

Карпатський національний університет імені Василя Стефаника

Міністерство освіти і науки України

Карпатський національний університет імені Василя Стефаника

Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Приймак Тарас Володимирович

УДК: 537.226 + 621.316.4 + 538.9 + 575 + 577

ДИСЕРТАЦІЯ

**ТРАНСФОРМАЦІЯ ІМПЕДАНСНИХ СПЕКТРІВ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН
ПІД ВПЛИВОМ ДЕСТРУКТИВНИХ ФАКТОРІВ**

105 Прикладна фізика та наноматеріали

10 Природничі науки

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

У роботі представлені результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Т.В. Приймак

Науковий керівник: Гасюк Іван Михайлович, доктор фізико-математичних наук,
професор

Івано-Франківськ – 2025

АНОТАЦІЯ

Приймак Т.В. Трансформація імпедансних спектрів біологічних тканин під впливом деструктивних факторів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація присвячена дослідженню впливу деструктивних чинників на зміни імпедансних спектрів біологічних тканин, пошуку інформативних параметрів і способів інтерпретації графічних даних з метою прогнозування виникнення пошкоджень у досліджуваних біологічних матеріалах та розвитку методологічних засад проведення досліджень.

Обґрунтування актуальності обраної теми дисертаційного дослідження, мета дослідження, основні завдання, наукова новизна і практичне значення роботи висвітлені у вступі.

У першому розділі представлено критичний огляд літературних джерел щодо сучасного стану наукових досліджень процесів руйнування тканин, проаналізовано їх основні різновиди, особливості перебігу, стадії, маркери, що дозволяють розрізняти ці процеси, а також умови та чинники їх виникнення. Також описано загальні електричні властивості тканин, способи їх вивчення, основні компоненти, що визначають електричні властивості біологічних тканин, їхні структурні особливості та просторову організацію відповідно до виконуваних функцій. Розглянуто способи дослідження електричних властивостей тканин (як інтактних, так і пошкоджених), що базуються на методі імпедансної спектроскопії (ІС), їх переваги та недоліки для вивчення відповідних тканин, а також різновиди залежно від особливостей методологічної реалізації та використовуваних матеріалів.

Проаналізовано зміни, що виникають у тканині під впливом руйнівних чинників і відображаються на її електричних параметрах, розглянуто поняття клітинної деполяризації, описано особливості актуальних електричних моделей та їх параметрів, які використовують для дослідження реакції тканин на пошкодження і опису відповідних процесів.

У другому розділі представлено фізичні основи та технологію вимірювань методом імпедансної спектроскопії, переваги й недоліки методу, сфери його застосування, описано поняття комплексного імпедансу, проаналізовано фізичний зміст використовуваних параметрів. Наведено та охарактеризовано способи графічної інтерпретації результатів імпедансної спектроскопії, зокрема діаграми Найквіста та електричні еквівалентні схеми, їх структуру та принципи побудови. Також висвітлено мету вивчення особливостей дисперсії електричних параметрів тканин та її α -, β - та γ - областей. Окрім цього, описано дизайн експерименту, особливості проведення вимірювань методом імпедансної спектроскопії, умови зберігання досліджуваних тканин, методи їх оброблення, спектр обраних частот для дослідження, а також структуру і матеріали, використані для розроблених вимірювальних комірок.

Третій розділ присвячено результатам, отриманим з імпедансної спектроскопії на інтактних та експериментально модифікованих тканинах різних органів, аналізу отриманих діаграм Найквіста та структури відповідних електричних еквівалентних схем. У розділі представлено результати експериментальних досліджень структури інтактних біологічних тканин методом ІС, а також тканин під впливом деструктивних чинників і відповідні способи інтерпретації отриманих даних.

На основі аналізу даних імпедансної спектроскопії показано чітку відмінність між спектрами інтактних зразків печінки, нирок, мозку, легень та серця відповідно до їх морфологічних особливостей. У результаті із застосуванням програмного забезпечення ZView розроблено відповідні еквівалентні схеми для кожного з досліджуваних органів. Структура кожної з них представлена багатоелементною схемою, що складається з CPE–R-ланок. Також наведено результати впливу деструктивних чинників на досліджувані зразки, проаналізовано отримані імпедансні спектри та побудовано відповідні трансформовані електричні схеми, здійснено аналіз змін їх параметрів, зокрема активних опорів (R-елементи) та CPE з ємнісними властивостями (CPE-T).

Проведено визначення впливу поступової деградації зразків під дією температур у діапазоні 0–60 °C на імпедансні спектри та розроблено відповідні схеми, які демонструють втрату окремих ланок при досягненні температури незворотної денатурації мембранних білкових компонентів. Представлено результати зміни параметрів електричних схем у міру підвищення температури.

Проведено експерименти з визначення наслідків витримування експериментальних зразків під впливом температури протягом заданих часових інтервалів. Представлені результати демонструють чітку взаємозалежність спектрів від значення температури та тривалості її впливу. Методом оптичної мікроскопії встановлено ступінь руйнування зразків, що призводив до втрати ланок відповідних електричних еквівалентних схем. Проведено аналіз параметричних змін схем і показано залежність динаміки зміни опорів від температури.

З метою встановлення особливостей перенесення зарядів в електролітній підсистемі тканин за різних ступенів структурної деградації здійснено аналіз частотної дисперсії комплексних електричних параметрів тканин печінки під впливом температури. Спостерігалася тенденція до зростання провідності зі збільшенням температури та тривалості витримування експериментальних зразків. Показано, що підвищення температури та часу витримування тканин зумовлює збільшення тангенса кута втрат та супроводжується зменшенням значень резонансної частоти вимірювального сигналу.

Методом імпедансної спектроскопії досліджено взаємозв'язок геометричних розмірів використовуваних зразків зі значеннями комплексного опору. Показано, що збільшення розміру досліджуваної тканини призводить до знемонотонної зміни компонент електричного опору та ємнісних характеристик еквівалентної схеми.

Описано вплив експериментальних умов на спектроскопію електричного імпедансу біологічних тканин, зокрема на аналіз екстремумів дисперсійної кривої, що розглядається як універсальний індикатор стану тканини. Такий підхід дозволяє виявляти структурні зміни та фазові переходи, які можуть бути критичними для діагностичних цілей.

Оцінено вплив температури, розташування електродів і морфологічних особливостей тканин на імпедансний спектр. Результати демонструють, що екстремуми дисперсійної кривої, визначені дивергенціюванням дисперсних кривих провідності, є чутливими до змін у мікроструктурі біологічних об'єктів, що робить їх ефективними для моніторингу фізіологічного стану тканин та виявлення патологічних процесів на ранніх стадіях. Дослідження показало, що зміни в імпедансному спектрі можуть слугувати індикаторами динамічних процесів у тканинах, підвищуючи точність діагностики в реальному часі.

Для реалізації наступного етапу досліджень проведено аналіз спектрів провідності тканин печінки з різними геометричними параметрами до та після дії деструктивних чинників. Розраховано першу та другу похідні провідності, що виявили стабільні частотні екстремуми, пов'язані зі структурною організацією тканини. Показано, що положення максимумів зміщується залежно від розміру зразка та структурних змін, тоді як мінімум у ділянці ~ 1 Гц залишається стабільним і може розглядатися як маркер переходу між провідними режимами. Зміна або згладжування цих характеристик дозволяє оцінювати ступінь пошкодження тканини та робить підхід потенційно придатним для структурно-чутливої діагностики.

Четвертий розділ присвячено аналізу отриманих результатів та обговоренню потенційних можливостей розвитку нових напрямів подальших досліджень із використанням методу ІС.

Ключові слова: імпедансна спектроскопія, біологічні тканини, тангенс кута втрат, комплексний опір, резонансна частота, провідність на змінному струмі, діаграма Найквіста, метод Коула-Коула, оптична мікроскопія, температура, некроз, оксидативний стрес.

SUMMARY

Priymak T.V. Transformation of Impedance Spectra of Biological Tissues under the Influence of Destructive Factors – Qualifying Scientific Work on the Rights of Manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 10 Natural Sciences, specialty 105 Applied Physics and Nanomaterials. – Vasyl Stefanyk Carpathian National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Ivano-Frankivsk, 2025.

This dissertation is dedicated to studying the influence of destructive factors on changes in the impedance spectra of biological tissues, the search for necessary parameters and methods of data interpretation to predict the onset of damage in biological materials used and the development of the methodological component of research.

The justification of the relevance of the chosen topic, the aim of the research, main tasks, scientific novelty, and practical value of the work are highlighted in the introduction.

Chapter 1 presents a critical review of the literature on the current state of scientific research on tissue destruction processes, analyzing their main types, features, stages, and markers that differentiate them, as well as conditions and factors contributing to their onset. The general electrical properties of tissues, methods of their study, key components determining the electrical properties of biological tissues, their structural features, and organization according to their functions are also described. Methods of studying the electrical properties of both intact and damaged tissues are discussed, including impedance spectroscopy (IS), their advantages and disadvantages for the studied tissues, and their types depending on the methodological components and materials used. Furthermore, changes occurring in tissues under the influence of destructive factors that affect their electrical properties are analyzed, including the concept of cellular depolarization, and the peculiarities of current models used to study the response of

tissues and their electrical parameters to damage, as well as parameters used to describe these processes.

Chapter 2 presents the physical foundations and technology of measurement using impedance spectroscopy, the advantages and disadvantages of the method, its areas of application, and the concept of complex impedance. The physical meaning of the parameters used, such as the CPE element or constant phase element, is analyzed. Methods of graphical interpretation of impedance spectroscopy results, such as Nyquist plots and electrical equivalent circuits, their structure, and ways of creation are described. The chapter also highlights the purpose of studying the features of the dispersion of electrical parameters of tissues and their regions, particularly α -dispersion, β -dispersion, and γ -dispersion, along with their corresponding frequencies. Additionally, the specifics of conducting impedance spectroscopy, storage conditions of the studied tissues, methods of their preparation, frequency range for study, and the structure and materials used for developing measurement cells are described.

Chapter 3 is devoted to the results of impedance spectroscopy conducted on tissues from various organs, both intact and of varying degrees of damage, and the analysis of the obtained Nyquist plots and corresponding electrical equivalent circuit structures. The chapter presents the results of experimental studies of the structure of intact biological tissues and those affected by destructive factors, using the IS method and corresponding data interpretation techniques.

Based on the analysis of impedance spectroscopy data, clear differences between the spectra of intact liver, kidney, brain, lung, and heart tissues are shown, corresponding to their morphological features. As a result, using the necessary software, Z-view, corresponding equivalent circuits for each organ were developed. The structure consists of a six-element scheme with three CPE-R branches. The chapter also presents the results of destructive factor influence on the studied samples, analyzed impedance spectra, and developed corresponding electrical circuits.

The analysis of parameter changes is also carried out. It is shown that in most cases, changes mainly occur in the resistors (R-elements) and CPE with capacitive properties (CPE-T). The impact of gradual degradation of samples under the influence of

temperature (0-60°C) on impedance spectra is determined, and corresponding circuits are developed, demonstrating the loss of branches when the temperature reaches irreversible denaturation of membrane components of a protein nature. The results of changes in electrical circuit parameters with increasing temperature are presented.

Experiments were conducted to determine the consequences of subjecting experimental samples to temperature influence for specific time periods. The results clearly demonstrate the dependence of spectra on the temperature value and duration of exposure. Using optical microscopy, the degree of sample destruction was determined, which led to the loss of branches in the corresponding electrical equivalent circuits. The analysis of parameter changes in the circuits showed the dependence of resistance dynamics on temperature values.

An attempt was made to analyze the frequency dispersion of complex electrical parameters of liver tissue under the influence of temperature, to establish the peculiarities of charge transfer in its electrolyte subsystem under different degrees of structural degradation. A trend of increased conductivity with rising temperature and exposure time was observed. It was shown that increasing temperature and exposure time leads to a higher tangent loss, but a reduction in resonance frequency.

Impedance spectroscopy was used to study the relationship between the geometric sizes of the samples and the values of complex impedance. It was demonstrated that an increase in the size of the tissue sample can lead to an increase in impedance and capacitive characteristics of the tissue.

The influence of experimental conditions on the impedance spectroscopy of biological tissues was also studied, particularly the analysis of extrema in the second derivative of the dispersion curve, which serves as a universal indicator of tissue state. This approach allows the detection of structural changes and phase transitions that may be critical for diagnostic purposes. The influence of temperature, electrode placement, and morphological characteristics of tissues on the impedance spectrum was evaluated. The results show that extrema in the second derivative of the dispersion curve are sensitive to changes in the microstructure of biological objects, making them effective for monitoring the physiological state of tissues and detecting pathological processes at early

stages. The study demonstrated that changes in the impedance spectrum can serve as indicators of dynamic processes in tissues, improving diagnostic accuracy in real-time.

At the next stage of the study, an analysis of the conductivity spectra of liver tissue samples with varying geometric parameters and under the influence of destructive factors was performed. The first and second derivatives of conductivity were calculated, revealing stable frequency extrema associated with the structural organization of the tissue. It was shown that the positions of the maxima shift depending on the sample size and structural alterations, whereas the minimum in the region of approximately 1 Гц remains stable and may be considered a marker of transition between conductive regimes. The alteration or smoothing of these features enables the assessment of tissue damage and makes the approach potentially suitable for structure-sensitive diagnostics.

Chapter 4 is dedicated to analyzing the obtained results and discussing potential opportunities for developing new research directions using the IS method.

Keywords: impedance spectroscopy, biological tissues, tangent loss, complex impedance, resonance frequency, conductivity under alternating current, Nyquist plot, Cole-Cole method, optical microscopy, temperature, necrosis.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України категорії Б:

1. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Груб'як А. Б. Трансформація спектру електричного імпедансу біологічних тканин під впливом деструктивних факторів / *Наукові нотатки*. 2021. №71. С. 128 – 136.

DOI: <https://doi.org/10.36910/6775.24153966.2021.71.18>.

URL: https://eforum.lntu.edu.ua/index.php/naukovi_notatky/article/view/582

Статті, що індексуються в міжнародних наукометричних базах Scopus або Web of Science:

2 Pryimak, T., Chervinko, D., Voitkiv, H., & Hasyuk, I. Amplitude-Frequency Effect of Mixed Electric Field on Impedance Spectrum Parameters of Biological Tissue. / *Physics and Chemistry of Solid State*. 2024. 25(2), P. 269–277. ISSN: 1729-4428.

DOI: <https://doi.org/10.15330/pcss.25.2.269-277>.

URL: <https://www.scopus.com/pages/publications/85201768119?origin=resultlist>

3 T.V. Pryimak, I.M. Gasyuk, A.V. Grubyak, D.M. Chervinko, Transformation of the electrical impedance spectra of biological tissues under the influence of destructive factors, *Materials Today: Proceedings*, Volume 62, Part 9, 2022, P. 5796-5799.

ISSN 2214-7853.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.02.654>.

URL: <https://www.scopus.com/pages/publications/85128869619?origin=resultlist>

4. Bayliak, M.M., Mosiichuk, N.M., Sorochnytska, O.M., ... Garaschuk, O., Lushchak, V.I. Middle aged turn point in parameters of oxidative stress and glucose catabolism in mouse cerebellum during lifespan: minor effects of every-other-day fasting / *BiogerontologyOpen source preview*. 2021. 22(3). pp. 315–328.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s10522-021-09918-x>

URL: <https://www.scopus.com/pages/publications/85103390286?origin=resultlist>

Статті у наукових виданнях інших країн:

5. Taras Pryimak, Oksana Popadynets, Ivan Gasiuk, & Taras Kotyk. Electrical impedance spectrum transformation of liver tissues under the influence of temperature. / *International Journal of Engineering Research and Applications*. 2021. 11(12), P. 1–11.

DOI: <https://doi.org/10.9790/9622-1112010111>.

URL: <https://www.ijera.com/papers/vol11no12/Ser-1/A1112010111.pdf>

Тези наукових конференцій:

6. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Груб'як А. Б. Деструктивна трансформація параметрів електричної еквівалентної схеми тканин печінки. *Медична фізика* –

сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології : Матеріали міжнар. конф., м. Київ, 27 верес. 2019 р. Київ, 2019. С. 202–205.

URL:<chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://vomfi.knu.ua/wp-content/uploads/2021/09/zbirnik-MF-20200110.pdf>

7. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Попадинець О. Г. Термочасові зміни імпедансних спектрів тканин печінки, отриманих у широкому частотному діапазоні. *Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології* : Матеріали міжнар. конф., м. Київ, 23 верес. 2020 р. Київ, 2020. С. 216–220.

URL: <https://medphys.knu.ua/uk/issue/view/312/317>

8. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Червінко Д. М. Вплив факторів зйомки на спектри електричного імпедансу біологічних тканин. *Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології* : Матеріали міжнар. конф., м. Київ, 9 жовт. 2023 р. Київ, 2023.

URL: <https://medphys.knu.ua/uk/issue/view/312>

9. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Червінко Д. М. Transformation of Frequency Dispersion of Electrical Parameters of Liver Tissues Depending on Storage Temperature. *Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології* : Матеріали міжнародної конференції, Київ, 27 September 2024. Київ. P. 196–205.

DOI: <https://doi.org/10.17721/3041-1491/2024.11>

URL:chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://conference.rb.knu.ua/all_book_2024.pdf

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	14
ВСТУП.....	16
РОЗДІЛ I. СТРУКТУРНО - ЕЛЕКТРОФІЗИЧНІ АСПЕКТИ ДЕГРАДАЦІЇ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН ТА МЕТОДИ ЇХ ДОСЛІДЖЕННЯ	22
1.1 Морфологічні особливості процесів руйнування клітин	22
1.2 Електричні властивості біологічних тканин.....	29
1.2.1. Особливості перенесення електричного заряду біологічній тканині	32
1.2.2 Методи дослідження електричних властивостей біологічних систем	35
1.3 Вплив ступеня пошкодження біологічних тканин на їх електричні параметри	38
РОЗДІЛ II. МЕТОДИКА ТА ФІЗИЧНІ ОСНОВИ ІМПЕДАНСНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН	42
2.1 Фізичні основи та технологія аналізу методом біоелектричного імпедансу .	42
2.2 Методика проведення імпедансної спектроскопії.....	49
2.2.1 Технологія отримання спектрів електричного імпедансу для біологічних тканин	49
2.2.2. Методи інтерпретації імпедансних спектрів біологічних об'єктів.	50
2.2.3 Відтворюваність результатів імпедансних вимірювань біологічних тканин	54
2.3 Методика проведення оптичної мікроскопії	57
РОЗДІЛ III. ОСОБЛИВОСТІ ЗМІНИ КОМПЛЕКСНОГО ОПОРУ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН РІЗНОЇ МОРФОЛОГІЇ ПІД ВПЛИВОМ ДЕСТРУКТИВНИХ ФАКТОРІВ	59
3.1 Особливості імпедансних спектрів зразків біологічних тканин різної морфології	59
3.1.1 Тканини мозку	60
3.1.2. Тканини нирки.....	63
3.1.3. Тканини легень та серця	66
3.1.4 Тканини печінки.....	70

3.2 Термочасовий експеримент	76
3.3 Дисперсія електронних параметрів тканин печінки різного ступеня пошкодження.....	98
3.4 Амплітудно-частотний вплив змішаного електричного поля на параметри імпедансного спектру біологічної тканини	107
3.4.1 Вплив використання інвазивних електродів на параметри імпедансного спектра	115
3.4.2 Вплив параметрів вимірювальної системи та відтворюваності результатів при повторних зйомках імпедансних спектрів.....	129
РОЗДІЛ IV. АНАЛІЗ ЗАКОНОМІРНОСТЕЙ ТРАНСФОРМАЦІЇ ІМПЕДАНСНИХ ПАРАМЕТРІВ ТА ВЕРИФІКАЦІЯ МАРКЕРІВ ДЕСТРУКЦІЇ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН	140
4.1 Порівняльний аналіз імпедансних характеристик біологічних тканин різної морфології.	140
4.2. Температурна деструкція як модель контрольованої трансформації: стадійність змін імпедансних параметрів	141
4.3 Частотна дисперсія, провідність, тангенс кута втрат та резонансна частота як потенційні маркери некротичного руйнування.	144
4.4 Верифікація стабільності моделі та обмеження методу.	148
ВИСНОВКИ	152
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	155
ДОДАТКИ	193
СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ	193
ДОДАТКИ	196

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

Araf-1 - apoptotic protease activating factor 1 (фактор 1, який активує апоптотичної протеази);

Bcl-2 - B-cell lymphoma 2 (лімфома В клітин);

Bak - Bcl2 - antagonist/killer (Bcl2-взаємодіючий антагоніст/кіллер);

Bid - BH3 Interacting Domain Death Agonist (BH3-взаємодіючий агоніст смерті);

Bik - BCL2 interacting killer (Bcl2-взаємодіючий кіллер);

Bad - BCL2 associated death promoter (Bcl2-асоційований промоутер смерті);

DED - Death effector domain (ефекторний домен загибелі);

DISC - death inducing signaling complex (сигнальний комплекс, який індукує загибель);

FADD - Fas-associated death domain (Fas-асоційований домен смерті);

Fas-L - Fibroblaste-assosiated antigene ligand (фібробласт-асоційований антигенний ліганд);

Fas-R - Fibroblaste-assosiated antigene receptor (фібробласт-асоційований антигенний рецептор);

MCP1 - Monocyte chemoattractant protein 1 (білок хемотаксису 1);

RIP – receptor-interacting protein kinase;

TNF-L - Tumor necrosis factor ligand (ліганд фактору некрозу пухлин);

TNF-R1 - Tumor necrosis factor receptor 1 (рецептор 1 фактору некрозу пухлин);

TRADD - TNFR1-associated death domain (TNFR1-асоційований домен смерті);

АТФ – аденозинтрифосфорна кислота;

ВКР – внутрішньо-клітинна рідина;

ЕІС – електрична імпедансна спектроскопія;

ЗКР – зовнішньо-клітинна рідина;

ЗВТ – загальна вага тіла;

МЖ – маса жиру;

ЗОВ – загальний об'єм води;

МВЖ – маса вільного жиру;

ІС – імпедансна спектроскопія;

ПД – потенціал дії.

ВСТУП

Актуальність теми. Потреба досліджень особливостей процесів руйнування біологічних тканин та чинників, що їх спричиняють, зумовлена важливістю збереження структурної цілісності для використання у галузях, де вказані фактори відіграють важливу роль. З метою зменшення рівня інвазивності було запропоновано вивчати функціонування біологічних структур на основі їхніх властивостей, зокрема, електричних. Можливість аналізу морфології біологічних зразків задля визначення їхнього стану реалізована завдяки електричній провідності тканин, що дозволяє отримувати інформацію про їхній функціональний стан у режимі реального часу, визначати наслідки впливу різних факторів, для прикладу температури, виявляти можливі залишки злоякісних утворень, первинні ознаки руйнівних процесів та незворотніх пошкоджень. Збереження структурної цілісності біологічних тканин становить одну із найважливіших цілей у сфері як загальної медицини, так і її окремих сфер, зокрема, трансплантології, діагностики та онкології. Існуючий широкий спектр методів перевірки життєдіяльності живого організму потребує правильного підходу до інтерпретації та аналізу отриманої інформації в силу високого рівня складності організації біологічної тканини.

Імпедансна спектроскопія (ІС) - це метод дослідження структури біологічного матеріалу на основі його електричних властивостей, що дозволяє отримувати необхідну інформацію про його будову та функціональний стан. На відміну від інших діагностичних методів, ІС володіє рядом переваг, серед яких легкість у використанні, мобільність, можливість проведення вимірювань у режимі реального часу, неінвазивність та можливість експериментування на живих об'єктах. І хоча метод ІС має потенціал для неінвазивних досліджень, у даній роботі його застосовували для вивчення закономірностей на *ex vivo* моделях, що є важливим підготовчим етапом для майбутніх *in vivo* досліджень.

Не зважаючи на широке коло сфер, де він застосовується, існують обмеження у його використанні, пов'язані із відсутністю уніфікованого методу інтерпретації

отриманих спектрів, спрямованого на встановлення групи даних для швидкого визначення змін у живій тканині. З цією метою, задля характеристики її актуального стану, необхідним є спростити складну внутрішню тканинну структуру до певної моделі із визначеними параметрами. Будь-яку зміну елементів або їх повноцінну втрату необхідно розцінювати як відповідну зміну внутрішнього середовища досліджуваного зразка.

Слід зазначити, що, незважаючи на технічну складність спростити всю клітинну різноманітність до форми моделі тільки на основі електричних властивостей, є можливість відобразити загальну тканинну масу та навколишні електролітичні розчини у вигляді окремих параметрів, що дозволить відстежувати будь-які види руйнувань, пов'язані із порушенням структурної цілісності. При інтерпретації такої ситуації у вигляді параметричних даних, можна передбачити подібну деградацію на достатньо ранніх етапах, зокрема, задля її попередження. Це буде стосуватись усіх видів впливів, природа яких має механічний, хімічний або температурний характер. Для прикладу, одним із найкращих індикаторів є плазматична мембрана, в силу її відносно великого розміру, конденсаторних властивостей та ліпідно-білкової природи, вона володіє достатньою чутливістю до руйнувань.

Метою дисертаційного дослідження є встановлення фізичних закономірностей трансформації комплексного опору біологічних тканин різної морфології під впливом деструктивних чинників, розроблення структурно обґрунтованих електричних еквівалентних схем та верифікація параметричних і частотних маркерів, придатних для оцінювання ступеня пошкодження та структурної деградації тканин.

У відповідності до поставленої мети сформульовано наступні завдання дослідження:

- відпрацювати методику проведення імпедансної спектроскопії для біологічних тканин;
- отримати імпедансні спектри інтактних органів та сформувати відповідні електричні схеми;

- встановити взаємозв'язок між елементами схеми та клітинними компонентами;
- визначити вплив деструктивних факторів на комплексний опір біологічних тканин для визначення його чутливості до структурних змін;
- встановити особливості трансформації частотної дисперсії електричних параметрів тканин в залежності від температури їхнього зберігання та проаналізувати спектри провідності тканин печінки з різними геометричними параметрами до та після дії деструктивних чинників

Об'єкт дослідження – комплексний електричний опір біологічних тканин як функція частоти зовнішнього електричного поля.

Предмет дослідження – зміни параметрів імпедансних спектрів, частотної дисперсії та структур електричних еквівалентних схем біологічних тканин у процесі їх структурної деградації під дією деструктивних чинників.

Методи дослідження – імпедансна спектроскопія, оптична мікроскопія, метод Коула-Коула, засоби візуалізації та математичної обробки експериментальних даних.

Наукова новизна одержаних результатів:

1. Уперше встановлено закономірності трансформації імпедансних спектрів біологічних тканин різної морфології під впливом деструктивних чинників (температури, часу експозиції, повторних вимірювальних процедур) та показано, що ці трансформації відображаються у зміні структури відповідних електричних еквівалентних схем, зокрема у втраті окремих СРЕ–R-ланок при досягненні температур денатурації мембранних білкових компонентів.
2. Обґрунтовано структуру багатоелементних електричних еквівалентних схем для інтактних тканин різних органів на основі аналізу діаграм Найквіста та встановлено ймовірну відповідність між елементами схеми та структурними компонентами тканини (мембранними, внутрішньо- та позаклітинними підсистемами). Показано, що параметричні зміни R-елементів та СРЕ–T є інформативними індикаторами ступеня структурної деградації.

