

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**«Московский физико-технический институт  
(национальный исследовательский университет)»**

**(МФТИ, Физтех)**

*На правах рукописи*



**Совин Кирилл Владимирович**

**Разработка радиочастотных методов исследования обратимых и  
необратимых изменений в биологических тканях при термическом  
воздействии**

**Специальность: 1.3.4 – радиофизика**

**Диссертация на соискание ученой степени кандидата  
физико-математических наук**

**Научный руководитель:**

**Коваленко Никита Валерьевич –  
кандидат физико-математических наук**

**Фрязино – 2026**

## Оглавление

Основные понятия и обозначения .....	3
Введение .....	6
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	12
1.1. Уровни организации живой системы.....	12
1.2. Электрические свойства биологических тканей.....	16
1.3. Методы радиочастотной (РЧ) импедансной спектроскопии.....	23
1.4. Термическое воздействие на биоткани.....	29
1.5. Модуляционные методы .....	39
1.6. Выводы по обзору литературы.....	43
Глава 2. Радиочастотная спектроскопия импеданса биотканей при разогреве постоянной мощностью.....	46
2.1. Образцы .....	46
2.2. Экспериментальная установка .....	47
2.3. Измерение и анализ спектров импеданса печени.....	56
2.4. Анализ кинетики низкочастотного сопротивления $R_L$ в процессе облучения .....	61
2.5. Исследование влияния однородности разогрева на параметры деградации .....	64
2.6. Выводы к главе .....	67
Глава 3. Измерения радиочастотного адмиттанса биотканей при разогреве модулированной мощностью .....	69
3.1. Образцы .....	69
3.2. Экспериментальная установка .....	69
3.3. Измерение и анализ кинетик адмиттанса печени.....	72
3.4. Исследование однородности разогрева.....	82
3.5. Проверка точности алгоритма обработки экспериментальных данных .....	87
3.6 Выводы к главе .....	87
Заключение.....	89
Список публикаций по теме диссертации.....	90
Список цитируемой литературы.....	92
Благодарности.....	100

## Основные понятия и обозначения

ВБР – волоконная брэгговская решетка

ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия

ИК – инфракрасный

ОУ – операционный усилитель

РЧ – радиочастотный

ТМ-ДСК – температурно-модулированная дифференциальная сканирующая калориметрия

ТПИ – теория переноса излучения

ФНЧ – фильтр низких частот

CPE – элемент постоянной фазы (constant phase element)

$V_{rms}$  (volts root mean square) - среднеквадратичное значение напряжения в Вольтах

$\vec{E}$  - вектор напряженности электрического поля [В/м]

$\vec{D}$  - вектор электрической индукции [Кл/м<sup>2</sup>]

$\vec{B}$  - вектор магнитной индукции [Тл]

$\vec{H}$  - вектор напряженности магнитного поля [А/м]

$\varphi$  - электрический потенциал [В]

$e \approx 1,6 \times 10^{-19}$  - заряд электрона [Кл]

$\vec{j}, \vec{j}_e$  - плотность электрического тока [А/м<sup>2</sup>]

$\hat{\varepsilon}$  или  $\varepsilon^*, \varepsilon', \varepsilon''$  - комплексная, действительная и мнимая диэлектрические проницаемости среды

$\varepsilon_0 \approx 8,85 \times 10^{-12}$  - диэлектрическая проницаемость вакуума [Ф/м]

$\mu_0 \approx 1,26 \times 10^{-6}$  - магнитная проницаемость вакуума [Н/А<sup>2</sup>]

$\hat{\sigma}$ ,  $\sigma'$ ,  $\sigma''$  - комплексная, действительная и мнимая удельная электропроводности среды [См/м]

$P$  - мощность излучения [Вт]

$I$  или  $\Phi_d, \Phi_c$  - интенсивность (d - диффузно рассеянного излучения, c - облучающего образец излучения) [Вт/м<sup>2</sup>]

$\mu_a$  - коэффициент оптического поглощения [1/м]

$\mu_s$  - коэффициент оптического рассеяния [1/м]

$\mu_t$  - коэффициент оптического ослабления [1/м]

$D_L$  - коэффициент оптической диффузии [м<sup>2</sup>/с]

$p$  - индикатрисса оптического рассеяния

$g$  - анизотропия оптического рассеяния

$Z$  - комплексный электрический импеданс [Ом]

$Y$  - комплексный электрический адмиттанс [См]

$U, U_g, U_0, U_{lia}$  - электрическое напряжение [В]

$J, J_g, J_0$  - электрический ток [А]

$C$  - электрическая емкость [Ф]

$R$  - электрическое сопротивление [Ом]

$\alpha$  - параметр дисперсии элемента постоянной фазы

$T, T_0, T_a$  - температура [<sup>0</sup>С] [К]

$\beta$  - скорость линейного нагрева [<sup>0</sup>С/с]

$\mu_L$  - температурный коэффициент [1/К]

$\rho$  - плотность вещества [кг/м<sup>3</sup>]

$\kappa$  - теплопроводность [Вт/(м К)]

$c$  - удельная теплоемкость [Дж/(кг К)]

$m$  - масса [кг]

$h$  - коэффициент теплообмена [Вт/(м<sup>2</sup> К)]

$A$  - частотный фактор Аррениуса [1/с]

$E_a$  - энергия активации Аррениуса [Дж/моль], [эВ]

$G$  - доля нативной (неповрежденной) ткани

$T_{cr}$  - критическая температура Аррениуса [<sup>0</sup>С], [К]

$k_b \approx 1,38 \times 10^{-23}$  - постоянная Больцмана [Дж/К], [эВ/К]

$N_a \approx 6,022 \times 10^{23}$  - число Авогадро [1/моль]

$R \approx 8,31$  - универсальная газовая постоянная [Дж/(моль К)]

$\vec{r}$  - радиус-вектор [м]

$x, y, z$  - координаты в трехмерном пространстве [м]

$d, D, w, w_0$  - диаметр [м]

$t, \tau$  - время [с]

$\Pi$  - площадь [м<sup>2</sup>]

$L, l$  - длина [м]

$\omega$  - циклическая частота [рад/с]

$f$  - частота [Гц]

## Введение

Исследование влияния термического воздействия на биологические ткани является важной задачей биологии, физики и медицины и лежит в основе широкого круга хирургических методов, использующих радиочастотное [1], микроволновое [2], лазерное [3] и ультразвуковое воздействие [4]. В частности, данные воздействия применяются при лечении сердечных аритмий [5], сосудистых заболеваний [6], эндометриоза [7], доброкачественной гиперплазии предстательной железы [8], онкологических опухолей, в том числе опухолей печени [9], [10].

Термическое воздействие с помощью излучения может приводить как к обратимому разогреву тканей, так и к их необратимой деградации (повреждению): лизису клеток, коагуляции белков и пр. [3]. Существенным для проведения успешного лечения является строгий контроль дозы подводимого тепла, позволяющей достичь нужного размера области необратимого воздействия на ткань и степени этого воздействия. В настоящий момент традиционным методом решения задачи дозиметрии являются предварительные лабораторные исследования на аналогичных биологических тканях или их фантомах, в ходе которых идёт подбор параметров воздействия (мощности, длительности, частоты электромагнитного излучения и т.д.) [11]. Для оценки степени повреждения образцы проходят гистологический анализ – исследование тканей и органов путем создания срезов, их фиксации, окрашивания и изучения этих срезов под микроскопом [12]. Корректно оценить масштаб термического воздействия на ткань при таком подходе возможно только через несколько часов или даже суток [13], что значительно замедляет такого рода исследования.

Существенно снизить количество экспериментов для подбора нужного режима воздействия позволяет математическое моделирование процесса разогрева и деградации биологической ткани. Для построения таких моделей необходима информация о физических свойствах образца, в том числе параметры кинетики протекания процесса деградации.

С температурой и физиологическим состоянием биологических образцов тесно связаны их электрические свойства, поэтому одним из методов диагностики состояния биологических тканей является импедансная спектроскопия [14]. Она может быть применена как в промышленности, например, для контроля процесса выращивания растений [15] или оценки качества продуктов [16], так и в медицине, например, для витрификации (сверхбыстрого замораживания) при консервации органов и тканей [17] и для обнаружения и классификации опухолей [18, 19]. Кроме того, проводились лабораторные исследования и для применения в медицинских операциях, связанных с термическим нагревом [20-22]. В том числе, проводились

измерения электрического импеданса на фиксированной радиочастоте непосредственно в ходе операции с использованием радиочастотного катетера [23].

Изменение величины электрического импеданса тканей практически моментально отображает происходящие в них структурные изменения [24-26]. Формализм Аррениуса является основной математической моделью, описывающей ход различных процессов повреждения биологических тканей [13]. С его помощью из измеренных временных зависимостей импеданса и температуры возможно извлечь параметры процесса термической деградации, точные значения которых столь необходимы для построения корректной модели протекания этого процесса. Это, в свою очередь, позволит улучшить предоперационное планирование и, следовательно, добиться лучшего терапевтического результата.

Однако при нагреве необратимому изменению электрического импеданса из-за структурных изменений в ткани неотъемлемо сопутствует обратимое температурное изменение. При большом наборе исследований зависимостей импеданса тканей в ходе нагрева [27], редки работы, где в явном виде ставится задача разделения этих необратимых структурных и обратимых температурных изменений. Так, в работе McRae [28] изменение проводимости с температурой считались полиномом первого порядка, в работе Macchi [29] эти изменения описывались полиномом второго порядка, в обоих случаях коэффициенты полиномов оценивались из начального этапа нагрева и экстраполировались на весь экспериментальный температурный диапазон. В работе Lorenzo [24] было сделано предположение, что изменение проводимости на частотах порядка  $10^6$  Гц обусловлены только температурой, и величина этого изменения из-за температуры предполагалась одинаковой во всем остальном измеряемом частотном диапазоне. Как будет показано в нашей работе, обе описанные экстраполяции не являются корректными.

Таким образом, в настоящее время в мировой литературе отсутствует надлежащий способ оценки обратимых температурных изменений импеданса биологической ткани. А поскольку наличие данной составляющей в ходе термической деградации ткани неизбежно, важно уметь напрямую, без предположений и экстраполяций, определять её величину и вычитать из общей картины изменений, чтобы затем, получив корректные, "очищенные" от влияния температуры зависимости, найти из них точные параметры деградации.

## Научная новизна работы

1. Разработан радиочастотный метод исследования термической деградации биологических тканей с разделением обратимых и необратимых изменений в условиях пространственно однородного разогрева модулированным оптическим излучением.
2. Предложенным методом были проведены измерения и анализ радиочастотного импеданса для образцов биологических тканей животных. Впервые была получена в явном виде зависимость температурного коэффициента адмиттанса в области температур, соответствующих активному протеканию процесса деградации.
3. Разработана и численно реализована математическая модель влияния степени неоднородности разогрева биологических образцов на точность определения их параметров деградации по формализму Аррениуса. На основе моделирования были проведены сравнения разогрева объёма образца оптическим излучением с конвективными методами, основанными на теплопередаче через поверхность образца.

## Цели и задачи диссертационной работы

**Цель диссертации** – разработка методов исследования обратимых и необратимых изменений в биологических тканях при их одновременном протекании в условиях однородного разогрева лазерным излучением на основе измерения их электрических свойств.

В рамках поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Разработка оригинальных методик определения состояния биологических тканей на основе измерений их радиочастотных свойств при воздействии непрерывного и модулированного лазерного излучения.
2. Разработка экспериментальных автоматизированных стендов для контроля состояния биологических тканей при постоянном и модулированном разогреве лазерным излучением, которые реализуют предложенные методики.
3. Разработка математических алгоритмов для определения температурного коэффициента проводимости и параметров кинетики деградации биологических тканей на основе измеренных радиочастотных свойств при постоянном и модуляционном разогреве лазерным излучением.

4. Разработка математических моделей, описывающих распространение оптического излучения, тепловых потоков и электрического тока в процессе разогрева биологических тканей с помощью поверхностного теплообмена (водяная баня, воздушная баня) или лазерного излучения, позволяющих оценить однородность такого разогрева.
5. Проведение измерений на ткани куриной печени с помощью разработанных стендов и алгоритмов для их апробации.

### Теоретическая и практическая значимость работы

Предложенный и реализованный в рамках данной работы радиочастотный метод исследования термической деградации с разделением обратимых и необратимых изменений может быть использован для получения параметров деградации биологических тканей для моделей предоперационного планирования лечения с применением термической абляции.

Реализованная математическая модель, оценивающая влияние степени неоднородности разогрева биологических образцов на точность определения их параметров деградации, позволяет исследователям подобрать геометрические размеры образцов и мощность/температуру источника разогрева для получения корректных величин этих параметров.

Предложенный способ обработки экспериментальных зависимостей проводимости и температуры позволяет в явном виде получить величину частной производной проводимости от температуры в области температур, соответствующих активному протеканию процесса деградации.

### Достоверность

Достоверность основных положений и выводов диссертационной работы подтверждается воспроизводимостью экспериментальных результатов и гарантируется проведенным сравнением с литературными данными. Надежность полученных результатов обеспечивается использованием параметров экспериментальных установок, выбранных на основе теоретических расчетов, применением современной приборной базы и сопровождением экспериментов моделированием. Полученные результаты опубликованы в рецензируемых научных журналах.

## Методологическая основа исследования

В основе измерений радиочастотных электрических свойств материалов лежит импедансная спектроскопия.

Теоретический анализ распределения интенсивности оптического излучения строится на теории переноса излучения, а распределения температуры – на нестационарном уравнении теплопроводности, а распределения электрического тока – на уравнениях Максвелла.

## Положения, выносимые на защиту

1. Применение способа однородного разогрева лазерным излучением с модулированной мощностью позволяет разделить составляющие радиочастотного импеданса, связанные с обратимыми и необратимыми процессами, происходящими внутри биологических тканей.
2. Для корректного определения параметров деградации биологической ткани по формализму Аррениуса в ходе её нагрева и деградации с помощью измерения радиочастотного адмиттанса необходимо в явном виде находить температурную зависимость частной производной проводимости по температуре.
3. Рассеянное излучение ближнего ИК-диапазона обеспечивает однородность разогрева образцов биологических тканей, что позволяет до 4 раз снизить ошибку определения параметров термического процесса деградации с помощью измерения радиочастотного импеданса в сравнении с конвективными методами.

## Апробация результатов работы

Результаты исследований, изложенные в диссертации, в полной мере отражены в 12 печатных работах, в том числе 6 научных статьях, из которых 4 статьи – в зарубежных научных изданиях, входящих в систему цитирования Scopus/WoS, 2 статьи - в научном журнале, входящем в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК по соответствующей специальности и в

систему цитирования РИНЦ; 6 работ в трудах международных и всероссийских научных конференций.

Список публикаций приведён в конце диссертации.

### Личный вклад автора

Планирование и постановка экспериментов, получение экспериментальных данных, обработка и интерпретация результатов были осуществлены лично автором или при его непосредственном участии.

### Структура и объем работы

Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения, списка цитируемой литературы, благодарностей. В первой главе приведён обзор литературы в исследуемой области, описаны радиочастотные свойства биологических тканей и методы их измерений, также рассмотрены методы измерения температуры. Особое внимание уделено свойствам и тепловым процессам деградации (необратимого разрушения) в биологических тканях.

Во второй главе описан метод измерения радиочастотного импеданса биологических тканей и возникающих в них термических зависимостей в ходе однородного нагрева равномерно рассеянным лазерным излучением. Данные зависимости проанализированы на основе уравнения Коула-Коула и формализма Аррениуса, получены параметры, описывающие процесс деградации.

Третья глава посвящена измерению температурных зависимостей радиочастотных свойств биологических тканей в процессе однородного разогрева модулированным оптическим излучением. Модуляция позволила в явном виде разделить обратимые и необратимые процессы и повысить точность нахождения параметров деградации.

В заключении приведены основные выводы данной работы.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Уровни организации живой системы

Многоклеточный организм – это сложная система взаимосвязанных между собой структурных элементов, объединённых в иерархически соподчинённые уровни организации: клеточный, тканевый, органнй, системный и организменный [30]. Понимание этих уровней является фундаментальным для исследования взаимодействия физических факторов, таких как радиочастотное излучение и тепло, с биологическими объектами, поскольку реакция ткани на воздействие определяется процессами, происходящими на каждом из этих уровней. Данные уровни, на примере человеческого организма, изображены на Рис. 1.

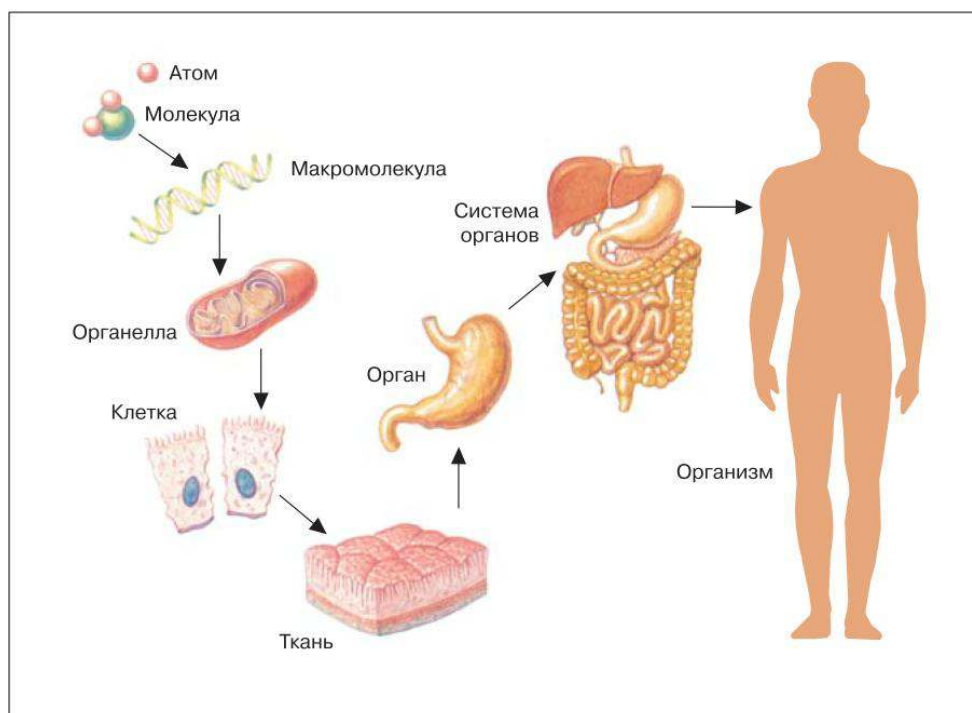


Рис. 1. Уровни организации живого организма на примере человека

1) **Субклеточный уровень.** Основу данного уровня составляют органеллы — постоянные специализированные структуры в клетках живых организмов. Каждая органелла осуществляет определённые функции, жизненно необходимые для клетки. *На этом уровне основной вклад в диэлектрические свойства вносят мембраны органелл и полярные макромолекулы. Термическое воздействие может напрямую влиять на структуру и функцию органелл, приводя к денатурации белков и нарушению клеточного гомеостаза.*

2) **Клеточный уровень.** Живая клетка является структурно-функциональной единицей живого организма. Ей присущи все свойства биологической системы: обмен веществ, рост, развитие, размножение и реакция на изменения внешней среды. Клетка окружена плазматической мембраной, которая регулирует транспорт веществ и играет ключевую роль в ее электрических свойствах. *На этом уровне основной вклад в проводимость вносит внутриклеточная жидкость, обладающая ионной проводимостью, в диэлектрическую проницаемость – клеточные мембраны, при термическом воздействии на которые происходит их разжижение (melting) вплоть до разрыва (rupture).*

3) **Тканевый уровень.** Совокупность клеток, имеющая общее происхождение, сходное строение и выполняющая одинаковые функции, образует ткань. *На этом уровне основной вклад в проводимость вносит внеклеточная жидкость, проводимость которой также обусловлена ионами.*

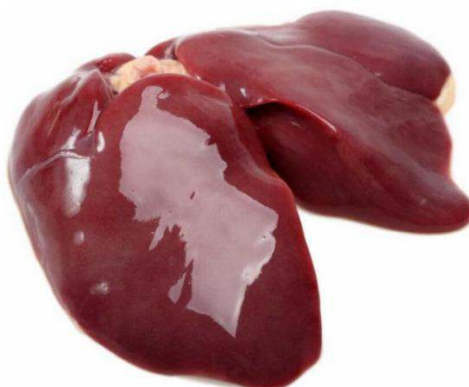
4) **Органный уровень.** Орган представляет собой структурное объединение нескольких типов тканей, приспособленное для выполнения определенных функций, необходимых для существования целостного организма. Как правило, одна из тканей является ведущей, определяющей главную функцию органа. Органы занимают определенное положение в теле, имеют определенное строение и форму. *На этом уровне вклад в диэлектрическую проницаемость вносят границы раздела между тканями.*

Таким образом, структурные составляющие биологической ткани на каждом уровне вносят свой вклад в электрические свойства, и через измерение последних можно судить о происходящих физиологических изменениях.

### 1.1.1 Строение куриной (*Gallus gallus domesticus*) печени

В данной работе объектом исследования выбрана ткань печени курицы (*Gallus gallus domesticus*). Имеющая сходство в своём строении с человеческой, выбранная ткань является актуальной для исследования как по причине большого числа случаев заболеваемости раком печени (более миллиона случаев в год [9]), так и по причине частых рецидивов после его лечения. Например, при операциях по удалению опухолей с применением радиочастотной абляции частота рецидивов достигла 47% [31].

Печень – орган пищеварительной системы, выполняющий около 500 различных функций. Основная из них – детоксикационная: предупреждение отравления организма и вывод опасных соединений.



*Рис. 2. Общий вид куриной печени.*

Печень заключена в тонкую прочную оболочку – брюшину (глянцевая поверхность на Рис. 2). Внутри печень состоит из ряда взаимосвязанных шестиугольных печеночных долек (Рис. 3). Долька состоит из печеночных клеток – гепатоцитов (размером 15-30 мкм), расположенных вокруг центральной вены. Каждая печеночная долька в каждом углу имеет портальную триаду каналов: печеночная воротная вена, печеночная артерия, и желчный проток, лимфатические сосуды и ветвь блуждающего нерва. Радиально расположенные печеночные балки – ряды гепатоцитов – соединяют портальные триады с центральной веной. Узкие щели между ними, наполненные кровью, известны под названием синусоидов – это сосудистые каналы низкого давления. Они получают кровь из ветвей печеночной артерии и воротной вены на периферии долек и доставляют ее в центральные вены, а образуемая в дольках желчь поступает в систему канальцев и выводится из печени.



*Рис. 3. Печеночная долька*

На Рис. 4 и Рис. 5 представлены гистологические изображения куриной печени, окрашенной гематоксилином и эозином (H&E staining). На них можно видеть основные составляющие печеночных долек: центральную вену и печеночные балки (Рис. 4 (б), (в)), печеночные синусоиды (Рис. 5 (б), указано стрелками).

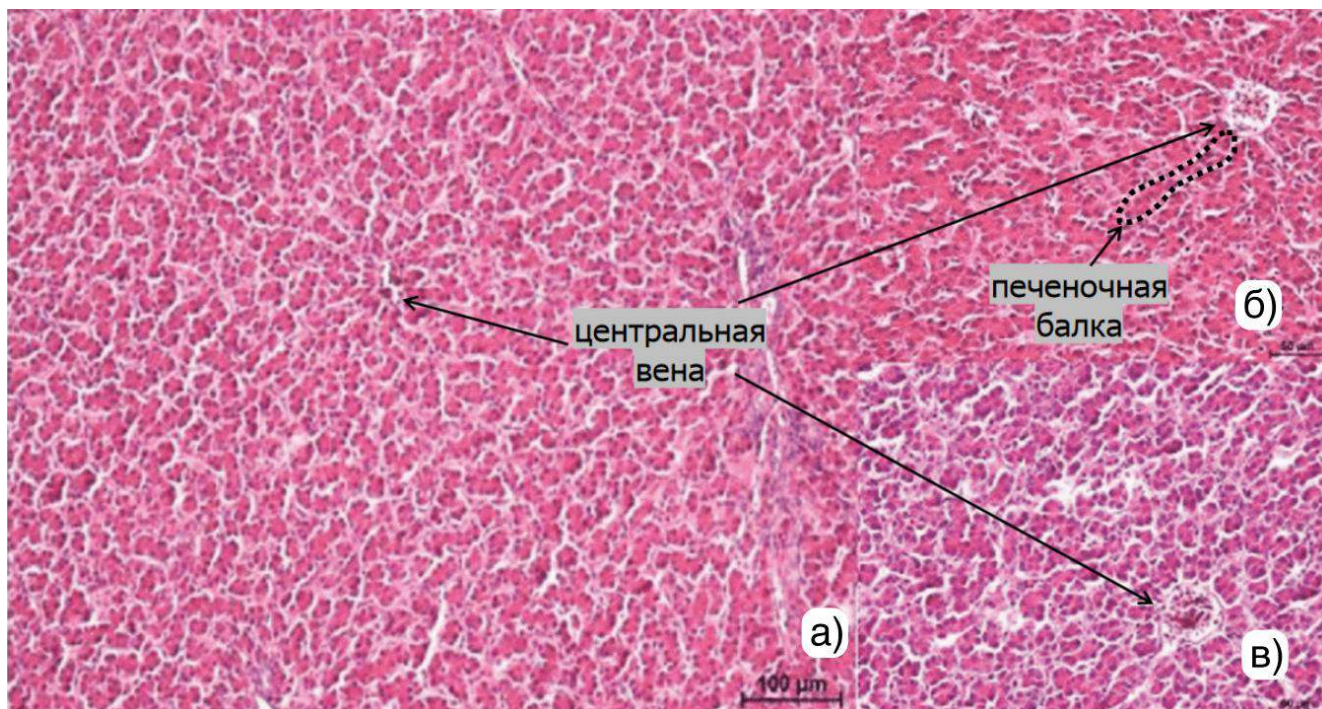


Рис. 4. Гистологическое изображение куриной печени, окрашенной гематоксилином и эозином (H&E staining). а) Правильная гистологическая структура печени. Увеличение 100х. б) Печеночные дольки с радиально расположенными печеночными балками, которые расходятся в направлении центральной вены. Увеличение 200х. в) Одиночные маленькие цитоплазматические вакуоли в нескольких гепатоцитах. Увеличение 200х [32]

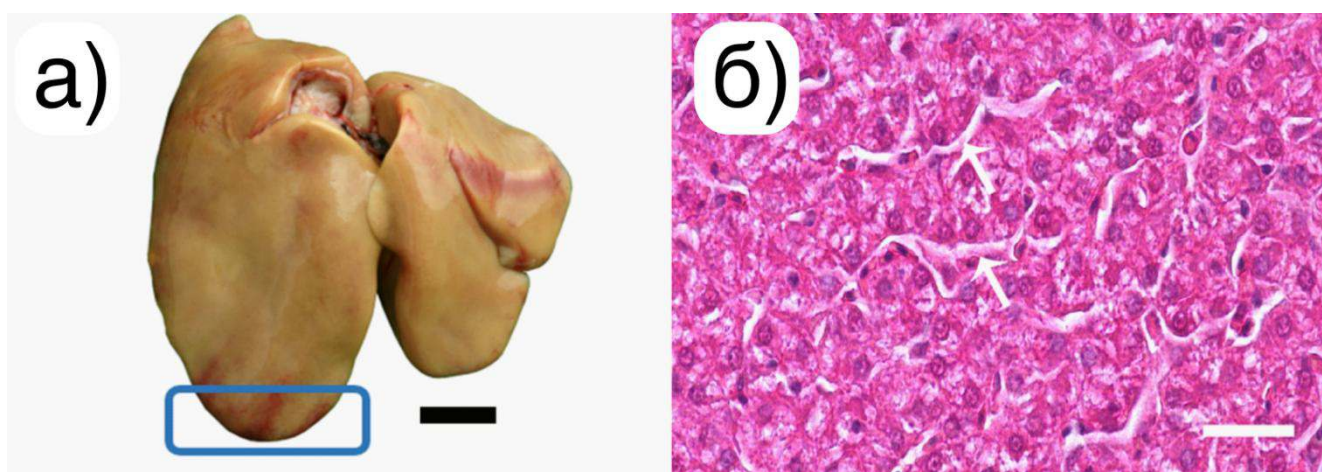


Рис. 5. а) Общий вид куриной печени с местом отбора проб. б) поперечный срез печени, окрашенный гематоксилином и эозином (H&E staining), где стрелки указывают на синусоиды. Полоса: 1 см для а) и 25 мкм для б). [33]

Рассмотрение общих принципов организации живой материи позволяет перейти к детальному анализу ее физических свойств, в первую очередь, электрических характеристик, которые являются центральным объектом данного исследования.

## 1.2. Электрические свойства биологических тканей

С точки зрения электрических свойств биологическая ткань представляет собой сложную гетерогенную среду, сочетающую области электролита (внутриклеточной жидкости и межклеточного вещества), разделенных слоями диэлектрика (мембранами клеток и органелл). Такая структура классифицируется как проводник второго рода, где носителями заряда выступают преимущественно ионы ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{2+}$  и др.), а не электроны, что обуславливает ее специфические частотно-зависимые свойства.

### 1.2.1. Основные понятия

Электрические свойства любого вещества могут быть описаны в терминах комплексной диэлектрической проницаемости  $\hat{\epsilon}$ .

Вещественная составляющая диэлектрической проницаемости является мерой электрической поляризуемости диэлектрика – физическое свойства диэлектриков приобретать электрический момент (поляризацию) во внешнем электромагнитном поле путём смещения электрических зарядов. Вещественная часть диэлектрической проницаемости играет важную роль в описании электромагнитных полей в веществе, входя в уравнения Максвелла через вектор электрической индукции  $\vec{D}$ :

$$\begin{aligned} \operatorname{rot} \vec{H} &= \vec{j} + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \\ \operatorname{rot} \vec{E} &= -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \end{aligned} \quad (1)$$

<sup>1</sup> Эта и все формулы ниже записаны в международной системе единиц (СИ).  $\mu$  полагается равной 1, нелинейная поляризованность полагается равной нулю.

$$\operatorname{div} \vec{B} = 0$$

$$\operatorname{div} \vec{D} = \rho$$

где  $\vec{E}$  - вектор напряжённости электрического поля, также выражающийся через электрический потенциал  $\phi$  как

$$\vec{E} = -\vec{\nabla} \phi \quad (2)$$

$\vec{B}$  - вектор магнитной индукции поля,  $\vec{H}$  - вектор напряжённости магнитного поля,  $\vec{j}$  - плотность электрического тока,  $\rho$  - объёмная плотность нескомпенсированного электрического заряда.

В случае изотропного вещества, вектор электрической индукции  $\vec{D}$  выражается через вектор электрической напряжённости приложенного поля  $\vec{E}$  по формуле

$$\vec{D} = \varepsilon_0 \varepsilon \vec{E} \quad (3)$$

Здесь  $\varepsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12}$  Ф/м – диэлектрическая проницаемость вакуума.

В случае анизотропных сред  $\varepsilon$  представляет собой тензор, связывающий компоненты вектора напряжённости электрического поля  $\vec{E}$  и вектора электрической индукции  $\vec{D}$ :

$$D_m = \varepsilon_0 \varepsilon_{mn} E_n \quad (4)$$

Здесь  $\varepsilon_{mn}$  – тензор диэлектрической проницаемости среды,  $\varepsilon_0$  – диэлектрическая проницаемость вакуума.

В большинстве случаев при описании биологических тканей ограничиваются рассмотрением их в качестве изотропных сред, пренебрегая возможной зависимостью  $\varepsilon$  от направления, а также от самой величины модуля  $\vec{E}$ , то есть пренебрегая нелинейной поляризацией.

