικά της Νανοκρυοχειρουργικής σε σχέση με τη συμβατική Κρυοχειρουργική, ενώ το γκρι πλαίσιο περιλαμβάνει τους συμβολισμούς που χρησιμοποιούνται [23].



Σχήμα 62: Χρονικό της αξιοποίησης νανοσωματιδίων στη Κρυοχειρουργική [23].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΣΤΙΣ ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Η εμφάνιση του κυτταρικού θανάτου κατά τη διάρκεια Κρυοχειρουργικής είναι μια συνέπεια είτε άμεση είτε έμμεση, με το σχηματισμό πάγου σε υπό του μηδενός θερμοκρασίες. Ο ενδοκυττάριος σχηματισμός κρυστάλλων πάγου (IIF) είναι θανατηφόρος για τα ζωντανά κύτταρα κατά τη διάρκεια της κρυοθεραπείας. Οι κρύσταλλοι πάγου που σχηματίζονται εξωκυτταρίως μπορούν να οδηγήσουν σε αύξηση της συγκέντρωσης των διαλυμένων ουσιών στο μη παγωμένο εξωκυττάριο υγρό. Αυτό μπορεί να καταστρέψει τα ζωντανά κύτταρα λόγω κατευθυνόμενης από σχηματισμό πάγου κυτταρικής αφυδάτωσης («φαινόμενο διαλύματος»), μετουσίωση πρωτεϊνικών μορίων και αλλαγή φάσης των λιπιδίων στο εσωτερικό των κυττάρων. Ο ενδοκυττάριος σχηματισμός πάγου (IIF) και η επαγόμενη κυτταρική βλάβη σχεδόν σίγουρα εξαρτώνται από πολλές θερμικές ιδιότητες, όπως είναι ο ρυθμός ψύξης, η τελική (ελάχιστη) θερμοκρασία και η χρονική διάρκεια της διατήρησης της τελικής (ελάχιστης) θερμοκρασίας. Ωστόσο, η τελική θερμοκρασία είναι γενικώς αναγνωρισμένη ως η πιο σημαντική παράμετρος για τον καθορισμό της κρυοβλάβης κατά τη κρυοχειρουργική διαδικασία. Η τελική θερμοκρασία κάτω των $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, είναι συνήθως απαραίτητη για την κρυονέκρωση των καρκινικών κυττάρων. Ωστόσο, η θερμοκρασία στην εξωτερική περιφέρεια του κατεψυγμένου όγκου που δημιουργείται κατά τη διάρκεια κρυοθεραπείας είναι συνήθως πολύ υψηλότερη από $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Η εισαγωγή των NPs στο θεραπευτικό πρωτόκολλο μπορεί να οδηγήσει σε καλύτερα ρυθμισμένες θερμικές ιδιότητες, ευρύτερο σχηματισμό κρυστάλλων πάγου, αποτελεσματικότερη κρυοβλάβη και ποιότητα απεικόνισης του κρυοτραύματος.

2.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΣΤΟ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΝ ΠΑΓΟΥ [23,36,61,62]

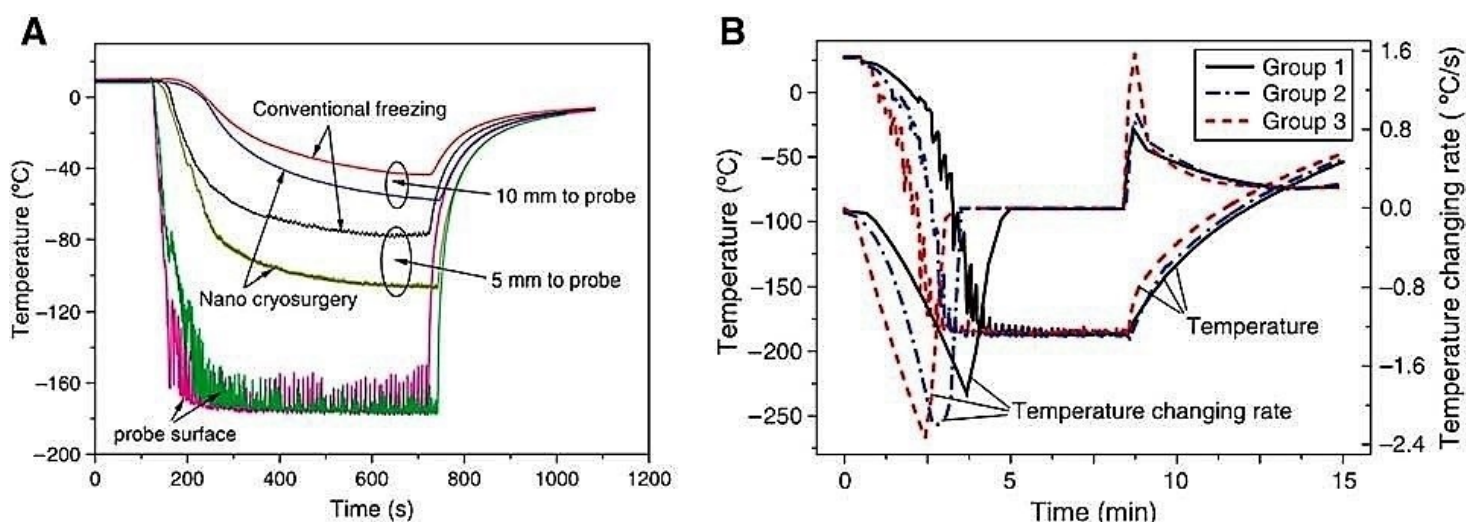
Ο σχηματισμός πάγου ξεκινά με τη δημιουργία και την ανάπτυξη ενός πυρήνα πάγου, ώσπου επισυμβαίνει αλλαγή φάσης. Η πυρηνοποίηση μπορεί να ταξινομηθεί σε δύο κατηγορίες, ανάλογα με το εάν συμμετέχουν εξωγενή σωματίδια. Η ομογενής πυρηνοποίηση δεν περιλαμβάνει εξωγενή σωματίδια, ενώ η ετερογενής περιλαμβάνει. Η ομογενής πυρηνοποίηση εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την καθαρότητα του διαλύτη και έτσι δεν είναι κοινή στη φύση. Η κλασική θεωρία για την ομογενή πυρηνοποίηση προτείνει ότι θα παράγεται ελεύθερη ενέργεια όταν ένα σύμπλεγμα από τη φάση πάγου (β' φάση) σε μοριακή μορφή παράγεται από την αρχική υγρή φάση (α' φάση). Εφόσον τα NPs εισάγονται ως μοριακές δομές και κατανέμονται ομοιόμορφα στα κύτταρα στόχους, μπορεί να περιγραφεί ένας παράγοντας σχήματος για να χαρακτηρίσει τη σχέση μεταξύ του ουδού της ελεύθερης ενέργειας της ετερογενούς και της ομοιογενούς πυρηνοποίησης. Η ετερογενής πυρηνοποίηση έχει χαμηλότερο φράγμα (ουδό) ελεύθερης ενέργειας, και το φράγμα αυτό θα μπορούσε να μειωθεί στο μηδέν για μια ιδανική ετερογενή πυρηνοποίηση. Πειράματα διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης επιβεβαίωσαν ότι η εισαγωγή NPs θα μπορούσε να ενισχύσει την ετερογενή πυρηνοποίηση και να μειώσει τον ουδό της ελεύθερης ενέργειας για τον σχηματισμό του πυρήνα πάγου. Αυτό προώθησε τη συσπείρωση των «εμβρύων» πάγου και έτσι την επαγόμενη αλλαγή φάσης. Μια σύγκριση του σχηματισμού κρυστάλλων πάγου στην παρουσία και απουσία NPs παρουσιάζεται στο Σχήμα 61.

Τα NPs διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στο να ενισχύουν τον ενδοκυττάριο σχηματισμό πάγου (IIF), που θεωρείται απαραίτητος για την καταστροφή των κυττάρων. Ο IIF βλάπτει τον κυτταροσκελετό, τα κυτταρικά οργανίδια και τις μεμβράνες, που οδηγούν συνεργικά στο θάνατο των κυττάρων. Εισάγοντας NPs σε κύτταρα, μπορούμε να αυξήσουμε σημαντικά το ρυθμό ψύξης και πιθανότητα τον IIF, μέσω ετερογενούς πυρηνοποίησης.

Ως αποτέλεσμα, τα στοχοθετημένα καρκινικά κύτταρα μπορούν να θανατωθούν πιο αποδοτικά. Οι ιστοί φορτισμένοι με NPs συνήθως παγώνουν νωρίτερα και πιο εύκολα «βιώνοντας» ετερογενή πυρηνοποίηση, γεγονός που αυξάνει την πιθανότητα σχηματισμού πάγου σε σύγκριση με τους συμβατικούς ιστούς κάτω από τις ίδιες συνθήκες κατάψυξης.

2.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΣΤΟ ΘΕΡΜΙΚΟ ΠΕΔΙΟ [23,61,62]

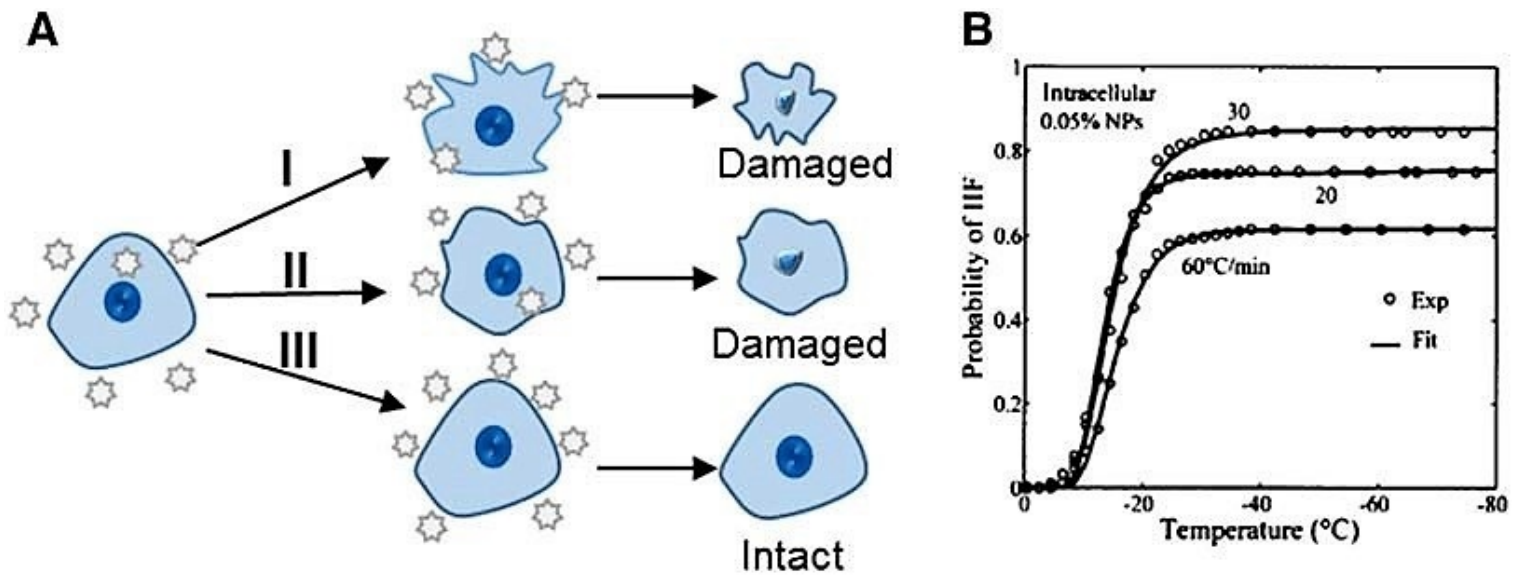
Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η τελική θερμοκρασία γενικά θεωρείται να είναι η πιο σημαντική παράμετρος για τον καθορισμό της έκτασης και της ποιότητας του κρουστράματος. Είναι, επομένως, σημαντικό να μειωθεί η τελική θερμοκρασία, καθώς επίσης να αυξηθεί και ο ρυθμός ψύξης. Με την προσθήκη νανοσωματιδίων μεταλλικού οξειδίου στον προς καταστροφή ιστό θα αυξηθεί σημαντικά η θερμική αγωγιμότητα του. Οι Liu και Deng περιέγραψαν τις καμπύλες θερμοκρασιακής απόκρισης για ιστικό μοντέλο χοίρου με και χωρίς NPs (βλ. Διάγραμμα 12, A). Επιπλέον παρατηρήθηκε καλύτερη κατάψυξη με την παρουσία των NPs. Η χαμηλότερη θερμοκρασία που μετρήθηκε με την παρουσία των NPs ήταν -115°C , η οποία ήταν πολύ χαμηλότερη από εκείνη στην απουσία NPs. Ένα άλλο πείραμα κατέδειξε τον ρυθμό μεταβολής της θερμοκρασίας κυτταρικών εναιωρημάτων (βλ. Διάγραμμα 12, B). Οι θερμοκρασίες των κυτταρικών εναιωρημάτων που φορτίστηκαν με NPs μειώθηκαν ταχύτερα κατά τη διάρκεια της κατάψυξης, συγκριτικά με την απουσία NPs. Η θερμοκρασία του δείγματος με τη μεγαλύτερη θερμική αγωγιμότητα μειώθηκε επίσης πιο γρήγορα από ότι αυτή του δείγματος με τη χαμηλότερη. Εισάγοντας λοιπόν NPs, με υψηλότερη θερμική αγωγιμότητα, βελτιώθηκε η κατάψυξη. Συνεπώς τα NPs με χαμηλότερη θερμική αγωγιμότητα θα μειώσουν την ολική θερμική αγωγιμότητα του ιστού - στόχου, έτσι ώστε να προστατευθούν οι υγιείς ιστοί γύρω από τον όγκο από την κρουγονική βλάβη.



Διάγραμμα 12: Επίδραση των NPs στην κατανομή της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της κρουοθεραπείας. (A) Σύγκριση της απόκρισης των ιστών σε διάφορες θερμοκρασίες κατάψυξης με και χωρίς την έγχυση NPs. (B) Οι αποκρίσεις της θερμοκρασίας και του ρυθμού μεταβολής της θερμοκρασίας κυτταρικών εναιωρημάτων κατά την κατάψυξη και απόψυξη. Στα Group_1 και Group_2 περιλαμβάνεται η θεραπεία με NPs, ενώ στο Group_3 δεν περιλαμβάνεται [23].

2.3 ΕΝΙΣΧΥΜΕΝΗ ΚΡΥΟΝΕΚΡΩΣΗ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ [23,43,44,61,62]

Η άμεση κυτταρική βλάβη προκαλούμενη από την κατάψυξη έχει εξηγηθεί από μια υπόθεση που αφορά δύο ξεχωριστούς παράγοντες. Οι παράγοντες αυτοί εξαρτώνται από την ταχύτητα ψύξης, και είναι ο IIF σε υψηλούς ρυθμούς ψύξης και "το φαινόμενο διαλύματος" σε χαμηλούς ρυθμούς ψύξης. Όταν ο ρυθμός ψύξης είναι υψηλός, τότε το ενδοκυττάριο ύδωρ υφίσταται πυρηνοποίηση σχηματίζοντας τη θανατηφόρο μορφή του ενδοκυττάριου πάγου. Όταν ο ρυθμός ψύξης είναι χαμηλός, ο πάγος αρχικά εμφανίζεται στο εξωκυττάριο περιβάλλον, γεγονός που οδηγεί σε αυξημένη συγκέντρωση των ηλεκτρολυτών στο μη παγωμένο εξωκυττάριο κλάσμα ύδατος. Η αυξημένη αυτή συγκέντρωση ηλεκτρολυτών επάγει την κυτταρική αφυδάτωση, εξαιτίας της ωσμωτικής διαφοράς πίεσης. Εάν αυτή η αφυδάτωση είναι σοβαρή, τότε η υψηλή συγκέντρωση των ηλεκτρολυτών μπορεί να εξελιχθεί σε τοξικότητα και κυτταρική βλάβη, η οποία είναι κοινώς γνωστή ως "φαινόμενο διαλύματος". Οι περισσότεροι ερευνητές συμφωνούν ότι ο IIF είναι θανατηφόρος για τα κύτταρα και θεωρούν ότι είναι η πρωτεύουσα βλάβη στο μηχανισμό κρυονέκρωσης σε υψηλούς ρυθμούς ψύξης. Όμως συχνά οι όγκοι έχουν ακανόνιστα σχήματα, πράγμα το οποίο καθιστά ακόμα πιο δύσκολο στη συμβατική Κρυοχειρουργική να σχηματιστούν κρύσταλλοι πάγου που σκοτώνουν τα κύτταρα. Η εισαγωγή NPs στα καρκινικά κύτταρα μπορεί να βοηθήσει να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα. Τα NPs πιθανότατα μπορούν να διαχέονται σε όλη την έκταση του εναιωρήματος, τόσο εξωκυτταρίως όσο και ενδοκυτταρίως, έτσι ώστε η ανάπτυξη, η κατεύθυνση και ο προσανατολισμός του κατεψυγμένου όγκου να μπορεί να ελέγχεται καλύτερα και να σχηματίζονται περισσότεροι κρύσταλλοι πάγου. Συνεπώς η κρυοχειρουργική βλάβη μπορεί να ενισχυθεί από την παρουσία των NPs. Σε ένα πείραμα καθορίστηκαν, τα ποσοστά των νεκρών κυττάρων που προέκυψαν κατά την κρυοθεραπεία για εναιωρήματα κυττάρων χωρίς NPs, εναιωρήματα με νανοσωληνίσκους άνθρακα και με την παρουσία NPs Αργύρου (NPs Ag). Τα ποσοστά θανάτου των κυττάρων του όγκου σε αυτές τις τρεις περιπτώσεις, ήταν περίπου 18%, 94% και 100% αντίστοιχα, το οποίο υποδηλώνει ότι η χρήση νανοσωματιδίων με υψηλή θερμική αγωγιμότητα για να ενισχύσουν τη Κρυοχειρουργική είναι εφικτή και δόκιμη σε κυτταρικό επίπεδο. Κατά τη Κρυοχειρουργική, ο βαθμός της κρυονέκρωσης των κυττάρων κατά τη διάρκεια της κατάψυξης σχετίζεται με την ταχύτητα ψύξης. Αν ο ρυθμός ψύξης είναι υπερβολικά χαμηλός, τότε η περίσσεια του ενδοκυττάριου νερού θα διαρρεύσει δια της κυτταρικής μεμβράνης στο εξωτερικό του κυττάρου. Όταν τα κύτταρα φθάσουν θερμοδυναμική ισορροπία, επέρχεται αφυδάτωση που προκαλεί ωσμωτική βλάβη. Αν ο ρυθμός ψύξης είναι πολύ υψηλός, το ενδοκυττάριο νερό δεν έχει επαρκή χρόνο για να διαρρεύσει έξω από το κύτταρο. Οι κρύσταλλοι του πάγου που σχηματίζονται στην περίπτωση αυτή, επάγουν τη καταστροφή των κυττάρων από μηχανική καταπόνηση. Όταν ο ρυθμός ψύξης είναι πάρα πολύ υψηλός, δεν σχηματίζεται πάγος στο διάλυμα αλλά πλήρης υαλοποίηση και τα κύτταρα υφίστανται μικρή βλάβη. Πρέπει συνεπώς να υπάρχει μια βέλτιστη ταχύτητα ψύξης για να επιτευχθεί ο εντατικός σχηματισμός κρυστάλλων πάγου. Η σχέση μεταξύ της κυτταρικής επιβίωσης και του ρυθμού ψύξης έχει περιγραφεί από τον Wang και απεικονίζεται σχηματικά στο Σχήμα 63. Ο Wang ανέφερε ότι η μέγιστη πιθανότητα σχηματισμού πάγου (σε αυτή την περίπτωση η πιθανότητα IIF) παρουσιάστηκε σε ρυθμό ψύξης 30 °C /min.

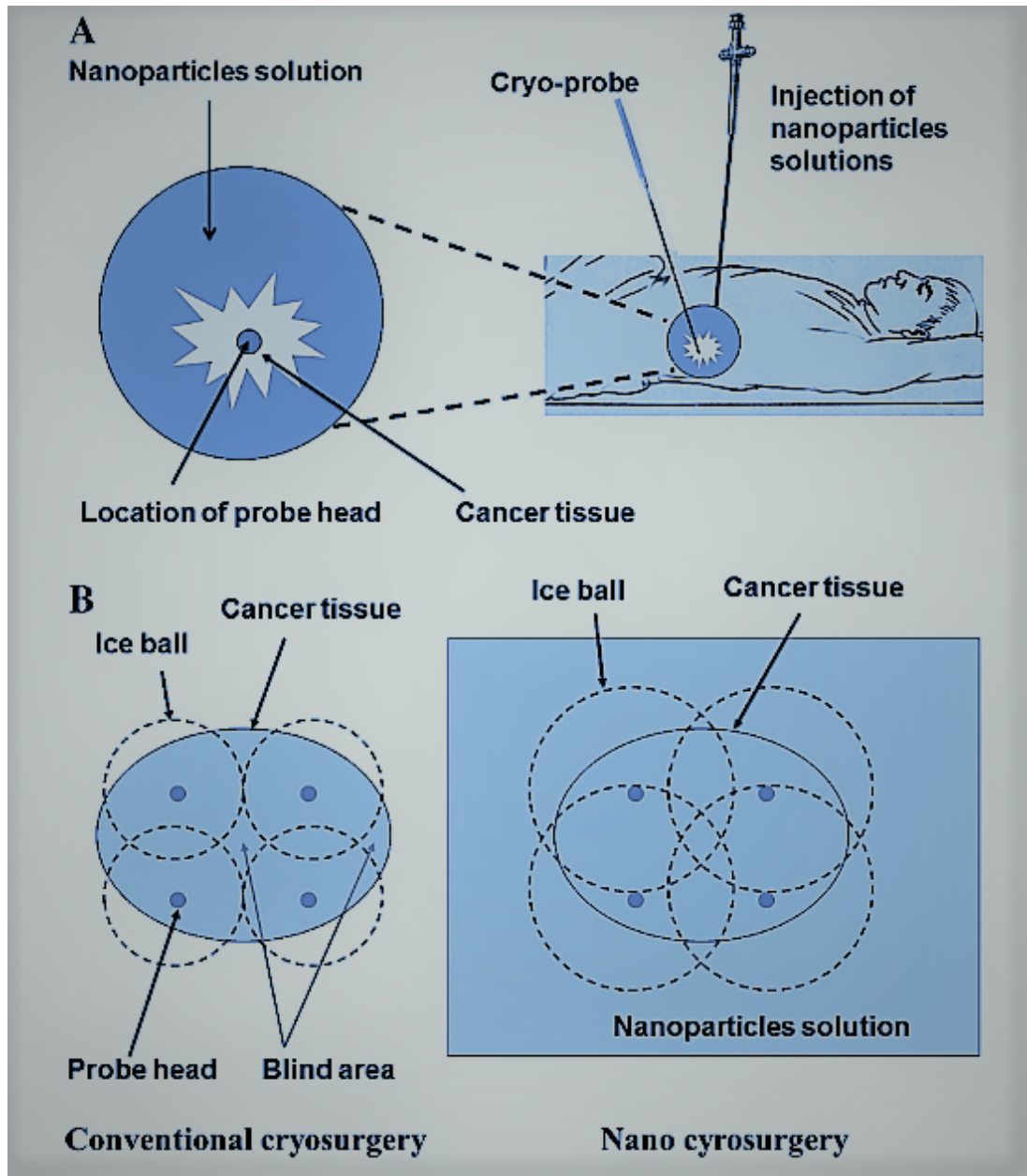


Σχήμα 63: Επίδραση του ρυθμού ψύξης στην έκταση της κρυοβλάβης. (A) Σχέσεις μεταξύ της κυτταρικής κρυοβλάβης και του ρυθμού ψύξης: I. Ανεπαρκής ρυθμός ψύξης, II. Βέλτιστη ταχύτητα ψύξης, III. Υπερβολικά μεγάλη ταχύτητα ψύξης, (B) Σχέσεις μεταξύ της πιθανότητας ενδοκυτταρίου σχηματισμού πάγου (IIF) και θερμοκρασίας για ρυθμό ψύξης 20, 30 και 60°C/min [23].

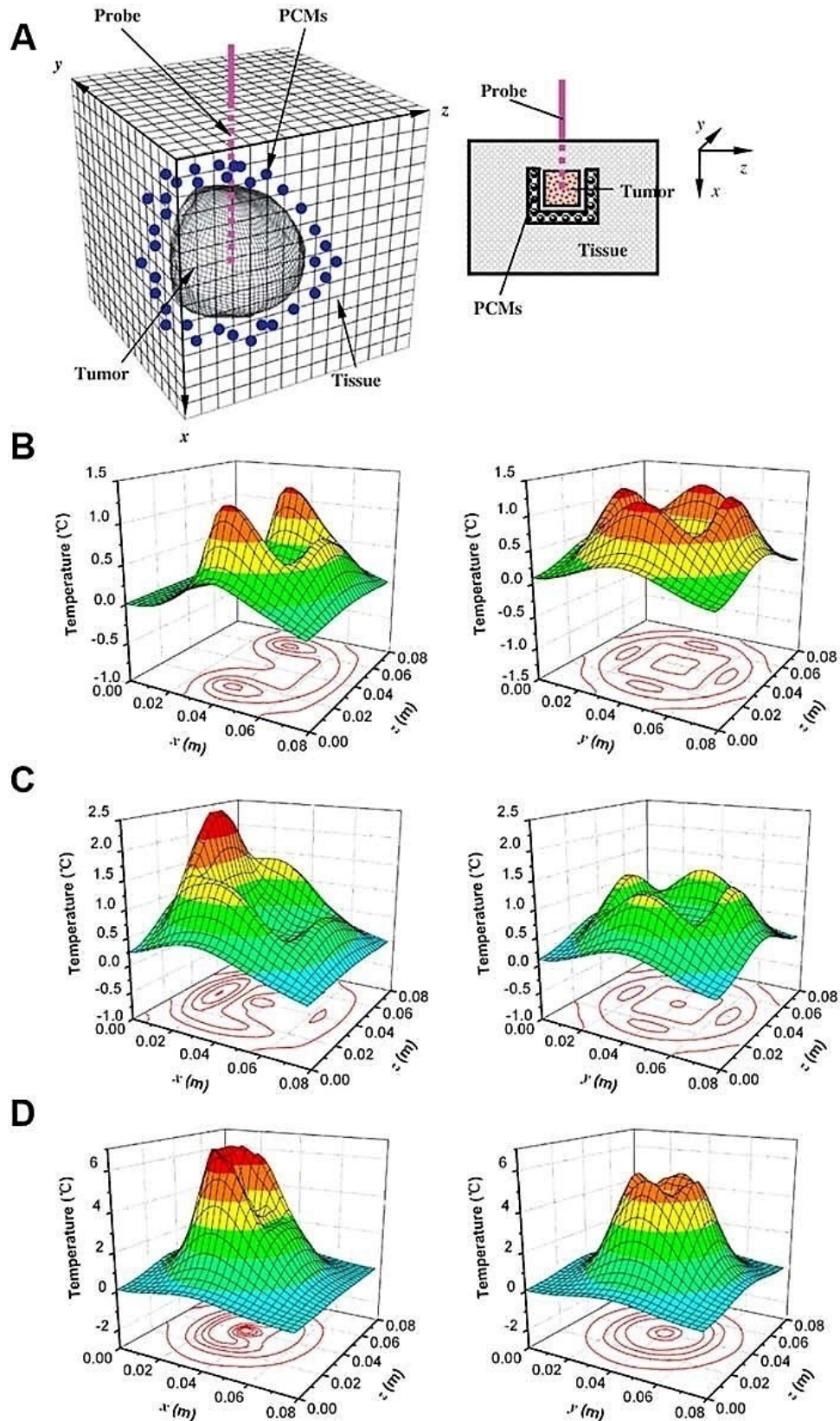
2.4 ΘΕΡΜΙΚΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΤΩΝ ΥΓΙΩΝ ΙΣΤΩΝ [23,53,54,61]

Η πρόσφατη ανάπτυξη της Κρυοχειρουργικής οδήγησε σε εξελίξεις στη θεραπεία του καρκίνου. Ωστόσο, η θερμική βλάβη που προκαλείται από την κρυοθεραπεία στους παράπλευρους υγιείς ιστούς και κύτταρα, παραμένει ένα πρόβλημα. Κατά τη διάρκεια της Κρυοχειρουργικής, η ανεπαρκής κατάψυξη δεν μπορεί να καταστρέψει τον νεοπλασματικό ιστό - στόχο και από την άλλη η υπερβολική κατάψυξη, μπορεί να προκαλέσει ανεπιθύμητη βλάβη στους παρακείμενους υγιείς ιστούς. Οι βλάβες σε υγιείς ιστούς μπορεί να είναι ιδιαίτερα σημαντικές όταν ο καρκινικός όγκος βρίσκεται σε στενή επαφή με ευάλωτες δομές, ευρίσκεται εν τω βάθει, ή έχει ακανόνιστο σχήμα. Η βελτιστοποίηση λοιπόν της κρυοχειρουργικής διαδικασίας για την επίτευξη θανατηφόρου κατάψυξης σε όγκους και την προστασία των υγιών δομών είναι συνεπώς αναγκαία. Διάφορες προσεγγίσεις έχουν αναφερθεί για την αύξηση της θερμικής προστασίας, συμπεριλαμβανομένων χημικών βοηθημάτων και κεφαλές από μονωτικό όπως η σιλικόνη. Ωστόσο, η ανεπιθύμητη καταστροφή στους γύρω υγιείς ιστούς εξακολουθεί να περιορίζει την εφαρμογή της Κρυοχειρουργικής. Υλικά αλλαγής φάσης (PCMs) έχουν αξιοποιηθεί στην προσπάθεια να ξεπεραστεί το πρόβλημα αυτό. Για παράδειγμα, ο Lv χορήγησε επενδυμένα με υλικά αλλαγής φάσης NPs, σε υγιείς ιστούς γύρω από όγκους, που εμπόδισαν την επιβλαβή επέκταση της κρυογονικής βλάβης (Σχήμα 65). Τα NPs αλλαγής φάσης με μεγάλη λανθάνουσα θερμότητα και χαμηλή θερμική αγωγιμότητα ήταν επενδυμένα από λιποσώματα. Μια αριθμητική μελέτη του τρισδιάστατου θερμοκρασιακού πεδίου στο ανθρώπινο σώμα που περιέχει μία νεοπλασία και ενσωματωμένα PCMs στους γύρω υγιείς ιστούς φαίνεται στο Σχήμα 65. Στο Σχήμα αυτό, οι θερμοκρασιακές κατανομές έδειξαν ότι τα ενσωματωμένα PCMs ελαττώνουν δραστικά την κρυοβλάβη στους υγιείς ιστούς γύρω από τον όγκο. Οι κατανομές αυτές, έδειξαν επίσης ότι η χορήγηση των PCMs όχι ακριβώς

στο όριο του όγκου αλλά στην ευρύτερη περιφέρεια αυτού, είχε σαν επακόλουθο την αποτελεσματικότερη προστασία των υγιών ιστών.



