

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.Н. КАРАЗІНА

(повне найменування вищого навчального закладу)

ФІЗИКО-ТЕХНІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

(назва факультету)

КАФЕДРА МЕДИЧНОЇ ФІЗИКИ ТА БІОМЕДИЧНИХ НАНОТЕХНОЛОГІЙ

(повна назва кафедри)

Пояснювальна записка

до дипломного проєкту (роботи)

БАКАЛАВРА

(освітньо-кваліфікаційний рівень)

на тему

укр. Дослідження теплових полів при низькотемпературному впливі

in vitro та *in vivo*

англ. Research of thermal fields at low temperature impact *in vitro* and

in vivo

Виконав(ла): студентка 4 курсу навчання

за ОПП бакалавр

Напрямок підготовки 6.040204 Прикладна фізика

Ніколенко Д.О.

(прізвище та ініціали)



(особистий підпис)

Керівник

к.т.н., с.н.с. ФТІНТ

НАНУ Гордієнко Е.Ю.

(прізвище та ініціали)



(особистий підпис)

Рецензент

д-р. ф.-м. наук, проф.

ФТІНТ НАНУ

Шевченко С.М.

(прізвище та ініціали)



(особистий підпис)

АНОТАЦІЯ

Ніколенко Д.О. – Дослідження теплових полів при низькотемпературному впливі *in vitro* та *in vivo*. – Рукопис.

Дипломна робота бакалавра за спеціальністю 105 «Прикладна фізика та наноматеріали» – Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, Харків, 2024.

43 с., 18 рис., 2 табл., 27 джерел.

Широке застосування локального низькотемпературного впливу на шкіру в медицині обумовлене великим попитом на лікування патологічних утворень шкіри. Однак ефективність цього методу залежить від інтраопераційного контролю процесів заморожування та відігрівання тканин.

Дана робота присвячена дослідженню методом інфрачервоної термографії параметрів теплових полів на поверхні модельних та біологічних об'єктів при локальному низькотемпературному впливі кріоаплікатором.

Для досліджень було розроблено спеціальний вимірювальний комплекс, який має у складі особливий аналізатор низькотемпературних (до $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$) теплових полів. Комплекс дозволяє в режимі реального часу кріовпливу проводити оцінку форми та розмірів зони заморожування, розподілу температури в заданих точках у глибині модельної рідини або біологічної тканини та в будь-якій точці її поверхні. Експерименти проводились на модельних системах (5%-й розчин желатину) *in vitro* та на піддослідних тваринах (щурах) *in vivo* з подальшим кількісним та статистичним аналізом отриманих термограм.

Під час проведення досліджень *in vitro* було отримано параметри динаміки крижаного кому; при дослідженнях *in vivo* було виявлено наявність квазістабільної стадії при відігріванні тканин та зроблено важливий прикладний висновок щодо можливості використання для інтраопераційного контролю тепловізорів зі стандартним діапазоном вимірюваних температур.

Ключові слова: інфрачервона термографія, низькотемпературний вплив, кріоаплікатор, крижана пляма, динаміка теплових полів.

ANNOTATION

Nikolenko D.O. – Research of thermal fields at low temperature impact *in vitro* and *in vivo*. – Manuscript.

Bachelor's thesis in speciality 105 «Applied Physics and Nanomaterials» – V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, 2024.

43 pages, 18 figures, 2 tables, 27 sources.

The wide application of local cryoimpact in medicine is due to high demand for the treatment of pathological skin conditions. However, the effectiveness of this method depends on the intraoperative control of tissue freezing and thawing processes.

This work is devoted to the investigation by infrared thermography of the parameters of thermal fields on the surface of model and biological objects during local low-temperature exposure with a cryoapplicator. A special measuring complex, which includes a specialized analyzer of low-temperature (up to -150°C) thermal fields, has been developed for conducting research. The complex allows real-time assessment of the shape and size of the freezing zone, temperature distribution at specified points within model liquid or biological tissue depth, and at any point on its surface. Experiments were conducted on model systems (5% gelatin solution) *in vitro* and on experimental animals (rats) *in vivo*, followed by quantitative and statistical analysis of the obtained thermograms.

During *in vitro* studies, parameters of the dynamics of a piece of ice were obtained; during *in vivo* studies, the existence of a quasi-stable stage during tissue thawing was revealed, and an important practical conclusion was made regarding the possibility of using thermal imaging systems with a standard range of measured temperatures for intraoperative thermal control.

Keywords: infrared thermography, low-temperature impact, cryoapplicator, ice spot, thermal field dynamics.

ЗМІСТ

ЗМІСТ	4
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	5
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....	8
1.1 Загальні відомості про інтраопераційний контроль низькотемпературного впливу на біологічні об'єкти	8
1.2 Особливості використання інфрачервоної термографії для контролю заморожування та відігрівання біологічних об'єктів.....	9
РОЗДІЛ 2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБЛАДНАННЯ	12
2.1 Лабораторний вимірювальний комплекс.....	12
2.2 Аналізатор низькотемпературних теплових полів	15
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ТЕПЛОФІЗИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ПРИ НИЗЬКОТЕМПЕРАТУРНОМУ ВПЛИВІ НА МОДЕЛЬНИХ СИСТЕМАХ <i>IN</i> <i>VITRO</i>	20
3.1 Дослідження динаміки зростання льодового кому.....	20
3.2 Дослідження динаміки температури у зоні кріовпливу методом прямої термометрії	22
3.3 Дослідження динаміки температури поверхні модельної рідини методом інфрачервоної термографії.....	24
РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ ДИНАМІКИ ТЕПЛОВИХ ПОЛІВ НА ПОВЕРХНІ ШКІРИ ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ПРИ КРІОВПЛИВІ <i>IN VIVO</i>	25
4.1 Матеріали та методи	25
4.2 Кількісний аналіз термограм та термографічного фільму.....	28
4.3 Отримані результати	29
4.3.1 Динаміка розмірів крижаної плями на поверхні шкіри	29
4.3.2 Динаміка температури крижаної плями на поверхні шкіри.....	31
4.4 Статистичний аналіз теплових та часових даних	33
ВИСНОВКИ.....	36
ДОДАТОК А	38
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	40

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АЧТ – абсолютно чорне тіло

ІЧ – інфрачервоний

ІЧТ – інфрачервона термографія

КріоАТП – аналізатор низькотемпературних теплових полів

КСС – квазістабільна стадія

КТ – комп'ютерна томографія

МРТ – магнітно-резонансна томографія

ПК – персональний комп'ютер

УЗД – ультразвукова діагностика

ФПП – фотоприймальний пристрій

ВСТУП

Низькотемпературний вплив на шкіру широко використовується в сфері медицини, зокрема у кріохірургії [1]. Великий попит на кріохірургічний метод для лікування патологічних утворень шкіри обумовлений анатомічними особливостями органа, відсутністю методичних труднощів у доступі до зони кріохірургічного втручання, чудовою візуалізацією операційного поля та відносною простотою післяопераційного догляду. Особливу перевагу мають короточасні кріохірургічні втручання, які не потребують знеболення та можуть бути проведені в амбулаторних умовах. Кріохірургії піддаються понад 80 дерматологічних захворювань, включаючи доброякісні новоутворення, передракові ураження та деякі види злоякісних пухлин. Також кріохірургія використовується для лікування гнійних ран, місцевих запальних процесів, вірусних уражень шкіри тощо [2].

Основним завданням кріохірургії є повна деструкція патологічної тканини за максимального збереження навколишніх здорових тканин. Об'єм зруйнованих тканин залежить від параметрів режиму кріовпливу, таких як досягнута температура, тривалість охолодження, швидкість та кількість циклів процесів заморожування/відігрівання тощо. З метою запобігання рецидиву пухлини, хірурги зазвичай розширюють область кріодеструкції, включаючи оточуючі здорові тканини [3].

Оскільки зона первинного некрозу (зона незворотного ушкодження патологічних тканин, яка завжди менше замороженої зони) має різну температуру для різних типів тканин, важливо в процесі кріодеструкції відслідковувати динаміку розмірів як всієї замороженої області, так і зони первинного некрозу у реальному часі.

Реакція біологічних тканин на кріовплив визначається їх біологічними та фізичними характеристиками, такими як: теплофізичні параметри тканин при поточній температурі, процесами теплопереносу кров'ю, особливостями процесів тканинного метаболізму, зміни концентрації розчинених речовин у клітині та міжклітинній рідині, формування та збільшення розмірів кристалів

льоду, процеси рекристалізації, а також виникнення механічних пошкоджень на субклітинному, клітинному і тканинному рівнях тощо. Більшість цих характеристик індивідуальні і залежать від віку пацієнта, стану шкіри, кровоносних судин, наявних захворювань, локалізації об'єкту деструкції тощо. Важко передбачити динаміку зростання крижаного кому та некротичної зони у різних пацієнтів навіть при однакових режимах кріодеструкції.

Тому результативність кріохірургічного методу в багатьох відношеннях залежить від ефективного контролю процесів заморожування та відігрівання біологічних тканин. Навіть за ретельного планування операції та високої кваліфікації хірурга, необхідний моніторинг самого процесу кріодеструкції. Він повинен включати оцінку руху фронту заморожування (контроль миттєвого об'єму та форми замороженої зони) та контроль динаміки температурного поля як усередині замороженої зони (контроль меж зони первинного некрозу), так і поза нею (контроль безпеки прилеглих тканин). Саме тому в сучасній кріохірургії все більше використовують методи клінічної візуалізації безпосередньо під час хірургічного втручання [4, 5]. «Майбутнє кріохірургії нерозривно пов'язане з технологіями візуалізації, що розвиваються, особливо з тими, які використовуються в реальному часі *in vivo*» [2, с. 749].

Метою даної роботи є дослідження методом інфрачервоної термографії параметрів теплових полів при низькотемпературному впливі на модельних системах *in vitro* та на поверхні шкіри піддослідних тварин *in vivo* з подальшим кількісним та статистичним аналізом отриманих термограм.

Актуальність даної роботи обумовлена широким застосуванням низькотемпературного впливу на шкіру у медичній сфері, зокрема, у кріохірургії, і необхідністю розробки неінвазивних дистанційних методів інтраопераційного контролю.

РОЗДІЛ 1

ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1 Загальні відомості про інтраопераційний контроль низькотемпературного впливу на біологічні об'єкти

Інтраопераційний контроль низькотемпературного впливу на біологічні тканини виконується як за допомогою контактних, так і безконтактних методів, і включає два основних аспекти: моніторинг фронту заморожування та контроль розподілу температури як всередині, так і поза зоною заморожування.

Для контролю за рухом фронту заморожування під час циклу заморожування та відігрівання можуть бути використані методи клінічної візуалізації, які зазвичай застосовуються на етапі діагностики для визначення розмірів та форми новоутворення. Серед них на перше місце виходить контактний метод ультразвукової діагностики (УЗД) [3, 5], а також безконтактні методи, серед яких: рентгенівська комп'ютерна томографія (КТ) та магнітно-резонансна томографія (МРТ) [5]. Але ці методи не надають інформації про розподіл температури та їх складно використовувати в процесі проведення кріохірургічних операцій, особливо в амбулаторних умовах.

Моніторинг температурного поля під час кріотерапії може здійснюватися за допомогою контактних і безконтактних методів. Контактні, або інвазивні, методи часто включають в себе використання термопар і напівпровідникових чи металевих термометрів опору [6, 7].

Серед безконтактних методів контролю температури важливе місце займає перспективна техніка МРТ-термометрії, яка застосовується з використанням відкритого МРТ-сканеру. Цей метод дозволяє проводити операцію та візуалізацію одночасно [8].

