

*В.В. СЕМЕНЕЦ, д-р техн. наук, В.И. ЛЕОНИДОВ, канд. техн. наук*

## ИССЛЕДОВАНИЕ АМПЛИТУДНО-ЧАСТОТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ

### Введение

Физические методы диагностики [1 – 8] функционального состояния биологических тканей (электротермометрия, цветовая и инфракрасная термография, капиллярная фотометрия, а также ультразвуковые методы и лазерная доплеровская флоуметрия) в случае термических, механических и огнестрельных повреждений или в результате продолжительного сдавливания малоэффективны из-за разной степени поражения ткани по ходу раны и не дают возможности определить состояние каждой мышцы отдельно.

Поэтому до настоящего времени ни один из перечисленных выше методов не нашел широкого применения в практике оперативной оценки жизнеспособности (способности биологической ткани к самовосстановлению) поврежденных областей мягких тканей. В то же время хорошо известно, что при лечении поражений или при трансплантации тканей одним из важнейших условий успешного проведения операции является как можно более раннее определение границ некротических поражений. Однако надежных, широкодоступных и именно оперативных инструментальных методов оценки степени жизнеспособности тканей в настоящее время все еще не разработано.

Использование в качестве критерия оценки состояния биоткани такой физической величины как импеданса биоткани [9 – 15] основано на известном положении [10, 14], согласно которому модуль  $|Z_{BT}|$  импеданса нежизнеспособной ткани много меньше этой же величины, полученной при измерении импеданса пораженного участка биоткани. При этом величина  $|Z_{BT}|$  пораженного участка практически не зависит от частоты  $f_{uzm}$  используемого измерительного тока  $I_{uzm}$ .

Для полностью жизнеспособной (непораженной) биоткани модуль импеданса есть функция частоты  $|Z_{BT}| = F(f_{uzm})$ . Наибольшие изменения функции  $Z_{BT}(f_{uzm})$  наблюдаются в низкочастотной области при  $f_{uzm} < 10 \text{ кГц}$ .

В работе [10] вводится понятие коэффициента жизнеспособности, его еще называют коэффициентом поляризации [14], в следующем виде:

$$K_f = \frac{|Z_{f2}|}{|Z_{f1}|}, \quad \text{при} \quad f_2 \gg f_1 \quad (1)$$

Если выполняется неравенство  $K_f > 1$  то принимается решение о том, что биоткань способна к самовосстановлению, в противном случае при  $K_f \leq 1$  принимается решение о том, что биоткань нежизнеспособна.

В выражении (1) значения частот  $f_1$  и  $f_2$  строго не определены, и, следовательно, критерий (1) не может гарантировать строгую определенность решения.

Также очевидно, что критерий (1) дает неопределенность решения о состоянии биоткани в области  $K_f = 1 \pm \xi$ , где  $\xi$  – малая величина, значение которой также является неопределенным. В общем случае область  $K_f > 1$  может быть обширной и, следовательно, возникает

необходимость описания различий в состоянии биоткани при различных значениях  $K_f$  в этой области, где предположительно возможно формирование нескольких подобластей, отвечающих известному или выявленному в процессе экспериментальных исследований, набору детерминированных состояний биоткани.

Область решений  $K_f = [\xi, 1]$  также может включать существенные различия в состоянии биоткани.

Кроме того, неопределенность в интерпретацию величины  $K_f$  вносят значительные флуктуации величины импеданса при повторении опытов даже для похожих или однотипных тканей и случаев поражения.

Нежизнеспособные ткани в зависимости от условий поражения и времени, прошедшего с момента поражения, могут содержать различный объем жидкой фракции (электролита), что существенно влияет на абсолютное значение импеданса исследуемой области биоткани. Эти обстоятельства приводят к трудностям однозначного определения граничных значений абсолютной величины импеданса для пораженных и непораженных участков биоткани как для биотканей различного типа, так и для различного типа и степени поражений.