Σχήμα 64: Νανοκρυοχειρουργική: (A) Έγχυση νανοσωματιδίων στην ευρύτερη περιοχή του όγκου (B) Βελτίωση του προφίλ του κρυοτραύματος ως προς την ριζικότητα της θεραπείας δηλαδή την πλήρη εξάλειψη του όγκου συγκριτικά με τη συμβατική Κρυοχειρουργική [Πηγή: Διαδίκτυο].



Σχήμα 65: (A) Διάφορες κατανομές θερμοκρασίας επι του υγιούς ιστού με (αριστερά) και χωρίς (δεξιά) ενσωματωμένα μικροσωματίδια αλλαγής φάσης (PCMs), (B) Σχηματική απεικόνιση της θερμικής προστασίας από τα μικροενσωματωμένα NPs αλλαγής φάσης κατά τη κρυοθεραπεία κακοήθους όγκου. Στην περίπτωση αυτή εγχέονται σε πέντε σημεία σε απόσταση 10mm από τον όγκο (C) Η έγχυση γίνεται σε έξι σημεία σε απόσταση 10mm από τον όγκο (D) Η έγχυση γίνεται σε έξι σημεία ακριβώς δίπλα στον όγκο [23].

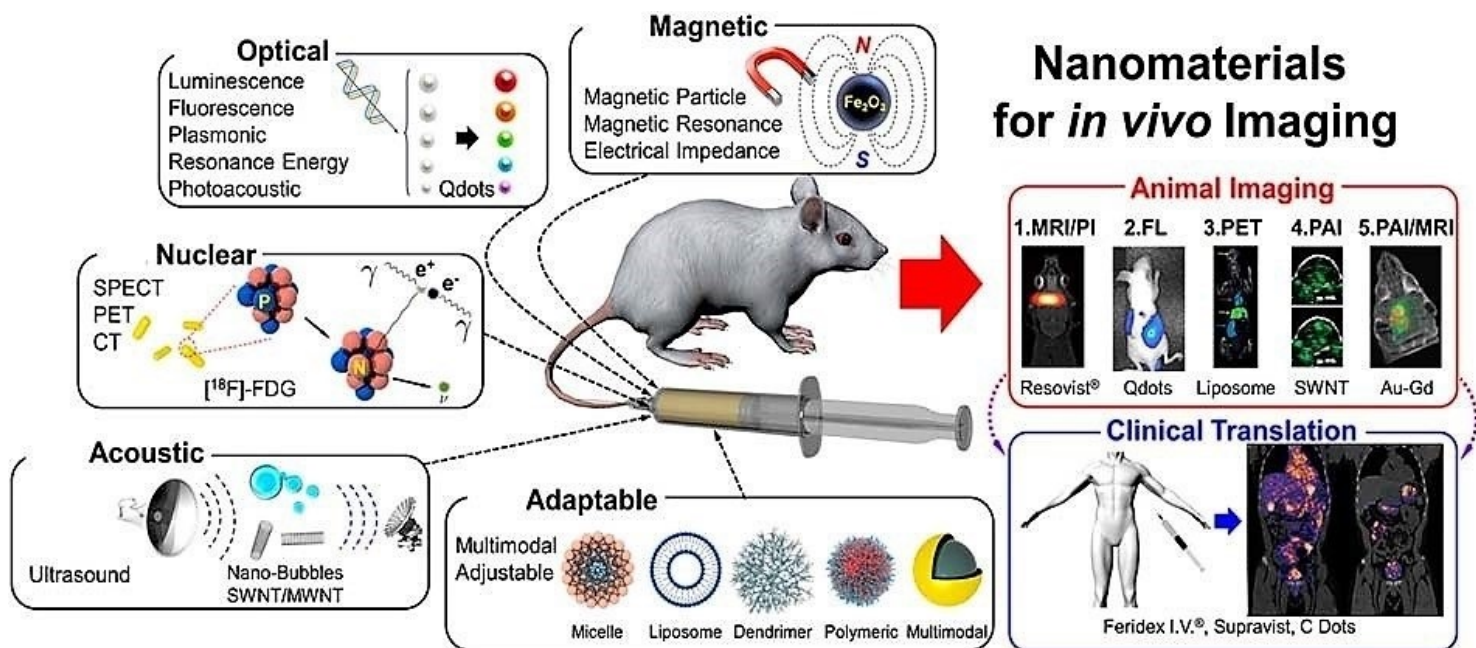
2.5 ΑΥΞΗΜΕΝΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ ΣΤΗ ΝΑΝΟΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ [23,61,62]

Η Βιοϊατρική νανοτεχνολογία είναι ένα διεπιστημονικό πεδίο, με ευρείες εφαρμογές μοριακής απεικόνισης και διάγνωσης. Η βασική αρχή είναι ότι σωματίδια μεγέθους νανομέτρων όπως τα NPs οξειδίου του σιδήρου έχουν οπτικές, μαγνητικές, ακουστικές και δομικές ιδιότητες που δεν είναι διαθέσιμες είτε από μόρια ή άλλα στερεά σωματίδια. Η *in vivo* απεικόνιση πραγματικού χρόνου έχει τεράστια σημασία τόσο σε κλινικές δοκιμές όσο και ως ένα εργαλείο έρευνας. Η εισαγωγή NPs σε ιστούς-στόχους έχει αποδειχθεί να βελτιώνει την αντίθεση εικόνας και να παρέχει καλύτερη ανάλυση για την καθοδήγηση και τη λειτουργία του κρυστοχειρουργικού εξοπλισμού. Η αποτελεσματικότητα της Κρυστοχειρουργικής είναι πιθανό να βελτιωθεί με την καλύτερη απεικόνιση των ορίων της νεοπλασίας και του συνόρου του κρυστοαύματος. Οι τυπικές πλατφόρμες NPs που έχουν χρησιμοποιηθεί φαίνονται στο Σχήμα 66.

Τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα NPs στην απεικόνιση είναι τα μαγνητικά NPs όπως αυτά με Fe_3O_4 διαμέτρου 20-30 nm. Έχουν αποδειχθεί να αυξάνουν την ανάλυση και την αντίθεση των κοινών τεχνικών απεικόνισης όπως η τομογραφία της μαγνητικής - οπτικής συνοχής (MMOCT) και της απεικόνισης μέσω μαγνητικού συντονισμού (MRI). Η οπτική τομογραφία συνοχής (OCT) είναι μια μη επεμβατική, βιοϊατρική τεχνική απεικόνισης με διάφορες κλινικές εφαρμογές. Από τη χρήση της OCT μπορούν να επωφεληθούν σημαντικά σε πραγματικό χρόνο, η διάγνωση και το μέρος του χειρουργικού προσανατολισμού. Ωστόσο, η οπτική τομογραφία συνοχής OCT δεν ανιχνεύει μη ελαστικώς σκεδασμένο φως, καθώς αυτό το φως δεν είναι σε φάση με το υπόλοιπο ηλεκτρομαγνητικό πεδίο. Η κίνηση των NPs έχει αποδειχθεί να αλλάζει την ένταση σήματος της OCT.

Πειράματα με την MMOCT έδειξαν ότι παρήχθη σημαντική οπτική αντίθεση από την κινητική απόκριση των μαγνητικών NPs σε ένα εφαρμοζόμενο εξωτερικό μαγνητικό πεδίο, το οποίο οδήγησε σε τοποπεριοχικές αλλαγές στην οπτική διάχυση. Τα υπερπαραμαγνητικά NPs οξειδίου του σιδήρου έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για μοριακή και κυτταρική απεικόνιση σε μαγνητικό τομογράφο (MRI). Η τοξικότητα και η απορρόφηση των NPs οξειδίου του σιδήρου έχουν ερευνηθεί με βλαστικά κύτταρα *in vitro*, και βρέθηκε ότι η αφομοίωση περί των 20 pg/κύτταρο δεν μειώνει σημαντικά την κυτταρική επιβίωση. Τα NPs φθορισμού έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί ως παράγοντες απεικόνισης για τον ακριβή εντοπισμό θερμικών αλλοιώσεων των ιστών κατά τη διάρκεια των θερμικών θεραπειών.

Αυτά τα χαρακτηριστικά των NPs μπορούν να αυξήσουν τη θεραπευτική ογκοκένωση και να μειώσουν την τοπική υποτροπή της νόσου μετά από Κρυστοχειρουργική. Η Πυρηνική απεικόνιση, βασιζόμενη σε NPs, είναι συμφέρουσα, καθώς μπορεί να παράγει εικόνα σε κάθε σημείο του ανθρώπινου σώματος. Συνεπώς, μπορεί να εφαρμοστεί σε οποιοδήποτε όργανο του σώματος, συμπεριλαμβανομένων των οστών, των μαλακών ιστών, καθώς και των περιοχών που περιέχουν αέρα όπως οι πνεύμονες. Υπάρχει, ωστόσο, εξασθένηση του σήματος εντός των ιστών, ώστε να είναι απαραίτητο να διενεργούνται κατάλληλες διορθώσεις σήματος. Οι τυπικές τεχνικές πυρηνικής απεικόνισης με νανοϋλικά περιλαμβάνουν: την απεικόνιση με γ-κάμερα, την τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET), την τομογραφία μονής εκπομπής φωτονίων (SPECT) και την απεικόνιση με υπολογιστική τομογραφία (CT). Η ενίσχυση της Κρυστοχειρουργικής από τέτοια πυρηνικά NPs δεν έχει αναφερθεί ευρέως στη βιβλιογραφία, ωστόσο είναι ένας τομέας που θα πρέπει να μελετηθεί εκτενέστερα στο μέλλον.



Σχήμα 66: Τα νανοϋλικά μπορούν να παρέχουν μια βελτιωμένη απεικόνιση στη Κρυοχειρουργική, μέσω μαγνητικής τομογραφίας (MRI), απεικόνισης φθορισμού (FL), τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET), φωτοακουστική απεικόνιση (PAI) και απεικόνισης μέσω μαγνητικών νανοσωματιδίων (MPI) [23].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΣΤΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

Κατά τις τελευταίες δεκαετίες, τα νανοσωματίδια (NPs) έχουν ερευνηθεί εκτεταμένα ως εργαλείο για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της θερμικής καταστροφής των ιστών, αυξάνοντας την ανάλυση της απεικόνισης των ορίων της πάσχουσας περιοχής. Για παράδειγμα, η χρήση των NPs έχει αποδειχθεί να ενισχύει τις υπάρχουσες θεραπείες, επιτρέποντας ένα πιο στοχευμένο και παράλληλα ενισχυμένο εύρος στη θερμοκαταστροφή μέσω ραδιοσυχνοτήτων (RF) και μικροκυμάτων (MW). Τα NPs πρόσφατα έχουν χρησιμοποιηθεί για να ενισχύσουν έμμεσα και την κρυοκαταστροφή, για παράδειγμα χρησιμοποιώντας κυτταροκίνες που επάγουν ανοσολογικές και φλεγμονώδεις αντιδράσεις εναντίων καρκινικών κυττάρων. Τα NPs κατάλληλα για Κρυοχειρουργική μπορούν να παρασκευαστούν από μια μεγάλη ποικιλία υλικών όπως ανόργανα μέταλλα, βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή, κατιοντικά λιπώδη, μικκύλια και ημιαγωγούς. Οι τυπικές πλατφόρμες των NPs συνοψίζονται στον Πίνακα 7.

NPs	Thermal conductivity, W/m °C	Heat capacity, J/m ³ °C	Benefits	Effects
MgO NPs	34.3	3.2×10^6	Nontoxic Biodegradable Few side effects Excellent thermal properties	Accelerate and enlarge ice ball formation Enhance cryoinjury Promote the generation of ice nuclei
Iron oxide, magnetite (Fe ₃ O ₄) maghemite (γ-Fe ₂ O ₃)	7.1	3.2×10^6	High thermal conductivity Good biological compatibility	Improve nucleation kinetics and thermodynamic parameters
Polymeric NPs	0.2	2.13×10^6	Enhance cryoinjury	Change the morphology of ice crystals Improve the thermal conductivity
TNF-α conjugated Au NPs	297.7	2.2×10^6	Avoid systemic toxicity	Cause more shrinkage of the tumor without systemic toxicity Destroy tumor cells within the ice ball efficiently Minimize the side effects
Nanoparticle-encapsulated doxorubicin (nDOX)			Less side effects Enhanced targeting	Achieve nearly complete elimination of the CSCs Minimize cancer recurrence
Ag NPs	417.5	2.5×10^6		
Al ₂ O ₃ NPs	39.7	2.82×10^6		

Πίνακας 7: Τυπικές πλατφόρμες νανοσωματιδίων που χρησιμοποιούνται στη Κρυοχειρουργική [23].

3.1 ΒΙΟΔΙΑΣΠΩΜΕΝΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΑΠΟ MgO [23,27,28]

Το μαγνήσιο, σύμφωνα με διαθέσιμες πληροφορίες, επιδεικνύει άριστη βιοσυμβατότητα, σε σύγκριση με άλλα εμφυτεύσιμα βιοϋλικά. Το Mg²⁺ είναι το τέταρτο σε αφθονία κατιόν στον ανθρώπινο οργανισμό, ο οποίος περιέχει περίπου 25g του ιόντος. Το Mg²⁺ είναι απαραίτητο για το μεταβολισμό του ανθρώπου, λειτουργεί ως ένας συμπαράγοντας για διάφορα ένζυμα, και βοηθά στην σταθεροποίηση των δομών του DNA και RNA. Η ελεγχόμενη σύνθεση και ταξινόμηση των NPs MgO είναι ένα σχετικά ώριμο πεδίο, και μια μεγάλη ποικιλία σε τελικές διαμορφώσεις είναι πλέον διαθέσιμη. Η εισαγωγή νανοσωματιδίων οξειδίου του μαγνησίου στον οργανισμό έχει δείξει να είναι μια μη τοξική, ακίνδυνη και ασφαλής και κατάλληλη για θεραπευτική τεχνική. Οι ιδιότητες αυτές συνηγορούν στο ότι η χρήση NPs MgO ως μεσολαβητή στη Κρυοχειρουργική μπορεί να είναι αποτελεσματική και ασφαλής. Τα NPs MgO που είναι μη τοξικά, βιοαποικοδομήσιμα, και έχουν λίγες παρενέργειες στο ανθρώπινο σώμα, έχουν δείξει να βελτιώνουν την κρυοχειρουργική αποτελεσματικότητα σε πειράματα ζωικών μοντέλων και αναλύσεις πυρηνοποίησης.

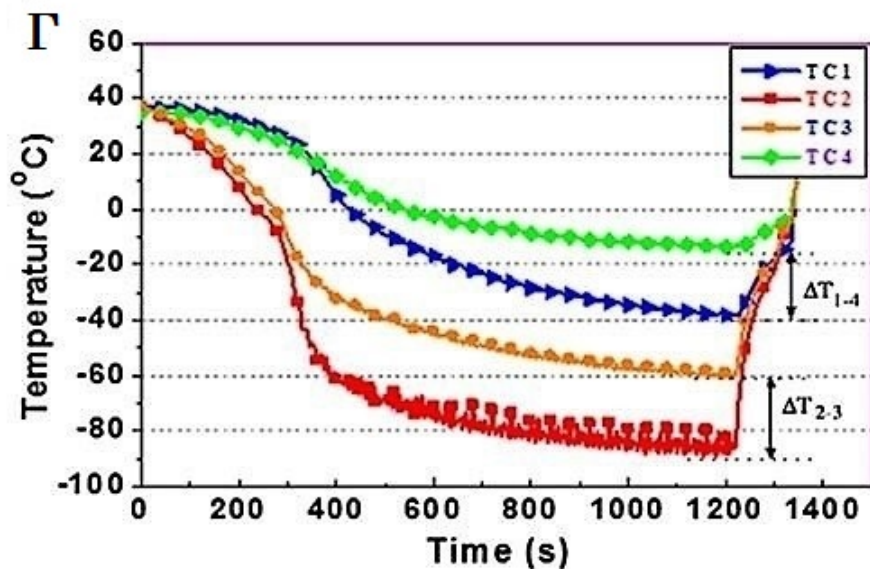
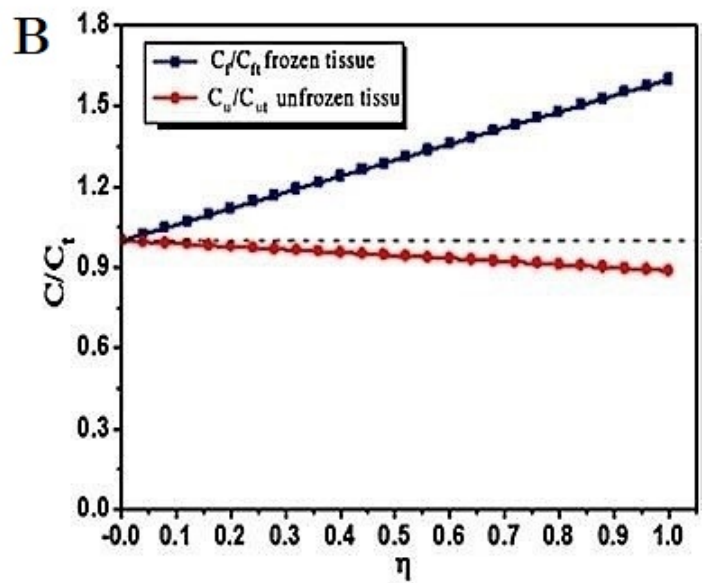
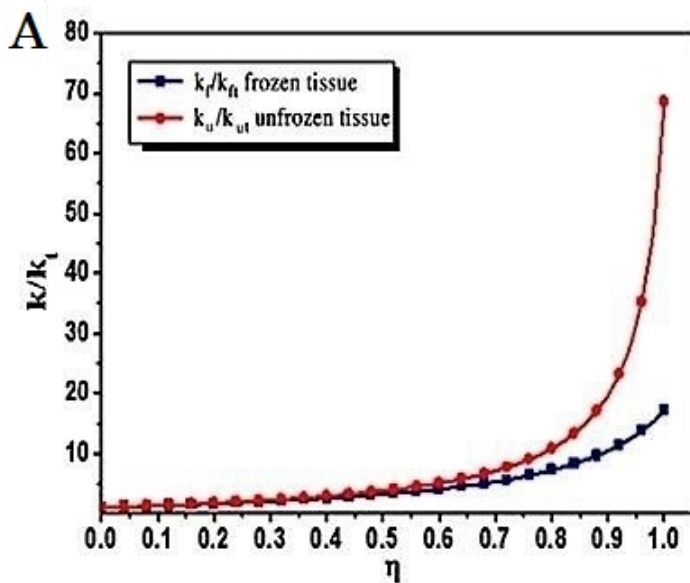
Στην πρώτη έρευνα για την απόδειξη του οφέλους που προσφέρουν τα NPs MgO ως μεσολαβητές στη Κρυοχειρουργική, συγκρίθηκαν η θερμοκρασία, η καταστροφή των βιολογικών ιστών και η επιτάχυνση της πυρηνοποίησης (για τον σχηματισμό ενδοκυττάρου πάγου) μεταξύ κυττάρων με και χωρίς MgO NPs. Η προκύπτουσα έκταση κατάψυξης της Κρυοχειρουργικής ήταν σημαντικά βελτιωμένη και η κατώτερη θερμοκρασία υπέρψυξης

ήταν χαμηλότερη, όταν χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο νερό, φυσιολογικός ορός ή *in vitro* βιολογικός ιστός που περιείχαν NPs MgO σε κατάψυξη υπο θερμοκρασία πυρηνοποίησης. Εν τω μεταξύ, ο Di διαπίστωσε ότι κατά τη διαδικασία της ψύξης, στο διάλυμα με συγκέντρωση 5 mg/ml σε NPs MgO η πυρηνοποίηση ξεκίνησε νωρίτερα συγκριτικά με το διάλυμα συγκέντρωσης 1 mg/ml, αναφέροντας ότι η εξέλιξη της πυρηνοποίησης (δηλαδή του σχηματισμού κρυστάλλων πάγου) ήταν θετικά συσχετιζόμενη με τη συγκέντρωση των NPs MgO.

Εκτός από το πείραμα, οι ίδιοι ερευνητές χρησιμοποίησαν επίσης το θεωρητικό μοντέλο των Hamilton - Crosser (H-C) για την πρόβλεψη των επιπτώσεων των θερμικών χαρακτηριστικών των NPs. Είναι γνωστό ότι η θερμική διαχυτότητα προσδιορίζεται από τη θερμική αγωγιμότητα, τη θερμική χωρητικότητα και την πυκνότητα σύμφωνα με το πηλίκο $k/\rho c$, όπου k είναι η θερμική αγωγιμότητα, ρ είναι η πυκνότητα και c είναι η θερμική χωρητικότητα. Διαπιστώθηκε ότι, όταν το κλάσμα όγκου (ο όγκος που καταλαμβάνουν τα νανοσωματίδια προς τον συνολικό όγκο του στόχου) φτάνει το 0,2, η θερμική αγωγιμότητα του κατεψυγμένου ιστού γίνεται διπλάσια από πριν, ενώ η θερμοχωρητικότητα, αφού προστεθούν τα NPs MgO, αλλάξει πολύ λίγο, με αποτέλεσμα στην περίπτωση αυτή, η θερμική διαχυτότητα να διπλασιάζεται. Ο He συνέκρινε τις επιδράσεις της συγκέντρωσης των NPs MgO στην περιοχή της κρυστογένεσης (εξωτερικό όριο της αποτελεί η ισόθερμη $T = -40^\circ\text{C}$), με αριθμητική προσομοίωση. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το κλάσμα όγκου NPs MgO ίσο με $\eta = 0,1$ θα μπορούσε να βελτιώσει σημαντικά την αύξηση του όγκου κατάψυξης συγκριτικά με την απουσία NPs από τον ιστό, και αυξημένη ζώνη καταστροφής με ακτίνα κατά 5 mm μεγαλύτερη από τη συμβατική. Είναι αλήθεια ότι ο κατεψυγμένος όγκος ιστού γίνεται μεγαλύτερος όσο η αναλογία σε NPs MgO είναι μεγαλύτερη, όμως, στην πράξη διαπιστώνεται ότι ένα κλάσμα όγκου ίσο με $\eta = 0,2$ σε NPs MgO έχει σχεδόν τον ίδιο κατεψυγμένο όγκο, όπως αυτό με $\eta = 0,1$ NPs MgO.

Η παρουσία των NPs MgO προωθεί την ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου κατά την κρυοθεραπεία, επιταχύνοντας την συγκρότηση του και δημιουργώντας τελικά έναν μεγαλύτερο σε σύγκριση με αυτόν που προκύπτει κατά την απουσία NPs MgO. Έτσι, μπορεί να επιταχυνθεί η μεταφορά θερμότητας, και επιπλέον να προωθηθεί η σφαιρική ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου. Η θερμοκρασιακή απόκριση επίσης προωθείται (βλ. Διάγραμμα 13, Γ). Τα NPs MgO παίζουν συνεπώς ένα σημαντικό ρόλο στο να διευκολύνουν την πυρηνοποίηση σε κρυστάλλους πάγου, και έτσι να επιτυγχάνεται μια βελτιωμένη κρυοβλάβη στους ιστούς - στόχους. Η βέλτιστη συγκέντρωση των NPs MgO εξαρτάται από το γεγονός ότι ο ρυθμός της κατάψυξης και της πυρηνοποίησης θεωρούνται οι σημαντικότεροι παράγοντες που ρυθμίζουν την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων, με συνέπεια η αποτελεσματικότητά τους να είναι το κλειδί στη κρυοθεραπεία. Ωστόσο, καμία μελέτη δεν έχει αναφερθεί ακόμα, η οποία να εξετάζει τη σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης NPs MgO και τους μηχανισμούς κρυστογένεσης κατά την κατάψυξη.

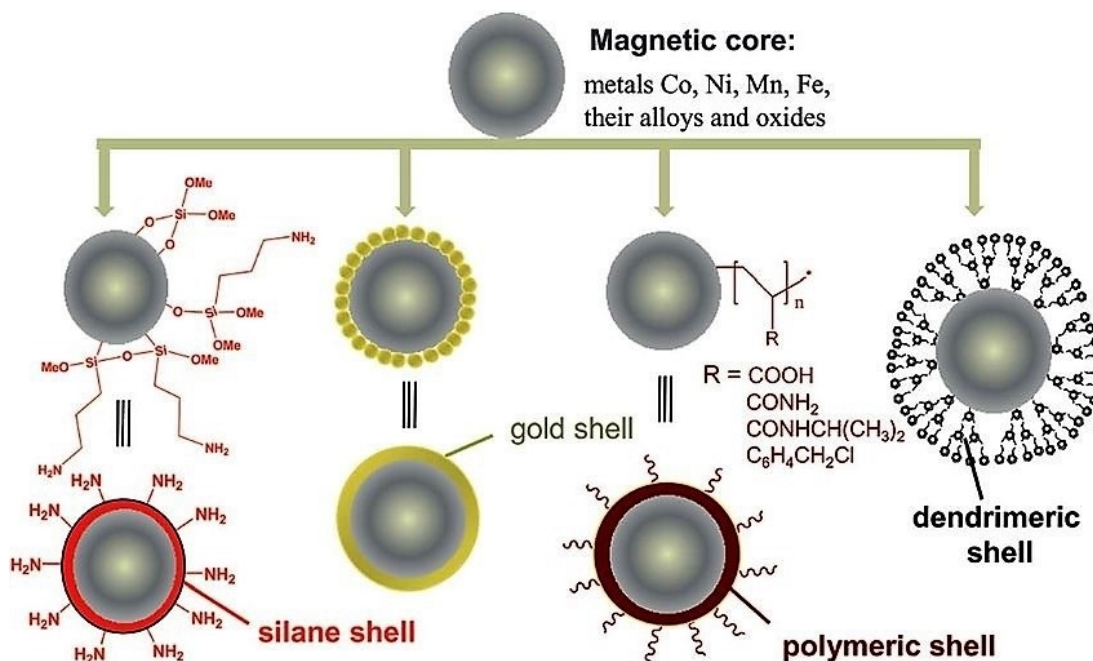
Συνοπτικά, τα NPs MgO είναι βιοδιασπώμενα, μη τοξικά και σχετικά καλώς ανεκτά, και έχουν εξαιρετικές θερμικές ιδιότητες. Οι παράγοντες αυτοί συνολικά διευρύνουν τις δυνατότητες της κλινικής εφαρμογής της Κρυοχειρουργικής κατά του καρκίνου.