Способность вещества проводить электрический ток характеризуется удельной электропроводностью (удельной проводимостью)  $\sigma$ . Согласно закону Ома, в изотропном веществе удельная проводимость является коэффициентом пропорциональности между плотностью  $\vec{j}$  возникающего тока и величиной напряжённости электрического поля  $\vec{E}$  в среде:

$$\vec{j} = \sigma \vec{E}. \quad (5)$$

На основе уравнений Максвелла (1) может быть введена связь комплексной составляющей абсолютной диэлектрической проницаемости  $\hat{\varepsilon}$  и электропроводности:

$$\hat{\varepsilon} = \varepsilon' - i\varepsilon'' = \varepsilon - i \frac{\sigma}{\omega \varepsilon_0} = \varepsilon + \frac{\sigma}{i\omega \varepsilon_0} \quad (6)$$

Здесь  $\omega$  - циклическая частота. Также в литературе вводится понятие комплексной проводимости  $\hat{\sigma}$ :

$$\hat{\sigma} = i\omega \varepsilon_0 \hat{\varepsilon} = \sigma + i\omega \varepsilon_0 \varepsilon \quad (7)$$

Тогда уравнение (5) можно переписать в комплексном виде:

$$\vec{j} = \hat{\sigma} \vec{E} = \sigma \vec{E} + i\omega \varepsilon_0 \varepsilon \vec{E} \quad (8)$$

В случае выполнения условия стационарности тока:

$$\nabla \vec{j} = 0 \quad (9)$$

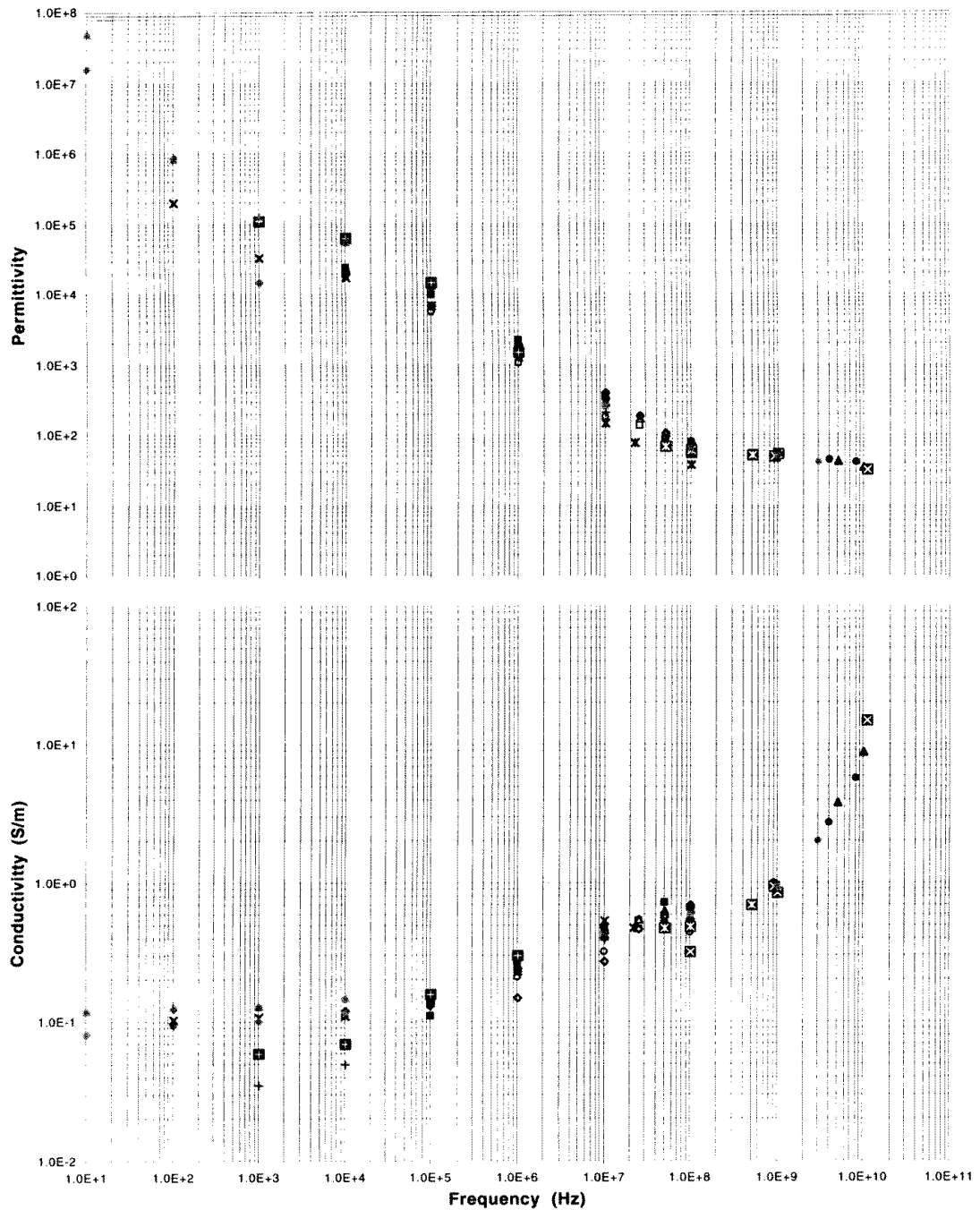
система уравнений (2),(8),(9) полностью описывает распределения плотности электрического тока  $\vec{j}$ , потенциала  $\varphi$  и напряженность электрического поля  $\vec{E}$  в среде.

Диэлектрическая проницаемость  $\varepsilon'$  (или просто  $\varepsilon$ ) и проводимость  $\sigma$  (уже как действительные числа) являются объемно-специфическими свойствами материала и зависят от частоты  $f$  ( $\omega = 2\pi f$ ) прикладываемого поля.

### 1.2.2. Характерные диапазоны значений $\varepsilon$ и $\sigma$ для печеночной ткани

В обзорной работе Габриэля (Gabriel) [34] приводятся зависимости значения диэлектрической проницаемости и проводимости для печени из 18 различных работ в диапазоне частот  $10^1 - 10^{10}$  Гц (Рис. 6). Как можно заметить, несмотря на различие организмов, которым принадлежала печень, и температур, при которой проводились измерения, спектральные зависимости имеют схожий характер и порядок величин.

## Liver



- Porcine & Bovine @ 37°C (3E7-1E8Hz) Osswald, 1937
- ◇ Canine @ 37°C (1E6-1E8Hz) Stoy et al, 1982
- △ Rabbit @ 37°C (1E5-1E8Hz) Stoy et al, 1982
- Bovine @ 25°C (1E4-1E8Hz) Surowiec et al, 1985
- × Calf @ 25°C (1E2-1E7Hz) Rigaud et al, 1994
- ✕ Porcine (In vivo) @ 34-36°C (1E6-1E8Hz) Hahn et al, 1980
- + Rabbit @ 25°C (1E3-1E9Hz) Smith & Foster, 1985
- Feline (In vivo) @ 34.8°C ± 0.8°C (1E4-5E7Hz) Surowiec et al, 1986a
- ◆ Human @ 36.8°C ± 0.2°C (1E4-1E8Hz) Surowiec et al, 1987

- ▲ Rat (In vivo) @ 32°C ± 1°C (1E8-1E10Hz) Kraszewski et al, 1982
- Feline (In vivo) @ 36°C (1E8-8E9Hz) Kraszewski et al, 1982
- ⊠ Canine @ 20°C ± 1°C (1E8-1E10Hz) Xu et al, 1987
- ⊡ Human @ 23-25°C (5E7-9E8Hz) Joines et al, 1994
- ▣ Rabbit @ 25°C (1E3-1E6Hz) Smith et al, 1986
- ✎ Feline (In vivo) @ 35°C ± 5°C (1E7-1E9Hz) Stuchly et al, 1981
- Canine (In situ) @ BT (1E1-1E4Hz) Schwan 1956, 57, 63
- △ Canine (In situ) (1E1-1E4Hz) Schwan & Kay, 1957
- Bovine @ 37°C (3E9Hz) Brady et al, 1981

Рис. 6. Частотная зависимость диэлектрической проницаемости (Permittivity) и проводимости (Conductivity) образцов печени различных животных [34].

### 1.2.3. Модели электрических свойств биологических тканей

Зависимость от частоты диэлектрической проницаемости и проводимости обусловлены релаксационными эффектами. Такие эффекты релаксации возникают всякий раз, когда материал не может мгновенно полностью отреагировать на резкое изменение приложенного электрического сигнала.

Рис. 7 представляет собой график диэлектрической проницаемости и проводимости мышечной ткани. Очень высокая диэлектрическая проницаемость, превышающая  $10^6$ , достигается на низких частотах. Проводимость, напротив, имеет максимум в ГГц-диапазоне в  $10^3$  мСм/см. Эти данные типичны для большинства тканей и клеточных суспензии, хотя частоты релаксаций и величины дисперсий сильно различаются.

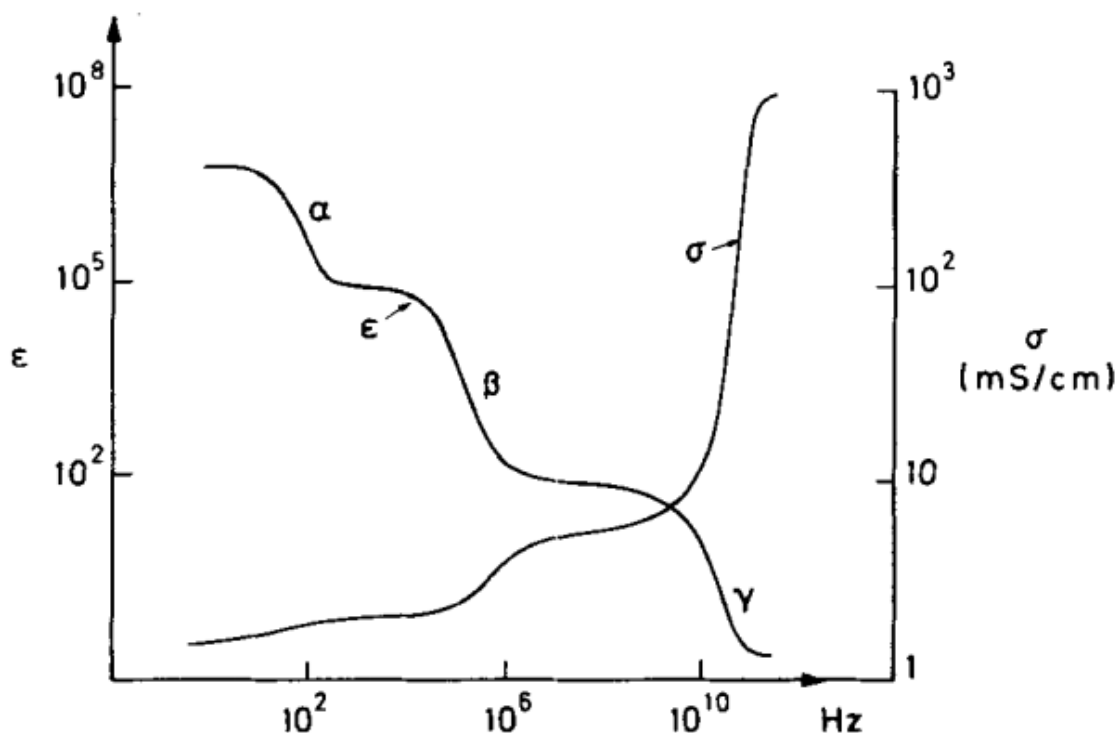


Рис. 7. Относительная диэлектрическая проницаемость  $\epsilon$  и проводимость  $\sigma$  мышечной ткани в зависимости от частоты, (из [35]). График частотной области показывает три различных дисперсии, обозначаемых буквами  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  для диэлектрической проницаемости.

Выделяют 3 основные характерные спектральные области изменения электрического импеданса (Рис. 7):

- Низкие частоты (10 Гц – 1 кГц): наблюдается  $\alpha$ -дисперсия, связанная с электрической поляризацией на границе различных тканей или на границе ткань-измерительный электрод.

- Средние частоты (1 кГц – 10 МГц): в этом диапазоне, наиболее важном для данной работы, находится область  $\beta$ -дисперсии, связанная с накоплением заряда на слабо проводящих биологических мембранах клеток и органелл и электрической поляризацией органических макромолекул.
- Высокие частоты (>10 МГц): наблюдается  $\gamma$ -дисперсия, связанная с поляризацией молекул воды.

В своей простейшей форме, каждая из этих релаксационных областей – это проявление поляризационного механизма, характеризующегося одной постоянной времени  $\tau$ , которая в приближении первого порядка даёт следующее выражение для комплексной относительной диэлектрической проницаемости  $\hat{\epsilon}$  в зависимости от угловой частоты  $\omega$  [36]:

$$\hat{\epsilon} = \epsilon_{\infty} + \frac{\epsilon_s - \epsilon_{\infty}}{1 + i\omega\tau} \quad (10)$$

Это хорошо известная формула Дебая, в котором  $\epsilon_{\infty}$  – диэлектрическая проницаемость при  $\omega\tau \gg 1$ ,  $\epsilon_s$  – диэлектрическая проницаемость при  $\omega\tau \ll 1$ , а  $i^2 = -1$ . Величина дисперсии описывается как  $\Delta\epsilon = \epsilon_s - \epsilon_{\infty}$ .

Для комплексной электропроводности биоткани  $\hat{\sigma}$  можно записать:

$$\hat{\sigma} = \sigma_s + (\sigma_{\infty} - \sigma_s) \frac{i\omega\tau}{1 + i\omega\tau} + i\omega\epsilon_{\infty}. \quad (11)$$

Для действительных компонент можно записать отдельно:

$$\epsilon = \epsilon_{\infty} + \frac{\epsilon_s - \epsilon_{\infty}}{1 + \omega^2\tau^2} \quad (12)$$

$$\sigma = \sigma_s + (\sigma_{\infty} - \sigma_s) \frac{\omega^2\tau^2}{1 + \omega^2\tau^2} \quad (13)$$

Здесь  $\tau$  – всё та же константа времени, характеризующая время отклика при изменении напряжённости приложенного поля, а индексы « $\infty$ » и «s» обозначают предельные значения на высоких и низких частотах соответственно. Из соотношений Крамерса-Кронига следует, что

$$\sigma_{\infty} - \sigma_s = \frac{(\epsilon_s - \epsilon_{\infty})}{\tau} \quad (14)$$

то есть дисперсионные величины  $\sigma_{\infty} - \sigma_s$  и  $\epsilon_s - \epsilon_{\infty}$  взаимосвязаны и, как правило [36], положительные.

Хёрт (Hurt) [37] смоделировал диэлектрический спектр мышечной ткани суммированием пяти дисперсий Дебая со статической ионной проводимостью  $\sigma_i$ :

$$\hat{\varepsilon}(\omega) = \varepsilon_{\infty} + \sum_{n=1}^5 \frac{\Delta\varepsilon_n}{1+i\omega\tau_n} + \frac{\sigma_i}{i\omega\varepsilon_0}. \quad (15)$$

Здесь  $\Delta\varepsilon_n$  – величина дисперсии для каждой из областей.

Однако для сложных гетерогенных систем, таких как биологические ткани, функция Дебая не обеспечивает точного соответствия экспериментальным данным. Уширению дисперсии соответствует введение эмпирического параметра распределения  $\alpha$ , альтернативного уравнению Дебая, известной как уравнение Коула-Коула [38]:

$$\hat{\varepsilon}(\omega) = \varepsilon_{\infty} + \frac{\Delta\varepsilon}{1 + (i\omega\tau)^{\alpha}}, \quad (16)$$

где параметр  $0 < \alpha \leq 1$  является мерой уширения дисперсии. Поэтому спектр ткани может быть более адекватно описан в терминах множественности дисперсий Коула-Коула [36]:

$$\hat{\varepsilon}(\omega) = \varepsilon_{\infty} + \sum_n \frac{\Delta\varepsilon_n}{1+(i\omega\tau_n)^{\alpha_n}} + \frac{\sigma_i}{i\omega\varepsilon_0}. \quad (17)$$

Хотя уравнение Коула-Коула и описывает эксперимент, но возникновение уширения дисперсии в разных частотных областях может быть следствием различных физических факторов. В терминах электрических элементов, данное уширение учитывается в элементе постоянной фазы (CPE – constant phase element), имеющем импеданс вида [39, 40, 41]:

$$Z(\omega) = \frac{1}{(i\omega)^{\alpha} C}. \quad (18)$$

Элементы постоянной фазы применяются: при описании неоднородностей на границе электрод-электролит, в частности при рассмотрении поверхностей электродов с фрактальной геометрией; при моделировании процессов с нерегулярными релаксационными временами, такими как аномальная диффузия в средах; при описании процессов, распределенных в среде.

Одним из примеров CPE является импеданс Варбурга, описывающий поляризационную емкость в электрохимической ячейке для идеальной линейной полубесконечной диффузии [42].

Тогда, используя CPE, эквивалентная схема для уравнения Коула-Коула будет иметь вид, представлена на Рис. 8, а импеданс такой схемы в терминах сопротивления  $R_1$ , высокочастотного сопротивления  $R_{\infty}$  и ёмкости  $C$  будет иметь вид[41]:

$$Z(\omega) = R_{\infty} + \frac{R_1}{1+(i\omega)^{\alpha}R_1C}. \quad (19)$$

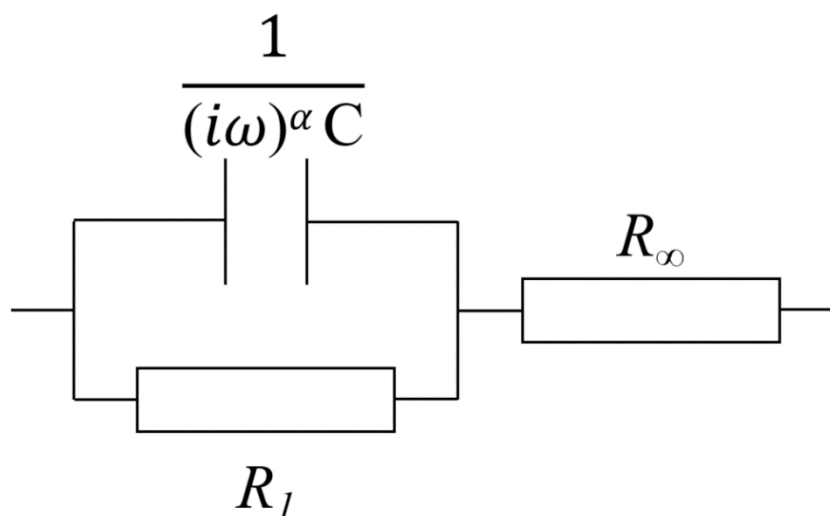


Рис. 8. Эквивалентная схема для уравнения Коула-Коула.

Рассмотренные спектральные зависимости электрических свойств биотканей позволяют перейти к описанию методов их измерения с помощью радиочастотной импедансной спектроскопии.

### 1.3. Методы радиочастотной (РЧ) импедансной спектроскопии

Импедансная спектроскопия [43] является одним из основных методов исследования разнообразных свойств электрохимических систем и процессов, протекающих в них [44]. Общий метод импедансной спектроскопии широко применяется для исследования электрических свойств различных материалов и определения зависимости этих свойств от температуры, давления и других внешних воздействий [14, 45].

В основе метода импедансной спектроскопии лежит измерение комплексного электрического импеданса исследуемого объекта в широком радиочастотном диапазоне от  $10^{-4}$  до  $10^9$  Гц.

Электрическим импедансом  $\hat{Z}$  называется отношение комплексного напряжения  $\hat{U}(f, t) = U_0 e^{i2\pi ft}$  сигнала, прикладываемого к элементу цепи, к комплексному току  $\hat{J}(f, t) = J_0 e^{i(2\pi ft + \varphi)}$ , протекающему через элемент в установившемся режиме, то есть после завершения переходных процессов:

$$\hat{Z}(f) = \frac{\hat{U}(f,t)}{\hat{J}(f,t)} = \frac{U_0}{J_0} \exp(-i\varphi). \quad (20)$$

Так как это комплексная величина, её можно записать в виде:

$$\hat{Z} = \text{Re}(\hat{Z}) + i \text{Im}(\hat{Z}). \quad (21)$$

Действительная часть импеданса  $\text{Re}(\hat{Z})$  называется резистанс (англ. resistance), и соответствует активному сопротивлению, мнимая часть  $\text{Im}(\hat{Z})$  – реактанс (англ. reactance) соответствует реактивному сопротивлению. При описании электрических систем также часто используют некоторые другие связанные с импедансом величины: обратную величину импеданса (адмиттанс).

$$Y = \hat{Z}^{-1} = \text{Re}(\hat{Y}) + i \text{Im}(\hat{Y}) \quad (22)$$

На основе измерений адмиттанса может быть восстановлена комплексная проводимость среды:

$$\hat{\sigma} = \gamma Y, \quad (23)$$

где  $\gamma$  - геометрический фактор образца ( $\gamma = l/\Pi$  в случае образца с площадью  $\Pi$  и длиной  $l$ ).

Экспериментальное измерение импеданса может производиться различными способами [46]. Исторически было наиболее распространено применение компенсационных методов с использованием мостовых схем. Также широкое распространение получили резонансный метод (Q-meter) [47] и метод синхронного детектирования.

Выбор метода определяется частотным диапазоном, требуемой точностью, необходимостью проведения измерений *in vivo* или *in vitro* и временным разрешением. Для задач мониторинга изменений свойств в реальном времени в ходе нагрева, как в данной работе, наиболее подходящим является метод синхронного детектирования с применением четырехконтактной схемы импедансной спектроскопии.

### 1.3.1. Синхронное детектирование

Синхронное детектирование (lock-in detection) представляет собой высокочувствительный метод выделения полезного сигнала на фоне шумов, основанный на фазочувствительном усилении на частоте опорного сигнала [48]. Исследуемый объект

возбуждается сигналом фиксированной частоты, а его реакция, становящаяся для синхронного усилителя входным сигналом  $s_{\omega_s}(t)$ : с амплитудой  $s_0(\omega_s)$ , перемножается с опорным сигналом  $r_{\omega_r}(t)$  той же частоты и заданной амплитуды  $r_0(\omega_r)$ .

$$s_{\omega_s}(t) = s_0(\omega_s) \sin(\omega_s t + \varphi_s); \quad r_{\omega_r}(t) = r_0(\omega_r) \sin(\omega_r t + \varphi_r), \quad (24)$$

где  $\omega_s, \varphi_s$  - частота и фаза входного сигнала,  $\omega_r, \varphi_r$  - частота и фаза опорного сигнала.

Полный входной и опорный сигнал можно разложить по спектральным составляющим.

$$s(t) = \int_{\omega_s} s_0(\omega_s) \sin(\omega_s t + \varphi_s) d\omega_s; \quad r(t) = \int_{\omega_r} r_0(\omega_r) \sin(\omega_r t + \varphi_r) d\omega_r \quad (25)$$

В большинстве экспериментов опорный сигнал является гармоническим и его спектр описывается дельта-функцией, т.е. имеет всего одну частотную составляющую  $\omega_r$ . Тогда, после перемножения входного и опорного сигнала, получим:

$$x(t) = s(t) \times r(t) = \int_{\omega_s} \frac{d\omega_s}{2} s_0(\omega_s) r_0(\omega_r) \begin{bmatrix} \cos((\omega_s - \omega_r)t + \varphi_s - \varphi_r) - \\ -\cos((\omega_s + \omega_r)t + \varphi_s + \varphi_r) \end{bmatrix} \quad (26)$$

Сигнал на суммарной частоте может быть отфильтрован с использованием фильтра низких частот (ФНЧ) (см. Рис. 9), что позволяет получить сигнал на частотах  $\omega_s$ , близких к  $\omega_r$ . В случае идеального ФНЧ получим следующее выражение:

$$x(t) = s(t) \times r(t) \Big|_{\omega_s = \omega_r} = \frac{1}{2} s_0(\omega_r) r_0(\omega_r) \cos(\varphi_s - \varphi_r) \quad (27)$$

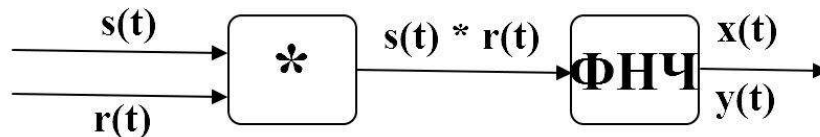


Рис. 9. Принципиальная схема работы синхронного детектора, \* - перемножитель, ФНЧ – фильтр низких частот.  $s(t)$  – измеряемый сигнал,  $r(t)$  – опорный сигнал.  $x(t)$  и  $y(t)$  определяются выражениями (27) и (28) соответственно.

Если опорный сигнал сдвинуть по фазе на  $\pi/2$ , на выходе получим:

$$y(t) = \frac{1}{2} s_0(\omega_r) r_0(\omega_r) \sin(\varphi_s - \varphi_r) \quad (28)$$

Измеряя эти два выходных сигнала –  $x(t)$  и  $y(t)$ , можно определить амплитуду входного сигнала:

$$s_0 = \frac{2}{r_0} \sqrt{x^2 + y^2} \quad (29)$$

И разность фаз между опорным и выходным сигналом:

$$\Delta\varphi = \varphi_s - \varphi_r = \arctan\left(\frac{y}{x}\right) \quad (30)$$

Метод синхронного детектирования обеспечивает высокую помехоустойчивость и точность измерений даже при отношении сигнал/шум значительно меньше 1, т.к. фильтр низких частот ослабляет шумовые компоненты на частотах, отстоящих от опорной частоты [49].

### 1.3.2. Поляризация электродов. 4-электродная схема

На границе между электродом и биологической тканью электронный ток преобразуется в протекающий ионный ток в образце, и наоборот. Электрохимические процессы на границе раздела и, в свою очередь, электрическое поведение электрода, сильно зависит от материалов, присутствующих на активной поверхности. Если не предпринимать специальные меры (например, покрыть металлические электроды слаборастворимой солью, содержащей катионы металла и анионы, присутствующие в электролите), эти процессы приводят к поляризации электродов: на границе раздела фаз происходят пространственное разделение зарядов противоположного знака и образование двойного электрического слоя вследствие затруднения переноса носителей заряда через границу.

Поляризационные эффекты порождают контактный импеданс  $Z_k$ , и чтобы избежать нахождения его значения в явном виде, пользуются 4 электронным (зондовым) методом (см. Рис. 10). Ток  $\hat{I}$  пропускается между двумя рабочими (токовыми) электродами, измерение напряжения  $\hat{U}$  в ткани осуществляется с помощью вольтметра или синхронного детектора, подключенного к потенциальным электродам (зондам). Тогда удельная комплексная электропроводность определяется как

$$\hat{\sigma} = \frac{\hat{j}l}{(\hat{U} + \hat{j}(Z_2 + Z_3))\Pi} \quad (31)$$

Здесь  $l$  - расстояние между потенциальными электродами,  $\Pi$  - площадь сечения биоткани,  $\hat{j}$  - ток в измерительной цепи,  $Z_2$  и  $Z_3$  – импеданс потенциальных зондов.

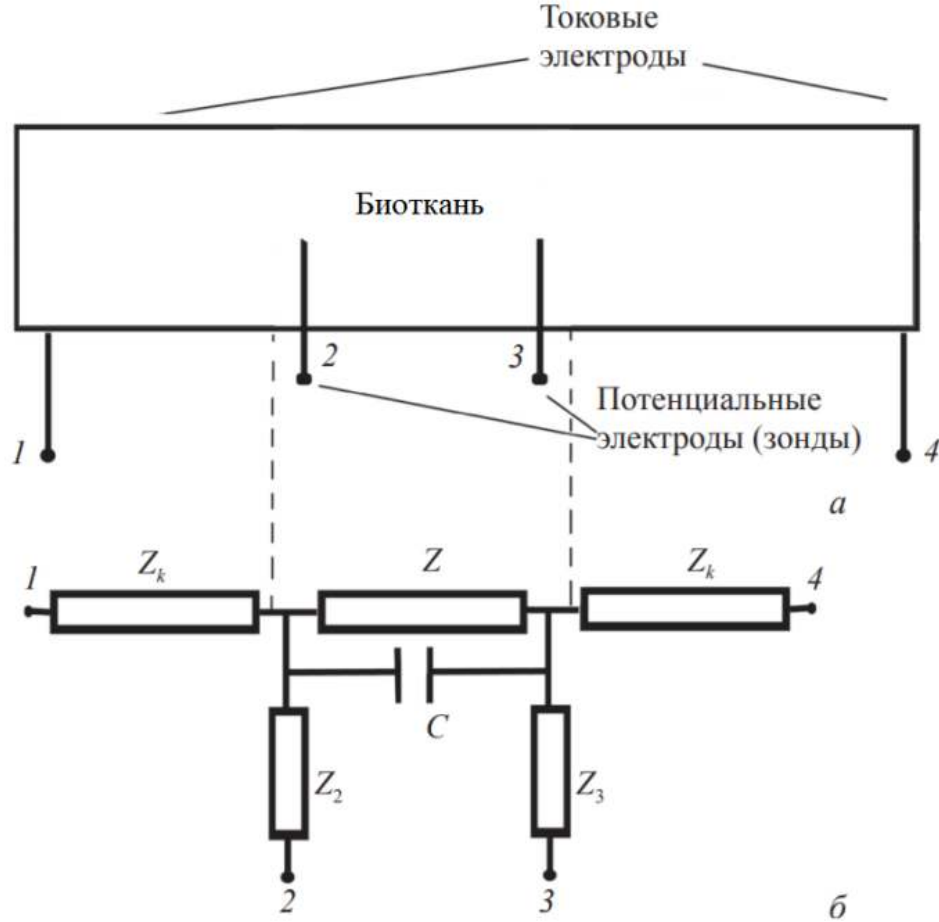


Рис. 10. Четырехэлектродная ячейка (а) и ее электрическая эквивалентная схема (б):  $Z$ ,  $C$  – импеданс и емкость образца между зондами (с учётом емкости пустой ячейки  $C_0$ ) (взято и перерисовано из [50]).

Данная схема позволяет избежать измерения контактных сопротивлений благодаря разделению измерительной и токозадающей цепей. При высоком входном сопротивлении измерительного прибора  $R_{вх}$ , расположенного между клеммами 2 и 3, измеренное напряжение  $\hat{U}_{изм}$  будет незначительно отличаться от напряжения в самой ткани:

$$\hat{j} = \frac{\hat{U}}{Z_2 + Z_3 + R_{вх}} \quad (32)$$

$$\hat{U}_{изм} = \hat{U} + \hat{j}(Z_2 + Z_3) = \hat{U} \left( 1 + \frac{Z_2 + Z_3}{Z_2 + Z_3 + R_{вх}} \right) \approx \hat{U}$$

### 1.3.2.1. Источник тока

Реализация четырехэлектродного метода требует пропускания тока известной величины через образец. Известный ток может быть получен либо с помощью его непосредственного измерения, либо с помощью использования источника тока.

Одна из наиболее простых схем источника тока, изображенная на Рис. 11, реализует возможности операционного усилителя в неинвертирующем включении формировать в цепи обратной связи ток, в точности пропорциональный приложенному напряжению.

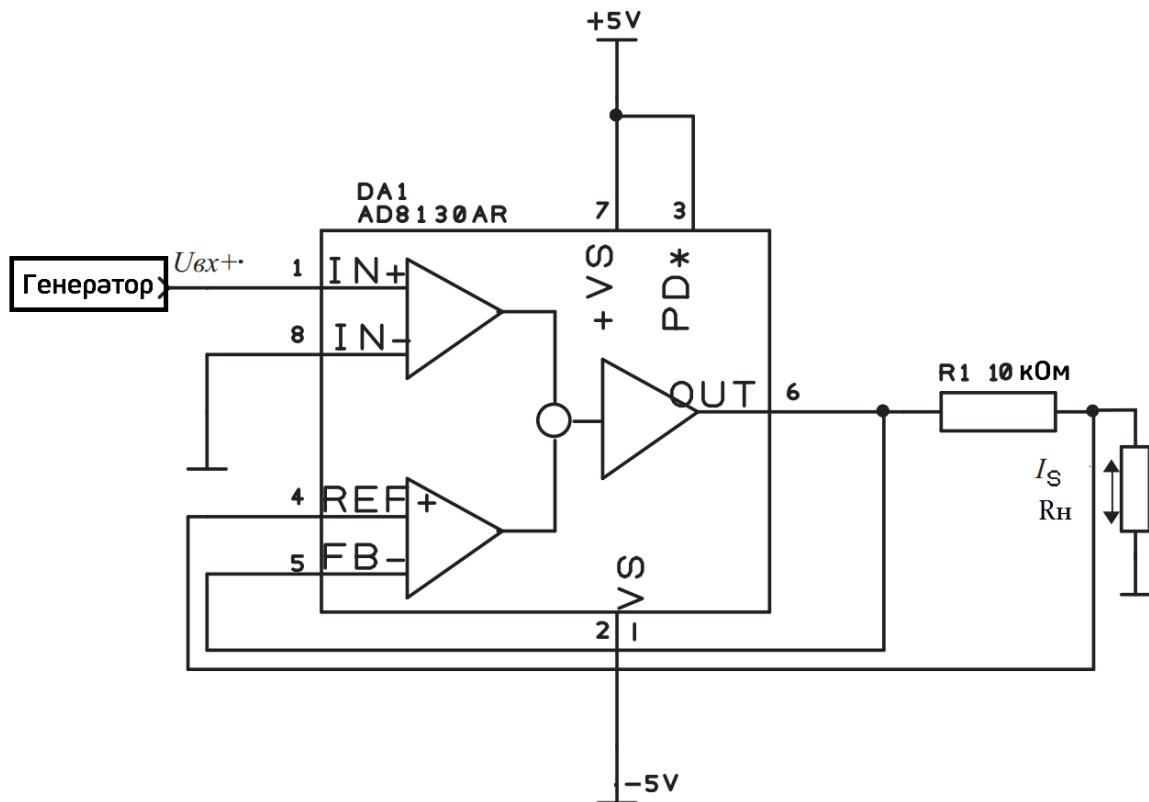


Рис. 11. Источник тока на неинвертирующем усилителе (взято и перерисовано из [51]).

Ток, в данной схеме с высокой точностью может быть найден по формуле:

$$J = \frac{U}{R1}, \quad (33)$$

где  $U$  – входное напряжение, формируемое генератором,  $R1$  – сопротивление в цепи неинвертирующего входа. Погрешность такого источника определяется, прежде всего, зависимостью коэффициента усиления операционного усилителя (ОУ) от частоты, его входным сопротивлением и паразитной емкостью между инвертирующим входом и выходом ОУ. С повышением частоты коэффициент усиления ОУ падает и выходное сопротивление уменьшается.

Кроме того, при повышении частоты начинает все сильнее сказываться влияние паразитной ёмкости. В результате параметры такой схемы как источника тока ухудшаются [51].

### 1.3.2.2. Повторители

Для обеспечения одинаковой плотности тока вдоль всей длины образца необходимо исключить утечку значительной доли тока через измерительные электроды. Для этого, при недостаточно большом входном сопротивлении синхронного детектора в сравнении с модулем импеданса измеряемого образца, используют повторители, выполненные на операционных усилителях. Они обеспечивают большое входное сопротивление и, следовательно, малую величину тока, оттекающую на измерительные электроды с биологической ткани. На Рис. 12 представлена схема с использованием двух повторителей, дублирующих входной сигнал с электродов 2 и 3 (Рис. 10). Сам синхронный детектор измеряет разность между этими сигналами.

