

## КАЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОТКАНИ КИСТЫ БЕЙКЕРА

© 2018 г. С.А. Чернядьев, В.Б. Аретинский\*, Н.И. Сивкова\*\*, А.В. Жилияков\*\*\*, Н.Ю. Коробова, В.И. Горбатов\*\*\*\*, М.З. Файзуллин\*\*\*\*\*

Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, 620000, Екатеринбург, ул. Репина, 3  
E-mail: chsa-surg@mail.ru

\*Областной специализированный центр медицинской реабилитации «Озеро Чусовское»,  
620043, Екатеринбург, пос. Чусовское Озеро, ул. Мира, 1

E-mail: prietnaya@chuslake.ru

\*\*Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина,  
620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19

E-mail: Letica@mail.ru

\*\*\*ООО «Новые технологии для амбулаторной медицины», 620057, Екатеринбург, ул. Краснофлотцев, 47-44

E-mail: doctor-zhilyakov@rambler.ru

\*\*\*\*Уральский государственный горный университет, 620144, Екатеринбург, ул. Куйбышева, 30

E-mail: gorbatov@ursmu.ru

\*\*\*\*\*Институт теплофизики Уральского отделения РАН, 620016, Екатеринбург, ул. Амундсена, 107а

E-mail: faizullin@itp.uran.ru

Поступила в редакцию 27.03.18 г.

После доработки 03.05.18 г.

Приведены результаты калориметрических исследований гистологического препарата кисты Бейкера, иссеченной во время операции. Исследования выполнены с использованием дифференциального сканирующего калориметра теплового потока DSC 204 F1 Phoenix (Netzsch, Германия), погрешность измерения температурных зависимостей удельной теплоемкости исследуемых образцов не превышала 2%. Показано, что температура денатурации биотканей кисты Бейкера, соответствующая пику теплового сигнала, равна 68,1°C, а энтальпия денатурации – 4,352 Дж/г. При повторном сканировании исследованных образцов тепловые эффекты на термограммах не наблюдались, что свидетельствует о необратимости изменений в изучаемых образцах, обусловленных полной денатурацией содержащегося в них коллагена.

*Ключевые слова:* Киста Бейкера, энтальпия, удельная теплоемкость, температура трансформации.

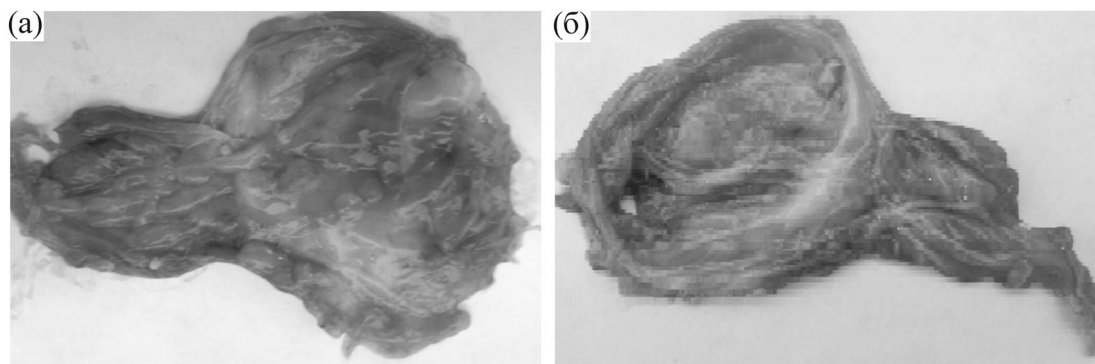
**DOI:** 10.1134/S0006302918060224

Киста Бейкера является заболеванием опорно-двигательного аппарата, часто встречающимся в повседневной практике врачей различных специальностей. По данным ряда авторов, подколенная киста выявляется при сонографическом исследовании коленного сустава до 27,7% случаев [1–3]. В работах исследователей, изучавших патологию, диагностируемые при ультразвуковом сканировании нижних конечностей, утверждается, что синовиальное образование подколенной области обнаруживается до 42,3% наблюдений [4].

