

Caracterización de la técnica y tecnología de criocirugía

Villarreal Elio

<https://orcid.org/0000-0001-5789-8366>

criomed2015@gmail.com

Centro de Investigación e Ingeniería CRIOZUR,
Departamento de investigación,
Quito-Ecuador

Fierro César

<https://orcid.org/0000-0003-4445-8622>

cafl_24@hotmail.com

Universidad nacional de Chimborazo UNACH,
Escuela de Medicina,
Riobamba-Ecuador

Romero Lorena

<https://orcid.org/0000-0002-0798-2778>

leromero@uce.edu.ec

Universidad Central del Ecuador UCE,
Facultad de Ciencias Médicas,
Quito-Ecuador

Morales Gladys

<https://orcid.org/0000-0002-1966-9746>

gpmorales@uce.edu.ec

Universidad Central del Ecuador UCE,
Facultad de Ciencias Médicas,
Quito-Ecuador

Recibido(16/04/2022), Aceptado(19/05/2022)

Resumen—En el presente documento se describe la técnica y tecnología que en la actualidad son empleadas para la aplicación de la criocirugía, técnica que se basa en el empleo de bajas temperaturas para fines médicos y que permite la destrucción controlada de células y tejidos patológicos. La criocirugía es un proceso eficaz e inócuo con las características de ser indoloro, seguro y económico, aplicado a múltiples especialidades en las que brinda alternativas a sus métodos tradicionales. Se realizó una búsqueda de artículos y revisiones bibliográficas referentes al tema de la Criocirugía y a partir de cuya información se obtuvo esta nota técnica. Investigaciones realizadas sobre la aplicación de La Criocirugía presentan evidencia sólida de sus beneficios, por ello, se ha empleado en varios países y campañas de salud presentando excelentes resultados, motivo por el cual se propone que la criocirugía es una técnica segura para implementarla en sistemas de salud.

Palabras clave: criocirugía, técnica, tecnología, caracterización.

Characterization of Cryosurgery Technique and Technology

Abstract— This document describes the technique and technology currently used to apply cryosurgery, a technic based on low temperatures for medical purposes that allows the controlled destruction of pathological cells and tissues. Cryosurgery is an effective and innocuous process that is painless, safe and economical, applied to multiple specialities in which it provides alternatives to its traditional methods. A search was carried out for articles and bibliographic reviews referring to Cryosurgery and from whose information this technical note was obtained. Research on the application of Cryosurgery presents solid evidence of its benefits. Therefore, it has been used in several countries and health campaigns, showing excellent results, so it is advisable to implement it in health systems.

Keywords: cryosurgery, technique, technology, characterization.

I. INTRODUCCIÓN

El uso del frío relacionado con el tratamiento de enfermedades y padecimientos, se remonta al antiguo Egipto según información documentada en papiros datados de 1500 a. C. en los que se describieron los beneficios del frío para disminuir la inflamación en traumatismos y heridas infectadas. Hipócrates (400 a.C.) también lo empleaba para tratar la inflamación y el dolor. Se tiene evidencia de que los en el año 1050 d. C., monjes ingleses usaban el frío como anestésico local [1].

El primero en emplear el frío con ultrabajas temperaturas para la destrucción de tejido fue el médico inglés James Arnott (1797 – 1883), quien para aplicar el frío utilizó una mezcla de sal y hielo picado con una porción de cloruro de sodio para la destrucción de tejidos dañinos e irregulares [1]. Los desarrollos de Arnott, también permitieron comprobar que el frío era eficaz para el tratamiento de la neuralgia como para las migrañas.

En 1892 James Dewar, químico y físico escocés, desarrolló el termo para almacenar líquido criogénico y en 1907 Withhouse de origen estadounidense utilizó aire líquido en una botella con atomizador. En 1950 Irving S. Cooper aplicó criocirugía para tratar el Parkinson y el Dr. Ray Allington usó por primera vez nitrógeno líquido con un hisopo de algodón. En 1960 Setrag Zacarian y Adham usaron discos cilíndricos de cobre sumergidos en nitrógeno líquido y en 1961 Irving S. Cooper usó nitrógeno líquido (N₂L) en un sistema cerrado. Hasta que en 1968 Douglas Torres, Setrag Zacarian y Michael Bryne desarrollaron un dispositivo de mano para rociar nitrógeno líquido, que es el precursor actual del equipo spray de nitrógeno líquido [1,2].