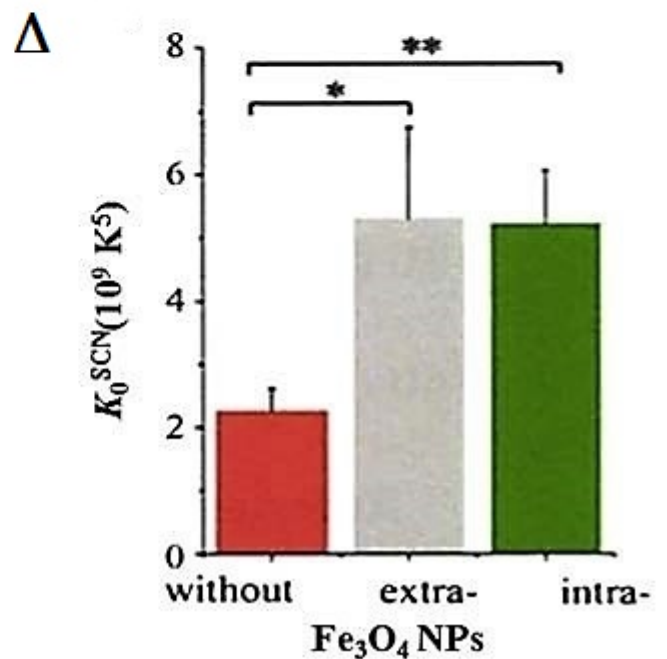
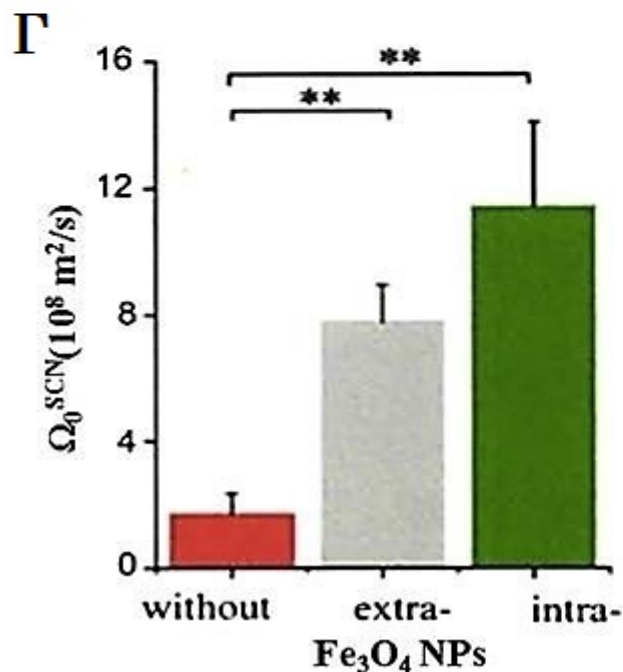
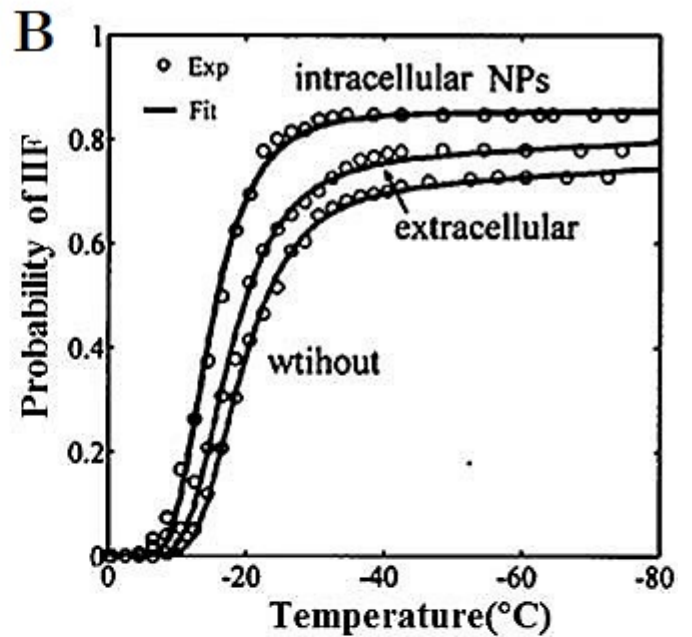
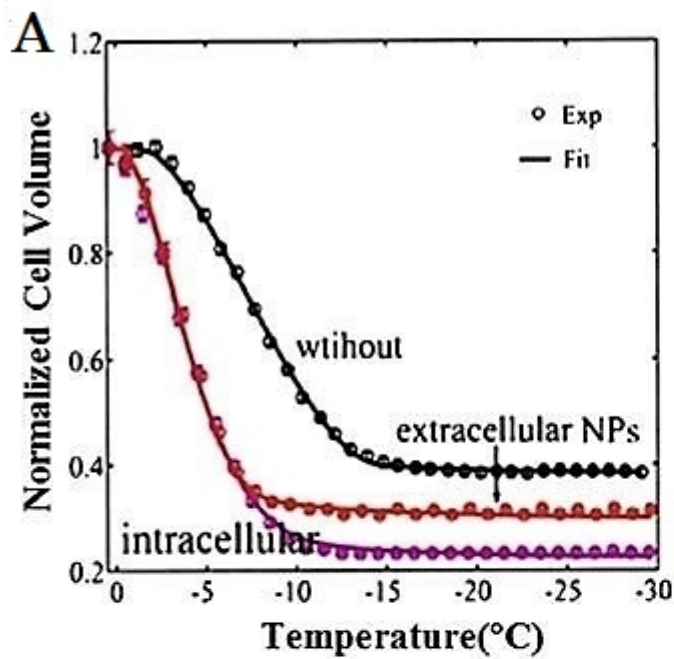
Διάγραμμα 13: Επιπτώσεις των MgO NPs στις θερμικές παραμέτρους και στην κατανομή του θερμικού φορτίου. (Α) Η θερμική αγωγιμότητα σε σχέση με το κλάσμα όγκου (η) των νανοσωματιδίων MgO για τους κατεψυγμένους και τους μη κατεψυγμένους ιστούς. Το κλάσμα όγκου των νανοσωματιδίων (η) είναι ο όγκος που καταλαμβάνουν τα νανοσωματίδια στο διάλυμα που εγχέεται στον ιστό προς τον συνολικό όγκο του διαλύματος. Το k είναι ο συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας, οι δείκτες f και u αντιπροσωπεύουν τα κατεψυγμένα και μη κατεψυγμένα μίγματα και οι δείκτες ft και ut τους κατεψυγμένους και μη κατεψυγμένους ιστούς αντίστοιχα. (Β) Η θερμική χωρητικότητα σε σχέση με τους κατεψυγμένους και μη κατεψυγμένους ιστούς. Το c είναι η θερμική χωρητικότητα. (Γ) Οι θερμοκρασιακές αποκρίσεις τεσσάρων συμμετρικά τοποθετημένων θερμοζευγών. Τα TC_1 και TC_2 βρίσκονται σε ιστό με MgO NPs, ενώ τα TC_3 και TC_4 βρίσκονται σε ιστό χωρίς MgO NPs [23].

3.2 ΜΑΓΝΗΤΙΚΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ Fe₃O₄ [23]

Τα μαγνητικά NPs (Σχήμα 67) έχουν πολλές εφαρμογές στη βιοϊατρική, συμπεριλαμβανομένου του κυτταρικού διαχωρισμού, την ενζυμική καθήλωση, την κατευθυνόμενη μεταφορά φαρμάκων, σαν παράγοντας αντίθεσης στον πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό (NMR) και τη θεραπεία μαγνητικής υπερθερμίας. Το Fe₃O₄, διαθέτει εξαιρετικό μαγνητισμό και βιοσυμβατότητα, και παρασκευάζεται σχετικά εύκολα. Το Fe₃O₄, επομένως, χρησιμοποιείται ευρέως ως ένα μαγνητικό υλικό στη βιοϊατρική. Οι παράμετροι του IIF, οι κινητικές παράμετροι για ενδοκυττάρια πυρηνοποίηση και οι κινητικές παράμετροι του ρυθμού πυρηνοποίησης με και χωρίς NPs Fe₃O₄ περιεγράφηκαν από τον Wang. Μετρήθηκαν οι μεταβολές στον κυτταρικό όγκο σε ρυθμό ψύξης περί τους 5 °C/min, αγγειακών επιθηλιακών κυττάρων, χωρίς NPs, με εξωκυττάρια NPs Fe₃O₄, και ενδοκυττάρια NPs Fe₃O₄. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στο Διάγραμμα 14. Η μεταβολή του όγκου των κυττάρων παρουσία των NPs ήταν ταχύτερη συγκρινόμενη με αυτή στην απουσία των NPs. Οι όγκοι των κυττάρων με εξωκυττάρια ή ενδοκυττάρια NPs δεν διέφεραν σημαντικά στα αρχικά στάδια, αλλά ο όγκος των κυττάρων που περιείχαν ενδοκυττάρια NPs έγινε μικρότερος στο τελευταίο στάδιο. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα NPs Fe₃O₄ επηρέασαν σημαντικά τη κυτταρική αφυδάτωση. Άλλο ένα πείραμα συνέκρινε την πιθανότητα IIF σε παρουσία και απουσία των NPs Fe₃O₄ (βλ. Διάγραμμα 14, Β). Η παρουσία των NPs Fe₃O₄ επηρέασε σημαντικά τις παραμέτρους του IIF. Η θερμοδυναμική παράμετρος (Ω) παρουσία των NPs Fe₃O₄ ($11.40 \pm 2.69 \times 10^8 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) ήταν διπλάσια σε σχέση με αυτή στην απουσία των NPs Fe₃O₄ (βλ. Διάγραμμα 14, Γ). Η κινητική παράμετρος (Κ) της εξωκυττάριας πυρηνοποίησης παρουσία των NPs Fe₃O₄ ($5.23 \pm 0.83 \times 10^9 \text{ K5}$) ήταν τρεις φορές μεγαλύτερη από ότι στην απουσία τους (βλ. Διάγραμμα 14, Δ). Η ίδια κινητική παράμετρος για ενδοκυττάρια NPs Fe₃O₄, επέδειξε τη μεγαλύτερη βελτίωση. Συνοπτικά, τα NPs Fe₃O₄ έχουν δείξει ένα πολύ καλό δυναμικό για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της Κρυσταλλοχειρουργικής.



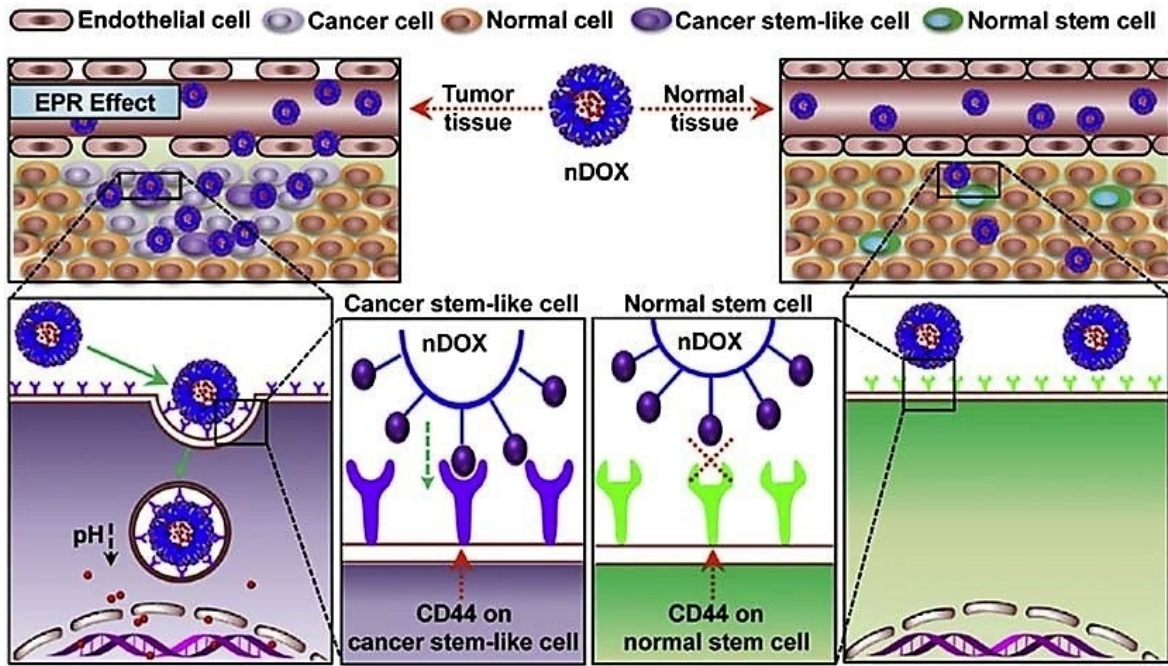
Σχήμα 67: Μαγνητικά νανοσωματίδια (NPs) και τα κελύφη τους [Πηγή: Διαδίκτυο].



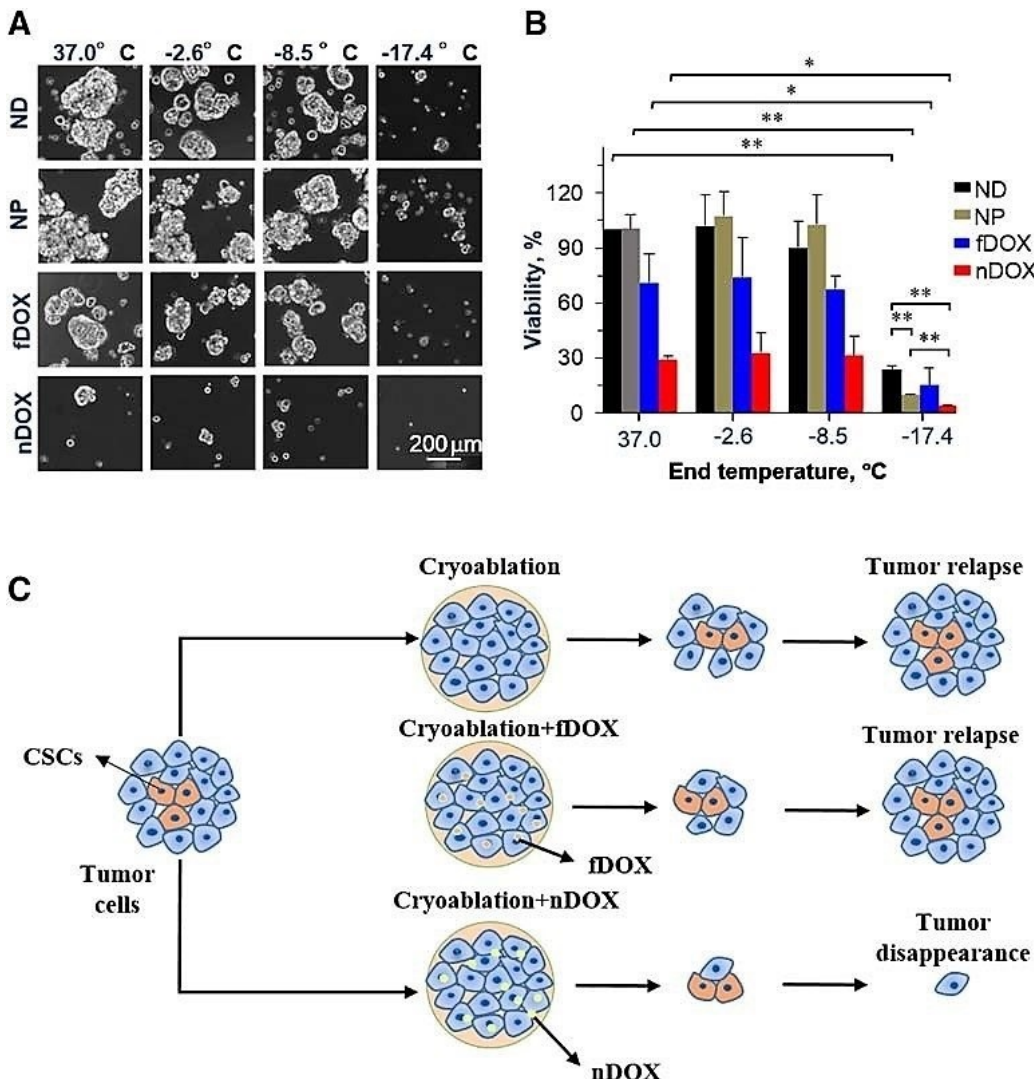
Διάγραμμα 14: Επίδραση των νανοσωματιδίων Fe_3O_4 στην κυτταρική αφυδάτωση και τον ενδοκυττάριο σχηματισμό κρυστάλλων πάγου (IIF). (A) Οι αλλαγές στον κυτταρικό όγκο κατά την παρουσία και την απουσία των NPs Fe_3O_4 . (B) Η πιθανότητα ενδοκυττάρια σχηματισμού πάγου σε τρεις διαφορετικές καταστάσεις διαλυμάτων NPs Fe_3O_4 . [23]. (Γ) Κινηματικές παράμετροι πυρηνοποίησης και (Δ) θερμοδυναμικές παράμετροι του ενδοκυττάρια πάγου σε διαλύματα NPs Fe_3O_4 σε διαφορετικές καταστάσεις.

3.3 ΠΟΛΥΜΕΡΙΚΑ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ [23]

Διαλύοντας NPs σε διαλύματα προς τον σχηματισμό νανοϋγρών (nanofluids) έχει δείξει να ενισχύει τη μεταφορά θερμότητας στο εσωτερικό ενός διαλύματος με κρυσταλλοπροστατευτικό παράγοντα. Για παράδειγμα, μια μικρή ποσότητα NPs μετάλλου ή νανοσωληνίσκων (nanotubes) σε υδατικό διάλυμα φαίνεται να αυξάνει τη θερμική αγωγιμότητα του διαλύματος. Μια σημαντική βελτίωση στην ικανότητα της κρυσταλλοπροστασίας του καρκίνου έχει επίσης αναφερθεί στην παρουσία νανοσωματιδίων αλουμινίου (NPs Al) και μαγνητικών NPs Fe_3O_4 . Τα πολυμερικά NPs έχουν χαμηλότερη θερμική αγωγιμότητα από τα NPs μετάλλων και τους νανοσωληνίσκους, έτσι είναι λιγότερο ικανά να ενισχύσουν τη μεταφορά θερμότητας. Συνεπώς η προσθήκη νανοσωληνίσκων γραφίτη ή νανοϊνών (nanofibers) άνθρακα σε NPs πολυμερών έχει αποδειχθεί να βελτιώνει τη θερμική αγωγιμότητα των συμπλεγμάτων πολυμερούς. Επιπλέον, NPs με πυρήνα χρυσού και περιβλήματος πολυμερούς, αναφέρθηκαν να διαθέτουν μια σχετικά μεγάλη θερμική αγωγιμότητα. Αυτές οι έρευνες έδειξαν ότι τα NPs πολυμερούς συζευγμένα με μέταλλο ή με νανοϋλικά με βάση τον άνθρακα, έχουν ισχυρό δυναμικό στη μεταφορά θερμότητας. Η από πολυμερή νανοφάρμακα μεσολαβούμενη Κρυσταλλοπροστασία θεωρείται συνεπώς ως πολλά υποσχόμενη μέθοδος για τη βελτίωση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας της κρυσταλλοπροστασίας κατά του καρκίνου. Λόγω του περιορισμένου αποτελέσματος στον όγκο κατάψυξης, τα πολυμερικά NPs συνήθως συνδυάζονται με τη χρήση χημειοθεραπευτικών φαρμάκων ή άλλων λειτουργικών υλικών που βελτιώνουν την έκταση του κρυσταλλοπροστασίας. Τα πολυμερικά NPs έχουν ερευνηθεί ως προς την ενίσχυση της κρυσταλλοπροστασίας εντός του ιστού - στόχου. Για παράδειγμα, οι αντιψυκτικές πρωτεΐνες (AFPs) μπορούν να αλλάξουν τη μορφολογία των κρυστάλλων πάγου σε οξείαιχμες μορφές, γεγονός το οποίο προκαλεί εντατικότερη κρυσταλλοπροστασία βλάβη. Το 2015, πολυμερικά NPs με επιφάνειες επενδεδυμένες με χυτοσάνη, αναφέρθηκαν να στοχεύουν συγκεκριμένα τους υποδοχείς του μορίου CD44+ σε βλαστικά καρκινικά κύτταρα (CSCs) (Σχήμα 68). Στη συμβατική χημειοθεραπεία, η αντίσταση των CSCs μπορεί να οδηγήσει υποτροπή της νόσου. Το επενδεδυμένα λοιπόν με χυτοσάνη πολυμερικά NPs, μπορούσαν να βελτιώσουν την αποτελεσματικότητα της κρυσταλλοπροστασίας. Επιπλέον μελετήθηκε η επίδραση της κρυσταλλοπροστασίας σε παρουσία και απουσία ελεύθερης δοξορουβικίνης (αποτελεί κλασικό χημειοθεραπευτικό παράγοντα) (fDOX) και ενσωματωμένης σε NPs, δοξορουβικίνης (nDOX) στα CD44+ και CD133+ βλαστικά νεοπλασματικά κύτταρα (CSCs) από καρκινικό όγκο του μαστού. Η μελέτη αυτή κατέδειξε βελτιωμένη ασφάλεια και αποτελεσματικότητα της μεσολαβούμενης από νανοφάρμακα Κρυσταλλοπροστασίας για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού σε σύγκριση με τις συμβατικές κρυσταλλοπροστασίες για τον όγκο αυτό. Τα μόρια CD44 και CD133 είναι δύο τυπικοί δείκτες στην επιφάνεια των κυττάρων για την αξιολόγηση του πλήθους και της διασποράς των CSCs διαφόρων κακοηθειών όπως είναι και ο καρκίνος του μαστού. Οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι η κρυσταλλοπροστασία από μόνη της ήταν αναποτελεσματική στην καταστροφή των CSCs, και ότι τα αποτελέσματα από το συνδυασμό αυτής και της fDOX δεν ήταν σημαντικά διαφορετικά από εκείνα της fDOX από μόνης της (βλ. Σχήμα 69). Ο συνδυασμός της Κρυσταλλοπροστασίας και της nDOX (1 $\mu\text{g/ml}$) προώθησε την καταστροφή των CSCs σε σύγκριση με την Κρυσταλλοπροστασία ή την nDOX μόνη της. Σχεδόν όλα τα CSCs εξαλείφθηκαν (από $16,6 \pm 2,8\%$ πριν από τη θεραπεία σε $0,6 \pm 0,2\%$ μετά τη θεραπεία, σαν ποσοστά των υποπληθυσμών (CSCs)). Η συνδυασμένη Κρυσταλλοπροστασία με nDOX ήταν επίσης αποτελεσματική στη στοχευόμενη καταστροφή των CD44+ και CD133+ CSCs. Η παρουσία nDOX συνεπώς βελτιώνει τη Κρυσταλλοπροστασία, παρέχοντας καλύτερη απόδοση από την παρουσία μόνο NPs ή fDOX.



Σχήμα 68: Σχηματική απεικόνιση των επενδεδυμένων με χυτοσάνη πολυμερικών νανοσωματιδίων που διαθέτουν μικροενσωματωμένη υδροχλωρική δοξορουβικίνη ως χημειοθεραπευτικό παράγοντα (n-DOX) και οι αντινεοπλασματικοί μηχανισμοί της n-DOX [23].

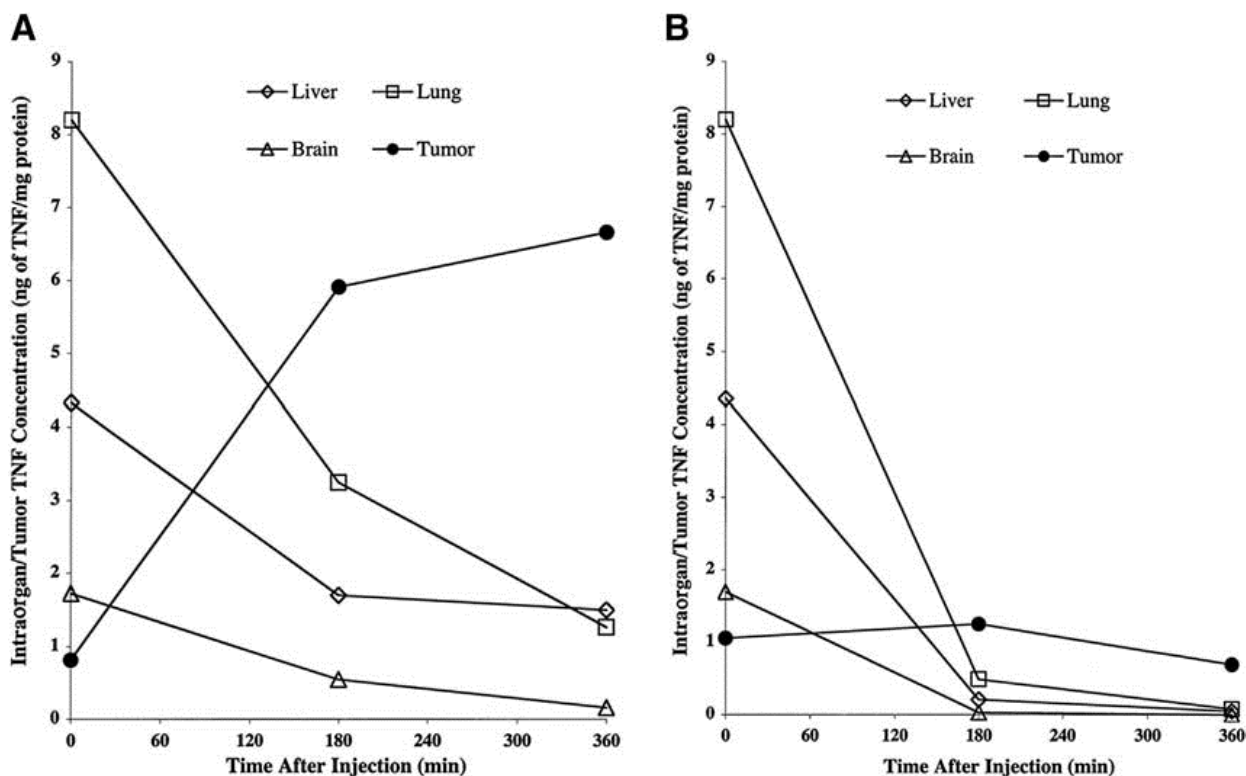


Σχήμα 69: Μορφολογία και ποσότητα συναθροισμένων κυττάρων από καρκίνο του μαστού μετά από 10 ημέρες επώασης σε θερπτικό υλικό που δεν περιέχει κανένα φαρμακευτικό παράγοντα (ND), μόνο νανοσωματίδια (NPs), ελεύθερη δοξορουβικίνη (f-DOX 1 μg/ml) και μικροενσωματωμένη σε NPs δοξορουβικίνη (n-DOX 1 μg/ml). Επιλέγονται ως θερμοκρασίες Κρυοθεραπείας αυτές των -2.6°C, -8.5°C και -17.5°C. Επίσης εξετάζεται και η περίπτωση της μη εφαρμογής κρυοθεραπείας με σταθερή θερμοκρασία στους 37°C. (Α) Μικρογραφήματα που δείχνουν την επιβίωση των συσσωματωμένων καρκινικών κυττάρων. (Β) Σχετική ποσοτική κυτταρική επιβίωση. (Γ) Σχηματική απεικόνιση της αντίστασης των στελεχών των καρκινικών βλαστικών κυττάρων (CSCs) μετά από κρυοκαταστροφή μόνο και μετά από συνδυασμένη κρυοκαταστροφή με f-DOX ή n-DOX [23].

3.4 ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΡΥΣΟΥ ΜΕ ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ TNF-a [23]

Ο χρυσός ήταν μεταξύ των πρώτων μετάλλων που ανακαλύφθηκαν, και η μελέτη καθώς και η εφαρμογή του χρονολογούνται αρκετές χιλιάδες χρόνια πριν. Έχει πραγματοποιηθεί σημαντική πρόοδος χρησιμοποιώντας σφαιρικά NPs χρυσού (GNPs), νανοράβδων χρυσού (GNRs), νανοκελύφων χρυσού (GNSs), και νανοκλωβών χρυσού (GNCs) στη θεραπεία του καρκίνου. Παρά τη μακρά ιστορία της τεχνικής, η σχετιζόμενη με GNPs "επανάσταση στην ανοσοχημεία" συνέβη μόνο κατά το 1971. Το 2006, ο Visaria υποστήριξε ότι η μεσολαβούμενη από NPs Au στοχευμένη μεταφορά TNF-a συνδυαζόμενη με θερμικού τύπου καταστροφή ιστών, προσφέρει καθυστερημένη ανάπτυξη της νεοπλασίας, μειώνοντας το ποσοστό επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων και την αιμάτωση του όγκου. Τα GNPs αρχικά προτάθηκαν στη Νανοκρυσταλλογραφία στη μελέτη με αριθμητική προσομοίωση των Yan και Liu. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η ενσωμάτωση των νανοδομών χρυσού σε συμβατικά πρωτόκολλα μπορεί να ενισχύσει την ανάπτυξη της ογκοκένωσης. Η χρήση αυτών των νανοδομών χρυσού προσέφερε νέες στρατηγικές για την καλύτερη φόρτιση των ιστών, τη στοχοθέτηση τους, καθώς και τον έλεγχο της απελευθέρωσης των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων. Αυτό θα μπορούσε να ελαχιστοποιήσει τις παρενέργειες των κυτταροτοξικών αντικαρκινικών φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στη συμβατική χημειοθεραπεία. Για παράδειγμα, ο παράγοντας νέκρωσης όγκων τύπου α (TNF-a) έχει γνωστές ανοσολογικές και φλεγμονώδεις αντινεοπλασματικές ιδιότητες, αλλά το στενό θεραπευτικό του εύρος, που συνεπάγεται τοξικότητα ακόμα και σε μικρές δόσεις, περιορίζει τη χρήση του ως συμβατικό αντικαρκινικό παράγοντα.

Η στοχευμένη διάχυση του TNF-a στην περιοχή της νεοπλασίας και μόνο, θα μπορούσε να αυξήσει επικουρικά την κρυσταλλογραφική αποτελεσματικότητα. Ο Paciotti δημοσίευσε ένα σύστημα μεταφοράς βασισμένο σε κολλοειδή NPs Au για τη στοχοθετημένη μεταφορά TNF-a στην περιοχή του όγκου. Το νανοφάρμακο, περιγράφεται ως PT-cAu-TNF, και αποτελείται από ένα εναιώρημα κολλοειδών NPs Au (μέσης διαμέτρου 30 nm), στα οποία προσδένεται ο TNF-a με ομοιοπολικό δεσμό. Μετά από ενδοφλέβια χορήγηση του, ο PT-cAu-TNF συσσωρεύτηκε γρήγορα σε καρκίνο του παχέος εντέρου, και παρουσίασε μικρή συσσώρευση σε υγιή όργανα όπως το ήπαρ και ο σπλήνας, (Διάγραμμα 15). Ο PT-cAu-TNF ήταν λιγότερο τοξικός και πιο αποτελεσματικός στη μείωση της επιβάρυνσης της μάζας του νεοπλάσματος στην ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου, και επίσης προκάλεσε μεγαλύτερη συρρίκνωση του καρκινικού όγκου συγκριτικά με την απλή έγχυση TNF-a. Αυτό συνέβη επειδή η μέγιστη αντινεοπλασματική δράση παρουσιάστηκε σε σχετικά χαμηλή δόση φαρμάκου.



Διάγραμμα 15: Συγκεντρώσεις του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF) στο ήπαρ, τους πνεύμονες και τον εγκέφαλο μετά την ενδοφλέβια έγχυση (A) επενδεδυμένων με TNF NPs Au και (B) απλού διαλύματος TNF [23].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ ΣΤΗ ΝΑΝΟΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ [23]

Παρά τα διάφορα πλεονεκτήματα που συζητήθηκαν παραπάνω, οι προκλήσεις παραμένουν για το συνδυασμό νανοτεχνολογίας και Κρυστοχειρουργικής. Τα αποτελέσματα από τις κλινικές δοκιμές δεν είναι ακόμη διαθέσιμα. Από το 2005, μόνο λίγες νανοπλατφόρμες έχουν δοκιμαστεί σε κρυστοβιολογικές εφαρμογές. Σήμερα αυτές αφορούν ένα σχετικά μικρό πεδίο έρευνας, έτσι ώστε νέα στοιχεία και έρευνες να είναι πλέον αναγκαίες.