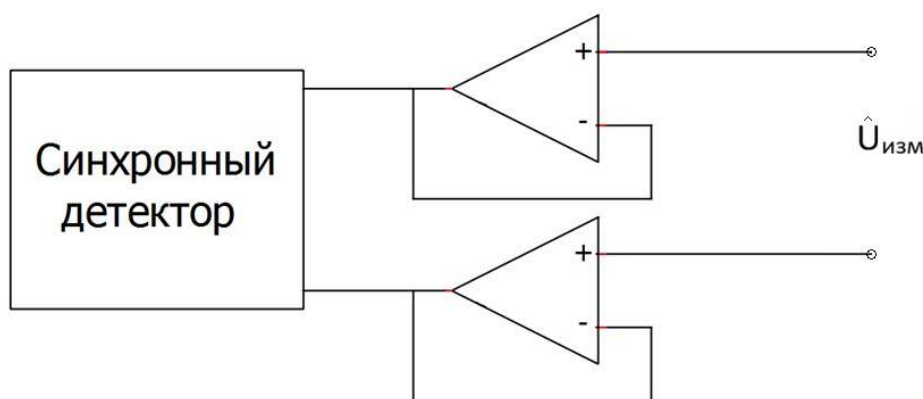


Рис. 12. Измеритель напряжения с двумя повторителями на усилителях

Рассмотренные методы измерения электрических свойств биологических тканей создают основу для исследования их поведения при термическом воздействии, которое приводит как к обратимым, так и к необратимым изменениям структуры и, соответственно, электрических характеристик.

## 1.4. Термическое воздействие на биоткани

Термическое воздействие на биологические ткани является процессом, лежащим в основе современных малоинвазивных хирургических методов, включая радиочастотную, микроволновую и лазерную абляцию [3]. Характер и степень изменений в ткани определяются температурой и временем воздействия, что описывается известной зависимостью "температура-время" (Рис. 13) [52].

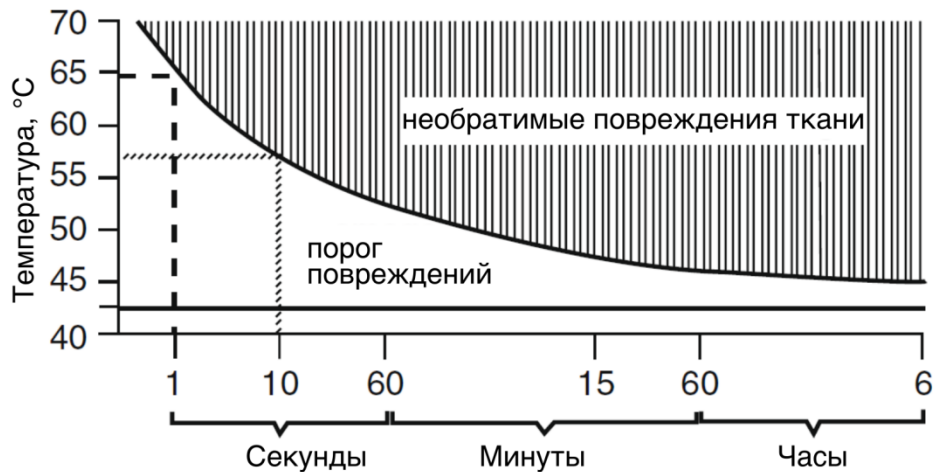


Рис. 13. Временная-температурная характеристика повреждения тканей [52].

При поглощении электромагнитной энергии в биологической ткани происходит ее преобразование в тепловую энергию, что приводит к ряду термических эффектов:

**Обратимые изменения (37-45°C):** Ускорение метаболизма, усиление кровотока (гиперемия), денатурация некоторых ферментов. Эти изменения носят временный характер и ткани могут восстанавливать свою функцию после прекращения воздействия.

**Необратимые изменения (>45°C):**

- **Денатурация белков (45-60°C):** Потеря третичной и четвертичной структуры белков, приводящая к нарушению их функции.
- **Диссоциация фосфолипидных мембран (45-60°C):** Разрушение мембран клеток и органелл, приводящая к утечке их содержимого и потере трансмембранного потенциала.
- **Коагуляционный некроз (60-100°C):** Необратимое повреждение клеток с коагуляцией цитоплазматических белков.
- **Выпаривание (вапоризация) (>100°C):** Образование паровых пузырей и испарение внутриклеточной жидкости.
- **Карбонизация (>200°C):** Образование углеродистого остатка в результате пиролиза (термического разложения при недостатке кислорода) органических компонентов ткани.

Рис. 14. визуально представляет перечисленные процессы, происходящие в ходе термического воздействия на примере лазерного излучения.

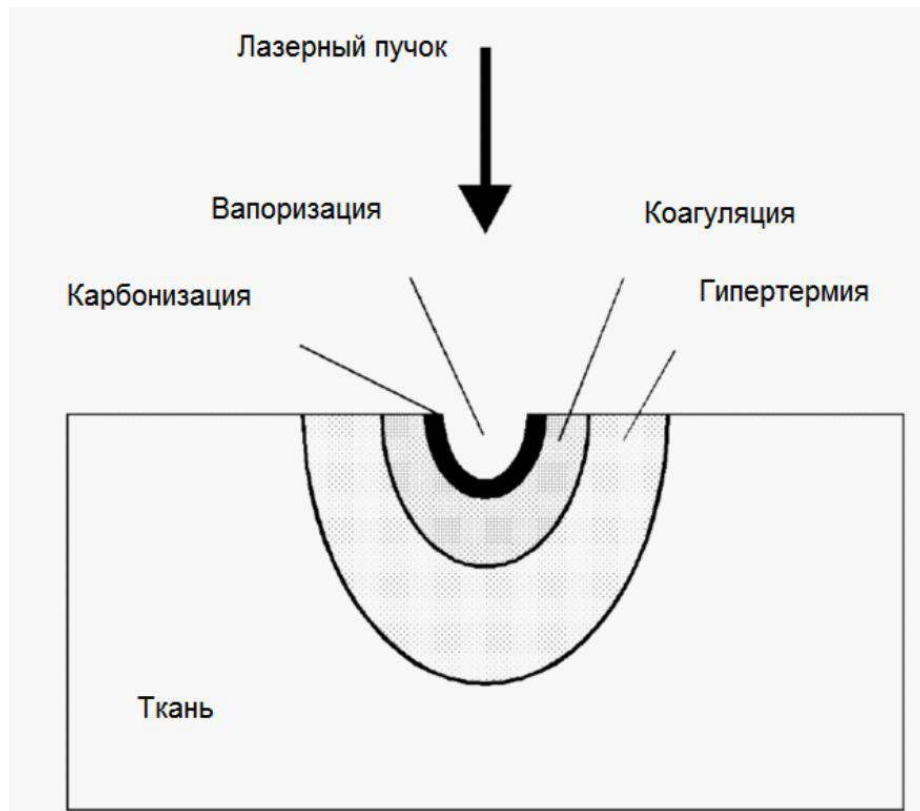


Рис. 14. Следствия термического воздействия лазерным излучением на биологическую ткань (взято из и переведено из [53]).

#### 1.4.1. Аналитическое описание разогрева биотканей

Распространение тепла в биотканях без учета кровотока может быть описано нестационарным уравнением теплопроводности с источниками тепла  $Q$ :

$$c\rho \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla(\kappa \nabla T) + Q \quad (34)$$

Здесь  $T$  – температура,  $t$  – время;  $c, \rho, \kappa$  – теплоемкость, плотность и теплопроводность ткани соответственно. Помимо самого уравнения должны быть заданы также начальные и граничные условия, например, для температуры в начальном момент времени:

$$T(r, 0) = T_0, \quad \vec{r} \in D \quad (35)$$

и условия Ньютона-Рихмана

$$\kappa \nabla T(\vec{r}, t) = -h(T(\vec{r}, t) - T_{heat}), \vec{r} \in \partial D. \quad (36)$$

Здесь  $h$  – коэффициент теплоотдачи;  $T_{heat}$  – температура окружающей среды,  $\vec{r}$  – радиус-вектор,  $\partial D$  – граница области, для которой осуществляется расчёт.

Для теоретического описания процессов термического повреждения используется формализм Аррениуса, широко применяемый для характеристики скоростей химических реакций [13]. Согласно этому подходу, скорость процесса  $k(T)$  и доля нативной (неповрежденной) ткани  $G(T, t)$  определяется как:

$$k(T) = A e^{-\frac{E_a}{RT}} = e^{(1-\frac{T_{cr}}{T}) \ln A} \quad (37)$$

$$G(t) = \text{Exp} \left[ - \int_0^t k(T) dt \right] = \text{Exp} \left[ - \int_0^t A e^{-\frac{E_a}{RT(t)}} dt \right] = \text{Exp} \left[ - \int_0^t e^{\ln A \cdot (1-\frac{T_{cr}}{T(t)})} dt \right] \quad (38)$$

Здесь  $A$  – частотный фактор,  $E_a$  – энергия активации;  $R$  – универсальная газовая постоянная;  $T$  – термодинамическая температура;  $T_{cr} = \frac{E_a}{R \ln A}$  – критическая температура, при которой скорость процесса  $k$  становится равной  $1 \text{ c}^{-1}$ , а доля нативной ткани  $G$  уменьшается в  $e$  раз за секунду;  $t$  – время экспозиции.

Следует заметить, что многие физические свойства биологических тканей зависят от их состояния и меняются при деградации. Оптические методы [54], основанные на измерении коэффициента рассеяния, и акустические методы, основанные на измерении скорости звука и коэффициента затухания [55], демонстрируют высокую чувствительность к коагуляции белков. Электрическая импедансная спектроскопия, чувствительная к изменениям проводимости и мембранной ёмкости, обладает меньшей чувствительностью к пространственной неоднородности среды, поскольку регистрируемый импеданс определяется интегральным откликом ткани.

Пример такого описания кинетики диэлектрических свойств с помощью формализма Аррениуса можно найти в работе Macchi [29] по исследованию свиной печени на частоте 480 кГц в процессе нагрева (Рис. 15): линиями показаны аппроксимационные функции зависимостей  $\epsilon$  и  $\sigma$  от времени, в которых доля нативной ткани изменяется в соответствии с (38).

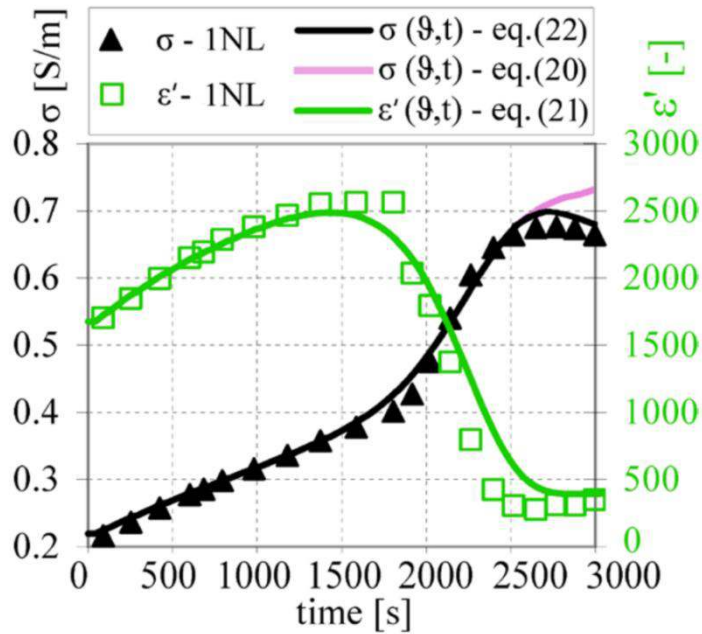


Рис. 15. Изменение  $\epsilon$  и  $\sigma$  нативной ткани печени (NL) в зависимости от времени воздействия с частотой 480 кГц [29].

Аналогичный подход можно найти и в ряде других работ [21, 22, 28].

Одна из трудностей данного описания заключается в том, что один параметр повреждения по своей сути объединяет все процессы повреждения в один обобщённый процесс. Однако, даже с учётом такого простого подхода, в случае тканей печени математическая модель хорошо отображает реальную картину повреждения в ходе эксперимента, наблюдаемую при гистологическом исследовании [56].

Для того, чтобы экспериментально определять зависимости электрических свойств как от температуры, так и от степени повреждения ткани, существенное значение имеет способ нагрева и контроля температуры образца во время эксперимента. Неоднородное распределение температуры образца при нагреве приводит к неоднородному распределению проводимости и определению усредненного импеданса, на основе которого невозможно точно восстановить зависимость электрических свойств ткани от температуры.

#### 1.4.2. Методы нагрева

Наиболее распространенным методом нагрева образцов ткани является использование водяных или воздушных термостатов. Например, в работе Ando [57] исследуемый образец помещался в воздушную камеру с фиксированной температурой; в работе Zhang [58] изучаемый образец, завернутый в пленку, помещался в водяную баню для поддержания постоянной

температуры во время эксперимента. В работе Pop [21] для повышения точности измерений было предложено использовать одновременно два идентичных образца, помещенных в общий водяной термостат, для отдельных измерений импеданса и температуры.

Выделяют два подхода к измерению параметров деградации  $A$  и  $T_{cr}$  в зависимости от условий разогрева образца.

Изотермический подход предполагает погружение образцов в камеру с набором фиксированных температур  $T_0$  на фиксированный промежуток времени  $t_0$  [21, 28], после чего образец извлекается и производится измерение степени деградации  $G_0$  при комнатной температуре. Расчет параметров деградации производится на основе линейной аппроксимации графика  $\ln(k_0)$  от  $1/T_0$  [13]. Данный подход обладает существенным недостатком – неконтролируемая температура образца в процессе нагрева и охлаждения приводит к искажению результатов измерения.

Неизотермический подход решает описанный недостаток изотермического и предполагает измерение и анализ кинетики степени деградации  $G(t)$  в процессе нагрева/охлаждения камеры с образцом.

Для обоих подходов существенным является однородность разогрева образца [59, 60]. Неравномерное распределение температуры при нагревании приводит к неоднородному распределению проводимости и к определению некоторого усредненного значения физического параметра, используемого как маркер деградации в конкретном эксперименте.

Во всех упомянутых исследованиях изучаемые образцы нагревались за счет теплопроводности через их поверхности. Альтернативный подход, обеспечивающий более высокую однородность температуры, заключается в нагреве образца за счет выделения тепла непосредственно в его объеме, например, с использованием излучения.

В исследованиях [2] было предложено использовать частоту излучения 2,45 ГГц для абляции раковых опухолей. В этом случае, учитывая относительную диэлектрическую проницаемость тканей, длина волны излучения лежит в диапазоне 1–3 см. Это приводит к неоднородному распределению поля излучения внутри ткани и, соответственно, к неравномерному нагреву ее объема.

Значительно снизить характерный размер пространственной температурной неоднородности позволяет использование ближнего инфракрасного излучения с длинами волн 760–1100 нм. Оно слабо поглощается биологическими тканями [61] и поэтому глубоко проникает в их объем. Более того, сильное оптическое рассеяние (больше, чем поглощение) приводит к

более равномерному пространственному распределению интенсивности излучения и, следовательно, к пространственному усреднению поглощенной энергии излучения внутри объема [62].

### 1.4.3. Спектры поглощения веществ в печеночной ткани

При использовании лазерного излучения в качестве источника тепла важно понимать основные составляющие образца, поглощающие данное излучение.

На Рис. 16 представлены спектры поглощения различных хромофоров, содержащихся в биологических мягких тканях [52]. В частности, спектры поглощения воды и 5% гемоглобина и оксигемоглобина, что соответствует процентному содержанию последних в крови молодых особей *Gallus Domesticus* [63]. Основную же массовую долю ткани печени – 74,5% – занимает вода [64], суммарно как в свободном состоянии, так и в связанном белками.

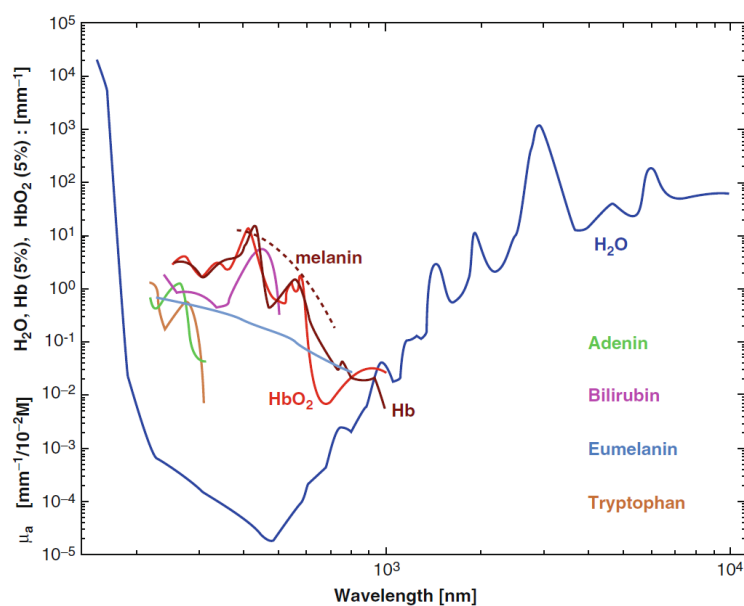


Рис. 16. Спектры поглощения хромофоров в биологических мягких тканях. Спектры поглощения воды и гемоглобина представлены в единицах  $\text{мм}^{-1}$  [52].

#### 1.4.4. Аналитическое описание переноса излучения в биотканях

Для количественного описания взаимодействия лазерного излучения с биологическими тканями существует несколько подходов. Одним из основных является моделирование методом Монте-Карло, который описывает свет как частицы, распространяющиеся в среде, содержащей независимые центры поглощения и рассеяния. Данный подход является практически универсальным, однако требует больших вычислительных мощностей и временных затрат [3].

Альтернативным подходом является теория переноса излучения (ТПИ), основное уравнение которого представлено ниже:

$$\hat{\mathbf{s}}\nabla L(\mathbf{r},\hat{\mathbf{s}}) = -(\mu_a + \mu_s)L(\mathbf{r},\hat{\mathbf{s}}) + \mu_s \int_{4\pi} p(\hat{\mathbf{s}},\hat{\mathbf{s}}')L(\mathbf{r},\hat{\mathbf{s}}) d\omega' + \mathcal{S}(\mathbf{r},\hat{\mathbf{s}}) \quad (39)$$

В уравнении  $L(\mathbf{r},\mathbf{s})$  – яркость излучения, распространяющегося в направлении  $\mathbf{s}$ , в точке с радиус-вектором  $\mathbf{r}$ ,  $\mathcal{S}(\mathbf{r},\mathbf{s})$  – функция источников излучения; интегрирование производится по телесному углу  $d\omega'$ . Параметрами, характеризующими среду, являются ее оптические свойства:  $\mu_s$  и  $\mu_a$  – коэффициент рассеяния и поглощения среды соответственно (в общем случае зависящие от длины волны излучения) и  $p(\mathbf{s},\mathbf{s}')$  – индикатриса рассеяния среды. Также вводится понятие среднего косинуса угла рассеяния  $g$ .

ТПИ решается в диффузном приближении для переноса света – это быстрый и удобный способ моделирования, являющийся стандартным методом упрощения уравнения переноса излучения и дающий достаточное близкое решение в случае выполнения двух условий:

- приведенное значение коэффициента рассеяния много больше коэффициента поглощения ( $\mu_s(1-g) \gg \mu_a$ );
- длина свободного пробега фотона много меньше характерного размера рассматриваемой области.

Классической задачей является падение пучка с равномерным распределением интенсивности  $\Phi_c$  на плоскость с конечной площадью  $\Pi$ . В диффузном приближении уравнение переноса излучения и граничные условия в этом случае записываются как [3]:

$$\begin{aligned} \text{а)} \quad & \nabla(D_L \nabla \Phi_d) = \mu_a \Phi_d - \mu_s \Phi_c \\ \text{б)} \quad & D_L = \frac{1}{3(\mu_a + \mu_s(1-g))} \end{aligned} \quad (40)$$

$$в) \quad \Phi_c = \frac{P}{\Pi} \exp(-\mu_t l)$$

$$з) \quad \Phi_d = 2D_L \frac{1 + R_{eff}}{1 - R_{eff}} \nabla \Phi_d$$

Здесь  $\Phi_d$  – интенсивности диффузно рассеянного излучения;  $D_L$  – коэффициент диффузного рассеяния света;  $\mu_t = \mu_a + \mu_s$  – коэффициент оптического ослабления;  $R_{eff}$  – коэффициент эффективного диффузного отражения;  $l$  – расстояние от поверхности до расчетной точки внутри.

Тогда источник тепла для уравнения (34) может быть записан в виде:

$$Q = \mu_a(\Phi_d + \Phi_c) \quad (41)$$

#### 1.4.5. Методы измерения температуры биологических тканей

Точное измерение температуры является критически важным для контроля термического воздействия и определения параметров термического повреждения. Методы измерения температуры биологических тканей можно разделить на контактные и бесконтактные [6].

Бесконтактные методы не требуют прямого контакта измерительного прибора с областью измерения. Инфракрасная термография, основанная на измерении теплового излучения поверхности тела в ИК-диапазоне (7-14 мкм), позволяет получать распределение температуры по поверхности, но не дает информации о внутренней температуре [65]. Микроволновая радиометрия, измеряющая собственное радиоизлучения тканей в СВЧ-диапазоне, обладает большей глубиной зондирования по сравнению с ИК-термографией, но меньшим пространственным разрешением [66]. Магнитно-резонансная термометрия позволяет измерять объемное распределение температуры, но требует сложного оборудования [67].

К контактным методам относятся как широко распространённые терморезисторы и термопары, так и менее известные волоконно-оптические термометры, основанные на температурной зависимости времени затухания флуоресценции датчика с термочувствительными флуоресцентными частицами или же спектра отражения волоконной

брэгговской решетки (ВБР), находящихся на конце оптического волокна [68]. Такие датчики зачастую помещаются внутрь образца и измеряют его объёмную температуру [69].

В данной работе для *ex vivo* применения в условиях пространственно однородного разогрева для получения информации о температуре внутри образца нами были использованы инвазивные датчики: терморезисторы и ВБР.

Волоконная брэгговская решётка представляет собой периодическую модуляцию показателя преломления в сердцевине оптического волокна. Когда широкополосное оптическое излучение распространяется через ВБР, происходит интерференционное отражение для узкой полосы длин волн, удовлетворяющей условию Брэгга [70]:

$$\lambda_b = 2n_{\text{эфф}}\Lambda \quad (42)$$

Здесь  $\lambda_b$  – брэгговская длина волны (пик отражения),  $n_{\text{эфф}}$  – эффективный показатель преломления моды волокна,  $\Lambda$  – период решётки.

На этой длине волны отражения от многочисленных неоднородностей складываются в фазе, формируя ярко выраженный пик в спектре отражения. Всё остальное излучение проходит через решётку практически без потерь. Таким образом, ВБР действует как узкополосный отражающий фильтр. Схематическое устройство ВБР и её спектральная характеристика изображены на Рис. 17 [71].

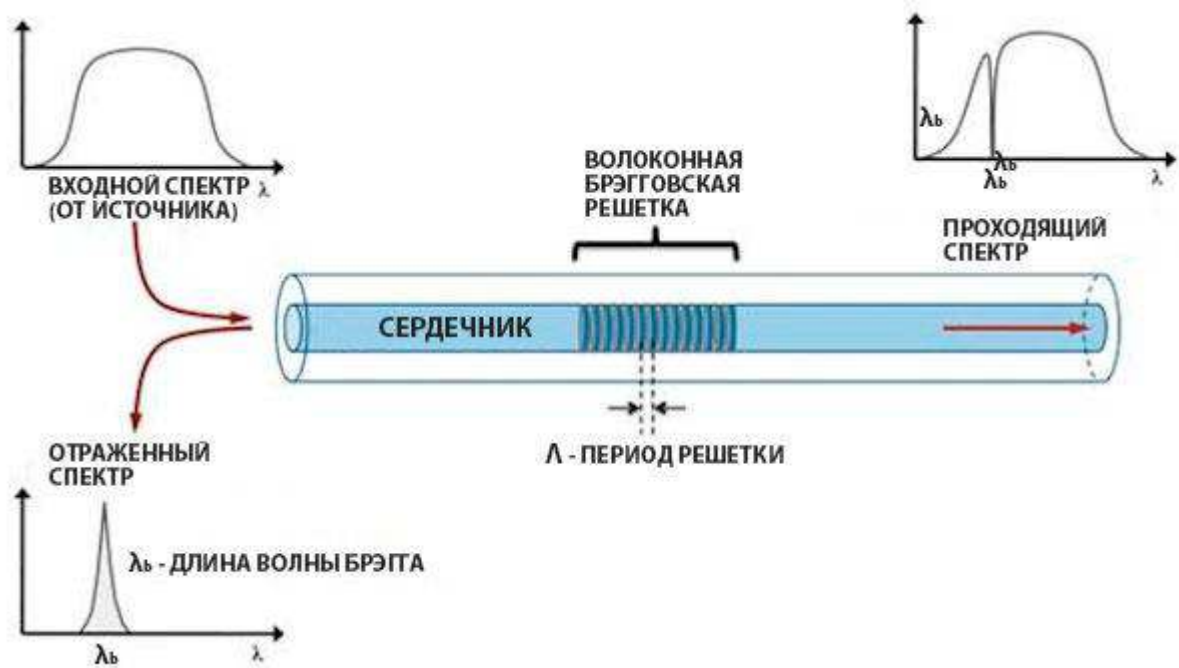


Рис. 17. Устройство волоконной брэгговской решетки [71]. Приведенный отраженный спектр является её спектральной характеристикой.

Если влияние деформации на сдвиг брэгговской длины волны  $\Delta\lambda_b$  пренебрежимо мало, то он становится прямо пропорционален изменению температуры  $\Delta T$ , что позволяет использовать ВБР в качестве высокоточного термометра:

$$\frac{\Delta\lambda_b}{\lambda_b} = (\alpha_L + \alpha_n)\Delta T \quad (43)$$

Здесь  $\alpha_L$  — термический коэффициент линейного расширения (ТКЛР),  $\alpha_n$  — термооптический коэффициент.

Хотя методы измерения температуры биологических тканей обеспечивают надёжный мониторинг текущего температурного состояния, они не позволяют разделять вклады обратимых и необратимых процессов в кинетике термического повреждения. Для решения этой задачи целесообразно применить модуляционные методы, анализирующие отклик системы на периодическое возмущение.

## 1.5. Модуляционные методы

### 1.5.1. Модуляционная радиочастотная спектроскопия

Модуляционная спектроскопия — это современный метод исследования физических свойств материалов, основанный на анализе изменения спектров отражения, поглощения или пропускания электромагнитного излучения при модулировании внешнего воздействия. Этот метод позволяет выявлять тонкие изменения в структуре и свойствах материалов, которые могут быть незаметны при стационарных измерениях.

В случае радиочастотной модуляционной спектроскопии (РМС) на образец воздействуют высокочастотным электрическим полем  $E_{RF}$ , модулированным по амплитуде низкой частотой  $\Omega$ :

$$E(t) = E_{RF}[1 + \cos(\Omega t)]\cos(2\pi ft), \quad (44)$$

где  $f$  — радиочастота (обычно 0,1–100 МГц),  $\Omega/2\pi$  — частота модуляции (10 Гц – 100 кГц)[72].

Ответом на это воздействие является периодическое изменение коэффициента отражения  $R$  образца на частоте модуляции  $\Omega$ . Измеряя относительное изменение

отражения  $\Delta R/R$  с помощью синхронного детектирования, получают спектр, не зашумлённый фоновой фотолюминесценцией [73].

Ключевым преимуществом модуляционных методов, является возможность разделения вкладов в сигнал от различных физических механизмов, что можно интерпретировать как разделение на **обратимые и необратимые компоненты** отклика системы.

- **Обратимая компонента** связана с быстрыми, мгновенными процессами, успевающими отслеживать частоту модуляции  $\Omega$ . В РМС это, прежде всего, **нагрев свободных носителей заряда** в высокопроводящих слоях гетероструктуры. Электроны поглощают энергию РЧ-поля, их температура повышается, что приводит к модуляции населённости энергетических состояний и, как следствие, диэлектрической проницаемости. Этот процесс быстрый и обратимый — при снятии поля электронная система остывает. Именно эта компонента несёт информацию о зонной структуре проводящих областей (например, канала двумерного электронного газа в НЕМТ-транзисторах) [72, 74].
- **Необратимая компонента** (или медленная, усреднённая) связана с процессами, которые не успевают следовать за быстрой модуляцией и проявляются как постоянный сдвиг параметров. В РМС это может быть **постоянный разогрев решётки (джоулево тепло)** или медленные процессы перераспределения зарядов, вызванные РЧ-воздействием. Хотя в "чистой" РМС эта компонента обычно не выделяется в отдельный сигнал, её влияние проявляется в изменении формы и амплитуды спектра  $\Delta R/R$  при увеличении мощности РЧ-воздействия, что свидетельствует о необратимом изменении состояния системы (например, увеличении температуры решётки) [74].

Таким образом, анализируя амплитуду и фазовый сдвиг сигнала  $\Delta R/R$  на частоте модуляции  $\Omega$ , можно селективно выделять вклад быстрого обратимого нагрева электронов от медленных необратимых процессов теплового воздействия на кристаллическую решётку.

### 1.5.2. Температурно-модулированная дифференциальная сканирующая калориметрия

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) является фундаментальным методом исследования тепловых свойств материалов, позволяющим количественно анализировать тепловые эффекты, сопровождающие физические и химические превращения в веществе при программированном изменении температуры [75]. В основе метода лежит

сравнительный анализ тепловых потоков, поступающих в исследуемый образец и в инертный эталон, что позволяет с высокой точностью определять температуры и энтальпии фазовых переходов, теплоемкость, кинетические параметры реакций, температуры стеклования и другие важные термодинамические характеристики.

Существуют два основных типа ДСК:

1. **ДСК с тепловым потоком (Heat-flux DSC)**. В этом методе образец и эталон помещаются на общий теплоизолированный держатель с встроенными датчиками температуры. Изменения теплового потока рассчитываются путем интегрирования разности температур между образцом и эталоном. Конструкция располагается в печи с компьютерным управлением температурным режимом.
2. **ДСК с компенсацией мощности (Power-compensated DSC)**. Образец и эталон помещаются в отдельные идентичные нагревательные элементы. Система автоматического регулирования независимо управляет каждым нагревателем, поддерживая одинаковую температуру образца и эталона. Мощность, необходимая для поддержания нулевой разности температур, пропорциональна тепловому потоку в образце.

Оба метода позволяют измерять энтальпию фазовых переходов, теплоемкость, температуры стеклования и кристаллизации, а также изучать кинетику термических процессов.

#### *1.5.2.1. Температурно-модулированная ДСК*

Несмотря на высокую информативность классической ДСК, метод имеет определенные ограничения при анализе сложных процессов, где несколько термических эффектов перекрываются по температуре. Для преодоления этих ограничений была разработана температурно-модулированная ДСК (ТМ-ДСК) - усовершенствованная методика, в которой на основной линейный температурный режим накладывается периодическая модуляция. Это позволяет разделить сложные термические процессы на составляющие компоненты.

В ТМ-ДСК температура изменяется по закону:

$$T(t) = T_0 + \beta t + T_a \sin(\omega t), \quad (45)$$

где  $T_0$  – начальная температура,  $\beta$  – скорость линейного нагрева,  $T_a$  – амплитуда температурной модуляции,  $\omega$  – круговая частота модуляции.

Ответом на синусоидальное изменение температуры является осциллирующий тепловой поток, который может быть проанализирован с помощью преобразования Фурье. Общий тепловой поток, соответствующий стандартной кривой ДСК, разделяется на две компоненты:

- **обратимый тепловой поток** - связан с модулированной температурной составляющей и отражает быстрые процессы (изменения теплоемкости, стеклование)
- **необратимый тепловой поток** - связан с основным (немодулированным) сигналом и отражает кинетические процессы, зависящие от времени (механическая релаксация, испарение)

На примере исследования полимерных материалов демонстрируется эффективность метода для разделения сложных термических процессов. На Рис. 18 показан профиль температуры ТМ-ДСК для полиэтилентерефталата (ПЭТа)[76]. Полный сигнал общего тепла (выделен зеленым) имеет такой же вид, как и в традиционной ДСК. Обратимая составляющая (выделена синим) позволяет определить температурную зависимость теплоемкости и температуру плавления образца, тогда как необратимая (красная кривая) дает температуру холодной кристаллизации (процесса, при котором аморфный материал при нагревании переходит в кристаллическое состояние) и кристаллического совершенствования (процесса плавления самых маленьких, наименее совершенных кристаллов при температуре ниже термодинамической температуры плавления).

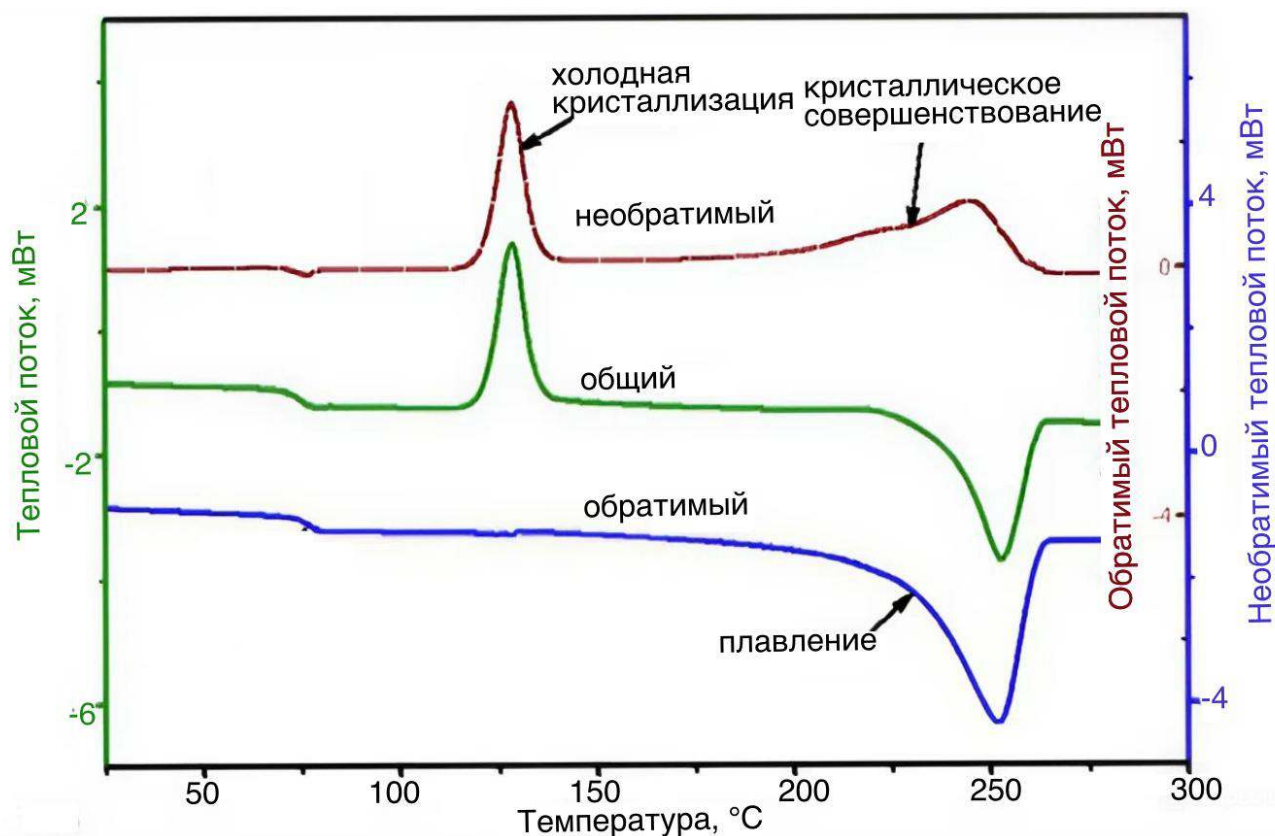


Рис. 18. Посчитанные тепловые потоки при ТМ-ДСК аморфного полиэтилентерефталата [76].