Se han desarrollado nuevas técnicas con criógenos e instrumentos distintos a los empleados en un comienzo. Existen actualmente dos tecnologías, una por contacto y una segunda por contacto y aerosol, dependiendo de las sustancias empleadas que pueden ser Óxido Nitroso y Nitrógeno líquido.

Con el equipo de Óxido Nitroso el proceso de congelación se produce sólo en la punta de las sondas, y el cuerpo se mantiene aislado, solo es posible usarlo por método de contacto y su temperatura está limitada a -89°C. El equipo de Nitrógeno Líquido, es más versátil, pues sus sondas de aplicación permiten ser usadas tanto por contacto como por aerosol (atomización) y puede alcanzar hasta una temperatura de -196°C. [2], [6].

El interés por la criocirugía se incrementó en la década de 1990, se desarrollaron avances en tecnología para equipos crioquirúrgicos y el uso de ultrasonido intraoperatorio para proporcionar una imagen del proceso de congelación del tejido [3]. Con estos avances, la criocirugía visceral fue práctica y se estimuló la investigación relacionada con la congelación de tejidos.

Se evidenciaron, a partir de casos de estudio, las ventajas de la criocirugía como lo son: versatilidad para el tratamiento de diferentes enfermedades, tratamiento en cualquier zona corporal, el tratamiento paliativo de tumores inoperables. Posee ventajas adicionales como un bajo costo, tratamientos que prescinden del uso de anestesia en la mayoría de los casos, no se necesita quirófano, se puede usar en una gran cantidad de lesiones, proporciona un procedimiento seguro y relativamente sencillo con pocas o leves complicaciones.

Algunas ventajas adicionales respecto de otros tratamientos alternativos con posibilidad de realizar criocirugías durante etapas de embarazo, en personas que habitualmente rechazan la cirugía convencional o para que sientan menor riesgo quirúrgico, no existe un límite de edad recomendado y es adecuada para pacientes en silla de ruedas o dificultades de movilidad [4], [5],[6],[7].

Las desventajas que propicia el uso de técnicas de criocirugía es no contar con una base de estudios lo suficientemente documentada para los múltiples casos que pueden tratarse con esta técnica. Adicional a esto, su uso puede generar discromías de la piel en cuanto a su aspecto superficial. En lo que respecta a las contraindicaciones, se destaca la intolerancia al frío por parte de los pacientes, enfermedad de Raynaud, lesiones en el borde libre del párpado, lesiones en las que la identificación histopatológica es necesaria y existan dudas diagnósticas.

La criocirugía en general es una técnica sencilla de aprender, sin embargo, necesita tener una fundamentación teórica básica, destreza y una buena realización práctica. El éxito del tratamiento con criocirugía depende fundamentalmente de la aplicación correcta de la técnica y control de los parámetros de funcionamiento, tiempos de exposición y cantidades de criogente suministradas en la cirugía. [5], [9], [16].

En este documento se evidencian los avances en técnicas y tecnologías de criocirugía basada en documentación desde el año 2000 hasta el 2022, se describen las técnicas empleadas y una descripción de los equipos y sus tecnologías de mayor impacto en el ámbito del bienestar y salud.

II. DESARROLLO

En este apartado se describen dos partes fundamentales de la criocirugía, las cuales permiten su desarrollo, por una parte las técnicas de aplicación del frío sobre la piel para necrosar tejidos no deseados y por otra parte la tecnología que se emplea en la actualidad que considera ciertos agentes criogénicos que dependiendo de sus características, permiten el uso de una u otra técnica.

A. Técnicas para la realización de Criocirugía.

La criocirugía es una técnica que se realiza produciendo la destrucción local de tejido de forma controlada por medio de la aplicación de frío sobre la piel a ultra bajas temperaturas de tal manera que se obtiene una mayor eficacia en la eliminación de tejidos no deseados al congelar rápido y descongelar lentamente [4]. La criocirugía es un procedimiento ambulatorio, económico, que depende de la destreza del personal que brinda el tratamiento y que puede ser realizado en un consultorio, permitiendo ser empleado con en una múltiple variedad de tratamientos que requieren de la destrucción de tejidos anormales como tumores o lesiones cutáneas precancerosas. En la actualidad se considera como un procedimiento sencillo, barato, rápido y eficaz para tratar diferentes lesiones. Esta técnica requiere un breve aprendizaje y constituye una herramienta que puede ser utilizada para brindar atención primaria.