Важность лечения подколенного полостного новообразования подтверждается последними работами ряда авторов, утверждающих, что

данная патология приводит к неблагоприятным исходам эндопротезирования коленного сустава [5,6] и отягощает течение гонартроза [7].

Современным малоинвазивным способом лечения кисты Бейкера является инфракрасная лазер-индуцированная термотерапия [8]. Эта манипуляция выполняется аналогично эндовенозной лазерной облитерации. Однако в методике выполнения остаются неясные моменты, а результаты использования часто оказываются неоптимальными, поскольку в ее основе лежит лишь теоретическое представление о возникновении необратимой коагуляции коллагена под воздействием лазерного излучения. В доступной нам литературе отсутствуют эксперименталь-



**Рис. 1.** Разделенные слои гистологического препарата кисты Бейкера: (а) – наружный слой; (б) – внутренний слой.

ные данные о каких-либо тепловых процессах, протекающих в тканях стенки кисты Бейкера, подвергаемых воздействию различных термоденерирующих физических факторов. Это обстоятельство ограничивает широкое применение лазер-индуцированного нагрева в ее лечении.

Как известно [9], результат теплового воздействия на патологические очаги и окружающие их здоровые биоткани напрямую зависит от динамики воздействия, а точнее, от времени воздействия. Поэтому достоверность результатов математического моделирования этого способа лечения и точность расчета оптимальных энергетических параметров воздействия, необходимых для его выполнения, будут зависеть от учета всех возможных тепловых процессов, происходящих в биотканях и на их границах. При этом особенно важно, чтобы численные значения теплоты трансформации биотканей, составляющих кисту Бейкера, и температурные зависимости теплофизических свойств, используемых для расчета нестационарных полей и тепловых потоков, соответствовали реальным условиям воздействия.

Методом, позволяющим напрямую изучить термодинамические характеристики биологического материала и определить энергетику процессов, связанных с трансформацией белковых молекул, является калориметрия с применением дифференциального сканирующего калориметра [10].

**Цель работы:** определить в эксперименте *ex vivo* термодинамические характеристики тканей стенки кисты Бейкера, необходимые для теоретического моделирования нестационарных процессов теплообмена в стенке кисты и окружающих ее биологических тканях при прямом или опосредованном (через термонесущую жидкость) термическом воздействии лазерного излучения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования мы использовали гистологический препарат кисты Бейкера, иссеченный во время операции. На данные действия предварительно было оформлено информированное согласие пациента на участие в эксперименте. Киста была рассечена по одной стенке вдоль наибольшего размера и развернута синовиальным слоем наружу. Далее стенка образования была разделена на два слоя: наружный и внутренний (см. рис. 1). Из каждого слоя при помощи трубчатого острого пробойника были вырезаны по три округлых фрагмента 5 мм в диаметре, массой 30–40 мг каждый. Массу образцов определяли с точностью  $\pm 0,1$  мг. Все сформированные образцы были последовательно пронумерованы, нечетные номера соответствовали внутреннему слою, а четные – наружному слою гистологического препарата.

Образцы №№ 1–4 герметично закрывали и уплотняли в индивидуальных алюминиевых тиглях для определения термодинамических свойств тканей. Образцы № 5 и № 6 сразу же помещали в отдельные предварительно маркированные флаконы с 10%-м раствором формалина для гистологической верификации изучаемых биоптатов. В морфологической лаборатории УрО РАН, ведущий научный сотрудник к.м.н. С.Ю. Медведева) из каждого фрагмента изготавливали по три–четыре микроскопических среза толщиной 5–7 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином [11]. Для идентификации соединительной ткани использовали окраску препаратов по Ван-Гизону [12]. После окрашивания микропрепараты исследовали под световым микроскопом DM 2500 (Leica Microsystems, Германия) с возможностью вывода изображения на монитор компьютера.

