

УДК 618.14-006.66-085.832.9.001.57:599.323.4

*О.І. Дронов, Д.І. Хоменко, Є.С. Козачук*

*Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ*

## **ПОТЕНЦІЮВАННЯ ЛОКАЛЬНОЇ КРІОДІЇ ДИСТИЛЬОВАНОЮ Н<sub>2</sub>О НА МОДЕЛІ БЕЗПОРОДНИХ ЩУРІВ З ПЕРЕВИТОЮ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА ЗА УМОВ ЗБЕРЕЖЕНОГО КРОВОТОКУ (IN VIVO)**

В процесі локального кріовпливу на моделі перевитої карциноми Герена у білих безпородних щурів масою 110–140 г за умов збереження інтратуморального кровотоку оцінювали динаміку змін температури в пухлині на дискретних глибинах (3, 8, 13 та 18 мм) без і з потенціюванням дистильованою Н<sub>2</sub>О. На 10-ту – 12-ту добу після перевивання було сформовано групи дослідних тварин: контрольну (n=6) та основну (n=25). Кріодеструкцію виконували кріоаплікатором діаметром 20 мм подвійним циклом з часом експозиції періоду заморозки кожного циклу 5 хв та наступним спонтанним відтаванням. Динаміку змін температури в пухлині на дискретних глибинах визначали за допомогою комплексу вимірювального інтраопераційного термопарного чотириканального (КВІТ-4), дослідний екземпляр якого був розроблений спільно з ТОВ НВФ «Пульс». Введення в пухлину дистильованої Н<sub>2</sub>О за 5 хв до початку локального кріовпливу на експериментальній моделі перевитої карциноми Герена у безпородних щурів за умов збереженого інтратуморального кровотоку чинить потенціюючий ефект, який проявляється в досягненні показників середньої температури в діапазоні мінусових значень на всіх дослідних глибинах.

**Ключові слова:** локальна кріодія, локальний кріовплив, дистильована вода, потенціювання кріодеструкції, карцинома Герена, комплекс вимірювальний інтраопераційний термопарний (КВІТ-4).

### **Актуальність**

Механізм кріодеструкції біологічної тканини представляє собою процес складних фізико-хімічних і біологічних змін у клітинах і тканинних елементах, що впливають на їх структуру та функцію, спричинюючи їх пошкодження [1]. На сьогоднішній день вичерпного пояснення, єдиної думки про механізм кріодеструкції пухлинних клітин не існує [2]. Численною кількістю вчених запропоновано ряд гіпотез, в основі яких лежать фундаментальні експериментальні дослідження, більшість з яких було виконано ще в другій половині ХХ ст. [3, 4].

До основного механізму первинного ушкодження клітин ряд вчених відносить процес утворення кристалів льоду в біологічній тканині [5, 6].

Процес кристалоутворення залежить від швидкості охолодження та наступного від-

тавання. Під час локальної кріодії утворення кристалів льоду розпочинається спочатку в міжклітинному просторі, тому що протективні властивості біліпідного шару мембрани клітин не дають можливості розпочатись інтрацелюлярному процесу кристалоутворення [7]. Збільшення об'єму кристалів льоду в міжклітинному просторі спричинює зростання концентрації електролітів у міжклітинній рідині, де лід ще не утворився. Це викликає появу градієнта осмотичного тиску на рівні клітинної мембрани, що призводить до виходу води з клітини. Якщо швидкість охолодження є малою, вода встигає вийти з клітини, внаслідок чого вона дегідратується. При подальшому охолодженні внаслідок зневоднення в протоплазмі даних клітин не можуть утворитися кристали льоду. Якщо швидкість заморожування є високою, вода не встигає достат-

© О.І. Дронов, Д.І. Хоменко, Є.С. Козачук, 2018

ньо швидко виходити з клітин. Внаслідок цього на фоні утворення кристалів льоду в міжклітинному просторі розпочинається внутрішньоклітинна кристалізація. Пошкодження клітин продовжується на етапі відтавання. Деструкція клітин проходить при цьому не менш інтенсивно, ніж при заморожуванні, бо при відігріванні розвивається «рекристалізація» кристалів інтрацелюлярного льоду [8]. При повільному відтаванні дрібні кристали інтрацелюлярного льоду продовжують зростати. Чим довше триває час відтавання, тим більшими стають кристали інтрацелюлярного льоду внаслідок процесу рекристалізації, що веде до пошкодження клітинної мембрани та її ядра [9].

Розуміння механізмів кріодеструкції тканин дало змогу розробити принципи кріохірургії, при дотриманні яких можливо досягти найкращого ефекту локальної кріодії: активне швидке заморожування, пасивне повільне спонтанне відтавання, повторення циклів кріодії «заморожування-відтавання» [10]. Однак навіть при дотриманні вказаних принципів часто не вдається досягти повної загибелі клітин в заданому об'ємі патологічної ділянки тканини [2, 11, 12]. Актуальними залишаються пошук і розробка ефективного методу потенціювання локального кріовпливу на біологічну тканину.

Основний вплив на показник теплофізичних властивостей тканини визначає її компонентний склад і, в першу чергу, вміст води: чим її більше в тканині, тим ближче значення теплофізичних властивостей тканини до теплофізичних властивостей води та льоду [13].

Оскільки мішенню при кріодеструкції є саме вода, то найбільше холодове пошкодження реалізується в тканинах зі значним її вмістом.

Отримані нами результати I [14], II [15] та III [16] етапу експериментальної частини дослідження *in vitro*, що виконувалось у 2016 р. на базі Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, дозволили висунути гіпотезу, що введення дистильованої  $H_2O$  в біологічну тканину, в тому числі пухлинну, за 5 хв до початку локального кріовпливу може посилювати (потенціювати) процес кріодеструкції за рахунок ефекту гідратації клітин як наслідку їх осмотичного набряку. Необхідним було проведення наступного, IV етапу експериментальної частини дослідження *in vitro*.