Actualmente las fuentes de frío más empleadas para la aplicación de técnicas de criocirugía son el nitrógeno líquido (-195°C) y el gas de Argón (-186°C). La aplicación del frío sobre los tejidos puede realizarse con el empleo de torundas de algodón, con pinzas, pulverización o contacto mediante equipos [5]. A partir de sumergir torundas de algodón en nitrógeno líquido durante un tiempo de 10 segundos, se consiguen temperaturas bajas para la aplicación de frío sobre la lesión durante varios segundos hasta que la zona de la piel tratada tome un aspecto blanquecino en un área de 1 a 3 mm de diámetro. Cuando la coloración toma un aspecto de color normal, se repiten los pasos anteriores entre 2 y 3 veces. Este método resulta es poco útil en lesiones profundas, múltiples o extensas.

Mediante el uso de una pinza que previamente se introduce en nitrógeno líquido, para después aplicarla directamente sobre la lesión, se transfiere baja temperatura sobre la piel, permitiendo necrosar tejido de una manera más puntual que con la aplicación de las torundas de algodón. Debido a la baja efectividad de las dos técnicas antes mencionadas, son poco utilizadas ya que proveen de poca efectividad y su aplicación propicia resultados variables y de poca efectividad [7].

Para el uso de Óxido Nitroso y Nitrógeno líquido, se emplean equipos que permiten congelar puntas criogénicas que se aplican sobre la piel o tejido a tratar. Para el caso del nitrógeno líquido el frío además puede pulverizarse e incidir sobre la piel humana con mucha más baja temperatura que con óxido nitroso. Dentro de las complicaciones que pueden presentarse en el uso de esta tecnología, se identifican complicaciones como dolor, cefalea, hemorragia intradérmica o edema, formación de vesículas y ampollas.

B. Tecnologías para la aplicación de Criocirugía.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), presenta una descripción de la tecnología utilizada para la criocirugía. Si bien es claro y definido el principio de operación de estas técnicas, existen factores importantes y de gran influencia en el desarrollo de la criocirugía y la competencia técnica de los equipos crioquirúrgicos existentes en el mercado. Existen en la actualidad tres tipos de sistemas crioquirúrgicos: sistemas de carácter móvil, tipo estacionario y ambulatorio.

Los sistemas crioquirúrgicos de carácter móvil emplea una estación compacta que consta de un bloque de dirección automático para activar el proceso criogénico. Se emplea una unidad para el almacenamiento del criogente y permite brindar crioactividad ininterrumpida durante 3 a 4 horas, ideal para intervenciones médicas en áreas de cirugía, ginecología, urología, proctología, dermatología, etc. Sistemas Criogénicos de tipo estacionarios se han diseñado para su uso en quirófanos modernos para lo cual emplea una serie de instrumentos crioquirúrgicos que están dispuestos sobre una base o mesa y que permiten el alcance fácil y cómodo de los cirujanos durante la operación.

Los sistemas crioquirúrgicos ambulatorios o portátiles, emplea un bloque de dirección y otro más liviano que pesa alrededor de 1.5 kg y que contiene alrededor de 400 ml de nitrógeno líquido, consta además de un juego de criodispositivos y aplicadores. Su sencillez de transporte y capacidad solamente permiten la destrucción de alrededor de máximo 40 cm³ de volumen de tejido con la posibilidad de usarse mientras se transporta al paciente o in situ.

El equipo presentado en la figura 1, es utilizado con óxido nitroso. Si se emplea óxido nitroso, alcanza temperaturas de - 89 °C y se aplica solo por contacto, por lo cual puede ser aplicado en patologías malignas no profundas. Mientras que el empleado con nitrógeno líquido, las temperaturas que proporciona es de -195°C con un tiempo de exposición menor y la posibilidad de emplearlo en un mayor número de patologías, ya sean malignas o profundas. Los tiempos de exposición son variables en dependencia de muchos otros factores como el tipo de lesión, si es benigna o maligna, su profundidad, su localización en el cuerpo, el tipo de patología, si es una verruga plantar o una simple queratosis, el área que ocupa los tiempos de aplicación pueden variar entre medos de 1 segundo o en ocasiones hasta aproximadamente los 30 segundos.