Калориметрические исследования выполняли с использованием дифференциального ска-

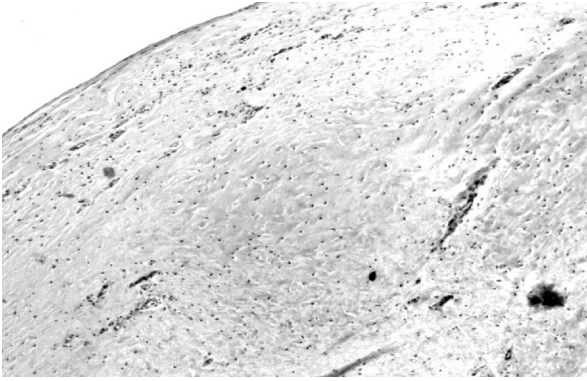


Рис. 2. Фрагмент стенки кисты Бейкера. Окраска гематоксилином и эозином.

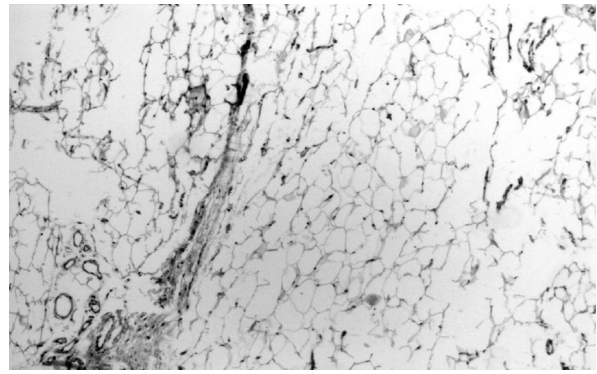


Рис. 3. Жировая ткань. Окраска гематоксилином и эозином.

нирующего калориметра теплового потока DSC 204 F1 Phoenix (Netzsch, Германия). Калибровку калориметра по температуре и чувствительности проводили с использованием стандартов с известной температурой и теплотой плавления (циклогексан, ртуть, индий, висмут, олово, цинк). Массу образцов определяли с точностью  $\pm 0,1$  мг. Погрешность определения температуры в опытах составляла 0,1 К. Погрешность определения тепловых эффектов превращений, связанных с денатурацией исследуемых образцов, не превышала 1%. Измерения проводили в температурном диапазоне 30–100°C в атмосфере газообразного аргона при нагревании с постоянной скоростью 5 К/мин. Образцы массой 30–40 мг герметично уплотняли в алюминиевых тиглях. При измерении теплоемкости в качестве образца сравнения использовали сапфир массой 25 мг. Данные для теплоемкости сапфира стандартизованы Национальным институтом стандартов и технологий (США) и рекомендованы производителем калориметра для измерения теплоемкости веществ различной природы в широком температурном диапазоне.

Методика эксперимента включала три независимых измерения теплового потока: для пустого тигля, тигля с образцом сравнения и тигля с исследуемым образцом. Соотношение для определения удельной теплоемкости  $c_p$  исследуемого образца массой  $m_x$  имеет следующий вид:

$$c_p = \frac{H_x - H_0}{H_s - H_0} \frac{m_s}{m_x} c_{p,s}$$

где  $H_x$ ,  $H_s$  и  $H_0$  – результаты измерения тепловых потоков через тигель с образцом, тигель с сапфиром и пустой тигель соответственно,  $m_s$  – масса сапфира,  $c_{p,s}$  – удельная теплоемкость сапфира.