**Мета** дослідження – під час процесу локального кріовпливу на моделі перевитої карциноми Герена у безпородних щурів за умов збереження інтрамурального кровотоку оцінити динаміку змін температури в пухлині на дискретних глибинах (3, 8, 13 та 18 мм) без та з потенціюванням дистильованою  $H_2O$  і провести порівняльний аналіз отриманих даних.

#### **Матеріал і методи**

Дослідження виконувались кафедрою загальної хірургії № 1 Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця на базі Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України в 2016 р. В якості експериментальної моделі було обрано карциному Герена, перевиту білим безпородним щурам. Пухлинний штамп карциноми Герена було отримано з клітинного банку ліній з тканин людини та тварин Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького. Було використано 40 білих безпородних щурів-самок масою 110–140 г, взятих з акредитованого віварію ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету ім. Тараса Шевченка.

Всі щури утримувались в однакових умовах зі стандартним раціоном харчування і природним циклом освітлення день/ніч. Карциному Герена прищеплювали щурам за стандартною методикою шляхом підшкірного введення 0,5 мл 20%-вої суспензії пухлинних клітин у бік біля задньої лапки. Важливим критерієм включення в дослідження щурів була висота пухлини, яка мала складати до 12-ї доби після перевивання не менше 20 мм, що дозволяло проводити термометрію в пухлині розробленим нами комплексом вимірювальним термодарним чотириканальним (КВІТ-4), бо IV термопара комплексу дає змогу отримувати температурні дані в найбільш віддаленій точці від поверхні кріоаплікатора – на глибині 18 мм.

До моменту формування дослідних груп з дослідження було виключено 22,5% (n=9) піддослідних тварин. Причини виключення: 1) негативне перевивання (n=3); 2) висота пухлини до 12-ї доби від моменту перевивання менше 20 мм (n=4); 3) ріст пухлини химерної форми та місце її локалізації, відмінне від запланованого, що унеможливило стандартизований підхід до проведення локального кріовпливу з термометрією (n=2).

Отже, із 40 щурів, яким виконувалось перевивання карциноми Герена, кількість позитивних перевивань склала 92,5% (n=37). Із числа 37 дослідних тварин, у яких було констатовано позитивний ефект перевивання в 89,2% випадків (n=33), висота пухлини до 12-ї доби після перевивання становила не менше 20 мм.

В дослідження було включено 31 дослідну тварину. На 10-ту – 12-ту добу після перевивання формували дослідні групи таким чином, щоб не було статистично значущої різниці між середньою масою щурів, середнім об'ємом та висотою пухлини в кожній з груп (табл. 1).

Таким чином, було сформовано дві групи дослідних тварин: контрольна – 6 щурів з перевитою карциномою Герена без будь-якого впливу на пухлину; основна група – 25 щурів, яких поділено на три підгрупи: А – 7 щурів, у пухлину яких вводили лише дистильовану воду; В – 8 щурів, яким проводилась локальна кріодія на пухлину подвійним циклом; С – 10 щурів: в пухлину карциноми Герена вводили дистильовану воду та через 5 хв проводили два цикли локальної кріодії.

Штангенциркулем з 10-ї по 12-ту добу після перевивання вимірювали довжину, ширину та висоту пухлини. Об'єм пухлини ( $V$ , см<sup>3</sup>) визначали за формулою

$$V_{\Pi}=(a \cdot b \cdot c) \cdot 0,52,$$

де  $V_{\Pi}$  – об'єм пухлини, см<sup>3</sup>;  $a$  – довжина пухлини;  $b$  – ширина пухлини;  $c$  – висота (глибина) пухлини; 0,52 – стала (коефіцієнт Хігедіуса) [17].

Не виявлено статистично значущої різниці між контрольною групою та підгрупами А, В, С основної групи за показниками маси щурів, висоти та об'єму пухлини ( $p > 0,05$ ). Групи є репрезентативними та відрізняються лише за механізмом впливу на пухлину.

Динаміку змін температури в пухлині на дискретних глибинах 3, 8, 13 та 18 мм від робочої поверхні кріоаплікатора визначали за допомогою КВІТ-4 (рис. 1, а), дослідний екземпляр якого було розроблено в 2015 р. спільно кафедрою загальної хірургії № 1 та ТОВ НВФ «Пульс» [18]. Процес низькотемпературного локального кріовпливу здійснювали універсальною кріохірургічною установкою «Кріо-Пульс» (рис. 1, б) (рік випуску 2005, ТУ У 33.1-21577956-001-2001, клас І, тип В).

Таблиця 1. Середні значення показників маси щурів, висоти і об'єму пухлини та їх похибка в контрольній та основній групах та в підгрупах

Показник	Групи тварин (n=31)				p
	Контрольна (n=6)	Основна (n=25)			
		підгрупи			
		А (n=7)	В (n=8)	С (n=10)	
Кількість тварин, %	19,4%	22,6 %	25,8%	32,5%	0,351 0,408 0,124
Маса тварин, г	125,2±2,4	125,6±2,2	128,4±1,8	123±2,3	
Висота пухлини, мм	20,8±0,5	21,6±0,6	21,6±0,4	21,9±0,3	
Об'єм пухлини, см	10,3±0,5	9,7±0,4	11,1±0,5	11,1±0,4	

а



б



Рис. 1. Комплекс вимірювальний інтраопераційний термопарний чотириканальний (КВІТ-4) (а); універсальна кріохірургічна установка «Кріо-Пульс» (б)

Застосовували кріоаплікатор з діаметром робочої поверхні 20 мм та температурою  $-180^{\circ}\text{C}$ , час експозиції кріовпливу складав 5 хв. Кріодеструкцію виконували подвійним циклом з наступним спонтанним відтаванням після завершення 5-ї хвилини кріовпливу кожного циклу заморозки як в поєднанні з кріопотенціюванням дистильованою водою, так і за його відсутності. За дистильовану воду йому служила стерильна «Вода для ін'єкцій», яка виготовляється шляхом обов'язкової дистиляції ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»» (м. Київ) та внесена в Державну фармакопею України [19].