Інші безконтактні методи моніторингу ґрунтуються на вимірюванні температури поверхні за допомогою інфрачервоних (ІЧ) датчиків [9] або

тепловізорів, а після цього проводиться модельний аналіз розподілу теплових полів у глибину тканин.

Інфрачервона термографія представляє собою дистанційний неінвазивний метод функціонального аналізу, який дозволяє контролювати процеси заморожування. Розподіл і динаміка температурних полів на поверхні об'єкта відображають різноманітні фізичні, фізіологічні та біохімічні процеси, що відбуваються всередині тканин і пов'язані з поглинанням або виділенням тепла. Термографія широко використовується для ранньої діагностики понад 150 форм захворювань, для контролю динаміки захворювання та оцінки ефективності лікування [10, 11], а також дозволяє контролювати процеси заморожування [12-15].

1.2 Особливості використання інфрачервоної термографії для контролю заморожування та відігрівання біологічних об'єктів

Сучасні інфрачервоні камери, що базуються на неохолоджуваних масивах мікроболометрів, вирізняються високою просторовою роздільною здатністю, температурною чутливістю і швидкодією [16]. Це дозволяє з високою точністю аналізувати швидкі процеси. Такі камери також економічні, компактні і не потребують спеціальних технічних або комп'ютерних навичок для роботи й обробки зображень.

Проте, не дивлячись на переваги, цей перспективний метод клінічної візуалізації не часто використовується в кріотерапії (і в медицині взагалі) через недостатньо вивчену патофізіологічну основу теплових зображень і відсутність клінічних протоколів з кількісним аналізом цих зображень [17]. Ще однією додатковою перешкодою для використання тепловізорів в кріохірургії є обмежений діапазон вимірювання негативних температур, що для більшості комерційних пристроїв обмежений $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ [16]. Цей діапазон достатній для контролю температур, необхідних для руйнування більшості доброякісних новоутворень, але недостатній для злякисних новоутворень з температурою некрозу $T_{nec} < -40\text{ }^{\circ}\text{C}$ [3]. Таким чином, існує серйозне

обмеження на використання стандартних тепловізорів для контролю у реальному часі руху границь зони некрозу деяких типів тканин.

Отримання термограми живого об'єкта та її аналіз стикаються з рядом проблем та особливостей. Медичні тепловізори вимірюють потужність інфрачервоного (ІЧ) випромінювання з поверхні досліджуваного біологічного об'єкта в діапазоні спектральної чутливості 7 – 14 мкм, що відповідає температурному діапазону тіл теплокровних живих об'єктів. У цьому діапазоні біологічні тканини практично не пропускають ІЧ-випромінювання (воно згасає на відстані менше 0.1 мм). Таким чином, тепловізор реєструє лише «тепловий відбиток» на поверхні шкіри, що відображає внутрішні теплові поля, які нас цікавлять.

Основним механізмом передачі тепла із глибини тканин на поверхню шкіри є теплопровідність. Теплопередача конвективним механізмом (з потоком крові) стає суттєвою лише у шарі підшкірної клітковини, де радіус судин перевищує 50 мкм, тобто на глибині 1 – 7 мм, залежно від ділянки тіла. З урахуванням цього для оцінки внутрішніх теплових полів за тепловим відбитком на поверхні використовуються різні розрахункові моделі.

Для мінімізації похибки в дистанційному вимірюванні поверхневого температурного поля термограма отримується відповідно до загальноприйнятих кліматичних та інших вимог (з урахуванням площі приміщення, відсутності додаткових джерел тепла чи холоду, предметів з високим коефіцієнтом відбиття ІЧ випромінювання та ін.) [18]. Крім того, необхідно враховувати певні умови підготовки пацієнта до термографування. Однак, навіть при дотриманні всіх правил отримання термограми, це є лише першим етапом тепловізійного аналізу. Для отримання достовірної інформації про внутрішні процеси, що викликали дане теплове поле на поверхні, необхідно враховувати оптичні, теплофізичні та інші характеристики тканин, з урахуванням індивідуальних особливостей досліджуваного об'єкта. Для досягнення цієї мети важливо провести кількісний аналіз розподілу температур та їх динаміки у вибраних областях

інтересу. Іншими словами, створити індивідуальну методику тепловізійного аналізу, що враховує особливості кожного конкретного завдання та об'єкта дослідження.

Оскільки доступні лише поверхневі теплові поля для вимірювання, оцінка об'ємних меж зони некрозу методом інфрачервоної термографії (ІЧТ) вимагає впевненості, що поверхнєве теплове поле відображає розподіл температури у глибину тканин і можливо провести оцінку внутрішніх теплових полів.

Наприклад, при використанні точкового плоского кріоаплікатора для правильної оцінки глибини промерзання крижаної зони, форма крижаної області повинна бути правильною півкулею, а не сегментом (тобто радіус крижаної плями на поверхні повинен відповідати глибині промерзання) [15]. Це накладає певні обмеження на швидкість, кінцеву температуру та тривалість охолодження.

Також виникає проблема з використанням відносної шкали температур [11] (поширений підхід при використанні ІЧТ в медицині) через можливий спазм судин, що може призвести до зниження температури в обраній еталонній області [14]. Такі аспекти потребують ретельного врахування та корекції при інтерпретації даних, отриманих за допомогою ІЧТ в медичних дослідженнях.

Підсумовуючи, можна сказати, що інфрачервона термографія як метод контролю температурного поля під час кріодеструкції, має обмеження через доступність поверхневих теплових полів та обмеженому діапазоні вимірюваних температур тепловізорів. Тому контроль динаміки об'єму первинного некрозу можливий лише в певних режимах кріовпливу. Але термографія забезпечує неінвазивний дистанційний моніторинг руху льоду, форми крижаної плями, і поверхневого теплового поля, як усередині, так і поза операційною ділянкою. Також, вона може бути використана як додатковий метод діагностики перед операцією та для контролю післяопераційного періоду.

РОЗДІЛ 2

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБЛАДНАННЯ

2.1 Лабораторний вимірювальний комплекс

Для дослідження теплофізичних процесів при низькотемпературному впливі *in vitro* (на модельних системах) та *in vivo* (на біологічних об'єктах) було спеціально розроблено та створено оригінальну установку – лабораторний вимірювальний комплекс. Комплекс призначений для симуляції та аналізу процесів заморожування/відтавання *in vitro* з метою прогнозування обсягу заморожування під час кріодеструкції біологічних тканин *in vivo*. Комплекс дозволяє проводити спостереження та відеофіксацію процесу заморожування з декількох точок, розміщувати термометри опору у заданій зоні модельної рідини та підтримувати її температуру.

Схему розташування обладнання, що входить до складу лабораторного вимірювального комплексу при проведенні дослідження *in vitro*, представлено на рисунку 2.1.

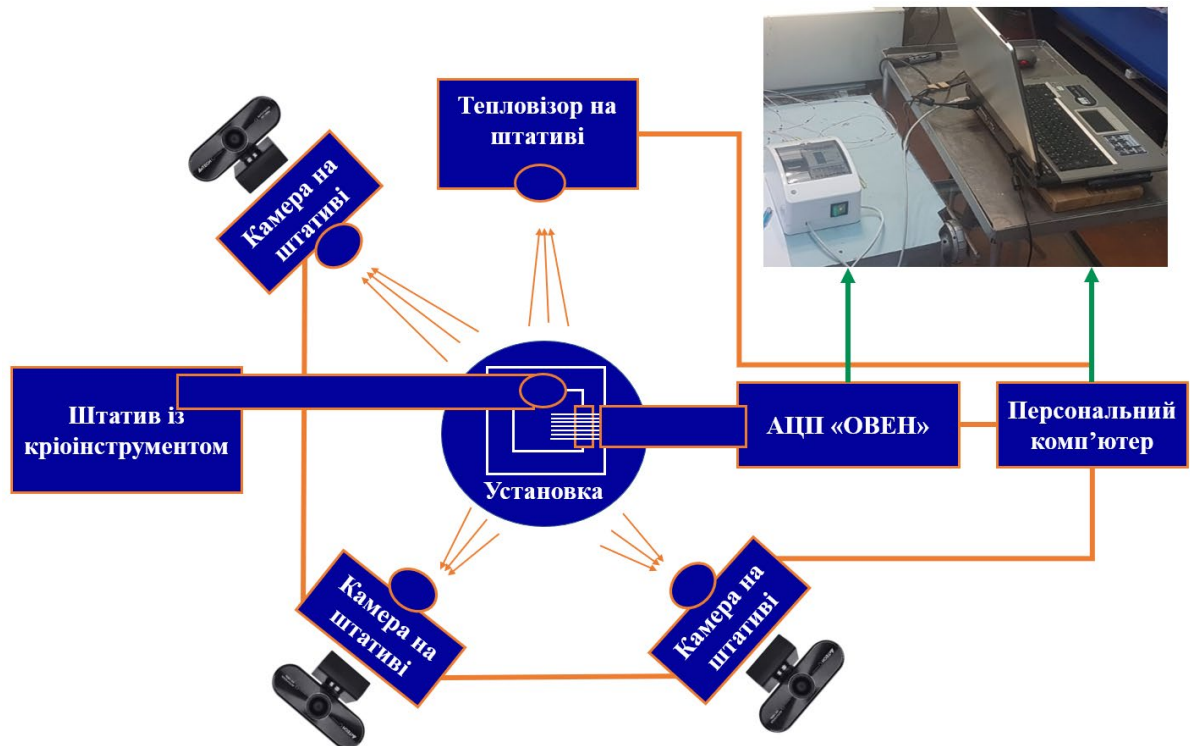


Рис. 2.1 Схема розташування експериментального обладнання

Комплекс, що використовується при низькотемпературному впливі *in vitro*, має наступні основні складові:

1. Дві ємності (ванни), виготовлені із прозорого пластику товщиною 2 мм, які розміщуються одна в одній (рис. 2.2, а). Ванна 1 ємністю 1.6 л призначена для розташування в ній модельних рідин. У два суміжні кути ванни 2 (ємністю 6.5 л) вмонтовані на різній висоті L-подібно вигнуті металеві трубки діаметром 10 мм для підводу та відводу зігріваючої рідини. У ванні 1 розміщено пристрій для фіксації ряду термометрів опору (або термопар) у зоні кріовпливу;
2. Циркуляційний рідинний термостат із насосом «MLW» модель UN8 («MLW», Німеччина), що приєднаний до ємності і призначений для прокачування теплоносія по зовнішньому контуру;
3. Ряд мікротермометрів опору («Овен», РФ), розміщених у зоні інтересу (зоні кріовпливу) і призначених для прямого вимірювання поточної температури в обраних точках. Термометри підключені до модуля аналогового вводу «Овен МВ-110», з якого дані передаються на перетворювач інтерфейсів «Овен АС4», а далі – на персональний комп'ютер (ПК). Дані записуються та аналізуються за допомогою програм «Owen Process Manager 1.2» й «Owen Report Viewer 1.2»;
4. Оригінальний кріоінструмент аплікаційного типу (кріоаплікатор) призначений для кріовпливу на поверхні модельних або біологічних систем. Інструмент фіксується на штативі у необхідному положенні (рис. 2.2, б) з можливістю плавного переміщення. Кріоаплікатор виготовлений у ІПКіК НАН України, є за конструкцією інструментом заливного типу і активно охолоджується рідким азотом з температурою кипіння $T = -195.75\text{ }^{\circ}\text{C}$. Холодопродуктивність дозволяє отримувати на поверхні мідного наконечника температуру $T = -(192 \dots 194.8)\text{ }^{\circ}\text{C}$. Діаметр наконечника аплікатора становить 5 або 8 мм;
5. Тепловізор КріоАТП (аналізатор низькотемпературних теплових полів), зафіксований на штативі у необхідному положенні (рис. 2.2, в). Прилад

призначений для спостереження та автоматичної зйомки динаміки теплових полів (до $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$) на поверхні об'єкту, що досліджується (термографічного фільму). Більш детально конструкцію та параметри КріоАТП приведено у підрозділі 2.2.;

6. Відеокамери Redmi 9C NFC і Samsung Galaxy A32 (або веб-камери) розміщені на штативах і призначені для фото- та відео реєстрації динаміки зростання та відтавання льодового кому у реальному часі з різних ракурсів;
7. Комп'ютер для керування системами спостереження та автоматичного запису даних, на моніторі якого у реальному часі відображаються фільми у видимому та інфрачервоному діапазоні та динаміка показників термометрів.