3. Встановлено температурно-часові закономірності зміни дійсної та уявної складових комплексного опору, що супроводжуються зменшенням опорів і ємнісних параметрів, зростанням тангенса кута втрат та перебудовою частотної дисперсії, що пов'язано з порушенням цілісності мембран та переходом тканини до більш ізотропного стану провідності.

4. Показано, що аналіз першої та другої похідних частотної залежності провідності дозволяє виявляти стабільні частотні екстремуми, пов'язані зі структурною організацією тканини. Встановлено, що мінімум у ділянці ~ 1 Гц є стабільним маркером переходу між провідними режимами, тоді як положення максимумів зміщується залежно від геометричних параметрів зразка та ступеня пошкодження, що відкриває можливість структурно-чутливої діагностики.

5. Виявлено вплив геометричних параметрів зразків на параметри комплексного опору, зокрема встановлено немонотонний характер зміни складових імпедансу та параметрів еквівалентної схеми при збільшенні розмірів тканини, що підтверджує роль просторової організації у формуванні спектра.

6. Показано, що повторюване використання певних частотних режимів (зокрема в області 100 кГц) може спричиняти додаткові структурні зміни мембранних компонентів, що необхідно враховувати при розробці протоколів імпедансних вимірювань біологічних об'єктів.

Оптимізовано методику отримання імпедансних спектрів у лабораторних умовах, розроблено конструкцію вимірювальних комірок та обґрунтовано геометричні параметри зразків, що забезпечують відтворюваність результатів та коректність побудови еквівалентних моделей.

Практичне значення Практичне значення дослідження полягає у розробленні та експериментальному обґрунтуванні підходів до структурно-чутливого аналізу імпедансних спектрів біологічних тканин, що дозволяють оцінювати ступінь їх пошкодження за параметрами електричних еквівалентних схем та характеристиками частотної дисперсії. Оптимізовано методику отримання імпедансних спектрів *ex vivo* із використанням розроблених вимірювальних комірок, що забезпечують відтворюваність результатів та коректність побудови

еквівалентних моделей. Запропоновані структури електричних еквівалентних схем інтактних та пошкоджених тканин можуть бути використані для кількісної оцінки змін їх структурно-функціонального стану в лабораторних дослідженнях. Встановлені частотні маркери (зокрема стабільний мінімум у ділянці ~ 1 Гц та зміщення максимумів похідних провідності) можуть бути використані як індикатори ступеня структурної деградації тканин. Отримані результати щодо впливу температури, часу експозиції, геометричних параметрів зразків та повторних вимірювальних процедур можуть бути враховані при розробленні протоколів імпедансних вимірювань біологічних об'єктів, а також при створенні діагностичних та моніторингових систем на основі імпедансної спектроскопії.

Особистий внесок здобувача полягає у: плануванні та реалізації методів отримання імпедансних спектрів [292, 227, 269]; проведенні аналізу імпедансних спектрів [221]; аналізі та інтерпретації результатів ІС, інтерпретації отриманих результатів [227]; участь у розробці структури еквівалентних схем [227, 269], візуалізації отриманих даних [226, 221, 227], написанні та оформленні публікацій [292, 227, 269, 226].

Апробація матеріалів дисертації. Представлені в дисертаційній роботі результати були оприлюднені та обговорювалися на: VIII Міжнародна конференція "Медична фізика - сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології" (2019); IX Міжнародна конференція «Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології» (2020); X Міжнародна конференція «Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології» (2021); XI Міжнародна конференція «Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології» (2024).

Публікації. Матеріали дисертаційної роботи викладені в 4 наукових публікаціях, зокрема: 3 статті у фахових наукових журналах, які індексуються наукометричною базою Scopus; 1 стаття включена до переліку наукових фахових видань України категорії Б, 1 матеріал конференції у збірнику, який індексується наукометричною базою Scopus; 4 тез міжнародних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Робота складається із вступу, 4-х розділів, висновків, списку використаних літературних джерел та додатку. Дисертація викладена на 220 сторінках, містить 78 рисунків, 9 таблиць і 297 бібліографічних посилань.

РОЗДІЛ I. СТРУКТУРНО - ЕЛЕКТРОФІЗИЧНІ АСПЕКТИ ДЕГРАДАЦІЇ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН ТА МЕТОДИ ЇХ ДОСЛІДЖЕННЯ

1.1 Морфологічні особливості процесів руйнування клітин

Етап клітинного руйнування біологічної тканини розглядають як невід'ємну частину процесу розвитку та дозрівання організму, так і типову реакцію на наявність агресивних зовнішніх або внутрішніх ксенобіотичних чинників або процесів запалення [1, 2]. Концептуально ідея клітинного руйнування була сформована у ХІХ ст. водночас із виникненням клітинної теорії, але морфологічна інтерпретація виникла вже на початку ХХ ст. і принципово сформована внаслідок розвитку біохімії та молекулярної біології [3, 4]. Етап руйнування тканин визначається як сукупність клітинних та деструктивних змін із наступним переходом до посмертних та дегенеративних пошкоджень [6, 7], що проходить через сублетальну (зворотну) фазу [6, 7], досягнення якої передбачає можливість відновлення життєздатності органу.

Першим інформаційним джерелом для розуміння особливостей подібної клітинної діяльності відзначають організм нематоди *Caenorhabditis elegans*, яка є типовим об'єктом для їхнього вивчення [8, 9]. Прийнято виділяти певні структурні елементи клітини, які є безпосередніми “цілями” процесу руйнування, що пов'язано із їхньою функціональною важливістю: мітохондрії, плазматичну мембрану, лізосоми та ендоплазматичний ретикулум [6, 10]. Також виділяють групу морфологічних критеріїв деструкції у ядрі, зокрема, конденсацію ядерного хроматину та фрагментацію ДНК. Вони частково стали основою для створення концепції “апоптозу - генетично запрограмованого процес, для оралізації низки важливих функцій очищення організму від “старих” або “бракованих” клітин, визначення форми організму та його частин, забезпечення правильного співвідношення клітин різних типів. Підвищена апоптотична активність спостерігається при аутоімунних та нейродегенеративних захворюваннях [12], а

низьку апоптотичну активність фіксують у ракових клітинах, що робить активацію цього процесу елементом протиракової терапії [12].

Специфічними для процесу апоптозує відсутність пошкоджень клітинної мембрани; мітохондріальна мембрана теж не піддається руйнуванню, але спостерігається порушення окисно-відновних процесів через блокування роботи її комплексу; формуються апоптозні тільця - везикули із цитоплазмою та органелами, оточені біліпідним шаром, які, в результаті, поглинаються іншими клітинами [13]. Апоптоз опосередкований впливом спеціальних білкових ферментів або каспаз (цистеїн, аспартат специфічних протеаз), які взаємодіють із відповідними адапторними молекулами, що, у свою чергу, активують каспази-кіллери для руйнування клітини [14].

За наявності специфічних каспазних інгібіторів клітина демонструватиме ознаки апоптотичного руйнування навіть без вказаної ферментативної активності, при цьому такий тип клітинного руйнування супроводжується некротичними ознаками [15, 16-18].

Білки родини Bcl-2 містять у своїй структурі консервативні BH-домени (Bcl-2 homology domains), які забезпечують їхню гомо- та гетеродимерну взаємодію та регуляцію проникності зовнішньої мембрани мітохондрій. Баланс між проапоптотичними (Bax, Bak та ін.) і антиапоптотичними представниками цієї родини визначає вивільнення цитохрому c у цитозоль [14, 17].

Цитохром c у цитоплазмі зв'язується з адапторним білком Apaf-1 (apoptotic protease activating factor-1), що індукує його олігомеризацію. У присутності АТФ або dATP формується багатобілковий комплекс — апоптосома, до складу якого рекрутується прокаспаза-9 [18]. У межах апоптосоми відбувається автокаталітична активація каспази-9, яка, у свою чергу, активує ефекторні каспази, зокрема каспазу-3.

Активована каспаза-3 ініціює протеолітичний каскад, спрямований на деградацію структурних білків цитоскелету, ядерних білків та інших клітинних компонентів, що зумовлює морфологічні та біохімічні прояви апоптозу [17].

З електрофізичної точки зору активація мітохондріального шляху апоптозу супроводжується поступовими змінами бар'єрної функції плазматичної мембрани, перебудовою ліпідного бішару та порушенням іонного гомеостазу. На ранніх стадіях зберігається цілісність мембрани, однак змінюється її ємнісна складова внаслідок ремоделювання фосfolіпідного шару та експозиції фосфатидилсерину на зовнішній поверхні. На пізніх стадіях або у разі переходу до вторинного некрозу відбувається втрата селективної проникності, що призводить до вирівнювання іонних градієнтів між внутрішньо- та позаклітинним середовищем. Такі процеси безпосередньо впливають на частотну дисперсію комплексного опору тканини, зміну ємнісних параметрів та трансформацію відповідних електричних еквівалентних схем, що створює підґрунтя для використання імпедансної спектроскопії як методу верифікації ступеня клітинної деструкції.

Враховуючи запрограмованість апоптозу, є сформовані умови та ознаки для розпізнавання зруйнованих клітин, зокрема відповідальним за це називають процес фагоцитозу, який ініціюється макрофагами [17-19]. Апоптотичні клітини починають виділяти специфічний атрактант - білок MCP-1, який зв'язується із клітинами імунної системи та сприяє їхній міграції до місця загибелі. Крім цього, розпізнаванню сприяють специфічні клітинні маркери, зокрема, порушення фосfolіпідного балансу плазматичної мембрани. У цьому випадку починає діяти специфічний фермент скрамблаза, який транспортує негативно заряджений фосфатидилсерин, який викликає активацію специфічних рецепторів на поверхні макрофагів та фагоцитів і, за нормальних умов, перебуває на внутрішній стороні мембрани, як і всі негативно заряджені фосfolіпіди [17, 18].

Приховані при нормальних умовах вуглеводневі компоненти - галактоза, α -D-маноза, - експресуються на поверхні клітини та взаємодіють із специфічними лектиновими рецепторами клітин імунної системи, які здатні зв'язувати вуглеводневі компоненти мембрани [17, 18]. Процес зв'язування сприяє виникненню сигналу, який спричиняє наступну стадію поглинання та знищення апоптотичних клітин за допомогою спеціальних рецепторів з широкою лігандною специфічністю та Toll-рецепторів, які є всередині макрофагів [18].

Окрім апоптозу, спостерігають ще низку процесів, які беруть участь в етапі клітинного руйнування, проте відрізняються між собою наслідками, особливостями проходження та періодом виникнення (онкоз та некроз) [20].

Некроз - це “посмертний” процес руйнування, який супроводжується незворотною втратою цілісності клітинних мембран у зв’язку з впливом агресивних чинників, що може проявлятися у вигляді запалення та вивільнення факторів, які активують імунну систему. Некрозу передуює процес некробіозу, ранні етапи якого прийнято називати онкозом, який характеризується змінами форми та об’єму клітини, що виникають у межах кількох секунд або хвилин від початку дії агресивного фактору [21]. Поняття «некробіоз» історично використовувалося для опису поступових дегенеративних змін клітини, що передують її загибелі. У сучасній патоморфології некробіоз розглядають як динамічний процес, що може завершуватися некрозом або переходити у зворотну фазу за умови усунення ушкоджувального чинника.

Процес некрозу складається із трьох послідовних стадій:

- Перша стадія - онкоз - вибіркове пошкодження мембрани при нестачі іонів та води, зменшення концентрації АТФ, що супроводжується дезактивацією мембранної Na^+ , K^+ -АТФ-ази з наступним зростанням концентрації Na^+ , Ca^{2+} та Cl^- . Як наслідок, спостерігається інтенсивний притік води, ріст проникності плазматичної мембрани [21- 22].
- Під час другої стадії клітина перетинає точку неповернення при зростанні текучості мембрани та її повноцінному руйнуванні.
- Власне фаза некрозу [22]: формування цитозольних та мембранних пухирів з їх наступним відшаруванням. Крім цього, відбувається розширення ендоплазматичного ретикулуму, комплексу Гольджі [21], конденсація та набухання мітохондрій, зміни у актиновому і тубуліновому компонентах цитоскелету та злиття ядерного хроматину.

У зв’язку із значною тривалістю некрозу, виділяють ще процес патобіозу, який є зворотнім [23]. Розрізняють прямий некроз, спричинений безпосереднім впливом зовнішнього чинника (травматичний, біологічний), та непрямий, що

визначається активністю нервово-ендокринної системи (алергічний, судинний) [23, 24]. До факторів, які можуть спричинити непрямий процес відмирання, також належать: висока температура, процеси замороження та відтавання, токсичні, вогнепальні та електричні ураження, вірусні та бактеріальні інфекції, алергічні реакції, автоімунні захворювання, іонізуюче випромінювання [23].

Некроз характеризується комплексом морфологічних і біохімічних змін, серед яких: розвиток запальної реакції у зоні ураження; конденсація хроматину (пікноз), зморщення ядра з його подальшим фрагментуванням (каріорексис) та розчиненням (каріолізис) внаслідок дії нуклеаз; руйнування плазматичної та внутрішньоклітинних мембран із подальшою денатурацією цитозольних і ядерних білків; порушення кальцієвого гомеостазу та значне підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} , що призводить до активації кальцій-залежних ферментів — ендонуклеаз, фосфоліпаз і протеаз — та зумовлює деградацію ДНК, мембранних структур і компонентів цитоскелету. Некротичний процес також супроводжується мітохондріальною дисфункцією, надмірним утворенням активних форм кисню, зниженням синтезу АТФ і структурними змінами актинового цитоскелету [7, 23].

Кінцевим результатом некротичного процесу є повна втрата структурної цілісності клітини з подальшим розпадом її компонентів та їх елімінацією клітинами імунної системи. Морфологічні ознаки некрозу, які можуть бути виявлені гістологічними методами, як правило, стають чітко вираженими через 6–8 годин після початку ушкодження [23, 24].

Залежно від типу тканини та механізму ушкодження розрізняють декілька форм некрозу.

1. Коагуляційний (сухий) некроз найчастіше спостерігається в паренхіматозних органах (нирки, печінка, надниркові залози, міокард) і характеризується збереженням загальної архітектоніки тканини протягом певного часу за умов денатурації білків та інактивації ферментів. Уражені ділянки зазвичай мають щільну консистенцію та світліший колір. Механізм цього процесу

пов'язаний переважно з ішемією та різким порушенням енергетичного метаболізму, що призводить до денатурації структурних і ферментативних білків. Підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} відіграє додаткову роль, активуючи кальцій-залежні ферменти та посилюючи протеоліз, однак коагуляція білків зумовлена насамперед їх термічною або ішемічною денатурацією, а не безпосередньо дією кальцію.

2. Колікваційний (вологий) некроз характерний для тканин із високим вмістом води та відносно меншою кількістю структурних білків, зокрема для головного мозку. Він супроводжується інтенсивною ферментативною автолізою та лізисом клітин, що призводить до розм'якшення тканини та втрати її архітектоники.

3. Гангренозний некроз - виникає під впливом факторів зовнішнього середовища та може бути ускладнений бактеріальною інфекцією [24].

Некроз активно досліджується при гострих і хронічних захворюваннях печінки. Залежно від поширеності та локалізації ураження виділяють декілька його морфологічних форм [25].

Плямистий (фокальний) некроз характеризується загибеллю окремих груп гепатоцитів, зазвичай у поєднанні з інфільтрацією клітинами імунної системи, переважно лімфоцитами.

Зональний некроз охоплює певні зони печінкового ацинуса; зокрема, центрилобулярний (центральний) некроз часто розвивається внаслідок ішемії або токсичного впливу лікарських препаратів.

Перипортальний (інтерфейсний) некроз локалізується в ділянці портальних трактів і супроводжується запаленням перипортальних гепатоцитів; така форма характерна для хронічних гепатитів.

Злитий (конфлюентний) некроз охоплює значні ділянки печінкової паренхіми та може виникати при вираженому ішемічному ушкодженні або токсичному впливі, зокрема під час протипухлинної терапії.

Масивний некроз характеризується загибеллю значної частини печінкової тканини і спостерігається при тяжкому медикаментозному отруєнні, гострих вірусних інфекціях, а також при автоімунному чи вірусному гепатиті.

З огляду на тривалий період дослідження процесів клітинної загибелі та їх різноманітність, зокрема некрозу й апоптозу, у літературі тривалий час існували спрощені та подекуди суперечливі уявлення щодо їхніх характерних ознак. Зокрема, апоптоз описували як енергозалежний, контрольований і генетично запрограмований процес, що перебігає без розвитку запальної реакції [11], тоді як некроз трактували як пасивну, неконтрольовану форму загибелі, обов'язково пов'язану із запаленням [26]. Також поширеним було твердження, що апоптоз реалізується при незначних ушкодженнях, а некроз — при масивному впливі ушкоджувального чинника [27], і що апоптоз завжди відбувається як координований та передбачуваний механізм клітинної елімінації [28].

Подальші дослідження продемонстрували обмеженість таких уявлень. Некроз не завжди є сукупністю хаотичних та неконтрольованих біохімічних реакцій, а апоптоз — не єдиною регульованою формою клітинної загибелі. Було сформульовано концепцію програмованого некрозу (некроптозу), що виникла на основі експериментів з інгібування каспаз. У таких умовах клітини переходять до альтернативного каспазо-незалежного шляху загибелі, у якому ключову роль відіграють кінази RIPK1 та RIPK3 [29]. Таким чином, некротичні процеси можуть мати чітко регульований характер.

Актуальність вивчення різних форм клітинної загибелі пов'язана з можливістю їх цілеспрямованої модуляції, зокрема для елімінації клітин із тяжкими пошкодженнями ДНК [30] або пухлинних клітин, у яких мутації блокують каспадозалежні механізми апоптозу [13]. Показано, що програмований некроз може активуватися при фармакологічному або генетичному інгібуванні апоптотичного каскаду [31], тоді як активні каспази здатні перешкоджати некроптозу шляхом протеолітичного руйнування його ключових білків [32, 33]. Отже, апоптоз і некроз не є взаємовиключними процесами, а формують взаємопов'язану систему регуляції клітинної долі.

Крім того, встановлено, що окремі морфологічні ознаки, які традиційно вважали специфічними для апоптозу, можуть спостерігатися і при некрозі. Зокрема, конденсація та фрагментація хроматину описані в обох типах загибелі

[34]. Водночас при апоптозі не завжди виявляється класична фрагментація ДНК [35], що свідчить про варіабельність морфологічних проявів і необхідність комплексного підходу до їх інтерпретації.

З огляду на наведене, апоптоз, некроз і програмовані некротичні форми загибелі не можуть розглядатися як повністю ізольовані або взаємовиключні процеси, оскільки вони характеризуються перехресними сигнальними шляхами та частково спільними морфологічними проявами. З електрофізичної точки зору ключовим наслідком цих процесів є зміна структурної організації мембран, порушення іонного гомеостазу та перерозподіл провідних шляхів у тканині. Такі трансформації безпосередньо впливають на ємнісні та резистивні параметри біологічних об'єктів, що відображається у зміні частотної дисперсії комплексного опору. Саме тому аналіз імпедансних характеристик тканин може слугувати інформативним інструментом для оцінювання ступеня та типу клітинної деструкції.

1.2 Електричні властивості біологічних тканин

Необхідність вивчення фізичних властивостей біоматерії існує ще від кінця XIX ст., коли було з'ясовано, що швидкість акумуляції внутрішньо-клітинних структур прямо пропорційна їхній розчинності у ліпідному середовищі [36]. Згодом, у 1925 році, була сформована перша модель плазматичної мембрани, яка складалась із біліпідного шару, оточеного білковою оболонкою [37]. У цьому ж році вперше було виміряно імпеданс суспензії клітин, який дозволив приблизно визначити товщину мембранної оболонки [38].

Загалом біологічні тканини представлені комплексними структурами із великою кількістю компонентів, окремі з яких виявляють широкий спектр електричних властивостей. Наприклад, передача електричного імпульсу по нервовій системі вважається одним із найвідоміших прикладів їх природного використання [39]. Такі сигнали відіграють також значну роль для скорочення м'язів, що забезпечує можливість підтримання стабільного положення тіла та

дихання [40]. З іншого боку, серед додаткових функцій, пов'язаних із проходженням потоку зарядів, виділяють трансформування зовнішніх імпульсів у нервовий сигнал, регуляцію клітинного об'єму та транспорт метаболітів [39].

Враховуючи можливість впливу зовнішнього електричного поля на біологічні об'єкти, встановлено, що дія змінного струму на тканини може викликати як стимуляційні, так і теплові ефекти. У низькочастотному діапазоні (десятки–сотні герц) змінний струм здатний збуджувати нервові та м'язові волокна, причому інтенсивність подразнюючого ефекту визначається порогом чутливості тканини та індивідуальними особливостями організму [41]. Із підвищенням частоти зменшується ефективність деполяризації мембран, а при переході в радіочастотний діапазон (понад ~ 100 кГц) іонні коливання вже не призводять до генерації потенціалів дії, а супроводжуються переважно діелектричними втратами та перетворенням електромагнітної енергії в тепло. Саме тому струми високої частоти (понад 100 кГц) використовуються в діатермії для контрольованого нагрівання глибоко розташованих тканин [41].

Більшість структурних компонентів організму характеризуються наявністю іонної електропровідності. Електричні властивості різних тканин істотно відрізняються залежно від їх водного вмісту, концентрації електролітів та морфологічної організації. Найвищі значення провідності характерні для біологічних рідин (спинномозкова рідина, плазма крові), тоді як тканини з високим вмістом ліпідів або щільною сполучною структурою мають значно більший питомий опір [40]. Найнижчу провідність демонструють роговий шар шкіри, зв'язки, сухожилля та кісткова тканина.

В умовах постійного або низькочастотного струму відмінності електропровідності пояснюються різними електричними властивостями мікроструктурних компонентів. Цитоплазма та міжклітинна рідина є добрими іонними провідниками, тоді як плазматична мембрана характеризується високим електричним опором і виконує функцію тонкого діелектричного бар'єра [42].

Плазматична мембрана складається з фосфоліпідного бішару, у якому гідрофільні полярні голівки орієнтовані до водного середовища (як зовнішнього,

так і внутрішньоклітинного), тоді як гідрофобні вуглеводневі хвости формують внутрішнє діелектричне ядро. Саме цей гідрофобний шар визначає ємнісні властивості мембрани, які можуть бути описані співвідношенням

$$C = \varepsilon_0 \varepsilon_r \frac{S}{d}$$

де d — товщина бішару, а ε_r — його діелектрична проникність.

До складу мембрани входять також холестерин, що регулює її плинність і бар'єрні властивості, та білкові компоненти (інтегральні й периферичні), які забезпечують транспорт іонів, рецепторну функцію та ферментативну активність [43, 44]. Заряджені групи фосфоліпідів і глікопротеїнів, зокрема фосфатні та карбоксильні фрагменти, формують негативний поверхневий заряд мембрани, що визначає електростатичну взаємодію з іонами навколишнього електроліту [45].

Іони (H^+ , Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , HCO_3^- та ін.) можуть адсорбуватися на поверхні мембрани або транспортуватися через неї за допомогою специфічних каналів і насосів. Мембранна провідність визначається переважно активністю білкових транспортних систем, тоді як гідрофобна частина бішару характеризується мінімальною власною провідністю. Поверхневі заряди та іонний склад міжклітинного середовища формують подвійний електричний шар, що суттєво впливає на частотну залежність імпедансу [46, 47].

Подвійний електричний шар виникає внаслідок електростатичної взаємодії між зарядженою поверхнею мембрани та іонами електроліту. Його структура описується моделлю Гельмгольца–Гуї–Чепмена–Стерна і включає компактний (шар Стерна) та дифузний компоненти. У компактному шарі іони частково компенсують поверхневий заряд, тоді як у дифузному шарі їх концентрація змінюється згідно з розподілом Больцмана. Формування цієї структури є результатом конкуренції електростатичних сил (що впорядковують іони) та теплового руху (який сприяє ентропійному розсіюванню) [55–57].

Наявність просторового розмежування провідних середовищ мембраною зумовлює виникнення ємнісного ефекту при прикладанні змінного електричного поля. У результаті клітина поводить себе як електрична система типу «резистор–

конденсатор», що визначає характер частотної дисперсії комплексного опору тканини.

Порівняння електропровідності здорових і патологічних тканин свідчить, що електричні параметри залежать від гістологічного типу, ступеня гідратації та частотного діапазону вимірювань. У ряді випадків пухлинні тканини демонструють підвищену провідність через збільшений вміст води та електролітів, однак існують приклади частотно-залежної або навіть зниженої провідності порівняно зі здоровими тканинами [48–52]. Тому електричний контраст між нормальними й патологічними структурами має розглядатися як параметр, що визначається комплексом морфологічних і біофізичних чинників.

1.2.1. Особливості перенесення електричного заряду біологічній тканині

Процес перенесення заряду в біологічних тканинах має специфічні особливості, зумовлені тим, що основними носіями заряду є іони. Їхній рух через мембрану відбувається відповідно до електрохімічних градієнтів концентрації та електричного потенціалу, що формує трансмембранну різницю потенціалів. У збудливих тканинах зміна проникності мембрани для певних іонів може призводити до виникнення потенціалу дії (ПД) — короткочасного електричного імпульсу, який супроводжується швидкою деполяризацією та реполяризацією мембрани [40, 58]. У стані спокою клітина характеризується наявністю мембранного потенціалу спокою — сталої різниці потенціалів між внутрішньою та зовнішньою поверхнями плазматичної мембрани.

Важливу роль у підтриманні іонних градієнтів відіграє Na^+/K^+ -АТФаза (калієво-натрієвий насос), яка здійснює активний транспорт іонів проти їхніх концентраційних градієнтів із використанням енергії гідролізу АТФ [59]. За один цикл роботи насос виводить три іони Na^+ з клітини та транспортує два іони K^+ всередину, що сприяє підтриманню асиметричного розподілу іонів по обидва боки мембрани. Однак мембранний потенціал формується не лише завдяки активному

транспорту, а й унаслідок вибіркової проникності мембрани для іонів, передусім калію, який дифундує відповідно до свого електрохімічного градієнта.

За відсутності зовнішнього електричного впливу та за стабільних концентрацій іонів у міжклітинному середовищі встановлюється трансмембранний потенціал спокою, який має негативне значення відносно зовнішнього середовища. Його величина залежить від типу тканини та може становити приблизно від -30 мВ до -90 мВ [44, 59]. Підтримання цього потенціалу забезпечується динамічною рівновагою між пасивною іонною дифузією та активними транспортними механізмами.

Завдяки діяльності Na^+/K^+ -АТФази підтримується асиметричний розподіл іонів по обидва боки мембрани, що створює передумови для формування та стабілізації мембранного потенціалу спокою. Низька внутрішньоклітинна концентрація Na^+ та висока концентрація K^+ підтримуються активним транспортом, тоді як наявність великої кількості негативно заряджених макромолекул (білків, фосфатів) у цитоплазмі додатково сприяє встановленню від'ємного потенціалу всередині клітини [60, 43]. Водночас мембранний потенціал є наслідком не лише роботи насоса, а й вибіркової проникності мембрани для окремих іонів.

Ключову роль у стабілізації потенціалу відіграють іони калію. Через калієві канали вони дифундують із клітини відповідно до свого концентраційного градієнта, залишаючи всередині негативно заряджені макромолекули, які не здатні проходити через мембрану. У результаті формується різниця потенціалів, що описується рівновагою між концентраційною та електричною складовими електрохімічного градієнта [61]. Таким чином, мембранний потенціал встановлюється як результат динамічної рівноваги між пасивною дифузією іонів та активним транспортом.