До кріоаплікатора щільно фіксували тримач термомпар КВІТ-4. Кріозонд фіксували в штативі таким чином, щоб усі чотири термомпари (3, 8, 13 та 18 мм) КВІТ-4 були введені під кутом  $90^{\circ}$  (по відношенню до передньої поверхні) пухлини (рис 2, а, б). Забезпечували



новній групах щурів виконували евтаназію тварин з дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Видалену пухлину поміщали в ємність з 10%-вим розчином формаліну для подальшого дослідження морфологічних змін. Результати термометрії наведені в табл. 2 та 3, а графічне зображення динаміки змін температури по показниках термомпари T1, T2, T3 та T4 КВІТ-4 представлено у вигляді термограм на рис. 3–6.

Нульову гіпотезу про рівність змінних відкидали при  $p < 0,05$ . Отримані дані статистично обробили.

### Результати та їх обговорення

В доступній вітчизняній та іноземній літературі відсутні дані про спосіб розрахунку об'єму розчину дистильованої води, який

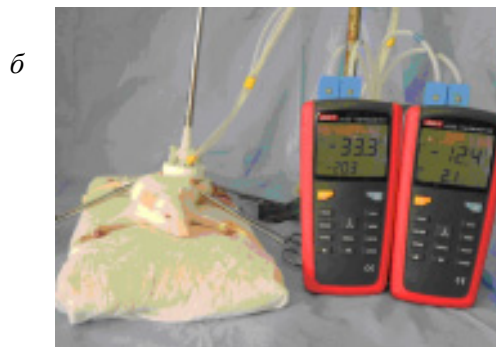


Рис. 2. Етап встановлення чотирьох термомпар КВІТ-4 в солідну пухлину дослідного щура (а); загальний вигляд процесу локальної кріодії перевитої карциноми Герена дослідного щура апаратом «Кріо-Пульс» з інтраопераційним вимірюванням температури на дискретних глибинах (3, 8, 13 та 18 мм) КВІТ-4 (б)

щільний контакт робочої поверхні кріоаплікатора з поверхнею пухлини.

Експеримент носив гострий характер. Після видалення пухлини в контрольній та ос-

необхідно ввести в солідну пухлину з метою потенціювання локальної кріодії при кріодеструкції чи кріофіксації, та в подальшому застосовувати в клінічній практиці.

Таблиця 2. Динаміка зниження температур під час локальної кріодії подвійним циклом (один цикл – 5 хв) зі спонтанним відтаванням на дискретних глибинах в пухлині карциноми Герена щурів підгрупи С (in vivo) на глибини 3, 8, 13 та 18 мм від робочої поверхні кріоаплікатора діам. 20 мм по показниках термомпар T1, T2, T3 та T4 КВІТ-4 у вигляді середнього значення (M) та похибки середнього (SEM)

Цикл заморозки	Номер термомпари	Хвилинка кріодеструкція					
		0	1-ша	2-га	3-тя	4-га	5-га
Перший	T1 (3 мм)	37,1(0,05)	1,1(0,75)	-8,4(0,4)	-22,1(0,4)	-30,8(0,4)	-36,6(0,7)
	T2 (8 мм)	37,4(0,1)	16,8(1,1)	11,5(0,9)	5,3(0,5)	-4,6(0,8)	-7,2(1,0)
	T3 (13 мм)	37,5(0,1)	24,7(0,8)	18,0(1,2)	13,4(0,8)	4,3(0,9)	1,0(0,5)
	T4 (18 мм)	38,5(0,3)	31,4(0,9)	24,8(0,7)	17,9(0,25)	10,3(0,4)	7,1(1,0)
Другий	T1 (3 мм)	2,8(0,8)	-19,4(0,3)	-25,5(1,1)	-34,0(1,3)	-42,0(0,7)	-45,1(0,9)
	T2 (8 мм)	1,0(0,4)	-6,7(1,3)	-9,2(1,4)	-12,4(2,1)	-14,6(2,6)	-17,5(3,0)
	T3 (13 мм)	2,0(0,5)	-2,0(0,7)	-3,8(0,8)	5,6(1,0)	-7,1(1,2)	-8,7(1,4)
	T4 (18 мм)	8(0,75)	1,0(0,4)	-0,1(0,5)	-1,5(0,45)	-2,3(0,5)	-2,6(0,6)

Таблиця 3. Динаміка зниження температур під час локальної кріодії подвійним циклом (один цикл – 5 хв) зі спонтанним відтаванням на дискретних глибинах в пухлині карциноми Герена щурів підгрупи В (*in vivo*) на глибині 3, 8, 13 та 18 мм від робочої поверхні кріоаплікатора діам. 20 мм по показниках термопар Т1, Т2, Т3 та Т4 КВІТ-4 у вигляді середнього значення (М) та похибки середнього (SEM)

Цикл заморозки	Номер термопар	Хвилинна кріодеструкція					
		0	1-ша	2-га	3-тя	4-га	5-та
Перший	Т1 (3 мм)	37,1(0,06)	-15,8(0,6)	-25,0(0,7)	-35,2(0,9)	-45,9(1,1)	-52,0(0,7)
	Т2 (8 мм)	37,6(0,1)	-1,6(1,4)	-10,5(1,0)	-16,8(1,4)	-24,5(1,1)	-31,3(0,9)
	Т3 (13 мм)	38,2(0,3)	4,3(1,5)	-1,7(1,4)	-7,4(1,5)	-12,2(1,4)	-20,0(1,6)
	Т4 (18 мм)	38,8(0,3)	12,5(1,5)	6,2(1,2)	0,1(0,8)	-4,3(0,5)	-8,1(0,9)
Другий	Т1 (3 мм)	1,0(0,1)	-31,5(0,6)	-62,2(1,3)	-79,4(1,3)	-93,7(1,1)	-111,4(2,1)
	Т2 (8 мм)	0,3(0,1)	-22,7(1,2)	-38,4(1,2)	-49,2(1,0)	-66,4(1,6)	-79,3(1,9)
	Т3 (13 мм)	0,4(0,1)	-11,4(0,7)	-23,1(0,9)	-34,3(1,5)	-44,5(1,0)	-62,9(2,0)
	Т4 (18 мм)	2,4(0,5)	-6,3(0,5)	-11,7(0,7)	-17,4(0,7)	-20,5(1,2)	-22,5(1,3)