Методы температурно-модулированной дифференциальной сканирующей калориметрии представляют собой современный подход к исследованию термических процессов, основанный на анализе отклика системы на периодическое тепловое воздействие. Эти методы характеризуются высокой чувствительностью и уникальным температурным разрешением, что обусловлено периодическим характером изменения температуры. Использование селективных усилителей и синхронных детекторов позволяет значительно снизить влияние шумов и помех, обеспечивая высокую точность измерений [77].

Перенесение преимуществ модуляционных методов для исследования кинетики термического повреждения биологических тканей делают возможным разделять обратимые и необратимые её составляющие и более точно определять параметры процессов деградации.

## 1.6. Выводы по обзору литературы

Проведенный анализ литературных источников позволяет сделать следующие выводы относительно физических основ, методов исследования и текущих тенденций в области изучения

взаимодействия электромагнитных полей с биологическими тканями, в частности, при термическом воздействии:

1. Биологические ткани представляют собой сложные гетерогенные системы, чьи частотно-зависимые диэлектрические свойства ( $\epsilon$ ,  $\sigma$ ) определяются поляризационными процессами на разных структурных уровнях: от органелл до целых органов. Область  $\beta$ -дисперсии (1 кГц – 10 МГц), связанная с поляризацией клеточных мембран, представляет наибольший практический интерес для мониторинга процесса деградации. Для измерения этих свойств в широком диапазоне частот хорошо зарекомендовали себя методы импедансной спектроскопии, в особенности подход с синхронным детектированием и четырехэлектродной схемой, минимизирующей артефакты, связанные с поляризацией электродов.
2. В литературе детально описаны основные стадии термического повреждения тканей, начиная с обратимых изменений и заканчивая коагуляцией и карбонизацией. Математическим аппаратом для количественного описания кинетики этих необратимых процессов служит формализм Аррениуса, успешно применяемый для моделирования денатурации белков и других процессов деградации.
3. Существует значительный объем работ, посвященных измерению импеданса тканей в процессе нагрева. В них продемонстрирована взаимосвязь между изменением электрических параметров и степенью термического повреждения. В качестве источников нагрева в большинстве исследований используются термостаты (водяные или воздушные), обеспечивающие нагрев через поверхность образца. Для контроля температуры применяются как контактные (термопары, терморезисторы), так и бесконтактные (ИК-термография) методы, каждый со своими преимуществами и ограничениями.
4. В литературе отмечен потенциал использования модуляционных методов, которые в других областях науки доказали свою эффективность для разделения обратимых и необратимых составляющих отклика системы на периодическое воздействие.

Анализ литературы позволяет выделить два ключевых методологических аспекта, требующих дальнейшей проработки:

- Разделение вкладов в изменение импеданса. В большинстве существующих исследований, где ставится задача определения параметров деградации по

Аррениусу, не решается в явном виде проблема разделения вклада чисто температурной зависимости проводимости (обратимый процесс) и вклада структурных изменений (необратимый процесс). Часто температурный коэффициент определяется аппроксимацией данных из области, где деградация еще не началась, и затем экстраполируется на весь температурный диапазон. В литературе отсутствуют методики, позволяющие прямо и независимо измерять температурную зависимость электрических свойств в той же самой области образца и в тот же момент времени, когда активно протекает процесс его термического повреждения.

- Обеспечение однородности условий эксперимента. При использовании традиционных методов нагрева через поверхность (конвекция) распределение температуры по объему образца может быть существенно неоднородным. Это ставит под вопрос точность извлекаемых кинетических параметров, описывающих процесс, чувствительный к температуре. Требуются методы нагрева, обеспечивающие лучшую пространственную однородность температурного поля в объеме образца.

Разработка новых методов, решающих эти два аспекта, является основной целью настоящей диссертационной работы.

## Глава 2. Радиочастотная спектроскопия импеданса биотканей при разогреве постоянной мощностью

В данной главе представлена методика измерения температурной зависимости радиочастотных электрических свойств биологических тканей. Измерения импеданса проводились в широком спектральном диапазоне ( $10^2 - 4 \cdot 10^6$  Гц). Зависимости были проанализированы на основе уравнения Коула-Коула (см. параграф 1.2.3) и был сделан вывод о характере изменения каждого из параметров. Кинетика изменения параметров анализировалась на основе формализма Аррениуса (см. параграф 1.4.1) с целью определения параметров деградации.

Также в данной главе предлагается оригинальная идея: использование однородного облучения образца оптическим излучением для обеспечения его однородного разогрева.

Отдельно проведено математическое моделирование для исследования влияния однородности разогрева на точность определения параметров деградации.

Результаты, представленные в данной главе, были опубликованы автором в работах {1}-{7}, {9}, {10}, {12}.

### 2.1. Образцы

В качестве образцов использовалась куриная печень (*Gallus gallus domesticus*). Образцы вырезались в форме прямоугольного параллелепипеда, их длина составляла 38 мм, площади поперечного сечения образцов были измерены на основе оцифрованных изображений и приведены в Таб. 1.

Таб. 1. Площади поперечного сечения образцов

Образец	Площадь, см <sup>2</sup>
Печень №1	1,12
Печень №2	1,25
Печень №3	0,82

Образцы промывались дистиллированной водой. Излишки влаги удалялись с помощью салфеток. После чего образцы помещались в установку и запускались измерения электрического импеданса в условиях разогрева.

## 2.2. Экспериментальная установка

Для измерения кинетик импеданса биологических тканей в процессе пространственно однородного разогрева лазерным излучением была разработана экспериментальная установка, блок-схема которой изображена на Рис. 19. Образец помещался в камеру, куда заводилось оптическое излучение мощностью 10 Вт на длине волны 1064 нм. Выбранная длина волны обеспечивает достаточную глубину проникновения (~ 1 см), при этом основным поглощающим веществом в ткани является вода. Рассеивающая пластина из оптической керамики и диффузно отражающее внутреннее покрытие полусферы, выполненное из оксида бария, обеспечивали однородное облучение образца.

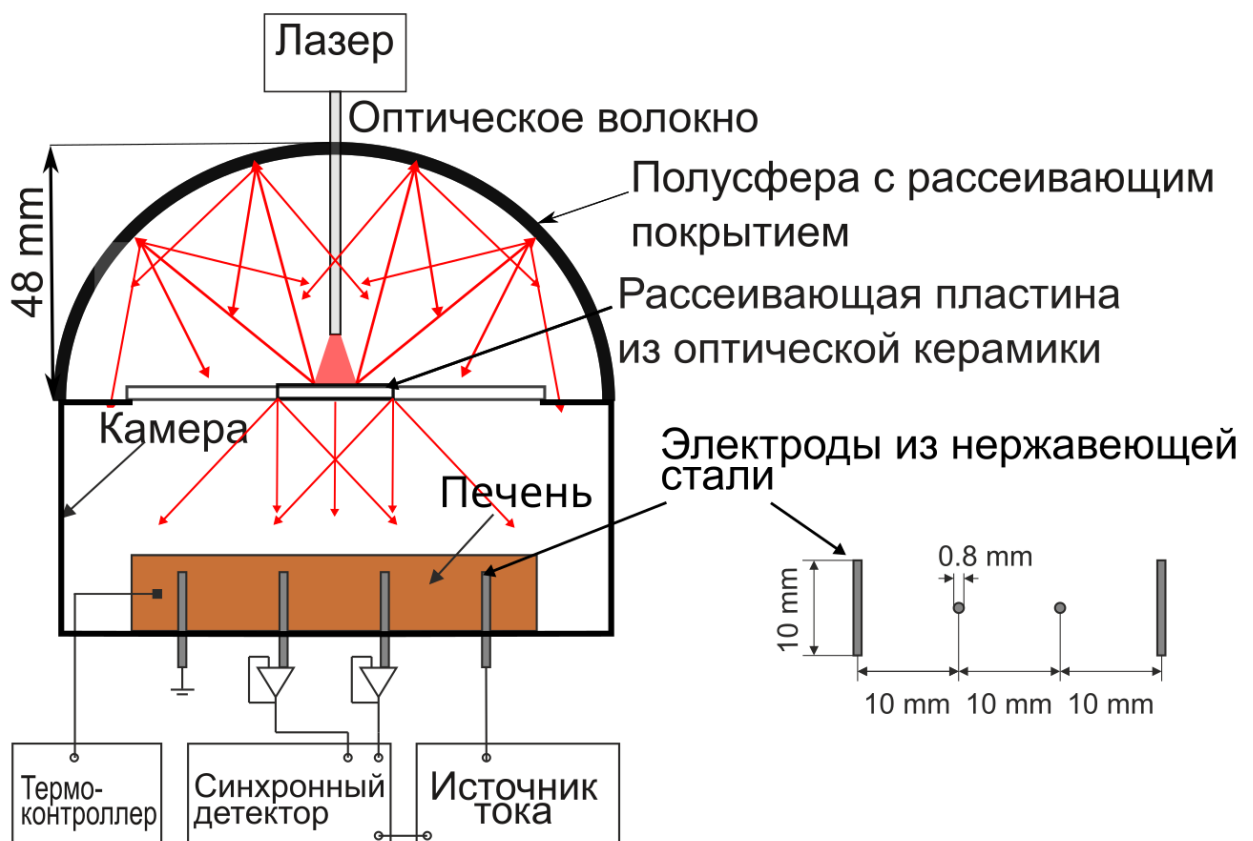


Рис. 19. Блок-схема экспериментальной установки для однородного разогрева с выносом конфигурации электродов.

Для измерения импеданса образцов применялся метод синхронного детектирования (см. параграф 1.3.1) с использованием четырехэлектродной схемы (см. параграф 1.3.2). Внешние электроды были подключены к источнику переменного гармонического тока с действующим значением  $J_0 = 10$  мкА, внутренние – через повторители, реализованные по схеме Рис. 12 на операционных усилителях ОРА656U, к синхронному детектору (Stanford Research Systems SR865), измеряющему напряжение между электродами  $\hat{U}_{ia}(f, t)$  на частоте источника тока  $f$ . Электроды были изготовлены из нержавеющей стали, их геометрия представлена на выносном рисунке, и погружались в образец на глубину 5 мм.

К реализации кондуктометрической ячейки был представлен ряд требований:

- возможность однородного облучения образца рассеянным излучением;
- плотный контакт между образцом и электродами;
- возможность измерения образцов простой геометрии для возможности дальнейшего моделирования;
- отсутствие влияния контактного сопротивления.

Выбранная реализация удовлетворяет всем перечисленным требованиям. Из недостатков схемы можно отметить возможное искажение потенциала в образце измерительными электродами, ведущее к ошибке измерения (см. Рис. 20).

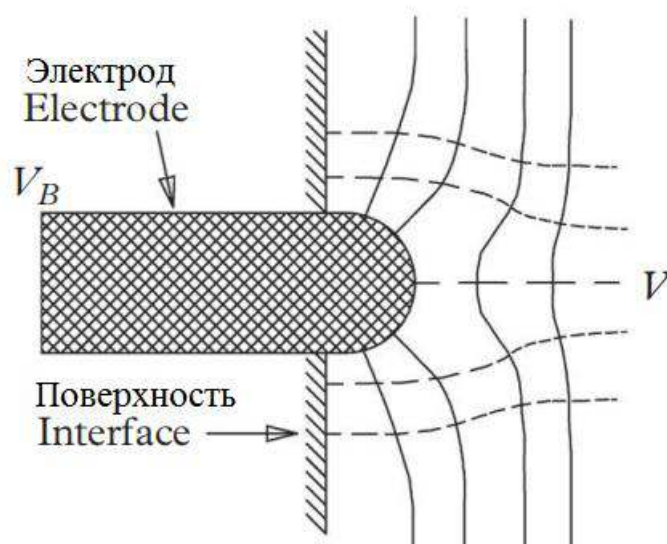


Рис. 20. Значение потенциала на электроде  $V_B$  отличается от  $V$ , которое он должен зарегистрировать. Рисунок взят из [78] и перерисован.

В качестве источника тока была выбрана схема, рассмотренная в параграфе 1.3.2, на широкополосном операционном усилителе AD8130, подключенному к генератору переменного напряжения (Stanford Research Systems DS345) через согласованное сопротивление 50 Ом. Общая схема источника тока вместе с повторителями была смонтирована на разработанной печатной плате, представленной на Рис. 21. Итоговая модель электрической схемы представлена на Рис. 22.

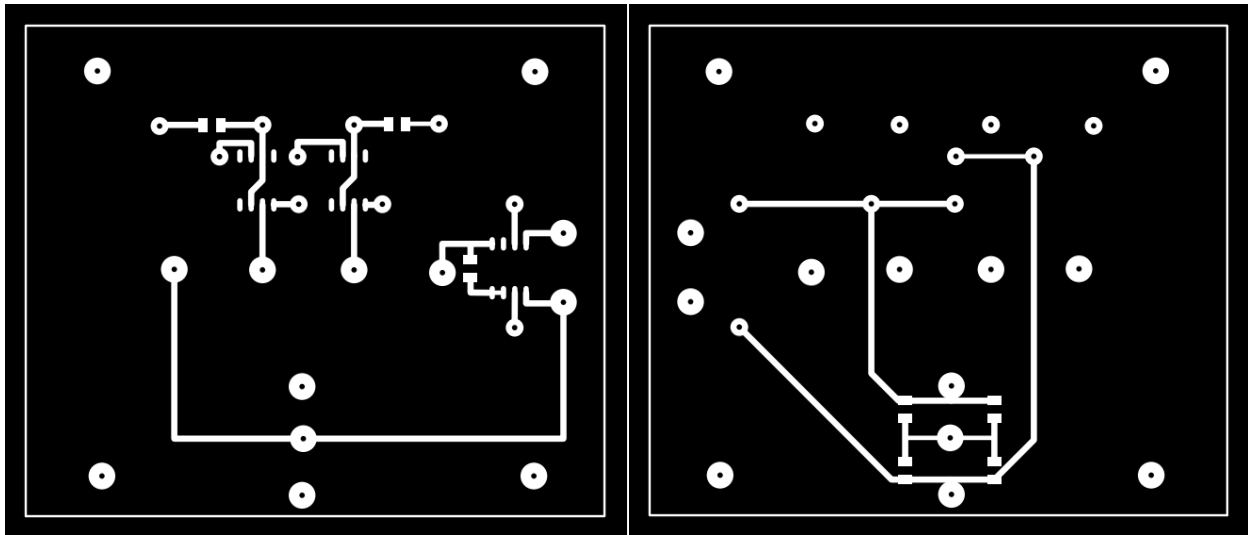


Рис. 21. Макет печатной платы.

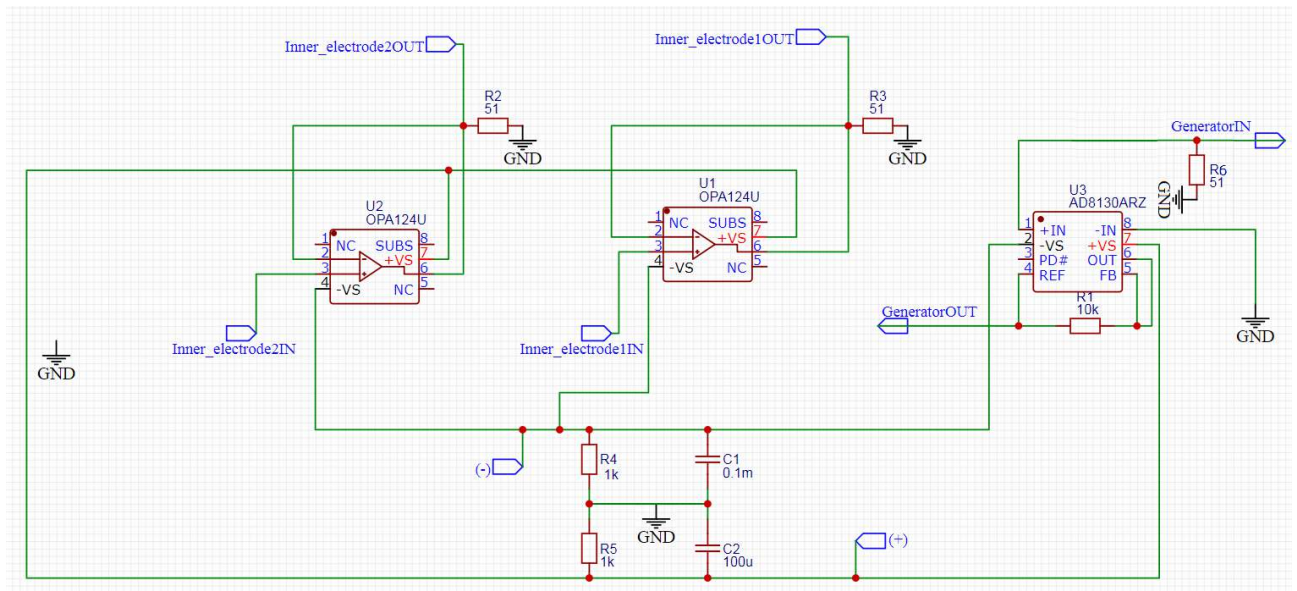


Рис. 22. Модель электрической схемы, созданная в программе для моделирования электрических цепей EasyEDA. GeneratorIN - вход генератора напряжения SRS DS345, Inner\_electrode1OUT и Inner\_electrode2OUT - выходы на синхронный детектор SRS SR865, порты (+) и (-) - источник постоянного напряжения, R1, R2, R3, R4, R5 - резисторы, U1, U2, U3 - операционные усилители, C1 и C2 - конденсаторы 0,1мФ. Образец располагался между узлами GeneratorOUT и GND (слева на схеме).

Оценочный модуль импеданса полученной кондуктометрической ячейки во всём диапазоне частот не опускался ниже  $|1/i\omega C| = |1/(i\omega\epsilon\epsilon_0\Pi/l)| = 1/(2\pi \cdot 4 \cdot 10^6 * 8.85 \cdot 10^{-12} * 1 * (10 \cdot 10 \cdot 10^{-6})/(10 \cdot 10^{-3})) \approx 0,5$  МОм, что на порядки больше характерных значений измеренных сопротивлений (~1 кОм), а значит паразитная ёмкость ячейки не шунтировала наш образец. Входной импеданс повторителей ( $10^{12}$  Ом || 2,8 пФ) также много больше импеданса образцов, что позволяет проводить измерения по четырехэлектродной схеме.

Температура контролировалась с помощью терморезистора (Heraeus Nexensos Pt Temperature Sensor M213), покрытого слоем изоляционного лака и погруженного в образец за заземленный электрод (Рис. 19) так, чтобы не влиять на протекающий в образце электрический ток. Термистор был подключен к температурному контроллеру (Stanford Research Systems PTC10). Отсутствие влияния термистора на измерение импеданса образца было проверено путем измерения спектра импеданса до и после погружения термистора: изменения составили <1 % во всем спектральном диапазоне и, скорее всего, вызваны не терморезистором, а небольшим сдвигом образца при погружении.

Итоговый вид установки представлен на Рис. 22.

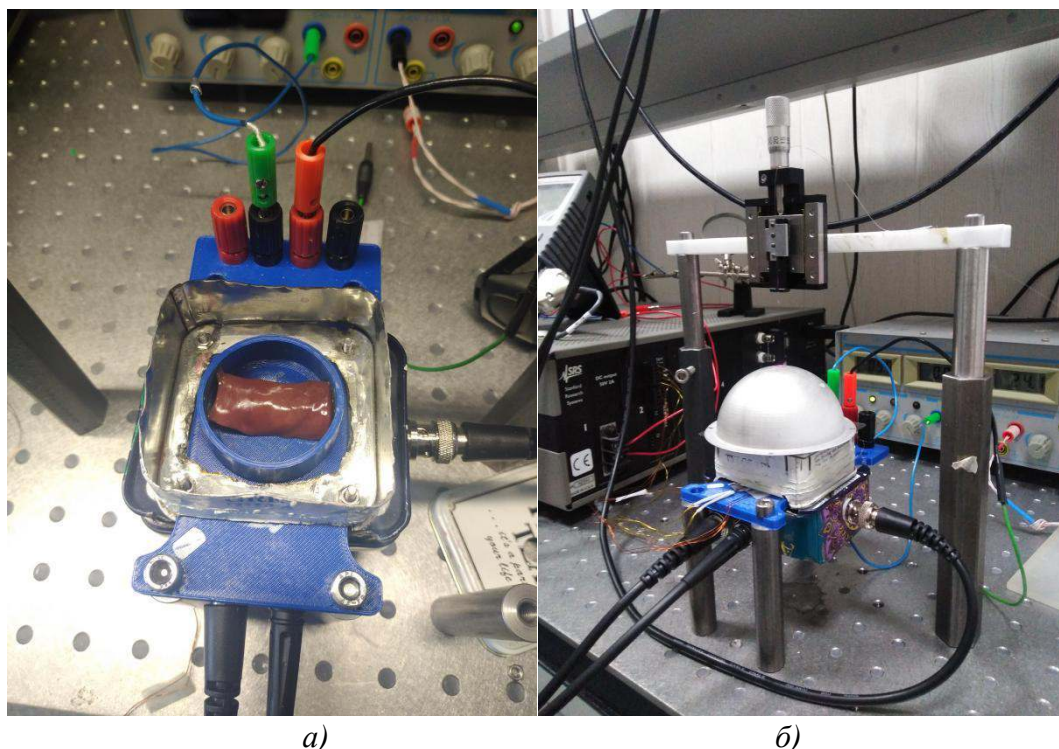


Рис. 23. Фотографии экспериментальной установки с образцом: а) в открытом состоянии б) закрытом полусферой, а также с терморезистором и лазерным волокном, закреплённом на подвижной платформе

В качестве источника излучения использовался лазер с многомодовым выходом. Излучения заводилось на образец сверху, через специальное отверстие в рассеивающей

полусфере. С помощью крепежной конструкции регулировалось расстояние от торца волокна лазера до образца.

В Таб. 2–6 приведены основные характеристики используемого оборудования и элементов цепи.

Таб. 2. Параметры генератора DS345

Производитель	Stanford Research Systems
Наименование	DS345
Диапазон частот, Гц	$10^{-3} - 30,2 \cdot 10^6$
Диапазон напряжений, Vrms	0,005-3,5
Внутреннее сопротивление, Ом	50

Таб. 3. Параметры синхронного детектора SR865

Производитель	Stanford Research Systems
Наименование	SR865
Диапазон частот, Гц	$10^{-3} - 4 \times 10^6$
Входной импеданс	10 МОм    25 пФ

Таб. 4. Параметры операционного усилителя AD8130

Частотная полоса пропускания, Гц	$270 \times 10^6$ при усилении G=1
----------------------------------	------------------------------------

Таб. 5. Параметры операционного усилителя OPA656U

Частотная полоса пропускания, Гц	$230 \times 10^6$
Входной импеданс	$10^{12}$ Ом    2,8 пФ

Таб. 6. Параметры лазера

Мощность, Вт	0,3 – 11 Вт
Длина волны, мкм	1,064
Поляризация	Случайная
Режим работы	непрерывный
Форма пучка	одномодовый, волоконный выход
Диаметр перетяжки, мкм	6

Для автоматизации эксперимента использовались созданные в лаборатории программы «Amarok» [48] (для работы с генератором и синхронным детектором) и «Imparior» (для работы с термоконтроллером).

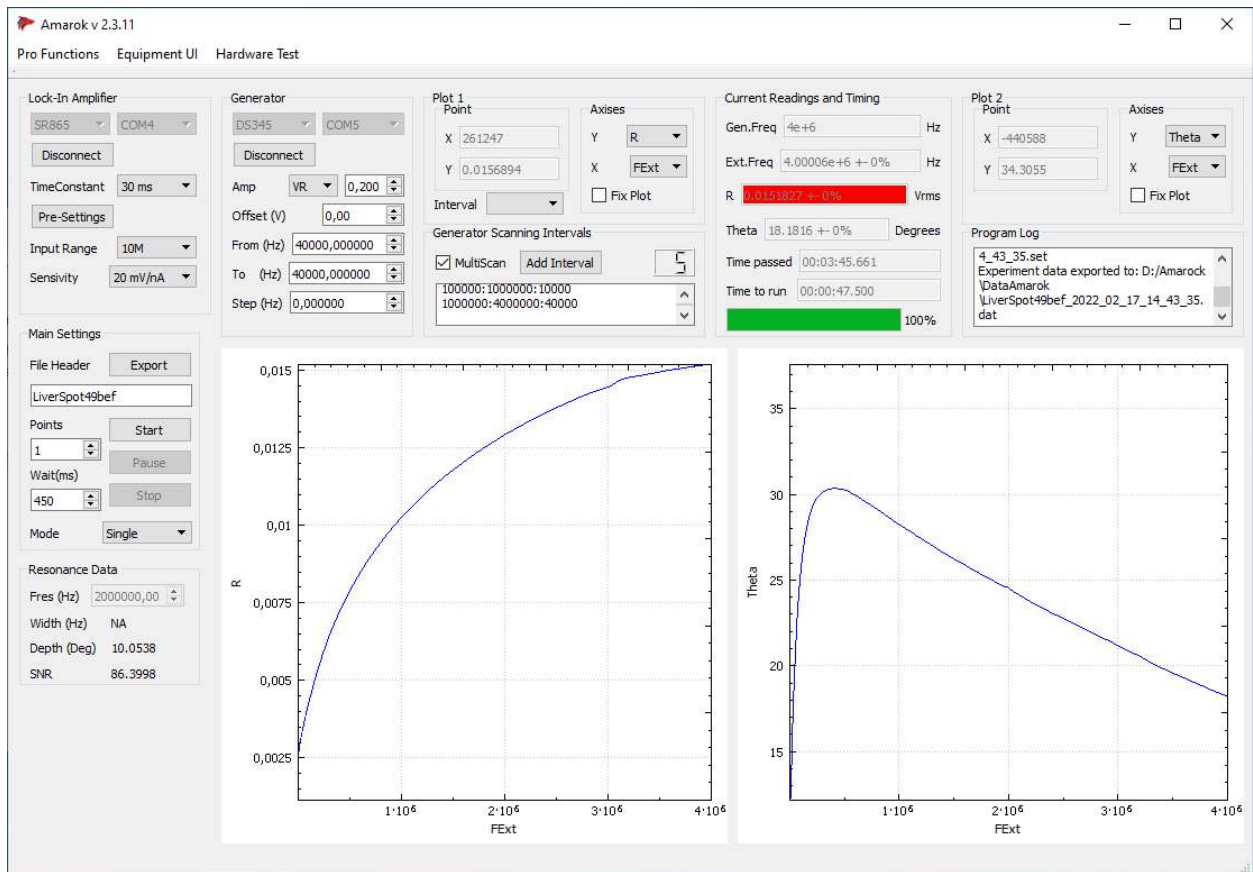


Рис. 24. Графический интерфейс Amarak.

«Амарок» позволяет измерять спектры электрического импеданса в заданных частотных диапазонах для одного и более интервалов, выставлять значение среднеквадратичной амплитуды напряжения с генератора, автоматически настраивать параметры синхронного детектора в процессе проведения эксперимента.

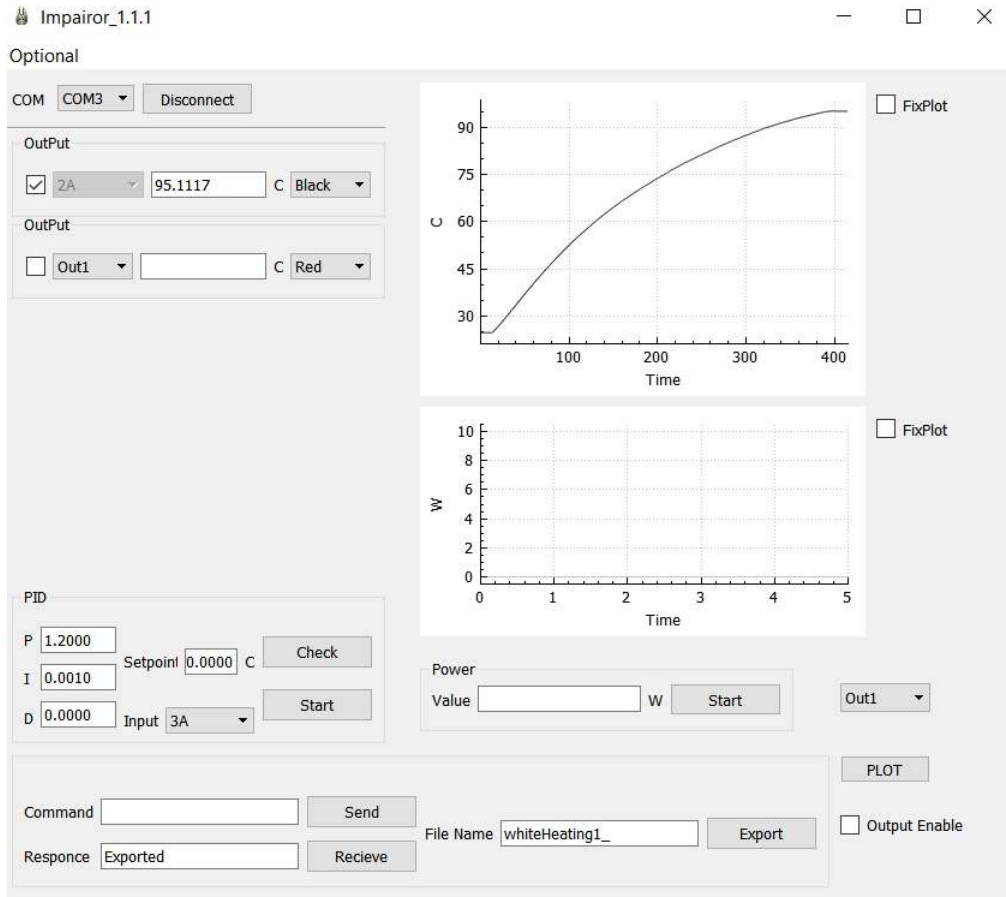


Рис. 25. Графический интерфейс Imparior

«Imparior» позволяет записывать измерения температуры подключённых к термоконтроллеру термопар и терморезисторов.

Все программы автоматически формируют массив измеренных данных в виде файла формата «.dat». В случае программы «Amagok» это столбцы данных с временем, модулем импеданса, его действительной и мнимой частями, фазой, номером измеряемого интервала. В случае программы «Imparior» это столбцы данных с временем и температурой. Также в программу встроен графопостроитель, который выводит на экран полученные зависимости непосредственно в ходе их измерения.

Работу программ можно синхронизировать во времени благодаря временным меткам файлов и файлу настроек, который содержит в себе все настройки приборов в процессе эксперимента.

## 2.2.1. Оценка работоспособности установки

### 2.2.1.1. Однородность разогрева

Для подтверждения однородности нагрева был проведен эксперимент, в рамках которого, температура контрольного образца ( $38 \times 8 \times 12 \text{ мм}^3$ ) измерялась тремя термисторами, расположенными, как показано на Рис. 26а: в центр образца (точка А), на 3 мм ниже центра (точка В) и на расстоянии 10 мм от первой точки вдоль оси Х (точка С). Разогрев производился до температуры  $65 \text{ }^\circ\text{C}$  в течение 1300 секунд – кинетики представлены на Рис. 26б. Неоднородность нагрева не превышала  $3 \text{ }^\circ\text{C}$  в первые  $10^3 \text{ с}$  и  $8 \text{ }^\circ\text{C}$  в ходе всего эксперимента.

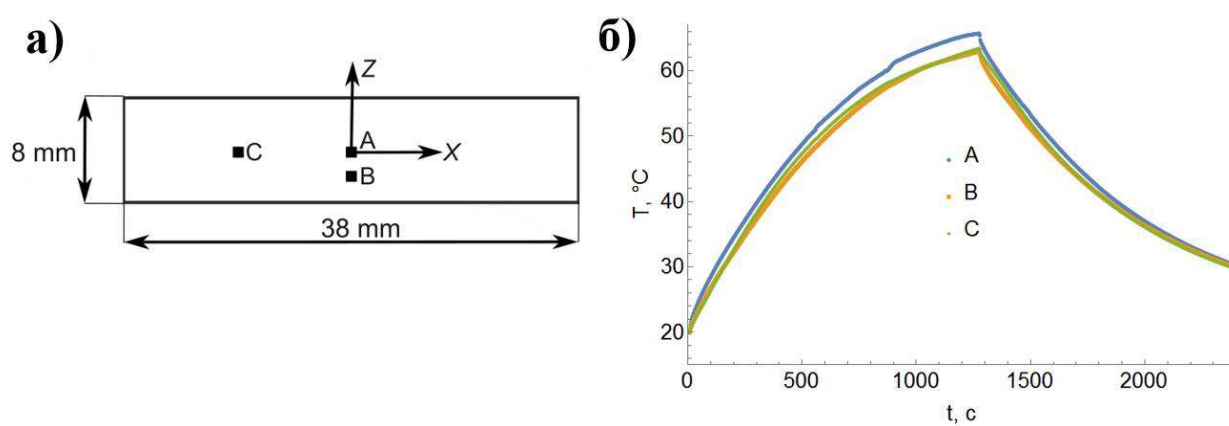


Рис. 26. а) Положение терморезисторов внутри образца (вертикальный разрез). б) Проверка однородности нагрева.