Окрім Na^+/K^+ -АТФази, до систем регуляції іонного балансу належать кальцієві насоси, а також потенціал-залежні натрієві та калієві канали, які забезпечують швидкі зміни проникності мембрани під час збудження [44, 59].

Виникнення потенціалу дії пояснюється швидким і транзиторним збільшенням проникності мембрани для іонів Na^+ внаслідок відкриття потенціал-залежних натрієвих каналів. Це спричинює їхній стрімкий вхід у клітину та деполяризацію мембрани - зменшення абсолютного значення негативного потенціалу аж до наближення до нуля або короткочасного переходу у позитивну область. Надалі натрієві канали інактивуються, тоді як відкриваються потенціал-залежні калієві канали, що зумовлює вихід K^+ із клітини та реполяризацію мембрани з поверненням потенціалу до значень спокою [43, 44]. Отже, динаміка ПД визначається послідовною зміною проникності мембрани для різних іонів.

У встановленні мембранного потенціалу спокою також бере участь хлорид-іон. У деяких тканинах, зокрема у скелетних м'язових волокнах, значна провідність для Cl^- через відповідні канали сприяє стабілізації потенціалу, зменшуючи амплітуду спонтанних деполяризацій [63]. Таким чином, хлоридна провідність виконує регуляторну функцію в підтриманні електрофізіологічної стабільності клітини.

Після виникнення потенціалу дії мембрана тимчасово втрачає здатність до повторного збудження. Період, протягом якого новий ПД не може бути ініційований незалежно від сили подразнення, називається абсолютною рефрактерністю. За ним слідує період відносної рефрактерності, коли збудження можливе лише за умови сильнішого стимулу. Поступово поріг збудливості повертається до вихідного рівня [42, 44].

Передача потенціалу дії між клітинами нервової системи здійснюється через синапси — спеціалізовані контакти між пресинаптичною та постсинаптичною мембранами, розділеними синаптичною щілиною [63, 64]. Залежно від механізму передачі сигналу розрізняють електричні та хімічні синапси. В електричних синапсах передача відбувається безпосереднім потоком іонів через щілинні контакти, тоді як у хімічних — через вивільнення нейромедіатора, який змінює проникність постсинаптичної мембрани [63, 64].

При виникненні електричного синапсу не спостерігають затримки в процесі передачі сигналу. Як правило, він симетричний і однаково добре передає струм в

обидві сторони, хоча є його різновиди, які характерні одно- та двонаправленою провідністю [65, 66].

Оскільки потенціал дії, що приходить по допресинаптичній мембрані, має позитивну полярність, через синаптичні канали в постсинаптичну клітину проникають позитивно заряджені іони. При цьому вони сприяють зсуву потенціалу спокою (ПП) постсинаптичної мембрани, тобто деполяризації, що супроводжується збудливим характером і зумовлює виникнення ЗПСП – збуджуючого постсинаптичного потенціалу [65]. Було продемонстровано, що хімічний синапс має значно більшу ширину щілини (до 50 нм) і створює помітну затримку при передачі сигналу. В щілині відбуваються біохімічні реакції, що призводять до зміни проникності постсинаптичної мембрани і, як наслідок, зміни її потенціалу спокою [65, 66].

Збільшення натрієвої проникності (іноді кальцієвої) викликає деполяризацію постсинаптичної мембрани та генерує ЗПСП. Якщо переважає зростання калієвої чи хлорної проникності, то відбувається гіперполяризація постсинаптичної мембрани та розвивається ГПСП – гальмуючий постсинаптичний потенціал [65]. Початок процесу передачі сигналу через хімічний синапс супроводжується викидом у синаптичну щілину із пресинаптичного закінчення специфічного медіатора. Медіатор безперервно синтезується в тілі аксона і накопичується у його закінченні в області, що прилягає до синапсу [66, 68, 69, 70].

Прикладами медіаторів або нейротрансмітерів, характерних для синапсів у людському організмі, виділяють гамма-аміномасляну кислоту та глутамат [67].

1.2.2 Методи дослідження електричних властивостей біологічних систем

Електричні властивості біологічних тканин проявляються залежно від характеру прикладеної напруги у вигляді активної та пасивної відповіді. Активна відповідь пов'язана з внутрішньою електрогенезною активністю клітин (мембранний потенціал, потенціал дії) та реєструється без прикладання

зовнішнього струму (наприклад, електрокардіографія). Пасивна відповідь виникає при прикладанні зовнішнього змінного електричного поля та визначається комплексним електричним імпедансом тканини [71].

Біологічні тканини характеризуються частотно-залежним комплексним імпедансом $Z(\omega)$, що зумовлено їхньою гетерогенною структурою, наявністю мембранних ємнісних елементів, іонною провідністю міжклітинної рідини та внутрішньоклітинного середовища [72]. Перші дослідження біоімпедансу датуються 1920-ми роками, коли було визначено ємність і опір клітин крові [73, 74]. Подальший розвиток методу електричної імпедансної спектроскопії (EIS) дозволив проводити кількісний аналіз клітинних суспензій, оцінювати адгезію та проліферацію клітин, а також розпізнавати клітинні популяції [74].

Біоімпедансний аналіз (БІА) тіла людини базується на залежності між вимірним імпедансом і загальним вмістом води в організмі. У спрощеній моделі тіло поділяють на п'ять сегментів (дві верхні кінцівки, дві нижні кінцівки та тулуб). Використовують показники маси жиру (МЖ) та безжирової маси (БЖМ), до складу якої входять вода, білки та мінеральні компоненти [77–79]. Жирова тканина характеризується низькою провідністю, тоді як безжирова маса є провідною завдяки вмісту електролітів.

Одночастотний БІА зазвичай виконується при 50 кГц і дозволяє оцінювати загальний об'єм води (ЗОВ). Багаточастотний аналіз дає змогу роздільно оцінювати внутрішньоклітинну рідину (ВКР) та позаклітинну рідину (ПКР), оскільки на низьких частотах струм проходить переважно позаклітинним простором, а на високих — частково проникає через клітинні мембрани [78, 79].

Частотна залежність діелектричних властивостей біологічних тканин описується дисперсійними діапазонами:

- α -дисперсія ($\approx 10^2$ – 10^4 Гц) — пов'язана з іонною дифузією та поляризацією на клітинних поверхнях;
- β -дисперсія ($\approx 10^4$ – 10^7 Гц) — зумовлена мембранною ємністю та міжфазною (Maxwell–Wagner) поляризацією;

- γ -дисперсія ($\approx 10^9$ – 10^{10} Гц) — обумовлена дипольною релаксацією молекул води [85].

δ -дисперсія іноді виділяється в проміжному високочастотному діапазоні та пов'язується з релаксаційними процесами макромолекул.

Для вимірювань імпедансу мінімально необхідні два електроди, однак двоелектродна схема включає внесок поляризаційного імпедансу електрода. Тому у біомедичних дослідженнях переважно застосовують чотириелектродну (тетраполярну) конфігурацію, що дозволяє розділити ланцюги подачі струму та вимірювання напруги і мінімізувати вплив імпедансу контакту [86, 112–114].

Імпеданс системи при вимірюванні клітинних культур визначається сумою імпедансу тканини та імпедансу поляризації електрод–електролітного інтерфейсу. Останній є частотно-залежним і суттєво впливає на результати в низькочастотному діапазоні [105]. При адгезії клітин до електродної поверхні спостерігається зростання імпедансу, що корелює з площею покриття електрода клітинним шаром. При формуванні моношару опір досягає максимуму [102].

Серед методів на основі ЕІС виділяють електричну імпедансну томографію (ЕІТ), у якій струм послідовно подається між парами сусідніх електродів, а потенціали вимірюються на інших парах. Отримані дані використовуються для реконструкції просторового розподілу провідності [115, 116].

У клінічній практиці застосовується імпедансна кардіографія, яка базується на реєстрації змін імпедансу грудної клітки, пов'язаних із варіаціями об'єму крові. Оскільки провідність крові вища за провідність більшості тканин, збільшення її об'єму супроводжується зменшенням вимірюваного опору [126]. Також застосовується електрична імпедансна томографія легень для моніторингу вентиляції, де зміна повітряного наповнення відображається змінами локальної провідності.

Метод ЕІС використовується для дослідження ішемічних процесів мозку, де при розвитку ішемії спостерігається зростання імпедансу, пов'язане зі зменшенням позаклітинного простору [115].

У біомедичних дослідженнях ЕІС застосовується для аналізу життєздатності клітин, оцінки цитотоксичності препаратів, дослідження процесів апоптозу та некрозу, а також для контролю тканинної інженерії [142–145].

У сфері онкодіагностики електричні параметри тканин можуть відрізнятися залежно від гістологічного типу, ступеня гідратації та частотного діапазону. У багатьох випадках пухлинні тканини демонструють підвищену провідність через більший вміст води та електролітів, однак характер змін є частотно-залежним і не універсальним [134].

Методи, що використовують високочастотне електричне поле (діатермія), реалізують тепловий ефект за рахунок діелектричних втрат і дипольної релаксації води. Частотні діапазони варіюють від мегагерцового до гігагерцового, залежно від типу апаратури та клінічного застосування [124].

Таким чином, електричні властивості біологічних тканин є результатом їхньої структурної організації, іонного складу, стану мембран та гідратації, що визначає частотну залежність комплексного імпедансу і створює фізичне підґрунтя для застосування методу електричної імпедансної спектроскопії у фундаментальних та прикладних дослідженнях.

1.3 Вплив ступеня пошкодження біологічних тканин на їх електричні параметри

Пошкодження тканин і органів ініціюється на клітинному рівні та супроводжується порушенням гомеостатичної рівноваги [162]. Незалежно від природи ушкоджувального чинника — механічного, термічного, ішемічного, токсичного або електричного — клітинна відповідь реалізується через обмежене коло універсальних біохімічних механізмів. До них відносять виснаження запасів АТФ, пермеабілізацію клітинних мембран, порушення внутрішньоклітинних сигнальних шляхів та пошкодження ДНК [162]. Саме ці процеси визначають глибину структурної деструкції та формують основу змін електрофізичних властивостей тканин.

У нормальному фізіологічному стані електричні характеристики тканини визначаються функціонуванням іонних насосів, градієнтами концентрацій, цілісністю плазматичних мембран та організацією позаклітинного матриксу [169, 170]. Трансмембранний потенціал підтримується активним транспортом іонів і є важливим елементом клітинного метаболізму та енергозабезпечення [169]. Бар'єрні тканини, зокрема рогівка та шкіра, формують стабільні електрохімічні градієнти завдяки мінімізації пасивного іонного потоку [169, 170]. Порушення структурної цілісності в цих системах змінює розподіл зарядів та локальні електричні поля.

Ушкодження тканини супроводжується формуванням локальних електричних полів, що виникають через різницю потенціалів між інтактними та зруйнованими клітинами [171–173]. Деполяризація пошкоджених клітин призводить до появи струмів у ділянці ураження, які можуть зберігатися протягом тривалого часу та впливати на процеси проліферації і міграції клітин [171, 176]. У нервовій тканині різниця потенціалів між збереженими та зруйнованими нейронами може спричиняти додаткове електричне навантаження вздовж аксонів, що створює ризик вторинного ушкодження [173, 174].

Фізіологічний стан тканини, який визначається активністю мембранних білків, іонних каналів та міжклітинних контактів, безпосередньо корелює з її електричними параметрами [177, 178]. Порушення регуляції іонного транспорту, зокрема надмірна активація каналів або насосів, здатне змінювати позаклітинну провідність [179]. Таким чином, навіть функціональні, ще не морфологічно виражені зміни можуть відобразитися на значеннях провідності (σ) та діелектричної проникності (ϵ) [180, 181].

Особливо показовими є зміни електричних характеристик при пухлинній трансформації. Ракові клітини характеризуються підвищеною проникністю мембрани, зміненим іонним складом та підвищеним вмістом внутрішньоклітинної води [182]. Для них описано зменшення трансмембранного потенціалу, що корелює з високою мітотичною активністю [183], а також структурні зміни мембран, які можуть підвищувати електронегативність зовнішньої поверхні [184]. Водночас

значення σ у пухлинних тканинах є варіабельними та залежать від типу тканини і ступеня її диференціації.

Так, у тканинах простати продемонстровано знижену провідність у порівнянні зі здоровими зразками [185]. Для раку молочної залози характерні відмінності σ від жирової та залозистої тканин [185–187], причому підвищення щільності цитоскелету може спричиняти зниження провідності [179]. У печінці пухлинні тканини демонстрували вищу σ у широкому частотному діапазоні [188–190], а зміни електричних параметрів були чутливими до середньочастотного інтервалу [177]. Показано також відмінності імпедансу (Z) між здоровими та патологічними тканинами [191, 192, 215], що пояснюється взаємозв'язком між розмірами пухлини, набряком, запаленням та розвитком некрозу [193, 194].

Некротичні процеси супроводжуються деградацією клітинних структур та переходом внутрішньоклітинного вмісту у позаклітинний простір. Це збільшує частку провідної рідини в ушкодженій ділянці та може призводити до зростання σ , особливо у високочастотному діапазоні [194]. Одночасно змінюється β -дисперсія, що пов'язана з мембранною ємністю, яка у пухлинних тканинах виявляється більш вираженою [194].

Якщо ушкоджувальним чинником виступає електричний струм, одним із механізмів деструкції є електропорація [195, 196]. Утворення пор у ліпідному бішарі спричиняє витік іонів, зміну провідності та зменшення ємності мембрани. Ефект залежить від розміру клітини, оскільки індукований трансмембранний потенціал пропорційний її радіусу [197]. Великі клітини, зокрема м'язові та нервові, є більш чутливими до такого впливу [197]. Додатковим чинником є тепловий ефект, що виникає при проходженні струму через тканини з високим опором [174].

Температура також істотно впливає на електричні параметри тканин. Різкі температурні градієнти можуть спричиняти механічні напруження та пошкодження мембран [198–200]. При високих швидкостях охолодження можливе утворення внутрішньоклітинного льоду, що руйнує структуру клітини [202], тоді як при повільному охолодженні домінує осмотичний механізм зневоднення [203].

Зміни проникності мембрани внаслідок термічного впливу призводять до зменшення ємності та варіацій провідності [200, 204]. Такі ефекти враховують при оцінці ризиків кріохірургічних процедур [199, 205].

Електрофізичні зміни використовуються для оцінки рубцевої тканини міокарда [208], м'язевої атрофії та дегенерації [209], температурного впливу [210, 213], а також для диференціації клітинних типів на мікрорівні [211, 212, 214]. Відмінності електричних характеристик застосовують у діагностиці онкопатологій [134], контролі цитотоксичності хіміотерапевтичних агентів [135], оцінці наслідків кріохірургії [136–140], дослідженні пролежнів [140] та патологій печінки, зокрема фіброзу [141].

Таким чином, аналіз фізіологічних механізмів формування біоелектричних властивостей клітини та тканини показав, що провідність (σ), діелектрична проникність (ϵ) та комплексний імпеданс (Z) є інтегральними характеристиками структурно-функціонального стану біоматеріалу. Цілісність плазматичних мембран, іонний баланс, співвідношення внутрішньо- та позаклітинних рідин, стан міжклітинного матриксу і ступінь клітинної деструкції безпосередньо визначають електричну відповідь тканини. Пошкодження — незалежно від його природи — супроводжується порушенням мембранної бар'єрної функції, зміною гідrataції та перебудовою мікроструктури, що закономірно відображається на частотно-залежних електричних параметрах.

Отже, електричні характеристики біоматеріалу можуть розглядатися як кількісні індикатори ступеня структурного ушкодження тканин. У цьому контексті актуальним є встановлення закономірностей зв'язку між ступенем клітинної деструкції та змінами електричних параметрів у визначених частотних діапазонах, а також формування об'єктивних критеріїв оцінки пошкодження біологічних тканин на основі їх електрофізичних характеристик. Саме вирішення цих завдань і становить зміст даного дисертаційного дослідження.

РОЗДІЛ II. МЕТОДИКА ТА ФІЗИЧНІ ОСНОВИ ІМПЕДАНСНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН

2.1 Фізичні основи та технологія аналізу методом біоелектричного імпедансу

Біоелектрична імпедансна спектроскопія (ІС) є методом дослідження структури біологічних тканин на основі аналізу їх пасивної електричної відповіді на гармонійне збудження змінним струмом у широкому частотному діапазоні [215]. Метод дозволяє встановлювати зв'язок між мікроструктурною організацією тканини, її гідратаційним станом, мембранною цілісністю та іонною проникністю з одного боку та комплексним електричним імпедансом — з іншого.

Електрична відповідь біологічної тканини визначається її гетерогенною природою. Тканина складається з внутрішньоклітинного середовища, позаклітинного простору та мембранних структур, що розділяють ці компартменти. Внутрішньо- і позаклітинні рідини характеризуються переважно омичною провідністю, зумовленою наявністю рухливих іонів, тоді як плазматична мембрана проявляє ємнісні властивості, пов'язані з поляризацією ліпідного бішару [215, 227].

Комплексний імпеданс визначається як:

$$Z(\omega) = Z'(\omega) + jZ''(\omega), \quad (2.1)$$

де Z' - активна (омична) складова, що характеризує енергетичні втрати внаслідок провідності, Z'' - реактивна складова, пов'язана з накопиченням енергії в ємнісних структурах, j - уявна одиниця, а ω — циклічна частота ($\omega = 2\pi f$). Модуль імпедансу визначається співвідношенням:

$$|Z| = \sqrt{Z'^2 + Z''^2}, \quad (2.2)$$

а фазовий кут відображає співвідношення між резистивною та ємнісною складовими. Представлення спектрів у координатах Найквіста та Боде дозволяє виділяти релаксаційні процеси та оцінювати характер частотної дисперсії [215].

Електрична модель тканини у найпростішому наближенні може бути представлена еквівалентною схемою, що включає позаклітинний резистор R_e , внутрішньоклітинний резистор R_i та мембранний ємнісний елемент. Однак через структурну неоднорідність біологічних тканин реальна частотна залежність не відповідає ідеальному конденсатору. З цієї причини у роботі використано елемент постійної фази (Constant Phase Element, CPE), імпеданс якого описується виразом:

$$Z_{CPE} = \frac{1}{Q(j\omega)^n}, \quad (2.3)$$

де Q — коефіцієнт псевдоємності, а показник $0 \leq n \leq 1$ характеризує ступінь відхилення від ідеальної ємності. Значення $n < 1$ відображає розподіл релаксаційних часів, що є наслідком морфологічної неоднорідності, шорсткості меж розділу фаз та варіабельності мембранної структури [215].

При низьких частотах змінний струм переважно протікає позаклітинним простором, оскільки ємнісний опір мембрани є високим. Із підвищенням частоти ємнісний опір зменшується, що сприяє проникненню струму у внутрішньоклітинний компартмент. На високих частотах мембрана втрачає бар'єрні властивості з точки зору імпедансного аналізу, і повний опір визначається сумарною провідністю тканини [227]. Саме ця частотна перебудова струмових шляхів лежить в основі чутливості методу до структурних змін, пов'язаних із пошкодженням мембран, дегідратацією або некротичними процесами.

Особливості електричної відповіді різних органів (печінки, нирки, мозку, легень, серця) визначаються їх морфологією, вмістом води, щільністю клітин та часткою ліпідних структур. Наприклад, мозкова тканина з високим вмістом ліпідів демонструє інші ємнісні характеристики, ніж печінкова тканина з вираженою васкуляризацією. Тому інтерпретація параметрів еквівалентних схем повинна базуватися на морфофункціональних особливостях конкретного органа, а не на універсальній абстрактній моделі.

Таким чином, імпедансна спектроскопія дозволяє розглядати біологічну тканину як багатокомпонентну електрофізичну систему, у якій зміни мембранної цілісності, іонного складу та мікроструктури відображаються у трансформації

частотних характеристик комплексного опору. Саме ці фізичні передумови визначають можливість використання методу для кількісної оцінки ступеня структурного пошкодження тканин.

Співвідношення коливань вище вказаних параметрів записують наступним чином:

$$I = I_0 \cdot \sin(\omega t), \quad (2.4)$$

$$\begin{aligned} U &= U_0 \cdot \sin(\omega t + \varphi) = U_0 \cdot (\sin(\omega t) \cdot \cos(\varphi) + \sin(\varphi) \cdot \cos(\omega t)) = \\ &= U_0 \cdot \cos(\varphi) \cdot \sin(\omega t) + U_0 \cdot \sin(\varphi) \cdot \cos(\omega t), \end{aligned} \quad (2.5)$$

$$\begin{aligned} U/I &= (U_0 \cdot \cos(\varphi) \cdot \sin(\omega t) + U_0 \cdot \sin(\varphi) \cdot \cos(\omega t)) / I_0 \cdot \sin(\omega t) = \\ &= (U_0/I_0 \cdot \cos(\varphi) + U_0/I_0 \cdot \sin(\varphi) \cdot \cos(\omega t) / \sin(\omega t)) = \\ &= U_0/I_0 \cdot \cos(\varphi) + U_0/I_0 \cdot \sin(\varphi) \cdot \cot(\omega t), \end{aligned} \quad (2.6)$$

Якщо співвідношення U_0/I_0 позначити як Z_0 (амплітудна константа), а співвідношення U/I , як Z (константа для частоти і часу), то рівняння імпедансу виглядатиме, як

$$Z = Z_0 \cdot \cos(\varphi) + Z_0 \cdot \sin(\varphi) \cdot \cot(\omega t). \quad (2.7)$$

Для зручності використання імпеданс також можуть представляти, як вектор Z довжиною Z_0 , що обертається в полярній дійсній омічній площині.

Довжина вектора та кут фазового зсуву у цьому випадку визначаються параметрами системи та частотою виміру і не залежать від часу, тобто імпеданс представляють графічним способом як вектор, що обертається в комплексній омічній площині дійсних чисел [221]. Імпедансна спектроскопія представляє собою процес порівняння значень імпедансу та його складових із значеннями змінного струму i , як наслідок, отримання імпедансного спектру. Одним із найбільш популярних методів графічного представлення результатів імпедансної спектроскопії є діаграма Найквіста, яка має вигляд комплексної омічної площини, із Z' на осі x та Z'' на осі y (рис 2.1) [222].

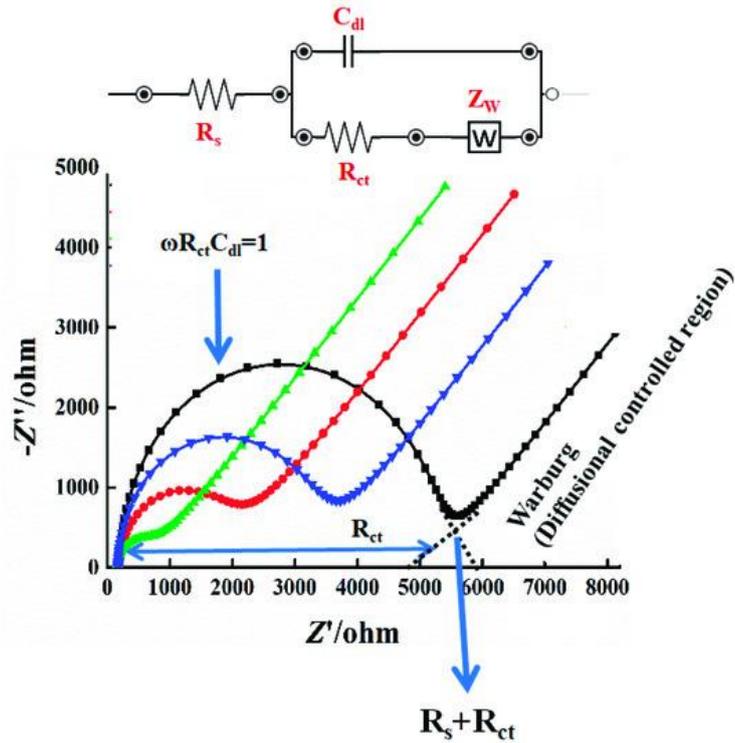


Рис. 2.1 Зображення імпедансного спектру у вигляді діаграми Найквіста.

Для його побудови у форматі вище згаданої діаграми Найквіста та отримання кожної точки кривої розраховують значення Z' і Z'' з масиву даних (ω, Z_0, φ) або на площині відкладають вектор Z_0 під кутом φ до осі x і фіксують положення його кінцевої точки [222].

Додатково графічна інтерпретація даних імпедансу забезпечується також діаграмою Коула-Коула, при якій застосовується співвідношення негативного реактансу до опору (рис. 2.2) [223].

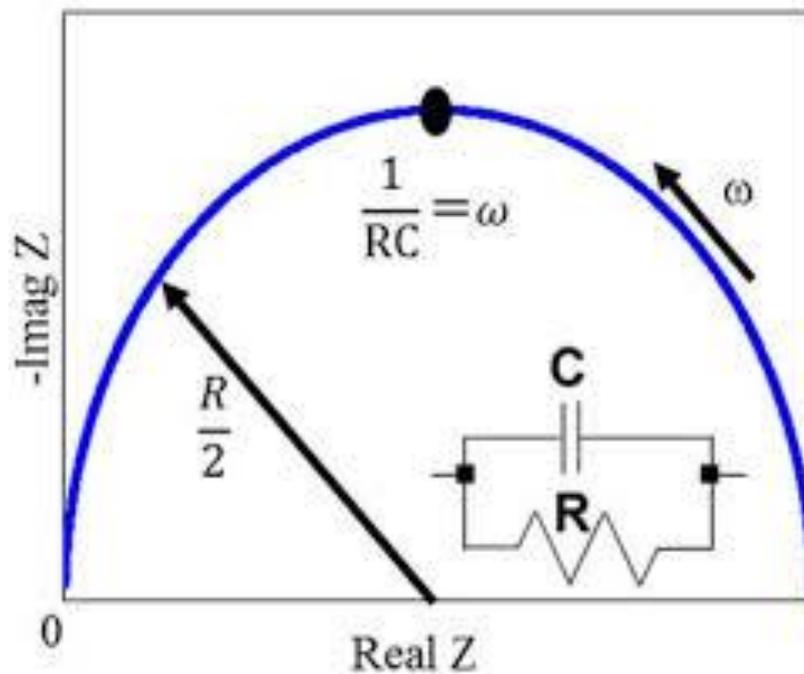


Рис 2.2. Діаграма Коула-Коула, де R_{∞} - це сума зовнішньо- та внутрішньо-клітинного опору, R_0 - зовнішньо-клітинний опір.

Для інтерпретації спектрів електричного імпедансу досліджуваних об'єктів також використовуються електричні еквівалентні моделі, які передбачають схематичну заміну реальних фізичних об'єктів (складових компонентів біологічної тканини) на формальні електричні елементи та їх комбінації з подальшим програмним підбиранням параметрів спектрів модельної схеми до експериментальної [222]. Прикладом може слугувати часто використовувана схема, зокрема із C- та R-компонентами у паралельному та послідовному розміщенні (рис. 2.3).