а



б



в

Рис. 2.2 Складові установки: а – дві ванни з пристроєм для фіксації термометрів; б – штатив з кріоінструментом; в – тепловізор КріоАТП у положенні зйомки

Лабораторний комплекс дозволяє використовувати різні кріоінструменти та режими заморожування/відтавання, варіювати склад та температуру модельної рідини, імітувати наявність великих судин тощо. Таким чином, лабораторний комплекс дозволяє в режимі реального часу кріовпливу *in vitro* одночасно і синхронно проводити оцінку динаміки форми та розмірів зони заморожування, розподілу температури в заданих точках у глибині модельної рідини та в будь-якій точці її поверхні.

2.2 Аналізатор низькотемпературних теплових полів

Однією з найважливіших складових лабораторного вимірювального комплексу є оригінальна тепловізійна камера КріоАТП, призначена для вимірювання динаміки низькотемпературних (до $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$) теплових полів на поверхні об'єктів, що досліджуються. Камера розроблена у ФТІНТ НАН України спеціально для наукових досліджень [19]. КріоАТП є системою з оптико-механічним скануванням. У приладі використовується охолоджуваний рідким азотом одиночний КРТ детектор ($\text{Hg}_{0.2}\text{Cd}_{0.8}\text{Te}$), що має область спектральної чутливості 7 – 14 мкм. Як видно з блок-схеми (рис. 2.3), КріоАТП складається з трьох основних модулів: 1) фотоприймального пристрою (ФПП), до складу якого входить сам приймач, система його охолодження і попередній підсилювач; 2) оптико-механічного блоку, до складу якого входить модулятор (шторка), сканер та об'єктив; 3) електронного блоку, до складу якого входить контролер сканера та процесор обробки відеосигналу.

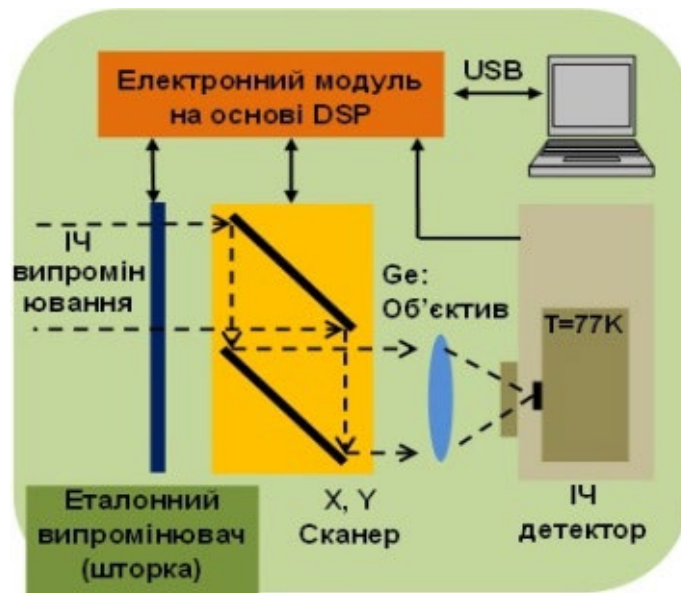


Рис. 2.3 Блок-схема КріоАТП

Випромінювання від об'єкта, що досліджується, потрапляючи через фокусуєчі лінзи (об'єктив) на детектор, генерує електричний сигнал. Оскільки механічний сканер здійснює переміщення миттєвого поля зору

детектора щодо об'єкта, що досліджується, розподіл теплового поля об'єкта перетворюється на послідовність електричних сигналів. Подальшу їх цифрову обробку, а також зберігання та відображення отриманих теплових зображень (термограм) здійснює ПК. Повне зображення прямокутного формату досягається шляхом використання комбінації двох розгортки – рядкової (горизонтальної) та перпендикулярної до неї кадрової, що здійснюються коливанням двох інфрачервоних дзеркал.

Вимірювання температури об'єктів, що потрапляють у поле зору системи проводиться відносно температури модулятора (шторки), який є еталонним випромінювачем з відомими параметрами (температура, коефіцієнт випромінювання ε). Для діапазону температур $+200 \dots -20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ [20], використовується почорнена шторка з $\varepsilon = 0.98$.

Максимум ІЧ випромінювання тіла, охолодженого до 90 K (мінімальна температура, що досягається на поверхні шкіри при використанні азотного кріоінструменту), становить близько 32 мкм . Таким чином на приймач потрапляє лише частина випромінювання, яка визначається областю чутливості приймача. Виходячи з параметрів приймача та оптичної системи, низькотемпературна межа діапазону вимірюваних температур становить $-150 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Для поліпшення точності вимірювання температури холодних об'єктів (нижче $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$) на вході оптичного блоку приладу як еталонне джерело випромінювання використовується спеціальна шторка з комбінованим коефіцієнтом випромінювання. Для цього в центрі на її поверхні, покритій чорним кольором, закріплене невелике дзеркало, що забезпечує ефективне відображення випромінювання в широкому діапазоні спектра довжин хвиль (рис. 2.4).

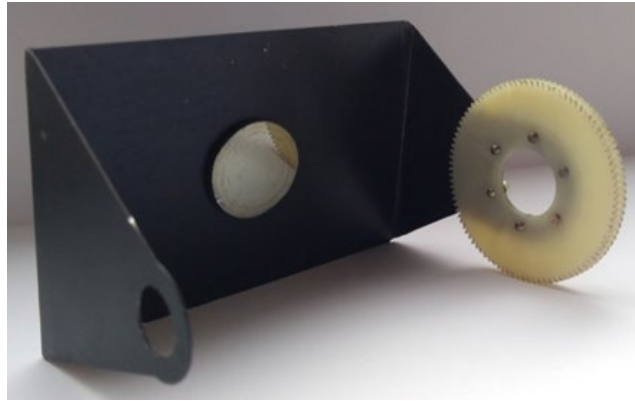


Рис. 2.4 Зовнішній вигляд шторки КріоАТП

У цьому випадку для кожного пікселя термограми як опорне використовується диференціальне значення відгуку детектора на почорнену і дзеркальну ділянки шторки. Відносна похибка вимірювання складає 3 % для об'єктів з температурою $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ [19].

У таблиці 2.1 нижче приведено параметри КріоАТП.

Таблиця 2.1 Параметри КріоАТП

Тип приймача, робоча температура	Одноелементний CdHgTe, 90 K
Число елементів роздільної здатності	256 × 256
Спектральний діапазон, мкм	7 – 14
Частота кадрів, Гц	2
Температурна чутливість при 30 °C, °C	0.1
Просторова розподільна здатність, мрад	1.5
Діапазон вимірювальних температур, °C	-150 ... + 100
Поле зору, град	22 H × 22 V

Отримання теплового зображення об'єктів на моніторі ПК, а також керування відеоблоком КріоАТП здійснюється через інтерфейс користувача оригінального програмного забезпечення, розробленого мовою DELPHI під операційну систему Windows. Інтерфейс користувача програмного

забезпечення ПК має широкий набір основних функцій (близько 20-ти), у тому числі (рис. 2.5):

- Вимірювання абсолютної температури в будь-якій точці чи області;
- Можливість вибору різних колірних палітр;
- Автоматичну установку динамічного діапазону;
- Можливість усереднення теплового зображення по декількох кадрах (підвищення якості);
- Вимірювання у будь-якій точці термограми перевищення температури над заданою;
- Поліпшення якості теплового зображення за допомогою декількох варіантів фільтрації;
- Побудову термопрофілів в будь-якій позиції;
- Побудову ізотерм в будь-якому напрямі;
- Маркування і визначення площі області, температура якої більше (менше, дорівнює) заданої;
- Автоматичне визначення максимальної, середньої і мінімальної температур усієї термограми чи виділеного фрагмента;
- Можливість швидкого перегляду записаних термограм при працюючій камері тощо.

Нижче (рис. 2.5) представлено зовнішній вигляд інтерфейсу користувача КріоАТП.

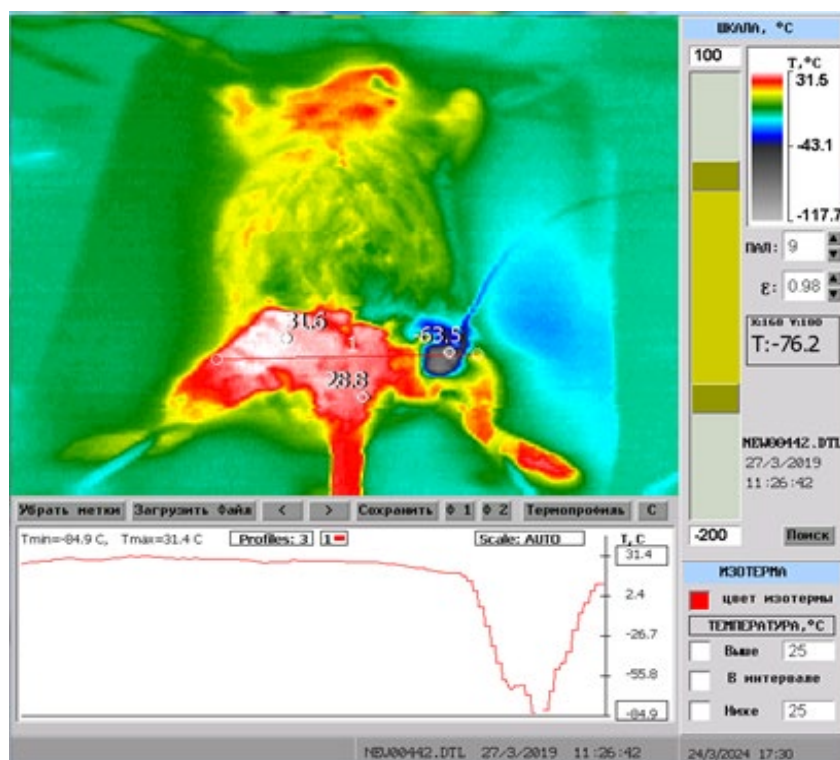


Рис. 2.5 Интерфейс користувача КріоАТП

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ТЕПЛОФІЗИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ПРИ
НИЗЬКОТЕМПЕРАТУРНОМУ ВПЛИВІ НА МОДЕЛЬНИХ СИСТЕМАХ *IN VITRO*

3.1 Дослідження динаміки зростання льодового кому

На лабораторному вимірювальному комплексі (див. 2.1) було проведено дослідження теплофізичних процесів при низькотемпературному впливі на модельні системи *in vitro*. Для удосконалення методики вимірів як модельну систему було попередньо використано солону воду. Прозорість такої системи надавала можливість більш чітко спостерігати за динамікою льодового кому, що зростає в процесі кріопливу. Також в процесі досліджень було використано гель 5 %-го розчину желатину. Така модельна система є найбільш наближеною до реальної біологічної тканини [21]. Кріовплив здійснювався оригінальним кріоаплікатором, що активно охолоджувався рідким азотом (див. 2.1). На рисунку 3.1 приведено зовнішній вигляд кріоінструменту при триманні у руці.