### 2.2.1.2. Рабочий диапазон электрической схемы

Для оценки рабочего частотного диапазона изготовленной схемы были проведены измерения электрической проводимости растворов NaCl различных концентраций в воде: 0,25, 0,75 и 1,45 г/л. В качестве сравнения, проводимости растворов также измерялись с помощью лабораторного кондуктометра Ohaus Starter 300 (Таб. 7). Все измерения проводились при комнатной температуре. Проводимость растворов разной концентрации составила 544, 1340 и 2530 мкСм/см соответственно.

Таб. 7. Параметры кондуктометра Ohaus Starter 300

Диапазон измерения	0,0 мкСм/см...199,9 мСм/см
Предел погрешности	$\pm 0,5\%$ от измеренного значения

Методом импедансной спектроскопии измерялся импеданс кондуктометрической ячейки с раствором. Результаты измерений представлены на Рис. 27.

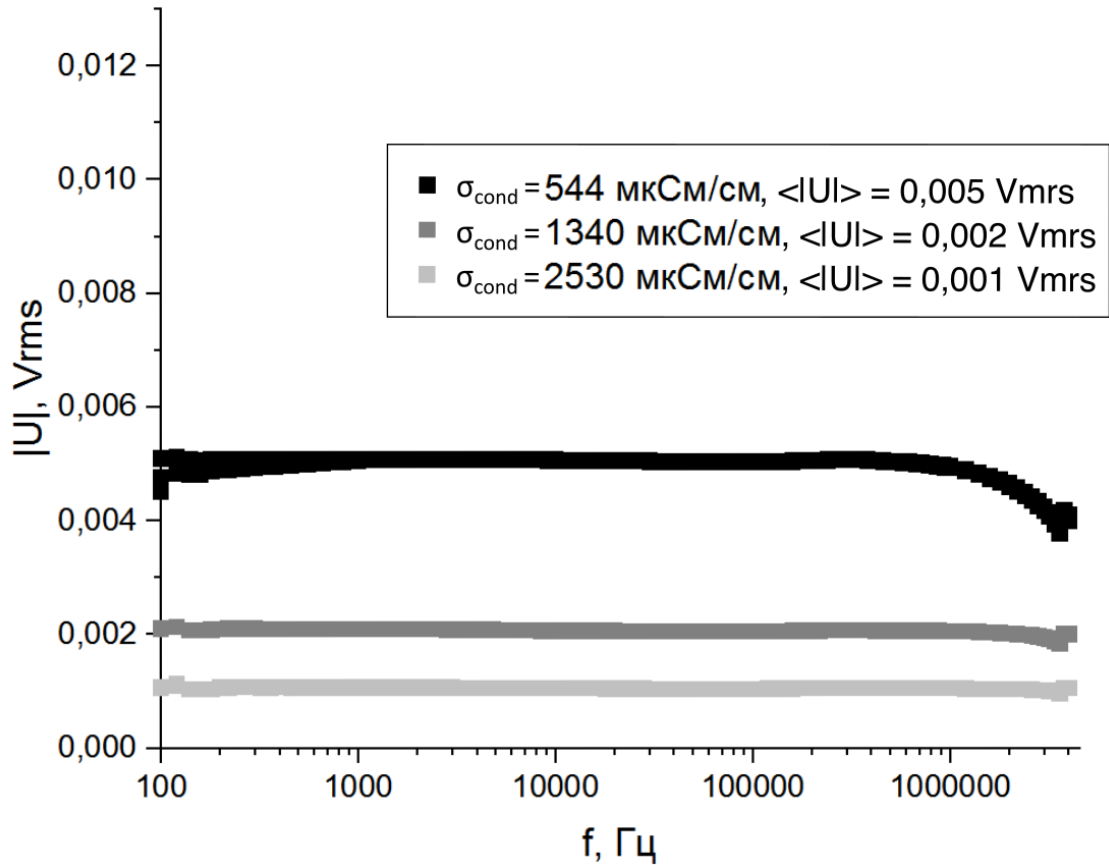


Рис. 27. Проверка источника тока на растворах NaCl: 0,25 (черным), 0,75 (темно-серым), 1,45 (светло-серым) г/л. Значения проводимости  $\sigma_{\text{cond}}$ , представленные в рамке, измерялись кондуктометром.

На Рис. 27 при высоких частотах и низких проводимостях наблюдается загиб измеряемой характеристики, не связанный с изменением импеданса образца. На основе проведенных измерений можно сделать вывод о наличии паразитной емкости  $C_p \approx 10$  пФ, включенной параллельно нагрузке  $R_n$  (Рис. 11), что соответствует характерной величине ёмкости дорожек на плате и операционных усилителей. Данная емкость при высоких частотах шунтирует образец  $R_n$  и приводит к уменьшению тока через него.

Поскольку на частотах порядка 10 МГц проводимость образцов имеет порядок  $10^4$  мкСм/см) и при ней загиб как на Рис. 27 ещё не наблюдается, то установка позволяет производить корректные измерения в диапазоне  $10^2 - 4 \cdot 10^6$  Гц с ошибкой менее 5%.

Напряжение между внутренними электродами может быть описано следующей формулой:

$$\hat{U} = J_0 Z, \quad (46)$$

где  $\hat{U}$  - комплексное напряжение, измеряемое синхронным детектором,  $J_0 = 10$  мкА - ток, протекающий через образец,  $Z$  - импеданс части образца, определяемой геометрическим фактором. В итоге делался расчёт геометрического фактора для ячейки с раствором, по формуле:

$$\gamma = \sigma_{cond} \langle |Z| \rangle = \sigma_{cond} \frac{\langle |\hat{U}| \rangle}{J_0}, \quad (47)$$

где  $\sigma_{cond}$  - величина проводимости, измеренная кондуктометром.

Величина  $\gamma$ , равная  $2,6 \pm 0,1$  см<sup>-1</sup>, совпадает для растворов с различными проводимостями и по порядку величины соответствует геометрическим размерам ячейки. Данное совпадение подтверждает работоспособность схемы для измерения проводимости.

### 2.3. Измерение и анализ спектров импеданса печени

Образец печени располагался внутри измерительной ячейки. На источник тока с генератора подавалось напряжение величиной  $U_g = 0,1$  Vrms. Среднеквадратичное значение тока  $J_0$ , который протекал по внешним электродам, по формуле (33) было равно  $10^{-5}$  А.

Методом импедансной спектроскопии измерялся электрический импеданс кондуктометрической ячейки с образцом (техническое устройство синхронного детектора таково, что он измеряет комплексное напряжение  $\hat{U}_{lia} = X + iY$  на нагрузочном сопротивлении, поэтому далее все формулы приведены в терминах этого комплексного напряжения). В процессе эксперимента проводилось циклическое измерение спектра напряжения  $\hat{U}_{lia}(f(t), t)$  в диапазоне 100 Гц – 4 МГц, включающем область  $\beta$ -дисперсии образцов. Время измерения одного спектра составляло 30 с.

Измерение температуры производилось непрерывно в процессе эксперимента.

Через 2-3 минуты после начала записи данных запускался лазер. Нагрев образца производился в течении 30 – 90 минут, после чего лазер выключался. После остывания образца в течении 30 – 90 минут запись данных прекращалась.

Используя полученные данные, восстанавливались спектры импеданса образца в фиксированные моменты времени, а именно:

- 1) На каждой измеряемой частоте  $f_i$  рассчитывались зависимости импеданса участка ткани между внутренними электродами от времени  $\hat{Z}(f_i, t)$  по формуле (48):

$$\hat{Z}(f, t) = \frac{\hat{U}_{lia}(f, t)}{I_0}. \quad (48)$$

- 2) Производились линейные интерполяции полученных зависимостей.  
3) Рассчитывались зависимости импеданса от частоты  $\hat{Z}(f, t_i)$  в определенные моменты времени  $t_i$ .

Каждый спектр модуля импеданса был аппроксимирован частотной зависимостью на основе функции Коула-Коула [38, 39, 57]:

$$Z(f, t) = R_H(t) + \frac{R_L(t) - R_H(t)}{1 + (i2\pi fC(t)(R_L(t) - R_H(t)))^{\alpha(t)}} \quad (49)$$

Здесь  $R_L$ ,  $R_H$  - низкочастотное и высокочастотное сопротивления соответственно,  $C$ ,  $\alpha$  - электрическая ёмкость и мера уширения области дисперсии.

Параметры аппроксимации могут быть соотнесены с внутренним строением биологической ткани. В низкочастотной области ( $< 10^4$  Гц) биологические мембраны клеток и органелл успевают полностью поляризоваться (Рис. 28а), импеданс участка ткани между электродами в таких условиях определяется ионной проводимостью в межклеточном веществе и слабо проводящих биологических мембранах. В высокочастотной области (Рис. 28б) ( $> 10^7$  Гц) ёмкость мембран шунтирует их сопротивление, поэтому импеданс определяется проводимостью цитоплазмы и содержимого органелл. Характерные частоты дисперсии определяются емкостью и сопротивлением биологических мембран. Одним из физических эффектов, приводящих к уширению дисперсии, характеризующейся параметром  $\alpha$ , является разброс от клетки к клетке времен поляризации мембран из-за неодинаковости их размеров и формы, а также вклад поляризации клеточных органелл, имеющих заведомо меньшие размеры.

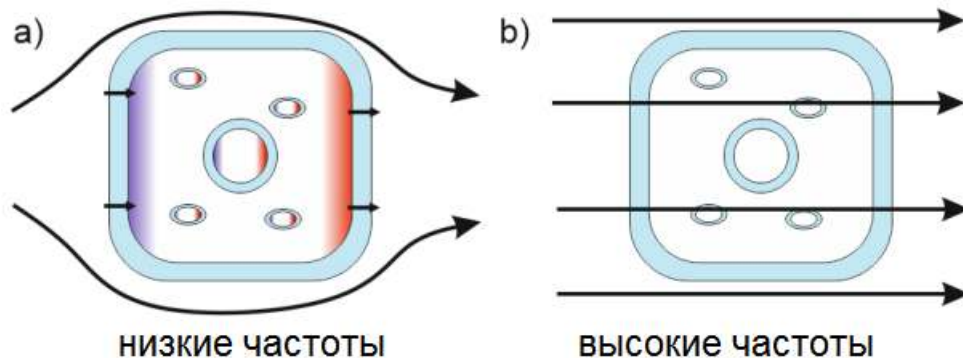


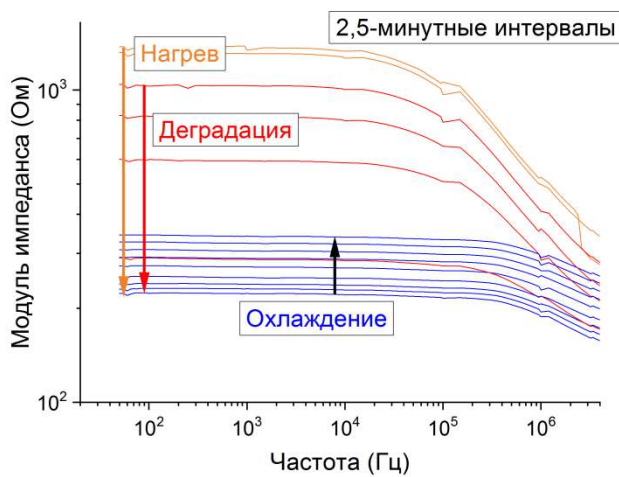
Рис. 28. Движение зарядов в биологической ткани а) при низких и б) высоких частотах (голубой - слабо проводящие биологические мембраны клеток и органелл, красный и синий - области некомпенсированного положительного и отрицательного заряда соответственно, стрелки - направление протекания тока)

### 2.3.1. Обработка данных

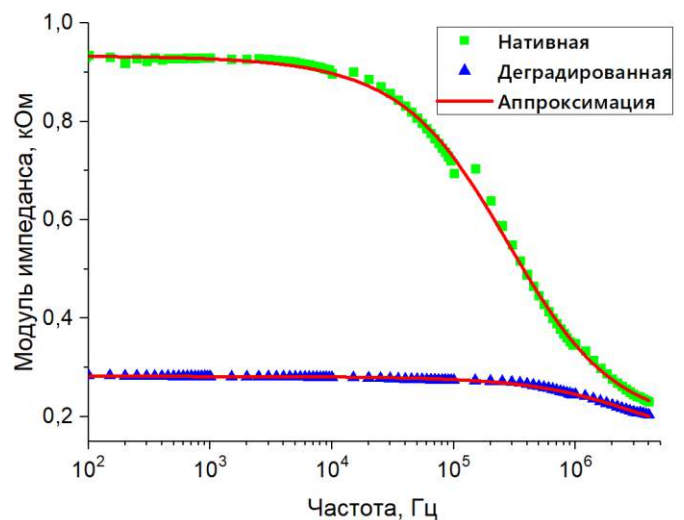
На Рис. 29а представлены графики восстановленных спектров модуля импеданса с временным шагом 2,5 минуты.

Из графиков видно, что нагревание приводит к монотонному уменьшению импеданса во всем исследуемом спектральном диапазоне. Примерно через 5 минут после начала нагрева изменение в низкочастотной части значительно ускоряется, что видно из нарастающей разницы между соседними по времени красными спектрами. Это объясняется значительным ростом скорости деградации, вызванным ростом температуры. При остывании наблюдается увеличение импеданса, однако изменения, вызванные деградацией, являются необратимыми.

На Рис. 29б приведены спектральные зависимости модуля импеданса для образца печени в нативном и деградированном состоянии, а также их аппроксимации. Хорошее соответствие полученных данных используемой модели на основе функции Коула-Коула, широко распространенной в литературе [78], указывает на корректность проводимых измерений.



а)



б)

Рис. 29. а) Зависимость модуля импеданса от частоты для образца печени б) исходный и конечный спектр с их аппроксимациями.

Для сравнения с литературой полученные данные были пересчитаны в проводимость и диэлектрическую проницаемость по следующим формулам:

$$\hat{\sigma} = \sigma + i\omega\varepsilon = \frac{U_g\gamma}{R1\hat{U}_{lia}} = \frac{U_g\gamma}{R1(X + iY)} = \frac{U_g\gamma(X - iY)}{R1|\hat{U}_{lia}|^2} \quad (50)$$

$$\sigma = \frac{U_g\gamma Y}{R1|\hat{U}_{lia}|^2 \omega} \quad (51)$$

$$\varepsilon = \frac{U_g\gamma X}{R1|\hat{U}_{lia}|^2} \quad (52)$$

Здесь  $U_g$  - среднеквадратичное значение напряжения с генератора,  $\gamma$  - геометрический фактор образца.

Зависимости проводимости и диэлектрической проницаемости печени от частоты до и после воздействия излучением, аппроксимированные с помощью формулы (16) с учётом связи (7), представлены на Рис. 30. Поскольку в соответствии с эквивалентной схемой (Рис. 8) вклад емкостной составляющей в импеданс на низких частотах мал, она определялась с ошибкой, поэтому данные для неё были обрезаны.

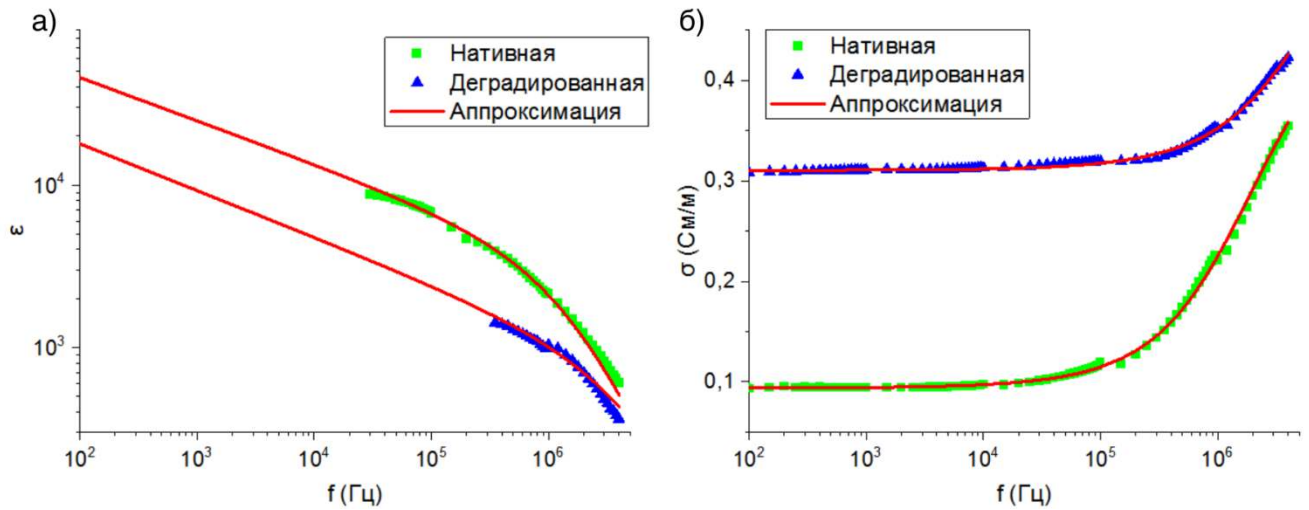


Рис. 30. Зависимости а) диэлектрической проницаемости и б) проводимости печени от частоты до и после воздействия излучением.

Полученные значения нативной ткани для 2 характерных частот близки к литературным данным для печени других животных из обзорной работы [34] и для бычьей печени из [79] (см. Таб. 8).

Таб. 8. Сравнение проводимости и диэлектрической проницаемости печени с литературой.

Параметр	Диапазон значений для измеренных образцов	Данные литературы [34] и [79]
$\sigma$ [См · м <sup>-1</sup> ] @ 100 Гц	0,03 - 0,07	0,034 - 0,13
$\sigma$ [См · м <sup>-1</sup> ] @ 10 <sup>6</sup> Гц	0,1 - 0,22	0,15 - 0,3
$\varepsilon$ @ 10 <sup>6</sup> Hz	2000 - 2300	1020 - 2270

### 2.3.2. Интерпретация с помощью модели Коула-Коула

На Рис. 31 представлены параметры аппроксимации, проведенной по формуле (49), в зависимости от температуры. Различие между экспериментами объясняется различием в свойствах самих образцов и их геометрического фактора. Однако можно выделить закономерности, верные для всех образцов.

В областях до и после деградации, эквивалентные сопротивления  $R_H, R_L$  (Рис. 31а, б) линейно зависят от температуры, что объясняется ростом/снижением подвижности ионов, обеспечивающих протекания электрического тока через ткани. Параметры  $C, \alpha$  (Рис. 31в, г), ассоциируемые с емкостью биологических мембран и определяемые их геометрическими размерами и диэлектрической проницаемостью, не зависят от температуры в ходе нагрева/охлаждения и изменяются только в процессе деградации.

В процессе деградации сопротивление клеточных мембран  $R_L$  значительно и необратимо уменьшается (Рис. 31а), что может быть объяснено образованием пор в мембранах [57, 80, 81], приводящих к потере их изолирующих свойств.

Изменения значений емкости  $C$  (Рис. 31в) и высокочастотного сопротивления  $R_H$  (Рис. 31б) в процессе деградации и после нее различались от эксперимента к эксперименту. Это объясняется тем, что уменьшение сопротивления мембран также приводит к увеличению частоты  $\beta$ -дисперсии (Рис. 29а). Она начинает выходить за спектральный диапазон измерений,

что приводит к увеличению ошибки при определении данных параметров аппроксимации в процессе деградации и после него.

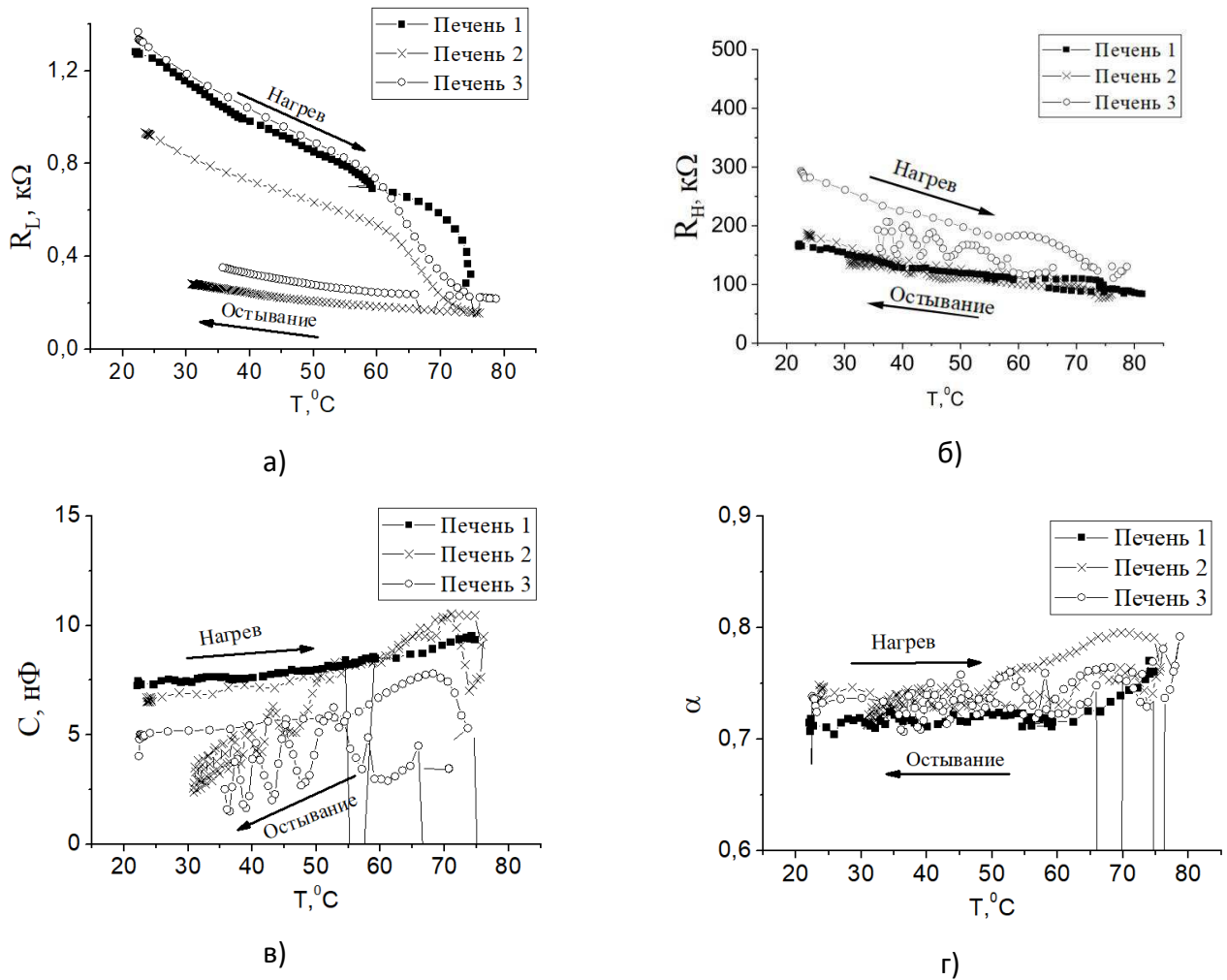


Рис. 31. Зависимость параметров аппроксимации спектров модуля импеданса по функции Коула-Коула от температуры в процессе нагрева и охлаждения печени.

#### 2.4. Анализ кинетики низкочастотного сопротивления $R_L$ в процессе облучения

На Рис. 32 представлены кинетики низкочастотного сопротивления  $R_L$  и температуры  $T$  образца, на которых можно выделить три характерных области: 0-500 с – область нагрева, в рамках которой основной вклад в изменение сопротивления вносит зависимость проводимости от температуры; 500-1000 с – область нагрева в которой значительно возрастает скорость

процесса деградации и соответственно доля нативной ткани уменьшается;  $>1000$  с – область остывания.

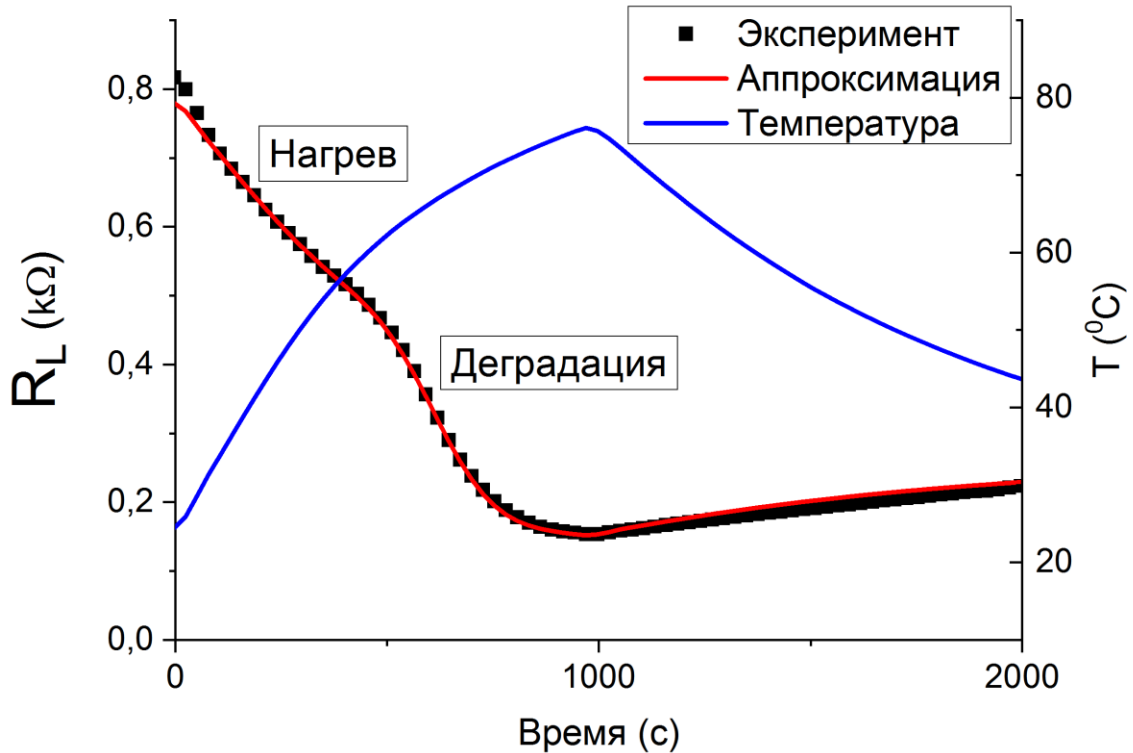


Рис. 32. Зависимость низкочастотного импеданса  $R_L$  образца Печени №2 от времени (экспериментальные точки и аппроксимация) и кинетика температуры.

Для математического описания кинетики деградации рассмотрим низкочастотное сопротивление как функцию температуры и доли нативной ткани  $R_L = R_L(T, G)$ . Процессы деградации будем считать происходящими в соответствии с представлением Аррениуса (37), (38).  $R_L$  вне области деградации – как до, так и после необратимых изменений – монотонно зависит от температуры (Рис. 31а) в связи с изменением ионной проводимости, причем данная зависимость в пересчёте в адмиттанс хорошо описывается линейной функцией (Рис. 33) в исследуемом температурном диапазоне  $20 \div 50^\circ\text{C}$ . Предположим, что при более высоких температурах линейность не нарушается, как это полагалось в работе [28].

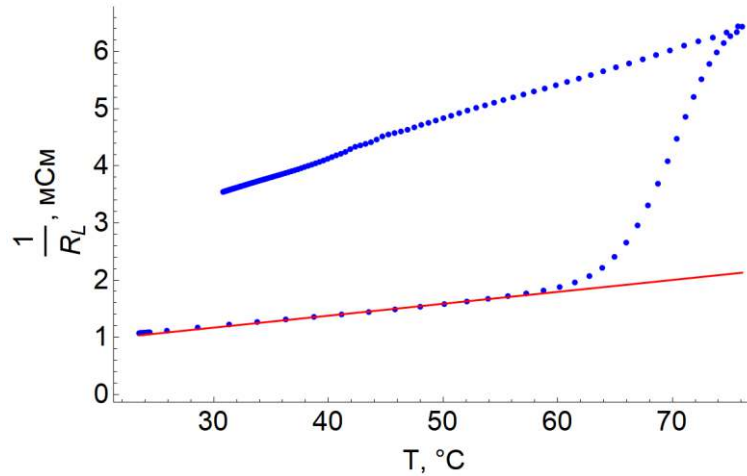


Рис. 33. Зависимость низкочастотного адмиттанса  $1/R_L$  образца Печени №2 от температуры (экспериментальные точки (синим) и линейная аппроксимация (красным) на низких температурах).

Также последуем принятой в литературе [21, 22] линейной зависимости проводимости от доли недеградированной ткани  $G$ . Таким образом, зависимость  $R_L(T, G)$  может быть представлена в виде:

$$R_L(T, G) = \left\{ \frac{R_{L0}}{(1 + \mu_L(T - T_0))} \right\} \frac{1}{G + \lambda(1 - G)} \quad (53)$$

где  $T_0 = 25 \text{ } ^\circ\text{C}$ ,  $R_{L0}$  - точка отсчета температуры и адмиттанс ткани при данной температуре,  $\mu_L$  - температурный коэффициент электрического сопротивления,  $\lambda$  - коэффициент пропорциональности между проводимостью полностью деградированной и нативной ткани.

Температурные коэффициенты  $\mu_L$  сопротивления могут быть получены из линейной аппроксимации низкотемпературной части графика как тангенс угла наклона прямой (красным на Рис. 31а). На основе измеренных значений  $\mu_L$  и аппроксимации  $R_L(t)$ , используя формулы (7,8) и формализм Аррениуса (4,5), были получены параметры процессов кинетики (Таб. 9). Характерный график аппроксимации функции  $R_L(t)$  приведен на Рис. 32.

Таб. 9. Результаты аппроксимации  $R_L(t)$

Образец	$\mu_L, \% / \text{K}$	$\lambda$	$\ln(A), \ln(\text{с}^{-1})$	$E_a, \text{эВ}$	$T_{cr}, \text{ } ^\circ\text{C}$
Печень №1	1,80	$4,2 \pm 0,1$	$107 \pm 10$	$3,2 \pm 0,4$	$92 \pm 2$
Печень №2	1,9	$3,0 \pm 0,1$	$86 \pm 10$	$2,6 \pm 0,3$	$89 \pm 1$
Печень №3	2,3	$2,7 \pm 0,1$	$83 \pm 10$	$2,5 \pm 0,3$	$88 \pm 1$

Линейные коэффициенты проводимости для большинства тканей лежат в диапазоне 1-2 % / °C [27]. Параметры деградации Аррениуса по порядку величины совпадают с приведенными в литературе, однако для нахождения их более точных значений требуется усовершенствование способа обработки данных, что будет сделано в следующей главе 3.

## 2.5. Исследование влияния однородности разогрева на параметры деградации

В данном параграфе было проведено численное исследование различных методов нагрева и расчет погрешностей определения параметров Аррениуса, связанных с неоднородным распределением температуры.

Моделирование нестационарной задачи теплопроводности для плоского образца толщиной  $d = 1 \div 10$  мм проводилось для трех способов нагрева:

- конвективный нагрев воздухом, заданный граничными условиями Ньютона—Рихмана с коэффициентом теплоотдачи  $h = 10$  Вт/(м<sup>2</sup>·К) и внешней температурой  $T_{out} = 50 \div 500$ °C;
- конвективный нагрев водой с коэффициентом теплоотдачи  $h = 10^3$  Вт/(м<sup>2</sup>·К) и внешней температурой  $T_{out} = 40 \div 100$ °;
- нагрев оптическим излучением с интенсивностью  $I_0 = 10^{3,1} \div 10^{5,3}$  Вт/м<sup>2</sup>, равномерно освещающим обе поверхности, и температурой окружающего воздуха  $T_{out} = 24$ °.

Диапазоны температур и интенсивности выбирались так, чтобы обеспечить деградацию образцов в сопоставимых пределах временного диапазона  $30 \div 10000$  с.

Использовался метод конечных элементов в среде COMSOL Multiphysics. Моделирование может быть представлено в виде следующих шагов:

Распределение излучения вдоль координаты  $z$  считалось равным  $I_0(e^{-z/D_L} + e^{-(d-z)/D_L})$ , где  $D_L$  определялось в соответствии с формулой (40)б;

- решение задачи о распространении тепла – в соответствии с формулами (34)-(35) и соответствующими граничными условиями Ньютона-Рихмана (36) с  $T_{heat} = T_{out}$ , причем для конвективных способов  $Q = 0$ , для оптического - в соответствии с формулой (41);
- определение доли нативной ткани – в соответствии с формализмом Аррениуса (37) и (38);
- расчет низкочастотного сопротивления образца в каждой ячейке – в соответствии с (53) на основе температурных зависимостей  $T(t)$  и доли нативной ткани  $G(t)$ :

- линейная аппроксимация зависимости  $\ln(k)$  от  $1/T$  для *всего* образца – с помощью формулы (37), от обеих частей которых был взят натуральный логарифм.

Характерные значения физических свойств образца были взяты из работы [82] и представлены в таблице 10.