Следовательно, использование только одного параметра, а именно величины абсолютного значения импеданса не является оптимальным подходом для обеспечения надежной диагностики состояния пораженной биоткани. Для развития диагностических возможностей методов импедансометрии необходимо расширить область измеряемых параметров, для чего необходимо провести исследования распределений импеданса в частотной и временной областях, с целью выявления оптимального подхода к повышению диагностических возможностей метода импедансометрии.

Цель работы – получение и анализ достаточной выборки статистического материала по частотному распределению характеристики модуля импеданса биоткани для разработки состоятельного заключения относительно их информативного содержания. Исследования проводились на биотканях растительного происхождения.

### Основные положения

Для измерения амплитудно-частотных характеристик (АЧХ) биологических тканей использовалась измерительная схема, приведенная на рис. 1. Методика измерений предусматривала использование испытательных синусоидальных сигналов, которые составляют частотный ряд в диапазоне частот  $D_F = [20 \text{ Гц} \dots 2,0 \text{ МГц}]$ .

Эффективное значение напряжения, которое подавалось на образец ткани (резистор  $R_2$ ) через токоограничивающий резистор  $R_1$ , составляло  $U_{эф} = 1,5 \text{ В} \pm 5\%$ . Величина тока через образец поддерживалась постоянной во время проведения экспе-

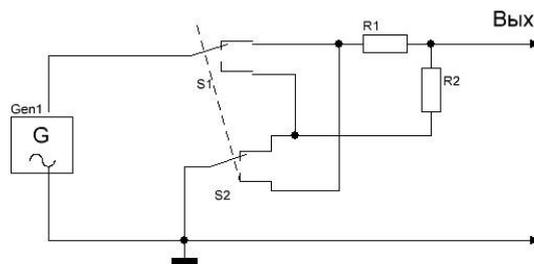


Рис. 1. Схема измерений

риментов и при величине сопротивления резистора  $R_1 = 20 \text{ кОм}$  не превышала значения  $I_{\max} \leq 0,7 \cdot 10^{-6} \text{ А}$ , ошибка установки тока через образец не превышала  $\delta I = \pm 5\%$ . В исследовании было удобно использовать анализ зависимостей модуля напряжения на объекте. Такой метод значительно упрощал процедуру измерений и аппаратную часть экспериментов.

Размеры исследуемой области ограничены электродами игольчатого типа, расстояние между иглами  $\Delta l = 10 \text{ мм}$ , глубина погружения  $\delta h = 2 \text{ мм}$ .

В качестве исследуемых объектов использовались несколько видов растительной биологической ткани: яблоко, морковь, свекла, картофель, побеги алоэ.

Задачей исследования было определение граничных значений области изменения распределений напряжения на биологической ткани в зависимости от частоты при известных

исходных параметрах испытательных сигналов. При этом выдвигалась следующая рабочая гипотеза.

Модуль импеданса биологической ткани определяется соотношением объема живых клеток, обладающих свойством поляризации и объемом межклеточной жидкости, которая представляет собой раствор электролита. Если считать, что это соотношение для неповрежденной биологической ткани априори известно, то в результате повреждения в межклеточное пространство дополнительно поступает внутриклеточная жидкость (тоже электролит), при этом в процессе поляризации будет участвовать уже меньшее число клеток и, следовательно, модуль полного электрического сопротивления должен уменьшаться.

Нетрудно предположить, что нижним граничным значением модуля импеданса пораженной биологической ткани будет сопротивление тканевого электролита в предположении о том, что клеточная структура полностью разрушена.

Также нетрудно предположить, что проводимость тканевого электролита различна для различных типов тканей. Поэтому в качестве критерия для относительной оценки степени поражения клеточной структуры биологической ткани следует принять АЧХ некоторого «стандартного» электролита. В качестве такого эталона как показателя предельного поражения ткани целесообразно принять дисперсионную зависимость импеданса изотонического раствора соли  $NaCl$  (физиологического раствора), при этом будем считать, что по мере увеличения тяжести поражения АЧХ биологической ткани стремится к АЧХ изотонического раствора. Этот критерий, возможно, будет не вполне справедлив в случае растительных биологических тканей, но мы его применяем в связи с тем, что конечной целью исследований в этой области знаний является создание системы информативных признаков для классификации состояния жизнеспособности биологических тканей животного происхождения.