Рис. 3.1 Зовнішній вигляд азотного кріоаплікатора

Зафіксований на штативі кріоінструмент (див. рис. 2.2, б) плавно переміщувався до моменту дотику його наконечника діаметром 8 мм до

поверхні води або гелю. Дві відеокамери (див. 2.1) дозволяли спостерігати на екрані комп'ютера за динамікою зростання льодового кому.

Одразу після дотику аплікатора до поверхні гелю спостерігалася утворення крижаної зони, діаметр якої на поверхні гелю приблизно в півтора рази перевищував глибину проморожування. В цій початковій стадії також спостерігалася найбільша швидкість охолодження та росту льоду. При подальшому зростанні (приблизно після 1.5 хв охолодження) крижаний ком досягав майже напівсферичної форми, яка залишалася такою протягом всього кріовпливу (15 хв). При цьому швидкість зростання та охолодження льоду поступово сповільнювалися. Типовий графік збільшення розмірів кому льоду при кріовпливі протягом 15 хвилин приведено на рисунку 3.2. На цьому графіку зелена крива демонструє зростання діаметру льодового кому, помаранчева – глибини проморожування.

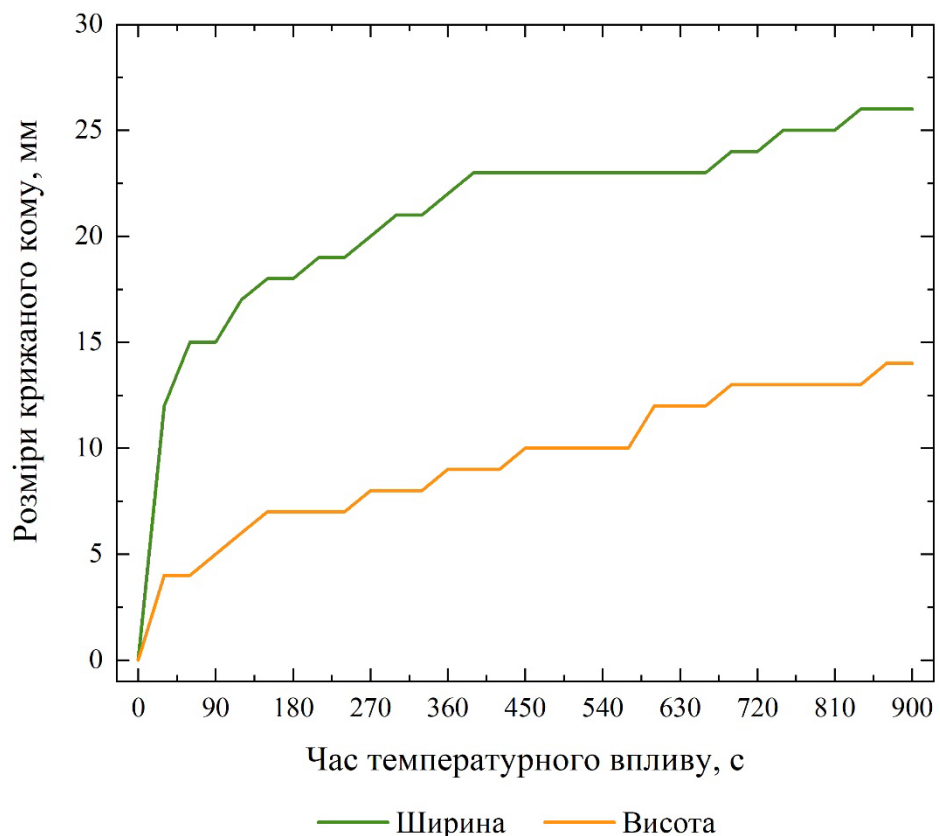


Рис. 3.2 Типовий графік збільшення розмірів кому льоду

З графіку можна бачити, що динаміка збільшення висоти і ширини напівкому була подібна. Розбіжність у висоті і ширині напівкому льоду треба враховувати при прогнозуванні розташування ізотерм в масиві льоду на підставі аналізу температурних полів, отриманих тепловізійним методом.

3.2 Дослідження динаміки температури у зоні кріовпливу методом прямої термометрії

Вивчення динаміки температури у зоні низькотемпературного впливу проводили на модельній системі з гелем 5 %-го розчину желатину. Результати тепловізійного дослідження динаміки росту розмірів льодової плями у зоні заморожування та розподілу температури в ній збігалися з результатами прямої термометрії (за даними термометрів у відповідних точках) та відповідними розмірами льодового кому (за результатами аналізу відеозаписів з камер).

Дослідження динаміки температури у зоні кріовпливу проводили на модельній системі з гелем желатину (5%-й розчин) за допомогою набору мікротермометрів опору (див. 2.1), розташованих у відповідних точках. Поточні температурні данні з кожного термометра виводилися на екран ПК і фіксувалися. Схему розташування термометрів приведено на рисунку 3.3, типовий графік динаміки температури у зоні низькотемпературного впливу – на рисунку 3.4.

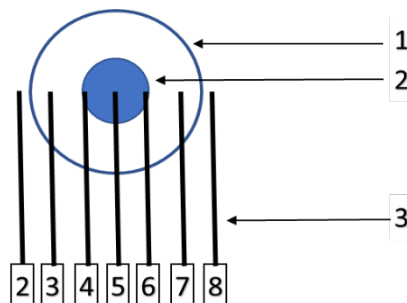


Рис. 3.3 Схema розташування термометрів № 2...8. Термометр №1 фіксував температуру зовнішнього середовища.

Примітки: 1 – зона низькотемпературного впливу, 2 – проекція робочої поверхні кріоаплікатора, 3 – термометри опору

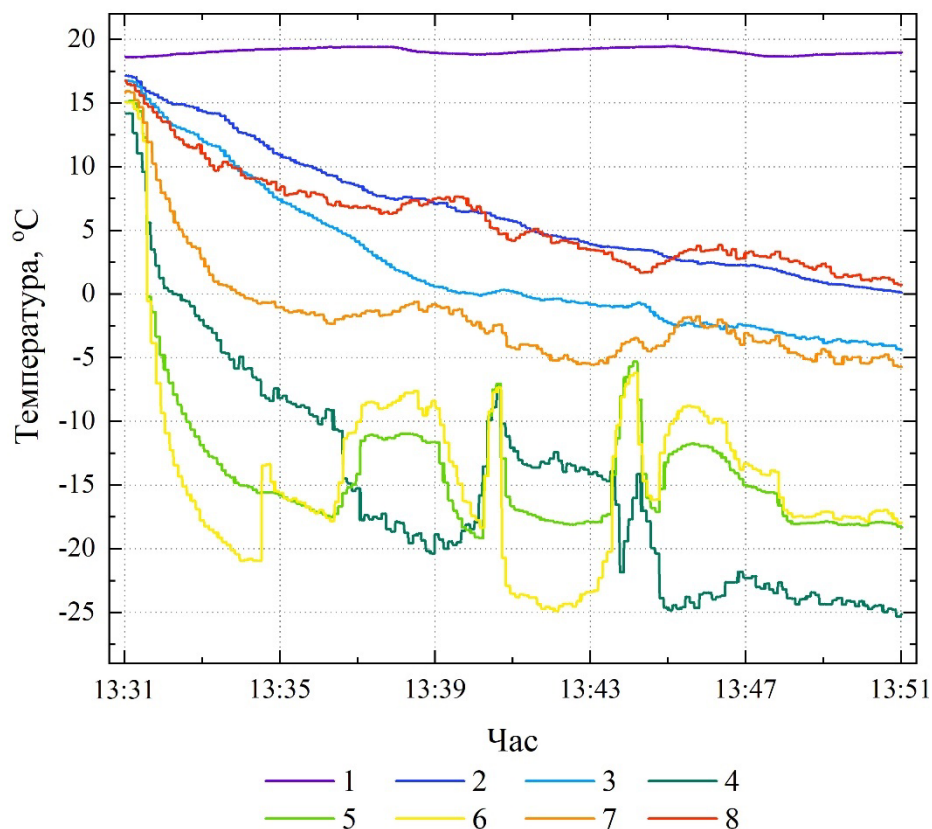


Рис. 3.4 Динаміка температури за методом прямої термометрії

Як можна побачити на графіку (рис. 3.4) в перші секунди після початку кріовпливу спостерігалось різке зниження температури, найбільш виражене у безпосередній близькості до робочої поверхні кріоаплікатора. Термометри опору, які знаходилися найближче до кріоаплікатора (№ 4, 5, 6) фіксували температуру близько 0°C відразу після початку впливу, охолодження до температури нижче -20°C реєстрували через 2.5 хв. Через 11 хв температура досягала приблизно -25°C (№ 6), зниження температури нижче -24.9°C не відбувалося до кінця експерименту (15 хв кріопливу). Коливання температури у вигляді «сходинок» на графіку ми пояснюємо екзотермічними процесами при утворенні кристалів льоду.

Дані термометрів розташованих на більшій відстані від робочої поверхні кріоінструмента свідчать про подібну до вищенаведеної динаміку температури, проте зниження температури в цієї зоні було більш повільне, а мінімальна температура не знижувалась нижче -5.5°C .

3.3 Дослідження динаміки температури поверхні модельної рідини методом інфрачервоної термографії

Для дистанційного вимірювання температури поверхні модельної рідини у зоні кріовпливу використовувалася спеціальна інфрачервона камера з розширеним до $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ діапазоном температур, що вимірюються (див. 2.2). За результатами тепловізійного дослідження (рис. 3.5) було встановлено, що у перші секунди кріовпливу температура поверхні гелю у проекції розташування термометрів опору №4 і 6 різко знижувалась до негативних значень. Через 2.5 хв температура у цих зонах досягала $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ і в цілому відповідала значенню прямої термометрії, через 11 хв впливу при термографуванні поверхні в цих точках було зафіксовано $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

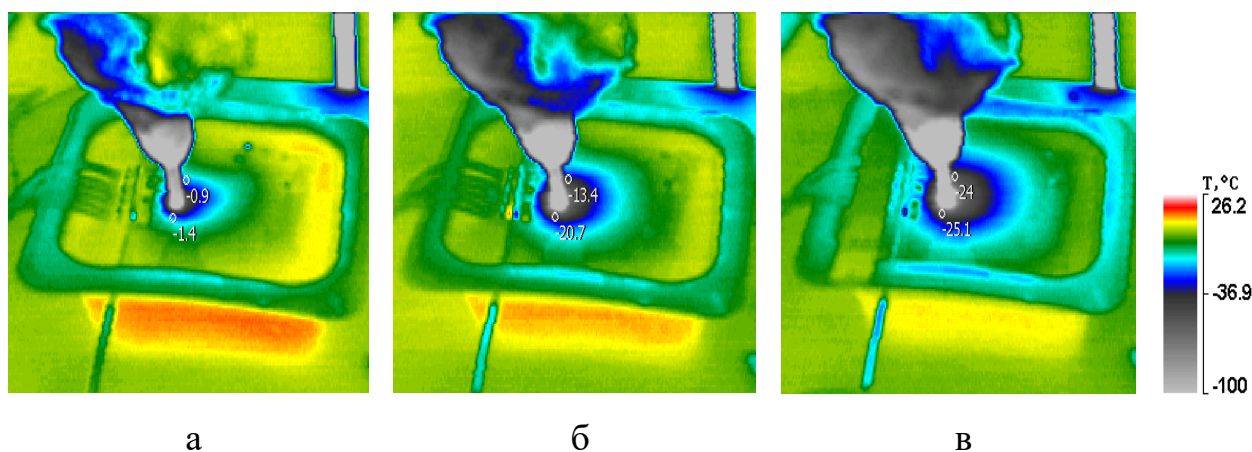


Рис. 3.5 Термограми поверхні гелю: а – у перші секунди кріовпливу; б – через 2.5 хв після початку кріовпливу; в – через 11 хв після початку кріовпливу

Таким чином, тепловізійне дослідження продемонструвало гарний збіг отриманих результатів з даними прямої термометрії. Використаний спеціальний тепловізор КріоАТП дозволяє коректно вимірювати температуру поверхні в процесі низькотемпературного впливу.