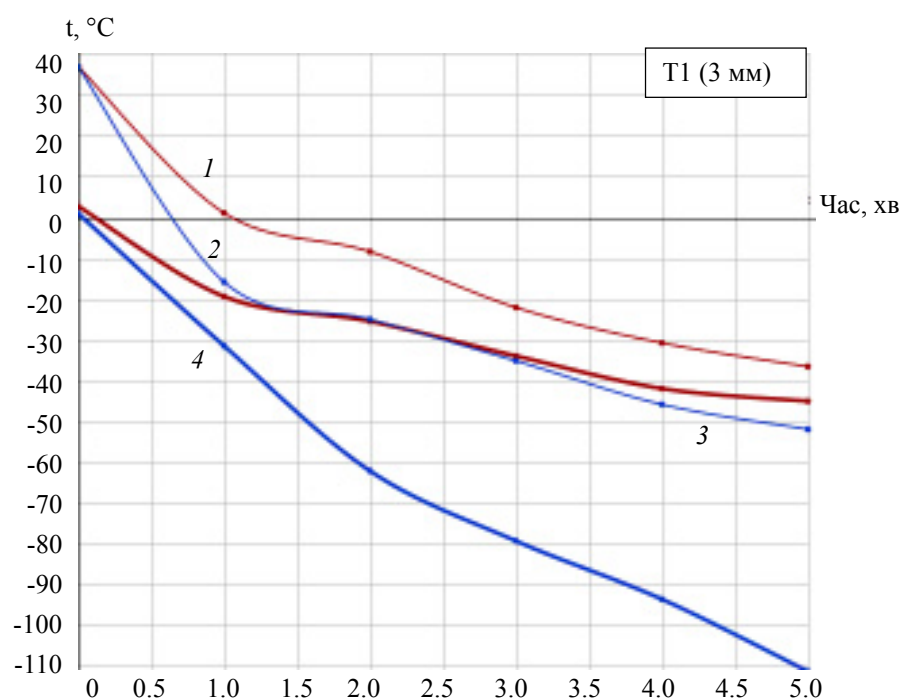


Рис. 3. Динаміка зниження температури по показнику термопарі Т1 на глибині 3 мм від поверхні кріоаплікатора в пухлині карциноми Герена (*in vivo*) подвійним циклом заморозки: 1, 2 – криві динаміки зниження температур без кріопотенціювання, перший та другий цикли заморозки відповідно; 3, 4 – криві динаміки зниження температур з потенціюванням дистильованою водою, перший та другий цикли заморозки відповідно

Для розробки формули розрахунку об'єму розчину дистильованої води нами проаналізовані результати дослідження в підгрупі А та С на 17 солідних пухлинах перевитої карциноми Герена основної групи щурів.

Після введення щура в наркоз розсікали шкіру над пухлиною, останню виділяли по передньобочкових поверхнях зі збереженням цілісності капсули.

Для введення дистильованої води в пухлину застосовували звичайну голку для під-

шкірних ін'єкцій довжиною 20 мм і діаметром 0,6 мм. Визначали вентрально-дорзальну вісь пухлини та її умовний центр, через який і здійснювали проведення голки в напрямку до її дорзальної поверхні. Голку вводили в пухлину на глибину 19 мм від її вентральної поверхні. Перед початком введення дистильованої води в пухлину виконували часткову аспірацію шляхом зворотної тракції поршня шприца з метою уникнення потрапляння розчину безпосередньо в судинне русло. У ви-

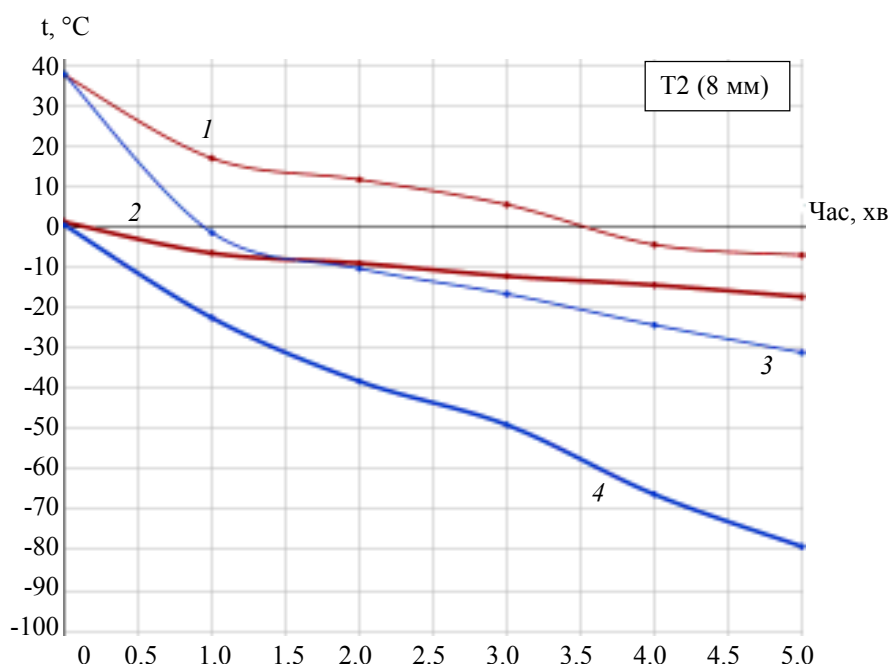


Рис. 4. Динаміка зниження температури по показнику термодатчика T2 на глибині 8 мм від поверхні кріоаплікатора в пухлині карциноми Герена (*in vivo*) подвійним циклом заморозки: 1, 2 – криві динаміки зниження температур без криопотенціювання, перший та другий цикли заморозки відповідно; 3, 4 – криві динаміки зниження температур з потенціюванням дистильованою водою, перший та другий цикли заморозки відповідно