Υπάρχει επίσης έλλειψη βαθιάς και ολοκληρωμένης κατανόησης για το τι συμβαίνει εντός των ιστών κατά τη διάρκεια της κρυστοθεραπείας, η οποία είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική θεραπεία του καρκίνου. Συνοπτικά, διάφορες πτυχές που προκύπτουν από την εφαρμογή της Νανοκρυστοχειρουργικής χρειάζεται να επιλυθούν:

Πρώτον, υπάρχει έλλειψη των θερμικών χαρακτηριστικών του βιολογικού ιστού που φορτίζεται με νανοσωματίδια, όπως η θερμική αγωγιμότητα, η ειδική θερμότητα, η λανθάνουσα θερμότητα κατά την αλλαγή φάσης, και η θερμοκρασία αλλαγής φάσης, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Επειδή τα θερμικά χαρακτηριστικά είναι οι βασικές παράμετροι που καθορίζουν το πεδίο κατανομής της θερμοκρασίας, είναι μεγάλη η ανάγκη να προσπελαστούν αυτές οι παράμετροι. Νανοσωματίδια με υψηλότερη θερμική αγωγιμότητα είναι επωφελή για τη μείωση της θερμοκρασίας, η οποία είναι κρίσιμη για να καταστραφούν οι καρκινικοί ιστοί - στόχοι.

Δεύτερον, θα πρέπει να δοθεί περισσότερη προσοχή στην ανάπτυξη της κρυογονικής νανοευαισθητοποίησης. Μολονότι τα νανοσωματίδια MgO μπορούν να ενισχύσουν το νανοκρυοχειρουργικό αποτέλεσμα, ωστόσο η υψηλή συγκέντρωση νανοσωματιδίων είναι μια καλύτερη λύση ώστε να βελτιωθεί σημαντικά το κρυοχειρουργικό αποτέλεσμα.

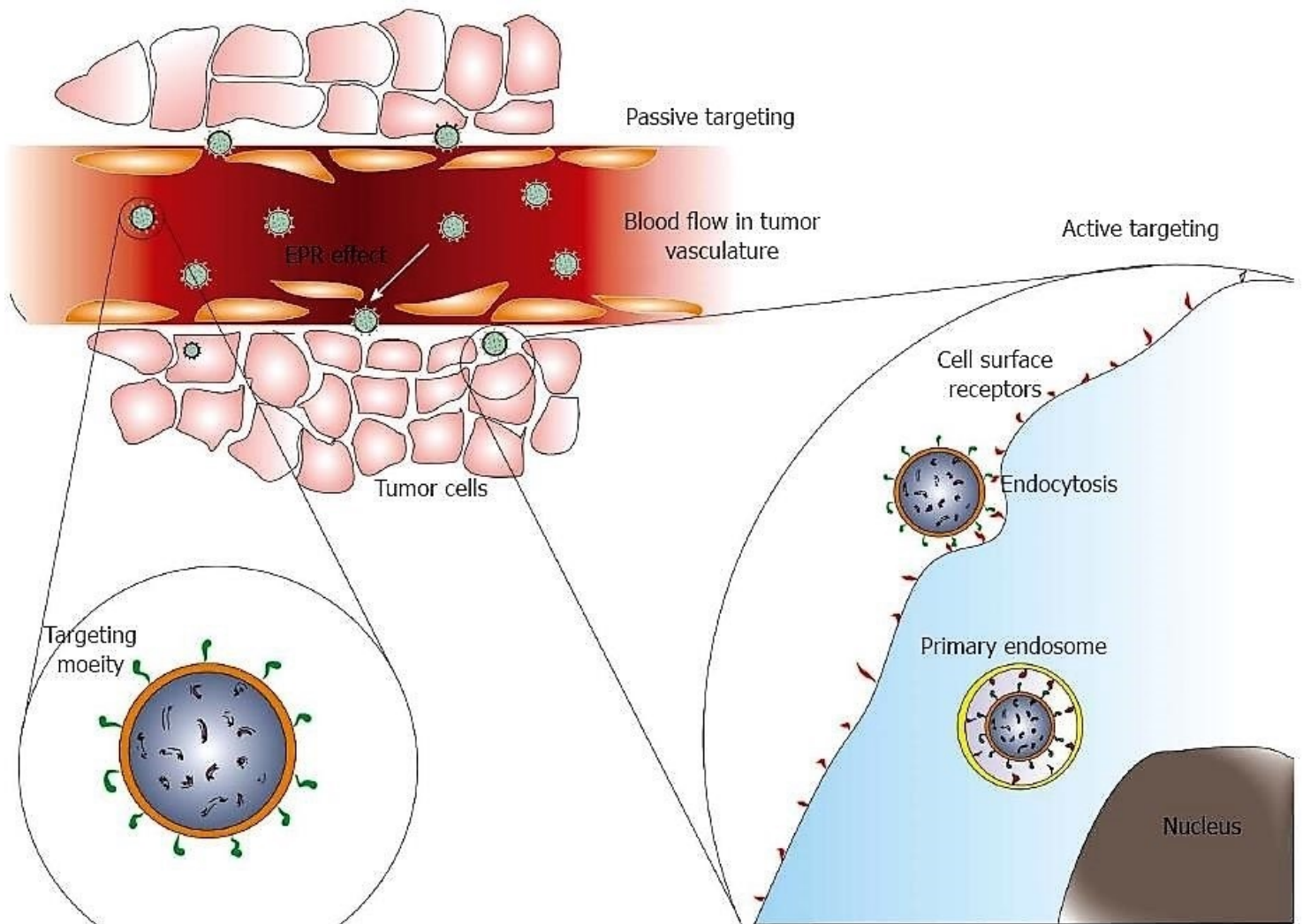
Όμως, είναι δύσκολο να επιτευχθεί μια υψηλή συγκέντρωση νανοσωματιδίων στον ιστό – στόχο μέσω παθητικής διάχυσης και μόνο. Η ενεργός στόχευση ή τα ελεγχόμενα από μαγνητικό πεδίο NPs μπορούν να εγγυηθούν καλύτερα για μια αποτελεσματικότερη μεταφορά χημειοθεραπευτικών παραγόντων στο στόχο. Επιπλέον, ο σχεδιασμός και η ανάπτυξη νανοσωματιδίων με υψηλότερη θερμική αγωγιμότητα θα μπορούσε να λύσει το πρόβλημα του ρυθμού μετάδοσης θερμότητας. Η μεσολαβούμενη απο νανοφάρμακα κρυοχειρουργική παρέχει άλλη μία αποτελεσματική μέθοδο για την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων μιας και είναι εύκολο να επιτευχθεί η απαραίτητη συγκέντρωση νανοφαρμάκου στον κρυοχειρουργικό στόχο με αυτό το συνδυασμό μεθόδων.

Τρίτον, οι τρέχουσες μελέτες επικεντρώνονται περισσότερο στη θερμοκρασιακή απόκριση κατά τη διαδικασία της ψύξης και θέρμανσης με φόρτιση ειδικών νανοσωματιδίων. Ωστόσο, είναι εξαιρετικά σημαντικό να αναπτυχθούν θεωρητικά μοντέλα για να περιγράψουν και να προβλέψουν το ρόλο της χρήσης νανοσωματιδίων στα κύτταρα, τους ιστούς και τα όργανα κατά την κατάψυξη και απόψυξη και μεταφερθούν τα χαρακτηριστικά των νανοσωματιδίων σε ιστούς και αγγεία. Προκειμένου να διενεργηθεί αποτελεσματική Νανοκρυοχειρουργική, η θεωρητική περιγραφή και ο πειραματικός χαρακτηρισμός σε μικρο - νάνο κλίμακα είναι απαραίτητα προκειμένου να κατανοήσουμε τη θερμοκρασιακή απόκριση κατά τη διάρκεια της διαδικασίας αλλαγής φάσης.

Ο απώτερος στόχος της Κρυοχειρουργικής είναι να καταστρέφει οριστικά το σύνολο των καρκινικών κυττάρων μέσα σε μια στενά οριοθετημένη περιοχή και χωρίς οποιαδήποτε βλάβη των γύρω υγιών κυττάρων. Η κρυοχειρουργική θεραπεία των όγκων, συνδυαζόμενη με NPs, δυναμικά επιτρέπει μια υψηλής απόδοσης κρυονέκρωση. Γνωρίζουμε ότι υπάρχει αλλαγή φάσης κατά τη Κρυοχειρουργική, και έτσι η Νανοκρυοχειρουργική είναι πολύ διαφορετική από τη Νανουπερθερμία, και πιο περίπλοκη, λόγω των πολλών φυσικών και βιοχημικών διεργασιών.

Οι κλινικές δοκιμές σήμερα πραγματοποιούνται χρησιμοποιώντας τα μαγνητικά, Au, και πολυμερικά NPs για υπερθερμία στον ιστό – στόχο και ενδέχεται στο μέλλον οι γνώσεις από τις εφαρμογές αυτές να μπορούν να εφαρμοστούν και στη Νανοκρυοχειρουργική. Οι μέθοδοι εισαγωγής των NPs στον οργανισμό περιλαμβάνουν την ενδοφλέβια έγχυση, την αρτηριακή έγχυση και την υποδόρια έγχυση. Ο τύπος των νανοσωματιδίων, η συγκέντρωση των νανοσωματιδίων, οι θερμικές παράμετροι των ιστών και η αβεβαιότητα των ορίων των θερμοκρασιακών κατανομών είναι όλοι οι παράγοντες που επηρεάζουν το αποτέλεσμα της Νανοκρυοχειρουργικής. Τα NPs που ενσωματώνονται σε κύτταρα μπορούν είτε να απορροφηθούν είτε να αποβληθούν ως αποτέλεσμα της κυκλοφορίας του αίματος, επομένως τα NPs δεν μπορούν για πάντα να βρίσκονται στην περιοχή-στόχο. Η μετανάστευση και η μεταφορά των NPs εντός του ιστού είναι πολύ σημαντικές για την αποτελεσματική Κρυοχειρουργική. Η τοξικότητα των NPs σε φυσιολογικούς ιστούς και κύτταρα θα πρέπει επίσης να εξετασθεί προσεκτικά και συστηματικά. Για την ελάχιστη επεμβατική Νανοκρυοχειρουργική, μερικές αλληλεπιδράσεις NPs και κυττάρων μπορούν να είναι επιβλαβείς, ενώ άλλες όχι. Κατά συνέπεια, υπάρχει ακόμη πολύς δρόμος να διερευνηθεί κατάλληλα η δράση των NPs για συγκεκριμένους τύπους καρκίνου. Η προηγούμενη και ολοκληρωμένη αξιολόγηση των νανοϋλικών είναι λοιπόν υψίστης σημασίας προτού αυτά χρησιμοποιηθούν στη σύγχρονη Κρυοιατρική.

Η Νανοκρoχειρoυργική αντιπροσωπεύει μια νέα κατεύθυνση στο πεδίο μεταφοράς βιοθερμότητας και απομένουν πολλά να γίνουν για να καταστούν επαρκώς κατανοητές οι φυσικές, χημικές και βιολογικές βάσεις της νέας αυτής μεθόδου.



Σχήμα 70: Παθητική και ενεργητική διάχυση νανοσωματιδίων στον ιστό - στόχο [Πηγή: Διαδίκτυο].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΜΟΝΤΕΛΑ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΘΕΡΜΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

5.1 ΜΟΝΤΕΛΟ ΚΛΑΣΙΚΗΣ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ [6,24,25,46,49,55,60,64,70]

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Κρυοχειρουργική, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είναι μια χειρουργική τεχνική όπου οι ανεπιθύμητοι ή νοσούντες ιστοί ψύχονται σε εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες. Στην πράξη, η Κρυοχειρουργική ουσιαστικά ξεκίνησε μετά από το 1940, όταν οι χειρουργοί άρχισαν να ενδιαφέρονται για τις αναισθητικές ιδιότητες των χαμηλών θερμοκρασιών. Τελικά ανακάλυψαν ότι οι ιστοί θα αρχίσουν να υπόκεινται σε νέκρωση σε θερμοκρασίες μεταξύ -15°C έως -40°C . Δεν ήταν μέχρι το 1960, που πραγματοποιήθηκε η εφεύρεση των cryoprobe με εσωτερική παροχή υγρού αζώτου. Η εισαγωγή τέτοιων κεφαλών μέσα στον ιστό στόχο επέτρεψε την κατάψυξη του εκ των έσω. Ανάμεσα στα πολλά πλεονεκτήματα της Κρυοχειρουργικής περιλαμβάνεται η χαμηλή επεμβατικότητα της μεθόδου, η ελάχιστη απώλεια αίματος, ο τοποπεριοχικός έλεγχος της χειρουργικής και η μείωση του χρόνου ανάρρωσης και του χρόνου νοσηλείας του ασθενούς. Σε ορισμένες περιπτώσεις, τοπική αναισθησία μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη θέση της γενικής, γεγονός το οποίο οδηγεί γενικά σε λιγότερες χειρουργικές επιπλοκές. Αυτό σημαίνει ότι σε γενικές γραμμές η διαδικασία δρα εν γένει προς όφελος του ασθενή.

Ενώ όμως η διαδικασία μπορεί εύκολα να πραγματοποιηθεί, εντούτοις η παρακολούθηση της θερμοκρασίας του ιστού σε πραγματικό χρόνο είναι ιδιαίτερα δυσχερές, δεδομένου ότι απαιτείται η εισαγωγή θερμοζευγών που αυξάνει τις προκαλούμενες από τη χειρουργική επέμβαση επιπλοκές. Έτσι, πολλοί ερευνητές έχουν στραφεί σε μαθηματικά μοντέλα προκειμένου να γίνει καλύτερα κατανοητό το προφίλ της θερμοκρασίας στους ιστούς.

Εδώ, θα τροποποιηθεί η εξίσωση μεταφοράς βιοθερμότητας του Pennes:

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla(k \nabla T) + Q_{bio}$$

Όπου ρ η πυκνότητα του ιστού, c η ειδική θερμότητα, k η θερμική αγωγιμότητα του ιστού, T η θερμοκρασία και Q_{bio} η θερμότητα που προσφέρεται από τον μεταβολισμό του οργανισμού.

Μετασχηματίζοντας την παραπάνω εξίσωση με σφαιρικές συντεταγμένες προκύπτει:

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} = k \left(\frac{\partial^2 T}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \cdot \frac{\partial T}{\partial r} \right) + Q_{bio}$$

Όπου r η ακτίνα του κατεψυγμένου όγκου γύρω από το σημείο εφαρμογής του cryoprobe.

B. ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΟΣ

B1) ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΓΕΩΜΕΤΡΙΑΣ, ΤΩΝ ΟΡΙΑΚΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΡΧΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ

Στη μελέτη αυτή, θα γίνει προσπάθεια προσομοίωσης μια σφαιρικής μάζας ιστών που είναι ισοτροπική στις θερμικές της ιδιότητες. Στο κέντρο του όγκου του ιστού εισάγουμε ιδανική κρυσταλλοειδική κεφαλή που καταλαμβάνει απειροστά μικρή ποσότητα όγκου, που τροφοδοτείται με υγρό άζωτο, ώστε το κέντρο της σφαίρας να διατηρείται στους -196°C .

Η επόμενη μας οριακή συνθήκη είναι ότι σε μια περιοχή απείρως μακριά από το σημείο του καθετήρα, η θερμοκρασία θα πρέπει να είναι η θερμοκρασία του σώματος, που διατηρείται σταθερή στους 37°C . Επίσης πριν από την έναρξη της χειρουργικής, η θερμοκρασία του ιστού πρέπει να είναι σταθερή στους 37°C .

Ωστόσο, στην κατάψυξη, τα κύτταρα θα υποστούν μια αλλαγή φάσης στο σημείο πήξης, όπου θα χάνουν λανθάνουσα θερμότητα πήξης και η μεταβολή της θερμοκρασίας στα κύτταρα αυτά θα πρέπει, θεωρητικά, να είναι μηδενική. Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί κλινικά ότι η αλλαγή φάσης (υγρό > στερεό) στην λαμβάνει χώρα στη θερμοκρασιακή περιοχή $-1^{\circ}\text{C} > T > -8^{\circ}\text{C}$. Ένα άλλο σημείο προς εξέταση είναι ότι οι ιστοί έχουν διαφορετικές θερμικές ιδιότητες στην κατεψυγμένη/υπέρψυκτη/υπόψυκτη μορφή τους, που αναφέρονται στον πίνακα των σταθερών στο μέρος της εξίσωσης μεταφοράς βιοθερμότητας παρακάτω. Συνεπώς, η ανάλυση θα πρέπει να κατανέμεται σε τρία διαφορετικά εύρη θερμοκρασίας $37^{\circ}\text{C} > T > -1^{\circ}\text{C}$, όταν τα κύτταρα είναι υπόψυκτα, $-1^{\circ}\text{C} > T > -8^{\circ}\text{C}$ όταν κύτταρα είναι υπέρψυκτα και $-8^{\circ}\text{C} > T > -196^{\circ}\text{C}$, όταν τα κύτταρα είναι κατεψυγμένα. Το γεγονός αυτό αποδίδει τρεις ξεχωριστές εξισώσεις με διαφορετικές οριακές συνθήκες. Γνωρίζοντας το συνολικό ποσό της λανθάνουσας θερμότητας που απαιτείται από πειραματικά μοντέλα στη βιβλιογραφία, πήραμε μια μέση λανθάνουσα θερμότητα σε συνδυασμό με την ειδική θερμότητα, ώστε να απλουστευθεί το πρόβλημα.

B2) Η ΕΞΙΣΩΣΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΒΙΟΘΕΡΜΟΤΗΤΑΣ

Το προφίλ θερμοκρασίας στον ιστό μπορεί να περιγραφεί με την εξίσωση μεταφοράς βιοθερμότητας του Pennes, η οποία είναι μια δεύτερης τάξης διαφορική εξίσωση που λαμβάνει τη μορφή:

$$\rho c \frac{\partial T(X,t)}{\partial t} = \nabla \cdot k \nabla [T(X,t)] + C_b \omega_b T_a - \omega_b C_b T(X,t) + Q_{bio}$$

Όπου C , C_b είναι η θερμική χωρητικότητα του βιολογικού ιστού και του αίματος αντίστοιχα, το μητρώο X περιέχει τις καρτεσιανές συντεταγμένες x , y και z . Το k είναι η θερμική αγωγιμότητα του ιστού, η ω_b είναι η παροχή του αίματος, η T_a είναι η αρτηριακή θερμοκρασία, η T είναι η θερμοκρασία των ιστών και η Q_{bio} είναι η παραγωγή θερμότητας από το μεταβολισμό. Οι τιμές παρουσιάζονται στον Πίνακα 8 των σταθερών παρακάτω.

	Unit	Value
Heat capacity of the frozen tissue	MJ/m ³ °C	1.8
Heat capacity of the unfrozen tissue	MJ/m ³ °C	3.6
Heat capacity of the blood	MJ/m ³ °C	3.6
Thermal conductivity of the unfrozen tissue	W/m °C	0.5
Thermal conductivity of the frozen tissue	W/m °C	2
Latent heat	MJ/m ³	250
Body core temperature	°C	37
Lower phase transition temperature	°C	-8
Upper phase transition temperature	°C	-1
Blood perfusion of normal tissue	ml/s/ml	0.0005
Blood perfusion of tumor tissue	ml/s/ml	0.002
Metabolic rate of normal tissue	W/m ³	4200
Metabolic rate of tumor tissue	W/m ³	42,000

Πίνακας 8: Τυπικές θερμοφυσικές ιδιότητες των μαλακών βιολογικών ιστών [70].

Η εξίσωση αυτή μπορεί να απλοποιηθεί περαιτέρω στη δική μας περίπτωση, αν σκεφτούμε ότι σε γρήγορη κατάψυξη ιστών, πρώτα θα προκληθεί αγγειοσυστολή των τριχοειδών πριν από την κατάψυξη όλου του αίματος στην τριχοειδική κυκλοφορία. Στην απουσία της αιμάτωσης, το ήδη μικρό ω_b τείνει στο μηδέν. Επίσης, τα κύτταρα δεν θα είναι σε θέση να παράγουν θερμότητα λόγω μεταβολισμού όταν καταψυχθούν και έτσι η Q_{bio} είναι πρακτικά ανύπαρκτη σε θερμοκρασίες υπό του μηδενός. Συνδυάζοντας τα παραπάνω, πριν κατάψυξη των κυττάρων έχουμε μια μη ομογενή διαφορική εξίσωση ενώ για τα κατεψυγμένα και τα υπέρψυκτα κύτταρα έχουμε ομογενή.

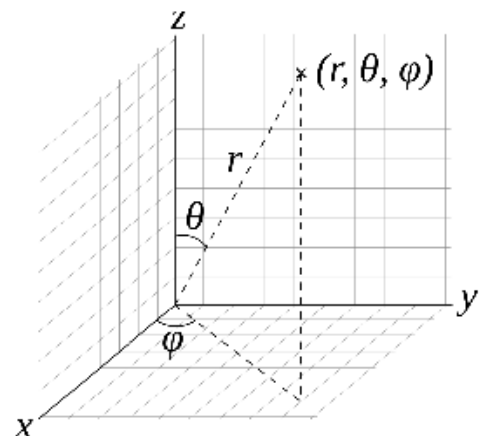
Κατά την επισκόπηση του προβλήματος, καθίσταται εμφανές ότι η διάχυση της θερμότητας είναι ακτινική σε σφαιρικές συντεταγμένες και ανεξάρτητη από τις άλλες σφαιρικές συντεταγμένες, ϕ και θ .

Οι καρτεσιανές συντεταγμένες προκύπτουν από τις σφαιρικές συντεταγμένες (με τη σύμβαση ακτίνα r , πολική γωνία θ , αζιμούθιο ϕ), και με πεδία ορισμού $r \in [0, \infty)$, $\theta \in [0, \pi]$, $\phi \in [0, 2\pi]$, από τους ακόλουθους τύπους:

$$\begin{aligned}x &= r \sin \theta \cos \varphi \\y &= r \sin \theta \sin \varphi \\z &= r \cos \theta\end{aligned}$$

Οι σφαιρικές συντεταγμένες (σύμφωνα με τη σύμβαση για ακτίνα r , πολική γωνία θ , αζιμούθιο ϕ) του σημείου αντίστοιχα προκύπτουν από τις καρτεσιανές συντεταγμένες (x, y, z) από τους τύπους:

$$\begin{aligned}r &= \sqrt{x^2 + y^2 + z^2} \\ \theta &= \arccos\left(\frac{z}{\sqrt{x^2 + y^2 + z^2}}\right) \\ \varphi &= \text{atan2}(y, x) = \begin{cases} \arctan\left(\frac{y}{x}\right) & , \text{για } x > 0, \\ \text{sgn}(y)\frac{\pi}{2} & , \text{για } x = 0, \\ \arctan\left(\frac{y}{x}\right) + \pi & , \text{για } x < 0 \wedge y \geq 0, \\ \arctan\left(\frac{y}{x}\right) - \pi & , \text{για } x < 0 \wedge y < 0. \end{cases}\end{aligned}$$



Ο μετασχηματισμός της εξίσωσης μετάδοσης βιοθερμότητας του Pennes σε σφαιρικές συντεταγμένες, οδηγεί στη διαφορική εξίσωση πρώτου βαθμού που αναφέρθηκε στην εισαγωγή μας:

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} = k \left(\frac{\partial^2 T}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \cdot \frac{\partial T}{\partial r} \right) + Q_{bio}$$

Αυτή η διαφορική εξίσωση θα επιλυθεί αναλυτικά για να επιτευχθεί ο καθορισμός του θερμοκρασιακού μας προφίλ. Αξίζει να αναφέρουμε εδώ ότι κατά την μετατροπή από ένα Καρτεσιανό σύστημα συντεταγμένων, σε ένα σφαιρικό έχουμε δημιουργήσει ένα πρόσθετο όρο:

$$\frac{2}{r} \cdot \frac{\partial T}{\partial r}$$

Ο όρος αυτός περιγράφει την εξάρτηση της μεταβολής της θερμοκρασίας με το χρόνο με την χωρική διακύμανση της θερμοκρασίας τόσο στον πρώτο όσο και στον δεύτερο όρο, η οποία υπαινίσσεται μια λύση χρησιμοποιώντας τις σφαιρικές συναρτήσεις του Bessel.

Γ) ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΛΥΣΗ

Ξεκινώντας από τον μετασχηματισμό της εξίσωσης μεταφοράς θερμότητας για $T=u$ και $Q_{bio}=Q_m$ έχουμε διαδοχικά:

$$\rho c \frac{\partial u}{\partial t} = k \left(\frac{\partial^2 u}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \cdot \frac{\partial u}{\partial r} \right) + Q_m \quad (1)$$

Αρχικές και οριακές συνθήκες: $u(0, t) = T_1$ (2) και $u(b, t) = T_b$ (3)

$$\tilde{c} = \begin{cases} c_u & u > -1^\circ C \\ \frac{Q_1}{7} + \frac{c_f + c_u}{2} & -8^\circ C < u < -1^\circ C \quad (4), \\ c_u & u < -8^\circ C \end{cases} \quad \tilde{k} = \begin{cases} k_u & u > -1^\circ C \\ \frac{k_f + k_u}{2} & -8^\circ C < u < -1^\circ C \quad (5) \\ k_u & u < -8^\circ C \end{cases}$$

$$\tilde{Q}_m = \begin{cases} 0.042 & u > -1^\circ C \\ 0 & -8^\circ C < u < -1^\circ C \quad (6) \\ 0 & u < -8^\circ C \end{cases} \quad u(r, 0) = T_1 = \begin{cases} 37 & u > -1^\circ C \\ -1 & -8^\circ C < u < -1^\circ C \quad (7) \\ -8 & u < -8^\circ C \end{cases}$$

Ενώ οι (2) και (3) είναι οι οριακές μας συνθήκες, η (7) είναι η αρχική μας συνθήκη και οι (4), (5), (6) αφορούν τις σταθερές μας.

Για την επίλυση της μη ομογενούς διαφορικής εξίσωσης, με μη ομογενείς οριακές συνθήκες, αρχικά βρίσκουμε μια μερική λύση που στη συνέχεια την προσθέτουμε στη λύση της ομογενούς.

$$u(r, t) = u_s(r) + u_h(r, t) \quad (8)$$

Η μερική λύση ευρίσκεται επιλύοντας για τη μόνιμη κατάσταση (steady state - ss) $u_s(r)$ που είναι η θερμοκρασία u σε θεωρητικά άπειρο χρόνο. Έτσι:

$$\rho c \frac{\partial u}{\partial t} = 0 = k \left(\frac{\partial^2 u}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \cdot \frac{\partial u}{\partial r} \right) + Q_m \quad (9)$$

Επιλύοντας την εξίσωση της μόνιμης κατάστασης και εφαρμόζοντας τις οριακές συνθήκες λαμβάνουμε:

$$u(r) = -\frac{Q_m r^2}{6k} + \left(\frac{(T_1 - T_2)}{b} + \frac{Q_m b}{6k} \right) r + T_2 \quad (10)$$

Συνεπώς η λύση της ομογενούς θα είναι:

$$u(r, t) - u_s(r) = u_h(r, t) \quad (11)$$

Οι οριακές συνθήκες για την $u_h(r, t)$ είναι:

$$u_h(0, t) = 0$$

$$u_h(b, t) = 0$$

Έτσι η διαφορική εξίσωση λαμβάνει τη μορφή:

$$\frac{\partial u_h}{\partial t} = \frac{k}{\rho c} \left(\frac{\partial^2 u_h}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \cdot \frac{\partial u_h}{\partial r} \right) \quad (12)$$

Χρησιμοποιώντας χωρισμό μεταβλητών προκύπτει:

$$u_h(r, t) = p(r) \cdot g(t)$$

Εν συνεχεία αντικαθιστώντας στη (12) έχουμε:

$$\frac{\rho c}{k} \cdot \frac{g'(t)}{g(t)} = \frac{1}{p(r)} \left[p''(r) + \frac{2}{r} p'(r) \right] = -\lambda^2 \quad (13)$$

Λύνοντας για τη συνάρτηση g λαμβάνουμε:

$$g(t) = C_1 \cdot e^{-\lambda^2 \frac{k}{\rho c} t} \quad (14)$$

Λύνοντας για την p(r), προκύπτει η διαφορική εξίσωση:

$$p''(r) + \frac{2}{r} p'(r) = -\lambda^2 p(r) \quad (15)$$

Για την επίλυση χρησιμοποιούμε την αντικατάσταση:

$$p(r) = \frac{q(r)}{\sqrt{r}}$$

Τελικά η εξίσωση γίνεται:

$$r^2 q''(r) + r q'(r) + q(r) \left(\lambda^2 r^2 - \frac{1}{4} \right) = 0 \quad (16)$$

Η παραπάνω είναι της μορφής:

$$r^2 q''(r) + r q'(r) + q(r) \left[\lambda^2 r^2 - \left(m + \frac{1}{2} \right)^2 \right] = 0$$

Η παραπάνω είναι η συνάρτηση Bessel του ενδιάμεσου όρου ολοκλήρωσης (m+1/2). Η λύση αυτής είναι:

$$q(r) = J_{\frac{1}{2}}(\lambda r)$$
$$p(r) = \frac{J_{\frac{1}{2}}(\lambda r)}{\sqrt{r}} \quad (17)$$

Η σφαιρική συνάρτηση Bessel τάξης m ορίζεται ως:

$$S_m(x) = \sqrt{\frac{\pi}{2x}} \cdot J_{m+\frac{1}{2}}(x)$$

Και συνεπώς:

$$p(r) = \sqrt{\frac{2\lambda}{\pi}} \cdot S_0(\lambda r)$$

Εφαρμόζοντας την οριακή συνθήκη $r=b$ λαμβάνουμε:

$$\lambda = \frac{n\pi}{b}$$

Η γενική εξίσωση λοιπόν λαμβάνει τη μορφή:

$$u(r,t) = -\frac{Q_m r^2}{6k} + \left[\frac{(T_1 - T_2)}{b} + \frac{Q_m b}{6k} \right] r + T_2 + L \cdot \sum_{n=1}^{\infty} \left[\frac{1}{r\pi} \sqrt{\frac{2b}{n}} \cdot \sin\left(\frac{n\pi r}{b}\right) \cdot e^{-\left(\frac{n\pi}{b}\right)^2 \frac{k}{\rho c} t} \right]$$

όπου το L είναι σταθερά.