За результатами цього напряму дослідження було підготовлено тези та постер доповіді «Pilot study of temperature field dynamics with cryoimpact *in vitro*» на міжнародну конференцію CM<P-2024 (див. Додаток А).

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ДИНАМІКИ ТЕПЛОВИХ ПОЛІВ НА ПОВЕРХНІ ШКІРИ
ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ПРИ КРІОВПЛИВІ *IN VIVO*

4.1 Матеріали та методи

Для дослідження динаміки теплових полів на шкірі піддослідних тварин при кріовпливі *in vivo* було використано метод функціональної неінвазивної дистанційної термографії.

Відповідно до розрахункової моделі [22], об'єм тканин, заморожених проникаючим точковим кріозондом, має сферичну форму із радіальним розподілом температури. Як було підтверджено результатами *in vitro*, об'єм замороженої зони, викликаний дією на поверхню контактного квазіточкового кріоаплікатора, при відповідних умовах має напівсферичну форму з радіальним розподілом температури на поверхні і в глибину тканин [23].

Швидкість охолодження тканин є істотним чинником, що впливає на активність метаболічних процесів в клітинах, а при низьких температурах швидкість хімічних реакцій настільки мала, що метаболічні процеси в органелах практично припиняються [24]. Оскільки ми заморожували тканини до низьких температур з високою швидкістю, очевидно, що індивідуальними особливостями метаболізму в зоні заморожування можна знехтувати.

У зв'язку з вищевикладеним наше дослідження засноване на двох припущеннях:

- Кругла крижана пляма на поверхні шкіри від точкового кріоаплікатора розглядається як діаметральний перетин півсферичного об'єму замороженої тканини. Радіальний розподіл температури в крижаній плямі на поверхні відповідає радіальному розподілу температури в об'ємі крижаної півсфери. В цьому випадку моніторинг динаміки теплового поля на шкірі в реальному часі забезпечує кількісні значення параметрів замороженого об'єму, включаючи глибину заморожування або некрозу, у будь-який момент циклу заморожування/відтавання;

- Миттєвий розподіл теплового поля усередині замороженої зони визначається лише залежними від температури теплофізичними параметрами цього типу тканини. Тоді миттєве положення ізотерми первинного некрозу можна оцінити, вимірявши одночасне розташування більш високотемпературних ізотерм, наприклад ізотерми кромки льоду ($T_0 \approx 0^\circ\text{C}$).

Базуючись на цих припущеннях, за динамікою теплової плями на поверхні шкіри ми мали змогу оцінювати динаміку об'ємних параметрів льодової зони, у тому числі хід межі льодового кому (нульової ізотерми) та некротичної ізотерми в глибині тканин.

Для кріовпливу використовувався контактний кріозонд, що активно охолоджувався рідким азотом (див. 2.1). Мідний наконечник кріозонду діаметром 8 мм і товщиною 1 мм вважається точковим джерелом холоду для тварини. Температура наконечника, виміряна мідь-константановою термопарою до контакту зі шкірою, складала $-192\dots-194,8^\circ\text{C}$.

Дослідження проводилося на 6-місячних білих щурах-самцях (40 тварин) відповідно до вимог Комітету з біоетики ІПКіК на основі «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних і інших наукових цілях» (Страсбург, 1986, [25]). Телазол (ZoetisInc., США) застосовували в дозі 50 міліграм/кг внутрішньом'язово для знеболення тварин. Тварина з видаленою (сухою депіляцією) шерстю на досліджуваних ділянках фіксувалася на горизонтальній теплоізолюючій поверхні спинкою вгору. Кріовплив проводили шляхом контакту наконечника кріозонду зі шкірою на бічній поверхні стегна протягом 0.5, 1, 1.5 та 2 хв (по 10 тварин на кожний час заморожування).

Для дистанційного моніторингу використовувалася спеціально розроблена ІЧ камера з розширеним до -150°C діапазоном температур, що вимірюються (КріоАТП) (див. 2.2).

Блок-схему експерименту та теплове зображення процесу кріовпливу приведено на рисунку 4.1.

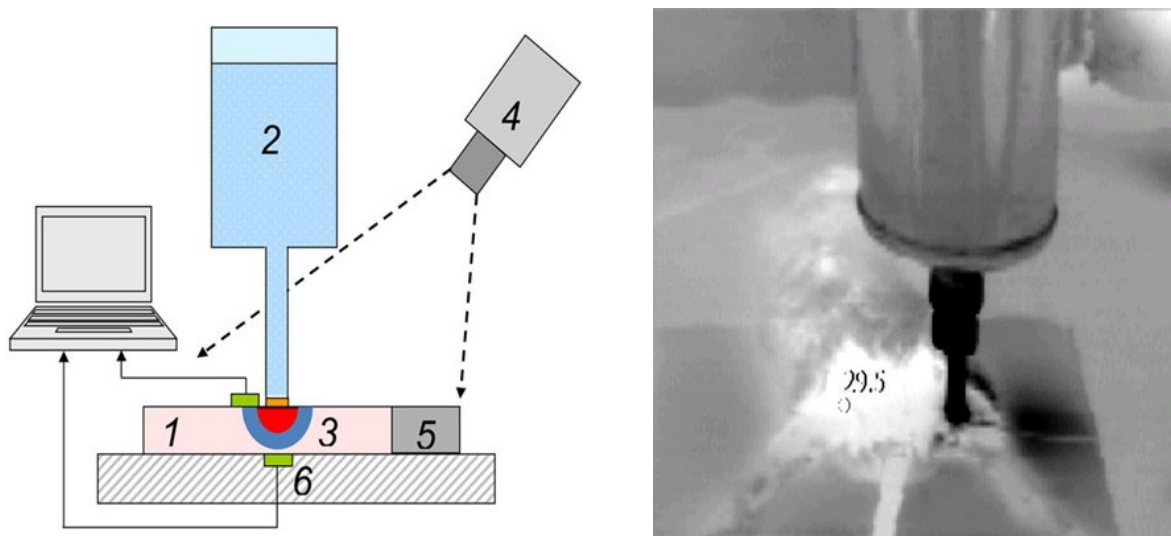


Рис. 4.1 Дослідження кріовпливу *in vivo*: ліворуч – блок-схема експерименту (1 – тварина, 2 – кріоаплікатор, 3 – зона льоду (синя) та некрозу (червона), 4 – тепловізор КріоАТП, 5 – АЧТ, 6 – термопари); праворуч – теплове зображення щура та кріоінструмента в процесі заморожування [15]

Інфрачервона камера розміщувалася на штативі на відстані 1 м від досліджуваної області з постійним кутом нахилу. Температура моделі абсолютно чорного тіла (АЧТ), розташованої поруч з твариною, використовувалася як еталон для вимірювання абсолютної температури і контролю умов навколишнього середовища. Термопара, розташована на зворотному боці стегна тварини, фіксувала момент рівності глибини промерзання і товщини стегна тварини (момент наскрізного проморожування). У деяких експериментах на верхній поверхні шкіри в області інтересу кріпилася додаткова термопара. Для спрощення кількісного аналізу ми взяли $T_0 = 0\text{ }^{\circ}\text{C}$, оскільки різниця між температурою замерзання чистої води і досліджуваної тканини ($\approx -0,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ [3]) не перевищує похибки вимірювання абсолютної температури будь-якою ІЧ камерою. Ми використовували значення температури некрозу $T_{\text{нес}} \leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ для даного типу тканин [26]. Перед початком кріовпливу отримувалася базова

термограма щура. В процесі кріовпливу та наступного природного відігрівання запис теплових зображень проводився автоматично кожні 2 с протягом півгодини (термографічний фільм).

4.2 Кількісний аналіз термограм та термографічного фільму

Метою кількісного аналізу термограми або термографічного фільму є отримання інформації про динаміку температурних полів в області інтересу та у будь якій точці поверхні об'єкту протягом кріовпливу, відтавання та подальшого відігрівання.

Кількісний аналіз термограми здійснювали за допомогою функцій інтерфейсу користувача програмного забезпечення тепловізору КріоАТП (див. 2.2 та рис. 2.4). З електронного архіву завантажували файл з окремою термограмою. За допомогою відповідних функцій програмного забезпечення встановлювали коефіцієнт випромінювання шкіри (0.98), палітру кольору, яскравість, температурний діапазон теплового зображення, виходячи із зручності сприйняття, і проводили необхідні виміри (наприклад, температури в будь-якій точці) або дії (побудову термопрофілів в будь-якій позиції; побудову ізотерм; маркування і визначення площі області, температура якої більше (менше або дорівнює) заданої; автоматичне визначення максимальної, середньої і мінімальної температур виділеного фрагмента тощо).

Аналіз термографічного фільму (серії послідовних термограм) здійснювали аналогічно, оскільки кожен кадр фільму являє собою окрему термограму. Кожна така термограма зафіксована у певний момент циклу охолодження/відігрівання тканин, тому містить інформацію про динаміку температурних полів в області інтересу та у контрольній області (симетрична ділянка шкіри, що не охолоджується). На рисунку 4.2 наведено приклад отримання інформації про просторові та часові зміни розподілу температури на поверхні шкіри через функцію «температурний профіль». Профілі є результатом аналізу термограм, записаних у пам'ять ПК через 1, 4 та 25 с

після припинення кріовпливу тривалістю 1 хв. Нижче приведено термограму (через 4 с) з відміченими на неї термопрофілем (стрілка) (рис. 4.2).

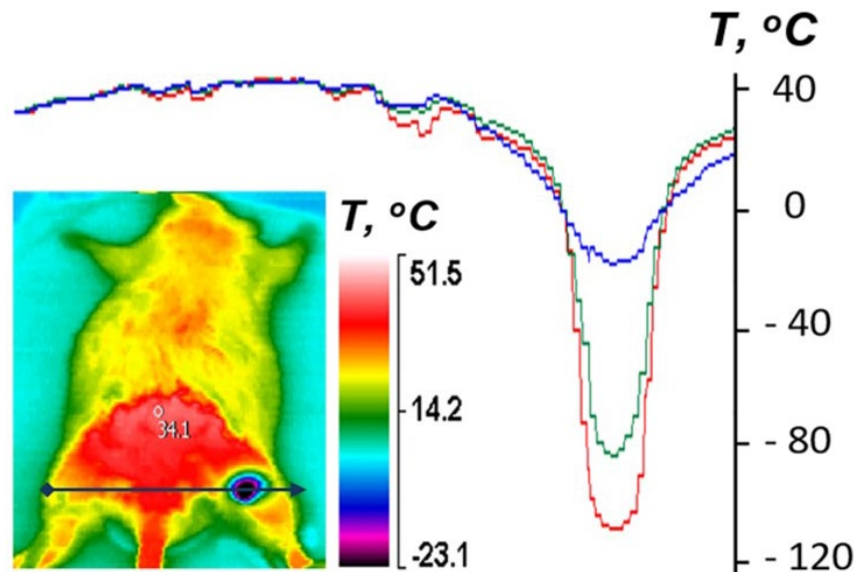


Рис. 4.2 Температурні профілі через область інтересу (кріовпливу) та контрольну область через 1, 4 і 25 с після припинення кріовпливу тривалістю 60 с (червона, зелена та синя криві відповідно). На вставці ліворуч – термограма щура з відміченим положенням термопрофілю

4.3 Отримані результати

4.3.1 Динаміка розмірів крижаної плями на поверхні шкіри

Динаміка діаметру крижаної плями вимірювалась наступним чином: в області інтересу (кріовпливу), рухаючи курсор, знаходилися дві діаметрально протилежні точки (пікселі зображення) з температурою $T_0 = 0\text{ }^{\circ}\text{C}$, розташовані на температурному профілі, проведеному через центр плями. Різниця їх координат по осі абсцис вважалася (з точністю $\pm 0.5\text{ мм}$) поточним діаметром крижаної плями. Виміри повторювали для обраних послідовних термограм фільму.