Вибір компонентів еквівалентних схем та їх комбінацій здійснюється на основі інформації про будову клітини, морфологію тканини та електрохімічні процеси [224]. Одним із завдань дослідження є встановлення структури схеми та

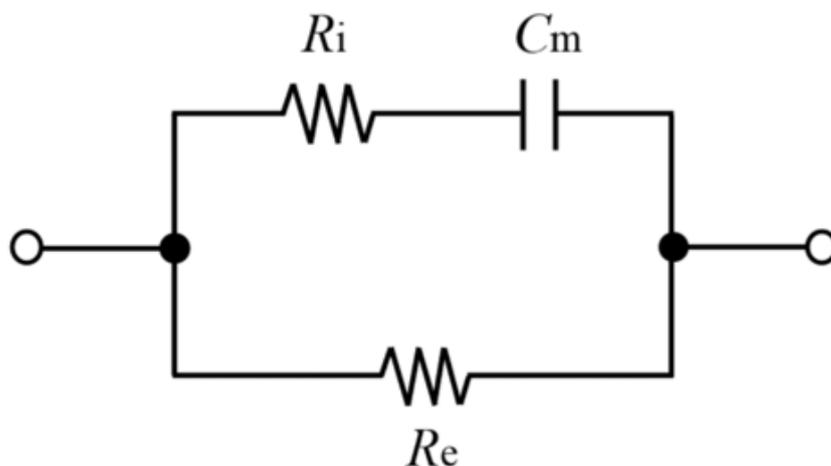


Рис. 2.3 Електрична еквівалентна схема для характеристики фізичних властивостей біологічних тканин.

поведінки електрофізичних параметрів тканини у змішаному електричному полі, а також динаміки зміни схем та її параметрів залежно від типу пошкоджень. Одним із способів формування структури моделі є послідовний підбір параметрів її компонентів у різних структурних варіаціях [225]. У такому випадку, для початку, розглядають найпростішу форму еквівалентної схеми, для прикладу, двокомпонентну. Потреба детального моделювання електричних характеристик тканин передбачає ускладнення відповідних моделей та дослідження стану зразків за допомогою гістологічного аналізу, результати якого, зазвичай, чітко співвідносяться із результатами біоімпедансної спектроскопії [226].

Така відповідність сприятиме більшій точності корекції значення параметрів та загальної структури еквівалентних моделей, відповідно до інформації про стан та структуру компонентів тканин, зокрема при їх пошкодженні. Важливим елементом для більшої відповідності між особливостями моделі та досліджуваного зразка є спектр вимірюваних частот, зокрема для імпедансної спектроскопії використовують значення у межах 0.01Гц - 1МГц.

Загалом електричні параметри біологічних тканин є частотно-залежними величинами, що проявляється у вигляді електричної дисперсії. Зокрема, питома електропровідність є функцією циклічної частоти:

$$\sigma = \sigma(\omega), \quad (2.8)$$

де σ - питома електропровідність тканини.

Дисперсія відображає зміну електропровідності та діелектричної проникності тканин у різних частотних діапазонах. Традиційно виділяють три основні області дисперсії біологічних тканин:

- α -дисперсія (приблизно від кількох Гц до ~ 10 кГц) зумовлена процесами іонної дифузії та поверхневої поляризації на мембранах клітин;
- β -дисперсія (приблизно від десятків кГц до кількох МГц) пов'язана з мембранною поляризацією та накопиченням заряду на межі внутрішньо- та позаклітинного середовища;
- γ -дисперсія (вище ~ 10 ГГц) зумовлена орієнтаційною поляризацією молекул води [222, 220].

Електропровідність і діелектрична проникність тканин визначаються ступенем зміщення та поляризації зарядів під дією змінного електричного поля. Із підвищенням частоти ємнісний опір мембран зменшується, що змінює шляхи проходження струму через тканину.

У практиці біоімпедансних вимірювань однією з найбільш поширених є частота близько 50 кГц, яка дозволяє частково враховувати як позаклітинну, так і внутрішньоклітинну провідність. При нульових або дуже низьких частотах струм переважно протікає позаклітинним простором, оскільки плазматична мембрана проявляє високий ємнісний опір і функціонує як ізолятор [227].

На високих частотах мембранний ємнісний опір зменшується настільки, що струм проходить як через позаклітинний, так і через внутрішньоклітинний компартмент, а загальний імпеданс відображає сумарні провідні властивості тканини.

Співвідношення між активною (резистивною) та реактивною (ємнісною) складовими імпедансу розглядають як інформативний показник структурно-функціонального стану тканини, що має особливе значення при оцінці патологічних змін у клінічних умовах [228–230].

2.2 Методика проведення імпедансної спектроскопії.

2.2.1 Технологія отримання спектрів електричного імпедансу для біологічних тканин

Для проведення експериментів використовували відділені тканини, що дало змогу контролювати розмір зразків відповідно до розміру використовуваних комірок і сприяло точнішому вимірюванню завдяки рівномірності впливу температури.

Комірки для досліджень виготовляли з пластикового корпусу медичного шприца об'ємом 2 мл. Торці циліндричного зразка контактували із нікелевою сіткою. Струмівідводом слугували нікелеві провідники, приварені до сітки. Схема вимірювальної комірки наведена на рис. 2.4.

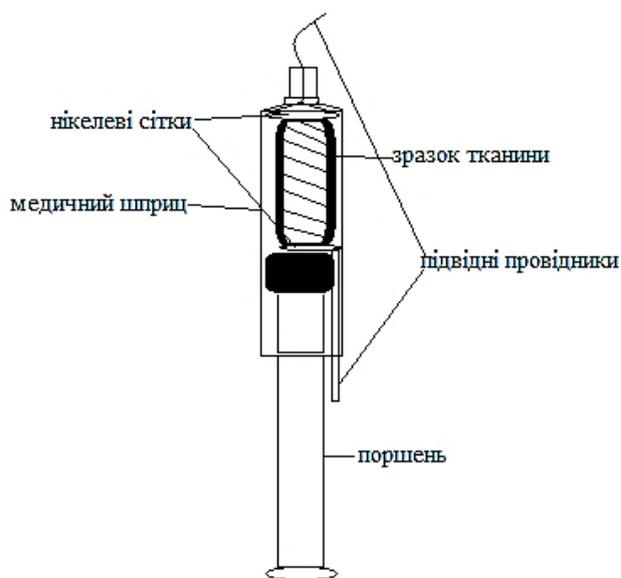


Рис. 2.4 Схема вимірювальної комірки для отримання спектрів комплексного електричного імпедансу біологічних тканин.

Основним об'єктом експериментального дослідження були зразки тканини печінки свині. Саме на печінковій тканині виконано повний обсяг вимірювань та проведено

подальший аналіз електричних параметрів.

На первинному етапі роботи з метою порівняльної оцінки та перевірки відтворюваності методики додатково досліджували зразки легені, нирки, серця та головного мозку. Отримані результати використовували для верифікації чутливості методу до структурно-функціональних особливостей різних типів тканин, однак розширений аналіз проводився виключно для печінки.

Після вилучення біоматеріал охолоджували та зберігали при температурі +4 °С до моменту проведення вимірювань. Початок експерименту здійснювали через

5–6 годин після забою тварини, що дозволяло мінімізувати вплив ранніх постмортальних змін.

Для оцінки впливу температурного чинника зразки печінки довжиною 1,2–1,5 см і масою 1,0–1,5 г поміщали в герметичний термостат 1/120 СПУ при температурах 2 °С, 8 °С, 12 °С, 25 °С та 35 °С. Час експозиції становив 2, 8 та 14 годин.

Вимірювання комплексного імпедансу проводили за допомогою спектрометра AUTOLAB PGStat 30 у частотному діапазоні 0,01 Гц – 100 кГц. Амплітуда змінної напруги збудження не перевищувала 5 мВ, що забезпечувало роботу системи в квазі-лінійному режимі та мінімізувало вплив вимірювального сигналу на структуру тканини.

Реєстрацію спектрів здійснювали в автономному режимі із використанням програмного забезпечення FRA-2. Чисельне опрацювання даних та визначення параметрів елементів еквівалентних схем проводили в середовищах Origin та ZView 2 шляхом апроксимації експериментальних залежностей.

2.2.2. Методи інтерпретації імпедансних спектрів біологічних об'єктів.

Попри достатньо просту і апробовану технологію отримання спектрів електричного імпедансу від біологічних тканин, складність і багатозадачність реальної їх структури залишає відкритим питання однозначної інтерпретації. Раціональним у цьому випадку є феноменологічний підхід, заснований на формальній побудові еквівалентної з реальним об'єктом електричної схеми, в якій окремим елементам приписують властивості компонентів тканини [231]. З іншого боку, спроба врахувати властивості всіх елементів біологічних структур ускладнила б розуміння різниці значень елементів схеми експериментальних зразків, які могли б виникнути при трансформаціях тканинної структури. Задля збереження можливості коректної інтерпретації отриманих даних, у різних дослідженнях запропоновано низку електричних моделей, побудованих на основі

головних складових тканин: плазматичної мембрани, електролітних розчинів зовнішньо- та внутрішньоклітинних середовищ (рис. 2.5).

При формуванні моделей враховано той факт, що струм, введений у позаклітинне середовище, може циркулювати навколо клітини (R_e) або проходити через неї, використовуючи двошарову ліпідну мембрану (C_m) та іонні канали (R_i), що залежить від частоти. При низьких частотах (<1 кГц) більшість заряду протікає навколо клітини, не проникаючи всередину неї, а за високих частот (>1 МГц) він проходить через зовнішньо- та внутрішньоклітинні середовища [232]. Коли потік електричних зарядів потрапляє всередину, то переміщується через внутрішньоклітинне середовище (R_i) і виходить з клітини також через мембрану ($R_i \parallel C_m$) [233].

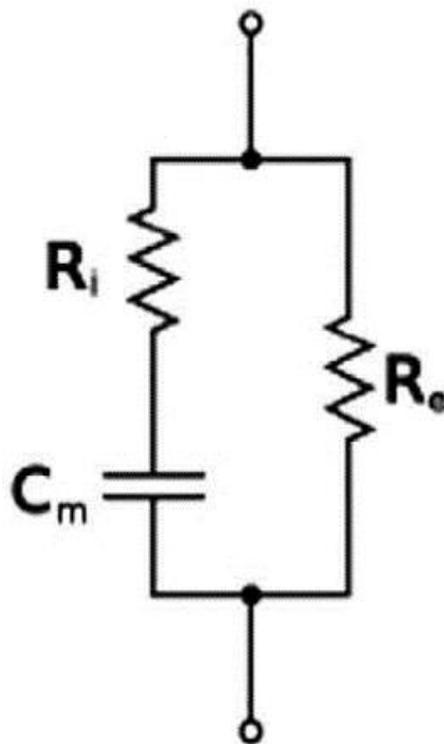


Рис. 2.5. Електрична еквівалентна модель клітини Коула [234].

У феноменологічному підході, який передбачає часткове нехтування тканинними компонентами, в силу їхньої кількості, розмірів та функціональної різноманітності, однією із найбільш використовуваних моделей є модель Коула-Коула (рис. 2.9), де R_i є параметром опору електроліту у внутрішньо-клітинному середовищі, R_e - опір зовнішньоклітинного середовища, C_m - ємність мембрани

[234]. Показано [235], що цю модель можна використовувати для проведення симуляцій [235] електричних параметрів тваринних тканин.

Подібний підхід було застосовано й для побудови електричної моделі всього людського тіла [236]. Як зазначалося вище, провідність клітинних мембран є частотно-залежною величиною, що визначає характер проходження струму через тканини. З огляду на це, на основі базової еквівалентної схеми (рис. 2.5) було сформовано узагальнені моделі окремих сегментів тіла з урахуванням електричних властивостей їх структурних компонентів. Під час моделювання враховували низьку провідність кісткової та жирової тканин, а також варіації їх частки в загальному об'ємі сегмента. Такий підхід дозволяє відобразити внесок внутрішньоклітинного та позаклітинного середовищ у сумарний імпеданс біологічного об'єкта залежно від частоти прикладеного поля.

Слід зазначити, що наведена вище типова електрична еквівалентна схема (рис. 2.5) є результатом узагальнення та спрощення більш складних моделей, запропонованих раніше, що було зумовлено морфологічною неоднорідністю біологічних об'єктів [237]. Через багаторівневу організацію тканини — наявність клітинних кластерів, міжклітинного матриксу та судинних структур — первинні моделі можуть містити велику кількість елементів. Однак для практичної інтерпретації спектрів часто застосовують їх редуковані форми.

За потреби еквівалентна схема тканини, що включає множинні клітинні кластери, може бути приведена до моделі, побудованої на основі однієї узагальненої клітини. Таке перетворення ґрунтується на припущенні про подібність електрофізичних властивостей структурних елементів. Оскільки провідність клітинної мембрани є значно нижчою порівняно з провідністю внутрішньо- та позаклітинного середовищ, параметр $R_iR_{iR_i}$ у ряді випадків може бути знехтуваний. За такого спрощення модель редукується до схеми з одним домінуючим дисперсійним елементом [237].

Водночас слід враховувати, що електричні еквівалентні моделі можуть відрізнятися конфігурацією з'єднання своїх компонентів. Зокрема, широко використовуються паралельні модифікації моделі Коула–Коула (рис. 2.7), які

дозволяють більш гнучко описувати розподіл релаксаційних процесів у біологічних тканинах.

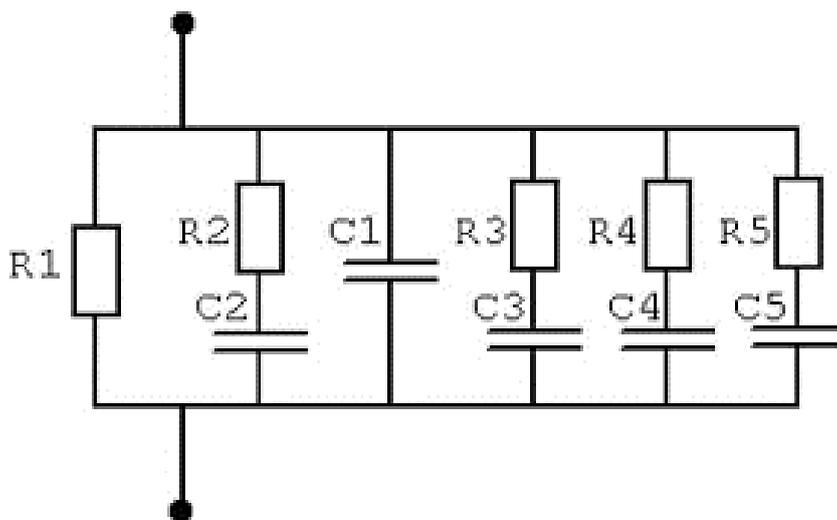


Рис. 2.7. Електрична еквівалентна схема із паралельним розташуванням елементів [234].

Такі структури можуть містити декілька RC-гілок, з'єднаних паралельно. У практичному аналізі їх часто спрощують, виходячи з того, що внесок окремих відгалужень є незначним у певних частотних діапазонах. У результаті модель редукується до лінійної RC-схеми Коула, яка дозволяє якісно оцінювати співвідношення внутрішньоклітинної та позаклітинної води [234]. Розширена електрична еквівалентна схема типу Коула–Коула з паралельним розміщенням ланок представлена на рис. 2.8.

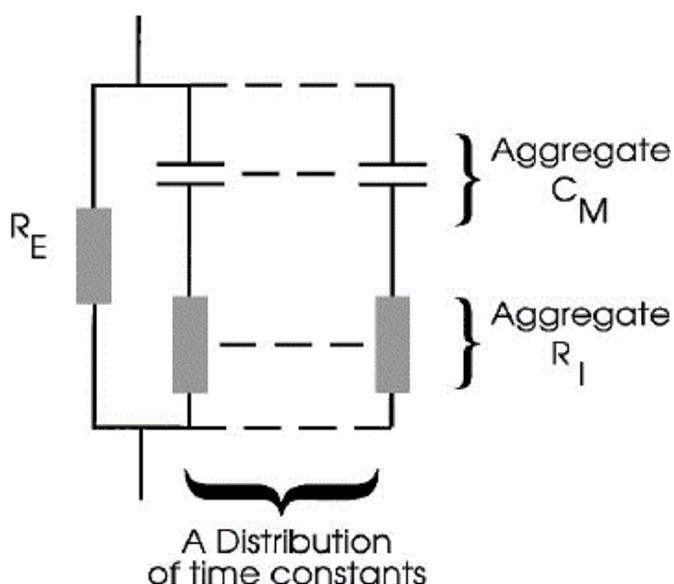


Рис. 2.8. Еквівалентна електрична схема, аналогічна моделі Коула: R_e - сукупний позаклітинний опір; R_i - сукупний внутрішньоклітинний опір; C_m — еквівалентна ємність клітинної мембрани.

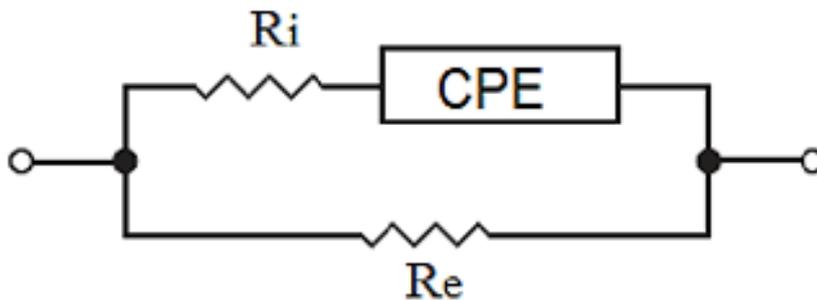


Рис. 2.9. Модифікована електрична еквівалентна модель Хайдена [240].

Іншою модифікацією є модель Хейдена (рис. 2.9) [240], яка спочатку була запропонована для опису електричних властивостей рослинних тканин. Вона включає елементи, що відповідають трьом основним складовим: симпластичному (внутрішньоклітинному) опору, апопластичному (позаклітинному) опору та ємнісній реактивності клітинної мембрани з урахуванням додаткового мембранного резистора [243]. У спрощеному варіанті мембранний резистор вважається незначним, а імпеданс мембрани описується конденсатором або елементом типу CPE.

У розширених модифікаціях, зокрема в моделі подвійної оболонки, враховується додатковий комплексний опір, пов'язаний із внутрішньоклітинними структурами (наприклад, вакуолями рослинних клітин) [244]. У такому випадку резистивно-ємнісна ланка з'єднується паралельно з внутрішньоклітинним опором R_i . Додаткові елементи можуть відповідати, зокрема, вакуолярному опору та ємності тонопласту [243].

2.2.3 Відтворюваність результатів імпедансних вимірювань біологічних тканин

Відтворюваність та повторюваність результатів спектроскопії електричного імпедансу (EIS) біологічних тканин обмежуються сукупністю чинників, які доцільно згрупувати у три основні категорії: структурна неоднорідність тканини,

вплив вимірювального сигналу та методологічні особливості проведення вимірювань.

Біологічні тканини є складними багатокомпонентними системами, що складаються з різних типів клітин, позаклітинного матриксу та міжклітинної рідини, які характеризуються відмінними електрофізичними параметрами [220]. Показано, що їх електричні характеристики тісно пов'язані зі структурною організацією та функціональним станом тканини, причому ці параметри можуть істотно відрізнятися для різних органів і навіть для різних ділянок одного й того ж органа [220]. Властивості тканини визначаються її анізотропією, мікроструктурою, хімічним складом і фізіологічним станом [251].

Зокрема, печінка має складну гістоархітектуру, що може зумовлювати просторову варіабельність електричних параметрів у межах одного зразка. Додатково на результати впливають індивідуальні характеристики організму (вік, стать, стан здоров'я), а також час, що минув після вилучення тканини (*ex vivo*), оскільки діелектричні властивості змінюються внаслідок постмортальних процесів [252]. Наприклад, прогресування фіброзу печінки супроводжується втратою функціональних клітин і накопиченням позаклітинного матриксу, що відображається у зміні імпедансних характеристик [251].

У межах феноменологічного підходу для опису тканинної структури в роботі використано шестиелементну електричну еквівалентну схему, яка є модифікованим варіантом подвійної моделі Коула–Коула [238]. Відповідно до сучасної класифікації еквівалентні моделі поділяють на моделі цілочисельного та дробового порядку. У моделях цілочисельного порядку внутрішньо- та позаклітинні середовища описуються резисторами, а мембрана — ідеальним конденсатором. У моделях дробового порядку для опису неідеальної ємнісної поведінки мембрани використовують елемент постійної фази (CPE), що дозволяє врахувати розподілений характер релаксаційних процесів [238].

Моделі цілочисельного порядку без ускладнення схеми не завжди забезпечують адекватне узгодження з експериментальними імпедансними спектрами. Введення додаткових компонентів підвищує точність апроксимації,

однак ускладнює фізіологічну інтерпретацію параметрів. Моделі дробового порядку, навпаки, демонструють кращу відповідність експериментальним кривим, але їх параметри мають більш узагальнений характер і не завжди допускають однозначне біофізичне трактування [239].

Елементи еквівалентних схем поділяють на елементи цілого порядку (резистори, конденсатори, індуктивності) та дробового порядку, до яких належать CPE та елемент Варбурга (окремий випадок CPE) [240]. Використання CPE дозволяє моделювати поведінку неідеальних конденсаторів, що характерно для реальних біологічних систем. Зокрема, подвійний електричний шар теоретично описується ідеальною ємністю, однак у практиці через шорсткість поверхні електродів та мікронеоднорідність контактної області його поведінка відхиляється від ідеальної, що обґрунтовує використання CPE [240, 241].

У застосованій схемі резистори, що відповідають внутрішньо- та позаклітинному середовищам, відображають сумарну провідність електролітичних об'ємів тканини. Структура моделі побудована за принципом кластерного підходу і включає три CPE–R ланки, з'єднані послідовно. Така конфігурація дозволяє врахувати внесок різних структурних рівнів тканини. Для біологічних об'єктів подібні лінійні схеми є придатними, оскільки реальна частина імпедансу на мінімальних та максимальних частотах корелює з об'ємом позаклітинної та внутрішньоклітинної води відповідно [242]. Запропонована схема також є модифікованим варіантом моделі Хейдена (рис. 2.9) [240].

Другу групу факторів, що впливають на відтворюваність, становить вплив вимірювального сигналу. Оскільки імпеданс біологічних тканин є частотозалежним, вибір частотного діапазону визначає, які структурні компоненти домінують у відповіді [253, 254]. Низькі частоти чутливі до процесів, пов'язаних із мембранною поляризацією та електродною поляризацією, тоді як вищі частоти відображають внесок внутрішньоклітинного середовища.

Надмірна амплітуда сигналу може спричиняти нелінійні ефекти або локальний нагрів тканини, що змінює її біохімічний стан [255, 256]. На низьких частотах зростає тривалість вимірювання, що може ускладнювати дослідження

швидкоплинних процесів [255]. Неправильний вибір частотного діапазону може призвести до домінування артефактів, зокрема електродної поляризації [256].

Третя група факторів пов'язана з методологічними аспектами вимірювання [253]. Чотирьохелектродна конфігурація є ефективною для мінімізації впливу поляризації електродів, особливо у низькочастотній області (α -дисперсія) [253]. Контактний імпеданс електрод–тканина та власний опір електродів можуть суттєво впливати на результати [257, 253]. На високих частотах проявляються розподілені параметри вимірювальної системи, зокрема паразитні ємності та індуктивності [253].

До зовнішніх чинників належать стан поверхні електродів [254], температура та вологість навколишнього середовища [256], які також можуть змінювати електрофізичні параметри тканини.

Спектроскопія електричного імпедансу активно застосовується для дослідження печінки як у нормі, так і при патологіях, зокрема при фіброзі, стеатозі та онкопатології [258]. Розробляються методики інтраопераційного визначення меж між здоровою та ураженою тканиною [259], а також моделі «печінка-на-чіпі» для моніторингу функціонального стану гепатоцитів [256].

Водночас проблема відтворюваності залишається актуальною [254]. Основними причинами нестабільності результатів є електродна поляризація, вплив розподілених параметрів вимірювальної системи [253], а також складність адекватного опису тривимірної структури тканини у межах спрощених еквівалентних моделей [255, 256].

Отже, забезпечення відтворюваності імпедансних вимірювань потребує комплексного контролю стану електродів, параметрів сигналу, температурних умов, часу *ex vivo* та морфологічної однорідності досліджуваного зразка [259, 260].

2.3 Методика проведення оптичної мікроскопії

З метою морфологічної верифікації структурних змін, виявлених за результатами імпедансного аналізу, проведено гістологічне дослідження

експериментальних зразків тканини, у яких структура еквівалентних електричних моделей відрізнялася від моделей інтактної тканини.

Фіксацію зразків здійснювали у 10% нейтральному розчині формаліну з дворазовою заміною фіксатора через 12 та 24 години. Загальна тривалість фіксації становила 14 діб. Після завершення фіксації матеріал піддавали стандартній гістологічній проводці з подальшим заливанням у парафін.

Парафінові блоки розрізали на санному мікротомі; товщина зрізів становила 5 мкм. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином відповідно до загальноприйнятого протоколу. Для виявлення сполучнотканинних компонентів застосовували трихромне забарвлення за Масоном (колагенові волокна) та забарвлення за Хартон (еластичні волокна).

Мікроскопічний аналіз проводили за допомогою світлового мікроскопа Micros Austria MC300. Цифрову реєстрацію зображень виконували із використанням камери TourCam 5.1M UNCCD Sony, адаптера TourTek Photonics AMA075 та програмного забезпечення TourView v.3.

Отримані морфологічні дані використовували для якісної та кількісної інтерпретації змін параметрів еквівалентних електричних моделей. Порівняння гістологічних ознак деградації тканини з варіаціями параметрів CRE-R ланок дозволило встановити відповідність між структурними порушеннями клітинних і міжклітинних компонентів та змінами електричних характеристик зразків.

РОЗДІЛ III. ОСОБЛИВОСТІ ЗМІНИ КОМПЛЕКСНОГО ОПОРУ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН РІЗНОЇ МОРФОЛОГІЇ ПІД ВПЛИВОМ ДЕСТРУКТИВНИХ ФАКТОРІВ

3.1 Особливості імпедансних спектрів зразків біологічних тканин різної морфології

Експериментально отримані діаграми Найквіста інтактних зразків використаних органів (рис. 3.1.) Частотний діапазон отриманих спектрів становить 0,01 Гц – 100 кГц. Z' і $-Z''$ – дійсна та уявна складові імпедансу, відповідно. У вкладках зображені високочастотні ділянки спектрів, стрілками вказані напрями зростання частоти.

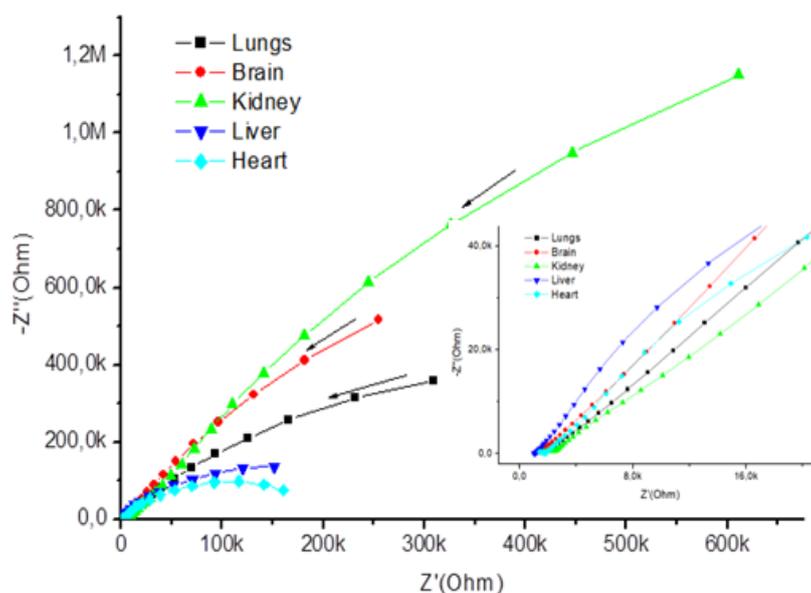


Рис. 3.1. Спектри електричного імпедансу у вигляді діаграм Найквіста інтактних зразків біологічних тканин свині.