Προκειμένου να βρούμε το L εφαρμόζουμε την αρχική συνθήκη $u(r,0)=37^\circ\text{C}$
Τελικά προκύπτει:

$$L = \frac{\left(1 - \frac{r}{b}\right) \cdot \left(T_1 - T_2 - \frac{Q_m b}{6k} r\right)}{\sum_{n=1}^{\infty} \left[\frac{1}{r\pi} \sqrt{\frac{2b}{n}} \cdot \sin\left(\frac{n\pi r}{b}\right) \right]}$$

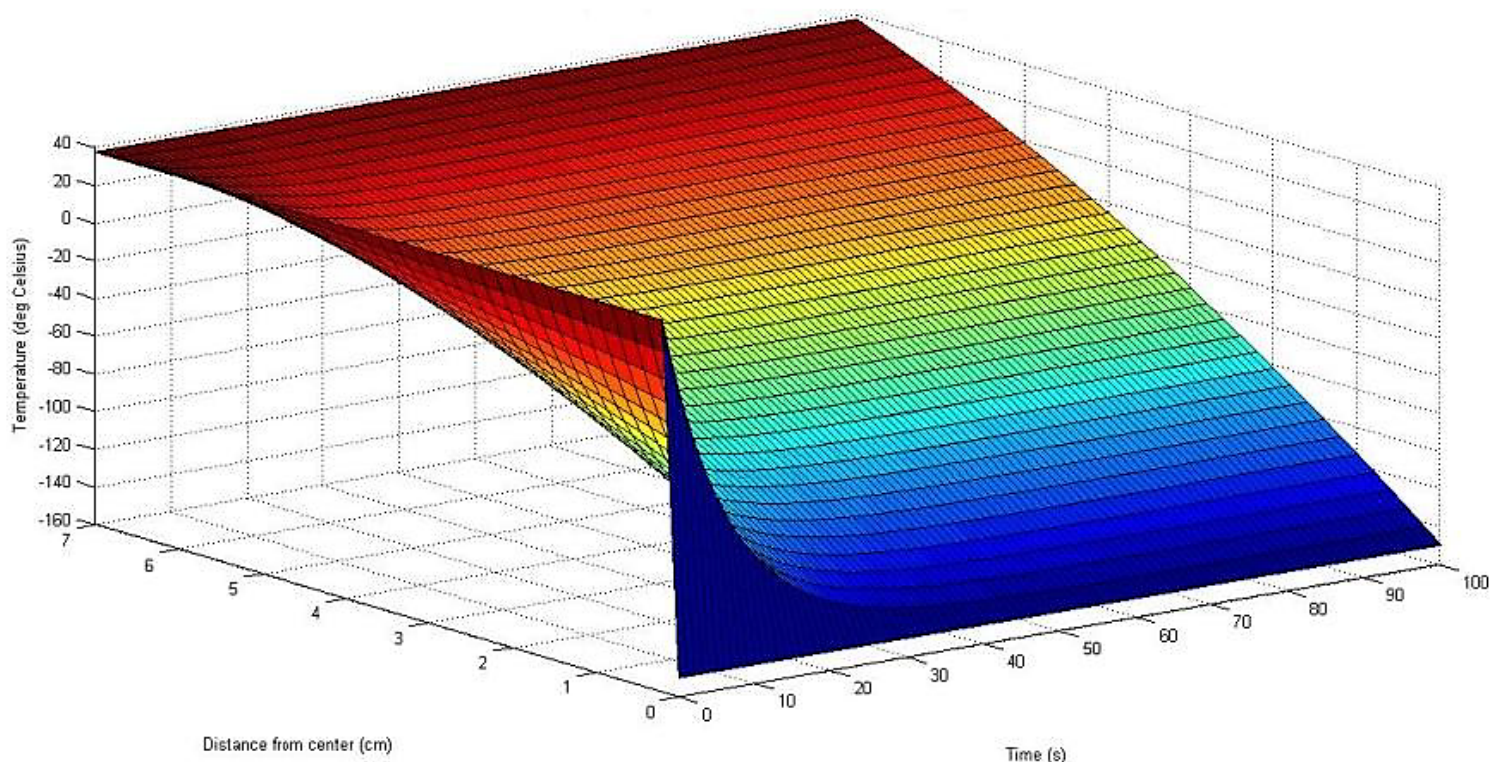
Και η συνολική εξίσωση:

$$u(r,t) = -\frac{Q_m r^2}{6k} + \left[\frac{(T_1 - T_2)}{b} + \frac{Q_m b}{6k} \right] r + T_2 + \frac{\left(1 - \frac{r}{b}\right) \cdot \left(T_1 - T_2 - \frac{Q_m b}{6k} r\right)}{\sum_{n=1}^{\infty} \left[\frac{1}{r\pi} \sqrt{\frac{2b}{n}} \cdot \sin\left(\frac{n\pi r}{b}\right) \right]} \cdot \sum_{n=1}^{\infty} \left[\frac{1}{r\pi} \sqrt{\frac{2b}{n}} \cdot \sin\left(\frac{n\pi r}{b}\right) \cdot e^{-\left(\frac{n\pi}{b}\right)^2 \frac{k}{\rho c} t} \right]$$

Τελικά απλοποιώντας την παραπάνω προκύπτει:

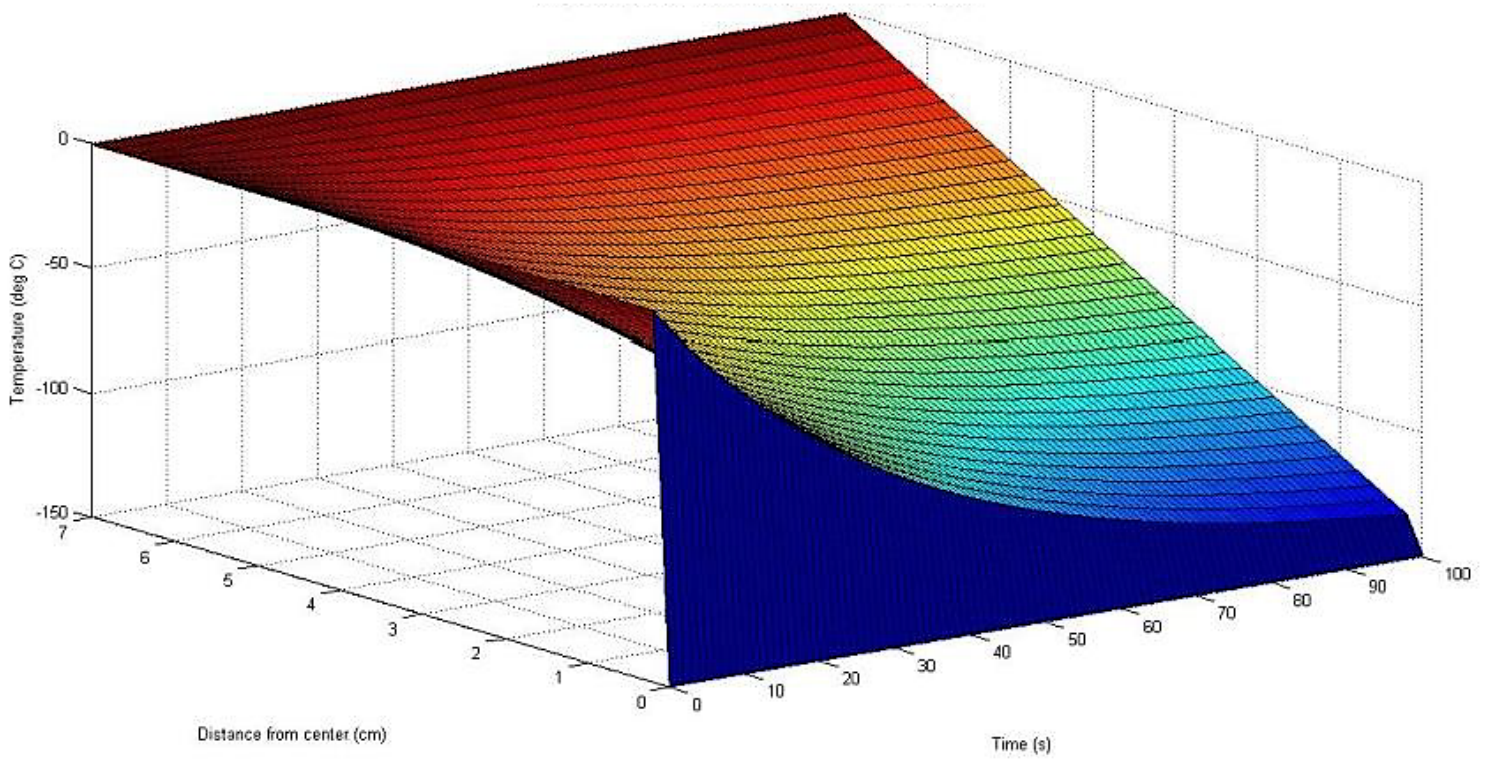
$$u(r,t) = -\frac{Q_m r^2}{6k} + \left[\frac{(T_1 - T_2)}{b} + \frac{Q_m b}{6k} \right] r + T_2 + \sum_{n=1}^{\infty} \left[\left(1 - \frac{r}{b} \right) \cdot \left(\frac{(T_1 - T_2)}{b} + \frac{Q_m b}{6k} \right) \cdot e^{-\left(\frac{n\pi}{b} \right)^2 \frac{k}{\rho c} t} \right]$$

Η αναλυτική λύση στη συνέχεια σχεδιάζεται χρησιμοποιώντας το λογισμικό MATLAB και παρουσιάζονται τρία γραφήματα που αντιστοιχούν στα τρία διαφορετικά θερμοκρασιακά εύρη που περιγράψαμε στην αρχή της ενότητας. Ενώ τα διαγράμματα αυτά δεν περιγράφουν το προφίλ της θερμοκρασίας από τους 37°C στην κατάψυξη στους -196°C, ωστόσο με την προτεινόμενη διάκριση σε θερμοκρασιακές ζώνες 37°C > T > -1°C, -1°C > T > -8°C και -8°C > T > -196°C μπορούμε να εκτιμήσουμε το πώς οι μεταβλητές σταθερές και συνθήκες σε κάθε εύρος επηρεάζουν το προφίλ της θερμοκρασιακής κλίσης.



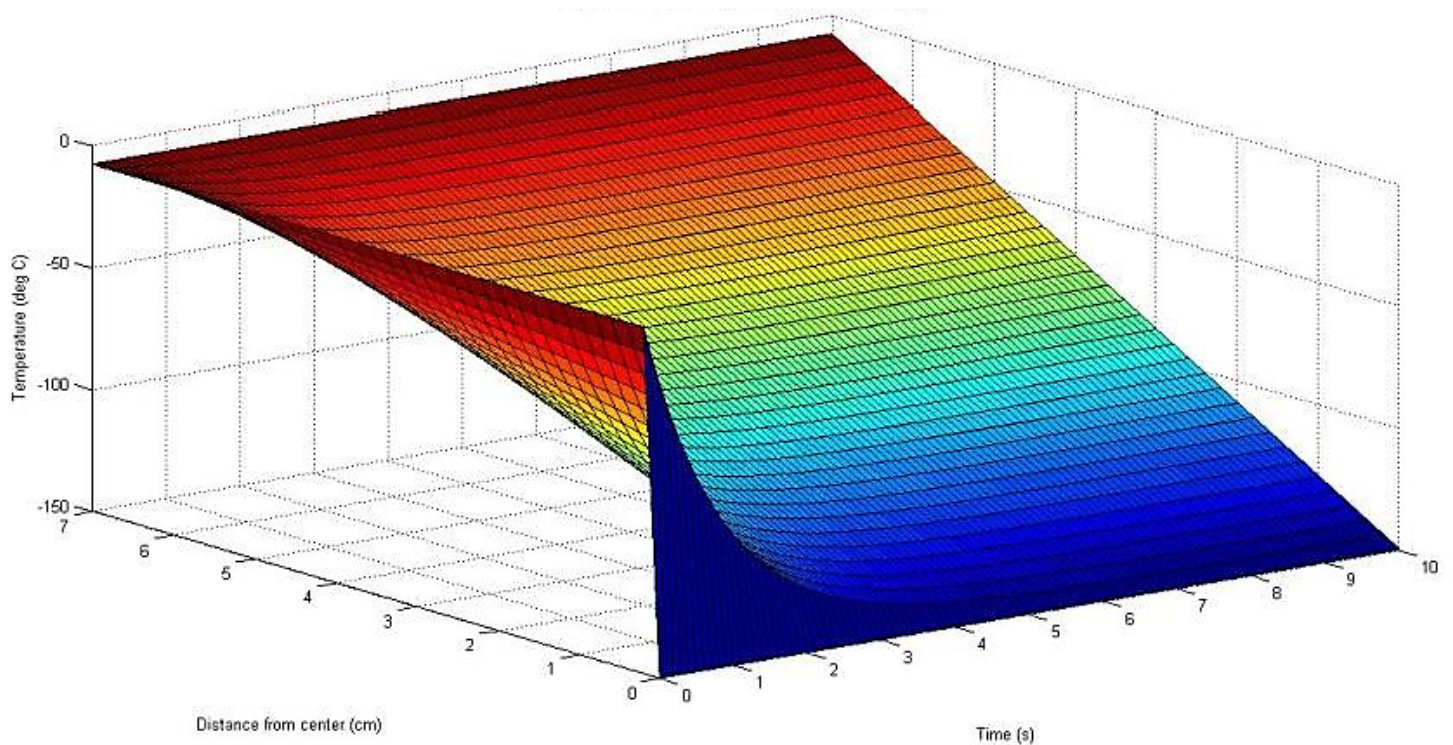
Διάγραμμα 16: Προφίλ θερμοκρασιών για θερμοκρασίες μεγαλύτερες από -1 °C.

Το παραπάνω Διάγραμμα 16 αναπαριστά το προφίλ θερμοκρασίας του ιστού ακριβώς πάνω από το σημείο αλλαγής φάσης. Η θερμοκρασία κοντά στο σγρογοβε μειώνεται δραστικά και γρήγορα. Στη μόνιμη κατάσταση το προφίλ θερμοκρασίας μειώνεται σχεδόν γραμμικά με την απόσταση από το σγρογοβε και αυτό συμβαίνει για T > -1°C.



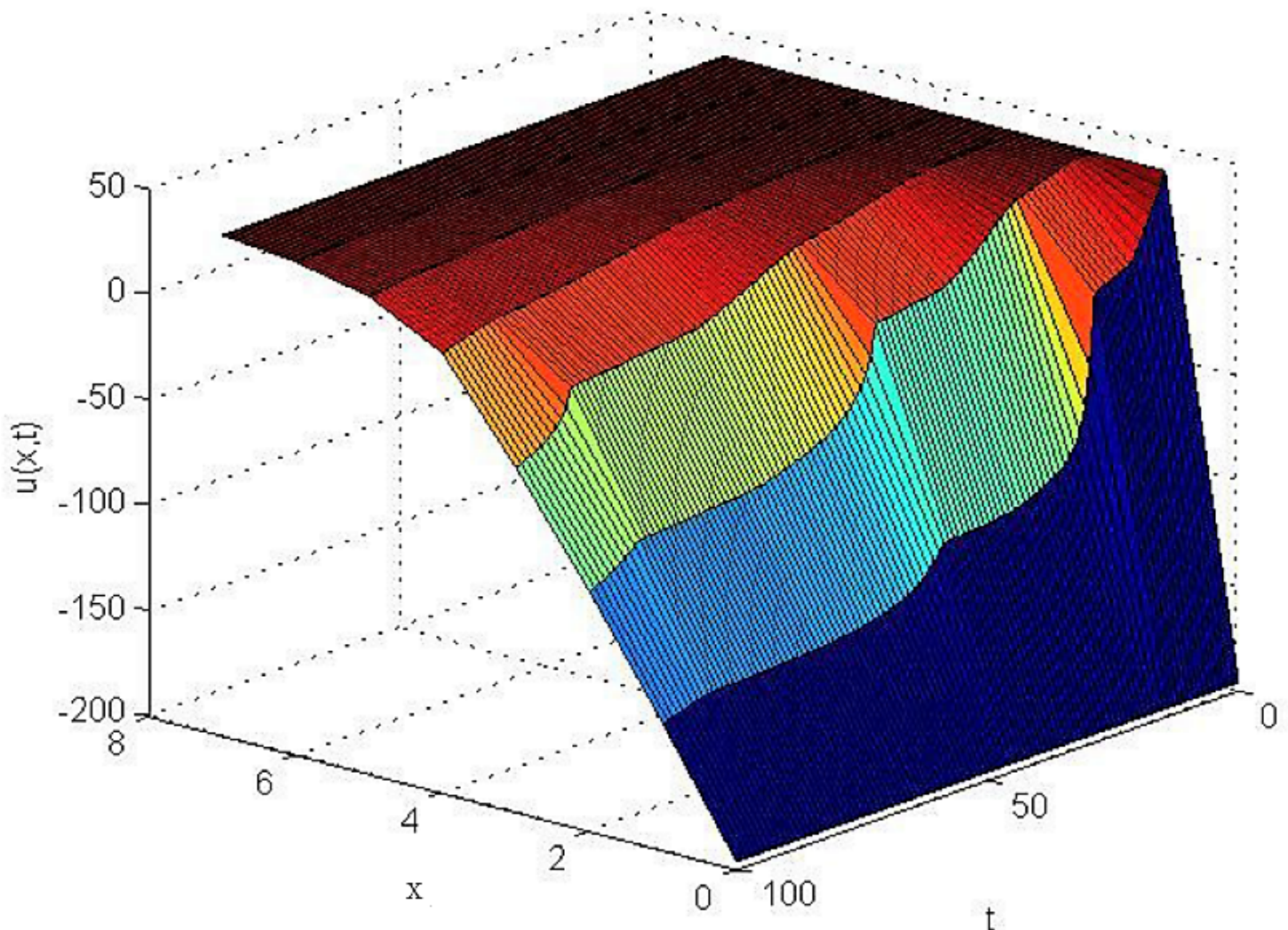
Διάγραμμα 17: Προφίλ θερμοκρασιών κατά την κατάψυξη, μεταξύ -1 και -8 °C.

Το παραπάνω Διάγραμμα 17 αναπαριστά το προφίλ θερμοκρασίας του ιστού κατά την αρχική φάση της κατάψυξης, μεταξύ -1 και -8°C. Στο εύρος αυτό το θερμοκρασιακό προφίλ μειώνεται με πιο αργό ρυθμό λόγω της απελευθέρωσης λανθάνουσας θερμότητας κατά την αλλαγή φάσης.



Διάγραμμα 18: Προφίλ θερμοκρασιών στον κατεψυγμένο ιστό, κάτω από τους -8 °C.

Το παραπάνω Διάγραμμα 18 αναπαριστά το προφίλ θερμοκρασίας του ιστού μετά την κατάψυξη, δηλαδή κάτω από τους -8°C . Το θερμοκρασιακό προφίλ στο εύρος αυτό μειώνεται αρκετά ταχύτερα συγκριτικά με την προηγούμενη περίπτωση. Αυτό οφείλεται στο τετελεσμένο της απορρόφησης της λανθάνουσας θερμότητας πλέον.



Διάγραμμα 19: Προφίλ θερμοκρασιών για ολόκληρο το θερμοκρασιακό εύρος με χρήση αλγορίθμου πεπερασμένων διαφορών.

Το παραπάνω Διάγραμμα 19 προκύπτει χρησιμοποιώντας ενσωματωμένο αλγόριθμο πρόσω πεπερασμένων διαφορών (forward finite differences algorithm) στη MATLAB για την επίλυση της διαφορικής εξίσωσης δεύτερης τάξης. Παραπάνω συρράπτουμε τις περιπτώσεις για τα τρία θερμοκρασιακά εύρη. Παρατηρούμε ότι σε χρονικό εύρος 100sec μπορούν να παραγάγουμε μια ακτίνα κατεψυγμένης σφαίρας περί τα 4cm όπως φαίνεται από την επιφάνεια πορτοκαλί χρώματος του διαγράμματος (βλ. εδάφιο 4.1). Το αποτέλεσμα αυτό είναι συμβατό με βιβλιογραφικά δεδομένα τυπικών cryoglobes σε εφαρμογή επι των ιστών για μεγάλα χρονικά διαστήματα όπως αυτό των 100sec. Τέλος μπορούμε επίσης να διακρίνουμε μια ελαφρώς μικρότερη θερμοκρασιακή κλίση γύρω από την θερμοκρασία 0°C εξαιτίας της λανθάνουσας θερμότητας.

Δ) ΚΩΔΙΚΑΣ MATLAB

Για θερμοκρασίες μεγαλύτερες απο -1°C

```
k1=0.005;

c1=3.6;

Qm1=0.042;

b=7;

tmesh=0:5:1000;

nt=length(tmesh);

rmesh=0:0.2:b;

nr=length(rmesh);

u=zeros(nr, nt);

u(:,1)=37;

u(1,:)=-150;

for r=2:nr

    a=-Qm1*((r-1)*0.2)^2/(6*k1)+(187/b +Qm1*b/(6*k1))*(r-1)*0.2-150;

    for t=2:nt

        k1=0.005;

        c1=3.6;

        sum=0;

        for i=1:20

            p=i*pi;

            m=((sqrt(2*b/i))*sin(p*(r-1)*0.2/b))/((pi*(r-1)*0.2));
```

```

        sum=sum+m;

    end

    L=(1-((r-1)*0.2/b))*(187-Qm1*b*(r-1)*0.2/(6*k1))/sum;

    u(r,t)=u(r,t)+L*sum*exp(((p/b)^2)*(-k1/c1)*(t-1)*5)+a;

end

end

u(1,:)=-150;

surf (tmesh, rmesh, u);

```

Για θερμοκρασίες μεταξύ -1 και -8°C

```

k2=0.0125;

c2=(250/7)+2.7;

Qm2=0;

tmesh=0:1:100;

nt=length(tmesh);

b=7;

rmesh=0:0.2:b;

nr=length(rmesh);

```

```

u=zeros(nr, nt);

u(:,1)=-1;

u(1,:)=-150;

for r=2:nr

    a=-Qm2*((r-1)*0.2)^2/(6*k2)+(149/b +Qm2*b/(6*k2))*(r-1)*0.2-150;

    for t=2:nt

        sum=0;

        for i=1:20

            p=i*pi;

            m=((sqrt(2*b/i))*sin(p*(r-1)*0.2/b))/((pi*(r-1)*0.2));

            sum=sum+m;

        end

        L=(1-((r-1)*0.2/b))*(149-Qm2*b*(r-1)*0.2/(6*k2))/sum;

        u(r,t)=u(r,t)+L*sum*exp(((p/b)^2)*(-k2/c2)*(t-1)*1)+a;

    end

end

surf (tmesh, rmesh, u);

```

Για θερμοκρασίες κάτω απο τους -8°C

k3=0.02;

c3=1.8;

Qm3=0;

tmesh=0:0.1:10;

nt=length(tmesh);

b=7;

rmesh=0:0.2:b;

nr=length(rmesh);

u=zeros(nr, nt);

u(:,1)=-8;

u(1,:)=-150;

for r=2:nr

 a=-Qm3*((r-1)*0.2)^2/(6*k3)+(142/b +Qm3*b/(6*k3))*(r-1)*0.2-150;

 for t=2:nt

 sum=0;

 for i=1:20

 p=i*pi;

 m=((sqrt(2*b/i))*sin(p*(r-1)*0.2/b))/((pi*(r-1)*0.2));

 sum=sum+m;

 end

 L=(1-((r-1)*0.2/b))*(142-Qm3*b*(r-1)*0.2/(6*k3))/sum;

 u(r,t)=u(r,t)+L*sum*exp(((p/b)^2)*(-k3/c3)*(t-1)*0.1)+a;

end

end

surf (tmesh, rmesh, u);

Ε) ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μπορούμε να δούμε από τις λύσεις μας ότι η μέθοδος της Κρυοχειρουργικής είναι ένας σχετικά γρήγορος και αποτελεσματικός τρόπος να καταστραφεί ένα επιβλαβές ή ανεπιθύμητο τμήμα ιστού, όπως για παράδειγμα ένας νεοπλασματικός όγκος. Έκθεση για λίγα λεπτά είναι αρκετή για να δημιουργήσει μια κατεψυγμένη σφαίρα διαμέτρου 8 cm. Όπως αναμενόταν, η λανθάνουσα θερμότητα είναι ένας σημαντικός παράγοντας στη μετάδοση βιοθερμότητας, ώστε μακροπρόθεσμα να οδηγεί σε επιβράδυνση της, καθώς η θερμοκρασιακή κλίση γίνεται λιγότερο απότομη, τόσο στην αναλυτική όσο και στην αριθμητική ανάλυση. Στην παρούσα ανάλυση έχουμε επίσης αγνοήσει την αιμάτωση, που άλλες μελέτες έχουν αποδείξει ότι πράγματι παίζει, αλλά μόνο ένα μικρό ρόλο στην παραγωγή θερμότητας. Επιπλέον, στη μελέτη μας, όπου το μεγαλύτερο μέρος των κυττάρων θεωρούμε ότι καταψύχεται γρήγορα, το αίμα θα είχε απλώς παγώσει και έτσι θα έπαυε να αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την παραγωγή θερμότητας στον υπο εξέταση ιστό.

Παρατηρούμε ότι η θερμοκρασία στο όριο του ιστού δεν μειώνεται. Αυτό συμβαίνει πιθανώς επειδή ως οριακή συνθήκη έχουμε θέσει την $r=7\text{cm}$. Επειδή η θερμοκρασία εκεί είναι σταθερή, οι περιοχές γύρω από το όριο αυτό θεωρητικά παραμένουν σε υψηλότερη θερμοκρασία, κοντά στους 37°C , καθώς υπάρχει είσοδος θερμότητας στην κατεψυγμένη σφαίρα από το όριο. Η υπόθεση αυτή είναι αδρή, αλλά έπρεπε να γίνει προκειμένου να απλοποιηθεί το πρόβλημα. Αυτός είναι επίσης ο λόγος για τον οποίο έχουμε μια γραμμική μεταβολή της θερμοκρασίας με την ακτίνα (ακτινική απόσταση γύρω από το cryoprobe) στη μόνιμη κατάσταση.

Υπήρξαν πολλές ομάδες που εργάζονται με εγγεόμενους παράγοντες με μεγάλη θερμική αγωγιμότητα (Νανοκρυοχειρουργική), που αυξάνουν τον ρυθμό κατάψυξης του ιστού - στόχου λόγω της μεταβολής των θερμοφυσικών ιδιοτήτων της προς κρυοκαταστροφή αλλοίωσης, που προκύπτει από τη διάχυση των παραγόντων αυτών. Η διαδικασία αυτή εν γένει οδηγεί σε μείωση της ειδικής θερμότητας των ιστών βελτιώνοντας συνεπώς την αποτελεσματικότητα της Κρυοχειρουργικής.

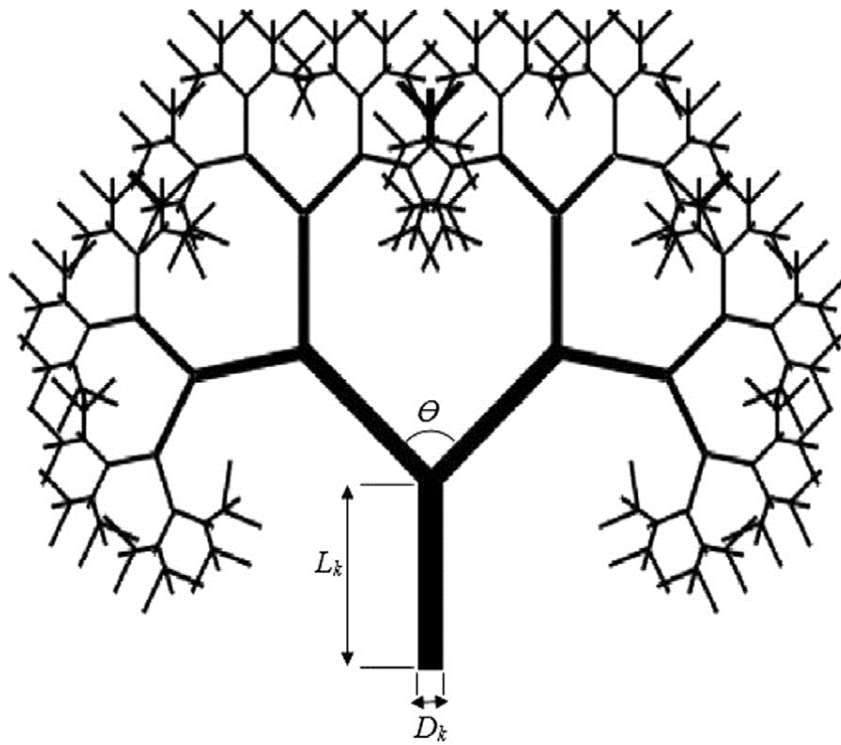
5.2 ΜΟΝΤΕΛΟ ΝΑΝΟΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ [45,47,50,57,58,59,65,66,67,68,69,71]

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

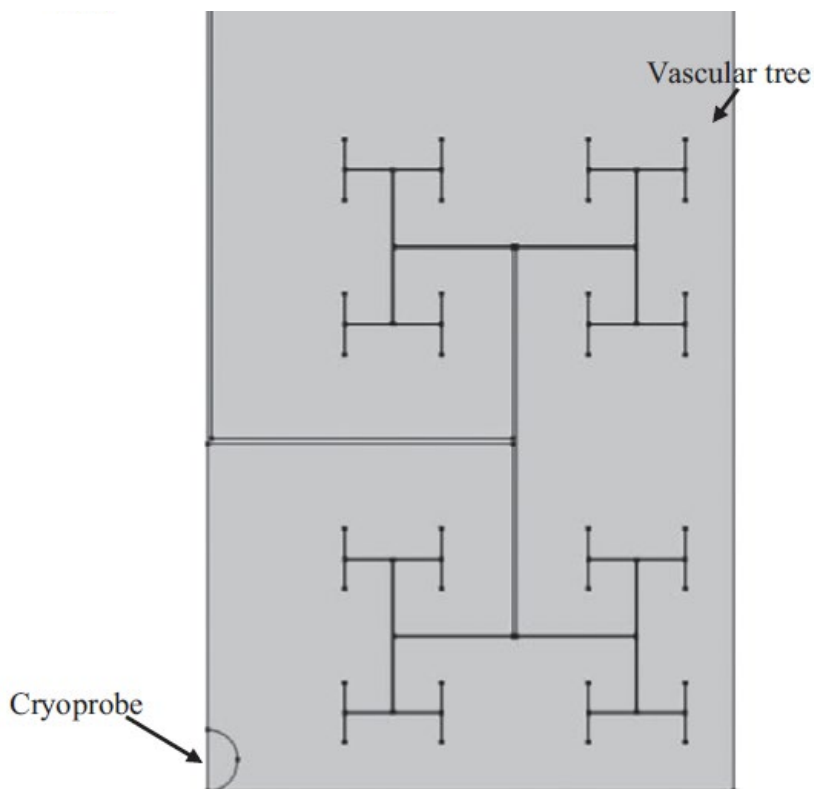
Οι πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα της νανοτεχνολογίας έχουν δώσει έμφαση στην ανάγκη για μελέτη της εφαρμογής της νανοτεχνολογίας στη Κρυοχειρουργική. Η χορήγηση νανοσωματιδίων επικουρικά στη Κρυοχειρουργική είναι μια άλλη προσέγγιση για τη βελτίωση της κατανομής των θερμοκρασιών των ιστών. Σύμφωνα με πρόσφατες έρευνες, η έγχυση νανοσωματιδίων με μεγάλη θερμική αγωγιμότητα στους καρκινικούς ιστούς επιταχύνει την διαδικασία κατάψυξης και αυξάνει τον κατεψυγμένο όγκο. Επιπλέον, η ενσωμάτωση νανοσωματιδίων με χαμηλή θερμική αγωγιμότητα στους περιβάλλοντες υγιείς ιστούς μπορεί να τους παρέχει προστασία κατά τη διάρκεια της Κρυοχειρουργικής.