### Результаты экспериментальных наблюдений и их анализ

На рис. 2 приведены зависимости частотного распределения напряжения на исследуемом участке живой биологической ткани растительного происхождения. На рис. 2 приняты следующие обозначения: 1 – яблоко, 2 – изотонический раствор, 3 – картофель, 4 – картофель молодой, 5 – свекла, 6 – морковь, 7 – алоэ.

Анализ зависимостей на рис. 2. показывает, что в случае исследования живой клеточной структуры форма АЧХ образца биологической ткани имеет принципиальное отличие от формы АЧХ изотонического раствора.

На АЧХ биологической ткани можно выделить четыре характерных участка.

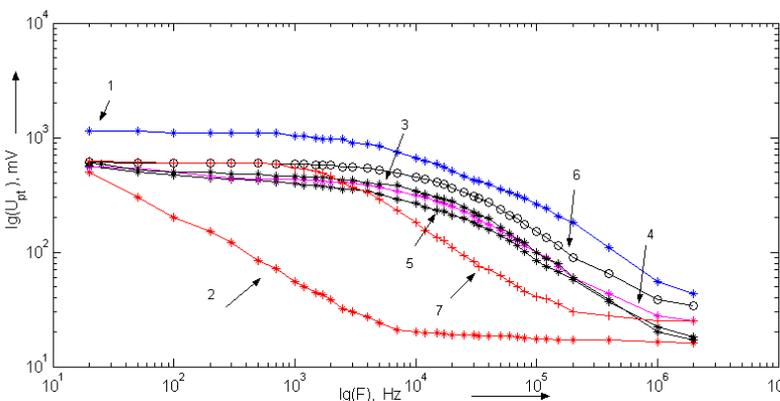


Рис. 2. АЧХ неповрежденной клеточной ткани

Первый участок – это относительно медленно спадающий сигнал при положительной кривизне в области частот  $\Delta F_1 = [20; \dots 1000] Гц$ .

Второй участок в принятом логарифмическом масштабе приближается к линейному виду в диапазоне частот  $\Delta F_2 = [1,0; 100] кГц$ . На третьем участке наблюдается спад сигнала с отрицательной кривизной. Этот участок для всех образцов имеет малый диапазон частот:  $\Delta F_3 = [100; 200] кГц$  для алоэ и  $\Delta F_3 \cong 1000 кГц$  для остальных типов исследуемых тканей. На четвертом участке сигнал почти не зависит от частоты в области частот  $\Delta F_4 > 1 мГц$ .

В принятых координатах частотная зависимость для изотонического раствора явно отличается от АЧХ живой биологической ткани. На этой зависимости (кривая 2 на рис. 2) наблюдаются два явно различающихся участка. На первом участке в диапазоне частот

$\Delta F_{1fz} \cong [20; \dots 7000] \Gamma\zeta$  наблюдается близкое к линейному уменьшение сигнала. На частотах  $\Delta F_{2fz} > 7000 \kappa\Gamma\zeta$  величина сигнала почти не зависит от частоты.

Из проведенного анализа следует предположение о том, что при некоторой промежуточной степени поражения биологической ткани АЧХ сигнала также будет приобретать некоторую промежуточную форму между кривой 2 и, например, кривой 1. Для проверки этой гипотезы были измерены АЧХ биологических тканей, которые подверглись замораживанию различной степени с последующим медленным нагревом до комнатной температуры. Графическое изображение полученных АЧХ приведены на рис. 3.