Типова часова залежність діаметру крижаної плями при кріовпливі тривалістю 30 с і подальшому природному відігріванні представлена на рисунку 4.3. Через функцію температурних профілів також була проаналізована динаміка розподілу температури всередині і ззовні крижаних плям, а також спостерігалось миттєве положення ізотерми первинного

некрозу з $T_{nec} \leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Момент закінчення відтавання крижаного плями фіксувався при досягненні мінімальної температури (зазвичай в центрі крижаної плями) значення $T_{min} = 0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

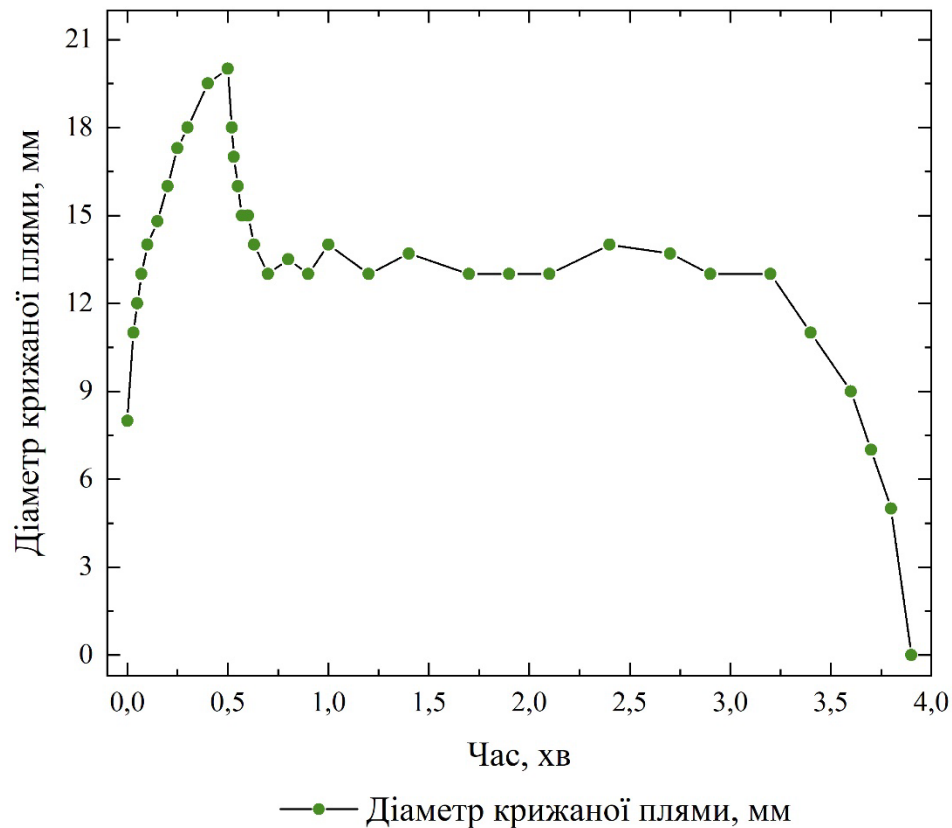


Рис. 4.3 Приклад типової динаміки діаметру плями льоду при кріовпливі тривалістю 30 с та подальшому відтаванні

З рисунка можна побачити, що діаметр крижаної плями на поверхні збільшується до максимального значення протягом кріовпливу. Подальший процес відтавання в природних умовах умовно можна розділити на три етапи:

- Початкове короткочасне зменшення діаметра;
- Тривалий квазістабільний стан діаметра;
- Остаточне зменшення діаметра до повного танення льоду.

Аналогічна поведінка спостерігається на всіх зразках, але параметри цього процесу (максимальний діаметр, тривалість квазістабільного стану, момент танення тощо) залежать від тривалості кріовпливу.

4.3.2 Динаміка температури крижаної плями на поверхні шкіри

Типова поведінка мінімальної температури (зазвичай в центрі крижаної плями) T_{min} при природному відігріванні після кріовпливу тривалістю 30 с показана на рисунку 4.4.

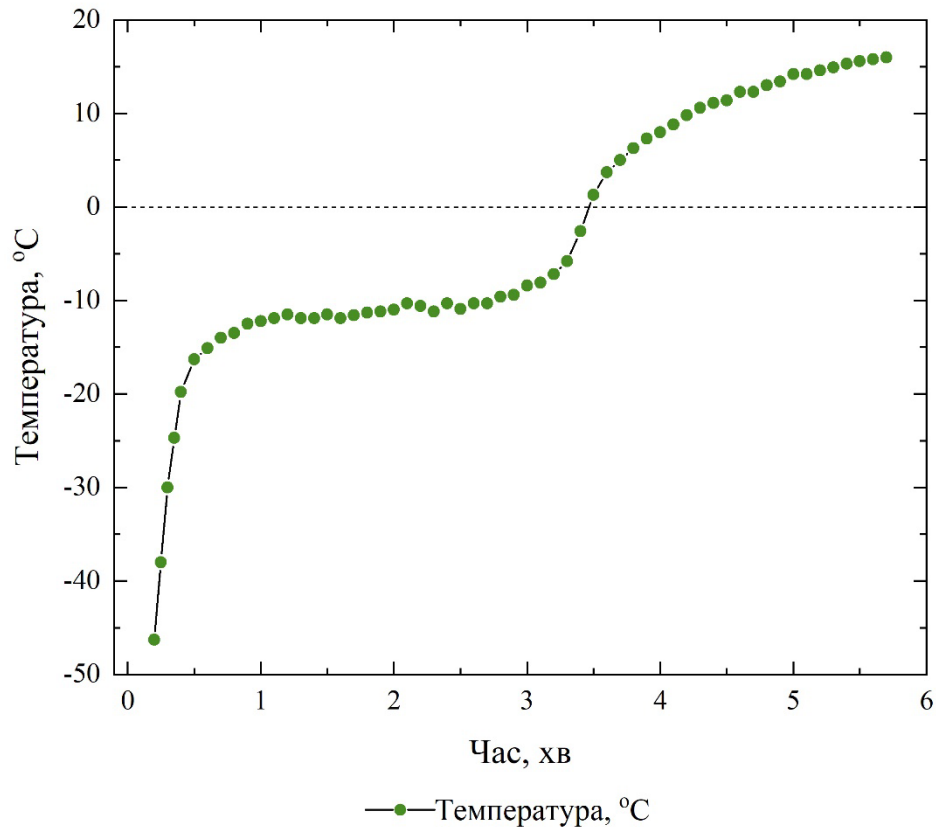


Рис. 4.4 Приклад типової динаміки мінімальної температури крижаної плями при природному відігріванні після кріовпливу тривалістю 30 с

З рисунку 4.4 можна бачити, що на температурно-часовій залежності також можна виділити три характерні етапи:

- Початкове швидке підвищення температури від кріогенного до деякого проміжного значення;
- Квазістабільна температура зі слабким лінійним зростанням;
- Подальше підвищення температури до проходження точки повного танення льоду і подальший тривалий (кілька годин) період відігрівання.

Аналогічна динаміка цих параметрів та наявність характерних етапів спостерігається при кріовпливі різної тривалості та природному відігріванні

на всіх зразках. На рисунку 4.5 приведено приклад динаміки мінімальної температури крижаних плям після кріовпливу тривалістю 30 с (зелена крива), 60 с (жовта крива) та 120 с (помаранчева крива).

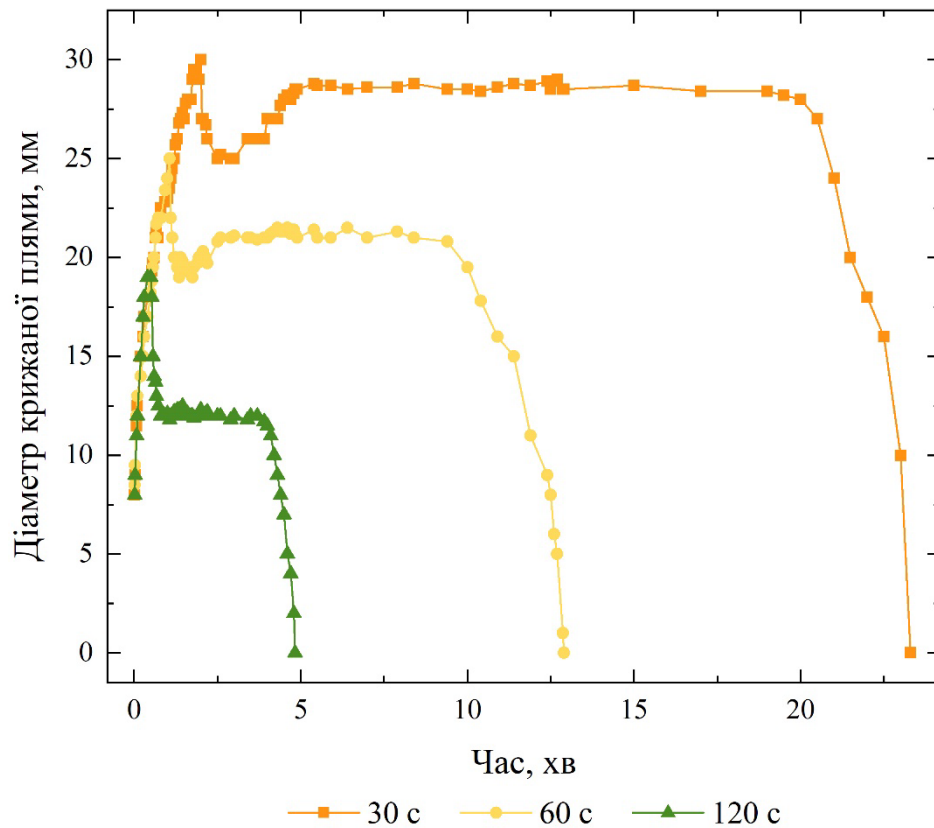


Рис. 4.5 Динаміка мінімальної температури при різних тривалостях кріовпливу: 30 с (зелена крива), 60 с (жовта) та 120 с (помаранчева)

Слід зазначити, що як у динаміці розміру крижаної плями, так і в динаміці її мінімальної температури наявна квазістабільна стадія (КСС). Під час цієї стадії крижана півсфера без помітних змін в розмірі і температурі поглинає значні теплові припливи від кровотоку та екзотермічних метаболічних реакцій тканин, що оточують заморожену область, а також теплові припливи від зовнішнього середовища, які нагрівають льодову пляму через випромінювання і конвекцію. Термодинамічний підхід вказує на фазовий перехід першого роду. Імовірно, спостережуваний ефект пов'язаний зі структурними перебудовами складу льоду, в тому числі з процесами рекристалізації [6].