Η ροή του αίματος και η αιμάτωση του ιστού δρουν ως πηγές θερμότητας, που περιορίζουν τη διαδικασία κρυοκαταστροφής των ιστών - στόχων. Το γεγονός αυτό αποτελεί μια σημαντική πρόκληση για τις κρυοχειρουργικές μελέτες στην τελευταία δεκαετία. Προκειμένου να ελεγχουν την διαδικασία κατάψυξης, πολλοί ερευνητές έχουν μελετήσει τις θερμικές επιδράσεις των αιμοφόρων αγγείων σε ιστούς. Οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι η θέρμανση που προκαλείται από τη ροή αίματος στα μεγαλύτερα αγγεία μπορεί να παράξει ευκρινείς διαβαθμίσεις θερμοκρασίας, και η ψύξη τελικά να είναι ανεπαρκής για την καταστροφή των νοσούντων ιστών. Επίσης, με την αύξηση της ακτίνας των αιμοφόρων αγγείων η ταχύτητα ροής του αίματος και συνεπώς η κατάψυξη των ιστών είναι αισθητά μειωμένη.

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές μελέτες που αναλύουν τις θερμικές επιδράσεις των αιμοφόρων αγγείων του ιστού κατά τη διάρκεια της Κρυοχειρουργικής αλλά καμία κατάλληλη στρατηγική δεν έχει προταθεί μέχρι σήμερα για το πρόβλημα αυτό. Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζουμε μια μέθοδο για μια αριθμητική προσομοίωση προκειμένου να ξεπεραστεί το πρόβλημα της θερμικής επίδρασης του αγγειακού δικτύου. Το σύστημα των εξισώσεων που συνδυάζονται, περιλαμβάνει τις εξισώσεις συνέχειας και διατήρησης της ορμής – ενέργειας με κατάλληλες οριακές συνθήκες. Οι εξισώσεις επιλύονται με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων (FEM) προκειμένου να εκτιμηθεί η επίδραση των αιμοφόρων αγγείων στη διαδικασία της μεταφοράς θερμότητας. Με δοκιμές για διαφορετικά σημεία εφαρμογής, αλλά και μεγέθους των cryoprobe, με επικουρική χορήγηση νανοσωματιδίων, περιγράφεται η επίδραση των μεγάλων αιμοφόρων αγγείων ως πηγές θερμότητας κατά την κρυοχειρουργική θεραπεία. Περιγράφεται επίσης η απόδοση των περισσότερων νανοσωματιδίων και πραγματοποιείται μια σύγκριση μεταξύ τους για να προσδιοριστεί το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα.



Σχήμα 71: Το μοντέλο των αγγειακών διακλαδώσεων. Περιλαμβάνει ένα αγγείο εισόδου (inlet vessel) και εν συνεχεία διακλαδώσεις των αρχικών στελεχών σε δύο θυγατρικά με σταθερή γωνία (θ). Το k συμβολίζει τη συνολική τάξη διακλάδωσης δηλαδή το πλήθος των κόμβων διακλάδωσης και τα μεγέθη L και D αντιστοιχούν στο μήκος και τη διάμετρο κάθε στελέχους ανάλογα με το επίπεδο διακλάδωσης στο οποίο ανήκει [69].



Σχήμα 72: Η γεωμετρία του μοντέλου σχηματικά. Το σύνολο των διακλαδώσεων είναι έξι και συνεπώς το k μπορεί να πάρει τις τιμές: 0, 1,2,3,4,5 και 6. Το 0 αντιστοιχεί στο τροφοφόρο αγγείο εισόδου (inlet vessel) και το 6 στο τελικό τριχοειδές αγγείο που προκύπτει αφού πραγματοποιηθούν και οι έξι διακλαδώσεις [65].

B. ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

B1) ΓΕΩΜΕΤΡΙΑ ΚΑΙ ΔΙΕΠΟΥΣΕΣ ΣΥΝΑΡΤΗΣΕΙΣ

Η γεωμετρία του μοντέλου περιλαμβάνει ένα φυσιολογικό ιστό και το αγγειακό του δένδρο. Στην πραγματικότητα, η δομή του αγγειακού συστήματος (όπως προκύπτει από αγγειογραφίες) είναι πολύ περίπλοκη για να περιγραφεί. Το Σχήμα 71 δείχνει ένα τρισδιάστατο αγγειακό δέντρο. Στη μελέτη αυτή, η γεωμετρία του μοντέλου θεωρείται σε δύο διαστάσεις. Το υπολογιστικό χωρίο έχει ορθογώνια γεωμετρία με μέγεθος 66 mm στην κατεύθυνση X και 52 mm στην κατεύθυνση Y.

Ένα σημαντικό μέρος της βιβλιογραφίας έχει δείξει ότι η διάταξη των αιμοφόρων αγγείων σε διάφορα όργανα του σώματος συχνά περιγράφεται με τη μέθοδο της διπλής διακλάδωσης. Πρόσφατα, πολύπλοκα αγγειακά δίκτυα ενός δείγματος πνευμόνων έχουν μελετηθεί με τη μέθοδο της διπλής διακλάδωσης. Το αγγειακό δένδρο στη μέθοδο αυτή αναπαρίσταται με ένα αγγείο, το οποίο χωρίζεται σε δύο θυγατρικά μικρότερης διαμέτρου. Στη συνέχεια, καθένα από αυτά τα αγγεία χωρίζεται σε δύο νέα θυγατρικά αγγεία, κ.ο.κ. Το Σχήμα 71 δείχνει τις διακλαδώσεις που βρίσκονται μοντέλο του αγγειακού δικτύου στον ιστό. Σε αυτό το τρισδιάστατο σχήμα, τα k , L και D δείχνουν το επίπεδο διακλάδωσης, το μήκος και τη διάμετρο αντίστοιχα. Ομοίως, η τιμή της γωνίας διχασμού θ μπορεί να ποικίλλει μεταξύ 75° , 90° και 180° . Οι λεπτομέρειες του μοντέλου διακλάδωσης για τη μελέτη αυτή παρουσιάστηκε σε σχετική έρευνα του Shi. Επίσης, το τελικό επίπεδο διακλαδώσεων θεωρείται ότι είναι 6 και η γωνία διχασμού θ είναι 180° στον δύο διαστάσεων χώρο (βλ. Σχήμα 72). Οι γεωμετρικές παράμετροι όλων των κλάδων του αγγειακού δέντρου εμφανίζονται στον Πίνακα 9.

Το cryogrope έχει κυκλική γεωμετρία και η ακτίνα του είναι ίση με το L_6 (βλ. Πίνακα 9, 1876 μm), που είναι το μήκος του 6ου επιπέδου στο αγγειακό δέντρο. Αυτό το cryogrope βρίσκεται στην αντίθετη πλευρά από την είσοδο του αγγειακού δικτύου. Η γεωμετρία του μοντέλου μπορεί να θεωρηθεί συμμετρική, και έτσι εξετάζεται το ήμισυ του μοντέλου, που παρουσιάζεται στο Σχήμα 72.

Επιπλέον, η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων θεωρείται ως η καταλληλότερη προσέγγιση για την επίλυση του μοντέλου αριθμητικά. Υποθέτουμε ότι το αίμα ρέει στα αγγεία σε θερμοκρασία 310 K και με σταθερή ταχύτητα. Επίσης, θεωρούμε ότι το αίμα στον ιστό δεν καταψύχεται κατά τη διάρκεια της Κρυοχειρουργικής. Κατά την κρυοθεραπεία, ο ιστός είναι χωρισμένος σε μια κατεψυγμένη, μια υπέρψυκτη (με χυλώδες υλικό) και μια υπόψυκτη περιοχή καθώς και ότι η αλλαγή φάσης συμβαίνει σε εύρος θερμοκρασίας μεταξύ 273 K και 263 K. Η θερμοκρασία της αλλαγής φάσης θα θεωρηθεί σταθερή στους 273 K.

Οι εξισώσεις συνέχειας, ορμής και ενέργειας στη μεταβατική κατάσταση διέπουν τόσο τα αγγεία και όσο και τον φυσιολογικό ιστό. Η θλιπτική καταπόνηση και η βαρύτητα θεωρούνται αμελητέες σε αυτές τις εξισώσεις. Επειδή τα φυσικά χαρακτηριστικά του αίματος και ιστών είναι ανόμοια, η μεταφορά θερμότητας είναι διαφορετική στις δύο αυτές περιοχές. Οι φυσικές ιδιότητες των ιστών και του αίματος παρατίθενται στον Πίνακα 10.

Η ενεργειακή εξίσωση για το φυσιολογικό ιστό (εξίσωση του Pennes) είναι ως εξής:

$$(\rho c)_t = \nabla(k_t \cdot \nabla T_t) + Q_{bio}$$

Όπου c είναι η ειδική θερμότητα (J/kg K), ρ είναι η πυκνότητα (kg/m³), k είναι η θερμική αγωγιμότητα και Q_{bio} είναι ο θερμότητα που παράγεται από τον μεταβολισμό (W/m³). Στη μελέτη αυτή, θα αγνοηθεί ο προσθετός της θερμότητας μεταβολισμού, αφού είναι αμελητέος σε σύγκριση με τους άλλους όρους.

Επίσης, ο δείκτης t υποδεικνύει τις παραμέτρους του φυσιολογικού ιστού.

Η εξίσωση ενέργειας για τα αιμοφόρα αγγεία έχει ως εξής:

$$(\rho c)_b \frac{\partial T_b}{\partial t} + (\rho c)_b \cdot u \cdot \nabla T = \nabla(k_b \cdot \nabla T_b)$$

Όπου u είναι η ταχύτητα ροής του αίματος που προκύπτει από τις εξισώσεις ορμής και συνέχειας.

Επίσης, ο δείκτης b υποδεικνύει τις παραμέτρους των αιμοφόρων αγγείων.

Οι εξισώσεις της συνέχειας και της ορμής έχουν ως εξής:

$$\rho \cdot \nabla u = 0$$

$$\rho \frac{\partial u}{\partial t} + \rho u \cdot \nabla u = \mu \left[\nabla u + (\nabla u)^T \right]$$

Όπου μ είναι το δυναμικό ιξώδες (Pa s).

K	0	1	2	3	4	5	6
Diameter (μm)	500	325	211	137	89	58	38
Length (μm)	30,000	18,900	11,907	7501	4725	2977	1876

Πίνακας 9: Οι γεωμετρικές παράμετροι όλων των επιπέδων διακλάδωσης του μοντελοποιημένου αγγειακού δένδρου [65].

Symbol	Definition	Value
k_{ft}	Thermal conductivity of frozen tissue (W/m K)	1.75728
k_{ut}	Thermal conductivity of unfrozen tissue (W/m K)	0.50208
C_{ft}	Heat capacity of frozen tissue (J/kg K)	1673.6
C_{ut}	Heat capacity of unfrozen blood (J/kg K)	3347.2
k_{fb}	Thermal conductivity of frozen blood (W/m K)	1.67
k_{ub}	Thermal conductivity of unfrozen blood (W/m K)	0.49082
C_{fb}	Heat capacity of frozen blood (J/kg K)	2040
C_{ub}	Heat capacity of unfrozen blood (J/kg K)	3640
ρ_{tf}	Density of frozen tissue (kg/m ³)	998
ρ_{tu}	Density of unfrozen tissue (kg/m ³)	1000
ρ_b	Density of blood (kg/m ³)	1050
μ	viscosity of blood (Pa s)	0.001003

Πίνακας 10: Οι φυσικές ιδιότητες των μαλακών ιστών και του αίματος [65].

B2) ΑΡΧΙΚΗ ΚΑΙ ΟΡΙΑΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

Η σταθερή θερμοκρασία των 310 K αντιστοιχεί στη θερμοκρασία των ιστών σαν αρχική θερμική κατάσταση και η θερμοκρασία του cryoprobe θεωρείται στους 77 K ως αρχική κατάσταση. Η αδιαβατική κατάσταση θεωρείται ως η οριακή συνθήκη καθ' όλο το τοίχωμα του βιολογικού ιστού.

B3) ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΛΟΓΩ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ

Η εισαγωγή νανοσωματιδίων στον ιστό στόχο, θα βελτιώσει τη μεταφορά θερμότητας κατά την κατάψυξη και θα ρυθμίσει τον προσανατολισμό του σχηματισμού του κατεψυγμένου όγκου. Η θερμική αγωγιμότητα και οι ειδικές ιδιότητες των ιστών ουσιαστικά αποτελούν τα κύρια χαρακτηριστικά που ρυθμίζονται κατά την ενσωμάτωση των νανοσωματιδίων. Έρευνες όπως αυτή που διεξήχθη από τους Yan και Liu έχουν αποδείξει τη μεταβολή των θερμικών ιδιοτήτων των ιστών – στόχων μετά την ενσωμάτωση νανοσωματιδίων. Μετά την έγχυση νανοσωματιδίων στον ιστό, η θερμική αγωγιμότητα του στην κατεψυγμένη και τη μη κατεψυγμένη περιοχή υπολογίζεται από το μοντέλο των Hamilton-Crosser (H-C) ως εξής:

$$k_f = k_{ft} \cdot \frac{k_p + 2k_{ft} - 2\eta(k_{ft} - k_p)}{k_p + 2k_{ft} + \eta(k_{ft} - k_p)}$$

$$k_u = k_{ut} \cdot \frac{k_p + 2k_{ut} - 2\eta(k_{ut} - k_p)}{k_p + 2k_{ut} + \eta(k_{ut} - k_p)}$$

Όπου οι δείκτες f_t και u_t υποδεικνύουν τον κατεψυγμένο και μη κατεψυγμένο φυσιολογικό ιστό, αντίστοιχα. Ο δείκτης p δηλώνει τον φορτισμένο με νανοσωματίδια ιστό και η είναι το κλάσμα όγκου των νανοσωματιδίων στο διάλυμα. Οι φυσικές ιδιότητες των διαφόρων νανοσωματιδίων παρατίθενται στον Πίνακα 11. Επίσης, οι θερμοχωρητικότητες των κατεψυγμένων και μη κατεψυγμένων ιστών προκύπτουν από τις ακόλουθες εξισώσεις:

$$c_f = c_{f_t}(1 - \eta) + c_p \cdot \eta$$

$$c_u = c_{u_t}(1 - \eta) + c_p \cdot \eta$$

Symbol	Definition	Value
$k_{Al_2O_3}$	Thermal conductivity of Al_2O_3 (W/m K)	39.7
$C_{Al_2O_3}$	Heat capacity of Al_2O_3 (J/kg K)	705
$k_{Fe_3O_4}$	Thermal conductivity of Fe_3O_4 (W/m K)	7.1
$C_{Fe_3O_4}$	Heat capacity of Fe_3O_4 (J/kg K)	627.45
k_{Au}	Thermal conductivity of Au (W/m K)	297.73
C_{Au}	Heat capacity of Au (J/kg K)	114.51
k_{PTFE}	Thermal conductivity of PTFE (W/m K)	0.2
C_{PTFE}	Heat capacity of PTFE (J/kg K)	968.18
$k_{diamond}$	Thermal conductivity of diamond (W/m K)	2000
$C_{diamond}$	Heat capacity of diamond (J/kg K)	400
k_{Ag}	Thermal conductivity of Ag (W/m K)	417.5
C_{Ag}	Heat capacity of Ag (J/kg K)	238.32
k_{Mgo}	Thermal conductivity of MgO (W/m K)	34.3
C_{Mgo}	Heat capacity of MgO (J/kg K)	893.85

Πίνακας 11: Οι φυσικές ιδιότητες των διαφόρων τύπων νανοσωματιδίων [65].

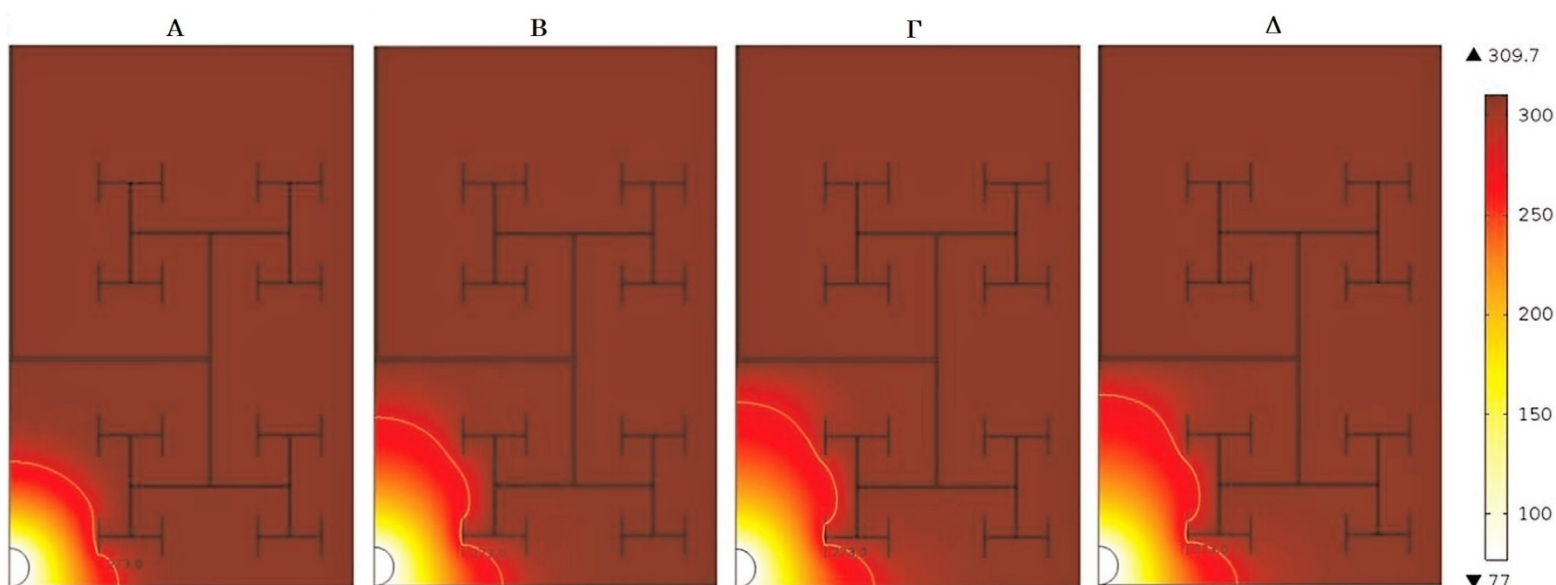
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Γ1) ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ

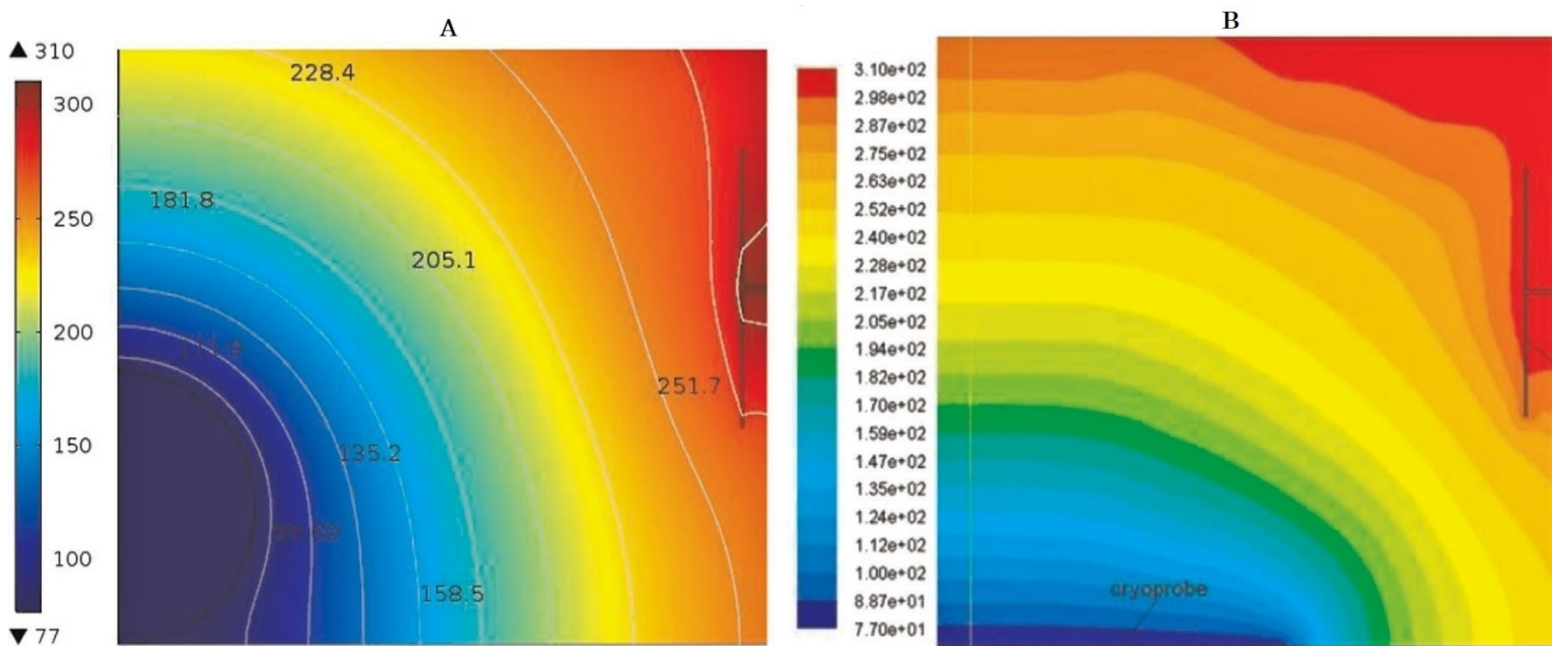
Εισάγοντας το cryogrobe σε βιολογικό ιστό, η θερμοκρασία του θα μειωθεί με το χρόνο. Το Διάγραμμα 16 καταδεικνύει ότι τη θερμοκρασιακή κατανομή των ιστών σε τέσσερα χρονικά βήματα των 40 sec, 120 sec, 400 sec, και 1200 sec αντίστοιχα, όταν η ταχύτητα της ροής του αίματος στην είσοδο του αγγειακού δικτύου είναι 0.1 m/s. Είναι προφανές από ότι στην περιοχή μακριά από το cryogrobe η θερμοκρασία του ιστού μειώνεται με πιο αργό ρυθμό. Από το Διάγραμμα 20 φαίνεται ότι με το πέρασμα του χρόνου, η κατεψυγμένη περιοχή του βιολογικού ιστού αυξάνεται. Όταν δεν υπάρχει κανένα αιμοφόρο αγγείο κοντά στο cryogrobe, η κατανομή της θερμοκρασίας θα είναι ομοιογενής. Ωστόσο, όταν υπάρχουν αγγεία στην περιοχή της κατάψυξης, και ιδιαίτερα μεγάλα αγγεία, τότε το προφίλ της θερμοκρασίας θα είναι ακανόνιστου σχήματος. Επίσης, μπορεί να διαπιστωθεί ότι ο ρυθμός ψύξης και η ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου μειώνεται με την πάροδο του χρόνου. Αποδεικνύεται ότι τα αιμοφόρα αγγεία μπορούν να ενεργήσουν ως πηγή θερμότητας που επηρεάζει την ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου.

Για να επαληθευτεί η ακρίβεια της προσομοίωσης, έγινε σύγκριση των αποτελεσμάτων με αυτά της μελέτης του Shi και παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 21. Είναι εμφανές ότι οι αντίστοιχες θερμοκρασιακές κατανομές ευρίσκονται σε καλή συμφωνία. Στο Διάγραμμα 22 παρουσιάζεται η κατανομή θερμοκρασίας του ιστού σε τρεις ταχύτητες ροής του αίματος στην είσοδο του αγγειακού δικτύου για $t = 1200 \text{ sec}$. Μπορεί να παρατηρηθεί ότι η θερμοκρασία του βιολογικού ιστού στη Κρυσταλλοχειρουργική μειώνεται με την αύξηση της ταχύτητας της αρτηριακής ροής εισόδου. Επίσης, οι θερμικές επιδράσεις της αιματικής ροής αυξάνονται, αυξανόμενης της διαμέτρου του αιμοφόρου αγγείου, όπως προκύπτει από την εξίσωση διατήρησης της παροχής του αίματος.

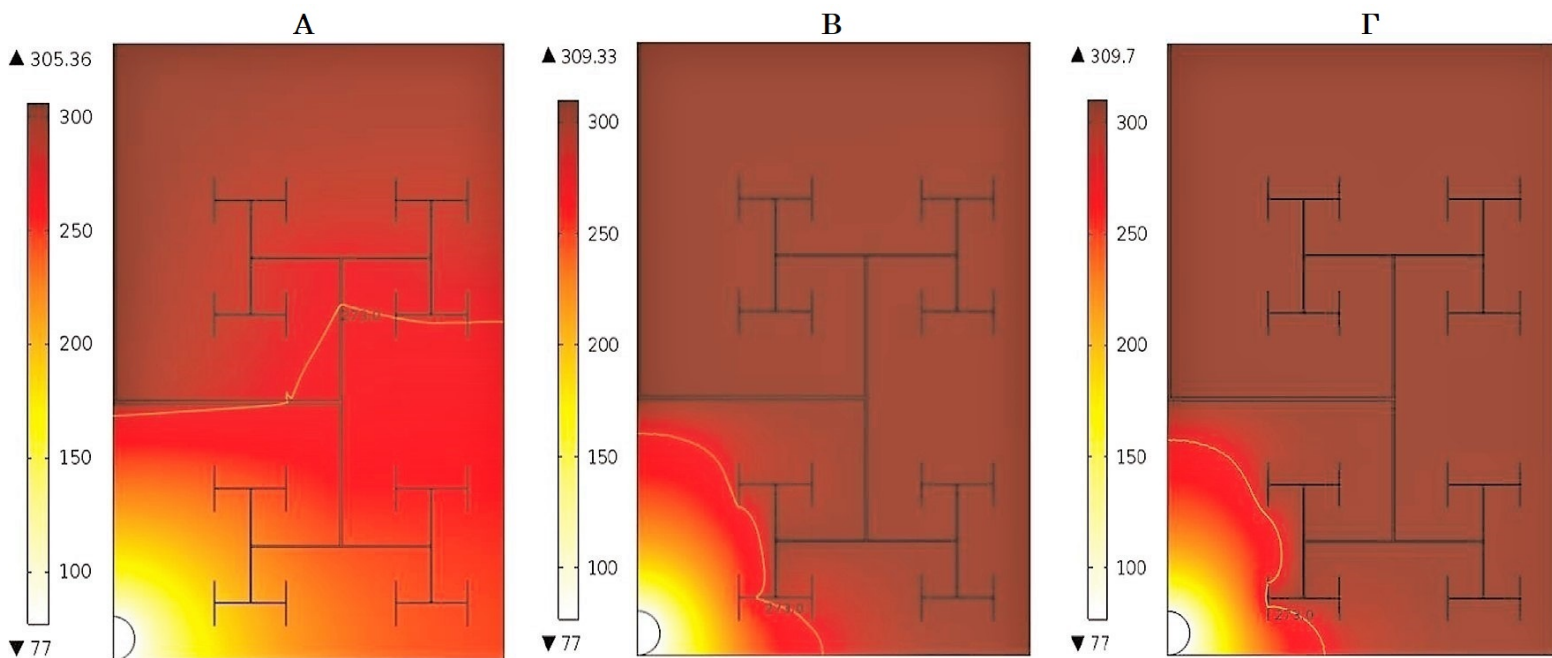
$$A = \pi r^2 = \frac{Q}{u} \Rightarrow r = \sqrt{\frac{Q}{\pi u}}$$



Διάγραμμα 20: Η κατανομή της θερμοκρασίας όταν η ταχύτητα της ροής του αίματος στην είσοδο του αγγειακού δικτύου είναι 0.1 m/sec για τις χρονικές στιγμές (Α) 40s (Β) 120s (Γ) 400s και (Δ) 1200s [65].