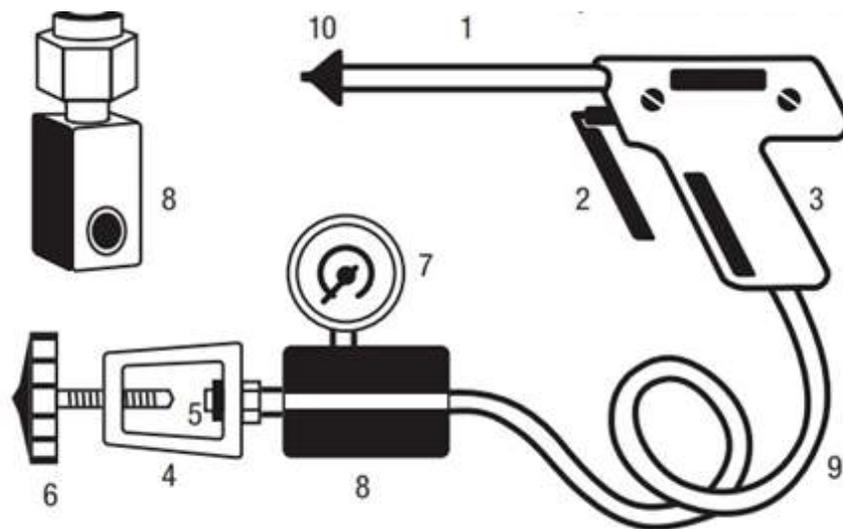


Fig. 1. Esquema de equipo de criocirugía con aplicación de gas criogénico.

En la fig. 1, Desde el cilindro de gas el fluido (dióxido de carbono CO₂ u óxido de nitrógeno N₂O) se conduce hasta el acople de alta presión en (5) el cual es asegurado con un yugo (4) y un tornillo (6). El fluido pasa a través de un equipo silenciador (8) que además permite medir la presión suministrada. EL fluido continúa su paso por el conducto criogénico (9) hacia el mango de agarre (3) en cuyo interior existe una válvula que se activa con el gatillo (2), permitiendo el paso del fluido hacia el tubo sonda (1) que direcciona el flujo hasta la punta sonda (10), la cual permite emitir el flujo gasificado o el enfriamiento de la punta para interactuar con la piel ya sea por contacto o por rociado de nitrógeno. El dispositivo descrito en la figura 1, permite transportar el gas criogénico hasta la punta de la sonda, de tal manera que esta al fluir el gas se congela por la baja temperatura y el resto del equipo, debido a sus materiales aislantes, se mantiene a temperatura ambiente brindando adecuada sujeción por parte del operador.

En la punta de la sonda se produce una expansión del gas criogénico, la punta se enfría rápidamente y permite la expansión del gas de manera continua. El equipo presentado trabaja bajo el principio básico de expansión isotrópica adiabática de compresión de gas (efecto Joule Thompson) o sea la expansión rápida de un gas a través de un orificio estrecho induce un descenso en la temperatura, las presiones pueden variar entre 750 y 900 libras por pulgada cuadrada y el diámetro del orificio varía entre 0.013 y 0.018 pulgadas (10). La temperatura dentro de la boquilla de la sonda es igual al punto de ebullición del gas que sea utilizado. La temperatura varía de acuerdo con el gas que se use: óxido nitroso (-89 grados centígrados), dióxido de carbono (-78 grados centígrados). El metal de la boquilla puede ser de oro, plata o cobre. La temperatura de congelación ideal debe ser menor de - 60 grados centígrados.

Los equipos de criocirugía (unidades portátiles) con nitrógeno líquido por sus posibilidades y ventajas se han ido imponiendo en muchas especialidades como la dermatología, otorrinolaringología, ginecología, otorrinolaringología, dermatología, odontología, estética, urología, proctología, neurocirugía, etc. Debido a las ultrabajas temperaturas el efecto del frío puede penetrar a la profundidad necesaria y con una gran rapidez [13],[15]. Las dos tecnologías fundamentales y actuales que se emplean comúnmente son las que usan Óxido Nitroso y Nitrógeno Líquido.

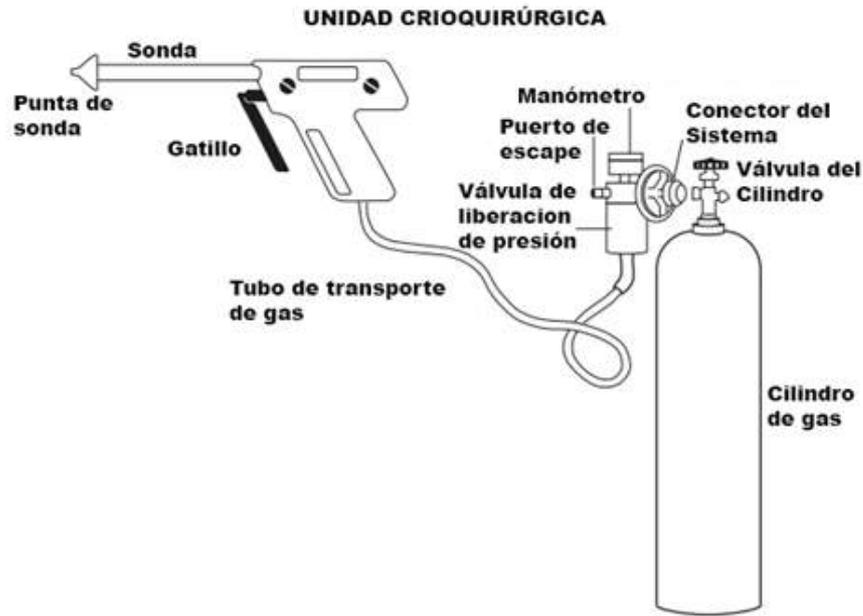


Fig. 2. Descripción de funcionamiento de una unidad de Criocirugía.

En la fig. 2, se describe una Unidad Criquirúrgica que alimenta y provee al equipo de la figura 1, del agente criogénico que es almacenado en un cilindro de gas, que debe ser un termo criogénico que logre mantener al fluido en bajas temperatura y tiempos considerables. Todo cilindro de gas poseerá una válvula de cilindro la cual posee una llave de paso del gas y una salida exclusiva para el gas. Un conector del sistema asegura a la válvula anterior con un sistema de manómetro, llaves y válvula de liberación de presión luego del cual el gas es trasladado hacia el equipo dispersor del gas directo a la aplicación

Unidades portátiles. Son termos metálicos herméticos (4) provistos de un mecanismo para pulverizar nitrógeno líquido cuya emisión se controla mediante un gatillo. Constan de un recipiente térmico de acero inoxidable (4), recubierto por una estructura de bronce y acero inoxidable, con un sistema de válvula de seguridad, una gran boca de llenado y un terminal de emisión del NL. Son ligeros y de fácil transporte, y los más utilizados en la actualidad.

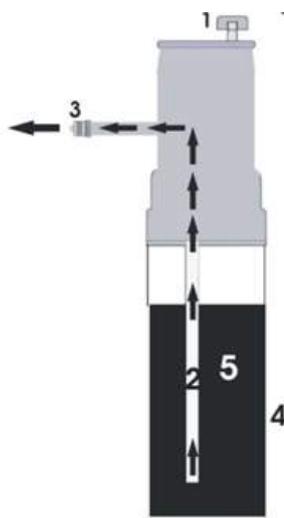


Fig. 3. Equipo portátil para criocirugía para uso con nitrógeno líquido.

La fig. 3, presenta el esquema de la configuración de un equipo de criocirugía que consta de 5 partes fundamentales, un botón de apertura de flujo (1) que activa una válvula interna que permite el paso de nitrógeno líquido (2), un recipiente de nitrógeno líquido cuyas paredes permiten transferencia de calor al líquido; un conducto de escape de nitrógeno líquido o gaseoso; un ducto de salida para el nitrógeno, una punta por donde se dosificará el nitrógeno expulsado.

Existen otras técnicas más avanzadas empleadas en centros de investigaciones o instalaciones especiales, como son las dedicadas a la ablación de órganos internos. La crioablación para el cáncer es un tratamiento mediante el cual se eliminan las células cancerosas con frío extremo. En la crioablación, se inserta una aguja delgada con forma de varilla (criosonda) a través de la piel y directamente en el tumor canceroso. Se bombea un gas en la criosonda a fin de congelar el tejido. Se utilizan las criosondas para tratar tumores que se encuentran por debajo de la superficie de la piel y en lugares profundos del cuerpo. Utilizando la guía por imágenes, el médico inserta una o más criosondas a través de la piel hacia el sitio del tejido enfermo. La criosonda administra el nitrógeno líquido o el gas argón y congela el tejido enfermo [8].

C. Desarrollos Futuros

Las técnicas crioquirúrgicas deben desarrollarse aún más para lograr su optimización. Las tasas de fracaso en terapia de tumores, nos muestra la importancia de mejorar las técnicas y las prácticas. Se enfatiza en que los tejidos biológicos resisten la lesión por congelación y que es necesario incorporar la terapia adyuvante para mejorar los resultados, ya sea con fármacos o irradiación. Destacar la importancia de la investigación in vivo para definir mejor las complejidades de la lesión criogénica y tener una mejor percepción del rol de la apoptosis y su relación en la aplicación de la terapia adyuvante. Estas investigaciones deben ampliar el diapazón del uso de las técnicas crioquirúrgicas y sobreponerse ante la competencia de otras técnicas. A nivel mundial la Crioinmunología, es un nuevo concepto, representado en sustancias crio inducidas inmunogénicas autólogas y alogénicas [10],[11],[12]. La crioablación de tumores es una forma de lograr una vacuna autóloga in vivo de lisado tumoral y tratar la enfermedad metastásica. La Criocirugía es y será en un futuro un procedimiento quirúrgico fácilmente disponible, simple y rentable [5]. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la criocirugía es apropiada para su uso en entornos de bajos recursos, su efectividad es mayor al 90% presentando efectos secundarios limitados. Como ventaja importante esta tecnología no emplea electricidad siendo por ello más económica y simple de implementar comparada con otros tratamientos [5]. La criocirugía es una técnica que por sus bondades y los avances en el desarrollo de nuevas tecnologías y aplicaciones se impondrá cada vez [13].

III. METODOLOGÍA

A partir de la búsqueda de los términos relacionados con criocirugía, técnicas, tecnologías, nitrógeno y Argón, se obtuvo 126 documentos en las 3 bases empleadas PubMed, IEEE Xplore y ScienceDirect. La búsqueda contempló, del total de documentos se eliminaron 94 que eran documentos duplicados quedando 32 artículos para el proceso de revisión. Se cribaron por el título y abstract un total de 5 artículos que no fueron pertinentes con las técnicas y tecnologías de criocirugía. De los 27 artículos restantes, se cribaron los artículos cuyo contenido no describía las técnicas de empleo de la criocirugía, por ello se eliminaron 12 textos quedando solamente para su uso en la revisión 15 documentos mismos que correspondieron a los años 2020 en adelante. La figura 4, presenta un esquema gráfico para el filtrado de artículos de utilidad para el presente trabajo de revisión. Cabe indicar que la información sobre la técnica y equipos no se difunde de gran manera en la literatura científica, sin embargo, existen muchos artículos de evidencia de beneficios de la aplicación de este tipo de técnica que emplea frío extremo.