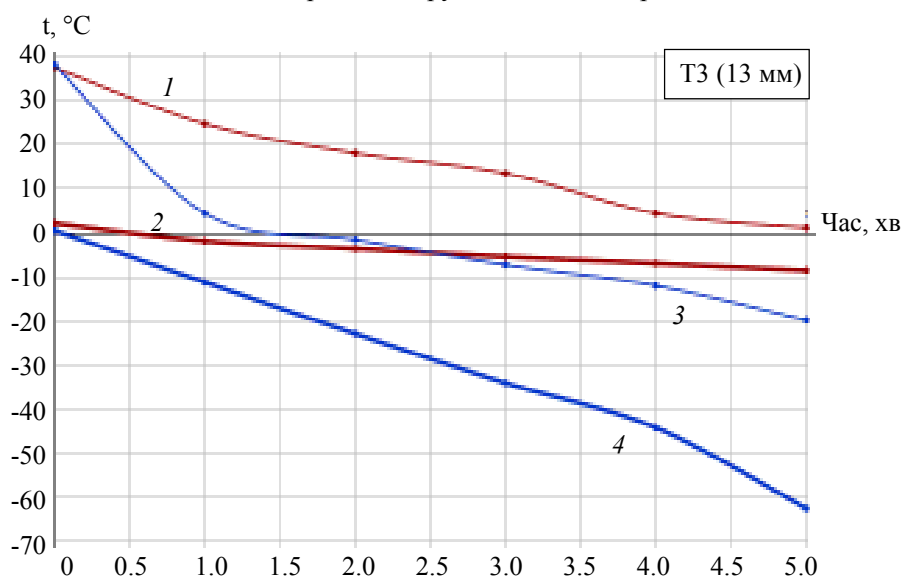


Рис. 5. Динаміка зниження температури по показнику термодатчика T3 на глибині 13 мм від поверхні кріоаплікатора в пухлині карциноми Герена (*in vivo*) подвійним циклом заморозки: 1, 2 – криві динаміки зниження температур без криопотенціювання, перший та другий цикли заморозки відповідно; 3, 4 – криві динаміки зниження температур з потенціюванням дистильованою водою, перший та другий цикли заморозки відповідно

падку відсутності крові в шприці оцінювали локалізацію голки як таку, що знаходиться в інтерстиціальному просторі пухлини, поза просвітом судинної стінки, що давало право розпочинати введення дистильованої води. Повільно протягом 5 хв в пухлину вводили

максимально можливий об'єм дистильованої води, виконуючи одночасно тракцію голки в товщі пухлини по вентрально-дорзальній осі до її передньої поверхні. Якщо розчин починав масивно затікати за контури капсули пухлини в операційну рану або витікати з місця

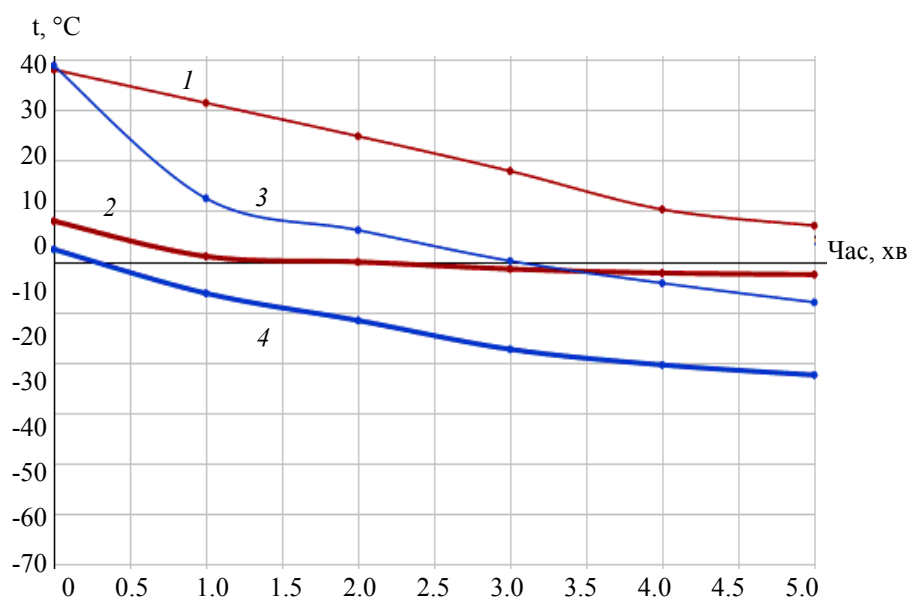


Рис. 6. Динаміка зниження температури по показнику термопарі Т4 на глибині 18 мм від поверхні кріоаплікатора в пухлині карциноми Герена (*in vivo*) подвійним циклом заморозки: 1, 2 – криві динаміки зниження температур без кріопотенціювання, перший та другий цикли заморозки відповідно); 3, 4 – криві динаміки зниження температур з потенціюванням дистильованою водою, перший та другий цикли заморозки відповідно

пункції, припиняли введення та фіксували об'єм розчину, який було введено.

Середній об'єм пухлини ( $V_{\text{П}}$ ,  $\text{см}^3$ ) дослідних тварин ( $n=17$ ) підгруп А та С становив  $10,54 \text{ см}^3$  (95% ВІ:  $9,86-11,21$ ). Середній об'єм дистильованої води ( $V_{\text{ДВ}}$ ,  $\text{мл}^3$ ), введеної в пухлину, склав  $4,0 \text{ мл}^3$  (95% ВІ:  $3,7-4,2$ ). При порівнянні середніх значень  $V_{\text{П}}$  та  $V_{\text{ДВ}}$  виявлено достовірну різницю на рівні значущості  $p<0,001$ . У відсотковому співвідношенні в експерименті на моделі карциноми Герена білих безпородних шурів максимальний середній  $V_{\text{ДВ}}$ , що був введений в солідну пухлину, склав 38% від  $V_{\text{П}}$ . Отже, можна вивести коефіцієнт (К), який становить 3,8, та застосувати останній у формулі розрахунку об'єму дистильованої води, необхідного для введення в солідну пухлину з метою потенціювання процесу локальної кріодії (кріофіксації, кріодеструкції).