Διάγραμμα 21: Η κατανομή της θερμοκρασίας όταν η ταχύτητα της ροής του αίματος στην είσοδο του αγγειακού δικτύου είναι 0.1 m/sec για τη χρονική στιγμή 40s (A) σε αυτό το μοντέλο και (B) στη βιβλιογραφία [65].

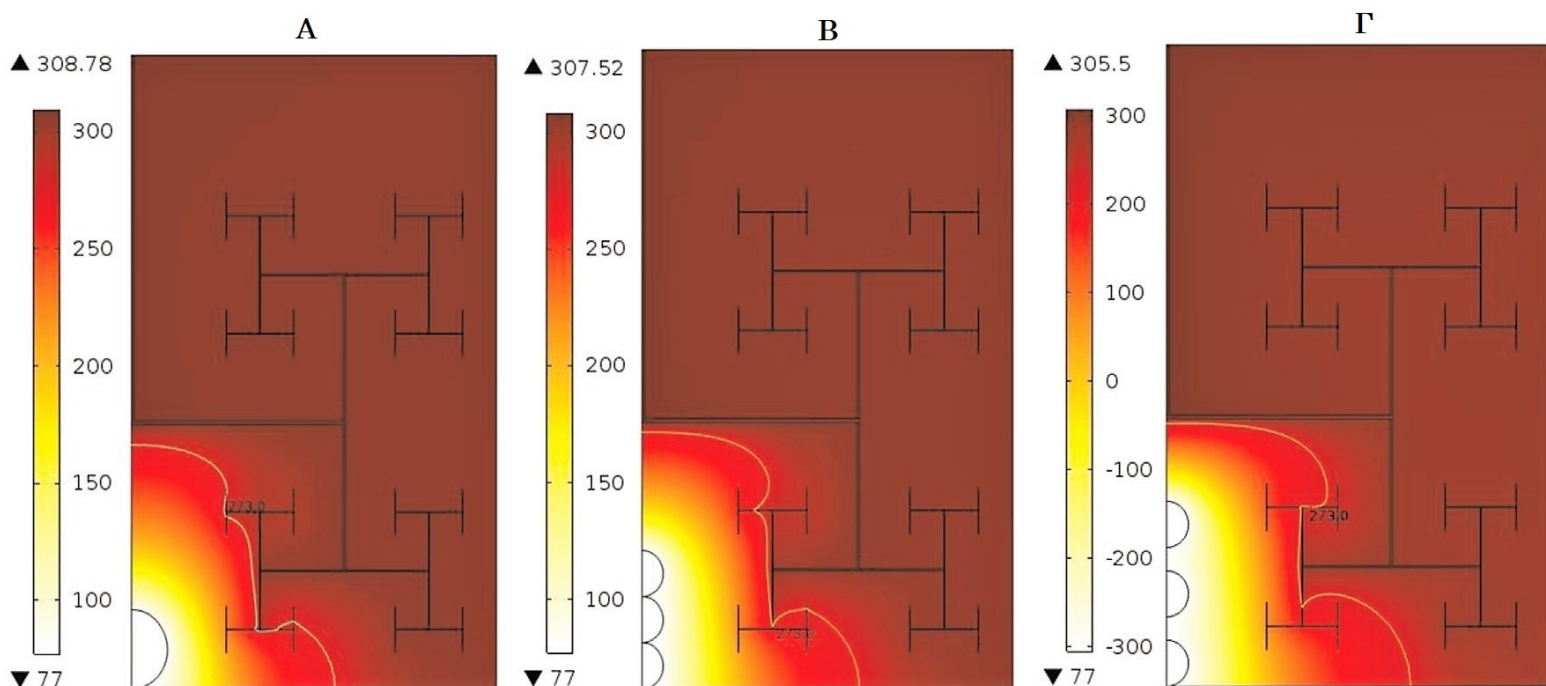


Διάγραμμα 22: Η κατανομή της θερμοκρασίας του ιστού την χρονική στιγμή 1200s όταν η ταχύτητα της ροής του αίματος στην είσοδο του αγγειακού δικτύου είναι: (A) 0.005 m/s (B) 0.0525 m/s και (Γ) 0.1 m/s [65].

Γ2) ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ CRYOPROBE

Οι θερμικές επιδράσεις της αγγείωσης εμποδίζουν την ανάπτυξη του όγκου κατάψυξης. Για να διερευνηθεί την πρόκληση αυτή, η μελέτη αυτή δείχνει το πως το διαφορετικό μέγεθος και η θέση των κεφαλών των cryoprobes επηρεάζουν τις επιπτώσεις στην κατανομή της θερμοκρασίας. Η επίδραση των διαφόρων παραμέτρων του cryoprobe φαίνεται στο Διάγραμμα 23. Το εμβαδόν της επιφάνειας των cryoprobes στα Διαγράμματα 23 Β και 23 Γ είναι ίδιο με αυτό του cryoprobe στο Διάγραμμα 23 Α.

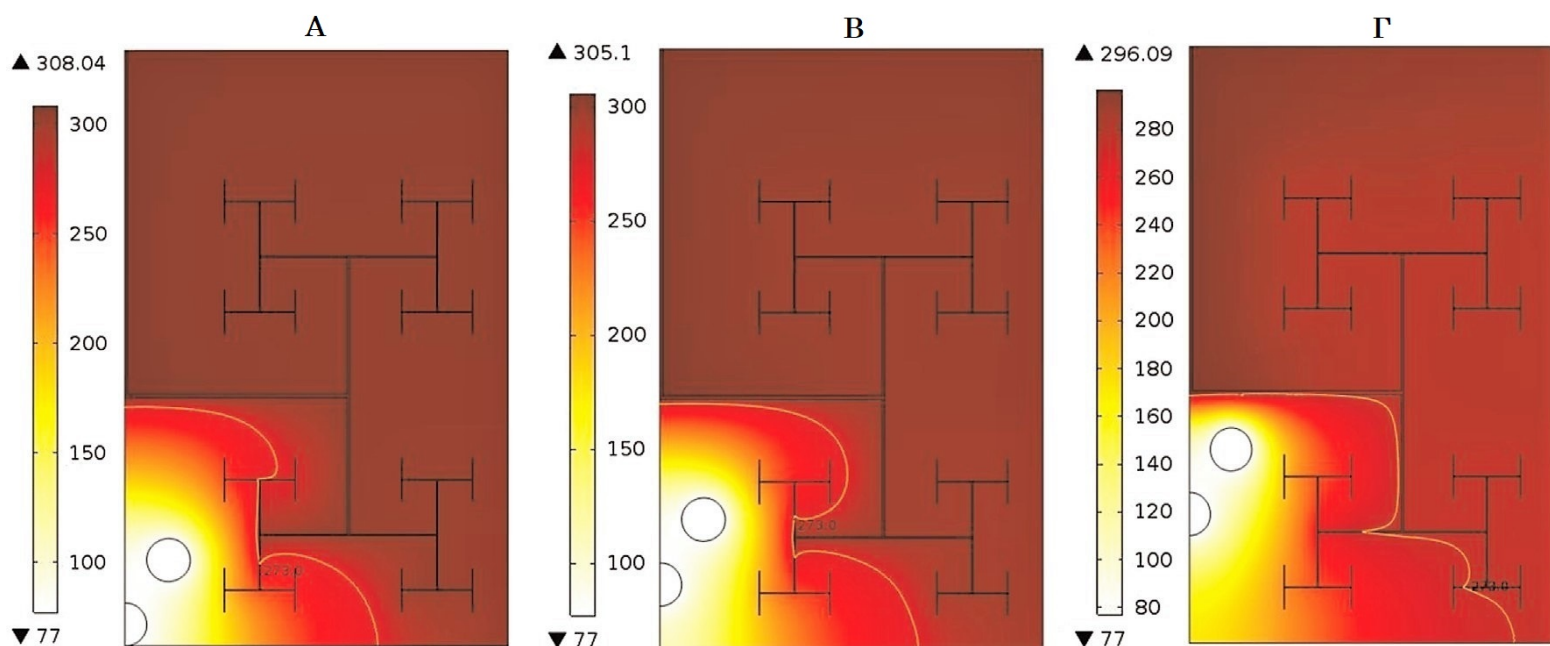
Στο εξής, όλα τα σχήματα αφορούν τη χρονική στιγμή $t = 1200 \text{ sec}$, καθώς και η ταχύτητα της ροής του αίματος στην είσοδο του αγγειακού δικτύου είναι 0.0525 m/s . Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι καθώς ο αριθμός των cryoprobes αυξάνεται, βελτιώνεται ως εκ τούτου, το προφίλ της κατανομής θερμοκρασίας. Τα Διαγράμματα 23 Β και 23 Γ δείχνουν ότι μικρότερα cryoprobes συνδυαζόμενα, προσφέρουν μια βελτιωμένη κατανομή θερμοκρασίας στην παρουσία αιμοφόρων αγγείων, και προωθούν την ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου σε ιστούς που βρίσκονται κοντά σε αγγειακά στελέχη. Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 23 Γ, τα μικρότερα cryoprobes απομακρύνονται μεταξύ τους και σταθεροποιούνται σε νέες θέσεις. Τα απομακρυσμένα cryoprobes με μικρότερη διάμετρο κεφαλής προκαλούν αύξηση του κατεψυγμένου όγκου και μείωση της μέσης θερμοκρασίας. Η μέση θερμοκρασία των ιστών και η μείωση του ποσοστού αυτής σε σύγκριση με την περίπτωση που χρησιμοποιείται μόνο ένα cryoprobe παρατίθενται στον Πίνακα 12. Για να συγκριθούν οι διαφορετικές χωροθετήσεις των cryoprobes, χρησιμοποιείται η τριγωνική διάταξη προκειμένου να εκτιμηθεί η κατανομή θερμοκρασίας των ιστών. Το Διάγραμμα 24 δείχνει ότι όλα τα χαρακτηριστικά της θερμικής επίδρασης όπως η κατανομή θερμοκρασίας στον ιστό, η ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου κοντά σε μεγάλα αγγεία και το ποσοστό μείωσης της θερμοκρασίας έχουν βελτιωθεί σε σύγκριση με τη γραμμική διάταξη των cryoprobes. Επιπλέον, καθώς η τριγωνική αυτή διάταξη τοποθετείται εγγύτερα στα μεγάλα αγγεία (βλ. Διάγραμμα 24), όλα τα θερμικά χαρακτηριστικά είναι βελτιωμένα λόγω της αύξησης της θερμοκρασιακής κλίσης κοντά στα μεγάλα αιμοφόρα αγγεία.



Διάγραμμα 23: Η επιρροή επί της θερμοκρασιακής κατανομής των διαφόρων παραμέτρων της κεφαλής του cryoprobe με την ταχύτητα της ροής του αίματος στην είσοδο του αγγειακού δικτύου να είναι 0.0525 m/s την χρονική στιγμή $t = 1200 \text{ s}$ για: (Α) κεφαλή με ακτίνα $\sqrt{3} L6$, (Β) τρεις κεφαλές με ακτίνα $L6.1$ και (Γ) τρεις κεφαλές με ακτίνα $L6.2$ [65].

Samples	Average temperature at 1200 s [K]	Reduction percent [%]
One probe with a radius of L_6	297.62	0
One probe with a radius of $\sqrt{3}L_6$	292.68	1.66
Three probes with a radius of $L_{6.1}$	287.82	3.30
Three probes with a radius of $L_{6.2}$	282.12	5.21
Three probes with a radius of $L_{6.3}$	284.47	4.42
Three probes with a radius of $L_{6.4}$	278.83	6.31
Three probes with a radius of $L_{6.5}$	264.54	11.11

Πίνακας 12: Μέση θερμοκρασία του ιστού την χρονική στιγμή $t = 1200s$ και το ποσοστό μείωσης της σε σχέση με την περίπτωση του ενός cryoprobe [65].



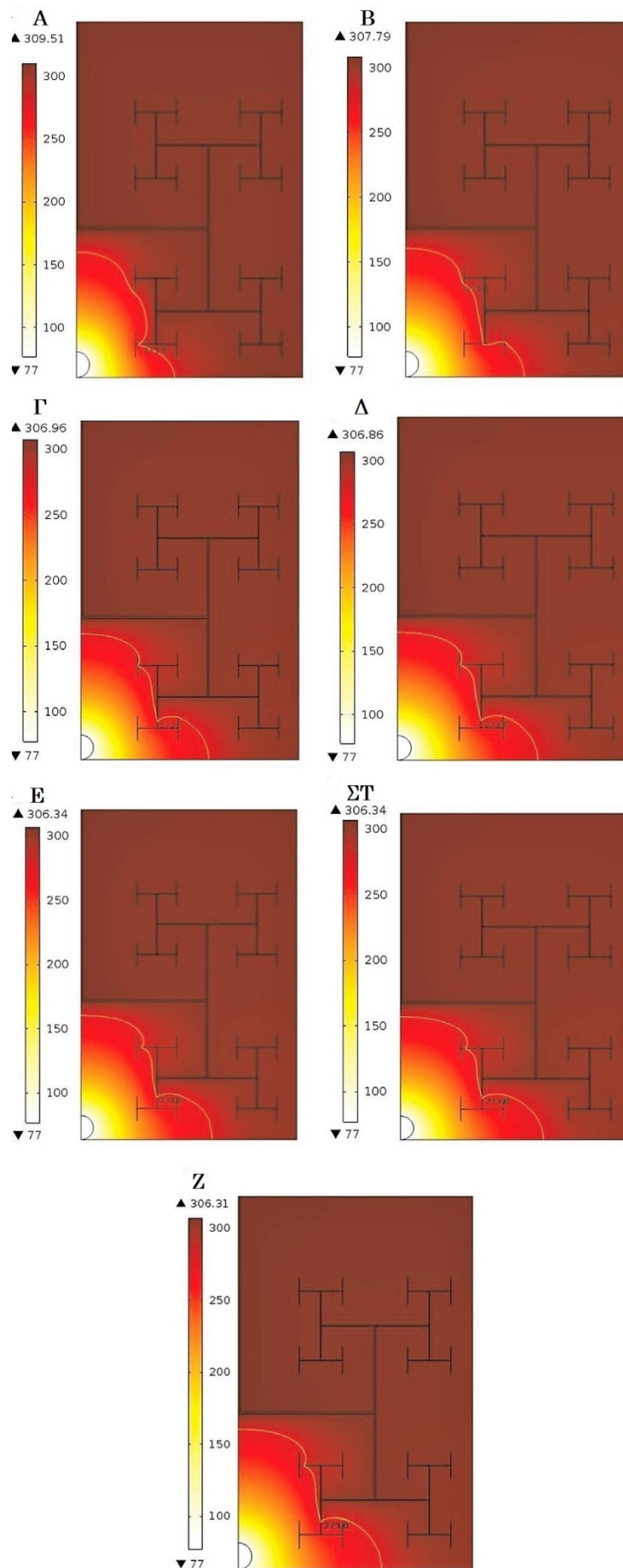
Διάγραμμα 24: Η επιρροή επι της θερμοκρασιακής κατανομής των διαφόρων παραμέτρων της κεφαλής του cryoprobe με την ταχύτητα της ροής του αίματος στην είσοδο του αγγειακού δικτύου να είναι 0.0525 m/s την χρονική στιγμή $t = 1200s$ για: (A) τρεις κεφαλές με ακτίνα $L_{6.3}$, (B) τρεις κεφαλές με ακτίνα $L_{6.4}$ και (Γ) τρεις κεφαλές με ακτίνα $L_{6.5}$ [65].

Γ3) ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΣΤΟ ΘΕΡΜΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ

Η εισαγωγή διαφόρων διαλυμάτων νανοσωματιδίων με κλάσμα όγκου $\eta = 0,2$ είχε ποικίλη επίδραση στην κατανομή θερμοκρασίας του ιστού και την ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου στην $t = 1200s$ γεγονός που παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 25. Η φόρτιση με νανοσωματίδια αδάμαντος (C) έχει τη μεγαλύτερη επίδραση στη μεταφορά θερμότητας στους ιστούς και επιτυγχάνει το υψηλότερο ποσοστό μείωσης της θερμοκρασίας, ενώ η παρουσία του PTFE επιτυγχάνει το χαμηλότερο ποσοστό μείωσης σε σχέση με τα άλλα νανοσωματίδια και αποτρέπει την απώλεια της θερμότητας του ιστού. Λόγω της δυνητικά μεταβλητής τους θερμικής αγωγιμότητας, τα νανοσωματίδια συμπεριφέρονται διαφορετικά σε διάφορες θερμοκρασίες. Κατά συνέπεια, το PTFE μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προστατεύσει τους γύρω υγιείς ιστούς. Για να αξιολογηθούν οι επιδράσεις αυτές με λεπτομέρεια, η μέση θερμοκρασία των ιστών και το ποσοστό μείωσης της συγκρίνονται με την περίπτωση της απουσίας φόρτισης με νανοσωματίδια και παρατίθενται στον Πίνακα 13.

Nanoparticle	Average temperature in 1200 s	Reduction percent [%]
No nanoparticles	297.62	0
PTFE	298.81	-0.40
Fe ₃ O ₄	294.78	0.95
MgO	292.68	1.66
Al ₂ O ₃	292.52	1.71
Diamond	291.45	2.07
Ag	291.47	2.06
Au	291.47	2.06

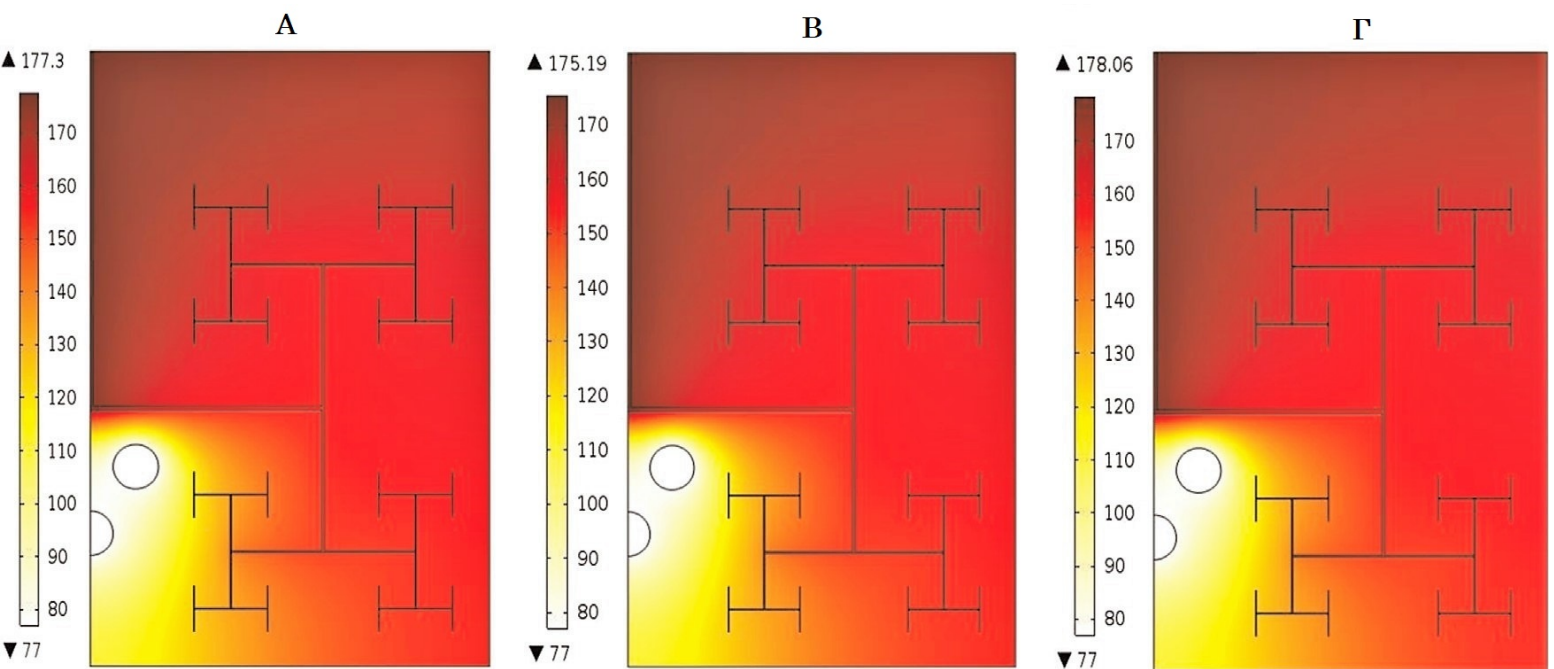
Πίνακας 13: Μέση θερμοκρασία του ιστού την χρονική στιγμή $t = 1200s$ και το ποσοστό μείωσης της σε σχέση με την περίπτωση απουσίας νανοσωματιδίων για ένα cryogrope με ακτίνα L6 [65].



Διάγραμμα 25: Η επιρροή της εισαγωγής διαφόρων τύπων διαλυμάτων νανοσωματιδίων με κλάσμα όγκου $\eta=0.2$ στο θερμοκρασιακό προφίλ των ιστών και στην ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου ιστού την χρονική στιγμή $t = 1200s$. Για διαλύματα νανοσωματιδίων: (A) PTFE (B) Fe_3O_4 (Γ) MgO (Δ) Al_2O_3 (E) C (diamond) (ΣΤ) Ag και (Ζ) Au [65].

Γ4) ΣΥΖΕΥΞΗ ΤΩΝ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΣΤΟ ΧΩΡΟΤΑΞΙΑ ΤΩΝ CRYOPROBES

Η φόρτιση με διαφορετικά νανοσωματίδια και η τριγωνική διάταξη των cryoprobes εφαρμόζονται ταυτόχρονα κατά καρκινικών ιστών προκειμένου να αξιολογηθεί η θερμοκρασιακή απόκριση. Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 26, τα αποτελέσματα εμφανίζουν σημαντική τροποποίηση τόσο ως προς την κατανομή θερμοκρασίας, όσο και ως προς το ποσοστό μείωσης της. Μπορεί να παρατηρηθεί ότι η μέση θερμοκρασία μειώνεται περίπου 50% σε σχέση με αυτή κατά την απουσία νανοσωματιδίων. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην μεγάλη θερμική αγωγιμότητα του φορτισμένου με νανοσωματίδια ιστού και στην εφαρμογή της τριγωνικής διάταξης στα cryoprobes κοντά στα μεγάλα αιμοφόρα αγγεία. Επιπλέον, η εισαγωγή νανοσωματιδίων Ag, Au και αδάμαντος (C) έχουν περίπου το ίδιο ψυκτικό αποτέλεσμα, δεδομένου ότι η θερμική αγωγιμότητα έχει ένα άνω όριο (max) στη συνεισφορά προς την κατάψυξη. Από τη σκοπιά αυτή, η επίδραση των αιμοφόρων αγγείων ως πηγές θερμότητας μπορεί να εξαλειφθεί, και αυτό θα συνεισφέρει σημαντικά στην ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου. Ο Πίνακας 14 δείχνει τη μέση θερμοκρασία και τη μείωση του ποσοστού της σε 3 δείγματα προς σύγκριση, με τη διευθέτηση ενός και μόνο cryoprobe.



Διάγραμμα 26: Η επιρροή της εισαγωγής διαφόρων τύπων διαλυμάτων νανοσωματιδίων με κλάσμα όγκου $\eta=0.2$ στο θερμοκρασιακό προφίλ των ιστών ιστού την χρονική στιγμή $t =$ για τρία διαφορετικά cryoprobes: (A) Ag (B) Au (Γ) C (diamond) [65].

Nanoparticle	Average temperature in 1200 s	Reduction percent [%]
One probe with a radius of L_6	297.62	0
Triangle arrangement with a radius of $L_{6,5}$ with Ag nanoparticle	154.90	47.95
Triangle arrangement with a radius of $L_{6,5}$ with Au nanoparticle	153.29	48.49
Triangle arrangement with a radius of $L_{6,5}$ with diamond nanoparticle	155.44	47.77

Πίνακας 14: Μέση θερμοκρασία του ιστού την χρονική στιγμή $t=1200s$ και το ποσοστό μείωσης της σε σχέση με την περίπτωση ενός μόνο cryoprobe με ακτίνα L_6 [65].

Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μελετήθηκαν αριθμητικά οι θερμικές επιδράσεις της ροής του αίματος στα αγγεία κατά τη διάρκεια της Κρυοχειρουργικής καθώς και οι αποτελεσματικές στρατηγικές για να ξεπεραστούν οι επιδράσεις αυτές. Παρατηρήθηκε ότι τα αγγεία ενεργούν ως πηγή θερμότητας, και έχουν μεγάλη επίδραση στη μεταφορά θερμότητας στους ιστούς κατά τη κρυοθεραπεία. Στη συνέχεια, προτάθηκαν δύο προσεγγίσεις για να ξεπεραστεί το πρόβλημα της θερμικής επίδρασης των αιμοφόρων αγγείων.

Πρώτον, διερευνήθηκε η επίδραση του μεγέθους και της θέσης του cryoprobe. Αποδείχθηκε ότι η αύξηση του αριθμού των cryoprobes μικρών κεφαλών, μαζί με την εφαρμογή αυτών κοντά στην περιοχή των αγγείων, βελτιώνει την ανάπτυξη του κατεψυγμένου όγκου. Στη συνέχεια, ερευνήθηκε η χορήγηση ποικίλων νανοσωματιδίων κατά τη Κρυοχειρουργική. Η εισαγωγή νανοσωματιδίων μέσα στο βιολογικό ιστό μπορεί να εξουδετερώσει τις θερμικές επιδράσεις των αιμοφόρων αγγείων. Τα νανοσωματίδια με Au, Ag, αδάμαντα (C), Al_2O_3 , MgO και Fe_3O_4 φαίνεται να είναι τα πλέον αποτελεσματικά στο να μειώνουν τη μέση θερμοκρασία στους ιστούς - στόχους.

Επίσης, το PTFE αποτρέπει την απώλεια της θερμοκρασίας του ιστού, έτσι ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένα θερμικό φράγμα για την προστασία του υγιούς ιστού. Επιπλέον, συνάγεται το συμπέρασμα ότι η έγχυση νανοσωματιδίων με Au, Ag και αδάμαντα με χρήση της τριγωνικής διάταξης των cryoprobes σε αυτό το μοντέλο, ταυτόχρονα, προκαλούν μια μείωση της τάξης του 50% στη μέση θερμοκρασία των ιστών σε σύγκριση με την εφαρμογή μίας και μόνο κεφαλής. Επιπλέον, ο συνδυασμός των τριών αυτών νανοσωματιδίων με τριγωνική διάταξη τριών cryoprobes εξαλείφει τη θερμική επίδραση της ροής του αίματος στον ιστό - στόχο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο _ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ ΤΗΣ ΚΡΥΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ (ΑΝΤΙ ΕΠΙΛΟΓΟΥ) [2,10,11,12,13]

Η κρυοχειρουργική προσέγγιση είναι μια εν γένει κομψή μέθοδος, που έχει γίνει ένας σημαντικός κλάδος της Χειρουργικής, με μια μεγάλη ποικιλία εφαρμογών σε όλο το φάσμα των ιατρικών ειδικοτήτων, από τη δερματολογία έως την ογκολογία. Μεγάλη πρόοδος έχει γίνει πρόσφατα στην κατανόηση των παθοφυσιολογικών επιπτώσεων της και στη βελτίωση των πρακτικών της εφαρμογών. Μολονότι η Κρυοχειρουργική ξεκίνησε να διερευνάται σε επιστημονική βάση, μόνο κατά το δεύτερο μισό του 19ου αιώνα, η κρυοθεραπεία έχει χρησιμοποιηθεί στην πραγματικότητα εμπειρικά για χιλιετίες. Εν τω μεταξύ, μέχρι σήμερα έχει επιτευχθεί υψηλό επίπεδο ακρίβειας, και λεπτή ρύθμιση της τεχνικής σε απαιτητικές χειρουργικές διαδικασίες, γεγονός που συμβαδίζει με τη μοντέρνα Χειρουργική φιλοσοφία. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 4 δεκαετιών, έχει γίνει μια σημαντική, ευρέως χρησιμοποιούμενη, και όλο και περισσότερο απαραίτητη μέθοδος θεραπείας, παρέχοντας εξαιρετικά αποτελέσματα που είναι ισάξια, και συχνά υπερέχοντα, από αυτά με άλλες χειρουργικές μεθόδους.

Η βελτίωση στην τεχνολογία απεικόνισης και η περαιτέρω ανάπτυξη των κρυοχειρουργικών οργάνων θα συνεχίσουν να διευρύνουν τη χρησιμότητα της κρυοθεραπείας. Οι κρυοχειρουργικές τεχνικές στο ελάχιστο θα συμπληρώνουν τη συμβατική χειρουργική εκτομή, αναλαμβάνοντας και πρωταγωνιστικό ρόλο ειδικά σε καταστάσεις ανθεκτικές στη συμβατική χειρουργική, περιλαμβάνοντας και ασθενείς με πολλαπλές συννοσηρότητες. Η νέα γενιά της κρυοχειρουργικής μηχανικής είναι το αποτέλεσμα συνδυασμού της στρατιωτικής και διαστημικής τεχνολογίας με ψύχος υψηλής ισχύος, η οποία παρέχεται με την επίτευξη θερμοκρασιών της τάξης των $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$ και κάτω, στην επιφάνεια εργασίας κρυοοργάνων και cryogrobes σε επαφή με τους ιστούς – στόχους.