Таб. 10. Значения параметров куриной печени, использованные в модели

Параметр	Значение	Параметр	Значение
$\rho$ [кг м <sup>-3</sup> ]	1051	$c$ [Дж кг <sup>-1</sup> °C <sup>-1</sup> ]	3617
$h$ [Вт м <sup>-2</sup> °C <sup>-1</sup> ]	10	$\kappa$ [Вт м <sup>-1</sup> °C <sup>-1</sup> ]	0.5
$\mu_{an}$ [см <sup>-1</sup> ]	1	$\sigma_n$ [См м <sup>-1</sup> ]	0,1
$\mu_{sn}$ [см <sup>-1</sup> ]	100	$\sigma_d$ [См м <sup>-1</sup> ]	0,3
$g$	0,95	$\mu_L 10^{-2}$ [°C <sup>-1</sup> ]	2
$T_{cr}$ [°C]	101	$\ln(A)$ [ln(c <sup>-1</sup> )]	48,5

На Рис. 34 представлены контурные диаграммы относительной ошибки  $\epsilon$  определения восстановленных параметров деградации  $par_{res}$  в сравнении с исходными  $par_{init}$ :  $\epsilon = |par_{res} - par_{init}|/par_{init}$ .

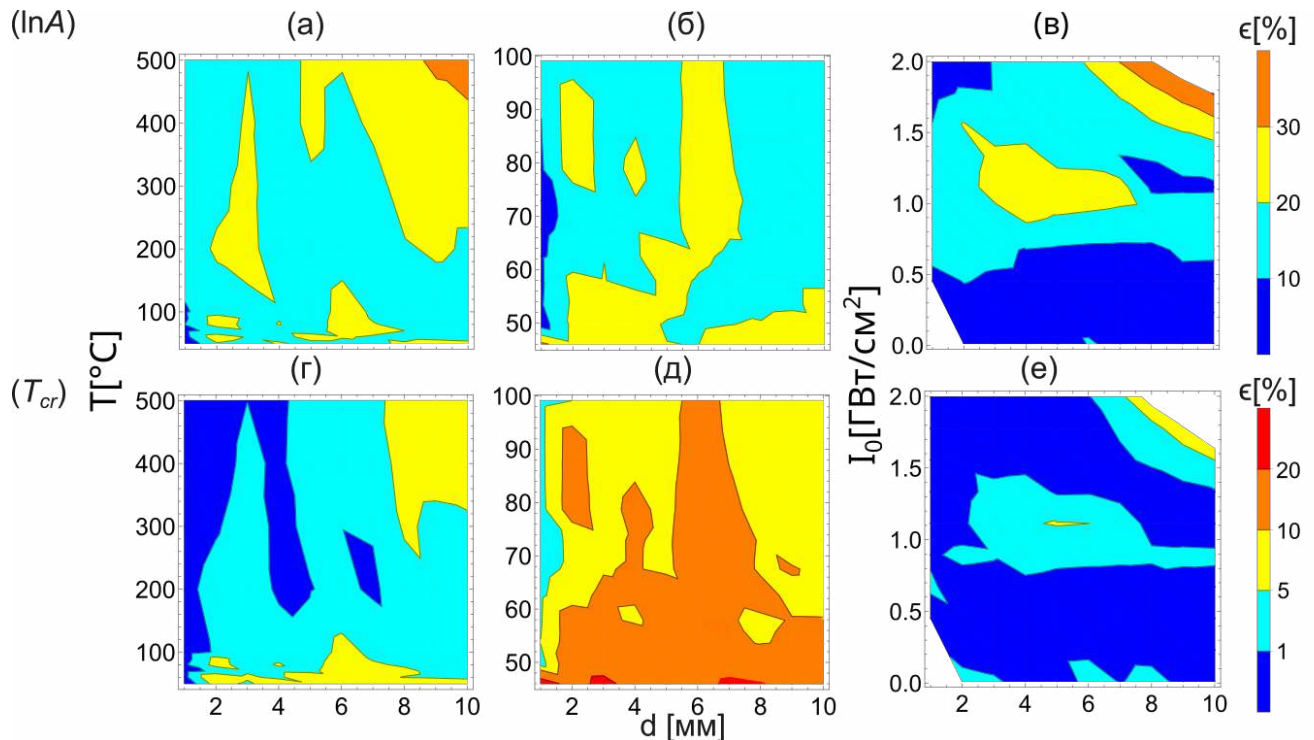


Рис. 34. Зависимость величины относительной ошибки  $\epsilon$  (%) восстановления  $\ln A$  (а, б, в) и  $T_{cr}$  (г, д, е) при конвективном разогреве воздухом (а,г), водой (б,д), и оптическом разогреве (в,е) от толщины (мм, горизонтальная ось) и внешней температуры/интенсивности (вертикальная ось).

Для сравнения диаграммы были перестроены по вертикали в терминах времени деградации  $t_d$ , то есть времени, за которое при фиксированной температуре/интенсивности происходит уменьшение доли нативной ткани до  $G \leq 0,5$ . На Рис. 35 видно, что увеличение толщины вместе с уменьшением времени деградации приводит к увеличению погрешностей, особенно в конвективных методах, ограниченных теплопроводностью образцов.

Оптическое излучение, за счет проникновения вглубь образца и создания источников тепла по всему объему, нагревает его более равномерно, что дает меньшую ошибку определения параметров деградации практически во всём диапазоне рассчитанных толщин образца и времен деградации.

Основным источником неоднородности температуры в случае оптического разогрева является конвективное охлаждение образца через поверхность. Данный фактор может быть исключен с помощью теплоизоляции образца.

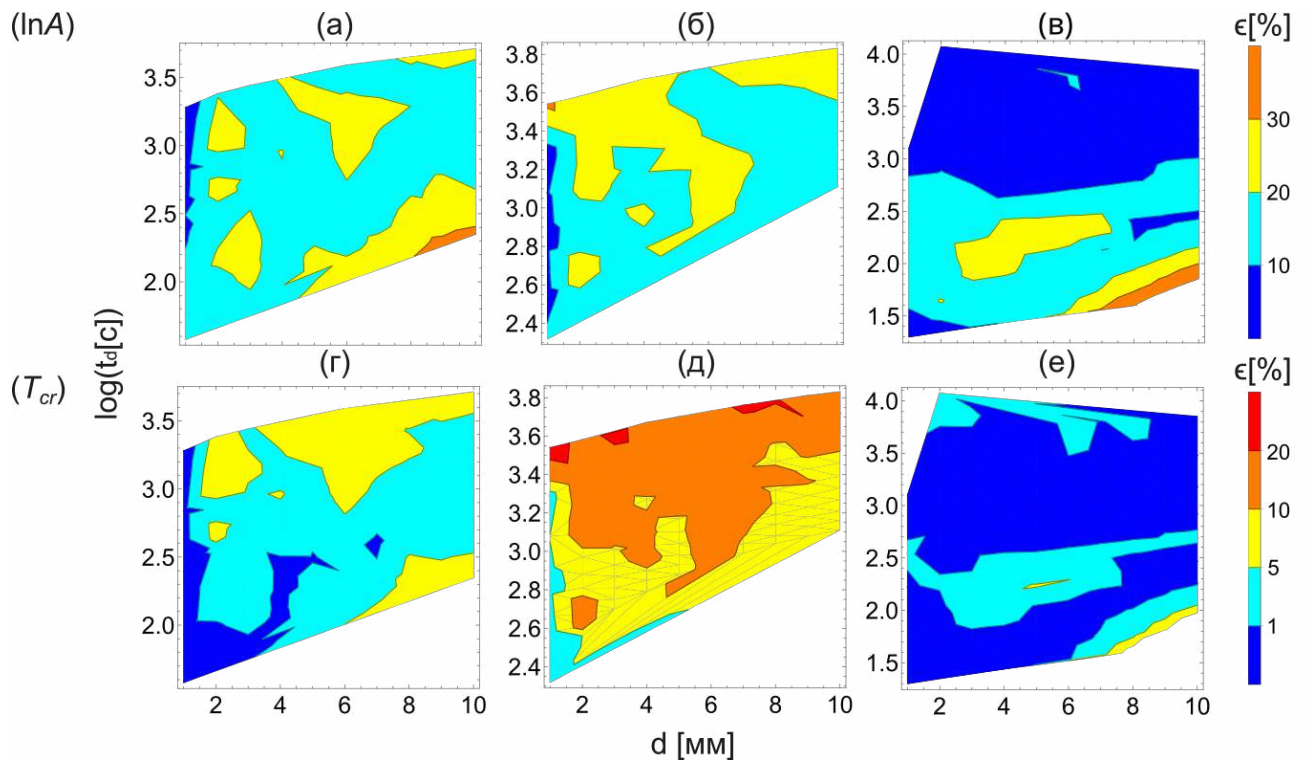


Рис. 35. Зависимость величины относительной ошибки  $\epsilon$  (%) восстановления  $\ln A$  (а, б, в) и  $T_{cr}$  (г, д, е) при конвективном разогреве воздухом (а, г), водой (б, д), и оптическом разогреве (в, е) от толщины (мм, горизонтальная ось) и десятичного логарифма времени деградации (вертикальная ось).

Новый метод нагрева расширяет возможности исследования термических процессов, позволяя исследователю контролировать с помощью мощности облучения скорость такого нагрева с сохранением его однородности, что невозможно при применении классических

методов. В частности, становится возможным быстрый разогрев до определенной температуры с её последующей стабилизацией в течение необходимого времени.

## 2.6. Выводы к главе

В ходе проведенных экспериментальных и теоретических исследований, изложенных в настоящей главе, были получены следующие основные результаты:

1. Разработана и апробирована новая методика измерения температурных зависимостей электрических свойств биологических тканей, основанная на однородном объемном нагреве образцов рассеянным излучением ближнего инфракрасного диапазона. Методика включает: оригинальный подход к нагреву биологических образцов с использованием равномерно распределенного слабопоглощаемого излучения; сканирование спектра импеданса в широком частотном диапазоне; исследование полученных РЧ спектров импеданса на основе уравнения Коула-Коула и спектральных производных; аппроксимацию кинетик низкочастотного импеданса на основе формализма Аррениуса.
2. Экспериментально установлено, что нагревание образцов куриной печени приводит к монотонному уменьшению модуля импеданса во всем исследованном спектральном диапазоне. Полученные спектральные зависимости проводимости и диэлектрической проницаемости (Рис. 30) согласуются с литературными данными.
3. Проанализированы зависимости электрических параметров от температуры и времени воздействия (Рис. 31):
  - В процессе нагрева/охлаждения низкочастотное сопротивление  $R_L$  демонстрирует монотонную зависимость от температуры, обусловленную увеличением/уменьшением подвижности ионов.
  - В процессе термической деградации наблюдается значительный необратимый спад  $R_L$ , связанный с разрушением клеточных мембран.
  - Параметры  $C$  и  $\alpha$  слабо зависят от температуры, поскольку определяются свойствами биологических мембран.
4. Методами математического моделирования продемонстрировано, что пространственная неоднородность распределения температуры сильно влияет на восстановление параметров Аррениуса (Рис. 35). Оптический разогрев дает лучшие показатели

однородности по сравнению с конвективными, основанными на нагреве через поверхность образца.

### Глава 3. Измерения радиочастотного адмиттанса биотканей при разогреве модулированной мощностью

В данной главе предложен новый метод модуляционной импедансометрии. Введение модуляции мощности нагрева, позволило в явной форме разделить обратимую и необратимую составляющие изменения электрических свойств. Ранее подобное разделение выполнялось на основе предположения о линейной зависимости проводимости от температуры (см. формулу (53)).

Кроме того, в представленную выше методику был внесен ряд изменений: для увеличения однородности разогрева стали использоваться тонкие плоские образцы, который помещались между прозрачными электродами, а для увеличения частоты дискретизации измерения стали проводится на фиксированной частоте 10 кГц; для более точного измерения температуры стали использоваться датчики на основе волоконных брэгговских решеток. Также использовался диодный лазер на 970 нм вместо лазера на 1064 нм как более дешевый и доступный мощный источник излучения с сопоставимым коэффициентом поглощения в ткани печени.

Результаты, представленные в данной главе, были опубликованы автором в работе {6}.

#### 3.1. Образцы

Из печени вырезался образец в форме прямоугольной пластины толщиной 3 мм и площадью  $\sim 4 \text{ см}^2$ , который затем промывался в дистиллированной воде, высушивался и помещался между двумя прозрачными в оптическом диапазоне электродами. Было исследовано 6 образцов.

#### 3.2. Экспериментальная установка

Для измерения кинетик адмиттансов биологических тканей в условии разогрева модулированным оптическим излучением была собрана экспериментальная установка, блок-схема которой изображена на Рис. 36

Для измерения адмиттанса образцов применялся метод синхронного детектирования (см. параграф 1.3.1) с использованием двухэлектродной схемы. Электрическая ячейка была

сформирована двумя оптически прозрачными стеклянными электродами с напылением из оксида индия-олова, между которыми располагался образец. Ячейка была последовательно подключена к **РЧ-выходу** (на Рис. 36а обозначен как **генератор I**) **синхронного детектора** (Stanford Research Systems SR865, см. Таб. 3), выдающему  $0,2 \text{ V}_{\text{rms}}$  на частоте  $f=10 \text{ кГц}$ , и к нагрузочному резистору  $R_{\text{load}}=50 \text{ }\Omega$ . Падение напряжения  $\hat{U}_{\text{lia}}(t)$  на нагрузочном резисторе на частоте  $f=10 \text{ кГц}$  измерялось с помощью **синхронного детектора**, составляющего единый прибор с упомянутым выше РЧ-генератором I и синхронизованного на его сигнал.



Рис. 36. а) Блок-схема экспериментальной установки б) Спектр суперлюминисцентного источника со спектрами отражения от 2 ВБР внутри: синим - от ВБР2, оттенки зелёного - от ВБР1. При нагреве ВБР1 её спектр отражения сдвигается вправо в) Калибровка температурной зависимости проходящей мощности зондирующего излучения от суперлюминисцентного источника для её пересчёта в температуру нагреваемой решётки.

Электрическая ячейка с образцом помещалась в оптическую интегрирующую сферу, куда заводилось лазерное излучение мощностью до 20 Вт на длине волны 970 нм. Мощность **лазера** амплитудно модулировалась на частоте 0,1 Гц со 100% глубиной модуляции с помощью подключённого к нему **РЧ-генератора II** (Stanford Research Systems DS345, см. Таб. 2) через биполярный NPN транзистор (Inchange Semiconductor 2SC2625-2). Электрическая схема подключения приведена на Рис. 37.

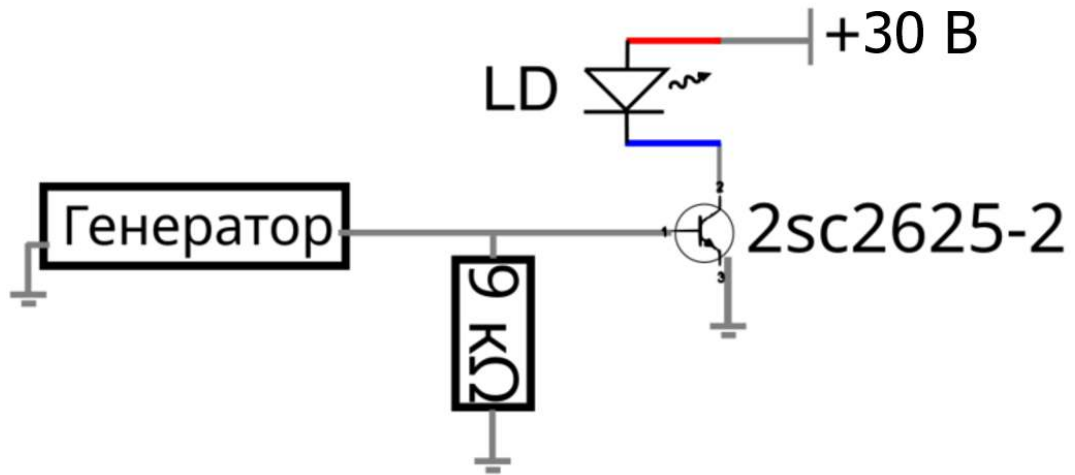


Рис. 37. Электрическая схема подключения лазера для модуляции его излучения. LD – лазер, 9 кΩ - стягивающий (pull-down) резистор.

Рассеивающая пластина из оптической керамики и диффузно отражающее внутреннее покрытие полусфер, выполненное из оксида бария, обеспечивали однородное облучение образца, что подтверждается и моделью для аналогичных условий разогрева лазерным излучением, представленной в параграфе 2.4.

Температура измерялась с помощью волоконно-оптической схемы на двух последовательно расположенных **волоконных брэгговских решетках** (ВБР). Решётки располагались между суперлюминисцентным волоконным источником и **измерителем мощности (Thorlabs PM100D)** и при одинаковой температуре имели одинаковый спектр отражения. Нагрев решётки, помещенной в образец, приводил к температурному сдвигу спектра её отражения в длинноволновую область (Рис. 36б), что в свою очередь уменьшало проходящую насквозь регистрируемую мощность зондирующего излучения от суперлюминисцентного источника. Предварительно для перевода измеряемой мощности в температуру сигнальной решетки внутри образца схема была откалибрована (Рис. 36в) в ходе медленного нагрева и охлаждения в диапазоне температур 23-79 °С. Опорная решётка помещалась в **термостат**, и её температура поддерживалась одинаковой с помощью термоконтроллера Thorlabs MTDEVAL1 как в ходе калибровки, так и в ходе экспериментов.

Выбранная частота модуляции  $\nu_{mod} = 0,1$  Гц, с одной стороны, позволяла проводить детальные измерения зондирующего излучения суперлюминисцентного источника с максимальной частотой выборки измерителя мощности 10 Гц. С другой стороны,  $\nu_{mod}$  достаточно велика, чтобы дать подробную информацию об обратимых изменениях на протяжении всего процесса нагревания с повышением температуры минимум на 2°С за один период.

Для радиочастотных измерений была выбрана частота 10 кГц (Рис. 38), находящаяся между областями  $\alpha$ - и  $\beta$ -дисперсий как, с одной стороны, не испытывающая влияния контактного импеданса, и с другой стороны, как наиболее чувствительная для регистрации именно структурных изменений (разрушение клеточных мембран), происходящих в ткани в ходе деградации.

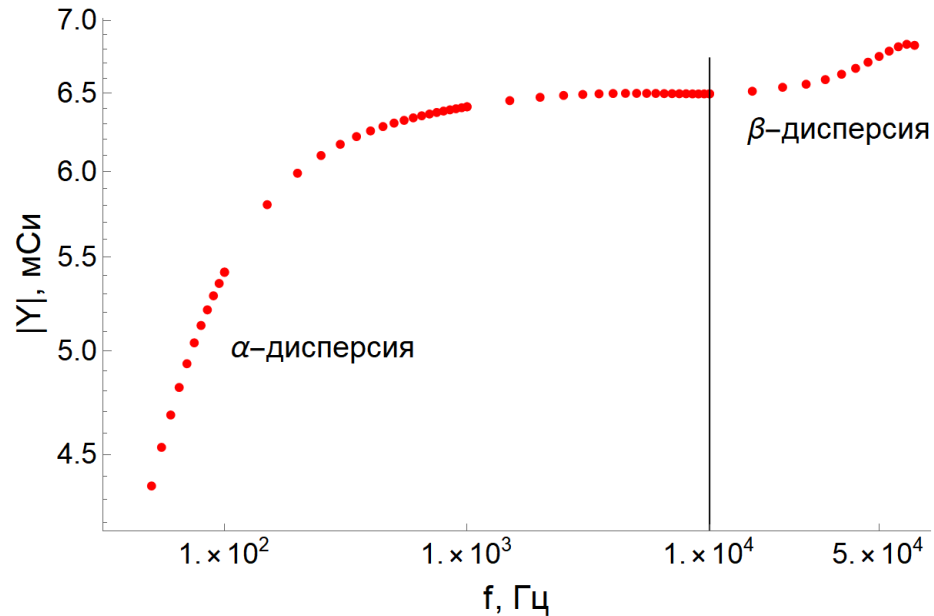


Рис. 38. Частотная зависимость модуля адмиттанса одного из образцов.

Полученное значение модуля адмиттанса на 10 кГц при пересчете в проводимость (пренебрегая вкладом  $\epsilon$ ) дают значение 0,08 См/м, что попадает в диапазон экспериментальных данных  $0,05 \div 0,15$  См/м, представленных в обзорной работе Gabriel [79].

### 3.3. Измерение и анализ кинетик адмиттанса печени

#### 3.3.1. Полученные зависимости

Эксперимент разделялся на 2 фазы: модулированный разогрев при мощности облучения 20 Вт и модулированное остывание на мощности 6 Вт. На рисунке Рис. 39(а), (б), (в) изображены зависимости температуры  $T$  и модуля адмиттанса  $|Y|$  от времени, регистрируемые в эксперименте с модуляционным разогревом для трех образцов с различной максимальной температурой нагрева. В последующем тексте промежуточные результаты будут приведены для

образца №5. На приближенном рисунке Рис. 39(г) можно наблюдать фазы модуляции температуры и модуля адмиттанса для данного образца.

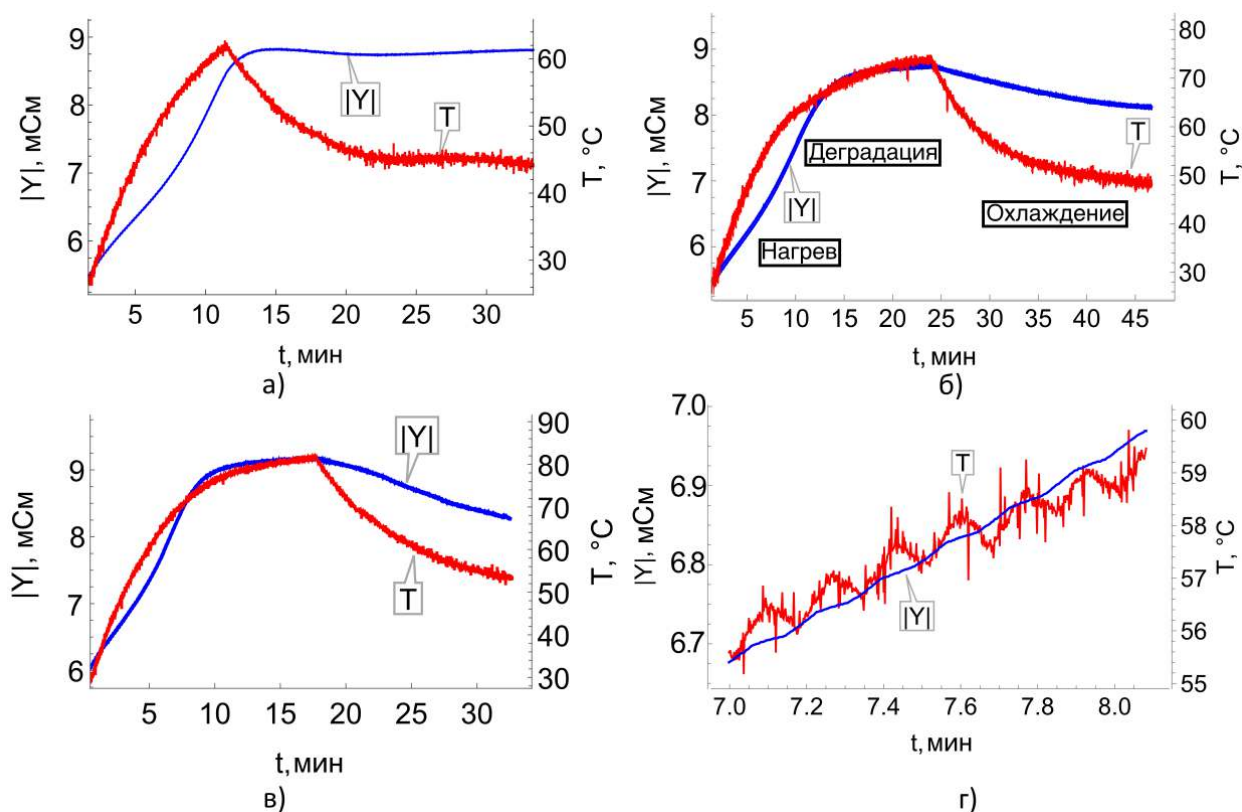


Рис. 39. а, б, в) Кинетика модуля комплексного адмиттанса и температуры в ходе разогрева рассеянным лазерным излучением для образцов №№4,5,6 соответственно г) участок графика для образца №5.

### 3.3.2. Выделение средней и амплитудной составляющих

Выделения усреднённых значений температуры  $\langle T \rangle$  и модуля адмиттанса  $\langle |Y| \rangle$  производились с помощью низкочастотной фильтрации исходных данных на уровне 0,005 Гц. Результаты обработки представлены на Рис. 40а. На рисунке Рис. 40(б) полученные данные представлены в виде  $|Y(T)|$  диаграммы.

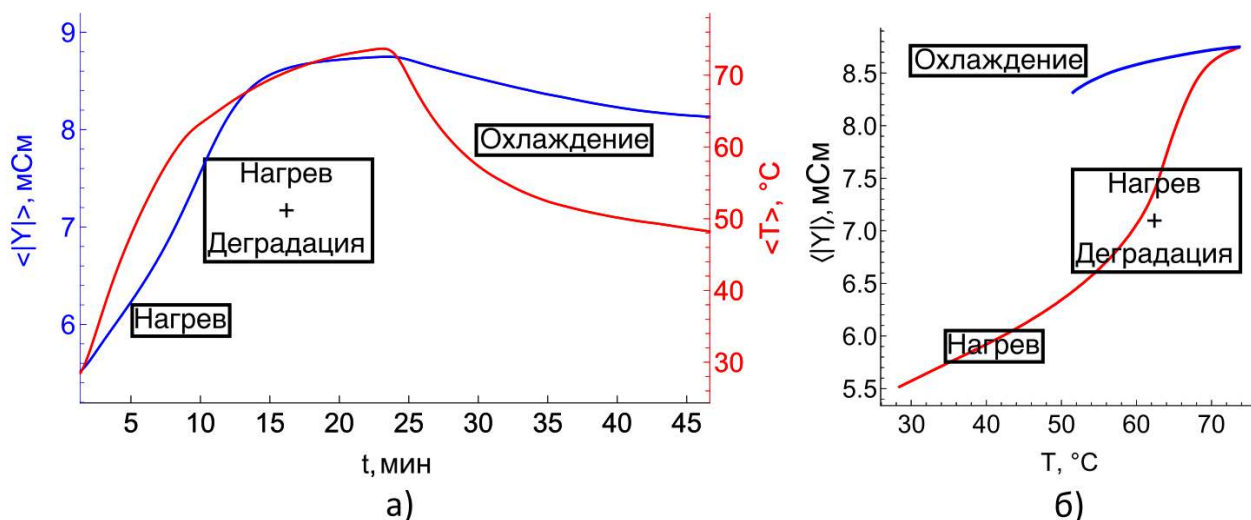


Рис. 40. а) Усреднённая кинетика модуля комплексного адмиттанса и температуры образца в ходе разогрева рассеянным лазерным излучением. б) Параметрический график зависимости модуля комплексного адмиттанса от температуры образца в ходе разогрева (красным) рассеянным лазерным излучением и охлаждения (синим).

На Рис. 40(а) можно выделить три области:

- нагрев (0-7 минута,  $<50$  °C): температура образца растёт, проводимость линейно зависит от температуры;

- деградация (7-25 минута): здесь скорость роста  $T$  заметно падает в виду роста роли теплоотвода в окружающую среду, в то время как рост  $|Y|$  наоборот сначала ускоряется за счёт начала деградации, а затем падает при приближении к состоянию полной деградации образца;

- охлаждение (25-45 минута): температура и адмиттанс уменьшаются.

### 3.3.3. Численное разложение в ряд Фурье кинетик адмиттанса и температуры

Экспериментальные зависимости температуры и адмиттанса от времени можно представить в виде:

$$T = \langle T \rangle + \sum_m \{T\}_m e^{i\omega_m t} \quad (54)$$

$$|Y| = \langle |Y| \rangle + \sum_m \{|Y|\}_m e^{i\omega_m t} \quad (55)$$

Здесь циклическая частота  $\omega_m$  принимает значения от  $-\frac{1}{v_s}$  до  $+\frac{1}{v_s}$ , кратно  $\frac{1}{T_{meas}}$  где

$v_s$  – частота дискретизации,  $T_{meas}$  – длительность всего эксперимента.

Тогда для полных производных температуры и модуля адмиттанса по времени в случае медленно меняющихся амплитуд по сравнению с циклической частотой модуляции  $\omega_{\text{mod}} = 2\pi\nu_{\text{mod}}$  верно:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{d\langle T \rangle}{dt} + \sum_m (i\omega_m \{T\}_m + \underbrace{\frac{d\{T\}_m}{dt}}_{\approx 0}) e^{i\omega_m t} \quad (56)$$

$$\frac{d|Y|}{dt} = \frac{d\langle |Y| \rangle}{dt} + \sum_m (i\omega_m \{|Y|\}_m + \underbrace{\frac{d\{|Y|\}_m}{dt}}_{\approx 0}) e^{i\omega_m t} \quad (57)$$

С другой стороны, адмиттанс может быть рассмотрен, как функция температуры и степени деградации. В этом случае его производная по времени примет вид:

$$\frac{d|Y|}{dt} = \frac{\partial |Y|}{\partial T} \Big|_G \frac{dT}{dt} + \frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{dG}{dt} \quad (58)$$

Подставляя (2), (55), (56) в (58), приравнявая (57) и (58) и выделяя из рядов компоненту только с частотой  $\omega_m = \omega_{\text{mod}}$  можно получить следующее выражение:

$$\frac{d\langle |Y| \rangle}{dt} + i\omega \{|Y|\}_{\text{mod}} e^{i\omega_{\text{mod}} t} = \frac{\partial |Y|}{\partial T} \Big|_g \left( \frac{d\langle T \rangle}{dt} + i\omega_{\text{mod}} \{T\}_{\text{mod}} e^{i\omega_{\text{mod}} t} \right) + \frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{dG}{dt} \quad (59)$$

Поскольку  $\frac{dG}{dt}$  отвечает за необратимые изменения и в случае наличия внутри неё осцилляционных членов их величиной можно пренебречь, то отсюда, разделяя действительную и мнимую части, имеем систему уравнений:

$$\begin{cases} \frac{d\langle |Y| \rangle}{dt} = \frac{\partial |Y|}{\partial T} \Big|_G \frac{d\langle T \rangle}{dt} + \frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{dG}{dt} \\ \{|Y|\}_{\text{mod}} = \frac{\partial |Y|}{\partial T} \Big|_G \{T\}_{\text{mod}} \end{cases} \quad (60)$$

### 3.3.4. Выделение обратимой составляющей

Выделение огибающих колебательных составляющих температуры  $\{T\}_{\text{mod}}$  и модуля адмиттанса  $\{|Y|\}_{\text{mod}}$  производилось полосовым фильтром с окном 0,02-0,18 Гц и последующим преобразованием Гильберта.

Из полученных экспериментальных данных по 2-му уравнению системы (60) может быть получена зависимость температурного коэффициента модуля адмиттанса  $\left. \frac{\partial |Y|}{\partial T} \right|_G$ , характеризующая обратимое изменение проводимости.

На Рис. 41 представлена диаграмма зависимости температурного коэффициента модуля адмиттанса  $\left. \frac{\partial |Y|}{\partial T} \right|_G$  от температуры  $T$ . Видно, что она монотонно уменьшается в ходе нагрева более чем в 4 раза и вновь вырастает, но до более низких значений, в ходе охлаждения.

Скачки зависимости при охлаждении обусловлены ошибкой обработки данных уменьшающихся амплитудных составляющих с уменьшением разницы между температурой образца и внешней температурой. Одной из стратегий уменьшения ошибок может быть постепенное снижение средней мощности излучения для поддержания четко выраженных осцилляционных составляющих на каждом этапе фазы охлаждения.

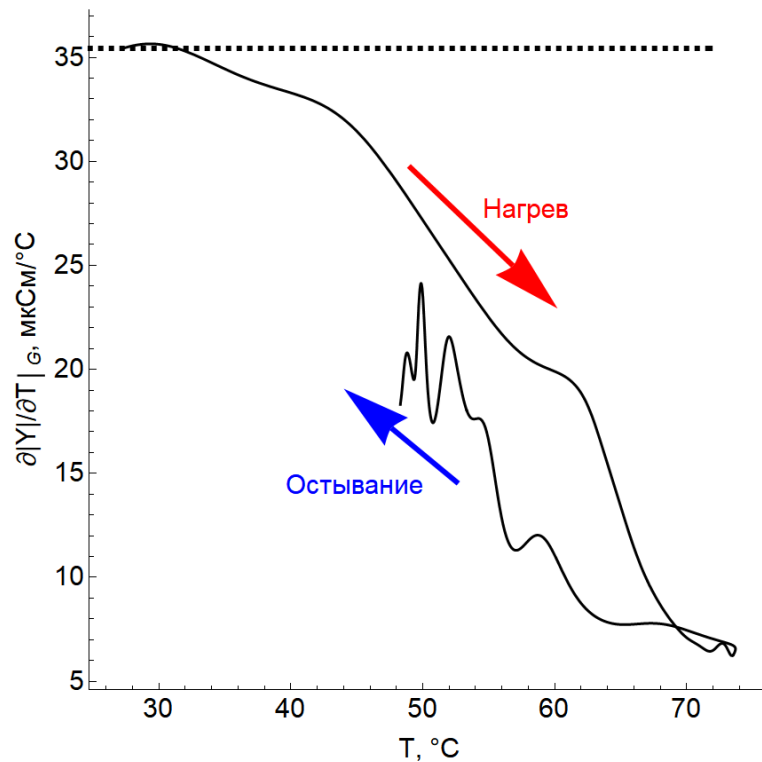


Рис. 41. Зависимость температурного коэффициента модуля адмиттанса  $\left. \frac{\partial |Y|}{\partial T} \right|_G$  от температуры. Пунктиром обозначено значение при комнатной температуре для нативной ткани.

### 3.3.5. Определение параметров деградации

После определения обратимой составляющей процесса, может быть рассчитана составляющая, связанная с необратимыми процессами и соответствующие параметры кинетики деградации.