Проверка точности измерения теплоемкости с использованием образцов этиленгликоля по-

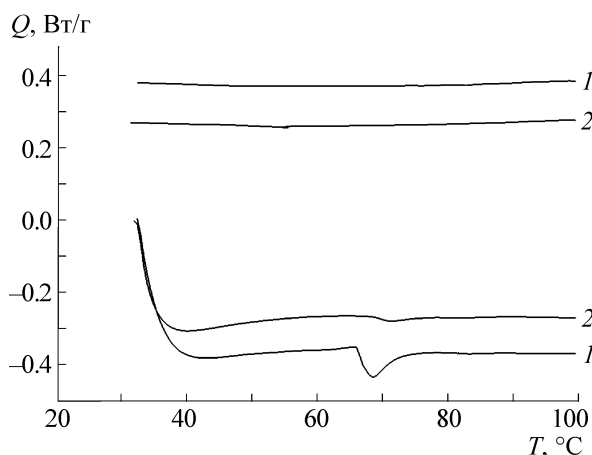
казала, что максимальное отклонение полученных значений в температурном диапазоне 25–120°C от данных, рекомендованных в работе [13], не превышает 2%. По результатам калибровки и проверки калориметра погрешность измерения теплоемкости исследуемых образцов оценивается нами в 2%. Методика калориметрических измерений с использованием дифференциального сканирующего калориметра подробно описана в работе [14].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При микроскопическом исследовании образцов № 5 и 6 была выявлена следующая гистологическая картина. Образец № 5 полностью соответствовал морфологической картине полнослойной стенки кисты Бейкера. В нем определялись все типичные для нее компоненты: синовиальные клетки, рыхлая соединительная ткань с сосудами и плотная соединительная ткань (см. рис. 2). Синовиальная поверхность была разрыхлена, в толще среднего слоя между коллагеновыми волокнами видны фокусы лимфоидной инфильтрации. Имелся умеренный интерстициальный отек коллагеновых структур среднего и наружного слоев стенки образования.

Изучение образца № 6 выявило, что он полностью состоял из жировой ткани, поскольку в препарате наблюдалось преобладание жировых клеток – однопузырчатых адипоцитов (см. рис. 3). Жировые клетки образовывали дольки различных размеров и формы, разделенные узкими прослойками рыхлой соединительной ткани, состоящей из клеток и тонких коллагеновых волокон.

Результаты калориметрических измерений образцов № 1 и 2 показаны на рис. 4. На кривой 1 для образца внутреннего слоя кисты Бейкера наблюдается отчетливый эндотермический сигнал. Температура, соответствующая пи-

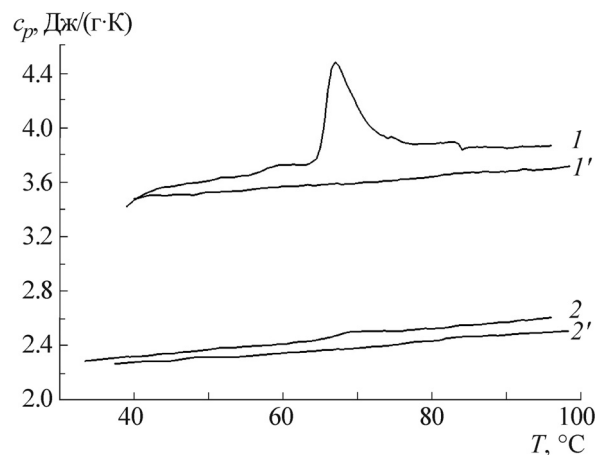


**Рис. 4.** ДСК-термограммы двух образцов гистологического препарата тканей кисты Бейкера: 1 – образец стенки кисты; 1' – образец стенки кисты при повторном нагревании; 2 – образец жировой ткани, окружающей кисту; 2' – образец жировой ткани, окружающей кисту, при повторном нагревании.