Όμως είναι επίσης πιθανό τα πλεονεκτήματα της Κρυοχειρουργικής να την καταστήσουν μια τεχνική που να είναι άμεσα ανταγωνιστική με την χειρουργική εκτομή και μάλιστα σε πολλές περιπτώσεις. Στην πραγματικότητα, στην ειδικότητα της ογκολογίας, η Κρυοχειρουργική έχει πολλά γνωστά πλεονεκτήματα σε σχέση με την κλασική χειρουργική: είναι αποτελεσματική στο να επάγει τη νέκρωση των καρκινικών κυττάρων, καταφέρνει να διατηρεί περισσότερο φυσιολογικό ιστό σε σχέση με τη χειρουργική εκτομή (με λιγότερο κίνδυνο για αιμορραγία και διασπορά των καρκινικών κυττάρων), καθιστά εφικτή την αντιμετώπιση των θεωρητικά ανεγχείρητων όγκων (ιδιαίτερα εκείνων που διηθούν μεγάλα αγγεία), επιτρέπει την «αποστείρωση» των χειρουργικών ορίων και επιπλέον είναι πιθανό να δημιουργεί μια ανοσολογική απόκριση ενάντια σε αντιγόνα του κατεψυγμένου ιστού.

Στη δερματολογία, η χρήση της Κρυοχειρουργικής έχει πολλά πλεονεκτήματα και τα αποτελέσματα της είναι συχνά, εξίσου αλλά και πολλές φορές καλύτερα, από εκείνα των συμβατικών τεχνικών. Γενικά, σαν μέθοδος είναι λιγότερο χρονοβόρα και λιγότερο δαπανηρή από άλλες θεραπείες και πλέον η κρυοθεραπεία μπορεί να εκτελεστεί χωρίς νοσηλεία του ασθενούς περιορίζοντας σημαντικά το κόστος.

Όμως η φαινομενική απλότητα της κρυοχειρουργικής τεχνικής οδήγησε ορισμένους γιατρούς, ιδιαίτερα εκείνους με λιγότερη εμπειρία, στο να αντιμετωπίζουν μικρές βλάβες χωρίς να εξαντλούν την αυστηρότητα του κρυοχειρουργικού πρωτοκόλλου. Όταν τα αποτελέσματα είναι χειρότερα από εκείνα που αναφέρονται βιβλιογραφικά διεθνώς, ορισμένοι Χειρουργοί είναι πιθανό να αποδίδουν την αποτυχία τους στη μέθοδο, αντί για το επίπεδο δεξιοτήτων τους ή των τεχνικών γνώσεων τους. Θα πρέπει να τονιστεί ότι ακόμα και για μικρές δερματολογικές ή βλεννογονικές αλλοιώσεις, το κρυοχειρουργικό πρωτόκολλο πρέπει να τηρείται προσεκτικά όπως και για κάθε άλλη χειρουργική επέμβαση. Τα οικονομικά πλεονεκτήματα της Κρυοχειρουργικής δεν μπορούν επίσης να αγνοηθούν. Η Κρυοχειρουργική έχει σαφή πλεονεκτήματα κόστους, καθώς το κόστος που σχετίζεται με την κρυοθεραπεία είναι συνήθως σημαντικά χαμηλότερο από εκείνο της κλασικής Χειρουργικής και η μέθοδος φαίνεται να προσαρμόζεται πολύ καλά στη περίθαλψη περιπατητικών ασθενών.

Σε μεγαλύτερο επιστημονικό στάδιο, πολύ ευνοϊκές εξελίξεις έχουν λάβει χώρα στη σφαίρα της Κρυοχειρουργικής. Οι μελέτες των επιπτώσεων της κρυοθεραπείας σε πλήθος ιστών και οργάνων, συμπεριλαμβανομένου του προστάτη, υποστήριξαν ότι υπάρχει μια ανοσολογική απόκριση σε αντιγόνα του κατεψυγμένου ιστού. Αυτή η ανακάλυψη των ανοσολογικών αποτελεσμάτων, με την εξάλειψη ή υποχώρηση των μεταστάσεων του καρκίνου του προστάτη μετά από κρυοχειρουργική θεραπεία, οδήγησε στην ελπίδα για παρόμοια αποτελέσματα και σε άλλους τομείς της ογκολογίας, η οποία, μέχρι σήμερα, έχει εκπληρωθεί μόνον εν μέρει. Ωστόσο, σε αρκετές πειραματικές μελέτες με όγκους σε τρωκτικά που επάγονται από ιικούς και χημικούς παράγοντες, έχει αποδειχθεί η ύπαρξη κρυοανοσοποίησης κατά των όγκων στα ζώα αυτά.

Ταυτόχρονα με την ανάπτυξη της Κρυοχειρουργικής, ένα νέο πεδίο της επιστήμης έχει ανακύψει, η Κρυοβιολογία, που μελετά τις επιπτώσεις των υπο του μηδενός θερμοκρασιών στα βιολογικά συστήματα. Η Κρυοβιολογία έχει υποστεί θεαματική πρόοδο και αναπτύχθηκε κυρίως σε δύο κατευθύνσεις: πρώτον, βελτιώνοντας την κατανόηση της παθοφυσιολογίας της κρυονέκρωσης των κυττάρων και των ιστών και, δεύτερον, δημιουργώντας τεχνικές κρυοσυντήρησης ζώντων κυττάρων, ιστών και οργάνων. Μπορεί συνεπώς, πλέον να αποτελεί εφικτή προσδοκία, ότι μια καλύτερη κατανόηση των αρχών της Κρυοβιολογίας, θα αυξήσει δραματικά την αποτελεσματικότητα της κρυοχειρουργικής θεραπείας.

Όπως και με τις άλλες ειδικότητες, η καθιέρωση οργανισμών για την Κρυοχειρουργική έχει κάποια σημασία για την περαιτέρω ανάπτυξή της. Το πρώτο Διεθνές Συνέδριο της Κρυοχειρουργικής διεξήχθη στη Βιέννη της Αυστρίας, το 1971, 3 χρόνια αργότερα, η ιδρύθηκε η Διεθνής Κρυοχειρουργική Κοινότητα. Η τελευταία συνάντηση της διεθνούς και της ευρωπαϊκής κρυοχειρουργικής εταιρίας πραγματοποιήθηκε στο Λονδίνο, και η 13η συνάντηση διεξήχθη στην Κρήτη. Στο μεσοδιάστημα, η Κρυοχειρουργική έχει εισαχθεί επιτυχώς και σε άλλες ειδικότητες εκτός της ογκολογίας και της δερματολογίας.

Συμπερασματικά, η χρήση του ψύχους ως θεραπεία διαθέτει μια μακρά ιστορία με πολλαπλά αναδυόμενα οφέλη να γίνονται εμφανή με το πέρασμα των ετών, με συνέπεια το πλήρες φάσμα ανάπτυξης τους να μην μπορεί ακόμα να προβλεφθεί. Σίγουρα, η Κρυοχειρουργική μπορεί να θεωρηθεί ως ένα από τα εργαλεία που ένας Ιατρός μπορεί να επιλέξει για τη θεραπεία μιας ποικιλίας νεοπλασματικών νόσων, αλλά και μη νεοπλασματικών παθήσεων. Όπως κάθε θεραπευτική μέθοδος, έτσι και η Κρυοθεραπεία απαιτεί έναν Ιατρό εξειδικευμένο στη χρήση της, με την κρίση και τη γνώση να επιλέξει το σωστό εργαλείο για την απαιτούμενη επέμβαση.

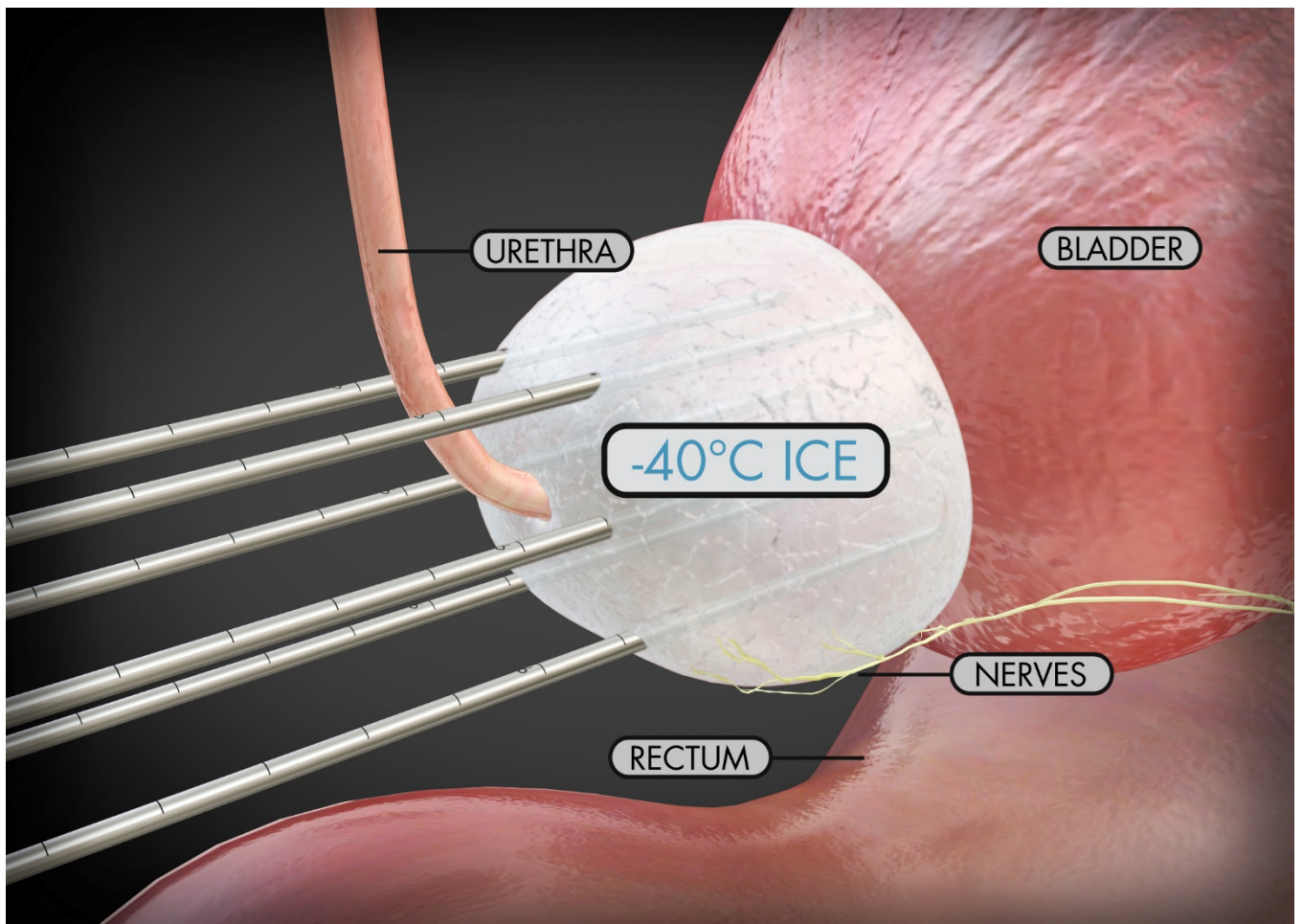
Ένας κρίσιμος παράγοντας που επηρέασε την εξέλιξη της Κρυοχειρουργικής είναι ο καθορισμός του προτύπου της (guidelines) και ο τεχνικός ανταγωνισμός, ως προς τις κρυοχειρουργικές συσκευές που χρησιμοποιούνται. Για παράδειγμα, η αποτελεσματικότητα της σύγχρονης Κρυοχειρουργικής στη θεραπευτική και παρηγορητική πράξη εξαρτάται κυρίως από την τεχνική επάρκεια των κρυοχειρουργικών συσκευών που χρησιμοποιούνται για την εκτέλεση των κρυοεπεμβάσεων.

Διάφορες εταιρείες έχουν διαθέσει κρυοχειρουργικές συσκευές στην αγορά. Όμως παρόλο που αυτές είναι αρκετά περίπλοκα και αυτοματοποιημένα συστήματα, δεν πληρούν τις βασικές απαιτήσεις, δηλαδή, τις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες που είναι απαραίτητες για την ασφαλή κρυονέκρωση όγκων. Αναμφίβολα αυτό συμβαίνει καθώς η μέθοδος της κρυοθεραπείας δεν έχει διαδοθεί ευρέως και γιατί οι δυνατότητες της δεν έχουν λάβει την αναμενόμενη εμπιστοσύνη από την πλευρά των Χειρουργών.

Τα αποτελέσματα πειραματικών και κλινικών μελετών έδειξαν ότι κατά τη διάρκεια της κρυοεπέμβασης η θερμοκρασία της κεφαλής του cryoprobe που έρχεται σε επαφή με τον ιστό – στόχο δεν πρέπει να είναι υψηλότερη από -170°C .

Έχει αποδειχθεί ότι η επιτυχής χρήση της Κρυοχειρουργικής μπορεί να επιτευχθεί μόνο μέσω της ανάπτυξης μιας αποτελεσματικής ιατρικής - τεχνικής συσκευής. Η επιτυχής εφαρμογή της σύγχρονης κρυοθεραπείας, ιδιαίτερα για τα διάφορα είδη καρκίνου, θα είναι δυνατή, στο εγγύς μέλλον, διότι τα αναγκαία τεχνικά μέσα για πλέον αποτελεσματικές κρυοχειρουργικές συσκευές έχουν ήδη καταστεί διαθέσιμα.

Η μοντέρνα Κρυοχειρουργική επιτυγχάνει αποδοτικότητα και ασφάλεια μέσω καλών και απέρριπτων χειρουργικών αποτελεσμάτων, ενός υψηλού ποσοστού θεραπείας, και μέσω της παροχής υψηλής ποιότητας ζωής για τους ασθενείς. Τέλος λοιπόν, το "κρύο" θα πρέπει να γίνει περισσότερο κατανοητό και αποδεκτό από περισσότερους ερευνητές και πρωτοπόρους Χειρουργούς.



Σχήμα 73: Σχηματική αναπαράσταση σύγχρονης Κρυοχειρουργικής του προστάτη αδένος με χρήση συστήματος έξι cryopropes που προσφέρει τη δυνατότητα πλήρους και ασφαλούς κρυοθεραπείας ακόμα και σε ακανόνιστου σχήματος αλλοιώσεις με ταυτόχρονη προστασία των γύρω ιστών [Πηγή: Διαδίκτυο].

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1. "Cryobiology as viewed by the Surgeon"**
Irving S. Cooper Department of Neurological Surgery, St. Barnabas Hospital, New York, New York.
- 2. "Progress in Cryosurgery"** Andrew A. Gage
School of Medicine and Biomedical Sciences, Suny at Buffalo and Roswell Park Cancer Institute, Elm and Carlton Streets, Buffalo, New York, 14263.
- 3. "Experimental cryosurgery investigations in vivo"** A.A. Gage, J.M. Baust, J.G. Baust.
- 4. "Cryosurgery"** Gary Onik
Department of Minimally Invasive Therapy, Princeton Hospital, University of Florida School of Medicine, 1800 Mercy Drive, Orlando, FL 32808, USA.
- 5. "Cryosurgery a putative approach to molecular-based optimization"**
John G. Baust, Andrew A. Gage Dominic Clarke John M. Baust and Robert Van Buskirk.
- 6. "A novel approach to improve the efficacy of tumor ablation during Cryosurgery"**
Krishna Kumar Ramajayam, Amitesh Kumar
Department of Biotechnology & Medical Engineering, National Institute of Technology, Rourkela 769008, India.
- 7. "Cryosurgery for cancer An Evaluation"** Andrew A. Gage
Veterans Administration Hospital, Buffalo, New York, 13215, and Department of Surgery, State University of New York at Buffalo, School of Medicine. Buffalo, New York.
- 8. "Cryosurgery for Tumors"** Andrew A Gage, MD, FACS, John G Baust, PhD.
- 9. "Cryosurgery: advances in the application of low temperatures to Medicine"** B. Rubinsky Department of Mechanical Engineering, University of California, Berkeley, CA 94720, USA.
G. Onik Cryomedical Department, Allegheny General Hospital, Pittsburg, PA 15212-9986, USA.
- 10. "Current Progress in Cryosurgery"** Andrew A. Gage
Roswell Park Memorial Institute, 666 Elm Street, Buffalo, New York 14263.
- 11. "Cryosurgical Societies: A Historical Note"** Andrew A. Gage
School of Medicine and Biomedical Sciences, State University of New York at Buffalo, Buffalo, New York 14222; and Roswell Park Memorial Institute, 666 Elm Street, Buffalo, New York 14263.
- 12. "Current Issues in Cryosurgery"** Andrew A. Gage
Veterans Administration Medical Center, 3495 Bailey Avenue, Buffalo, New York 14215, and the State University of New York at Buffalo School of Medicine, Buffalo, New York 14214.
- 13. "A History of Cryosurgery: Its Development and Future"** Nikolai N Korpan, MD, PhD, FICS.
- 14. "Apparatus Modifications for Experimental Cryogenic Surgery of Cancer"**
H. Bryan Neel III, G. C. Riggle, R. S. Myers, A. S. Ketchum, and W. G. Hammond
Biomedical Engineering and Instrumentation Branch, Division of Research Services, National Cancer Institute and Surgery Branch, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 2014.

15. "A Comparative Laboratory Study of Liquid Nitrogen and Argon Gas Cryosurgery Systems"

P. M. Hewitt, J. Zhao, J. Akhter, and D. L. Morris

Department of Surgery, University of New South Wales, The St. George Hospital, Kogarah, Sydney 2217, Australia.

16. "A Helium Gas Probe for Use in Cryosurgery" W. B. Bald

College of Aeronautics, Cranfield Institute of Technology, Cranfield, Bedford MK43 Oal, England.

17. "Controlled-Rate Liquid N₂-Microwave Biological Freeze-Thaw Device"

F. Douglas Kelley, Richard M. Phelan, and Ronald L. Levin

Sibley School of Mechanical and Aerospace Engineering, Cornell University, Ithaca, New York 14853.

18. "Cryosurgical Nitrogen Apparatus and Recent Results of Its Application in the Radical Treatment of Certain Neoplasms"

Stanislaw D. Augustyniwich, Wlodzimierz F. Szmurlo, and Grzegorz J. Madej

Research Centre of Medical Technology and Institute of Oncology, Warsaw, Poland.

19. "Electronic Techniques for Controlling Thawing of Major Organs" A. M. Karow

Department of Pharmacology, Medical College of Georgia, Augusta, Georgia 30912.

20. "Investigating the cryoablative efficacy of a hybrid cryoprobe operating under freeze - thaw cycles" X. Zhao, K.J. Chua

Department of Mechanical Engineering, National University of Singapore, Engineering, Singapore.

21. "Minimally Invasive Cryosurgery - Technological Advances" John Baust, Andrew A. Gage, Hewu Ma, and Chao-Min Zhang.

22. "MR Imaging Assisted Temperature Calculations during Cryosurgery"

Jen -Shin Hong, Sam Wong, Grant Pease, and Boris Rubinsky.

23. "Nanoparticle-mediated cryosurgery for tumor therapy" Yi Hou, BS, Ziqiao Sun, PhD, Wei Rao, PhD, Jing Liu, PhD.

24. "Studying of the thermal performance of a hybrid cryo-RFA treatment of a solid tumor" Y.L. Shao, H.L. Leo, K.J. Chua.

25. "The cooling performance of a cryoprobe: Establishing guidelines for the safety margins in cryosurgery" Mohammed Shurrab, Haidong Wang, Noriaki Kubo, Takanobu Fukunaga, Kosaku Kurata, Hiroshi Takamatsu

Department of Mechanical Engineering, Kyushu University, Japan.

26. "Antitumor Immunologic Reactivity in the Relatively Early Period after Cryosurgery: Experimental Studies in the Rat" Kojiro Matsumura, Kazuki Sakata, Shigetoyo Saji, Atushi Misao, and Tokuro Kunieda

Secogad Department of Surgery, Gifu University School of Medicine, Gifu City, Japan.

27. "Biochemical Aspects of Cryoprotective Agents in Freezing and Thawing"

Arthur W Rowe, The New York Blood Center, New York.

28. "Cryofragility and Other Membrane Characteristics of Solid Mouse Tumors"

Franz A. Schmid, Glenys M. Otter, and Dorris J. Hutchison

Laboratories of Experimental Antitumor Testing and Drug Resistance and Cyto-Regulation, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York. New York 10021.

29. "Differing Actions of Penetrating and Nonpenetrating Cryoprotective Agents"

Locksley E. Mccann

Division of Biomedical Engineering and Applied Sciences, and Surgical - Medical Research Institute, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada.

- 30.** "Effect of Freezing and Thawing on the Microcirculation and Capillary Endothelium of the Hamster Cheek Pouch" J. M. Rabb, M. L. Renaud, P. A. Brandt, and C. W. Witt
U.S. Army Research Institute of Environmental Medicine, Natick, Massachusetts.
- 31.** "Effect of Oxygen on Freezing Damage: II. Physical and Chemical Effects" Harolu M. Swartz
Division of Biochemistry, Walter Reed Army Institute of Research, Walter Reed Army Medical Center, Washington, D.C. 20012 and Biochemistry Department, Georgetown University, Washington, D.C. 20007.
- 32.** "Effect of Varying Freezing and Thawing Rates in Experimental Cryosurgery" Andrew A. Gage, Katrina Guest, Mario Montes, Joseph A. Caruana, and Daniel A. Whalen, JR.
Departments of Surgery, Anesthesiology, and Pathology, SUNY at Buffalo School of Medicine, Veterans Administration Medical Center, Buffalo, New York 14215.
- 33.** "Histochemical Stability in Freeze Desiccated Tissue Sections" J.S. Bennett and D. Fujita University of Oregon Dental School, Portland, Oregon.
- 34.** "Histopathology of Cryoinjury In Rabbit Testis" Eduardo Zappi, Ada Chabon; AK~ Sidney Shulman
Department of Microbiology, New York Medical College, Near York.
- 35.** "Historical Development of Cell and Tissue Culture Freezing" Lewis L. Coriell, Arthur E. Greene, and Ruth K. Silver
South Jersey Medical Research Foundation, Camden, New Jersey.
- 36.** "Ice Crystals Formed in Tissues During Cryosurgery with Light Microscopy" D. K. Whittaker
Department of Oral Biology, Welsh National School of Medicine, Cardiff, Wales.
- 37.** "Identification of Vascular System in Experimental Carcinoma for Cryosurgery - Histochemical Observations of Lectin UEA-1 and Alkaline Phosphatase Activity in Vascular Endothelium" Tomihisa Ninimiya, Hirotaka Yosimura, and Masahiko Mori.
- 38.** "Immunologic Aspects of Cryosurgery: Potential Modulation of Immune Recognition and Effector Cell Maturation" Judith P. Johnson, PhD.
- 39.** "Immunological Aspects of Cryosurgery in General Surgery" Shigeo Tanaka
Division of Special Surgery, and Tumor Research Division, Hokushin General Hospital, Nishi I-5-43, Nakanoshi, Naganoken, 383, Japan.
- 40.** "Intracellular Freezing in Biomaterials" Kenneth R. Diller, Ernest G. Cravalho and Charles E. Huggins.
- 41.** "Mechanisms of cryoablation: Clinical consequences on malignant tumors" J.G. Baust, A.A. Gage, T.E. Bjerklund Johansen, J.M. Baust.
- 42.** "On the study of the freeze-thaw thermal process of a biological system" K.J. Chua, S.K. Chou
Department of Mechanical Engineering, National University of Singapore, 9 Engineering Drive 1, Singapore 117576, Singapore.
- 43.** "Proteolytic events in cryonecrotic cell death: Proteolytic activation of endonuclease P23" Nevena Grdovic, Melita Vidakovic, Mirjana Mihailovic, Svetlana Dinic, Aleksandra Uskokovic, Jelena Arambašić, Goran Poznanovic
Department of Molecular Biology, Institute for Biological Research "Siniša Stankovic", University of Belgrade, Bulevar Despotina Stefana 142, 11060 Belgrade, Serbia.

- 44.** "Response of Experimental Tumor Systems to Cryosurgery" C. E. Blackwood and I. S. Cooper.
- 45.** "Studying the thermal effects of a clinically – extracted vascular tissue during cryo-freezing" X. Zhao, K.J. Chua.
Department of Mechanical Engineering, National University of Singapore, Singapore.
- 46.** "The Control and Predictability of a Cryolesion" William Gill, John Da Costa, and Sir James Fraser.
- 47.** "The Vascular Effect of Cold Injury" Vincent C. Giampapa, Changyul Oh, and Arthur H. Aufses, JR.
The Mount Sinai Medical Center, Department of Surgery, 1 Gustave L. Levy Place, New York. New York IOU.29
- 48.** "Wound Healing and Scarring after Cryosurgery" J. P. Shepherd, and R. P. R. Dawber.
- 49.** "A Finite Element and Order of Magnitude Analysis of Cryosurgery in the Lung" Robert J. Schweikert and Russell G. Keanini, Department of Mechanical Engineering The University of North Carolina at Charlotte, NC 28223.
- 50.** "A finite element model for cryosurgery with coupled phase change and thermal stress aspects" Baohong Yanga, Richard G. Wan, Ken B. Muldrew, Bryan J. Donnelly.
- 51.** "A microscale model for prediction of breast cancer cell damage during cryosurgery" Aili Zhang, Lisa X. Xu, George A. Sandison, and Jiayao Zhang.
- 52.** "A study of cryosurgery of lung cancer using Modified Legendre wavelet Galerkin method" Mukesh Kumar, Subrahamanyam Upadhyay, K.N. Rai.
- 53.** "An analytical study on the thermal effects of cryosurgery on selective cell destruction" K.J. Chua, S.K. Chou, J.C. Ho.
- 54.** "An Isolated Perfused Rat Mesentery Model for Direct Observation of the Vasculature during Cryopreservation"
Graeme A. Pollock, David E. Pegg, Ian R. Hardie
Department of Surgery, University of Queensland, St. Lucia, Queensland 4067, Australia and Cryobiology Group, University Department of Surgery, Cambridge, England.
- 55.** "Analytical and numerical study of tissue cryofreezing via the immersed boundary method" M.Y. Ge, K.J. Chua, C. Shu, W.M. Yang.
- 56.** "Applying Fong's CRS Liver Score in Patients with Colorectal Liver Metastases Treated by Cryotherapy" Yi Chen, Dayashan S. Perera, Tristan D. Yan, Lu Ming Schmidt and David L. Morris
Department of Surgery, The University of New South Wales, St George Hospital, Sydney, Australia.
- 57.** "Computer simulations on multiprobe freezing of irregularly shaped tumors" K.J. Chua
Department of Mechanical Engineering, National University of Singapore, Singapore.
- 58.** "Disclosure of the significant thermal effects of large blood vessels during cryosurgery through infrared temperature mapping"
Zhong - Shan Deng, Jing Liu, Hong-Wu Wang.
- 59.** "Effect of blood flow and metabolism on multidimensional heat transfer during cryosurgery"
Gang Zhao, Hai-Feng Zhang, Xiao-Jie Guo, Da-Wei Luo, Da-Yong Gao.

- 60.** "Fast inverse prediction of the freezing front in cryosurgery" Mohamed Hafid, Marcel Lacroix
Université de Sherbrooke, Département de Génie Mécanique, 2500 Boulevard de l'Université, Sherbrooke, Québec, Canada.
- 61.** "Feasibility study for thermal protection by microencapsulated phase change micro/nano particles during cryosurgery" Yonggang Lv, Yang Zou, Li Yang.
- 62.** "Fundamental experiments and numerical investigation of cryo-freezing incorporating vascular network with enhanced nano-freezing" K.J. Chua.
- 63.** "In vivo detection of cryosurgery using multiphoton and harmonic generation microscopy" Te-Hsuen Chen, Chi-Jer Charles Huang, Yi-You Huang.
- 64.** "Key issues in bioheat transfer simulations for the application of cryosurgery planning" Yoed Rabin.
- 65.** "Mathematical study of probe arrangement and nanoparticle injection effects on heat transfer during cryosurgery" Seyyed Mostafa Mirkhalili, Ahmad Ramazani S.A. Saeed Nazemidashtarjandi
Department of Chemical and Petroleum Engineering, Sharif University of Technology, Iran.
- 66.** "Numerical analysis of a clinically-extracted vascular tissue during cryo-freezing using immersed boundary method" M.Y. Ge, C. Shu, K.J. Chua, W.M. Yang
Department of Mechanical Engineering, National University of Singapore, Singapore.
- 67.** "Numerical investigation of the effect of vessel size and distance on the cryosurgery of an adjacent tumor" Malikeh Nabaei, Mehrdad Karimi
Biomedical Engineering Department, Amirkabir University of Technology, 424 Hafez Ave, Tehran 15875-4413, Iran.
- 68.** "Phase change heat transfer during cryosurgery of lung cancer using hyperbolic heat conduction model" Ajay Kumar, Sushil Kumar, V.K. Katiyar, Shirley Telles.
- 69.** "Simulation of heat transfer of biological tissue during cryosurgery based on vascular trees" Juan Shi, Zhenqian Chen, Mingheng Shi
School of Energy and Environment, Southeast University, 2 Si Pai Lou, Nanjing, Jiangsu 210096, PR China.
- 70.** "Thermal Conductivity Measurements and Predictions for Biological Fluids and Tissues" H. F. Poppendiek, R. Randall, J.A. Breeden, J.E. Chambers, and J.R. Murphy.
- 71.** "Two-phase heat transfer model for multiprobe cryosurgery"
Xin Zhang, S.M. Chapal Hossain, Gang Zhao, Beisheng Qiu, Xiaoming He.
- 72.** "Ultrasound signal wavelet analysis to quantify the microstructures of normal and frozen tissues in vitro"
Lei Sheng, Gubing Wang, Fubing Li, Jianwen Luo, Jing Liu.
- 73.** "Flow boiling instability of liquid nitrogen in horizontal mini channels"
Shuangtao Chen, Xingya Chen, Gaoqiao Luo, Kuizhang Zhu, Liang Chen, Yu Hou.
- 74.** "Next Generation Design, Development, and Evaluation of Cryoprobes for Minimally Invasive Surgery and Solid Cancer Therapeutics: In Silico and Computational Studies" Abdul Mateen A.G. Shaikh, Atul Srivastava, and M.D. Atrey.
- 75.** "Refrigeration and Liquefaction", University of Wisconsin Madison.
- 76.** "Introduction to Cryogenic Engineering", G. Perinić, G. Vandoni, T. Niinikoski, CERN.