Задля відображення складної структури досліджуваних зразків у спрощеному форматі з метою можливого прогнозування наслідків впливу деструктивних факторів було створено відповідні електричні еквівалентні схеми для всіх тканин.

Вибір адекватної еквівалентної схеми здійснювався на основі особливостей морфології тканини. Згідно наших міркувань, параметри еквівалентних електричних схем тканинного імпедансу, зокрема, СРЕ-елемент, відображає ємність клітинної мембрани відповідно до загальних даних, R1 та R2 - зовнішній та внутрішній опори відповідно, R3 - опір мембрани (рис. 3.2).

3.1.1 Тканини мозку

Загальна структура електричної еквівалентної схеми тканин мозку представлена на рис. 3.2.

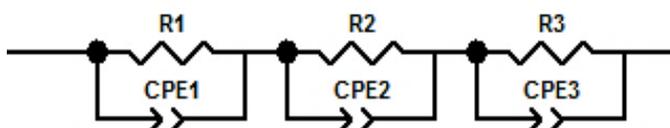


Рис. 3.2 Шести-елементна еквівалентна електрична схема інтактних зразків тканин мозку.

Відповідно до наявних міркувань, СРЕ-елемент відображає собою найскладнішу за будовою частину тканини [261, 262], тобто її паренхіму (рис. 3.3), включаючи всі тканинні особливості [262]. R-елемент характеризується, як опір, зокрема R1 та R2 - зовнішній та внутрішній опори іонних розчинів ззовні та всередині клітин, відповідно, R3 - опір плазматичної мембрани [227].

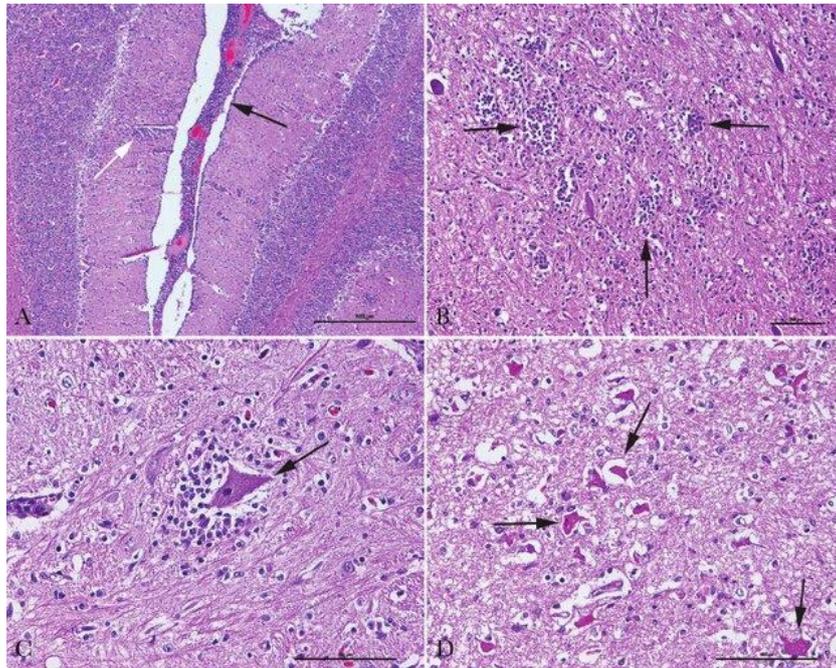


Рис. 3.3. Мікроскопічне зображення тканин мозку свині.

У випадку деструктивних впливів відповідних чинників, імпедансний спектр зазнає певних змін (рис. 3.4).

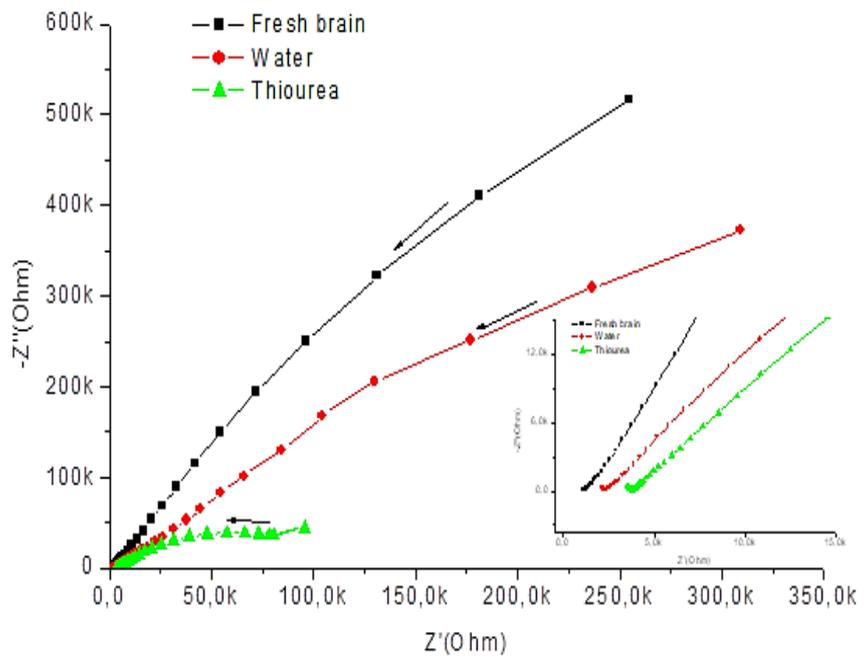


Рис. 3.4. Вплив деструктивних факторів на значення імпедансу тканин мозку у діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц, $-Z''$ - уявна частина, Z' – дійсна частина

імпедансу, у вкладці - високочастотні ділянки діаграми. Стрілками показано напрям зростання частоти.

Різкі зміни імпедансу експериментальних зразків у порівнянні із інтактними вказують на структурні зміни тканин під впливом зовнішніх чинників, що відображається у ймовірній зміні проникності плазматичної мембрани та сприяє зменшенню її комплексного опору [227].

Відповідні до трансформованих спектрів еквівалентні схеми наведені на рис. 3.5. Як можна зауважити, тіосечовина мала значніший деструктивний вплив на тканини у порівнянні із тривалим впливом води, що відобразилось на структурній зміні схеми. Зокрема, спостерігається втрата однієї із ланок, що може говорити про змішування внутрішньо- та зовнішньо-клітинного вмісту тканини через локальні руйнування мембрани. Подібний ефект може бути спричинений загальним цитотоксичним впливом використаного хімікату на живі тканини, зокрема, яєчники [263].

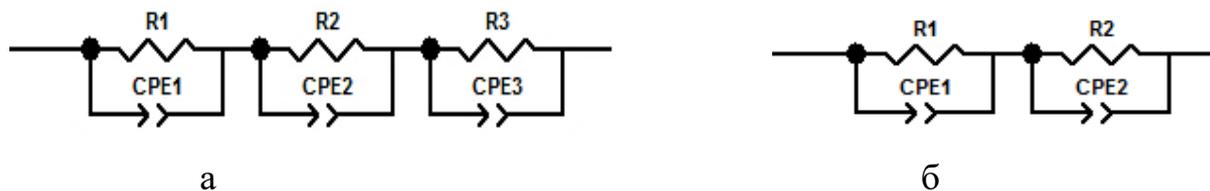


Рис. 3.5 Електричні еквівалентні схеми зразків мозку під впливом зовнішніх чинників: а) – вода, б) – тіосечовина.

Розглянемо кореляцію імпедансних спектрів досліджуваних органів, під впливом деструктивних факторів для подальшої інтерпретації отриманих даних та спостереженням за особливостями морфологічних змін. Числові значення параметрів електричних еквівалентних схем наведені у табл. 3. 1.

Таблиця 3.1.

Значення параметрів CPE- та R-елементів електричних еквівалентних схем тканин мозку під впливом зовнішніх чинників, де CPE-T є елементом постійної фази, для якого визначено проміжні елементи між активним опором (при CPE-P = 0) або ідеальним конденсатором (CPE-P = 1). Для CPE-P < 1, елемент визначається, як псевдоконденсатор [227].

Мозок	Параметри еквівалентної електричної схеми								
	R1, Ohm, $\times 10^5$	CPE1-T, F, $\times 10^{-5}$	CPE1-P	R2, Ohm, $\times 10^3$	CPE2-T, F, $\times 10^{-8}$	CPE2-P	R3, Ohm, $\times 10^4$	CPE3-T, F, $\times 10^{-6}$	CPE3-P
інтакт.	27,8	1,77	0,85 ¹	1,15	2,28	0,62	2,89	81,01	0,53
тіосеч.	1,3	2,33	0,67	-	-	-	0,39	0,11	0,44
вода	0,56	1,79	0,631	2,47	4,33	0,40	94,30	22,20	0,894

3.1.2. Тканини нирки

Отримана діаграма Найквіста (рис. 3.1) дозволила сформувати відповідно електричну еквівалентну схему нирки (рис. 3.6.).

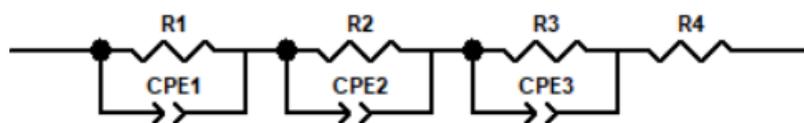


Рис. 3.6. Шести-елементна еквівалентна електрична схема інтактних зразків нирок.

Враховуючи особливості будови нирки, зокрема наявність чашково-мискової системи (рис. 3.7) для видалення сечі, є необхідним припустити наявність залишкового об'єму відповідної рідини, насиченої електролітами, що сприяло формуванню додаткового активного елемента електричної схеми.

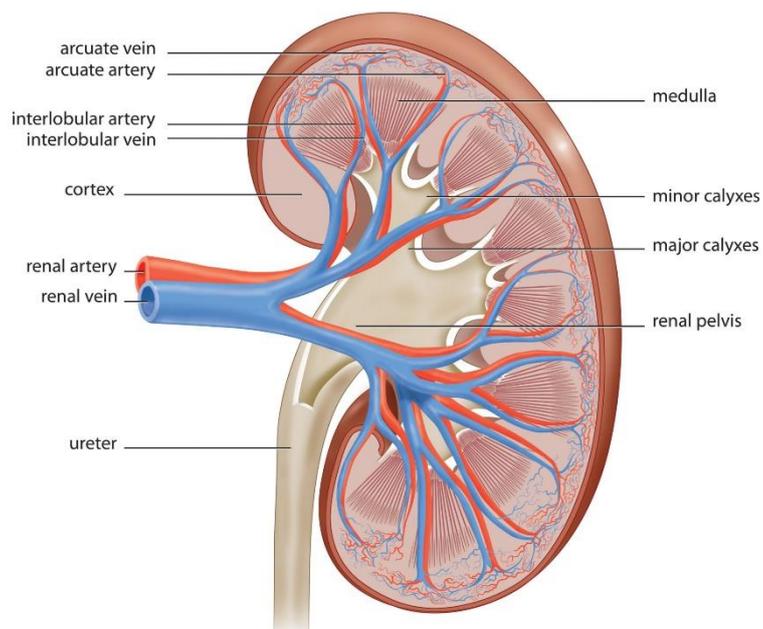


Рисунок 3.7. Будова нирки

Мікроскопічну будову нирки зображено на рис. 3.8.

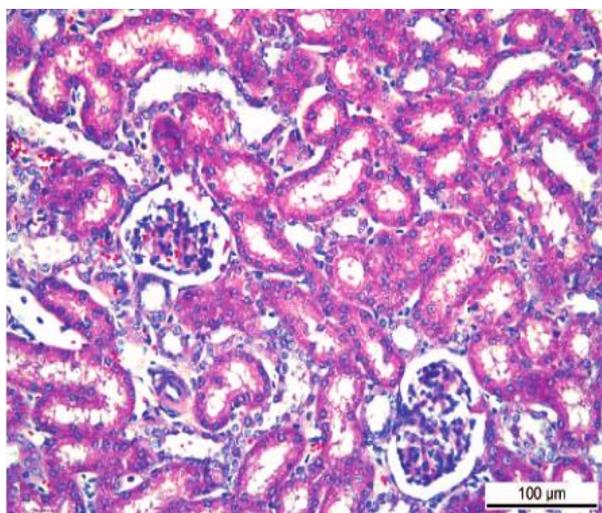


Рис. 3.8. Мікроскопічне зображення нирки свині.

Як можна зауважити, всі застосовані чинники спричинили суттєве зменшення комплексного попу у порівнянні із інтактним зразком (мал. 3.9), але

вираженою руйнівною дією характеризується тіосечовина, що також відобразилось на трансформації схеми (рис. 3.10).

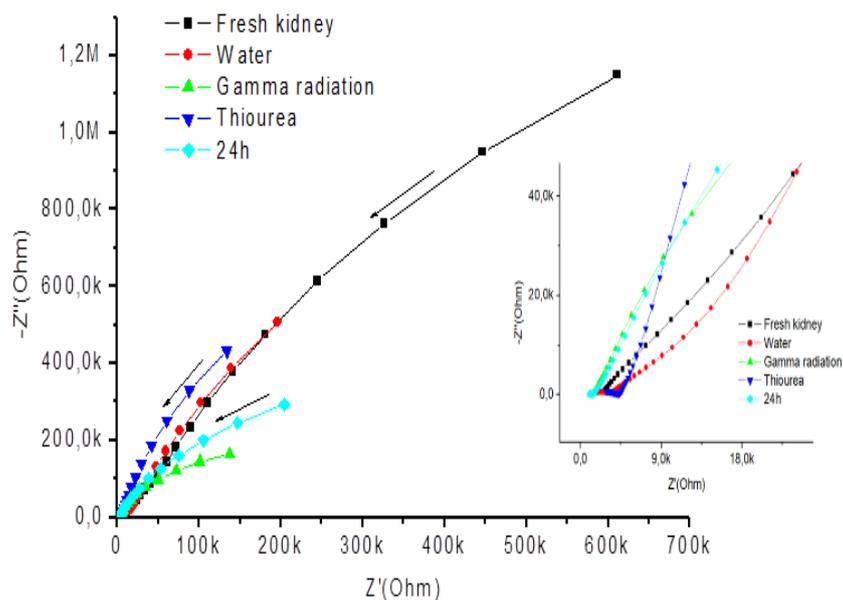


Рис. 3.9. Вплив деструктивних факторів на значення імпедансу тканин нирки у діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц, $-Z''$ – уявна частина, Z' – дійсна частина імпедансу, у вкладці – високочастотні ділянки діаграми. Стрілками показано напрям зростання частоти.

Як і у випадку із тканинами мозку, спостерігається втрата однієї із ланок еквівалентної схеми, що теж може говорити про змішування внутрішньо- та зовнішньо-клітинного вмісту тканини через порушення структурної цілісності мембрани.

Відповідні еквівалентні схеми наведені на рис. 3.10.

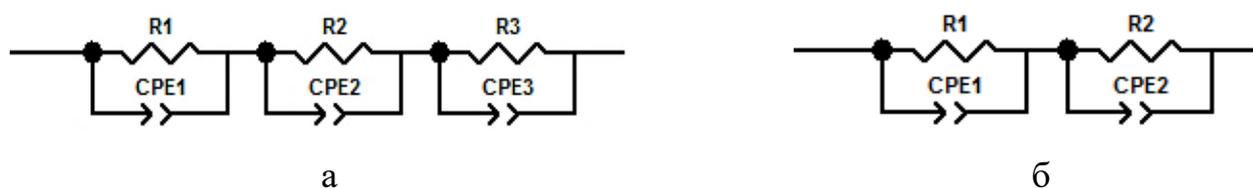


Рис. 3.10. Електричні еквівалентні схеми зразків нирки під впливом зовнішніх чинників: а) – вода, 24 години при кімнатній температурі, гамма-радіація, б) – тіосечовина.

Числові значення параметрів електричних еквівалентних схем наведені у табл. 3. 2.

Таблиця 3.2.

Значення параметрів CPE- та R-елементів електричних еквівалентних схем тканин нирки під впливом зовнішніх чинників.

Нирка	Параметри еквівалентної електричної схеми								
	R1, Ohm $\times 10^3$	CPE1- T, F $\times 10^{-5}$	CPE1- P $\times 10^{-1}$	R2, Ohm	CPE2- T, F $\times 10^{-6}$	CPE2- P $\times 10^{-1}$	R3, Ohm $\times 10^5$	CPE3- T, F $\times 10^{-5}$	CPE3- P $\times 10^{-1}$
Інтакт.	7,90	1,12	0,777	1850	0,856	5,25	197	0,592	7,66
тіосеч.	4 490	2,66	0,895	-	-	-	0,0461	0,122	3,55
вода	14,0	2,18	0,633	3570	1,24	3,89	35,8	2,05	8,76
γ -рад.	0,609	31,4	0,565	1320	1,84	3,80	4,41	4,04	8,72
24 год.	0,659	12,7	0,651	1420	2,25	3,74	9,64	2,44	8,47

3.1.3. Тканини легень та серця

Задля відображення структури інтактних зразків тканин легень та серця (рис. 3.12) у вигляді елементів електричного кола, зокрема для деталізації відмінностей імпедансних спектрів, було побудовано відповідні електричні еквівалентні схеми, які принципово не відрізнялись для обидвох видів зразків, проте структурна будова тканин зумовлює сильні відмінності апроксимованих параметрів (табл. 3.3 і 3.4).

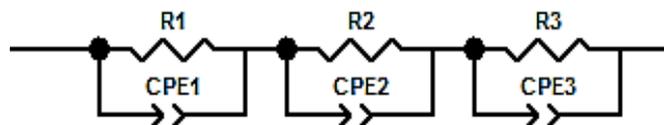


Рис.3.11. Шести-елементна еквівалентна електрична схема інтактних зразків тканин для спектрів легень та серця.

Як і у попередніх випадках, з метою визначення особливостей змін спектрів, до вказаних тканин було застосовано деструктивні чинники. Отримані діаграми Найквіста наведені на рис. 3.12

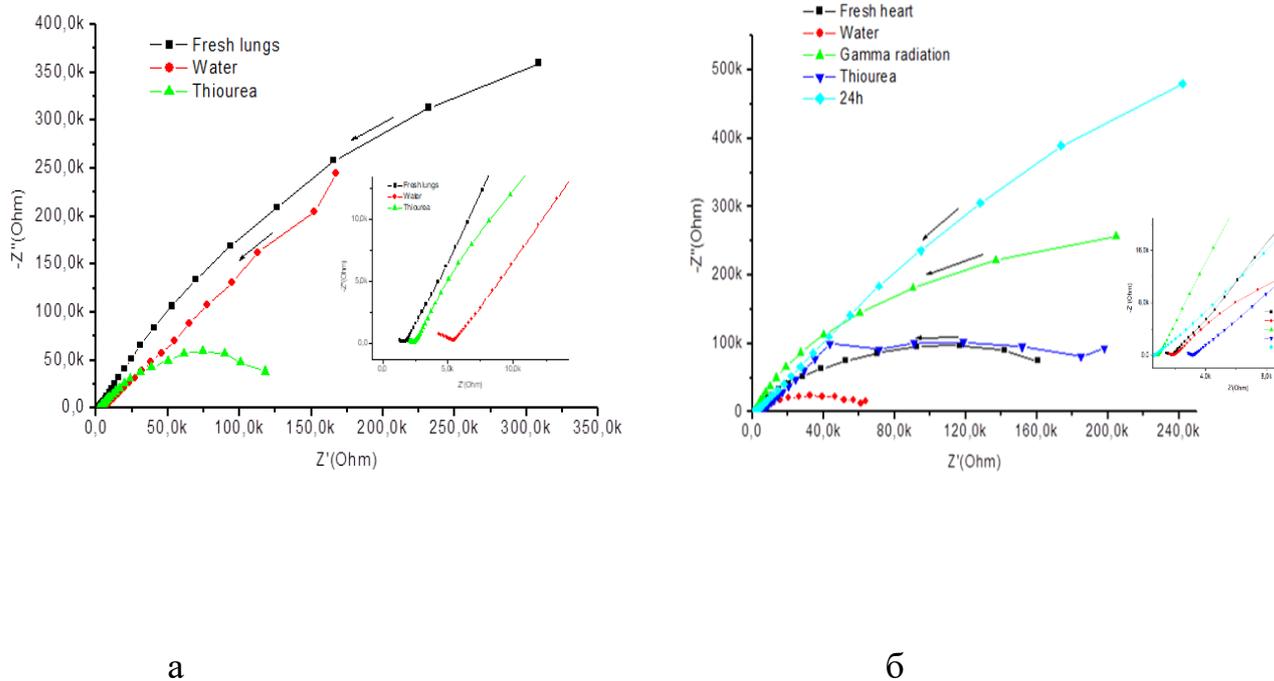


Рис. 3.12. Вплив деструктивних факторів на значення імпедансу тканин а) легень та б) серця у діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц, $-Z''$ – уявна частина, Z' – дійсна частина імпедансу, у вкладці – високочастотні ділянки діаграми. Стрілками показано напрям зростання частоти.

У випадку легень можна чітко зауважити деструктивний вплив використаних факторів у випадку обох органів, що проявляється у зміні розміру та форми відповідної кривої (рис. 3.12а). Також знову є необхідним відзначити суттєвий руйнівний вплив тіосечовини на тканини легень (рис. 3.12а).

З іншого боку, особливості структурних змін тканин серця не дозволяють зауважити їх за допомогою імпедансній спектроскопії, що може вказувати на низьку ступінь їх прояву у зв'язку з морфологічними характеристиками тканини, зокрема із наявністю тришарової оболонки.

Відповідні еквівалентні схеми наведені на рис. 3.13.

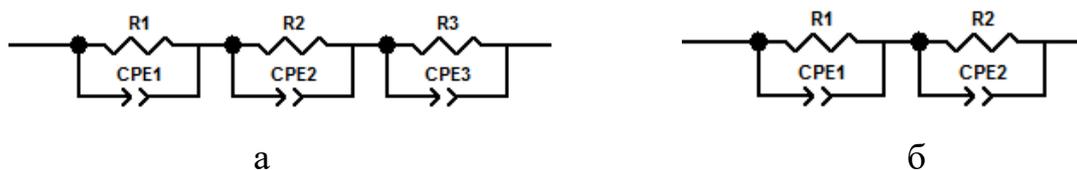


Рис. 3.13. Електричні еквівалентні схеми зразків легень та серця під впливом зовнішніх чинників: а) легені, серце – вода, 24 години при кімнатній температурі, гамма-радіація, б) легені – тіосечовина та вода.

Числові значення параметрів електричних еквівалентних схем наведені у таблиці 3.3 та 3.4.

Таблиця 3.3.

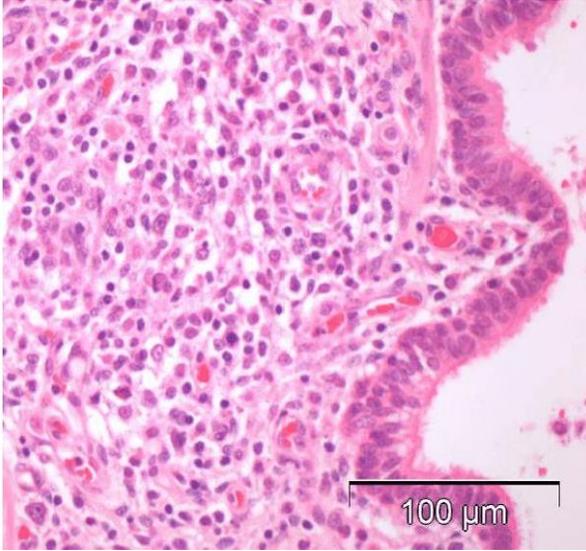
Значення параметрів CPE- та R-елементів електричних еквівалентних схем тканин легень під впливом зовнішніх чинників.

Легені	R1, Ohm $\times 10^3$	CPE1-T, F $\times 10^{-5}$	CPE1-P	R2, Ohm $\times 10^3$	CPE2-T, F $\times 10^{-6}$	CPE2-P	R3, Ohm $\times 10^6$	CPE3-T, F $\times 10^{-5}$	CPE3-P
Інтакт	5,13	5,67	0,64	1,82	1,54	0,373	1,14	1,63	0,808
Тіосеч	179	2,58	0,707	2,47	62,2	0,376	–	–	–
Вода	3330	1,94	0,626	5,54	12,2	0,463	–	–	–

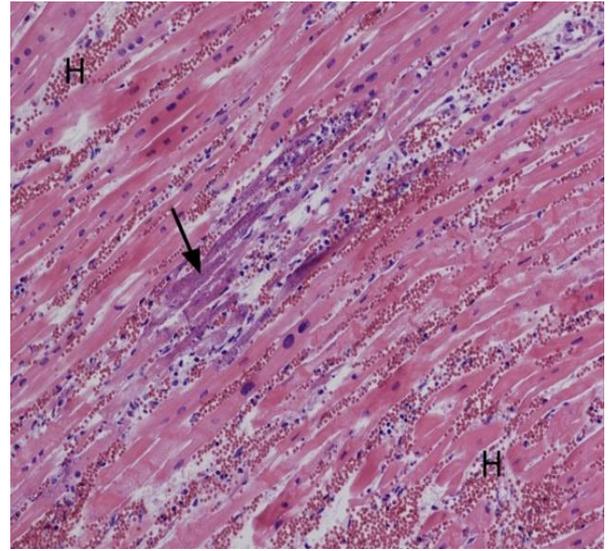
Таблиця 3.4.

Значення параметрів CPE- та R-елементів електричних еквівалентних схем тканин серця під впливом зовнішніх чинників.

Серце	R1, Ohm $\times 10^3$	CPE1-T, F $\times 10^{-5}$	CPE1-P $\times 10^{-1}$	R2, Ohm $\times 10^5$	CPE2-T, F $\times 10^5$	CPE2-P $\times 10^{-1}$	R3, Ohm $\cdot 10^3$	CPE3-T, F $\times 10^{-8}$	CPE3-P $\times 10^{-1}$
Інтакт.	1,25	7,11	8,12	2,39	2,52	8,5	1,85	7,5	5,96
Тіосеч.	6,96	3,81	6,46	2,74	1,8	8,51	3,18	2,72	5,66
Вода	0,401	17,6	5,75	0,0658	3,37	8,14	1,9	7,48	5,5
γ -рад.	9,83	30,1	5,78	6,43	3,19	9,17	0,85	9,51	5,82
24 год.	3870	1,64	8030	0,045	0,000544	5,99	0,65	5820	6,02



а



б

Рисунок 3.14. Мікроскопічне зображення тканин а) - легень та б) - серця свині.

3.1.4 Тканини печінки

Побудована, відповідно отриманої діаграми Найквіста (рис. 3.16), оптимальна електрична еквівалентна схема тканин печінки для забезпечення найкращого співпадіння апроксимованої кривої діаграми Наквіста із експериментальною аналогічно до попередньої схеми, представлена на рис. 3.15.

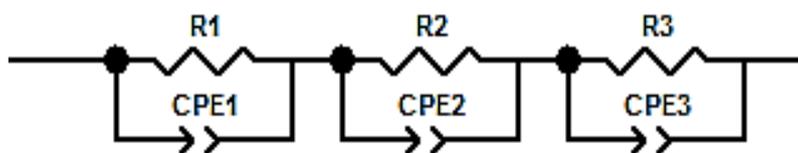


Рис. 3.15. Шести-елементна еквівалентна електрична схема інтактних зразків тканин печінки.