Анализ зависимостей рис. 3. подтверждает выдвинутую гипотезу о приближении формы АЧХ к АЧХ изотонического раствора по мере увеличения тяжести поражения. В этом эксперименте образцы растительной биологической ткани подвергались замораживанию путем выдержки в морозильной камере холодильника. Кривая 1 представляет собой АЧХ биологической ткани яблока, которая находилась в морозильной камере в течение 15 мин с последующим нагревом в комнатных условиях. Зависимость 2 получена на яблочной ткани после выдержки в морозильной камере в течение 30 мин. Кривая 3 и 5 представляют АЧХ полученные на картофеле и яблоке после их выдержки в морозильной камере в течение 2 час. Зависимость 4 представляет АЧХ изотонического раствора.

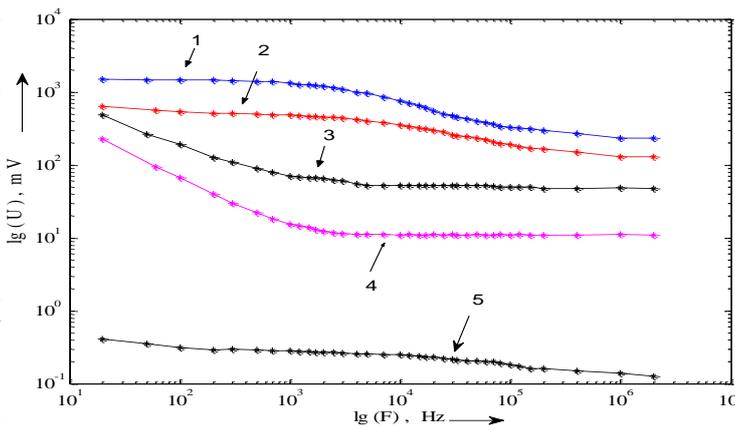


Рис. 3. АЧХ поврежденной клеточной ткани

Полученные результаты наглядно демонстрируют явно выраженное приближение формы зависимости к зависимости, полученной для изотонического раствора.

Также видно отличие после сильного замораживания яблочной ткани, в результате чего произошло полное разрушение клеточной структуры и измерения проводились по существу на жидкой фракции, представляющей смесь межклеточного и внутриклеточного электролитов. Видно, что модуль импеданса яблочного электролита значительно меньше, чем для изотонического раствора. Это явление можно объяснить значительным различием химического состава и, по-видимому, различием в плотности растворов. Для биологических тканей животного происхождения это явление наблюдаться не будет.

Полученный результат показывает, что форма АЧХ может служить информативным признаком объемного содержания здоровых клеток в исследуемом объеме биологической ткани и, следовательно, может служить признаком ее жизнеспособности.

## Выводы

Основным результатом работы является обоснование информативности метода частотного анализа импеданса биологических тканей для диагностики их способности к самовосстановлению после полученных повреждений.

Также показано, что метод оценки жизнеспособности биологических тканей, построенный на принципе анализа АЧХ, имеет существенный недостаток, состоящий в том, что для получения этой характеристики требуется относительно большой интервал времени и достаточно сложная и, следовательно, дорогостоящая аппаратная реализация. Так, для синтеза частоты  $f = 250 \kappa\Gamma\zeta$  потребуются работа цифро-аналогового преобразователя на частоте  $f \geq 5,0 \cdot 10^6 \Gamma\zeta$ .

Последующие работы, проводимые нами в области развития научного направления импедансометрии биотканей, будут направлены на проведение исследований по разработке и

созданию экспериментального образца, построенного на принципе измерения и анализа сигналов переходного процесса, возникающего в биологической ткани при подаче на нее импульса микротока, при котором реализуется анализ сигналов во временной области взамен анализу в частотной области. Такой подход в литературных источниках не описан, однако он представляется наиболее перспективным, так как время, затрачиваемое на анализ, ориентировочно составляет величину  $t_{изм} \cong 0,2 \text{ с}$ . Также при этом значительно упрощается аппаратная часть устройства.