Таким чином, з метою введення в солідну пухлину дистильованої води необхідний її об'єм можна розраховувати за наступною розробленою формулою

$$V_{\text{ДВ}} = V_{\text{П}} \cdot 0,38,$$

де  $V_{\text{ДВ}}$  – об'єм дистильованої води,  $\text{мл}^3$ ;  $V_{\text{П}}$  – об'єм пухлини,  $\text{см}^3$ ; 0,38 – коефіцієнт (К), що визначений експериментально.

### Література

1. Gage A.A. Mechanisms of tissue injury in cryosurgery / A.A. Gage, J. Baust // Cryobiology. – 1998. – № 37 (3). – P. 171–186.

При порівнянні значень середньої температури в пухлині карциноми Герена на дискретних глибинах (3, 8, 13 та 18 мм) по показниках термопар Т1–Т4 КВІТ-4 під час локальної кріодії починаючи з 1-ї та до 5-ї хв включно досягались достовірно нижчі показники температур в підгрупі С ( $n=10$ ) під час як першого, так і другого періоду заморозки в порівнянні з підгрупою В ( $n=8$ ) на рівні значущості  $p<0,001$ .

### Висновок

Введення в пухлину дистильованої  $\text{H}_2\text{O}$  за 5 хв до початку локального кріовпливу на експериментальній моделі перевитої карциноми Герена у безпородних шурів за умов збереженого інтратуморального кровотоку чинить потенціюючий ефект, який проявляється в досягненні показників середньої температури в діапазоні мінусових значень на всіх дослідних глибинах (3, 8, 13, 18 мм) по показниках термопар Т1–Т4 КВІТ-4.

*Висловлюємо подяку академіку НАН України В.Ф. Чехуну та адміністрації Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології НАН України ім. Р.С. Кавецького НАН України за надану можливість проведення експериментальної частини дослідження на базі інституту.*

2. Механизм разрушения биологических тканей при локальной криодеструкции / В.В. Шафранов, Е.Н. Борхунова, М.А. Костылев и др. // Вестник Российской академии естественных наук. – 2012. – № 1. – С. 68–77.
3. *Кандель Э.И.* Крихирургия / Э.И. Кандель. – Москва: Медицина, 1974. – 234 с.
4. *Mazur P.* Freezing of living cells: Mechanisms and implications // *Am. J. Physiol.* – 1984. – № 247. – P. 125–142.
5. *Hoffmann N.E.* The cryobiology of cryosurgical injury / N.E. Hoffmann, J.C. Bischof // *Urology.* – 2002. – № 60 (2 Suppl 1). – P. 40–49.
6. *Kecheng Xu.* Modern cryosurgery for cancer / Xu Kecheng, Korpan Nikolai, Niu Lizhi // *World Scientific.* – 2012. – 940 p.
7. *Chu K.F.* Thermal ablation of tumours: biological mechanisms and advances in therapy / K.F. Chu, D.E. Dupuy // *Nature Reviews Cancer.* – 2014. – № 14. – P. 199–208.
8. *Kandel E.I.* Functional and stereotactic neurosurgery / E.I. Kandel. – New York: Springer, 1989. – P. 694.
9. Effect of varying freezing and thawing rates in experimental cryosurgery / A.A. Gage, K. Guest, M. Montes et al. // *J. Cryobiology.* – 1985. – № 22 (2). – P. 175–182.
10. *Трушина В.А.* Влияние различных температурно-временных режимов криовоздействия на опухоли в эксперименте : дис. ... канд. мед. наук: 14.00.14 / Трушина Валентина Анатольевна. – Киев, 1984. – 167 с.
11. Концепция первичного повреждения биотканей при локальном криовоздействии / В.В. Шафранов, Е.Н. Борхунова, А.В. Таганов и др. // *Медицинский альманах.* – 2010. – № 2 (11). – С. 289–292.
12. *Самедов В.Х.* Крихирургия с локальной СВЧ-гипертермией в лечении больных раком слизистой оболочки полости рта / В.Х. Самедов, В.Д. Захарычев, О.А. Мосин // *Клиническая онкология.* – 2013. – № 2 (10). – С. 98–100.
13. *Цыганов Д.И.* Теоретические и экспериментальные основы создания крихирургической аппаратуры и медицинских технологий ее применения: дис. ... докт. техн. наук : 05.11.17 / Цыганов Дмитрий Игоревич. – Москва, 1994. – 315 с.
14. *Хоменко Д.І.* Результати дослідження процесу локальної криодії на експериментальних моделях розчинів 36% NaCl, дистильованої H<sub>2</sub>O та 0,9% NaCl та перспективи їх застосування при проведенні криофіксації солідних пухлин підшлункової залози / Д.І. Хоменко, Н.Ю. Лук'янова, Є.С.Козачук // *Здобутки клінічної та експериментальної медицини : матеріали підсумкової науково-практичної конференції, присвяченої 60-річчю ТДМУ (Тернопіль, 14 червня 2017 р.) / Тернопільський державний мед. ун-т ім. І.Я. Горбачевського.* – Тернопіль : ТДМУ, 2017. – С. 182–184.
15. Результати дослідження морфологічних змін клітин карциноми Герена в залежності від часу експозиції в розчині дистильованої H<sub>2</sub>O / Д.І. Хоменко, Н.Ю. Лук'янова, М.М. Оношко, Є.С. Козачук // *Матеріали 40-ї ювілейної науково-практичної конференції молодих вчених НМАПО ім. П.Л. Шупика з міжнародною участю, присвяченої Дню науки (м. Київ, 18 травня 2017 р.).* – Київ, 2017. – С. 91–93.
16. Температурні показники після кровопливу, потенційованого дистильованою водою, на експериментальній моделі печінки свині за умов відсутності спланхнічного кровотоку / О.І. Дронов, Д.І. Хоменко, П.П. Бакунець, В.В. Тетеріна // *Проблемы криобиологии и криомедицины.* – 2017. – Т. 27, № 4. – С. 348–355.
17. A mathematical model for tumor volume evaluation using two-dimensions / J.P. Feldman, R. Goldwasser, S. Mark et al. // *JAQM.* – 2009. – Vol. 4, № 4. – P. 456.
18. Патент № 116730, UA, 9 МПК А 61 В 18/02. Комплекс вимірювальний інтраопераційний термопарний чотириканальний (КВІТ-4) / Дронов О.І., Хоменко Д.І., Лещенко В.М. та ін.; заявник та патентовласник Дронов О.І. (UA). – № а201603076; заявл. 25.03.16; опубл. 12.06.17. Бюл. № 11.
19. *Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів».* – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 2. – 724 с.