ку теплового сигнала, равна  $68,1^{\circ}\text{C}$ , а тепловой эффект превращения –  $4,352$  Дж/г. Эти значения хорошо согласуются с результатами исследования процесса денатурации коллагена в интактных секвестрированных образцах больших подкожных вен при их нагреве в ячейке калориметра [15]. Действительно, температура перехода фибриллярного коллагена в аморфное состояние, полученная в цитируемой работе, составляет  $70,9 \pm 1,7^{\circ}\text{C}$ , а энтальпия денатурации –  $7,2 \pm 2,5$  Дж/г. Небольшие расхождения в определении теплового эффекта превращения могут быть связаны как с погрешностью измерений (в цитируемой работе она составляет 35%), так и с содержанием коллагена во внутреннем слое кисты Бейкера.

На термограмме для образца наружного слоя иссеченной кисты Бейкера (кривая 2) наблюдается менее выраженный тепловой сигнал со значением температуры пика  $71,3^{\circ}\text{C}$  и тепловым эндотермическим эффектом  $0,71$  Дж/г. Меньшее значение теплового сигнала для образца наружного слоя кисты Бейкера вероятнее всего связано с высоким содержанием в нем жировой ткани.

Резкие изменения в поведении обеих кривых в температурном диапазоне  $30\text{--}40^{\circ}\text{C}$  связаны с выходом калориметра на режим сканирования и не отражают изменения свойств исследуемых образцов. При повторном сканировании данных образцов тепловые эффекты на термограммах не наблюдались (кривые 1', 2'). Это свидетельствует о необратимости превращения в исследованных образцах, которое обусловлено полной денатурацией содержащегося в них коллагена.



**Рис. 5.** Температурные зависимости удельной теплоемкости образцов тканей кисты Бейкера: 1 – стенка кисты; 1' – стенка кисты при повторном нагревании; 2 – жировая ткань, окружающей кисту; 2' – жировая ткань при повторном нагревании.

На рис. 5 представлены температурные зависимости теплоемкости образцов № 3 и 4 гистологического препарата кисты Бейкера. Видно, что при общем росте теплоемкость внутреннего слоя стенки (кривая 1) примерно в полтора раза выше теплоемкости окружающей ее жировой ткани (кривая 2). Тепловой сигнал, связанный с денатурацией коллагена в диапазоне температуры  $64\text{--}74^{\circ}\text{C}$ , как и в случае с измерениями энтальпии, значительно больше для образца внутреннего слоя, чем для наружного, представленного жировой тканью. Такое существенное различие в поведении температурных зависимостей удельной теплоемкости образцов внутреннего слоя стенки и окружающей ее жировой ткани можно объяснить, исходя из вида гистологической картины, различным содержанием в них коллагена и воды.

## ВЫВОДЫ

Полученные нами в эксперименте *ex vivo* данные по температурным зависимостям удельной теплоемкости тканей кисты Бейкера значительно повышают надежность и достоверность результатов математического моделирования теплофизических процессов в этих тканях, необходимых для предварительной оценки временных и энергетических параметров воздействия лазерного излучения на конкретный объект.

Исходя из результатов проведенных экспериментов, можно заключить, что для тотальной коагуляции патологических тканей кисты Бейкера необходимо, чтобы температура всей толщи кисты во время нагревания достигала величины не меньшей чем  $72^{\circ}\text{C}$ .

При этом в оценке мощности и времени воздействия лазерного излучения нужно учиты-

вать поглощение скрытой теплоты денатурации коллагена, которая составляет в данном случае 4,352 Дж/г. Только при сочетании этих условий возможен положительный и стойкий клинический эффект от термотерапии.

Авторы выражают особую благодарность ведущему научному сотруднику Института иммунологии и физиологии УрО РАН к.м.н. С.Ю. Медведевой за помощь в выполнении гистологической части исследования и подробное описание свойств и характеристик полученных гистологических препаратов.