Для тканин печінки (рис. 3.16) були застосовані відповідні деструктивні речовини з метою відстежування поступового морфологічного руйнування.

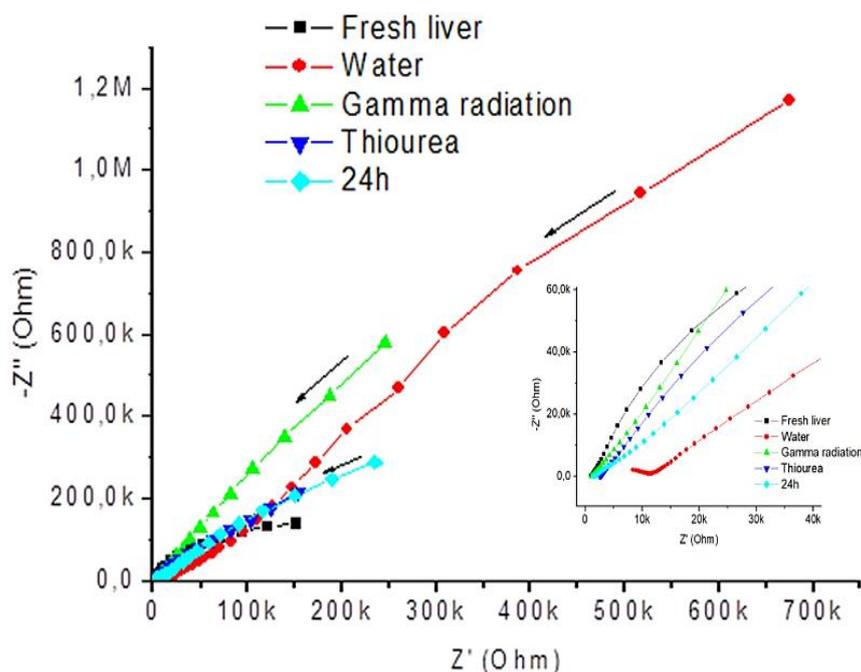


Рис. 3.16. Вплив деструктивних факторів на значення імпедансу тканин печінки у діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц, $-Z''$ – уявна частина, Z' – дійсна частина імпедансу, у вкладці – височастотні ділянки діаграми. Стрілками показано напрям зростання частоти.

Кожен із вибраних чинників демонструє власну інтенсивність впливу на досліджувані зразки, що дозволяє відобразити отриману ступінь пошкодження у вигляді електричних еквівалентних моделей. Відповідні еквівалентні схеми наведені на рис. 3.17.

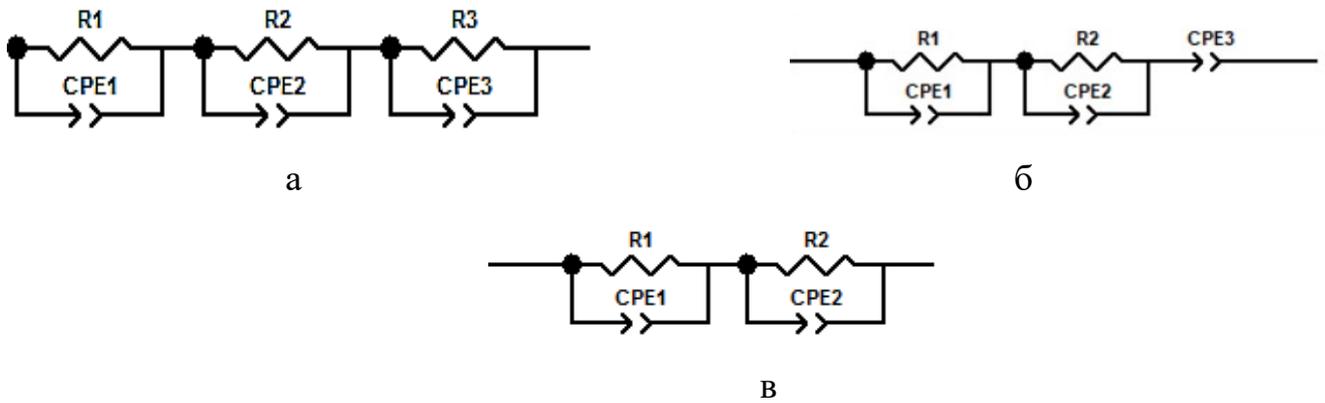


Рис. 3.17. Електричні еквівалентні схеми зразків печінки під впливом зовнішніх чинників: а) γ -радіація, кімнатна температура; б) тіосечовина; в) вода.

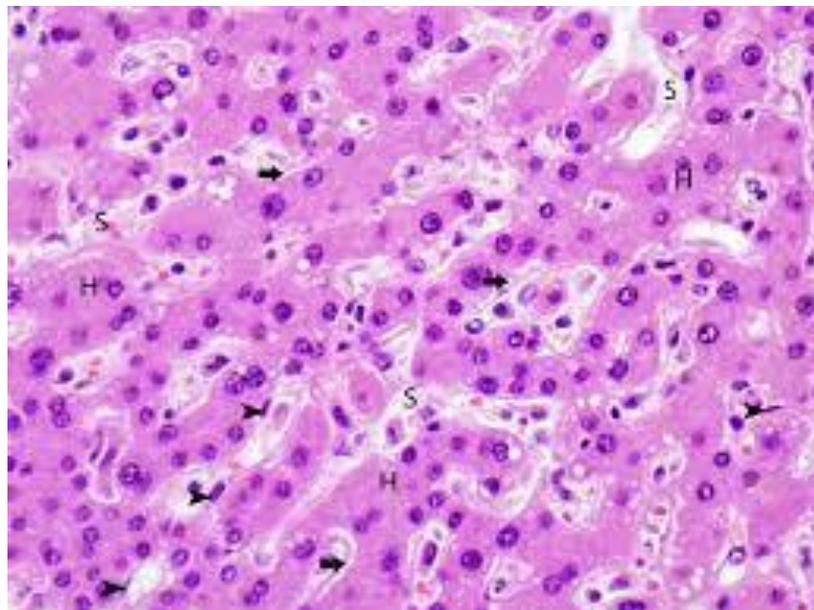


Рис.3.18. Мікроскопічне зображення печінки свині.

Числові значення параметрів електричних еквівалентних схем, отриманих шляхом моделювання у програмному забезпеченні Z-view, наведені у табл. 3.5.

Збільшення зовнішньо- та внутрішньо-клітинних опорів (R1 та R2 відповідно), експериментальних зразків у порівнянні із інтактним вказує на ймовірне накопичення носіїв заряду у ділянці утвореної мембранної пори, що, у свою чергу, може бути спричинено пошкодженням мембрани, чому відповідає зменшення ємності експериментальних зразків, зокрема параметрів CPE1-T та CPE2-T (табл. 3.5).

Таблиця 3.5.

Значення параметрів CPE- та R-елементів електричних еквівалентних схем, де CPE-T є елементом постійної фази, для якого визначено проміжні елементи між активним опором (при CPE-P = 0) або ідеальним конденсатором (CPE-P = 1).

Для CPE-P < 1, елемент визначається, як псевдоконденсатор.

Печінка	R1, Ohm $\times 10^1$	CPE1- T, F $\times 10^1$	CPE1- P $\times 10^{-1}$	R2, Ohm $\times 10^1$	CPE2- T, F $\times 10^1$	CPE2- P	R3, Ohm $\times 10^2$	CPE3- T, F $\times 10^{-1}$	CPE3- P $\times 10^1$
Інтакт.	0,21	22,9	6,71	0,107	0,21	0,133	3,68	6,81	0,107
Вода	1,21	0,844	4,61	4,16	1,21	7,02	–	6,18	4,16
Гіосеч.	86,7	25,2	7,57	–	86,7	–	0,0274	–	–
γ -рад.	0,641	6,84	6,1	0,173	523	14,4	15,2	8,03	677
24 год.	523	2,32	6,28	677	0,641	0,717	0,0109		

З метою спостереження за поступовою зміною структури зразків та, відповідно, електричних схем, було вирішено піддати перших впливу агресивного чинника із поступовим збільшенням інтенсивності його впливу для відстежування всіх особливостей морфологічної деградації. У якості основного фактору руйнування було вирішено обрати температурний вплив, враховуючи важливість контролю температури у процесі збереження тканин [264, 265].

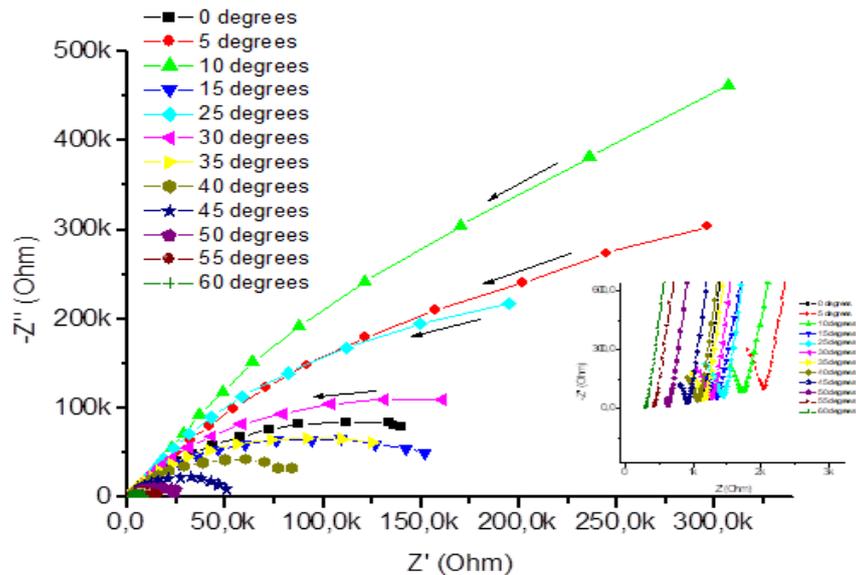


Рис. 3.19. Спектр електричного імпедансу у вигляді діаграм Найквіста інтактних зразків біологічних тканин органів свині у діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц, де $-Z''$ – уявна частина, Z' – дійсна частина комплексного електричного імпедансу.

По мірі збільшення інтенсивності впливу температури спостерігається поступове зменшення комплексного опору, що відповідає ступені зруйнованості тканинних та клітинних елементів (рис. 3.19).

За найвищої температури опір досягає найменших значень, що свідчить про суттєву ступінь пошкодження тканини у зв'язку із інтенсивними процесами, які спричинюють порушення цілісності мембрани, зокрема температурної деградації мембранних компонентів та подальший витік внутрішньо-клітинного вмісту у зовнішньо-клітинний простір [227].

Еквівалентні схеми отриманих спектрів наведені на рис. 3.20.

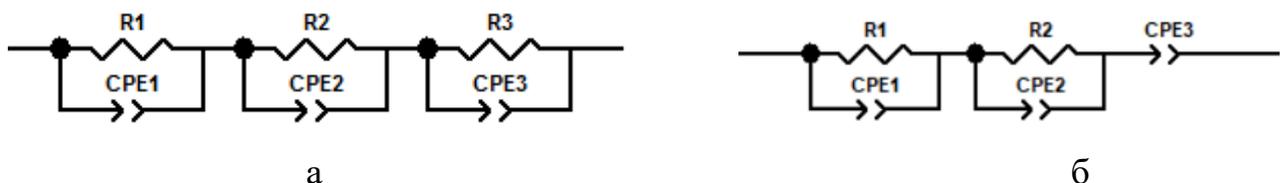


Рис. 3.20. Електричні еквівалентні схеми зразків печінки під впливом діапазонів температур: а) 0 – 40 °С, б) 45 - 60 °С.

У випадку температур нижче 40 °С, суттєвих змін структури еквівалентної схеми не спостерігаються, що може вказувати на відносно низьку руйнівну здатність вказаного спектру та можливість його подальшого використання для помірних впливів на досліджувані тканини.

При підвищенні температури вище 40 °С ознаки денатурації компонентів мембрани білкової природи виражаються у зникненні R3 елементу, який ми визначили як опір плазматичної мембрани, що характерно для температур спектру 45 °С – 60 °С [264].

Числові значення параметрів електричних еквівалентних схем наведені у таблиці 3.6.

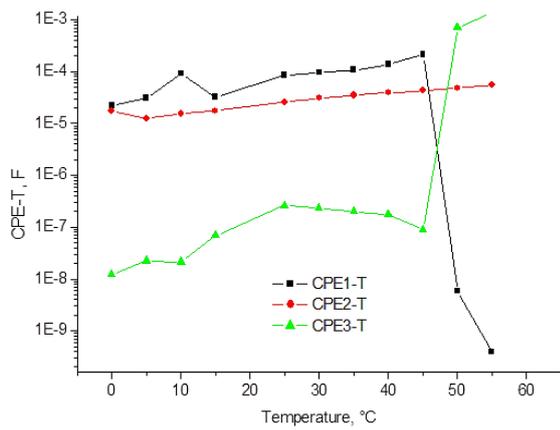
Таблиця 3.6.

Значення параметрів СРЕ- та R-елементів електричних еквівалентних схем зразків печінки під впливом температури.

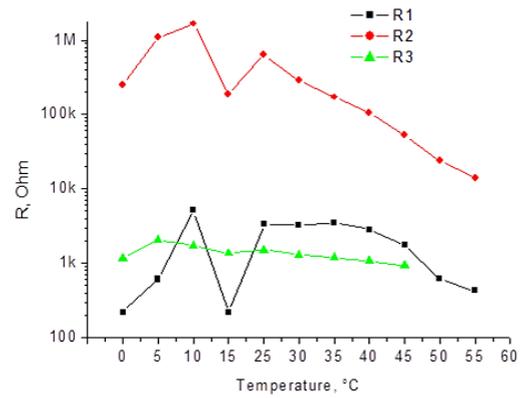
Параметри еквівалентної електричної схеми									
Вплив	R1, Ohm $\times 10^2$	СРЕ1-Т, F $\times 10^{-5}$	СРЕ1- P $\times 10^{-1}$	R2, Ohm $\times 10^5$	СРЕ2- Т, F $\times 10^{-5}$	СРЕ2- P $\times 10^{-1}$	R3, Ohm $\times 10^3$	СРЕ3- Т, F $\times 10^{-7}$	СРЕ3- P $\times 10^{-1}$
Інтак.	2,1	22,9	6,71	3,68	3,05	8,38	1,07	0,133	6,81
0 °С	2,21	2,23	11,7	2,49	1,76	7,49	1,18	0,124	6,85
5 °С	6,09	3,08	8,18	10,8	1,27	7,39	2,08	0,226	6,35
10 °С	51,6	9,12	5,23	16,6	1,55	8,26	1,72	0,214	6,38
15 °С	2,2	3,26	7,86	1,85	1,74	7,91	1,37	0,699	5,7
25 °С	33,4	8,57	7,71	6,37	2,58	8,34	1,5	2,64	5,05
30 °С	32,7	9,75	7,32	2,85	3,08	8,43	1,31	2,3	5,2
35 °С	35,1	10,8	7,05	1,7	3,5	8,52	1,2	2	5,34
40 °С	28,3	13,9	6,78	1,05	3,96	8,48	1,09	1,76	5,46
45 °С	4,26	11,8	9,42	0,568	4,09	8,5	–	8610	0,25
50 °С	6,26	0,00155	7,03	0,236	5,16	8,5	–	4950	4,95
55 °С	4,34	0,00105	7,04	0,135	5,79	8,5	–	7590	4,83
60 °С	2,96	0,00000425	10,6	0,0838	6,96	8,37	–	23500	3,58

Графічний характер зміни параметрів СРЕ та R зображено на рис. 3.21.

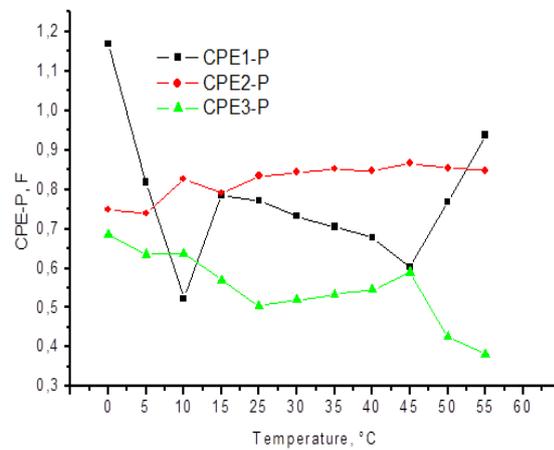
Поступове зменшення опорів R1 та R2 (рис. 3.21) зі збільшенням температури вказує на супровідне поступове руйнування тканинної структури через високу температуру, що веде до денатурації білкових компонентів плазматичної мембрани [264].



а



б



в

Рис. 3.21. Вплив температури на значення параметрів CPE-T (а), CPE-P (б) та R (в) параметрів тканин печінки під впливом температури при діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц, $-Z''$ - уявна частина, Z' – дійсна частина імпедансу.

У випадку CPE-T та CPE-P елементів не спостерігається чіткої та однозначної тенденції до змін із збільшенням температури.

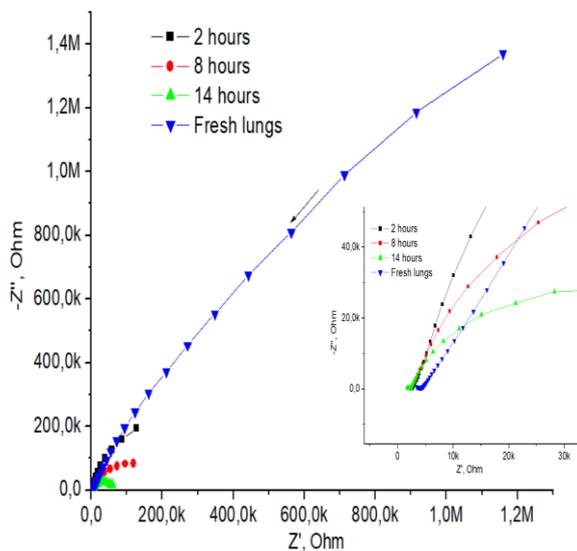
Для температури 0 °C, CPE1-P набуває значення вище за 1, відповідно, можна припустити, що відбулися процеси кристалізації води у зовнішньо- та внутрішньо-

клітинному просторі через що модель електричної еквівалентної схеми можна вважати неадекватною.

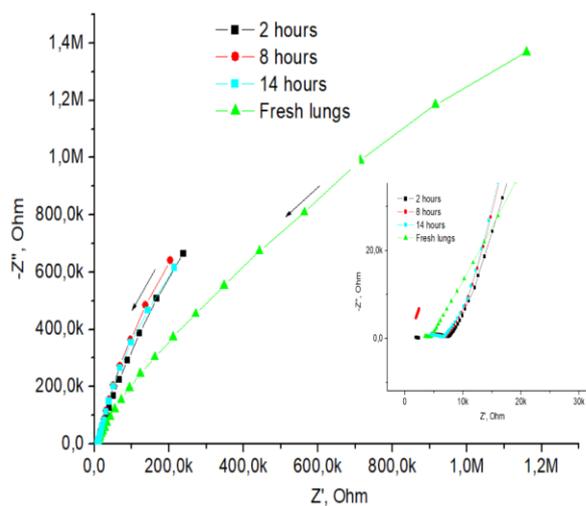
3.2 Термочасовий експеримент

Наступний етап досліджень полягав у використанні температурного впливу, як функції в залежності від часу дії, що дає змогу встановити контроль деструктивних процесів експериментальних зразків.

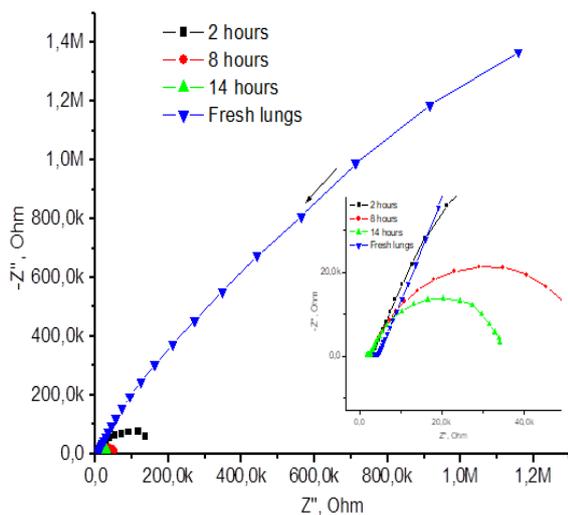
Експериментально отримані діаграми Найквіста зразків легень в залежності від часу зберігання при заданій температурі зображені на рис. 3.22.



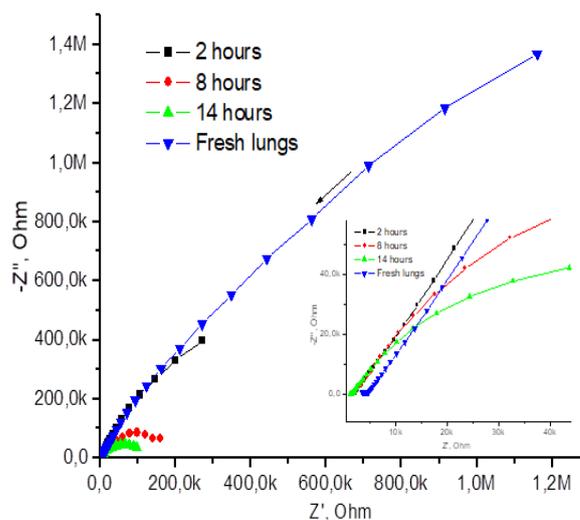
а



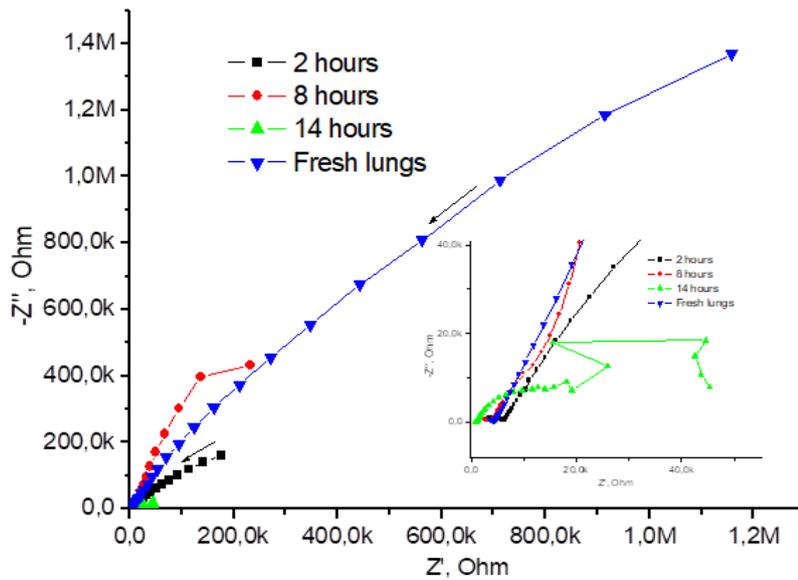
б



в



г



Д

Рисунок 3.22. Спектри імпедансу тканин легень, що зберігались при температурі а) 2°C, б) 8°C, в) 12°C, г) 25°C та д) 35°C, у вкладці – високочастотні ділянки діаграми. Стрілками показано напрям зростання частоти.

Необхідно відзначити чітку тенденцію до зменшення комплексного опору легень по мірі підвищення температури (рис. 3.22), що вказує на поступову деградацію та повноцінне руйнування мембранних компонентів та відображається у видозміненій структурі відповідних електричних еквівалентних схем (рис. 3.23).

Окрім цього, вартує зауважити порівняно великий комплексний опір інтактного зразка з експериментальними при всіх використаних температурах та часових проміжках.

Еквівалентні схеми отриманих спектрів наведені на рис. 3.23.

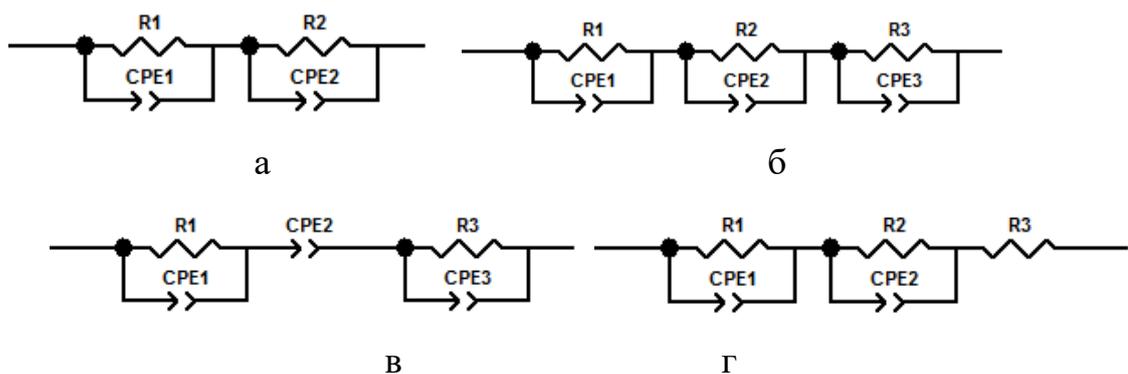


Рис. 3.23. Електричні еквівалентні схеми зразків легені під впливом температури: а) 2 °С – 2 години, 8 годин, 14 годин; б) 8 °С - 2 години, 8 годин, 14 годин та 35 °С – 8 годин; в) 12 °С, 25 °С - 2 години, 8 годин, 14 годин та 35 °С - 14 годин; г) 35 °С - 2 години.

Числові значення параметрів електричних еквівалентних схем наведені у таблиці 3.7.

Таблиця 3.7.

Параметри CPE- та R-елементів електричних еквівалентних схем зразків легень під впливом температури.

°С	Час, год	R1, Ohm ×10 ⁵	CPE1- T, F ×10 ⁻⁵	CPE1- P ×10 ⁻¹	R2, Ohm ×10 ⁴	CPE2- T, F ×10 ⁻⁵	CPE2- P ×10 ⁻¹	R3, Ohm ×10 ³	CPE3- T, F ×10 ⁻⁷	CPE3- P ×10 ⁻¹
–	Інтак.	0,00401	0,147	6,87	479	0,337	7,47	4,01	0,543	5,19
2	2	0,0279	0,332	2,98	68,7	4,4	8,71	–	–	–
	8	0,0248	0,188	3,39	21	4,66	8,59	–	–	–
	14	0,0231	0,133	3,62	6,71	5,26	8,59	–	–	–
8	2	48	1,57	8,79	0,328	6,01	6,74	8	9,33	3,44
	8	43	1,82	9,11	0,422	4,03	7,03	7,26	9	3,44
	14	34,8	1,87	9,13	0,422	3,56	7,16	6,96	7,56	3,54
12	2	1,95	3,48	8,27	–	43,2	0,313	1,14	1,25	6,79
	8	0,553	3,91	8,2	–	50,2	0,242	0,957	1,65	6,54
	14	0,337	4,37	8,36	–	44,4	0,289	0,561	0,428	7,93
25	2	12,2	2,2	8,12	–	6,67	6,71	1,91	6,52	4,39
	8	1,6	2,87	8,85	–	11,4	4,99	1,54	1,15	5,4
	14	1,06	3,72	8,43	–	29,4	4,47	1,22	1,14	5,3
35	2	0,0447	0,0556	4,83	57,1	2,21	6,94	1,63	–	–
	8	23,2	2,22	9,28	1,47	2	0,0002	4,09	31	–

Експериментально отримані діаграми Найквіста зразків серця зображені на рис. 13.