**References**

1. Gage A.A., Baust J. (1998). Mechanisms of tissue injury in cryosurgery. *Cryobiology*. 37 (3): 171–186.
2. Shafranov V.V., Borkhunova Ye.N., Kostylev M.A., Tsyhanov D.I., Torba A.M., Tahanov A.V. et al. (2012). Mekhanizm razrusheniia biologicheskikh tkanei pri lokalnoi kriodestruktsii [Mechanism of destruction of biological tissues during local cryodestruction]. *Vestnik Rossiiskoi akademii yestestvetnykh nauk – Bulletin of the Russian Academy of Natural Sciences*. 1: 68–77 [in Russian].
3. Kandel E.I. (1974). *Kriokhirurhiia [Cryosurgery]*. – Moscow: Medytsyna, 234 pp.
4. Mazur P. (1984). Freezing of living cells: Mechanisms and implications. *Am. J. Physiol.* 247: 125–142.
5. Hoffmann N.E., Hoffmann J.C. (2002). Bischof The cryobiology of cryosurgical injury. *Urology*. 60 (2 Suppl 1): 40–49.
6. Kecheng Xu, Korpan Nikolai, Niu Lizhi (2012). *Modern cryosurgery for cancer*. World Scientific. 940 p.
7. Chu K.F., Dupuy D.E. (2014). Thermal ablation of tumours: biological mechanisms and advances in therapy. *Nature Reviews Cancer*. 14: 199–208.
8. Kandel E.I. (1989). *Functional and Stereotactic Neurosurgery*. New York: Springer. 694.
9. Gage A.A., Guest K., Montes M., Caruana J.A., Whalen D.A. (1985). Effect of varying freezing and thawing rates in experimental cryosurgery. *J. Cryobiology*. 22 (2): 175–182.
10. Trushina V.A. (1984). Vliianiie razlichnykh temperaturno-vremennykh rezhimov kriovozdeistviia na opukholi v eksperimente [Influence of different temperature-time regimes of cryoexposure on tumors in experiment]. Candidate's thesis. Kiev, 167 pp. [in Russian].
11. Shafranov V.V., Borkhunova Ye.N., Tahanov A.V., Tsyhanov D.I., Torba A.M., Mazokhin V.N. et al. (2010). Kontseptsiiia pervichnogo povrezhdeniia biotkaney pri lokalnom kriovozdeistvii [The concept of primary damage to tissues during local cryoviation]. *Med. Almanakh – Medical almanac*. 2 (11): 289–292. [in Russian].
12. Samedov V.Kh., Zakharychev V.D., Mosin O.A. (2013). Kriokhirurhiia s lokalnoi SVCH-hipertermiiei v lechenii bolnykh rakom slizistoi obolochki polosti rta [Cryosurgery with local microwave hyperthermia in the treatment of patients with cancer of the oral mucosa]. *Klinicheskaia onkologiya – Clinical Oncology*. 2 (10): 98–100. [in Russian].
13. Tsyganov D.I. (1994). *Teoreticheskie i eksperimentalnye osnovy sozdaniia kriokhiruhicheskoi apparatury i meditsinskoi tehnologii i yeie primeneniia [Theoretical and experimental basis for the creation of cryosurgical equipment and medical technologies for its application]*. Doktor's thesis. Moscow. 315 p. [in Russian].
14. Khomenko D.I., Lukianova N.Yu., Kozachuk Ye.S. (2017). Rezultaty doslidzhennia protsesu lokalnoi kriodii na eksperymentalnykh modeliakh rozchuniv 36% NaCl, dystylovanii H<sub>2</sub>O ta 0,9% NaCl ta perspektyvy iikh zastosuvannia pry provedenni kriofiksatsii solidnykh pukhlyn pidchlunkovoi zalozy [Results of the local process on experimental models of 36% NaCl, distillate H<sub>2</sub>O and 0,9% NaCl, that perspectives at the spent puffiness of the puddles]. *Zdobutky klinichnoi ta eksperimentalnoi medytsyny: materialy pidsumkovoii naukovy-practychnoi konferentsii, prisviachenoii 60-richchiu TDMU (Ternopil, 14 cherv. 2017 r.) – Achievements of clinical and experimental medicine: materials of the final scientific-practical conference devoted to the 60th anniversary of the TDMU (Ternopil, June 14, 2017)*. Ternopil: TDMU. 182–184. [in Ukrainian].
15. Khomenko D.I., Lukianova N.Yu., Onoshko M.M., Kozachuk Ye.S. (2017). Rezultaty doslidzhennia morpholohichnykh zmin klityn kartsynomy Herena v zalezhnosti vid chasu ekspozytsii v rozchyni dystyliovanoi H<sub>2</sub>O [Results of the study of morphological changes of Guerin's carcinoma cells, depending on the time of exposure in the solution of distilled H<sub>2</sub>O]. *Materialy 40 yuvileinoi naukovy-practychnoi konferentsii molodykh vchenykh NMAPO im. P.L. Shupika z mizhnarodnoiu uchastiu, prysviachenoii Dniu nauki (m. Kyiv, 18 travnia 2017 r.) – Materials of the 40th Anniversary Scientific-Practical Conference of Young Scientists NMAPO name of P.L. Shupik with international participation devoted to the Day of Science (Kyiv, May 18, 2017)*. Kyiv. 91–93. [in Ukrainian].
16. Dronov O.I., Khomenko D.I., Bakunets P.P., Teterina V.V. (2017). Temperaturni pokaznyky pislia kriovplyvu, potentsiiovanoho dystyliovanoiu vodoiu, na eksperymentalnii modeli pechinky svyni za umov vidsutnosti splankhniichnogo krovotoku [Temperature indices after cryoplasty, potentiated by distilled

water, on experimental model of pig liver in the absence of splenic blood flow]. *Problemy kriobiologii i kriomeditsyny – Problems of cryobiology and cryomedicine*. 27 (4): 348–355. [in Ukrainian].