Результаты данной работы являются частью НИОКР, профинансированной из средств гранта по программе «Старт-1», предоставленного Фондом содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Э. Р. Кириллова, Е. И. Хадыева, Р. Абдракипов и др., Остеопороз и остеопатии, № 2, 105 (2016).
2. V. B. Mermerci, Y. Garip, R. S. Uysal, et al., Clin. Rheumatol. **30** (8), 1055 (2011).
3. K. Bevers, J. W. Bijlsma, J. E. Vriezekolk, et al., Rheumatology **53** (9), 1625 (2014).
4. Д. Ф. Сырникова и Б. Д. Гилилов, в сб. *Проблемы формирования единого научного пространства*, под ред. А. А. Сукиасяна (МЦИИ ОМЕГА САЙНС, Уфа, 2016), с. 194.
5. D. R. Dirschl and P. F. Lachiewicz, J. Arthroplasty **7** (1), 37 (1992).
6. H. Hommel, C. Perka, and S. Kopf, Bone Joint J. **98** (9), 1185 (2016).
7. K. Bevers, J. E. Vriezekolk, J. W. Bijlsma, et al., Rheumatology **54** (11), 2000 (2015).
8. С. А. Чернядьев, А. И. Чернооков, А. В. Жилияков и Н. Ю. Коробова, Лазерная медицина **18** (4), 28 (2014).
9. Е. А. Шахно, *Физические основы применения лазеров в медицине* (НИУ ИТМО, С-Пб., 2012).
10. А. Г. Белозеров, Ю. М. Березовский, И. А. Королев и А. В. Пушкарев, Междунар. науч.-исслед. журн., № 12/3, 14 (2016).
11. Г. Г. Автандилов, *Медицинская морфометрия: руководство для врачей* (Медицина, М., 1990).
12. Б. Ромейс, *Микроскопическая техника* (Изд-во иностранной литературы, М., 1953).
13. M. A. Stephens and W. S. Tamplin, J. Chem. Eng. Data **24** (2), 81 (1979).
14. G. W. H. Hohne, W. F. Hemminger, and H. F. Flammersheim, *Differential scanning calorimetry* (Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg, 2003).
15. Ю. Л. Шевченко, Ю. М. Стойко, К. В. Мазайшвили и др., Флебология **7** (4), 18 (2013).

## Calorimetric Study of BioTissue Baker's Cyst

**S.A. Chernyadiev\***, **V.B. Aretinsky\*\***, **N.I. Sivkova\*\*\***, **A.V. Zhilyakov\*\*\*\***,  
**N.Ju. Korobova\***, **V.I. Gorbатов\*\*\*\*\***, and **M.Z. Faizullin\*\*\*\*\***

\*Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation,  
ul. Repina 3, Yekaterinburg, 620000 Russia

\*\*The Regional Specialized Center of Medical Rehabilitation "Lake Chusovskoe",  
ul. Mira 1, Chusovskoe Lake village, Yekaterinburg, 620053 Russia

\*\*\*Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin,  
ul. Mira 19, Yekaterinburg, 620002 Russia

\*\*\*\*JSC "New Technologies for Outpatient Medicine", ul. Krasnoflotsev 47-44, Yekaterinburg, 620057, Russia

\*\*\*\*\*Ural State Mining University, ul. Kuibysheva, 30, Yekaterinburg, 620144 Russia

\*\*\*\*\*Institute of Thermal Physics, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,  
ul. Amundsena 107a, Yekaterinburg, 620016 Russia

The results of calorimetric studies of the histological material obtained after surgical excision of a Baker's cyst are presented. The studies were performed using a differential scanning calorimeter of the heat flux DSC 204 F1 Phoenix (Netzsch, Germany), errors in measuring the temperature dependences of the specific heat of the test samples did not exceed 2%. It was shown that the temperature at which denaturation of biological tissues of the Baker's cyst occurred is 68.1°C that corresponds to the peak of a heat signal, and the denaturation enthalpy is 4.352 J/g. When the samples were rescanned, the thermal effects were not observed on the thermograms. This indicates the irreversibility of the transformation in the studied samples, which is due to the complete denaturation of the collagen contained in them.

*Keywords: Baker's cyst, enthalpy, specific heat, transformation temperature*