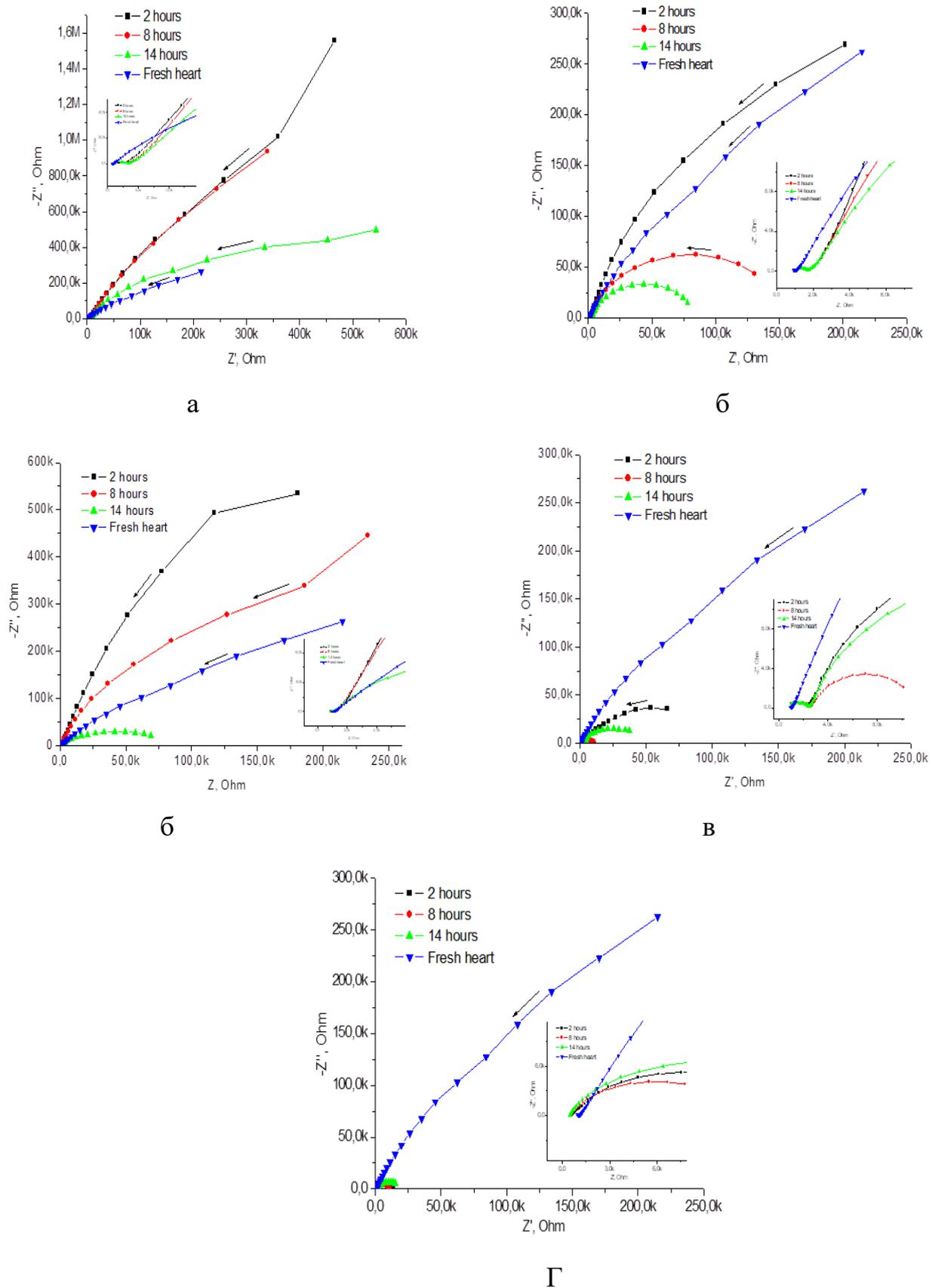


Рис. 3.24. Спектри імпедансу тканин серця, що зберігались при температурі а) 2°C, б) 8°C, в) 12°C, г) 25°C та д) 35°C, у вкладці – високочастотні ділянки діаграми. Стрілками показано напрям зростання частоти.

Як і у випадку легень, комплексний опір тканин серця поступово зменшується навіть при відносно низьких температурах зберігання, що може бути спричинено природним процесом гниття (рис. 3.24 а, 3.24 б та 3.24 в).

З іншого боку, імпеданс різко зменшується при підвищенні температури до 25 °С та вище, що, як і у попередньому випадку, спричинено ймовірною денатурацією білкових компонентів та повним руйнуванням мембрани, зокрема при 8-ми та 14-ти годинному перебуванні під впливом температури, що також виражено у значній зміні структури відповідних еквівалентних схем (рис. 3.25 а – 3.25 е).

При цьому у більшості випадків відсутній R-елемент еквівалентної схеми, що може вказувати на порушення просторового розподілу іонів ззовні та всередині клітини (рис 3. 25а – 3. 25в, 3.25е).

Еквівалентні схеми отриманих спектрів наведені на рис. 3.25.

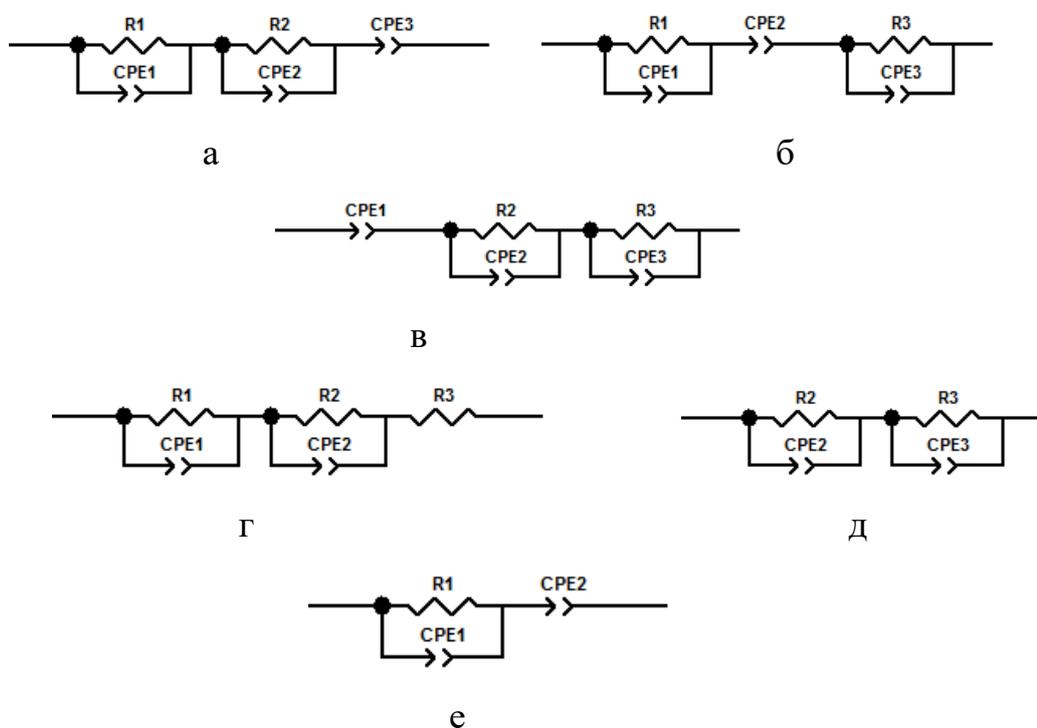


Рис. 3.25. Електричні еквівалентні схеми зразків серця під впливом температури: а) 2 °С – 2 години; б) 2 °С - 8 годин, 14 годин, 8°С - 2 години та 25 °С

- 8 годин ; в) 8 °С - 8 годин, 14 годин, 12 °С - 2, 8 та 14 годин; г) 25°С - 2 години, д) 25°С – 14 годин; е) 35°С - 2, 8 та 14 годин.

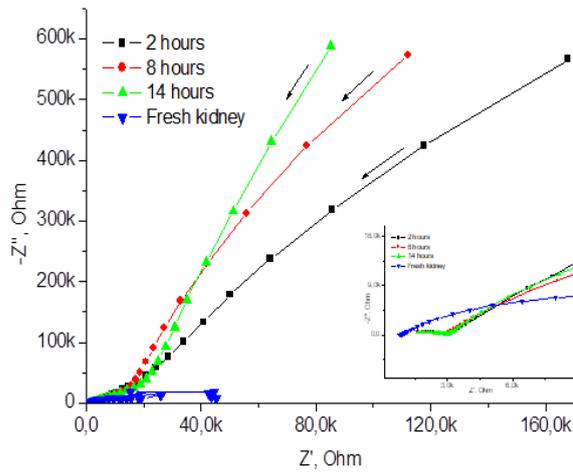
Числові значення параметрів електричних еквівалентних схем наведені у таблиці 3.8.

Таблиця 3.8.

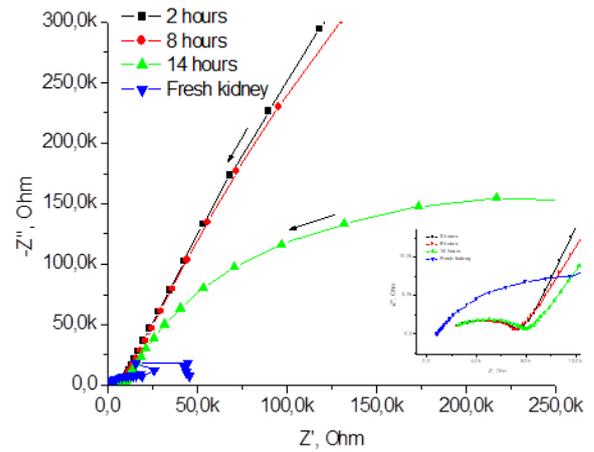
Параметри СРЕ- та R-елементів електричних еквівалентних схем зразків серця під впливом температури.

°С	Час, год	R1 ×10 ⁵	СРЕ1-Т ×10 ⁻⁵	СРЕ1-Р ×10 ⁻¹	R2 ×10 ⁴	СРЕ2-Т ×10 ⁻⁴	СРЕ2-Р ×10 ⁻¹	R3 ×10 ³	СРЕ3-Т ×10 ⁻⁷	СРЕ3-Р ×10 ⁻¹
Інтактний		9,36	2,33	7,89	2,64	0,933	9,15	1,16	43,8	2,97
2	2	0,00657	2,61	8,76	0,355	0,00434	4,58	–	101	8,54
	8	72,6	1,09	8,69	–	2,51	0,632	1,77	0,303	7,57
	14	11,5	1,31	8,52	–	2,47	0,621	1,77	0,378	7,4
8	2	7,58	2,63	8,72	–	4,62	0,638	0,516	0,38	8,19
	8	–	4,46	3,21	14,5	0,303	8,9	1,68	4,84	4,81
	14	–	4,57	3,17	7,74	0,347	8,85	1,65	3,24	5,08
12	2	–	2,78	4,86	355	0,267	9,49	1,07	1,08	5,77
	8	–	5,06	4,06	99,7	0,287	9,29	1,05	1,07	5,79
25	2	1,05	6,23	7,47	0,183	0,00544	5,87	0,54	–	–
	8	0,083	5,92	8,64	–	12,8	0,24	2,07	5,71	5,79
	14	–	–	–	4,18	0,907	8,17	2,61	12,8	4,58
35	2	0,137	4,02	7,94	–	14,3	0,17	–	–	–
	8	0,105	7,14	8,41	–	16,5	0,117	–	–	–
	14	0,179	23,7	8,27	–	21,6	0,046	–	–	–

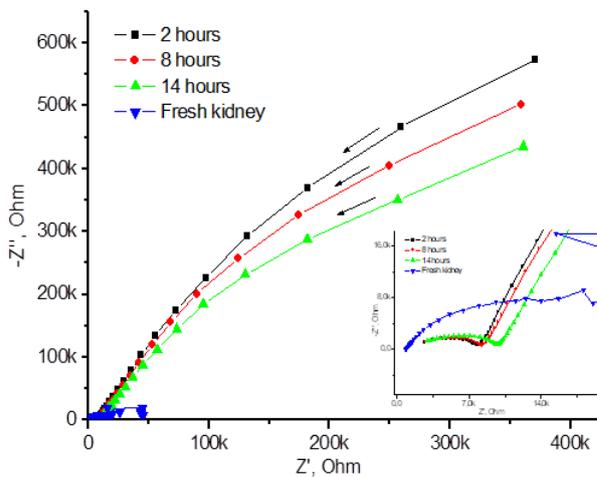
Експериментально отримані діаграми Найквіста зразків нирок зображені на рис. 3.26.



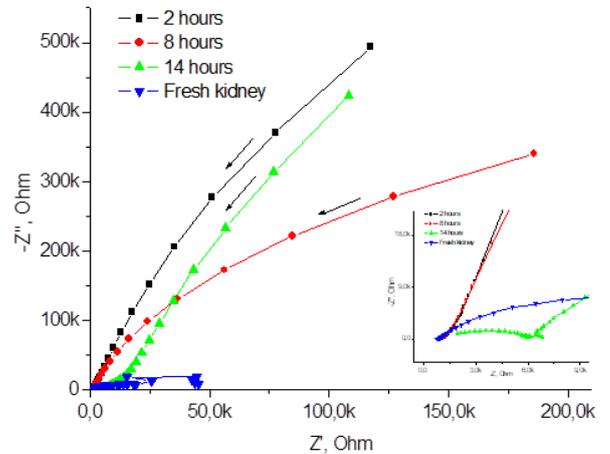
а



б



в



г

Рис. 3.26. Спектри імпедансу тканин нирки, що зберігались при температурі а) 2°C, б) 8°C, в) 12°C та г) 25°C, у вкладці – високочастотні ділянки діаграми. Стрілками показано напрям зростання частоти.

Комплексний опір нирки характеризується поступовим зменшенням як по мірі підвищення температури, так і через тривалість її впливу, проте різких змін, як у випадку зразків серця, не спостерігається. Відповідно до цього структура еквівалентних схем досліджуваних зразків суттєво не змінюється (рис. 3.27 а, 3.27 б).

Еквівалентні схеми отриманих спектрів наведені на рис. 3.27.



Рис. 3.27. Електричні еквівалентні схеми зразків нирки під впливом температури: а) 2 °С, 8°С, 12°С та 25°С – 2, 8 та 14 годин; б) 12 °С - 14 годин.

Числові значення параметрів електричних еквівалентних схем наведені у табл. 3.9.

Таблиця 3.9.

Параметри СРЕ- та R-елементів електричних еквівалентних схем зразків нирки під впливом температури.

°С	Час, год	R1 ×10 ⁶	СРЕ1- Т ×10 ⁻⁵	СРЕ1- Р ×10 ⁻¹	R2 ×10 ³	СРЕ2- Т ×10 ⁻⁵	СРЕ2- Р ×10 ⁻¹	R3 ×10 ³	СРЕ3- Т ×10 ⁻⁷	СРЕ3- Р ×10 ⁻¹
2	2	5,68	2,04	9,01	0,152	3,08	7,43	3,2	5,13	4,73
	8	6,07	2,38	9,55	0,139	2,01	7,88	2,99	5,39	4,7
	14	12,5	2,41	9,62	0,207	1,93	7,96	3,14	5,87	4,64
8	2	3,16	1,42	8,47	8,95	8,08	8,13	8,14	5,43	4,65
	8	2,39	1,8	8,51	6,04	5,93	7,73	7,96	4,99	4,73
	14	0,388	1,97	8,46	2,4	4,46	8,91	8,82	4,68	4,75
12	2	1,94	1,41	8,63	7,33	5,02	9,27	8,74	7,44	4,36
	8	1,47	1,61	8,76	9,86	3,98	9,04	9,19	7,27	4,37
	14	1,5	1,47	7,99	8,52	215	5,8	1,62	–	–
25	2	4,76	2,48	9,23	0,736	13	6,5	1,1	2,74	5,12
	8	1,07	2,74	9,13	0,472	12,3	6,87	1,1	3,66	4,94
	14	5,6	2,12	9,09	6,92	2,71	8,68	6,6	4,44	4,96

Експериментально отримані діаграми Найквіста зразків печінки зображені на рис. 3.27.

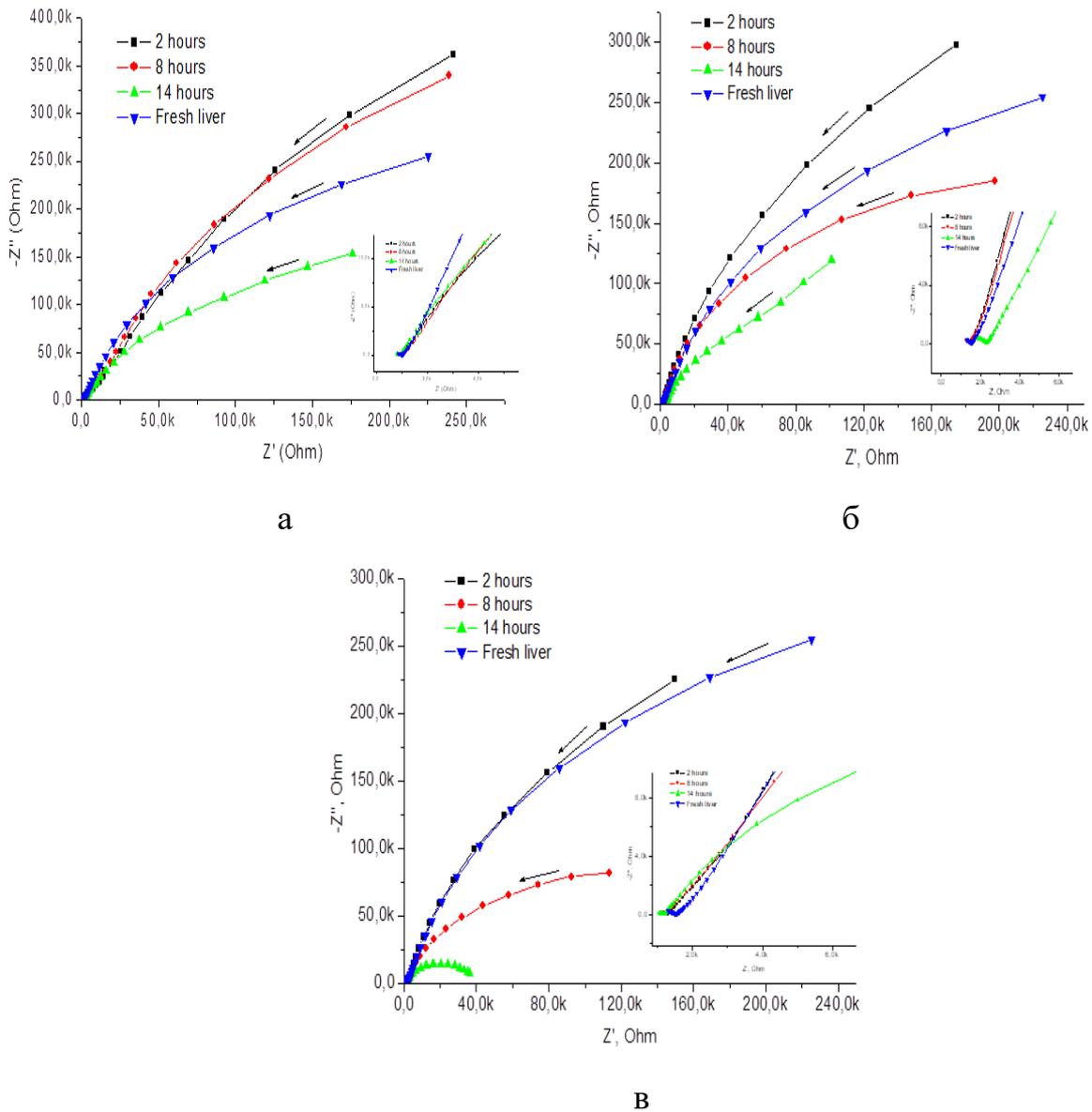


Рис. 3.27. Спектри імпедансу тканин печінки, що зберігались при температурі а) 2°C, б) 8°C та в) 12°C, у вкладці – високочастотні ділянки діаграми. Стрілками показано напрям зростання частоти.

Комплексний опір зразків печінки під впливом перших трьох температур (2-ох, 8-ми та 12-ти градусів) не характеризується різкими змінами, проте можна зауважити поступове зменшення імпедансу по мірі зростання тривалості впливу температури через вже згадані процеси гниття (рис. 3.27).

Також варто зауважити суттєву відмінність імпедансних спектрів у випадку 2-ох, 8-ми та 14-ти годинного впливу (рис. 3.27 в). Значення параметрів електричних еквівалентних схем тканин печінки наведені у таблиці 3.10.

Еквівалентні схеми отриманих спектрів наведені на рис. 3.28.



Рис. 3.28. Електричні еквівалентні схеми зразків печінки під впливом температури: а) 2°C і 12°C – 2, 8, 14 годин, 8 °C – 2 та 8 годин; б) 8 °C - 14 годин.

Таблиця 3.10.

Параметри CPE- та R-елементів електричних еквівалентних схем зразків печінки під впливом температури.

°C	Час, год.	R1 $\times 10^5$	CPE1- T $\times 10^{-5}$	CPE1- P $\times 10^{-1}$	R2 $\times 10^3$	CPE2- T $\times 10^{-4}$	CPE2- P $\times 10^{-1}$	R3 $\times 10^3$	CPE3- T $\times 10^{-8}$	CPE3- P $\times 10^{-1}$
Інтакт.		6,74	2,4	8,64	0,628	1,35	6,14	1,54	3,07	6,4
2	2	0,00942	2,56	9,16	22,2	0,366	7,05	1,48	1,49	6,81
	8	8,88	2,69	9,25	24,9	0,394	7,09	1,67	28,1	4,68
	14	0,0737	71,5	12,9	430	0,262	7,69	1,39	3,8	6,13
8	2	9,89	2,82	8,82	0,338	1,44	7,17	1,48	5,05	6,01
	8	4,34	3,01	8,96	0,613	1,31	6,9	1,47	5,25	5,99
	14	0,006	–	–	360	0,369	7,62	1,67	7,41	6,33
12	2	7,03	3,34	8,7	1,06	1,26	7,23	1,31	7,52	5,73
	8	2,04	4,09	8,32	0,26	1,7	8,35	1,28	9,97	5,52
	14	0,242	11,8	7,23	1,19	0,007	5,69	16,4	10 000	9,86

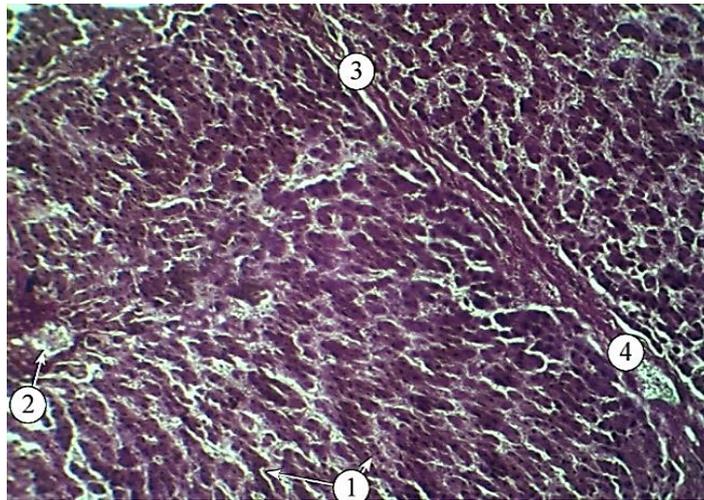
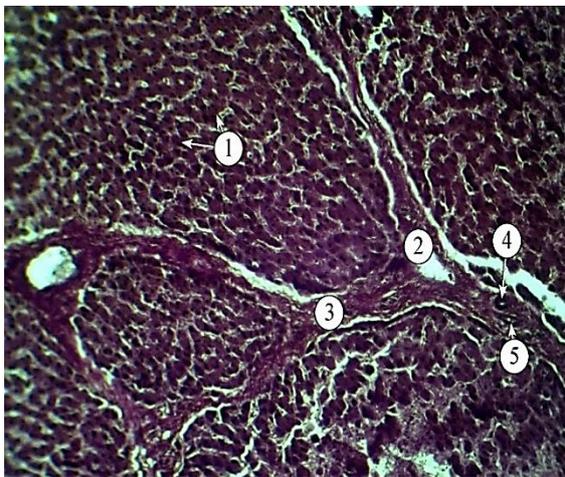
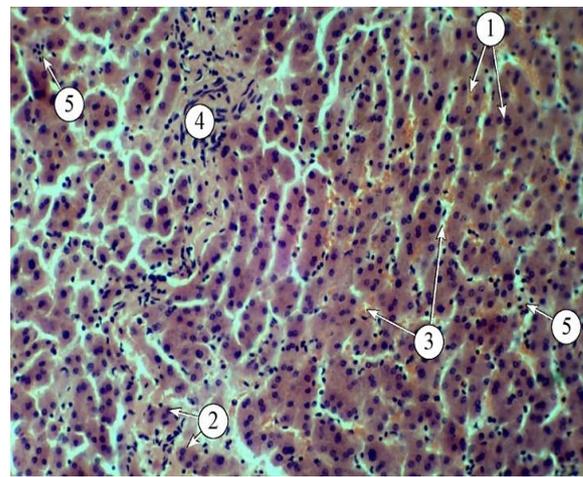


Рис 3.28. Інтактний зразок: 1 – печінкові пластинки, 2 – центральна вена, 3 – прошарки пухкої сполучної тканини, 4 – кровоносні судини; Забарвлення: за Харттом. Зб.: x100.



а



б

Рис. 3.29. Зразок при 8°C: а) 1 – печінкові пластинки, 2 – міжчасточкова вена, 3 – прошарки пухкої сполучної тканини, 4 – міжчасточкова артерія, 5 – міжчасточкова жовчна протока. Забарвлення: за Харттом. Зб.: x100; б) 1 – печінкові пластинки, 2 – двоядерні гепатоцити, 3 – синусоїд, 4 – прошарки пухкої сполучної тканини, 5 – лімфо-гістіоцитарні інфільтрати. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: x200.

При світлооптичному дослідженні зразків печінки як інтактного, так і трансформованих, в усіх полях зору простежується чітке розмежування часточок завдяки добре розвиненій міжчасточковій сполучній тканині (рис. 3.28 – 3.29), в

якій при спеціальних методах забарвлення ідентифікуються колагенові та еластичні волокна.

На верхівках печінкової часточки у порталних просторах знаходяться тріади – міжчасточкові артерія, вена, жовчна протока. У часточках візуалізуються впорядковано у ряди розміщені гепатоцити – печінкові пластинки, які радіально направлені до центральної вени. Завдяки такій специфіці архітекtonіки у печінковій часточці виділяється центральна, проміжна та периферична зони, а загалом макрозразок як електрична система має ізотропну структуру.