17. Feldman J.P., Goldwasser R., Mark S., Schwartz J., Orion I. (2009). A mathematical model for tumor volume evaluation using two-dimensions. *JAQM*. 4 (4): 456.

18. Dronov O.I., Khomenko D.I., Leshchenko V.M. et al. *Kompleks vymiriuvalniy intraoperatsiyniy termoparniy chotyrykanalniy (KVIT-4)* [Complex measuring intraoperative thermocouple four-channel (KVIT-4)] Patent UA no. 116730. 2017. [in Ukrainian].

19. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [State Pharmacopoeia of Ukraine]* (2nd ed.) (2014). (Vols. 1–3, vol. 2). *Derzhavne pidpriiemstvo «Ukrainskii naukovyi tsestr yakosti likarskykh zasobiv»*. Kharkiv: 724 p.

*A.I. Dronov, D.I. Khomenko, E.S. Kozachuk*

**ПОТЕНЦИРОВАНИЕ ЛОКАЛЬНОГО КРИОВОЗДЕЙСТВИЯ ДИСТИЛЛИРОВАННОЙ H<sub>2</sub>O НА МОДЕЛИ БЕСПОРОДНЫХ КРЫС С ПЕРЕВИТОЙ КАРЦИНОМОЙ ГЕРЕНА В УСЛОВИЯХ СОХРАНЁННОГО КРОВОТОКА (IN VIVO)**

В процессе локального криовоздействия на модели перевитой карциномы Герена у белых беспородных крыс массой 110–140 г при сохранённом интратуморальном кровотоке оценивали динамику изменений температуры в опухоли на дискретных глубинах (3, 8, 13 и 18 мм) без и с потенцированием дистиллированной H<sub>2</sub>O. На 10-е – 12-е сутки после перевивания сформировали группы подопытных животных: контрольную (n = 6) и основную (n = 25). Криодеструкцию выполняли криоапликатором диаметром 20 мм двойным циклом со временем экспозиции периода заморозки каждого цикла 5 мин с последующим спонтанным оттаиванием. Динамику изменений температуры в опухоли на дискретных глубинах определяли с помощью комплекса измерительного интраоперационного термодатчика четырёхканального (КИИТ-4), опытный экземпляр которого был разработан совместно с ООО НПФ «Пульс» (Киев). Введение в опухоль дистиллированной H<sub>2</sub>O за 5 мин до начала локального криовоздействия на экспериментальной модели перевитой карциномы Герена у беспородных крыс в условиях сохранённого интратуморального кровотока оказывает потенцирующий эффект, который проявляется в достижении показателей средней температуры в диапазоне минусовых значений на всех исследованных глубинах.

**Ключевые слова:** локальное криовоздействие, локальная криоабляция, дистиллированная вода, потенцирование криодеструкции, карцинома Герена, комплекс измерительный интраоперационный термодатчик (КИИТ-4).

*O.I. Dronov, D.I. Khomenko, E.S. Kozachuk*

**POTENTIATION OF LOCAL CRYOACTION BY DISTILLED H<sub>2</sub>O ON MODEL OF INOCULATED GUERIN CARCINOMA IN WHITE RATS WITH SAVED BLOOD FLOW (IN VIVO)**

In process of local cryoaction on the model of inoculated Guerin's carcinoma in white rats weight 110–140 g with saved blood flow to estimate the dynamic of temperature changes in the solid tumor at discrete depths (3, 8, 13 and 18 mm) with and without of potentiation by distilled H<sub>2</sub>O and investigate a comparative analysis of the obtained data. On 10–12 days after inoculation from experimental animals were formed 2 groups: control (n = 6) and main group (n = 25). Cryoablation was performed by cryoapplicator with diameter of 20 mm with double cycle of freezing and exposure time period of each cycle for 5 minutes and followed by spontaneous thawing. The dynamics of temperature changes in the tumor at discrete depths cryoapplicator we determined using a complex measurement intraoperative thermocouple four-channel (СМИТ-4), the prototype of which was developed jointly by the Department of General Surgery № 1. Injection into the solid tumor of distilled H<sub>2</sub>O for 5 minutes before the start of local cryoablation on the experimental model of the inoculated Guerin's carcinoma in white rats with saved blood flow has a potentiating effect that manifests itself in reaching the mean temperature values in the range of minus values at all experimental depths according to the indicators of thermocouples T1-T4 СМІТ-4.

**Key words:** local cryoaction, local cryoablation, distilled water, potentiation of cryodestruction, Guerin's carcinoma, complex measuring intraoperational thermocouple (СМІТ-4).

*Надійшла до редакції 20.03.18*

**Контактна інформація**

*Дронов Олексій Іванович* – професор, доктор медичних наук, завідувач кафедри загальної хірургії № 1 Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця.

*Хоменко Дмитро Іванович* – аспірант кафедри загальної хірургії № 1 Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця.

Адреса: Україна, 01601, м. Київ, бульвар Т. Шевченка, 13.

Тел.: +380966252935.

E-mail: doc.homenko@gmail.com.

*Козачук Єлизавета Сергіївна* – асистент кафедри загальної хірургії № 1 Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця.