

Экспериментальное исследование процесса замораживания-оттаивания модели остаточной костной полости при охлаждении жидким азотом

А.И. Горбатенко¹, Н.О. Костяная², В.Л. Кулиди³

¹*Ростовский государственный медицинский университет*

²*МЦ «АРТРОЛИГА», Ростов-на-Дону*

³*МБУЗ «ДГБ» Таганрог*

Аннотация: Был разработан метод, устройство и экспериментальная модель для контроля за охлаждением и достижением эффективных низких температур при криохирургическом лечении костных опухолей. Предложенная экспериментальная модель остаточной костной полости позволяет изучить температурное поле, определять скорость замораживания и оттаивания при разных способах воздействия жидкого азота. Полученные результаты позволяют разработать предварительные рекомендации по технике проведения криохирургической абляции костной опухоли.

Ключевые слова: криоапликатор, экспериментальная модель, костная опухоль, криохирургия.

Актуальность. В современной классификации опухолей мягких тканей и костей представлены различные группы злокачественных, доброкачественных, в том числе агрессивных, опухолей и опухолеподобных поражений костей [1], которые встречаются особенно часто у людей молодого и среднего возраста, причем доброкачественные опухоли костей составляют около половины случаев у больных с опухолями и опухолеподобными поражениями скелета [2]. Одной из главных проблем лечения таких поражений кости является рецидивирование [3]. Для профилактики рецидива в качестве адьювантной хирургии широко применяется криохирургический метод [4-6]. Однако значительную проблему при проведении процедуры адьювантной криохирургии представляет контроль за процессом замораживания и оттаивания, а также сложность в определении момента достижения эффективной температуры охлаждения кости.

Цели и задачи исследования. Цель исследования – разработать способ наиболее оптимального криовоздействия на остаточную костную полость

при криодеструкции при помощи экспериментальной модели. В рамках поставленной цели необходимо было решить следующие задачи: создать экспериментальную модель костной полости, близкую по составу к костной ткани, определить диапазон температуры при воздействии жидкого азота на модель костной полости, сравнить результаты 2-х способов охлаждения остаточной костной полости – инстилляционного и контактного, разработать метод контроля за процессом охлаждения тканей при криохирургическом лечении костных опухолей.

Материалы и методы. Исследование и построение экспериментальной аналитической модели для оценки функционального состояния при изучении сложных биологических систем является актуальным, поскольку устанавливает однозначную связь объекта и инструмента измерения, обеспечивает необходимую точность и достоверность при анализе и принятии решения [7]. Для оценки воздействия жидкого азота на костную ткань при криохирургии была изготовлена модель остаточной костной полости. Модель представляла собой чашу с внутренним диаметром 50 мм, состоящую из смеси гидроксиапатита и коллагена в соотношении - 65% и 35% соответственно, что имитировало кортикальное вещество кости (рис.1).



Рис.1. – Модель костной полости

Для изготовления модели была разработана оригинальная пресс-форма из нержавеющей стали, позволяющая многократно повторить изготовление модели и обеспечить серийность эксперимента (рис.2.).



Рис.2. – Пресс-форма.

В толщу чаши были имплантированы термисторы, позволяющие определять температуру в процессе замораживания и оттаивания при помощи многоканального осциллографа Nantek1008A (рис.3а,б).

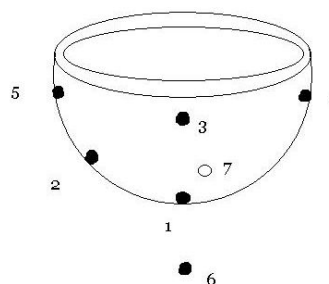


Рис. 3а,б. – Имплантация термисторов.

Описание технического обеспечения эксперимента

Измерение быстроменяющихся физических величин в режиме реального времени является нетривиальной задачей и требует подключения дополнительных инженерных и вычислительных ресурсов [8]. Для измерения температуры в толще вещества потенциально подходят два метода – измерение температуры с помощью термопар и с помощью термисторов. Преимущество термопар в том, что измерять температуру можно в широком

диапазоне (примерно, от -200 градусов до +1000 градусов). Однако, скорость внешним - 55 мм, реакции термопар значительно меньше (в 10 и более раз), чем у современных термисторов. На скорость реакции влияют физические размеры и масса измерителя. У термопар этот параметр во много раз больше, чем у современных термисторов. Кроме того, у термопар имеются достаточно массивные металлические провода, которые резко ухудшают реальную точность измерения температуры.

Для измерения температуры были выбраны термисторы японской фирмы «Murata» [9]. Термистор типоразмера 0603 имеет фактический размер – длина 1.6 мм, ширина 0.85 мм, высота 0.45 мм (рис.4).



Рис.4. – Термистор.

Номинальное значение сопротивления термистора (значение сопротивления при температуре 25 градусов Цельсия) было выбрано 10 кОм. Термистор был припаян к тонким медным проводам (диаметром 0.15 мм) в лаковой изоляции. Провода были выбраны тонкими для того, чтобы был минимальный теплоотвод. Минимальный теплоотвод обеспечивает повышенную точность измерения и измерение высоких скоростей переходных термических процессов. Сам термистор и места зачистки проводов от лака были покрыты цапонлаком в два слоя.

В качестве измерительного прибора был выбран цифровой компьютерный осциллоскоп «Hantek 1008» [10]. «Hantek 1008» -

восьмиканальный осциллоскоп с заявленной скоростью съема 2.4 миллиона выборок в секунду.

Заявленная разрядность АЦП – 12 бит. Максимальный объем внутренней буферной памяти 4000 выборок. Входное сопротивление каналов – 1 Мом. В ходе эксперимента планировалось проводить измерения в течение от единиц до десятков секунд. Скорость данного прибора и количество каналов подходят для решения поставленных экспериментальных задач. При измерении по 8 каналам получается по $4000 / 8 = 500$ отсчетов на цикл измерений, что соответствует требованиям эксперимента. Реальная разрядность АЦП оказалась 8 бит. При 8 битах будет 256 градаций по амплитуде. То есть по $5 \text{ Вольт} / 256 = 19$ милливольт на ступень АЦП. При -80 градусах Цельсия напряжение на выходе измерительной цепи отличается от верхней границы (+5 Вольт) на 140 милливольт. Это будет более, чем 7 ступеней АЦП. Таким образом, устройство позволяет уверенно мерять температуру вплоть до -80 градусов. (При -70 градусах будет более чем 16 ступеней и при -60 градусов – более чем 32 ступеней). Конечно, измерение с помощью 12 битового АЦП было бы более чем в 10 раз точнее. Однако даже 8 битовое АЦП дает приемлемые результаты. Так как при низких температурах сопротивление термистора будет достигать 3.5 Мом, то заявленное в характеристиках входное сопротивление 1 Мом совершенно недостаточно для реализации эксперимента. При этом входное сопротивление осциллоскопа будет шунтировать измерительную цепь. Для реализации поставленной цели нужен прибор с входным сопротивлением не менее 1 Гом. Для повышения входного сопротивления прибора были сделаны буферные усилители на операционных усилителях. Были выбраны усилители фирмы «Analog Devices» типа AD8606ARZ. Это прецизионные операционные усилители имеют следующие отличительные характеристики: малый уровень шума, очень малое смещением (менее чем 65 мкВольт),

однополярное питание +5 Вольт, уровень сигнала по входу и по выходу от границы до границы питания, входной ток – менее 1 пикоампера (ориентировочное входное сопротивление порядка 1000 Ом). Корпус SOIC-8. Два усилителя в корпусе. Ток, потребляемый каждым усилителем – порядка 1 мА. Измерение напряжение производится по каналам от 1 до 7. Восьмой канал используется для целей синхронизации и нормирования напряжения USB. В момент начала измерения нужно нажать кнопку, подключенную к каналу 8. Осциллоскоп предварительно настраивается на однократный ждущий режим измерения с синхронизацией по положительному перепаду на канале 8. В результате нажатия кнопки напряжение на входе канала 8 изменяется от 0 (напряжение земли) до значения напряжения на линии USB. Напряжение на линии USB может отличаться от значения +5 Вольт (типичное напряжение может лежать в диапазоне от 4.9 Вольта до 5.1 Вольта). Таким образом, канал 8 используется не только для старта процесса измерения, но и для точного измерения фактического значения напряжения на USB. Это напряжение используется для нормировки значений по другим каналам для определения точного значения отношения резисторов в измерительных цепях.

После того, как вся измерительная установка была собрана, необходимо было провести калибровку установки для подтверждения того, все предыдущие рассуждения и расчеты были верны. Для калибровки использовался сухой лед. Температура сублимации сухого льда равна -78 градусов. Для нас – это идеальный вариант для калибровки установки. Результаты калибровки показали, что фактические значения напряжения, полученные на выходе измерительной цепи очень близки к тем, которые мы ожидали получить.

Дальнейшие эксперименты показали, что реальные температуры, получающиеся в процессе криовоздействия, лежат в диапазоне тех температур, которые эффективно измеряет установка.

Для изучения воздействия на окружающие кость мягкие ткани в качестве имитации последних был приготовлен гидратированный раствор желатина, в который и была помещена модель остаточной костной полости (рис.5).

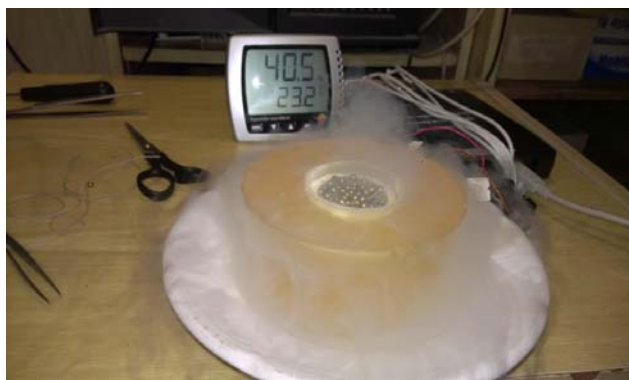


Рис.5. – Модели остаточной костной полости, помещенная в желатин.

Для приготовления гидратированного раствора желатина использовали пищевой желатин и воду в соотношении: 1 к 8, т.е. на каждые 100 граммов желатина 800 граммов воды. Тщательно перемешали смесь, избегая образования комочков. Затем смесь охлаждалась при температуре -4 С. Охлаждение необходимо для того, чтобы произошел процесс гидратации. Когда желатин охладился и целиком растворился в воде, необходимо было разогреть полученную желатиновую смесь на огне. На данном этапе смесь регулярно помешивали, чтобы из нее вышли все пузырьки воздуха. Далее полученную смесь перелили в емкость, устойчивую к перепадам температур, и охладили при температуре 0-4С в течение 36 часов. Перед началом эксперимента в готовый гидратированный раствор желатина поместили модель костной полости и один термистор.

Размещение термисторов в модели костной полости и в толще гидратированного раствора желатина производилось по схеме, изображенной

на рис.4б. Термисторы были размещены всего в 7-ми точках: пять термисторов (каналы 1-5) в толще модели, один (соответствует каналу 6) – в толще гидратированного раствора желатина, один (канал 7) – на дне модели костной полости (рис.3б).

Было проведено 2 серии экспериментов. В первой серии контактное криовоздействие на модель остаточной костной полости выполнили при помощи криоаппликатора медицинского [11]. Во второй серии опытов проводилась инстилляция жидкого азота. Криоаппликатор медицинский выполнен в виде одинаковых шариков диаметром 3-5 мм, каждый из которых имеет сквозное диаметральное отверстие. Шарики изготовлены из немагнитного материала с высокой теплопроводностью. Один из крайних шариков установлен на конце хирургической нити неподвижно, остальные шарики установлены на хирургической нити с возможностью свободного перемещения вдоль нее (рис. 6).

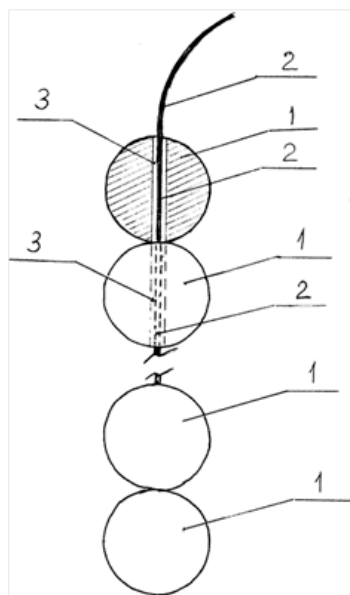


Рис.6. – Схема криоаппликатора медицинского

(1 - шарик из никелида титана, 2 - сквозное отверстие, 3 – хирургическая нить).

В первой серии эксперимента модель костной полости заполнялась криоаппликатором медицинским, затем при помощи криодеструктора «Иней» проводилось заполнение модели костной полости жидким азотом в

течение 190 секунд. Затем происходил самопроизвольный процесс оттаивания модели костной полости. Показания температуры в разные моменты эксперимента, в разных точках модели костной полости, а также скорость процессов как замораживания, так и оттаивания зафиксированы при помощи осциллографа.

Во второй серии эксперимента - при инстилляции жидкого азота непосредственно в моделированную костную полость мы наблюдаем неравномерное снижение температуры в разных участках модели.

Авторы выражают глубокую признательность Буланову С.Н., Петрову А.В. за помощь в организации эксперимента.

Результаты и обсуждение. При контактном способе криовоздействия с использованием криоаппликатора медицинского наиболее низкая температура $-82,3^{\circ}\text{C}$ была зафиксирована уже на 33 секунде охлаждения. При этом снижение температуры было равномерным в различных участках модели. В процессе криовоздействия было израсходовано в 1,5 раза меньше хладагента, чем при инстилляции жидкого азота. Скорость самопроизвольного оттаивания модели остаточной костной полости была меньше, чем при инстилляционном способе криовоздействия. В последнем случае достижение наиболее низкой температуры -87°C отмечено только на 154 секунде инстилляции, что свидетельствует о большей длительности процесса криовоздействия. Было также обнаружено, что при инстилляции жидкого азота в модель костной полости температурное поле распределено неравномерно. Температура, зафиксированная на дне костной полости (в точке, где размещен термистор №1), в 2 раза ниже показателей, отмеченных в тот же момент времени (через 1 минуту после заливки жидкого азота) в точке, соответствующем месту имплантации термистора № 4 – ближе к краю модели костной полости. При контактном криовоздействии с использованием криоаппликатора разница температур, зафиксированных в

разных точках модели костной полости в один момент времени была нивелирована.

Криоаппликатор медицинский действует в остаточной костной полости как аккумулятор отрицательных температур, в то время как при инстилляционном способе идет постоянное испарение жидкого азота, замедляющие процесс замораживания. В месте контакта каждого шарика криоаппликатора со стенкой костной полости создается точечный участок сверхнизкой температуры, что позволяет создать более равномерное распределение температурного поля.

В отечественной литературе представлены данные экспериментальных исследований эффективности криохирургического вмешательства, предлагаемого для клинической практики в качестве дополнительного фактора при выполнении резекций опухолей костей с целью повышения их абластичности. Исследование проводилось на фрагментах различных опухолей и опухолевидных образований, размером $10 \times 10 \times 10$ мм [12]. Доказано также некоторое преимущество контактного метода перед инстилляционным, причем при контактном криовоздействии разрушается до 90–100% образований, в то время как деструкция патологических элементов новообразований при инстилляционной обработке достигала 60% у хрящеобразующих опухолей и 80% – у гигантоклеточных [13]. Однако еще остаётся множество вопросов, от которых зависит тактика врача-криохирурга при выборе способа криовоздействия, криохирургического устройства, протокола процедуры, регламентирующего этапы замораживания-оттаивания, что позволит спрогнозировать развитие возможных осложнений после процедуры и провести соответствующую профилактику, а также сделать выбор в пользу органосохранного хирургического вмешательства, не опасаясь рецидива [14]. Как и с какой скоростью распространяется низкотемпературное поле в толще костной ткани, как действует жидкий азот

на окружающее мягкие ткани, с какой интенсивностью идет процесс оттаивания на разном расстоянии от точки криовоздействия? Ответы на эти принципиально важные вопросы будет возможно получить, используя в эксперименте физическую модель патологического образования.

Выводы. В процессе эксперимента доказано, что предложенная экспериментальная модель остаточной костной полости позволяет изучать температурное поле, определять скорость замораживания и оттаивания как при контактном способе, так и при инстиляции жидкого азота в костную полость. Полученные результаты позволяют разработать предварительные рекомендации по технике проведения криохирургической абляции костной опухоли.

Литература

1. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone / Eds. C.D.M. Fletcher, J.A. Bridge, P.C.W. Hogendoorn, F. Mertens. Lyon: IARC Press, 2013. 468 p.
 2. Ганцев Ш.Х. Онкология: учебник. М.: МИА, 2006. 435 с.
 3. Демичев Н.П., Дианов С.В. Профилактика рецидивирования доброкачественных опухолей костей методом криодеструкции // Вопросы онкологии. 2008. №5(54). С. 592-595.
 4. Демичев Н.П., Дианов С.В. Криодеструкция хрящобразующих опухолей костей // Травматология и ортопедия России. 2007. № 1 (43). С. 33-36.
 5. Marcove R.C., Miller T.R., Cahan W.C. The treatment of primary and metastatic bone tumors by repetitive freezing // Bull. N.Y. Acad.Med. 1968. V. 44, N5. pp. 532-544.
 6. Дианов С.В. Криодеструкция и аллопластика при лечении доброкачественных костных опухолей: дис. ... д-р мед наук: 14.01.15. Астрахань, 2008. 279 с.
-

7. Наумов В.Ю., Муха Ю.П., Авдеюк О.А., Шевчук В.П., Авдеюк Д.Н. Структурная модель адаптационных контуров биоинструментальной информационно-измерительной системы // Инженерный вестник Дона. 2017. №4. URL: ivdon.ru/ru/magazine/archive/n4y2017/4391.
8. Клевцов С.И. Моделирование алгоритма краткосрочного прогнозирования изменения быстроизменяющейся физической величины в реальном времени // Инженерный вестник Дона. 2012. №3. URL: ivdon.ru/ru/magazine/archive/n3y2012/920.
9. Murata URL: murata.com/en-global (date of access: 24.07.2018).
10. Hantek URL: hantek.ru/products/dso1008a (date of access: 24.07.2018).
11. Горбатенко А.И., Сикилинда В.Д., Дубинский А.В. Криоаппликатор медицинский // Креативная хирургия и онкология. 2014. № 1-2. С. 54.
12. Галимова Л.В., Дианов С.В. Динамика температуры доброкачественных костных опухолей при криовоздействии // Вестник новых медицинских технологий. 2005. Т. 12, № 3-4. С. 143-144.
13. Дианов С.В. Воздействие сверхнизких температур на опухолеподобные поражения костей при хирургическом лечении // Травматология и ортопедия России. 2008. №2(48). С. 57-60.
14. Дианов С.В., Тарасов А.Н., Мочалов А.П. Отдаленные результаты криохирургического лечения опухолеподобных поражений костей // Травматология и ортопедия России. 2012. № 3(65). С. 21-26.

References

1. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. Eds. C.D.M. Fletcher, J.A. Bridge, P.C.W. Hogendoorn, F. Mertens. Lyon: IARC Press, 2013. 468 p.
 2. Gancev S.H. Onkologiya [Oncology]. M.: MIA, 2006. 435 p.
 3. Demichev N.P., Dianov S.V. Voprosy onkologii. 2008. №5. pp. 592-595.
 4. Demichev N.P., Dianov S.V. Travmatologiya i ortopediya Rossii. 2007. №1. pp. 33-36.
-



5. Marcove R.C., Miller T.R., Cahan W.C. The treatment of primary and metastatic bone tumors by repetitive freezing. Bull. N.Y. Acad.Med. 1968. V. 44, N5. P. 532-544.
6. Dianov S.V. Kriodestrukciya i alloplastika pri lechenii dobrokachestvennyh kostnyh opuholej [Cryodestruction and alloplasty in the treatment of benign bone tumors]. Dis. d-r med. nauk. 14 01 15. Astrahan. 2008. 279 p.
7. Naumov V.YU., Muha YU.P., Avdeyuk O.A., SHEvchuk V.P., Avdeyuk D.N. Inzhenernyj vestnik Dona (Rus). 2017. №4. URL: ivdon.ru/ru/magazine/archive/n4y2017/4391.
8. Klevcov S.I. Inzhenernyj vestnik Dona (Rus). 2012. №3. URL: ivdon.ru/ru/magazine/archive/n3y2012/920.
9. Murata URL: murata.com/en-global (accessed 24/07/2018)
10. Hantek URL: hantek.ru/products/dso1008a (accessed 24/07/2018)
11. Gorbatenko A.I., Sikilinda V. D., Dubinskij A. V. Kreativnaya hirurgiya i onkologiya. 2014. №1-2. pp. 54.
12. Galimova L.V., Dianov S.V. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2005. V. 12, № 3-4. pp. 143-144.
13. Dianov S.V. Travmatologiya i ortopediya Rossii. 2008. 2 48. pp.57-60.
14. Dianov S.V., Tarasov A.N., Mochalov A.P. Travmatologiya i ortopediya Rossii. 2012. №3 (65). pp. 21-26.