4.4 Статистичний аналіз теплових та часових даних

На рисунках 4.2-4.5 приведено типові приклади динамік параметрів при кріовпливі на шкіру окремих щурів. Однак, звісно, отримані дані по групі щурів відрізнялися між собою. Як приклад, на рисунку 4.6 на одному графіку приведені динаміки розміру льодової плями для шести щурів, які були піддані кріовпливу тривалістю 30 с. Можна побачити розбіжності параметрів (максимальний діаметр, температура та тривалість квазістабільного стану, момент остаточного танення тощо).

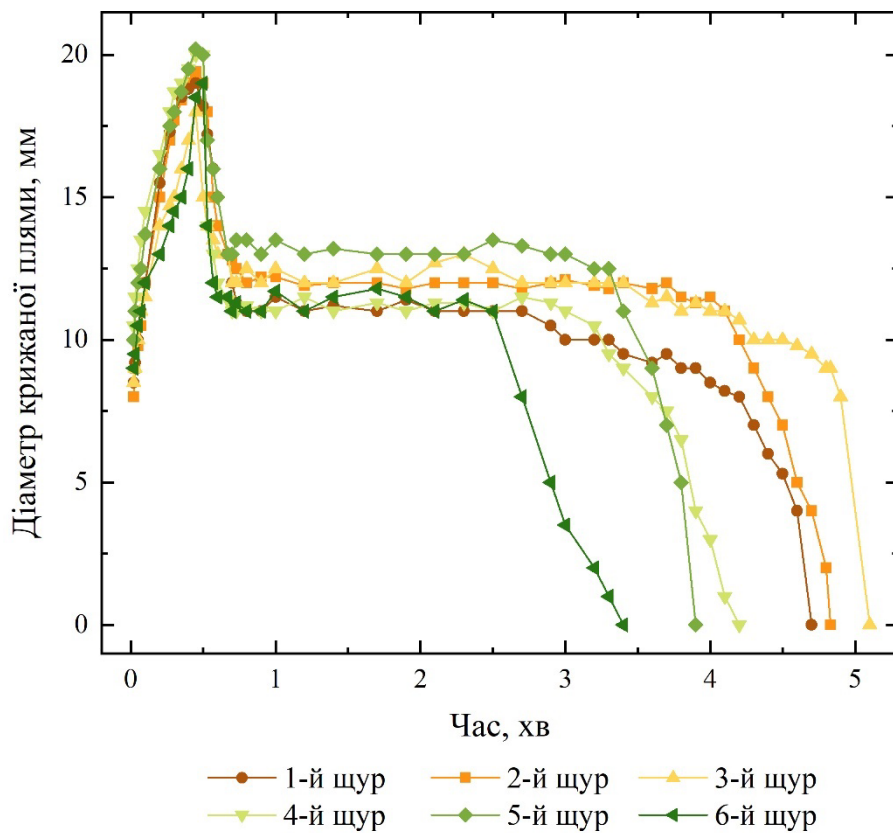


Рис. 4.6 Динаміка розміру крижаних плям для шести щурів при кріовпливі 30 с та природному відігріванні

Тому при дослідженнях груп зразків (у нас – піддослідних тварин) обов'язковим є проведення статистичного аналізу. Подальша обробка даних проводилася методом первинного статистичного аналізу з використанням пакету програм Excel 2016 (Microsoft, США).

Параметри крижаної плями при відтаванні, оброблені методами первинної статистики для трьох груп тварин, представлені в таблиці 4.1. Часові параметри, наведені в таблиці, відраховуються з моменту відриву наконечника кріозонду від поверхні. Часові параметри квазістабільного стану (початок, кінець, тривалість) оцінюються інтервалом, на якому залежність апроксимується лінійною функцією. Результати представлені у вигляді $M \pm S$, де $M = \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n x_k$ – середнє групове значення параметра, $S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$ – стандартне відхилення, а n – кількість суб'єктів в групі.

Кожна група містить по 10 тварин, які було піддано кріовпливу тривалістю 30 с (група 1), 60 с (група 2) та 120 с (група 3).

Таблиця 4.1 Параметри крижаної плями при відтаванні

Вимірювані параметри	Група 1	Група 2	Група 3
Максимальний діаметр крижаної плями, мм	18.54 ± 1.00	23.66 ± 1.29	28.35 ± 1.06
Максимальний діаметр некротичної плями, мм	11.74 ± 0.9	19.52 ± 2.05	25.72 ± 1.18
Початок КСС, хв	0.87 ± 0.20	2.13 ± 0.30	1.75 ± 0.26
Тривалість КСС через діаметр, хв	2.51 ± 0.40	5.13 ± 0.32	10.83 ± 1.33
Тривалість КСС через температуру, хв	2.37 ± 0.33	5.04 ± 0.56	10.32 ± 1.52
Температура початку КСС, °C	-12.74 ± 0.73	-16.64 ± 0.66	-13.95 ± 1.31
Повний час танення, хв	4.18 ± 0.35	10.89 ± 0.86	20.18 ± 2.18
Обчислені параметри	Група 1	Група 2	Група 3
Відношення діаметрів некроз/пляма	0.64 ± 0.02	0.64 ± 0.03	0.65 ± 0.03
Підвищення температури в КСС, °C/хв	1.85 ± 0.25	0.56 ± 0.10	0.37 ± 0.08

Слід зазначити, що для тварин 3-ї групи радіус крижаної плями на поверхні, виміряний в момент, коли крижаний фронт досягає підстегневої

термопари ($T = 0\text{ }^{\circ}\text{C}$), приблизно дорівнює товщині стегна щура з урахуванням вдавнення наконечника кріоаплікатора. Цей результат побічно підтверджує наше припущення про півсферичну форму замороженого об'єму і еквівалентності радіального розподілу температури на поверхні крижаної плями та в об'ємі льоду.

З таблиці видно, що відношення максимального діаметра плями некрозу до діаметру крижаної плями при кріовпливі різної тривалості, що використовувалася в даному дослідженні, є постійним 0.64 ± 0.03 . Таким чином, обсяг некрозу становить майже четверту частину обсягу крижаної півсфери. Цей результат узгоджується, наприклад, з результатом дослідження [27], в якому обсяг некрозу печінки, викликаного кріоушкодженням, оцінювався за допомогою МРТ.

Експериментальний результат про однакове співвідношення діаметрів некрозу і крижаної плями при різних тривалостях швидкого заморожування підтверджує припущення про те, що миттєве теплове поле в замороженій зоні визначається тільки теплофізичними параметрами тканин. Таким чином, миттєвий розмір обсягу некрозу можна однозначно оцінити за розміром поверхневої льодової плями в той же момент. Цей результат призводить до важливого прикладного висновку про можливість інтраопераційного контролю зони первинного некрозу з $T_{\text{нес}} \leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ з використанням будь-якої комерційної інфрачервоної камери зі стандартним діапазоном вимірюваних температур.

ВИСНОВКИ

В процесі створення дипломного проєкту було проведено дослідження теплових полів при низькотемпературному впливі *in vitro* та *in vivo*, у тому числі:

- Проведено аналіз літературних джерел за тематикою диплому, зосереджуючись на роботах, що стосуються обраної проблеми, за якими було написано літературний огляд, щоб узагальнити наявні знання щодо використання інфрачервоної термографії у кріомедицині;
- Розроблено спеціальну установку – лабораторний вимірювальний комплекс, спроектований з урахуванням вимог дослідження теплофізичних процесів;
- Проведено комплексне дослідження теплофізичних процесів при кріопливі на модельних системах *in vitro*, включаючи етапи планування, експерименту та аналізу результатів;
- Вивчено та застосовано методику проведення досліджень динаміки теплових полів на поверхні шкіри піддослідних тварин при кріовпливі *in vivo* з врахуванням видових характеристик та етичного поводження із тваринами;
- Проведено кількісну обробку окремих термограм та термографічного фільму для отримання об'єктивних результатів дослідження, а також здійснено аналіз отриманих теплових та часових даних методами первинної статистики.

Під час проведення експериментів для написання дипломного проєкту було отримано необхідні наукові знання в області застосування методу інфрачервоної термографії в кріомедицині та кріобіології, а також практичні навички, у тому числі: користування кріогенною рідиною (рідким азотом), підготовки модельної рідини (5%-й гель), вимірювання динаміки параметрів льодового кому, отримано досвід роботи з оригінальним тепловізором та кількісною й статистичною обробкою отриманих термограм тощо.

За результатами експерименту підготовлено тези, постер та доповідь «Pilot study of temperature field dynamics with cryoimpact *in vitro*» на міжнародну конференцію CM<P-2024 (Додаток А).

ДОДАТОК А

Тези та постер доповіді «Pilot study of temperature field dynamics with cryoimpact *in vitro*»

Pilot study of temperature field dynamics with cryoimpact *in vitro*.

G. Kovalov¹, M. Chyzh¹, V. Globa¹, Yu.Fomenko², E. Gordienko², D. Nikolenko³

¹ *Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015*

² *B.Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine, 47 Nauky Ave., Kharkiv, 61103, Ukraine*

³ *V. N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine
e-mail: kovalyovhome@ukr.net*

Cryosurgery sets the goal of guaranteed destruction of pathological tissue with maximum preservation of adjacent healthy tissues. The use in the clinic condition of generally accepted methods of visualization of the freezing / thawing process does not fully answer the question of whether the cryodestruction zone was sufficiently formed. Therefore, when planning an operation, especially in oncodermatology, it is extremely important to predict the movement of the freezing front and the dynamics of the temperature field inside and outside the frozen zone for various modes of cryoimpact and features of the impact objects.

In order to predict the freezing zone during cryodestruction of biological tissues *in vivo*, a pilot study of the thermal field dynamics during local contact cryoimpact on a model system *in vitro* has been conducted. For research, a laboratory measuring complex was developed. It included: a transparent container for a model liquid, microthermometers with an analog-digital converter and a device for fixing them in the area of interest; video cameras for remote monitoring and analysis of the instantaneous shape and size of the ice zone in different angles; a special original infrared camera with an extended temperature range of up to minus 150 °C - for monitoring and analyzing the thermal field dynamics on the surface of the model system. Control of monitoring systems, data recording and real-time observation of freezing/thawing processes was carried out via a PC.

The study of temperature dynamics in the zone of low-temperature impact was carried out on a model system with a gel of 5% gelatin solution. The results of a thermal imaging study of the dynamics of surface ice spot in the freezing zone and the temperature distribution in it coincided with the results of direct thermometry (according to the data of thermometers at the corresponding points) and the corresponding sizes of the ice zone (according to the analysis of video recordings from cameras). Immediately after touching the applicator to the surface of the gel, the formation of an ice zone was observed, the diameter of which on the gel surface was approximately one and a half times greater than the depth of freezing. In this initial stage, the greatest rate of cooling and ice growth was also observed. During further growth (after approximately 1.5 min of cooling), the ice lump reached a hemispherical shape, which remained so during the cryoexposure (15 min), while the rate of growth and cooling of the ice gradually slowed down.

Further research involves the use of various cryoinstruments and freezing-thawing modes, varying the composition and temperature of the model system, simulating the presence of blood vessels in the zone of cryoimpact, etc.

This work was supported by the National Research Foundation of Ukraine funding by the grant titled as "Thermal imaging study of soft tissues with thermal injury and mathematical modeling of the processes accompanying it" (Grant No. 2022.01/0094, Grant State Registration No. 0123U103506).