Экспериментальную зависимость необратимой составляющей от времени  $\frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{dG}{dt}$  можно получить из 1-го уравнения системы (60), подставляя в него выражение для  $\frac{\partial |Y|}{\partial T} \Big|_G$  полученного из 2-го уравнения системы (60):

$$\frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{dG}{dt} = \frac{d\langle |Y| \rangle}{dt} - \frac{\partial |Y|}{\partial T} \Big|_G \frac{d\langle T \rangle}{dt} = \frac{d\langle |Y| \rangle}{dt} - \frac{\{ |Y| \}_{mod}}{\{ T \}_{mod}} \frac{d\langle T \rangle}{dt} \quad (61)$$

Зависимости от времени  $\frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{dG}{dt}$  и  $\frac{\partial |Y|}{\partial T} \Big|_G \frac{d\langle T \rangle}{dt}$  представлены на Рис. 42. Максимум  $\frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{dG}{dt}$  соответствует моменту наибольшей активности процесса деградации. Здесь и далее графики будут приводятся без этапа охлаждения, при котором скорость протекания процесса деградации значительно снижается. Также далее мы везде будем работать с усредненными величинами  $\langle |Y| \rangle$  и  $\langle T \rangle$ , поэтому угловые скобки для простоты записи будут опускаться.

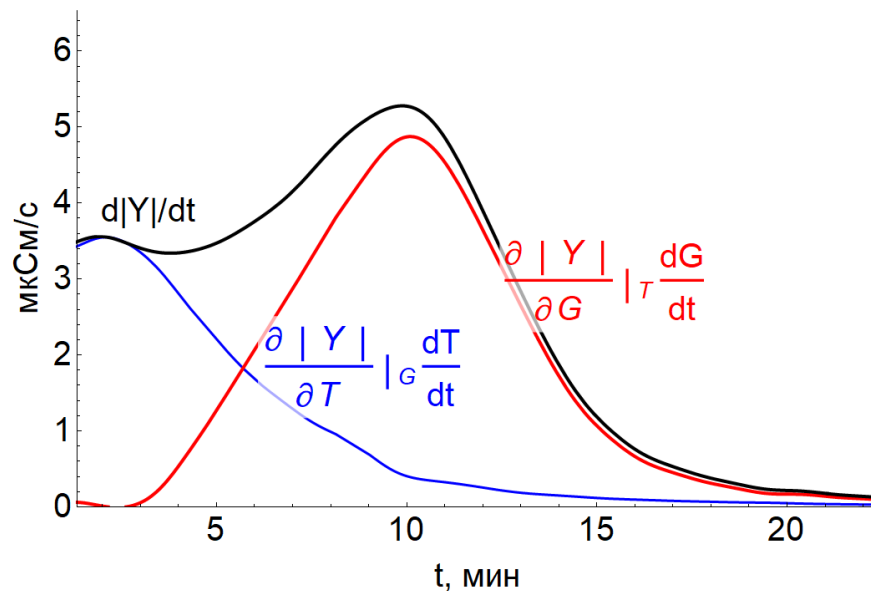


Рис. 42. Зависимости от времени обратимой  $\frac{\partial |Y|}{\partial T} \Big|_G \frac{dT}{dt}$  (синим) и необратимой  $\frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{dG}{dt}$  (красным) составляющих  $\frac{d|Y|}{dt}$  (черным).

### 3.3.6. Анализ деградации через формализм Аррениуса

Линейная зависимость проводимости от степени деградации ткани  $G$  в терминах модуля адмиттанса  $|Y|$  может быть переписана в виде:

$$G = \frac{|Y| - Y_d}{Y_n - Y_d} \quad (62)$$

причём  $G(t = 0) = 1$ ,  $Y_n$  - модуль адмиттанса полностью нативной ткани,  $Y_d$  - модуль адмиттанса полностью деградировавшей ткани.

Тогда из (62) имеем:

$$|Y| - Y_d(T) = (Y_n(T) - Y_d(T))G \quad (63)$$

Взяв частную производную по  $G$ , домножив на  $\frac{dG}{dt}$  и дифференцировав по  $t$ , получаем:

$$\begin{aligned} \frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{dG}{dt} &= (Y_n(T) - Y_d(T)) \frac{dG}{dt} \\ \frac{d}{dt} \left( \frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{dG}{dt} \right) &= \frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{d^2 G}{dt^2} = (Y_n(T) - Y_d(T)) \frac{d^2 G}{dt^2} \end{aligned} \quad (64)$$

Далее возможны 2 подхода к нахождению параметров деградации:

I. Заметим, что можно выразить  $G'/G$  через экспериментальные данные. Поделив верхнее выражение из (64) на (63), получим:

$$\frac{\frac{dG}{dt}}{G} = \frac{(Y_n(T) - Y_d(T)) \frac{dG}{dt}}{(Y_n(T) - Y_d(T))G} = \frac{\frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{dG}{dt}}{|Y| - Y_d(T)} \quad (65)$$

После взятия логарифма от обеих частей уравнения (65) и подстановки в него продифференцированного выражения (38) для  $G$ , получим:

$$\ln \left[ \frac{dG}{G dt} \right] = \ln \left[ \frac{\frac{\partial |Y|}{\partial G} \Big|_T \frac{dG}{dt}}{|Y| - Y_d(T)} \right] = \ln A * \left( 1 - \frac{T_{cr}}{T(t)} \right). \quad (66)$$

В данном выражении  $\left(\frac{\partial|Y|}{\partial G}\right)_T \frac{dG}{dt}(t)$  и  $T(t)$  определяются экспериментально. Параметры деградации  $\ln A$  и  $T_{cr}$  могут быть получены из линейной аппроксимации графика  $\ln \left[ \frac{dG}{dt} \right]$  от  $\frac{1}{T(t)}$ . Однако, в данном способе для получения температурной зависимости  $Y_d(T)$  необходимо добиться полного завершения процесса деградации и измерить кинетику остывания.

II. Вторым способом заключается в использовании повторного численного дифференцирования. Поделив 2 выражения из (64) друг на друга, получим:

$$\frac{\frac{d}{dt} \left( \frac{\partial|Y|}{\partial G} \right)_T \frac{dG}{dt}}{\left( \frac{\partial|Y|}{\partial G} \right)_T \frac{dG}{dt}} = \frac{\frac{d^2 G}{dt^2}}{\frac{dG}{dt}} \quad (67)$$

Полученное выражение не содержит зависимости  $Y_d(T)$ , поэтому нет необходимости в завершении процесса деградации, что является предпочтительным. Однако повторное численное дифференцирование приводит к росту погрешности в экспериментальных данных.

Чтобы выразить правую часть (67) через  $\ln A$  и  $T_{cr}$ , дважды продифференцируем  $G$  в (38):

$$\frac{dG}{dt} = -G * k \quad (68)$$

$$\begin{aligned} \frac{d^2 G}{dt^2} &= -\frac{dG}{dt} * k - G * k' = -\frac{dG}{dt} * k - G * k * \ln A * (-T_{cr}) \left( -\frac{T'(t)}{T^2(t)} \right) = \\ &= -\frac{dG}{dt} * k - G * k * \ln A * T_{cr} \frac{T'(t)}{T^2(t)} \end{aligned} \quad (69)$$

$$\begin{aligned} \frac{\frac{d^2 G}{dt^2}}{\frac{dG}{dt}} &= \frac{-\frac{dG}{dt} * k - G * k * \ln A * T_{cr} \frac{T'(t)}{T^2(t)}}{\frac{dG}{dt}} = -k - \frac{G * k * \ln A * T_{cr} \frac{T'(t)}{T^2(t)}}{-G * k} = \\ &= -k + \ln A * T_{cr} \frac{T'(t)}{T^2(t)} = \ln A * T_{cr} \frac{T'(t)}{T^2(t)} - e^{\ln A * \left(1 - \frac{T_{cr}}{T(t)}\right)} \end{aligned} \quad (70)$$

Получим:

$$\frac{\frac{d^2 G}{dt^2}}{\frac{dG}{dt}} = \frac{\frac{d}{dt} \left( \frac{\partial|Y|}{\partial G} \right)_T \frac{dG}{dt}}{\left( \frac{\partial|Y|}{\partial G} \right)_T \frac{dG}{dt}} = \ln A * T_{cr} \frac{T'(t)}{T^2(t)} - e^{\ln A * \left(1 - \frac{T_{cr}}{T(t)}\right)} \quad (71)$$

Параметры деградации  $\ln A$  и  $T_{cr}$  могут быть получены из аппроксимации графика  $\frac{d^2 G}{dt^2} \frac{dG}{dt}$  от времени зависимостью (71).

На рисунке Рис. 43 представлены результаты аппроксимации с помощью обоих способов для образца №5. На рисунке Рис. 43(а) показана линейная зависимость данных от обратной температуры в зоне деградации. При приближении к максимальной температуре скорость нагрева уменьшается, и, следовательно, точки данных уплотняются в левой части графика. На рисунке Рис. 43(б) показана искусственно построенная зависимость для аппроксимации, причем оба слагаемых из (21) имеют соизмеримый вклад в область деградации. Изменение знака зависимости соответствует точке перегиба на  $|Y(t)|$  (см. Рис. 39(б)) и максимуму для  $\left. \frac{\partial |Y|}{\partial G} \right|_T \frac{dG}{dt}$  (см. Рис. 42). Оба способа дают схожие результаты:  $\ln A = 49,2 \pm 1,0 \ln (c^{-1})$  и  $T_{cr} = 100 \pm 1,5^\circ C$  для I и  $\ln A = 48,5 \pm 1,0 \ln (c^{-1})$  и  $T_{cr} = 100 \pm 2^\circ C$  для II.

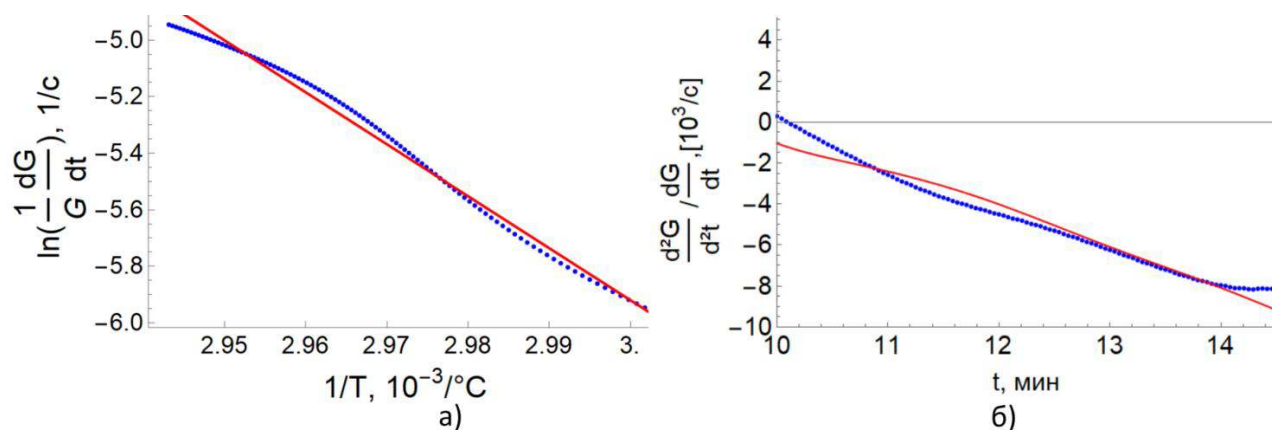


Рис. 43. Результат аппроксимации по способу а) I и б) II. Синим - данные, красным - аппроксимация.

### 3.3.7. Сравнение модуляционного и немодуляционного методов

В Таб. 11 представлено сравнение полученных параметров термической деградации для тех же экспериментальных образцов, обработанных методами без модуляции (параграф 2.4) и с модуляцией (настоящий параграф). Основное отличие в методах обработки следующее: без модуляции предполагается линейная зависимость проводимости от температуры (53). В случае модуляции – экспериментально определенная (Рис. 41.)

Таб. 11. Сравнение параметров кинетики деградации по Аррениусу.

Образец	Новый метод (наст. п.)		Старый метод (п. 2.4)	
	$\ln(A), \ln(s^{-1})$	$T_{cr}, ^\circ C$	$\ln(A), \ln(s^{-1})$	$T_{cr}, ^\circ C$
Печень №4	$44,4 \pm 1,9$	$100,5 \pm 4,5$	$80 \pm 3$	$88 \pm 3$

Печень №5	48,5±1,0	100±2	76±3	84±2
Печень №6	39,5±2,1	102±5	74±4	87±4
Печень №7	52,6±2,1	99±2	59±4	96±4
Печень №8	45,2±1,6	105±2	59±3	93±5
Печень №9	52,6±2,0	101±1	79±1	89±4
Ср. Знач.	48,5±3,8	101±2	71±10	90±4

Из таблицы видно, что новый метод даёт отличные от старого параметры, поскольку старый пользуется недостаточно точным предположением о независимости температурного коэффициента модуля адмиттанса  $\left. \frac{\partial |Y|}{\partial T} \right|_G$  от температуры: её значение в ходе деградации принималось равным значению при комнатной температуре (пунктир на Рис. 41). Данная линейная аппроксимация имела бóльшую производную, чем она есть на самом деле в области высоких температур, что завышало модуль обратимой компоненты  $\left. \frac{\partial |Y|}{\partial T} \right|_G \frac{dT}{dt}$ . (Рис. 44), чем, в свою очередь, занижался вклад необратимой компоненты.

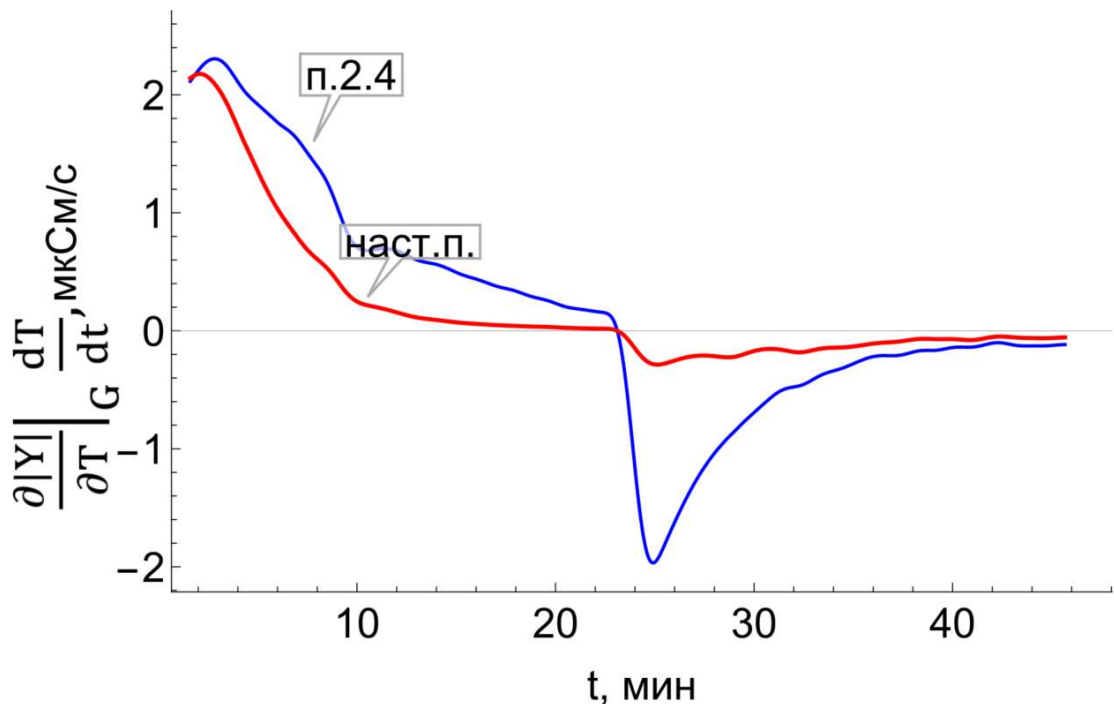


Рис. 44. Зависимость обратимой компоненты  $\left. \frac{\partial |Y|}{\partial T} \right|_G \frac{dT}{dt}$  от времени образца Печени №5 для 2 методов обработки.

Это подтверждается и приведенными экспериментальными данными для проводимости печени в [27], где нелинейность при высоких температурах присутствует даже на более высоких частотах области  $\gamma$ -дисперсии, которая чувствительна в основном к поляризации воды. Кроме того, проводимость ионов  $K^+$ ,  $Na^+$  и  $Cl^-$ , определяющих общую проводимость, проявляет всё

более выраженную нелинейность по мере роста температуры [83]. Завышенное значение  $\mu_L$  в формуле (53) из-за линейной аппроксимации в высокотемпературной области привело к искусственному замедлению спада  $G(t)$  от времени и завышению «порога» реакции  $E_a$ . Таким образом, были получены более низкие значения  $T_{cr}$  и более высокие значения  $\ln A$ .

Параметры кинетики деградации Аррениуса, полученные для печени модуляционным методом (см. Таб. 11) – при пересчёте  $T_{cr} = \frac{E_a}{R \ln(A)}$  в энергию активации  $E_a$  [J · mol<sup>-1</sup>] – удовлетворяют существующей линейной зависимости между  $E_a$  и  $\ln(A)$  [56], а также близки к полученным значениям для свиной печени в работе [29] ( $T_{cr} = 115$  °C,  $\ln(A) = 49 \ln(s^{-1})$ ). Экспериментально полученные значения данных параметров в литературе имеют широкий разброс даже в рамках одной методики измерения. Так, диапазоны значений параметров для свиной печени в работе [84], полученные при изотермическом разогреве образца для разных фиксированных температур водяной бани, составляют  $T_{cr} = 79.1 \div 87.3$  °C,  $\ln(A) = 34.5 \div 52.3 \ln(s^{-1})$ ). Причём наиболее близкие значения, как и наилучшая точность линейной аппроксимации зависимости от  $\frac{1}{T}$ , наблюдаются для группы экспериментов с минимальной температурой 50°C ( $T_{cr} = 86.5$  °C,  $\ln(A) = 45.1 \ln(s^{-1})$ ). На бóльших температурах различие с нашими данными и ошибка аппроксимации растёт, что должно быть обусловлено неоднородной деградацией по объёму. Характер обратимой температурной зависимости коэффициента рассеяния, который в упомянутой работе является маркером деградации, не описан.

### 3.4. Исследование однородности разогрева

Модуляция мощности разогрева может привести к существенному росту неоднородности температуры образца, что в свою очередь может привести к росту ошибок в определении параметров деградации (параграф 2.5).

В данном параграфе было проведено численное исследование неоднородности распределения температуры для образца толщиной  $d = 3$  мм в ходе его разогрева от  $T_0 = 24$ °C модуляционным образом на частоте  $f=0,1$  Гц для 2 способов разогрева: воздухом и оптическим излучением с коэффициентом теплообмена  $h=10$  Вт/(м<sup>2</sup>·К). Источник тепла в конвективном способе задавался через граничные условия Ньютона-Рихмана (36) в виде меандра, осциллирующего между уровнями 20°C и 100°C, в оптическом способе – полагался равномерно

распределённым с интенсивностью  $I_0 = 10^{3,1}$  Вт/м<sup>2</sup>. Параметры ткани использовались те же, что перечислены в таблице 10. Были получены следующие зависимости для:

- а) удвоенной амплитуды колебания за период  $2\pi/\omega_{mod}$  для усредненной по длине образца температуры  $\langle T \rangle_z$ :  $\Delta T = \langle T(z, t) \rangle_z|_{max} - \langle T(z, t) \rangle_z|_{min}$
- б) средней дисперсии  $\Omega$  температурного распределения на длине образца  $d$ , усредненные за период модуляции  $\frac{2\pi}{\omega_{mod}}$ :

$$\Omega = \left\langle \sqrt{\frac{1}{d} \int_d (T - \langle T \rangle)^2 dV} \right\rangle_t \quad (72)$$

- в) Неоднородность модуляционного нагрева за период характеризуется отношением  $\epsilon_m$  двух последних величин, где числитель  $\Omega$  является мерой неравномерности распределения температуры по длине образца, а знаменатель  $\Delta T$  – мерой удвоенной амплитуды среднего нагрева образца за период.

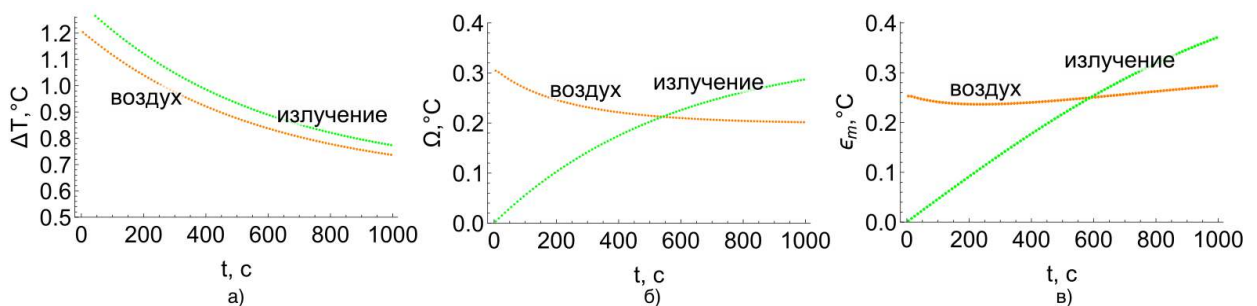


Рис. 45. а) Удвоенная амплитуда  $\Delta T$  колебаний средней температуры по периодам б) Средняя дисперсия  $\Omega$  за период в) отношение  $\epsilon_m$  при  $\omega_{mod} = 2\pi \cdot 0,1$  рад/с и  $d = 3$  мм.

Видно, что зависимости  $\Delta T$  сопоставимы. При этом  $\Omega$  и соответственно  $\epsilon_m$  для оптического метода разогрева значительно меньше на начальном этапе и сравнивается с разогревом с помощью воздуха только спустя 9 минут. Величина  $\epsilon_m$  определяет ошибку при восстановлении модуляционной составляющей температуры. Наличие промежутка времени, в течении которого наблюдается низкая неоднородность температуры в образце в случае оптического излучения, делает его перспективным для проведения модуляционного разогрева.

На следующем этапе было проведено численное параметрическое исследование влияния частоты модуляции  $\omega_{mod} = 2\pi \cdot 1 \div 2\pi \cdot 100$  рад/с и толщины образца  $d = 1 \div 10$  мм на однородность нагрева для трех способов нагрева:

- Нагрев модулированным оптическим излучением с интенсивностью  $I_0 = 10^{3,1}$  Вт/м<sup>2</sup>, равномерно освещающим обе поверхности. Данная интенсивность соответствовала использованной в ходе измерения образца Печень №5 в настоящей главе.
- Конвективный нагрев воздухом с модулированной температурой, заданный граничными условиями Ньютона-Рихмана с коэффициентом теплоотдачи  $h = 10$  Вт/(м<sup>2</sup>·К).
- Конвективный нагрев водой, аналогично воздуху, но с коэффициентом теплоотдачи  $h = 10^3$  Вт/(м<sup>2</sup>·К).

В таблице 12 приведены данные для граничных условий Ньютона-Рихмана (36) и источники тепла в поставленных задачах.

Таб. 12. Данные для граничных условий Ньютона-Рихмана и источники тепла для разных способов нагрева.

	Излучение	Воздух	Вода
$Q$	$I_0/2 (e^{-z/D_L} + e^{-(d-z)/D_L}) \times$ $(1 + e^{i\omega_{mod}t})$ $I_0 = 10^{3,1}$ Вт/м <sup>2</sup>	0	0
$T_{heat}$	24°C	$T_{out} + T_0 e^{i\omega_{mod}t}$ , где $T_{out} = 78$ °C	$T_{out} + T_0 e^{i\omega_{mod}t}$ , где $T_{out} = 78$ °C
$h$	10 Вт/(м <sup>2</sup> ·К)	10 Вт/(м <sup>2</sup> ·К)	$10^3$ Вт/(м <sup>2</sup> ·К)

Уравнение (34) решалось методом Фурье после выхода средней температуры образца на стационар. Решение ищется в виде  $T(z, t) = T_{mean}(z) + T_a(z) e^{i\omega_{mod}t + \phi(z)}$ .

Значение амплитуды модуляции  $T_0$  для фиксированных  $\omega_{mod}$  и  $d$  подбиралось таким образом, чтобы максимальная амплитуда нагрева за один период в случае оптического и конвективного способа совпадали.

На Рис. 47(а) представлены распределение модуляционной составляющей температуры по координате для случая модуляционного разогрева излучением при  $\omega_{mod} = 2\pi \cdot 0,1$  рад/с и  $d = 3$  мм в несколько моментов времени  $t = 6, 7, 8, 9$  с.

На Рис. 47(б) представлена зависимость усредненной по длине образца температуры  $\langle T \rangle_z$  от времени для этого же случая.

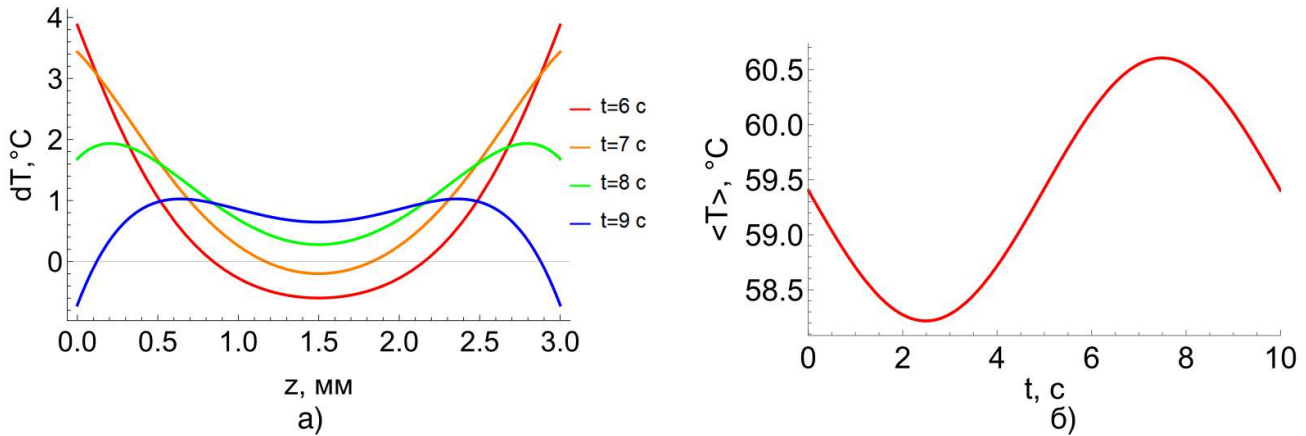


Рис. 46. а) Распределение температуры по координате б) зависимость  $\langle T \rangle_z$  от времени для случая модуляционного разогрева излучением при  $\omega_{mod} = 2\pi \cdot 0,1\text{ рад/с}$  и  $d = 3\text{ мм}$ .

На Рис. 47 представлены контурные диаграммы удвоенной амплитуды  $\Delta T$ .

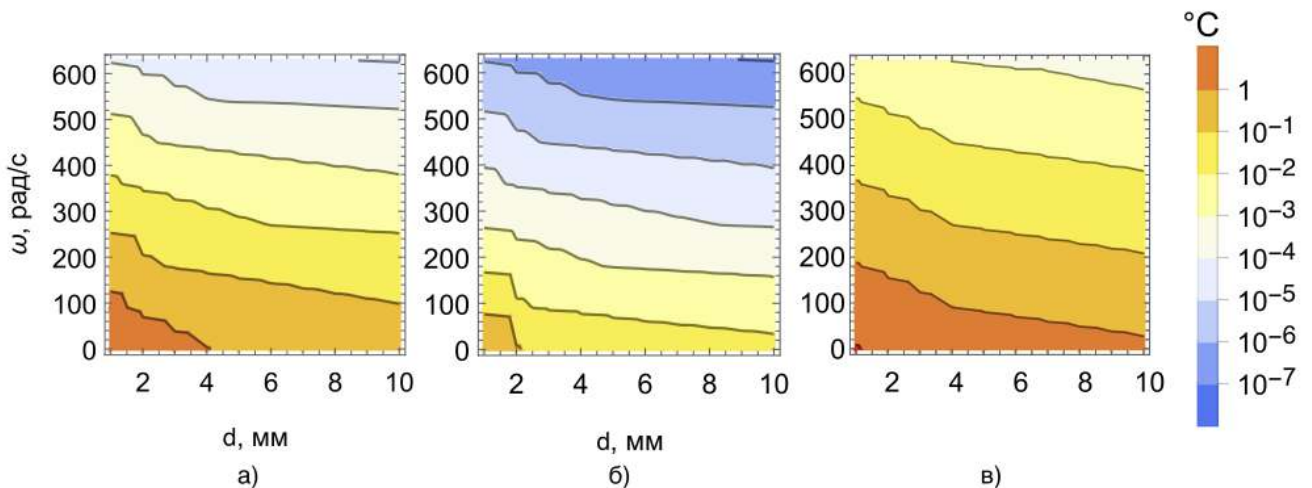


Рис. 47. Величина максимальной разницы температуры, усредненной по пространству, за период модуляции при: конвективном разогреве воздухом (а), водой (б), и оптическом разогреве (в).

Видно, что для бóльшей амплитуды температурной модуляции необходимо использовать меньшие частоты и образцы меньшей толщины. Это делает модуляционную составляющую в зависимости импеданса от времени более выраженной и снизит ошибку в определении обратимой компоненты в сравнении с бóльшими частотами/толщинами.

На Рис. 48 представлены контурные диаграммы величины дисперсии  $\Omega$ . Видно, что при малых частотах и больших толщинах дисперсия увеличивается. Конвективные методы сопоставимы между собой, нагрев воздухом имеет меньший рост дисперсии в силу меньшего коэффициента теплоотдачи  $h$ .

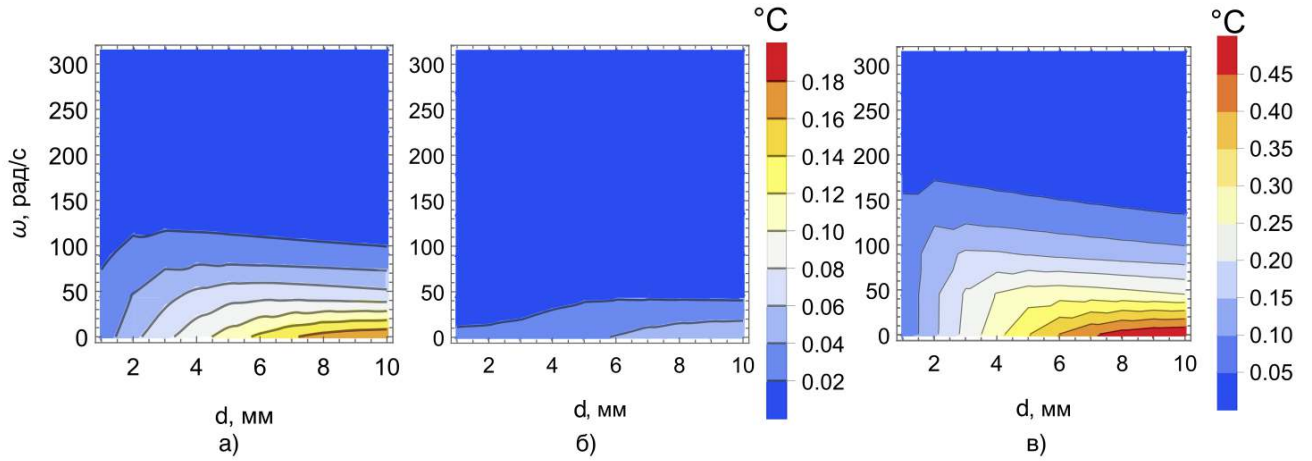


Рис. 48. Величина усредненной за период модуляции дисперсии температурного распределения по длине образца при: конвективном разогреве воздухом (а), водой (б), и оптическом разогреве (в).

Диаграммы для отношения  $\epsilon_m$  приведены на Рис. 49.

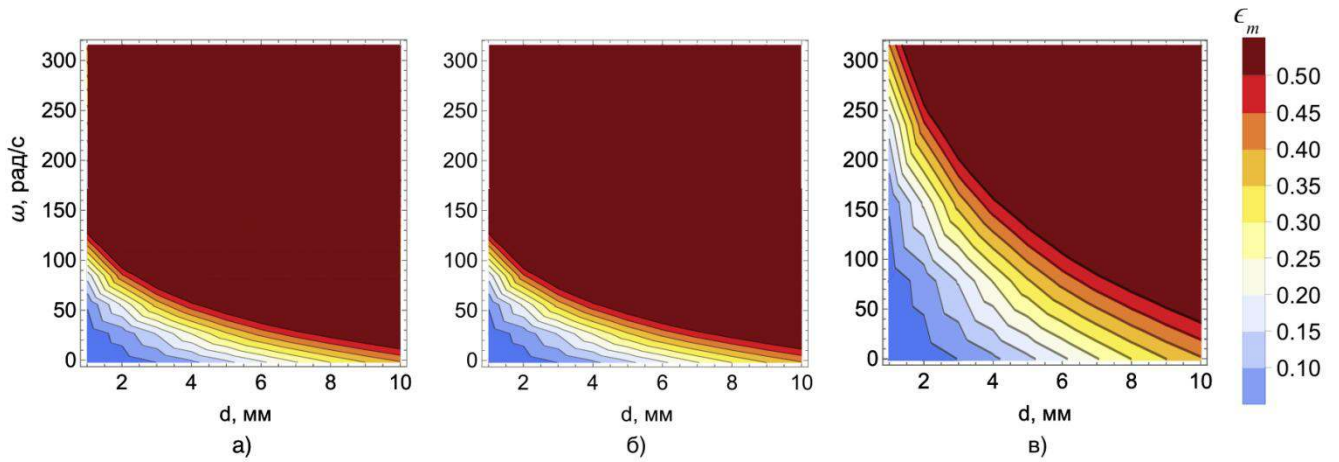


Рис. 49. Величина  $\epsilon_m$  при: конвективном разогреве воздухом (а), водой (б), и оптическом разогреве (в).