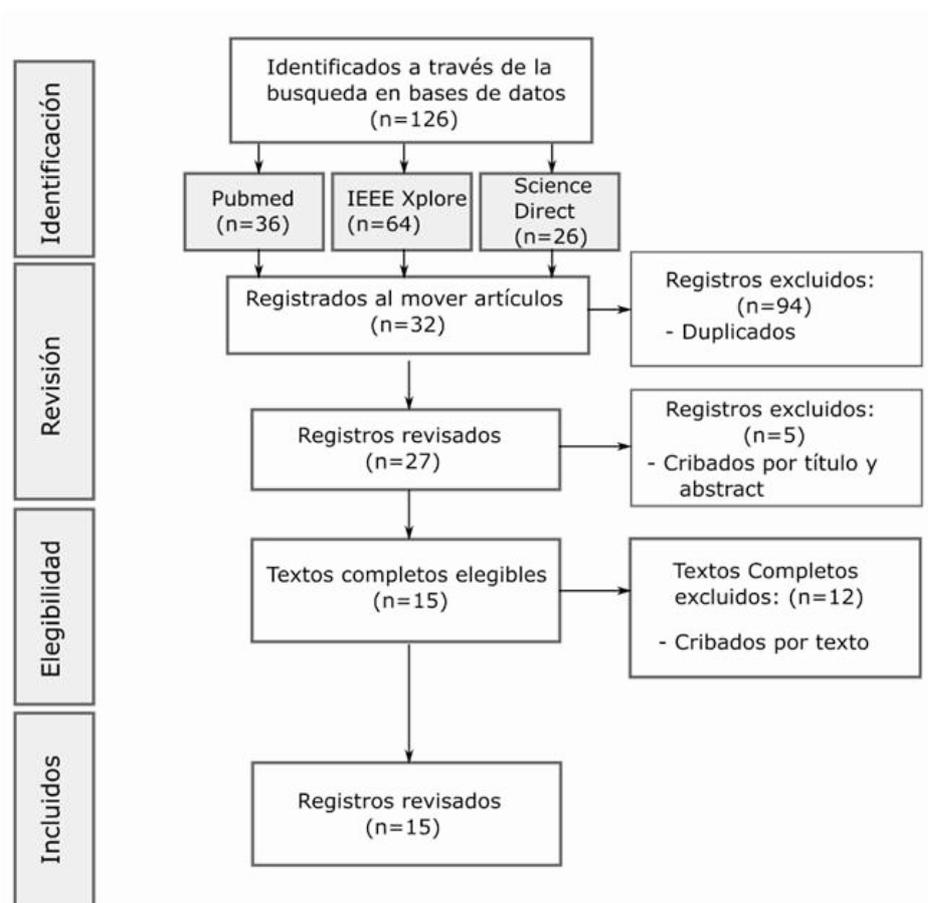


Fig. 4. Esquema del proceso de búsqueda bibliográfica realizada en bases científicas.

IV. RESULTADOS

De los artículos revisados en este trabajo, destacan puntos de vista divergentes en torno a los beneficios en las aplicaciones que se han estudiado sobre la aplicación de la criocirugía. Muy poca documentación se ha encontrado sobre la explicación de los tipos de equipos empleados en este tipo de cirugías con frío extremo. Debido a la variabilidad de algunos resultados en la aplicación de las mismas técnicas es variado sin aportar datos generales y sólidos sobre los efectos de la criocirugía como técnica para la eliminación de tejidos no deseados.

Existen algunos trabajos que evalúan por igual la aplicación de Óxido nítrico y de nitrógeno líquido y esto probablemente incurre en un error ya que usar Óxido nítrico en patologías premalignas, malignas y profundas no posee los mismos resultados de la aplicación de nitrógeno líquido. Se recomienda en la documentación una mayor aplicación de nitrógeno líquido. A pesar de los años, las técnicas de criocirugía conservan su principio de operación con el uso de agentes criogénicos que al parecer resultan ser los más eficientes para la transmisión de bajas temperaturas sobre la piel humana. EL uso de agentes líquidos también permite un ahorro sustancial de cantidad de líquido para que los equipos posean una autonomía prolongada entre recargas.

CONCLUSIONES

La criocirugía se ha desarrollado a lo largo del tiempo con muy pocas técnicas para la aplicación sobre el tejido humano, sin embargo, estas técnicas son suficientes para lograr el efecto de necrosar tejidos no deseados, de hecho, temperaturas de -60 son suficientes para lograr el efecto y dado que se emplean agentes de menores temperaturas, se logra mayores efectividades con la aplicación en tiempos menores.

El uso de nitrógeno como agente criogénico, proporciona mejores resultados debido a que se trata de un gas inerte cuyas características le permiten, además, aplicarse sin contacto sobre la piel tratada. Adicional a esto, su almacenamiento y transporte y posibilidad de contaminación al ambiente son muy limitadas.

Según la nomenclatura tanto las técnicas como las tecnologías mas empleadas con agentes criogénicos líquidos, representan sistemas confiables para la aplicación de técnicas de criocirugía, adicional a esto, resulta ser tecnología de mucho mas bajo costo y sencillez de implementación que en algunos casos se recomienda como alternativas a los tratamientos convencionales del área médica.

REFERENCIAS

- [1] J. Acker, A. Larese, H. Yang., «Cell-Cell Contact Affects Membrane Integrity after Intracellular Freezing» *Cryobiology*, 1999, Vol 38, 363- 371.
- [2] M. Tobón, V. Franco, E. Fierro., «Criocirugía. Revista Asociación Colombiana de Dermatología», 2014, Vol 22, numero 4, pp. 305-316
- [3] J. Pontones, J. Morera, C. Vera, J. Jimenez., «Cryosurgery in the management of prostate cancer», *Cryobiology*, 2007. Vol31, numero 3, pp. 211-232.
- [4] D. Larrey., «Memoirs of military surgery: and campaigns of the French armies, on the Rhine, in Corsica, Catalonia, Egypt, and Syria : at Boulogne, Ulm, and Austerlitz : in Saxony, Prussia, Poland, Spain, and Austria», *Mémoires de chirurgie militaire*, 2011, p. 1812-7.
- [5] A. Seidel., «Criocirugía en dermatosis inflamatorias», *Revista Asociación Colombiana de Dermatología & Cirugía Dermatológica*, 2004, Vol 9, numero 2, julio 2001, pp. 527-533.
- [6] R. Castillo, A. Morales., A. Carrasco., «Guía de uso de la criocirugía en atención primaria». *Medicina de Familia (And)*, 2002, Vol 3, numero 2, pp.114-22.
- [7] S. Castañeda, G. Garrido., «Tratamiento de lesiones bucales con criocirugía». *Investigación, Medicoquir* 2019, Vol 11, numero 14.
- [8] M. Paprocka, J. Nowosielska, L. Kikowski, J. Olszewski, H. Zlelinska., « Cryosurgery in the treatment of allergic and non-allergic rhinitis», *Wiad Lek*, 2018, vol 71(6), pp. 1131-1140.
- [9] H. Afshar, A. Rasekh, B. Treistman, C.- Van-Leeuwen, J. Duncan & A. Massumi., « Cryoablation of incessant ventricular tachycardia: Case report and long- term follow-up», *Texas Heart Institute Journal*, 2000, Vol 27, numero 1, pp. 52-54.
- [10] A. Machlenkin, O. Goldberger, B. Tirosh, et al. «Combined Dendritic Cell Cryotherapy of Tumor Induces Systemic Antimetastatic Immunity». *Clin Cancer Res*, 2005, Vol 11, numero 13, pp. 4955-4961.
- [11] N. Bertho, H. Adamski, L. Toujas, et al. «Efficient migration of dendritic cells toward lymph node chemokines and induction of TH1 responses require maturation stimulus and apoptotic cell interaction». *Blood*, 2005; Numero 106: 1734-1741.
- [12] J. Smith, B. Sanusi, A. Swarts, M. Faesen, S. Levin, B. Goeieman, et al. «A randomized clinical trial comparing cervical dysplasia treatment with cryotherapy vs loop electrosurgical excision procedure in HIV-seropositive women from Johannesburg, South Africa». *Am J Obstet Gynecol*.2017; Vol 217(2).

- [13] P. Alessandro, B. Arduino, M. Borgo, G. Saccone, R. Venturella, A. Di Cello, et al. «Loop electrosurgical excision procedure versus cryotherapy in the treatment of cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials». *Gynecol Minim Invasive Ther*, 2018 Vol7(4).
- [14] E. Lili, K. Chatzistamatiou, A. Kalpaktsidou, T. Moysiadis, T. Agorastos., «Low recurrence rate of high-grade cervical intraepithelial neoplasia after successful excision and routine colposcopy during follow-up». *Medicine (Baltimore)*, 2018, Vol 97(4), pp. 97-119.
- [15] M. Fouw, R. Oosting, A. Rutgrin, et al., «A systematic review and meta-analysis of thermal coagulation compared with cryotherapy to treat precancerous cervical lesions in low- and middle-income countries». *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 2019, Vol 147, numero 1, pp. 4-18.