*Рис. А.1 Тези доповіді «Pilot study of temperature field dynamics with cryoimpact
in vitro»*



In vitro pilot study



of temperature field dynamics with cryoimpact

G. Kovalov¹, M. Chyzh¹, V. Globa¹, Yu. Fomenko², E. Gordienko², D. Nikolenko³

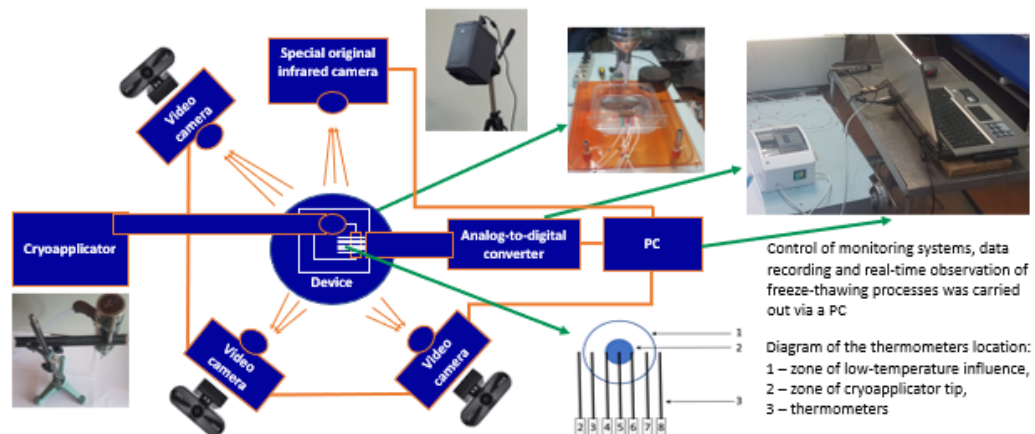
¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine, 23, Pereyaslavska str., Kharkiv, 61016, Ukraine

²B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the NAS of Ukraine, 47, Nauky Ave., Kharkiv, 61103, Ukraine

³V. N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., Kharkiv, 61022

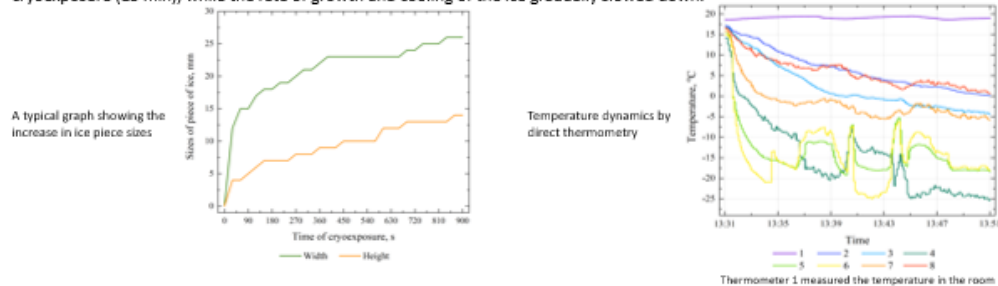
Cryosurgery sets the goal of guaranteed destruction of pathological tissue with maximum preservation of adjacent healthy tissues. The clinical use of generally accepted methods of visualization of the freeze-thawing does not fully answer the question of whether the cryodestruction zone was sufficiently formed. Therefore, when planning a surgery, especially in oncodermatology, it is extremely important to predict the movement of the freezing front as well as dynamics of the temperature field inside and outside the frozen zone for various modes of cryoimpact and features of the impact objects.

In order to predict the freezing zone during cryodestruction of biological tissues in vivo, a pilot study of the thermal field dynamics during local contact cryoimpact in a model system in vitro has been performed.

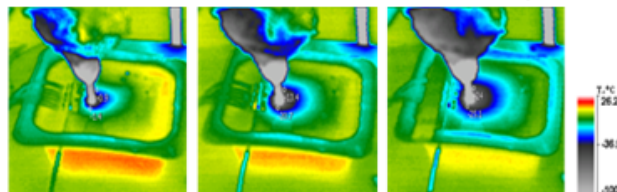


The temperature dynamics in the zone of low-temperature impact was studied in a model system with a gel of 5% gelatin solution. The results of a thermal imaging study of the dynamics of ice spot surface growth in the freezing zone and temperature distribution in it coincided with the ones of direct thermometry (according to the data of thermometers at the corresponding points) and the corresponding sizes of the ice zone (according to the analysis of video recordings from cameras). Immediately after touching the applicator to the gel surface, the formation of an ice zone was observed, the diameter of which on the gel surface was nearly one and a half times greater than the depth of freezing. At this initial stage, the highest rate of cooling and ice growth was also observed.

During further growth (about 1.5 min of cooling later), the ice lump reached a hemispherical shape, which remained so during the cryoexposure (15 min), while the rate of growth and cooling of the ice gradually slowed down.



Thermograms of the gel surface: a – in the first seconds of cryoimpact; b – after 2.5 minutes from the start of cryoimpact; c – 11 minutes after the start of cryoimpact



Further research involves the use of various cryoinstruments and freeze-thawing modes, varying the composition and temperature of the model system, simulating the presence of blood vessels in the zone of cryoimpact, etc.

This work was funded by the National Research Foundation of Ukraine with the grant titled as "Thermal imaging study of soft tissues with thermal injury and mathematical modeling of the processes accompanying it" (Grant No. 2022.01/0094, Grant State Registration No. 0123U103506).

Contacts



kovalyovhome@ukr.net



+380984956010

Рис. А.2 Ресмер доповіді «In vitro pilot study of temperature field dynamics with cryoimpact»

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Cooper SM, Dawvber RPR. The history of cryosurgery. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 2001; 94(4): 196–201. <https://doi.org/10.1177/014107680109400416>;
2. Abramovits W, Graham G, Har-Shai Ya, Strumia R. *Dermatological Cryosurgery and Cryotherapy*, Springer, London, 2016, <https://doi.org/10.1007/978-1-4471-6765-5>;
3. Pasquali P. *Cryosurgery. A Practical Manual*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2015, <https://doi.org/10.1007/978-3-662-43939-5>;
4. Laugier P, Laplace E, Lefaix JJ, Berger G. In vivo results with a new device for ultrasonic monitoring of pig skin cryosurgery: the echographic cryoprobe, *J. Invest. Dermatol.* 1998; 111: 314–319, <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.1998.00288.x>;
5. Tacke J, Speetzen R, Heschel I, et al. Imaging of Interstitial Cryotherapy - An in Vitro Comparison of Ultrasound, Computed Tomography, and Magnetic Resonance Imaging. *Cryobiology*. 1999; 38(3): 250-259. <https://doi.org/10.1006/cryo.1999.2168>;
6. Zhmakin AI. *Fundamentals of cryobiology. Physical phenomena and mathematical models*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2009. 278 p. Available from: <https://link.springer.com/book/10.1007/b10800>;
7. Zimmerman EE, Crawford P. Cutaneous cryosurgery, *Am. Fam. Physician*. 2012; 86: 1118–24. Available from: <https://www.aafp.org/afp/2012/1215/p1118.html>;
8. Lutz NW, Bernard V. Contactless thermometry by MRI and MRS: advanced methods for thermotherapy and biomaterials. *iScience* [Internet]. 2020; 23: e101561. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101561>;
9. Brymill Cryogenics Systems. *Cry-Ac TrackerCam*. Instruction for use. [Internet]. Available from: <https://manualzz.com/doc/6837764/cry-ac-trackercam---brymill-cryogenic-systems>;

10. Diakides NA, Bronzino JD. Medical infrared imaging. Boca Raton: CRC Press; 2007. 448 p. <https://doi.org/10.1201/9781420008340>;
11. Glushchuk NI, Gordiyenko EYu, Fomenko YuV, et al. The Results of the Study of Human Anomalous Thermal Fields under Irradiation. *Sci Innov.* 2017; 13(2): 43-52. <https://doi.org/10.15407/scine13.02.043>;
12. Glushchuk M, Shustakova G, Gordiyenko E, et al. Thermal Imaging Study of Human Soft Tissue Lesions and Biological Tissue Exposure to Low Temperature in vivo. *Science and Innovation.* 2022; 18(6): 83-96. <https://doi.org/10.15407/scine18.06.083>;
13. Matos F, Neves EB, Norte M, et al. The use of thermal imaging to monitoring skin temperature during cryotherapy: a systematic review. *Infrared Physics and Technology.* 2015; 73:194–203. <https://doi.org/10.1016/j.infrared.2015.09.013>;
14. Kovalov GO, Gordiyenko EYu, Fomenko YuV, et al. Dynamics of Freezing and Warming of Soft Tissues with Short-Term Effect on Skin with Cryoapplicator. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2020; 30(4): 359–68. <https://doi.org/10.15407/cryo30.04.359>;
15. Kovalov GO, Shustakova GV, Gordiyenko EYu, et al. Infrared thermal imaging controls freezing and warming in skin cryoablation. *Cryobiology.* 2021; 103: 32-38. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2021.09.014>;
16. FLIR Product Catalog 2018. [Internet]. 2018 March 11. Available from: <https://www.flir.kiev.ua/pdf/flir-product-catalog.pdf>;
17. Costello JT, McInerney CD, Bleakley CM, et al. The use of thermal imaging in assessing skin temperature following cryotherapy: a review. *J. Therm. Biol.* 2012; 37(2): 103-110. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2011.11.008>;
18. Ammer K, Ring EFJ. Standard Procedures for Infrared Imaging in Medicine. Chapter 32 in book: Diakides M, Bronzino JD, Peterson DR (Editors). *Medical Infrared Imaging. Principles and Practice.* New York: CRC Press; 2017. 640 p. Available from:

https://www.researchgate.net/publication/233986901_Standard_Procedures_For_Infrared_Imaging_in_Medicine;

19. Gordiyenko E, Fomenko Yu, Shustakova G, Kovalov G, Shevchenko S. Infrared thermal imaging camera to measure low temperature thermal fields. *Rev. Sci. Instrum.* 2024; 95: 035116. <https://doi.org/10.1063/5.0188276>;
20. Yefremenko V, Gordiyenko E., Shustakova G, et al. A broadband imaging system for research applications. *Rev. Sci. Instrum.* 2009; 80: 056104. <https://doi.org/10.1063/1.3124796>;
21. Agafonkina IV, Belozerov AG, Berezovsky YM, et al. Thermal properties of biological tissue gel-phantoms in a wide low-temperature range. *Инженерно-физический журнал.* 2021; 94(3): 811-824;
22. Buzdov BK. Mathematical Modeling of Biological Tissue Cryodestruction. *Applied Mathematical Sciences.* 2014; 57: 2823-2831;
23. Korpan NN, Chefranov SG. Estimation of the stable frozen zone volume and the extent of contrast for a therapeutic substance. *PLoS ONE.* 2020; 15 (9): e0238929. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238929>;
24. Taylor MJ, Weegman BP, Baicu SC, GiwaSE. New Approaches to Cryopreservation of Cells, Tissues, and Organs. *Review Transfus Med Hemother.* 2019; 46: 197-215. <https://doi.org/10.1159/000499453>;
25. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes, Strasbourg, 1986. <https://rm.coe.int/168007a67b>;
26. Pogrel MA, Yen CK, Taylor R, A study of infrared thermographic assessment of liquid nitrogen cryotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 1996; 81: 396-401. [https://doi.org/10.1016/S1079-2104\(96\)80014-X](https://doi.org/10.1016/S1079-2104(96)80014-X);
27. Mala N, E. Samset E, Aurdal L, Soreide O, Magnetic resonance imaging-estimated three-dimensional temperature distribution in liver cryolesions: a

study of cryolesion characteristics assumed necessary for tumor ablation, *Cryobiology* 43 (2001) 268–275. <https://doi.org/10.1006/cryo.2001.2351>.