#### Список литературы

1. Гэстицев В. К и др. Тепловидение в ранней диагностике гнойных воспалительных заболеваний мягких тканей и при контроле за течением раневого процесса // Сб. науч. тр. 1985. С. 482 – 484.
2. Bharara M., Cobb J. E, Claremont D.J. Thermography and thermometry in the assessment of diabetic neuropathic foot: a case for furthering the role of thermal techniques // Low Extrem Wounds. 2006. № 5:4. P. 250 – 260.
3. Isogai N. Application of medical thermography to the diagnosis of Freys syndrome // Head Neck. 1997. №19: 2. P.143 – 147.
4. Иванов В. В., Бачаури Н. М. Роль тепловидения в диагностике облитерирующих заболеваний сосудов нижних конечностей // Хирургия. 1992. № 5. С. 38 – 40.
5. Труфанов Г. Е., Дмитращенко А.А., Борисенко Л. В. и др. Спиральная компьютерная томография в диагностике множественной и сочетанной травмы // Медицина катастроф. 2006. № 4. С. 51.
6. Sidler M., Jackowski C., Dimhofer R. et al. Use of multislice computed tomography in disaster victim identification – advantages and limitations // Forensic Sei Int. 2007. №169. P. 2 – 3; 118 – 128.
7. Dellegrottaglie S., Sanz J., Macaluso F. et al. Technology Insight: magnetic resonance angiography for the evaluation of patients with peripheral artery disease // Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2002. № 4: 12. P. 677 – 687.
8. Лежнев К.К. Сравнительная оценка методов определения жизнеспособности мягких тканей при огнестрельных повреждениях : автореф. дис. ... канд. мед. наук. 1990. 19 с.
9. Thomasset A. Bio-electrical properties of tissue impedance measurements // Lyon Med. 1962. № 207. P. 107–118.
10. Тарусов Б.Н. Электропроводность как метод определения жизнеспособности тканей // Архив биологических наук. 1938. Т. 52. Вып. 2. С. 178-1811.
11. Тарусов Б.Н. Сравнительные данные по измерению электропроводности различных тканей // Бюлл. эксп. биол. мед. 1943. № 15 (4–5). С. 44 – 50.
12. Тихомиров А.М. Импеданс биологических тканей и его применение в медицине. Москва : РГМУ, 2006. 12с.
13. Горнуев Ю.В., Колдышева Е.В., Лапий Г.А., Балахнин С.М., Бушманова Г.М., Преображенская В.К. Электроимпедансометрия в гистологической технологии // Биологические науки. Фундаментальные исследования. 2013. №6. С. 1164 – 1167.
14. Bykh A.V., Kozin Yu.I., Leonidov, V.I., Kravtsov A.V., Bobnev R.A. Development of the systems for frequency impedancemetry of biotissues using the @Arduino@ platforms // Telecommunications and Radio Engineering 78(1), pages 71-78 DOI: 10.1615/ TelecomRadEng, v78.i1.80, 2019.
15. Кравцов О.В., Леонідов В.І., Козін Ю.І., Бобнев Р.О. Пристрій для визначення життєздатності біологічних тканин. Патент на корисну модель №133519, номер заявки u2018 11007; подана 07.11.2018, дата 10.04.2019, дата публікації 10.04.2019. Бюл. №7.

*Поступила в редколлегию 04.11.2020*

#### Сведения об авторах:

**Леонидов Владимир Иванович** – канд. техн. наук, с. н. с. кафедры биомедицинской инженерии, Харьковский национальный университет радиоэлектроники, Украина; e-mail: [volodymyr.leonidov@nure.ua](mailto:volodymyr.leonidov@nure.ua), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5218-3177>

**Семенец Валерий Васильевич** – д-р техн. наук, проф., ректор, Харьковский национальный университет радиоэлектроники, Украина; e-mail: [valery.semenets@nure.ua](mailto:valery.semenets@nure.ua), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8969-2143>