Видно, что модуляционный разогрев будет наиболее однородным при малых значениях  $d$  и  $\omega_{\text{mod}}$ . Поскольку рассмотрения задачи происходило после выхода средней температуры образца на стационар, все 3 метода дают сопоставимую неоднородность. Для наших экспериментов из параграфа 2.3:  $\Delta T \sim 1^\circ\text{C}$ , что соотносится с экспериментальными данными после выхода на стационарное среднее значение температуры;  $\Omega < 0,1^\circ\text{C}$ ,  $\epsilon_m < 0,1$  В случае взятия в расчёт самого процесса нагрева неоднородность конвекционных методов ухудшится, о чем свидетельствует Рис. 45.

### 3.5. Проверка точности алгоритма обработки экспериментальных данных

Для проверки точности модели был проведён численный эксперимент.

1) Были сгенерированы данные температуры  $T(t)$  и импеданса  $|Y|(t)$  для образца с заданными свойствами.

Электрические свойства (соответствующие образцу №5):

$$\left. \frac{\partial |Y|}{\partial T} \right|_G (T) = -10^{-8} T^2 + 6 \cdot 10^{-7} T + 3 \cdot 10^{-5}, \quad (73)$$

$$Y_n(T) = 0,005 + \left. \frac{\partial |Y|}{\partial T} \right|_G \frac{T - T_0}{G}, \quad (74)$$

$$Y_d(T) = 0,009 = \text{const.} \quad (75)$$

Параметры деградации:  $T_{cr} = 101 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\ln(A) = 48,5 \ln(c^{-1})$ .

Зависимость температуры от времени была задана как:

$$T(t) = \frac{1}{t^{0,2+1}} \cos(\omega_{mod} t) + \frac{I_0}{h \cdot S} \cdot (1 - e^{-\frac{h}{c \cdot m} t}) + T_0. \quad (76)$$

Здесь  $T_0 = 24 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $h = 10 \text{ Вт}/(\text{м}^2 \cdot \text{К})$ ,  $c = 3617 \text{ Дж}/(\text{кг} \cdot \text{К})$ ,  $\omega_{mod} = 2\pi \cdot 0,1 \text{ рад/с}$ ,  $m = 0,7 \text{ г}$  и  $S = 442 \text{ мм}^2$  взяты для образца №5, а  $I_0 = 0,28 \text{ Вт}/\text{м}^2$  подобрана так, чтобы температура вышла на стационарное значение в  $78^\circ\text{C}$ .

Зависимость модуля импеданса была рассчитана из формулы (63) с учетом заданных  $T(t)$  и свойств образца.

2) Сгенерированные зависимости  $T(t)$  и импеданса  $|Y|(t)$  были обработаны методом, представленным в 3.3.

Были получены параметры  $T_{cr} = 100,8 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\ln(A) = 48,3 \ln(c^{-1})$ , что даёт  $<1\%$  отклонения от заданных значений.

### 3.6 Выводы к главе

Представленное в данной главе развитие метода исследования процессов термической деградации в биологических тканях за счет применения модуляционного разогрева существенно расширяет его возможности, а результаты апробации показывают как повторяемость

извлекаемых параметров, так и соответствие с результатами, опубликованными в мировой литературе.

Метод является прямой аналогией подхода ТМ-ДСК для регистрации электрического адмиттанса: с помощью средней составляющей мы определяем параметры деградации и, в частности, критическую температуру, а модуляционная составляющая даёт нам информацию об изменении температурного коэффициента модуля адмиттанса  $\left. \frac{\partial |Y|}{\partial T} \right|_G$  от времени.

Также ключевой составляющей метода является применение оптического разогрева, обеспечивающего пространственную температурную однородность [59] и позволяющую производить температурную модуляцию во времени, сохраняя эту однородность на начальном этапе разогрева (Рис. 45). Нагрев конвективными способами с самого начала даст бóльшую ошибку в определении модуляционной составляющей температуры. Альтернативным методом нагрева может служить излучение в микроволновом диапазоне с регистрацией сигнала на частоте воздействия, но использование микроволн требует образцов в  $\sim 100$  раз меньшей толщины для достижения той же равномерности нагрева, поскольку в этом диапазоне коэффициент оптического поглощения воды значительно больше.

Другой альтернативой может являться разогрев джоулевым теплом. Однако нелинейность вольт-амперной характеристики при приложении больших токов нагрева может исказить результаты проводимых одновременно с этим измерений электрических свойств. Кроме того, такой разогрев будет неустойчив с точки зрения поддержания его однородности, поскольку при образовании области с большей степенью деградации, а значит, с большей проводимостью, плотность тока в ней увеличится, что вызовет только ускорение деградации в этой области.

Важной частью исследования является использование двух ВБР для детектирования температуры. Как показано в литературе [85], данный метод обладает высокой чувствительностью и точностью, а оптическая прозрачность и малая теплоёмкость и теплопроводность кварцевого волокна исключает как теплоотвод, так и перегрев такого типа датчика при разогреве лазерным излучением. Кроме того, в силу своих диэлектрических свойств, такой датчик практически не подвержен электрическому воздействию и в свою очередь сам не влияет на регистрируемый электрический сигнал, что актуально в нашем случае. Большинство предложенных методик по использованию датчиков температуры на волоконной брэгговской решетке основаны на сдвиге центральной длины волны из-за сдвига температуры. Такой подход требует измерение широкого спектрального диапазона и обработку полученного массива данных для поиска экстремума, что существенно ограничивает максимальную частоту измерения. Наш

подход с применением 2 одинаковых по спектру отражения ВБР и непосредственным измерением проходящей мощности не требует сложной обработки и ограничивает частоту модуляции только скоростью передачи тепла поперек сечения волокна, а также частотой регистрации температуры и импеданса. В нашем случае минимальная частота из перечисленных составляет 10 Гц, что в свою очередь позволяет модулировать температуру с частотой до 1 Гц.

Предложенный метод измерения параметров Аррениуса нацелен на использование для анализа повреждений не только для печени, но и других тканей. Сравнивая с методом из предыдущей главы, а новый даёт на 17% большее значение для  $T_{cr}$  и в 2 раза меньшее значение для  $\ln(A)$ . При этом старый метод содержит недостаточно точную (Рис. 41) экстраполяцию значения  $\left. \frac{\partial |Y|}{\partial T} \right|_g$  для области деградации из областей перед и после неё. Такая недооценка критической температуры в клинических проявлениях может привести к неполной коагуляции и рецидивам. В пользу большего значения  $T_{cr}$  говорит работа [86], где измеренные с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии образцы свиной печени имели максимальную скорость поглощения тепла при температуре  $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## Заключение

Методы термической абляции получили широкое распространение в медицинских применениях, для которых важно планирование лечения с помощью компьютерного моделирования, для которых, в свою очередь, требуется знать наиболее точные значения параметров термической деградации. В данной работе был развит метод измерения параметров термической деградации биологических образцов с разделением обратимых и необратимых процессов, происходящих в ткани в ходе разогрева.

В ходе проведенных исследований были получены следующие основные результаты:

1. Разработан и апробирован радиочастотный метод исследования термической деградации биологических тканей, основанный на однородном объемном нагреве образцов рассеянным оптическим излучением ближнего ИК-диапазона. Метод включает оригинальную методику разогрева, сканирование спектра импеданса, анализ на основе модели Коула-Коула и определение параметров кинетики по формализму Аррениуса.
2. Разработан и реализован модуляционный метод РЧ-импедансометрии, позволяющий в явном виде разделить обратимые (температурные) и необратимые (структурные)

составляющие изменения электрических свойств ткани в ходе её термической деградации. Впервые получена экспериментальная зависимость температурного коэффициента модуля адмиттанса  $\left. \frac{\partial |Y|}{\partial T} \right|_G$  в области активного протекания процесса деградации, показавшая его непостоянство и монотонное уменьшение с ростом температуры более чем в 4 раза.

3. Методами математического моделирования доказано, что пространственная неоднородность распределения температуры существенно влияет на точность восстановления параметров Аррениуса. Показано преимущество оптического объемного разогрева перед конвективными методами, основанными на нагреве через поверхность образца.
4. На основе модуляционного метода получены уточненные параметры кинетики деградации ткани куриной печени по Аррениусу:  $\ln A = 48,5 \pm 3,8 \ln(c^{-1})$ ,  $T_{cr} = 101 \pm 2$  °С. Сравнение с немодуляционным методом обработки (с экстраполяцией температурной зависимости) показало, что пренебрежение изменением температурного коэффициента проводимости приводит к систематическому занижению  $T_{cr}$  и завышению  $\ln A$ .

Данные результаты представляют интерес для сфер медицины, связанных с применением термической абляции. Предложенная методика позволяет получить параметры деградации с большей точностью и применима для исследования других типов кровонасыщенных тканей (мозга, сердца, легких, почек), поскольку они имеют схожие электрические, оптические и термодинамические свойства [27]. Правильное применение методики позволит улучшить предоперационное планирование и, следовательно, добиться лучшего терапевтического результата.

## Список публикаций по теме диссертации

### *Статьи в журналах*

- {1}. Коваленко Н. В. Математическое моделирование электрической проводимости биологических тканей на основе уравнений электродиффузии ионов / Коваленко Н. В., Совин К. В., Рябушкин О. А. //Нелинейный мир. – 2021. – Т. 19. – №. 2. – С. 10-13. **(ВАК, РИНЦ)**

- {2}. Mathematical model of electrical conductivity of biological tissues based on ion electrodiffusion equations / Kovalenko N. V., Sovin K. V., Shamankov N. O., Ryabushkin O. A. //Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing, 2021. – Vol. 1730. – №. 1. – P. 012018. (**Scopus**)
- {3}. Sovin K. Radiofrequency impedance spectroscopy of biological tissues under heating by homogeneous laser radiation / Sovin K., Kovalenko N., Anpilov V., Ryabushkin O. //Biomedical Physics & Engineering Express. – 2022. – Vol. 8. – №. 5. – P. 055013. (**Scopus, WoS**)
- {4}. Kovalenko N. et al. Radiofrequency impedance monitoring of the biological tissues under local heating by optical radiation / Kovalenko N., Sovin K., Malikova T., Smirnov A., Anpilov V., Ryabushkin O. //Journal Of Biophotonics – 2022. - e202200114 (**Scopus, WoS**)
- {5}. Коваленко Н. В. Радиочастотная спектроскопия биологической ткани при локальном воздействии лазерным излучением / Коваленко Н. В., Совин К. В., Рябушкин О. А. //Нелинейный мир. – 2022. – Т. 20. – №. 2. – С. 15-18. (**ВАК, РИНЦ**)
- {6}. Sovin K. Modulation of optical heating during hyperthermia for the separation of reversible and irreversible changes in biological tissues / Sovin K., Kovalenko N., Ryabushkin O. // Journal of Thermal Biology. – 2025. – Vol. 131. – P. 104192. (**Scopus, WoS**)

#### *Публикации в трудах конференций*

- {7}. Совин К. В., Коваленко Н. В., Рябушкин О. А. Радиочастотная импедансная спектроскопия тканей высших растений в процессе лазерного облучения//Труды 63-ой Научной конференции МФТИ. – 2020. – С. 290-292.
- {8}. Коваленко Н. В., Совин К. В., Рябушкин О. А. Математическое моделирование электрической проводимости биологических тканей на основе уравнений электродиффузии ионов//Труды 63-ой Научной конференции МФТИ. – 2020. – С. 279-281.
- {9}. Совин К. В., Коваленко Н. В., Рябушкин О. А. Радиочастотная импедансная спектроскопия биологических тканей в процессе однородного разогрева лазерным излучением//Труды 64-ой Научной конференции МФТИ. – 2021. – С. 294-296.
- {10}. Sovin K. V., Kovalenko N. V., Ryabushkin O. A. Determination of biotissue photodegradation kinetic parameters based on electrical impedance. The 20th International Conference Laser Optics (ICLO). – 2022. – P. 01. (**Scopus**)
- {11}. Совин К.В., Коваленко Н.В., Рябушкин О.А. Двухчастотная импедансометрия состояния биологической ткани при разогреве лазерным излучением //Енисейская фотоника – 2022. – 2022. – С. 157-158. (**РИНЦ**)

- {12}. Sovin K. V., Kovalenko N. V., Anpilov V. S., Ryabushkin O. A. Mathematical simulation of uniform heating of biological tissues by laser radiation, The 21th International Conference Laser Optics (ICLO). – 2024. – P. 526. (**Scopus**)

### Список цитируемой литературы

1. McDermott, S. Radiofrequency Ablation of Liver Tumors / S. McDermott, D. Gervais // *Seminars in Interventional Radiology*. – 2013. – Vol. 30. – № 01. – P. 049-055.
2. Brace, C. L. Radiofrequency and Microwave Ablation of the Liver, Lung, Kidney, and Bone: What Are the Differences? / C. L. Brace // *Current Problems in Diagnostic Radiology*. – 2009. – Vol. 38. – № 3. – P. 135-143.
3. Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue / eds. A. J. Welch, M. J. C. Van Gemert. – Dordrecht : Springer Netherlands, 2011.
4. High-Intensity Focused Ultrasound Therapy: an Overview for Radiologists / Y. Kim, H. Rhim, M. J. Choi [et al.] // *Korean Journal of Radiology*. – 2008. – Vol. 9. – № 4. – P. 291.
5. Long-Term Clinical and Imaging Findings in Patients with Lower Extremity Varicose Veins Treated with Endovenous Laser Treatment: A Follow-Up Study of up to 12 Years / H. Ghanaati, A. H. Jalali, M. Shakiba [et al.] // *International Journal of Vascular Medicine*. – 2024. – Vol. 2024. – P. 1-8.
6. Techniques for Temperature Monitoring of Myocardial Tissue Undergoing Radiofrequency Ablation Treatments: An Overview / M. Zaltieri, C. Massaroni, F. M. Cauti, E. Schena // *Sensors*. – 2021. – Vol. 21. – № 4. – P. 1453.
7. Light and energy-based therapeutics for genitourinary applications: Consensus on protocols and best practices / M. R. Alexiades, C. Iglesias, E. Sokol [et al.] // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 2023. – Vol. 55. – № 5. – P. 444-454.
8. Minimally Invasive Treatment in Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) / L. V. Sciacqua, A. Vanzulli, R. Di Meo [et al.] // *Technology in Cancer Research & Treatment*. – 2023. – Vol. 22. – P. 15330338231155000.
9. Padma, S. Liver tumor ablation: Percutaneous and open approaches / S. Padma, J. B. Martinie, D. A. Iannitti // *Journal of Surgical Oncology*. – 2009. – Vol. 100. – № 8. – P. 619-634.

10. Radiofrequency Ablation and Microwave Ablation in Liver Tumors: An Update / F. Izzo, V. Granata, R. Grassi [et al.] // *The Oncologist*. – 2019. – Vol. 24. – № 10. – P. e990-e1005.
11. Khlopkov, A. D. Comparative study of soft tissue surgery by visible and infrared laser radiation / A. D. Khlopkov, I. D. Samoilov, K. V. Shatilova // *Lasers in Medical Science*. – 2023. – Vol. 38. – № 1. – P. 167.
12. Henriques, F. C. Studies of Thermal Injury: I. The Conduction of Heat to and through Skin and the Temperatures Attained Therein. A Theoretical and an Experimental Investigation / F. C. Henriques, A. R. Moritz // *The American Journal of Pathology*. – 1947. – T. 23. – № 4. – C. 530-549.
13. Pearce, J. Rate Process Analysis of Thermal Damage / J. Pearce, S. Thomsen // *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue* / eds. A. J. Welch, M. J. C. Van Gemert. – Boston, MA : Springer US, 1995. – P. 561-606.
14. Impedance spectroscopy: theory, experiment, and applications. Impedance spectroscopy / E. Barsoukov, J. R. Macdonald ред. – Third edition. – Hoboken, NJ : Wiley, 2018. – 528 p.
15. Electrical Impedance Spectroscopy Reveals Physiological Acclimation in Apple Rootstocks During Recurrent Water Stress Episodes / J. Zhou, S. Wu, J. Chen [et al.] // *Agronomy*. – 2025. – Vol. 15. – № 9. – P. 2068.
16. Application Status and Prospect of Impedance Spectroscopy in Agricultural Product Quality Detection / J. Cheng, P. Yu, Y. Huang [et al.] // *Agriculture*. – 2022. – Vol. 12. – № 10. – P. 1525.
17. Controlling Equilibrium Vitrification Using Electrical Impedance Spectroscopy / E. Alcalá, A. Olmo, P. Pérez [и др.] // *IEEE Sensors Journal*. – 2024. – T. 24. – № 19. – C. 29634-29642.
18. Current Status and Emerging Techniques for Measuring the Dielectric Properties of Biological Tissues / E. Porter, L. Farrugia, P. Prakash [et al.] // *ASME Open Journal of Engineering*. – 2024. – Vol. 3. – P. 031005.
19. Bioelectrical Impedance Spectroscopy for Monitoring Mammalian Cells and Tissues under Different Frequency Domains: A Review / S. Abasi, J. R. Aggas, G. G. Garayar-Leyva [et al.] // *ACS Measurement Science Au*. – 2022. – Vol. 2. – № 6. – P. 495-516.

20. Effects of temperature on electrical impedance of biological tissues: ex-vivo measurements / S. A. Dipa, M. M. Pramanik, M. Rabbani, M. A. Kadir // *Journal of Electrical Bioimpedance*. – 2024. – Vol. 15. – № 1. – P. 116-124.
21. Changes in dielectric properties at 460 kHz of kidney and fat during heating: importance for radio-frequency thermal therapy / M. Pop, A. Molckovsky, L. Chin [et al.] // *Physics in Medicine and Biology*. – 2003. – Vol. 48. – № 15. – P. 2509-2525.
22. Chin, L. Changes in dielectric properties of *ex vivo* bovine liver at 915 MHz during heating / L. Chin, M. Sherar // *Physics in Medicine and Biology*. – 2001. – Vol. 46. – № 1. – P. 197-211.
23. Development of a catheter-based technique for endoluminal radiofrequency sealing of pancreatic duct / E. Ewertowska, A. Andaluz, X. Moll [et al.] // *International Journal of Hyperthermia*. – 2019. – Vol. 36. – № 1. – P. 676-685.
24. Rapid Impedance Spectroscopy for Monitoring Tissue Impedance, Temperature, and Treatment Outcome During Electroporation-Based Therapies / M. F. Lorenzo, S. P. Bhonsle, C. B. Arena, R. V. Davalos // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2021. – T. 68. – № 5. – C. 1536-1546.
25. Real-Time Impedance Monitoring During Electroporation Processes in Vegetal Tissue Using a High-Performance Generator / B. López-Alonso, H. Sarnago, Ó. Lucía [et al.] // *Sensors*. – 2020. – Vol. 20. – № 11. – P. 3158.
26. Real-time monitoring of bioelectrical impedance for minimizing tissue carbonization in microwave ablation of porcine liver / X. Zhang, W. Wei, L. Qian [et al.] // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 30404.
27. Rossmanna, C. Review of Temperature Dependence of Thermal Properties, Dielectric Properties, and Perfusion of Biological Tissues at Hyperthermic and Ablation Temperatures / C. Rossmanna, D. Haemmerich // *Critical Reviews in Biomedical Engineering*. – 2014. – Vol. 42. – № 6. – P. 467-492.
28. McRae, D. A. Changes in electrical impedance of skeletal muscle measured during hyperthermia / D. A. McRae, M. A. Esrick // *International Journal of Hyperthermia*. – 1993. – Vol. 9. – № 2. – P. 247-261.

29. Dielectric properties of RF heated *ex vivo* porcine liver tissue at 480 kHz: measurements and simulations / E. G. Macchi, M. Gallati, G. Braschi, E. Persi // *Journal of Physics D: Applied Physics*. – 2014. – Vol. 47. – № 48. – P. 485401.
30. Седокова, М. Л. Возрастная анатомия и физиология [Текст]: учебное пособие для вузов / М. Л. Седокова, Л. Ф. Казионова, Т. А. Томова; под ред. С. В. Низкодубовой; Федеральное агентство по образованию, ГОУ ВПО ТГПУ. – Изд. 2-е перераб., доп. – Томск : – Издательство ТГПУ, 2009.
31. Optical signatures of radiofrequency ablation in biological tissues / P. Lanka, K. J. Francis, H. Kruit [et al.] // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 6579.
32. Milczarek, A. Effectiveness Evaluation of Use of Various Protein Feeds for Broiler Chicken Feeding / A. Milczarek, M. Osek // *Annals of Animal Science*. – 2019. – Vol. 19. – № 4. – P. 1063-1081.
33. Structure and age-dependent growth of the chicken liver together with liver fat quantification: A comparison between a dual-purpose and a broiler chicken line / Z. Alshamy, K. C. Richardson, G. Harash [et al.] // *PLOS ONE*. – 2019. – Vol. 14. – Structure and age-dependent growth of the chicken liver together with liver fat quantification. – № 12. – P. e0226903.
34. Gabriel, C. The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey / C. Gabriel, S. Gabriel, E. Corthout // *Physics in Medicine and Biology*. – 1996. – Vol. 41. – № 11. – P. 2231-2249.
35. Schwan H. P., Chiabrera A., Nicolini C. (ed.). Interactions between electromagnetic fields and cells. //NATO Scientific Affairs Division [by] Plenum Press. 1985. P. 75–97.
36. Gabriel, S. The dielectric properties of biological tissues: III. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues / S. Gabriel, R. W. Lau, C. Gabriel // *Physics in Medicine and Biology*. – 1996. – Vol. 41. – № 11. – P. 2271-2293.
37. Hurt W. D. Multiterm Debye Dispersion Relations for Permittivity of Muscle / W. D. Hurt // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 1985. – T. BME-32. – № 1. – P. 60-64.
38. Cole K. S. Dispersion and Absorption in Dielectrics I. Alternating Current Characteristics / K. S. Cole, R. H. Cole // *The Journal of Chemical Physics*. – 1941. – Vol. 9. – № 4. – P. 341-351.
39. Freeborn, T. J. A Survey of Fractional-Order Circuit Models for Biology and Biomedicine / T. J. Freeborn // *IEEE Journal on Emerging and Selected Topics in Circuits and Systems*. – 2013. – T. 3. – № 3. – C. 416-424.

40. Nakagawa M., Sorimachi K. Basic characteristics of a fractance device //IEICE Transactions on Fundamentals of Electronics, Communications and Computer Sciences, 1992. Vol. 75(12). P. 1814-1819.
41. Naranjo-Hernández, D. Fundamentals, Recent Advances, and Future Challenges in Bioimpedance Devices for Healthcare Applications / D. Naranjo-Hernández, J. Reina-Tosina, M. Min // Journal of Sensors. – 2019. – Vol. 2019. – P. 1-42.
42. Секушин Н. А. Свойства диффузионных импедансов Варбурга и Геришера в области низких частот //Известия Коми научного центра УРО РАН, 2010. №. 4 (4). С. 22-27.
43. Коняшкин, А.В. Импедансная спектроскопия нелинейно-оптических кристаллов, взаимодействующих с мощным лазерным излучением: специальность 01.04.21 «Лазерная физика»: диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук/ Коняшкин Алексей Викторович; Московский физико-технический институт (государственный университет). – Фрязино, 2010. – 133 с.
44. Orazem, M. E. Electrochemical Impedance Spectroscopy / M. E. Orazem, B. Tribollet. – 1. – Wiley, 2008.
45. Raistrick, I. D. Application of Impedance Spectroscopy to Materials Science / I. D. Raistrick // Annual Review of Materials Science. – 1986. – Vol. 16. – № 1. – P. 343-370.
46. Okada K., Sekino T., Agilent Technologies Impedance Measurement Handbook // Agilent Technologies Co. Ltd, 2003. - 128 p.
47. Cook L.O., “A versatile instrument – the Q meter” // The Notebook (Boonton Radio Corporation, New Jersey), №. 4, 1955.
48. Алоян, Г.А. Радиочастотно-оптическая спектроскопия активных элементов лазерных материалов: магистерский диплом; Московский физико-технический институт (государственный университет). – Фрязино, 2018.
49. Stanford Research Systems. SR865A 4 MHz DSP Lock-In Amplifier. User’s Manual. 2019.
50. Емельянова, Ю. В., Морозова, М. В., Михайловская, З. А., Буянова, Е. С., & Буянова, Е. С. (Ред.). Импедансная спектроскопия: теория и применение: учебное пособие. //Екатеринбург: Издательство Уральского университета. 2017. – 156 с.

51. Бразовский К. С. Методы и технические средства оценки функционального состояния головного мозга человека на основе электрических измерений: диссертация на соискание ученой степени доктора технических наук: специальность 05.11.17 «Приборы, системы и изделия медицинского назначения» / Бразовский Константин Станиславович; Национальный исследовательский Томский политехнический университет (ТПУ). — Томск, 2015.
52. Steiner, R. Laser-Tissue Interactions / R. Steiner // Laser and IPL Technology in Dermatology and Aesthetic Medicine / eds. C. Raulin, S. Karsai. – Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2011. – P. 23-36.
53. Niemz, M. H. Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications. Laser-Tissue Interactions / M. H. Niemz. – Cham : Springer International Publishing, 2019. – URL: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-11917-1> (date accessed: 02.02.2026). – Text : electronic.
54. Nonlinear finite-element analysis of the role of dynamic changes in blood perfusion and optical properties in laser coagulation of tissue / Beop-Min Kim, S. L. Jacques, S. Rastegar [и др.] // IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics. – 1996. – Vol. 2. – № 4. – P. 922-933.
55. The Influence of Dynamic Tissue Properties on HIFU Hyperthermia: A Numerical Simulation Study / Q. Tan, X. Zou, Y. Ding [et al.] // Applied Sciences. – 2018. – Vol. 8. – № 10. – P. 1933.
56. Wright, N. T. On a Relationship Between the Arrhenius Parameters from Thermal Damage Studies / N. T. Wright // Journal of Biomechanical Engineering. – 2003. – Vol. 125. – № 2. – P. 300-304.
57. Ando, Y. Electrical impedance analysis of potato tissues during drying / Y. Ando, K. Mizutani, N. Wakatsuki // Journal of Food Engineering. – 2014. – Vol. 121. – P. 24-31.
58. Measurement of heat injury in plant tissue by using electrical impedance analysis / M. I. N. Zhang, J. H. M. Willison, M. A. Cox, S. A. Hall // Canadian Journal of Botany. – 1993. – Vol. 71. – № 12. – P. 1605-1611.
59. Radiofrequency impedance spectroscopy of biological tissues under heating by homogeneous laser radiation / K. Sovin, N. Kovalenko, V. Anpilov, O. Ryabushkin // Biomedical Physics & Engineering Express. – 2022. – Vol. 8. – № 5. – P. 055013.
60. Mathematical simulation of uniform heating of biological tissues by laser radiation / K. V. Sovin, N. V. Kovalenko, V. S. Anpilov, O. A. Ryabushkin // 2024 International Conference Laser

Optics (ICLO) 2024 International Conference Laser Optics (ICLO). – Saint Petersburg, Russian Federation : IEEE, 2024. – С. 526-526.

61. Jacques, S. L. Optical properties of biological tissues: a review / S. L. Jacques // *Physics in Medicine and Biology*. – 2013. – Т. 58. – № 11. – С. R37-R61.

62. Wilson, B. C. A Monte Carlo model for the absorption and flux distributions of light in tissue / B. C. Wilson, G. Adam // *Medical Physics*. – 1983. – Vol. 10. – № 6. – P. 824-830.

63. Holmes A. D. The hemoglobin content of chicken blood / A. D. Holmes, M. G. Pigott, P. A. Campbell // *Journal of Biological Chemistry*. – 1933. – Vol. 103. – № 2. – P. 657-664.

64. Simple multimodal optical technique for evaluation of free/bound water and dispersion of human liver tissue / I. Carneiro, S. Carvalho, R. Henrique [и др.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2017. – Т. 22. – № 12. – С. 1.

65. FLIR Systems. Thermal Imaging Guidebook for Building and Renewable Energy Applications. 2020.

66. Bardati, F. Modeling the Visibility of Breast Malignancy by a Microwave Radiometer / F. Bardati, S. Iudicello // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2008. – Т. 55. – № 1. – С. 214-221.

67. Magnetic resonance thermometry: Methodology, pitfalls and practical solutions / L. Winter, E. Oberacker, K. Paul [et al.] // *International Journal of Hyperthermia*. – 2016. – Vol. 32. – Magnetic resonance thermometry. – № 1. – P. 63-75.

68. Optical Fiber Temperature Sensors and Their Biomedical Applications / P. Roriz, S. Silva, O. Frazão, S. Novais // *Sensors*. – 2020. – Vol. 20. – № 7. – P. 2113.

69. Fiber Optic Sensors for Temperature Monitoring during Thermal Treatments: An Overview / E. Schena, D. Tosi, P. Saccomandi [et al.] // *Sensors*. – 2016. – Vol. 16. – Fiber Optic Sensors for Temperature Monitoring during Thermal Treatments. – № 7. – P. 1144.

70. Erdogan, T. Fiber grating spectra / T. Erdogan // *Journal of Lightwave Technology*. – 1997. – Т. 15. – № 8. – С. 1277-1294.

71. Сайт компании ООО “МОНСОЛ РУС” статья: «Волоконно-оптические датчики на брэгговских решетках» URL: <https://monsol.ru/primenenie/baza-znaniy/poleznye-stati/statya-1/> (Дата обращения 25.11.25).

72. Волков А.О., Рябушкин О.А., Поволоцкий М.С. Модуляция радиочастотным полем двух поляризаций отражения света от полупроводниковых гетероструктур. // Письма в ЖТФ. - 2001. - №18. - С. 8.
73. Kudrawiec, R. Optical Modulation Spectroscopy / R. Kudrawiec, J. Misiewicz // Semiconductor Research : Springer Series in Materials Science / eds. A. Patane, N. Balkan. – Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2012. – Vol. 150. – P. 95-124.
74. Novel modulation reflectance spectroscopy of semiconductor heterostructures / O. A. Ryabushkin, E. I. Lonskaya, A. E. Sotnikov, M. A. Chernikov // physica status solidi (a). – 2005. – Vol. 202. – № 7. – P. 1282-1291.
75. Reading, M. The Theory of Modulated Temperature Differential Scanning Calorimetry / M. Reading // The Handbook of Differential Scanning Calorimetry. – Elsevier, 2023. – P. 191-219.
76. Syamala, U. S. Calculation of MTDSC signals, factors effecting the signals and applications in drug development / U. S. Syamala // MOJ Bioequivalence & Bioavailability. – 2018. – Т. 5. – № 3. – С. 141-149.
77. Kraftmakher, Y. Modulation calorimetry and related techniques / Y. Kraftmakher // Physics Reports. – 2002. – Vol. 356. – № 1-2. – P. 1-117.
78. Dielectric relaxation in biological systems: physical principles, methods, and applications / ред. V. Raicu, Y. Feldman. – First edition. – Oxford, United Kingdom : Oxford University Press, 2015. – 429 с.
79. Gabriel, S. The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz / S. Gabriel, R. W. Lau, C. Gabriel // Physics in Medicine and Biology. – 1996. – Vol. 41. – № 11. – P. 2251-2269.
80. Effect of frozen-thaw injury on cell membrane and bio-impedance / J. Tang, M. Lu, W. Yin [et al.] // 2020 IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC). – Dubrovnik, Croatia : IEEE, 2020. – P. 1-6.
81. McRae, D. A. Deconvolved electrical impedance spectra track distinct cell morphology changes / D. A. McRae, M. A. Esrick // IEEE Transactions on Biomedical Engineering. – 1996. – Т. 43. – № 6. – С. 607-618.
82. Radiofrequency impedance monitoring of the biological tissues under local heating by optical radiation / N. Kovalenko, K. Sovin, T. Malikova [et al.] // Journal of Biophotonics. – 2022. – Vol. 15. – № 11.

83. Kuyucak, S. Temperature dependence of conductivity in electrolyte solutions and ionic channels of biological membranes / S. Kuyucak, S.-H. Chung // *Biophysical Chemistry*. – 1994. – Vol. 52. – № 1. – P. 15-24.
84. Feasibility study of modeling liver thermal damage using minimally invasive optical method adequate for in situ measurement / J. Zhao, Q. Zhao, Y. Jiang [et al.] // *Journal of Biophotonics*. – 2018. – Vol. 11. – № 6. – P. e201700302.
85. Macheso, P. S. Modelling and analysis of fiber Bragg grating temperature sensor for Internet of things applications (FBG-4-IoT) / P. S. Macheso, M. Zekriti // *International Journal of Intelligent Networks*. – 2024. – Vol. 5. – P. 224-230.
86. Temperature control and intermittent time-set protocol optimization for minimizing tissue carbonization in microwave ablation / X. Jin, Y. Feng, R. Zhu [et al.] // *International Journal of Hyperthermia*. – 2022. – Vol. 39. – № 1. – P. 868-879.

### Благодарности

Автор выражает благодарность лаборатории №228 исследований материалов для квантовой электроники ФИРЭ РАН и компании ООО «ВПГ Лазеруан» (бывш. ООО «ИРЭ-Полнос») за предоставленную возможность провести данную работу с использованием обширной приборной и компонентной базы высокого уровня. Своему научному руководителю Коваленко Никите Валерьевиче за помощь в создании экспериментальной установки, обработке данных и всеобъемлющей поддержке в ходе проведения всей научно-исследовательской работы. Алюану Георгию и Ирине Шебаршиной за предоставленное программное обеспечение. Также хочу выразить благодарность всему преподавательскому составу кафедры фотоники МФТИ (НИУ) и в особенности Рябушкину Олегу Алексеевичу за важные замечания при подготовке работы к защите. Наконец, хочу поблагодарить своих родителей, Совиных Владимира Сергеевича и Галину Юрьевну, за неизменную моральную поддержку и веру в меня на протяжении всего периода подготовки диссертации.