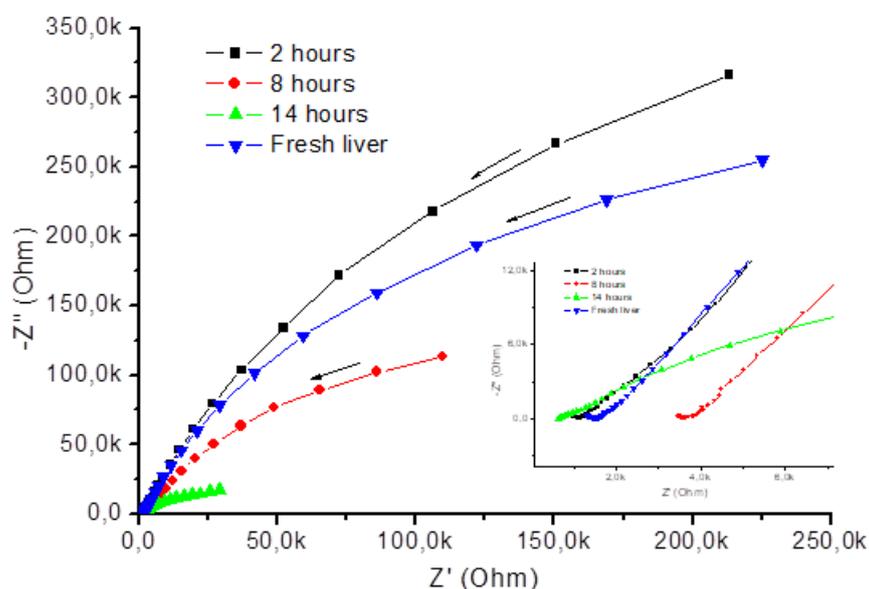


Рис. 3.30. Трансформація спектрів імпедансу тканин печінки при температурі 25°C, у вкладці – високочастотні ділянки діаграми. Стрілками показано напрям зростання частоти.

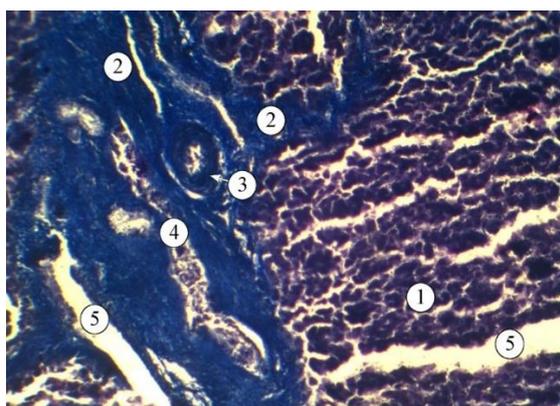
Складові комплексного опору демонструють такий же поступовий спад, як і у попередніх випадках, зокрема різку відмінність спектру при 14-ти та 8-ми годинному впливі, що свідчить про інтенсифікацію температурного впливу. При цьому імпеданс інтактного зразку суттєво не відрізняється від спектру досліджуваного при 2-ох годинному впливі. Значення параметрів електричних еквівалентних схем тканин печінки під впливом 25 °C наведені у таблиці 3.11.

Структура розробленої електричної еквівалентної схеми є ідентичною схемі зображених на рис. 3.28 а.

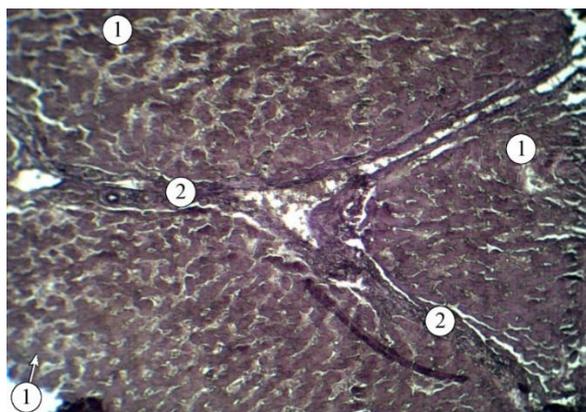
Таблиця 3.11.

Параметри СРЕ- та R-елементів електричних еквівалентних схем зразків печінки під впливом 25 °С.

°С	Час, год	R1 $\times 10^5$	СРЕ1-Т $\times 10^{-5}$	СРЕ1-Р $\times 10^{-1}$	R2 $\times 10^3$	СРЕ2-Т $\times 10^{-4}$	СРЕ2-Р $\times 10^{-1}$	R3 $\times 10^3$	СРЕ3-Т $\times 10^8$	СРЕ3-Р $\times 10^{-1}$
25	2	9,99	2,45	8,7	2,42	1,27	6,12	1,14	4,8	6,19
	8	3,24	4,46	8,27	0,29	0,532	6,79	3,62	$6,04 \cdot 10^{-17}$	6,2
	14	0,896	14,4	5,82	7,09	2,91	9,81	0,632	$1,85 \cdot 10^{-18}$	9,41
Інтакт.		6,74	2,4	8,64	0,628	1,35	6,14	1,54	3,07	6,4

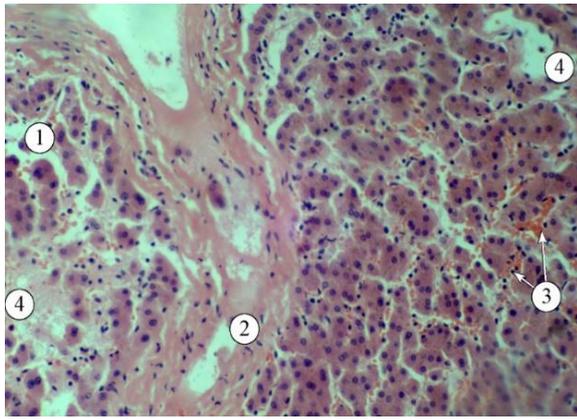


а

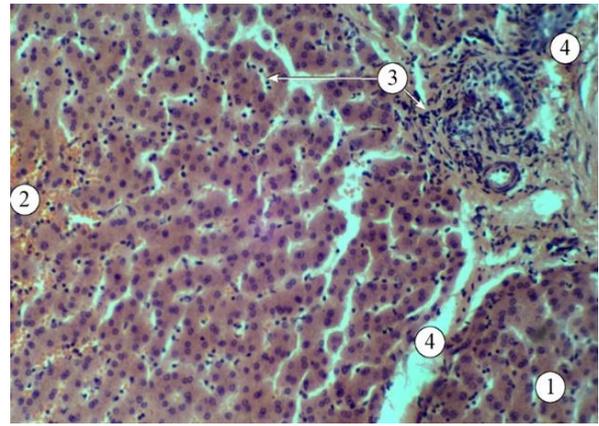


б

Рис. 3.31. а) 1 – дезорганізовані печінкові пластинки, 2 – ущільнені ділянки міжчасточкових сполучнотканинних прошарків, 3 – міжчасточкова артерія, 4 – міжчасточкова вена, 5 – явища набряку. Забарвлення: трихромне за Масоном. Зб.: x100; б) 1 – дезорганізовані печінкові пластинки, 2 – ущільнені ділянки міжчасточкових сполучнотканинних прошарків. Забарвлення: за Хартом. Зб.: x100.



а



б

Рис. 3.32. а) - 1 – дезорганізовані печінкові пластинки, 2 – набряклі ділянки міжчасточкових сполучнотканинних прошарків, 3 – синусоїди, 4 – явища набряку; б) 1 – печінкові пластинки, 2 – гемостаз в проміжній зоні часточки, 3 – лімфо-плазмоцитарні інфільтрати, 4 – явища набряку. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: x200.

При мікроскопічному дослідженні зразків спостерігаються більш виражені набряково-дистрофічні зміни (рис. 3.31 – 3.32).

У стромі помітні ущільнення та деформації, еластичні волокна стоншені (рис. 3.31б), є локуси з набряклими колагеновими волокнами (рис. 3.31а). Особливо виражені едематозні зміни у портальних просторах, у стінці складових тріади печінки (рис. 3.31а).

Звертає увагу стаз у синусоїдах проміжної зони часточки (рис. 3.32 а). Печінкові пластинки дезорганізовані, втрачається радіальна архітектоніка (рис. 3.32 а). Слаба еозинофілія цитоплазми гепатоцитів (рис. 3.31 б). Усі ці зміни супроводжуються лімфо-плазмоцитарною інфільтрацією (рис. 3.31 а).

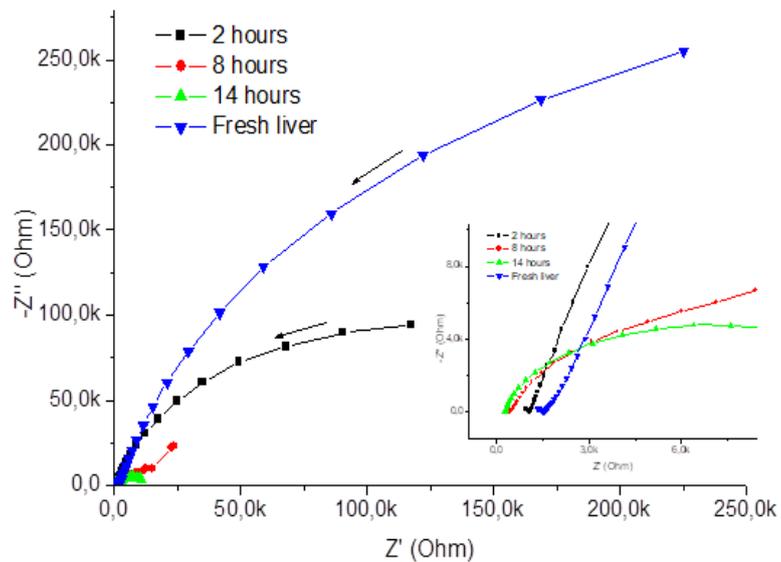


Рис. 3.33. Трансформація спектрів імпедансу тканин печінки при температурі 35°C, у вкладці – високочастотні ділянки діаграми. Стрілками показано напрям зростання частоти.

Враховуючи близькість значення використаної температури до порогу денатуративної чутливості білкових компонентів плазматичної мембрани, можна спостерігати чітке відмежування спектрів імпедансу при різних часових проміжках та екстремальне зниження обидвох складових імпедансу при 14-ти годинному температурному впливі, що говорить про повне руйнування плазматичної мембрани.

Аналіз діаграм Найквіста (рис. 3.33) для температури зберігання 35°C дозволив побудувати відповідні електричні еквівалентні схеми (рис. 3.34). Параметри електричних еквівалентних схем наведені у таблиці 3.12.

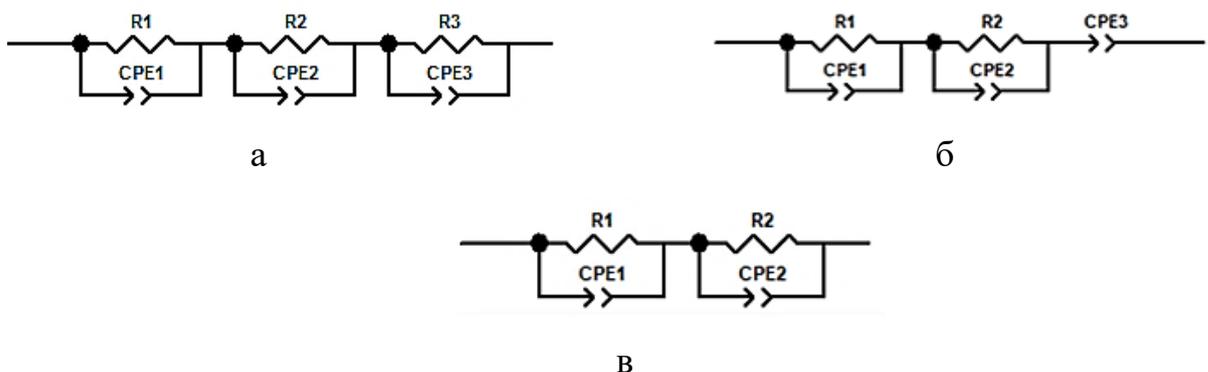
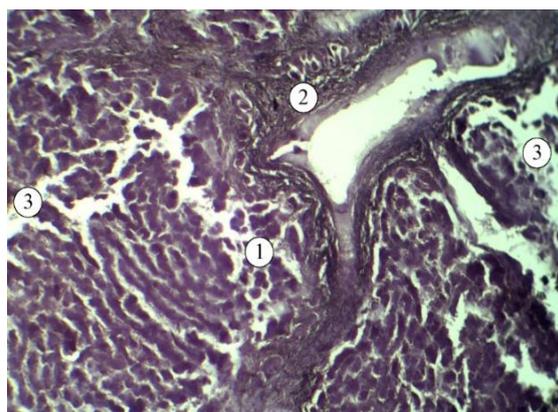


Рис. 3.34. Електричні еквівалентні схеми зразків печінки для спектрів зразків при температурі 35°C протягом а) - 2-ох, б) - 8-ми та в) - 14 годин.

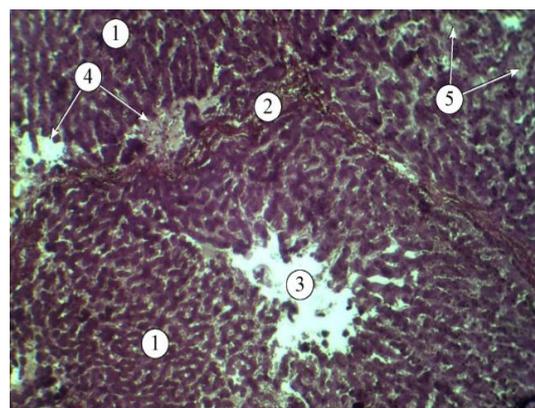
Таблиця 3.12.

Параметри СРЕ- та R-елементів електричних еквівалентних схем зразків печінки під впливом 35 °С.

°С	Час, год	R1 ×10 ²	СРЕ1-Т ×10 ⁻⁵	СРЕ1-Р ×10 ⁻¹	R2 ×10 ³	СРЕ2-Т ×10 ⁻⁴	СРЕ2-Р ×10 ⁻¹	R3 ×10 ⁵	СРЕ3-Т ×10 ⁻⁵	СРЕ3-Р ×10 ⁻¹
35	2	0,262	7,33	9,29	1,07	0,0302	6,55	2,26	4,64	8,71
	8	4,3	0,00298	5,47	4,65	1,75	9,78	–	23,6	6,44
	14	2,54	0,0233	3,95	12,3	2,73	8,55	–	–	–
Інтакт.		6740	2,4	8,64	0,628	1,35	6,14	0,0154	0,00307	6,4

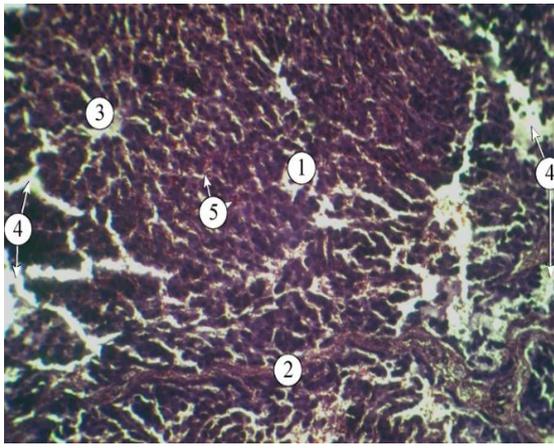


а

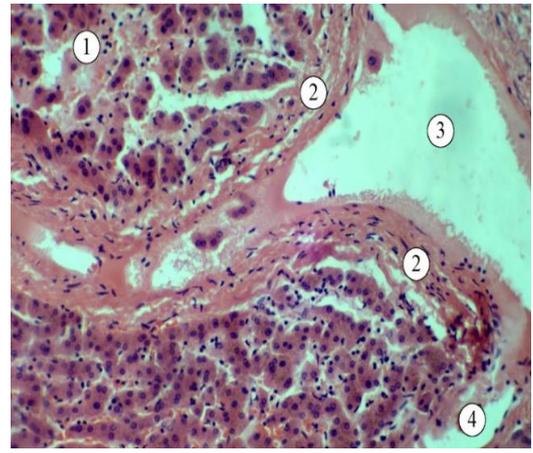


б

Рис. 3.35. а) 1 – дезорганізовані печінкові пластинки, 2 – ділянки міжчасточкових сполучнотканинних прошарків, 3 – явища набряку; б) 1 – печінкові пластинки, 2 – ділянки міжчасточкових сполучнотканинних прошарків, 3 – деформований просвіт центральної вени, 4 – локальний периферичний набряк, 5 – розширені синусоїди. Забарвлення: за Хартом. Зб.: x100.

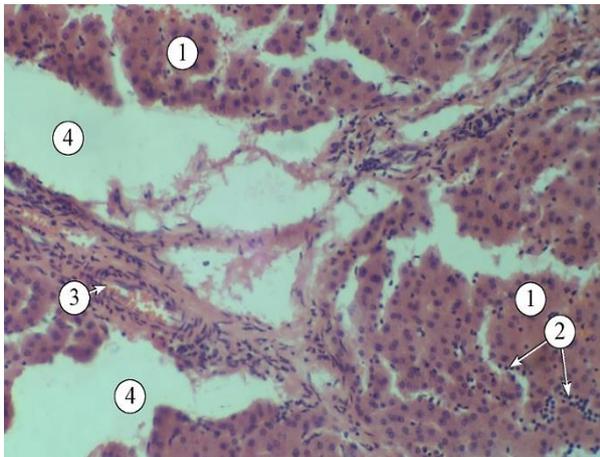


а

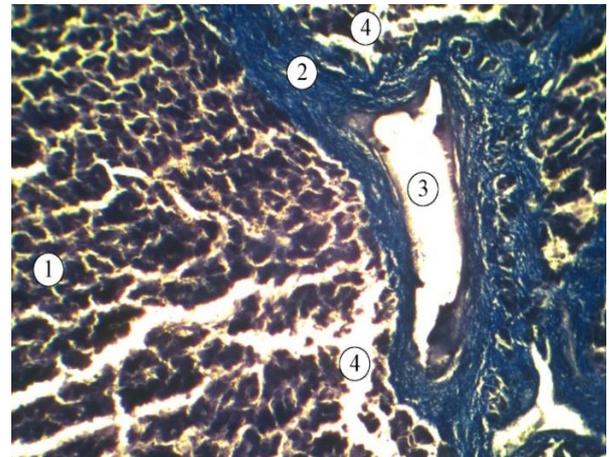


б

Рис. 3.36. а) 1 – деструктуровані печінкові пластинки, 2 – ділянки міжчасточкових сполучнотканинних прошарків, 3 – центральна вена, 4 – периферичний набряк, 5 – повнокровні синусоїди центральної зони. Забарвлення: за Харттом. Зб.: x100; б) 1 – дезорганізовані печінкові пластинки, 2 – ділянки міжчасточкових сполучнотканинних прошарків, 3 – дилатована міжчасточкова вена, 4 – периферичний набряк часточки. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: x200.



а



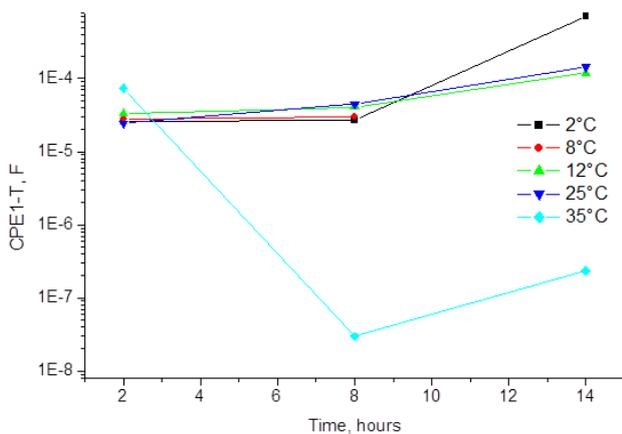
б

Рис.3.37. а) 1 – дезорганізовані печінкові пластинки, 2 – лімфо-гістіоцитарні інфільтрати, 3 – міжчасточкова артерія, 4 – периферичний набряк часточок. Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб.: x200. б) 1 – печінкові пластинки, 2 – ділянки міжчасточкових сполучнотканинних прошарків, 3 – дилатована міжчасточкова вена, 4 – периферичний набряк. Забарвлення: трихромне за Масоном. Зб.: x100.

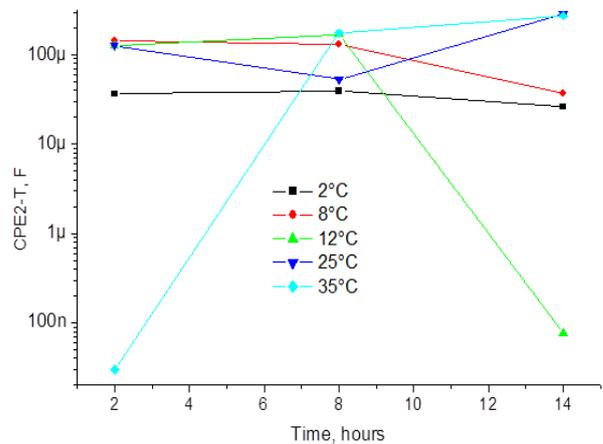
При мікроскопічному дослідженні відповідних зразків можна зауважити притаманну їм спотворену архітектуру (рис. 3.35 – 3.36). Сполучнотканинні прошарки розшаровані, деформовані (рис. 3.35 а). Еластичні волокна локально дезорганізовані (рис. 3.35 а, 3.36 б), колагенові волокна набрякли (рис. 3.36 б).

У порталних трактах міжчасточкові судини та жовчні протоки інфільтровані, їх стінка набрякла, а просвіт деформований (рис. 3.36 - 3.37). Тяжко диференціюються печінкові пластинки (рис. 3.35 а). Характерна повнокровність та деструктурованість синусоїдів і в центральних зонах (рис. 3.36 а) та генералізована інфільтрація (рис. 3.37).

Експериментально отримані залежності параметрів R-, CPE-T та CPE-P схеми зразків печінки від тривалості температурного впливу зразків печінки зображені на рис. 3.38, 3.39 та 3.40.



а



б

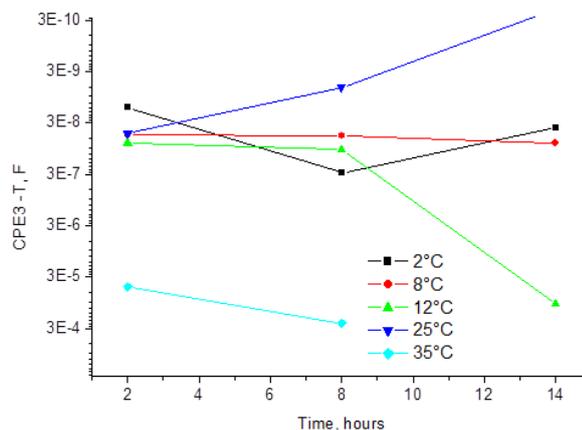
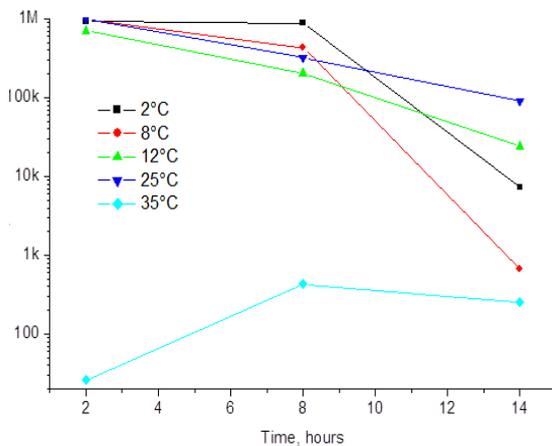


Рис 3.38. Вплив температури на значення параметрів СРЕ1-Т (а), СРЕ2-Т (б) та СРЕ3-Т (в) тканин печінки під впливом температури при діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц, $-Z''$ - уявна частина, Z' – дійсна частина імпедансу.

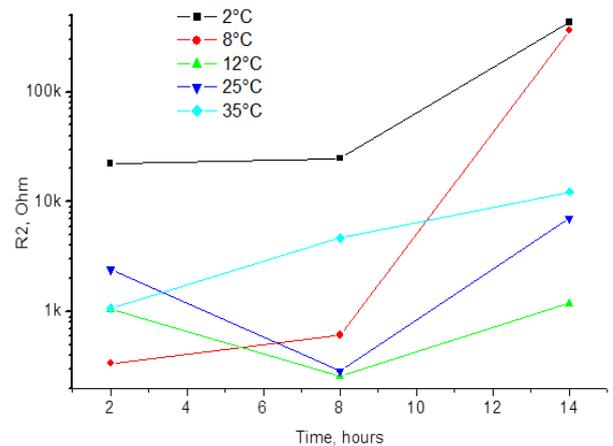
Поведінка СРЕ1-Т елемента демонструє тенденцію до незначного росту, проте без суттєвих змін (рис. 3.38). З іншого боку, є необхідним виділити різкий спад з наступним невеликим ростом СРЕ1-Т під впливом 35 °С, що може вказувати на порушення розподілу іонів у зовнішньо-клітинній зоні (рис. 3.38 а) [266].

СРЕ2-Т елемент не демонструє чіткої тенденції, окрім різкої зміни його значення при 35°С (рис. 3.38 б), у даному випадку це різке збільшення, що потенційно доповнює собою різке зменшення, у випадку СРЕ1-Т.

СРЕ3-Т характерний різкими спадами у випадку 12 °С та 35 °С, зокрема під впливом останньої СРЕ3-Т досягає найнижчого значення лиш до 8-ми годин (рис. 3.39 в).



а



б

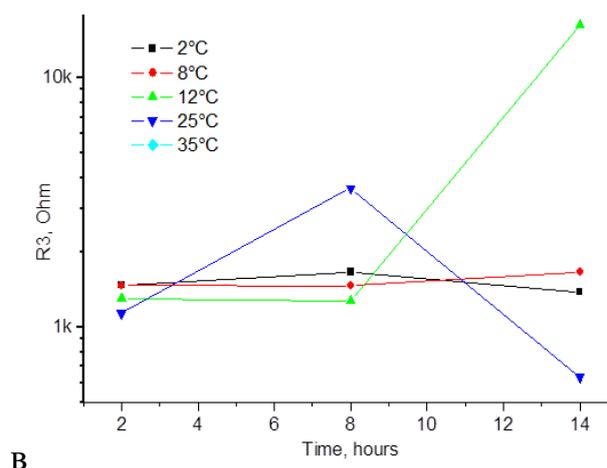


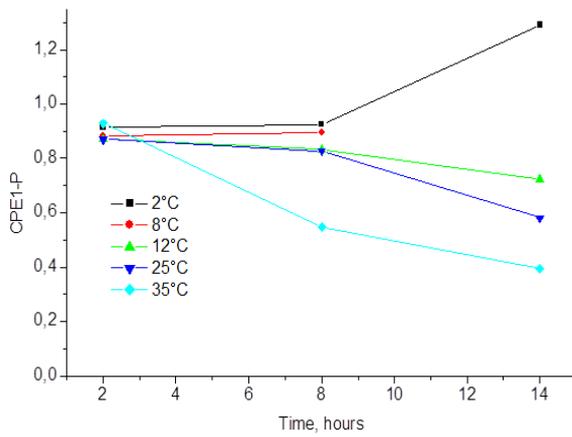
Рис. 3.39. Вплив температури на значення параметрів R1 (а), R2 (б) та R3 (в) тканин печінки під впливом температури при діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц, $-Z''$ - уявна частина, Z' – дійсна частина імпедансу.

Опір у зовнішньо-клітинному середовищі (R1) демонструє загальну тенденцію до спаду з часом, що може вказувати на перерозподіл іонного складу в цій ділянці в іншому напрямку, у зв'язку із ймовірними пошкодженнями мембрани.

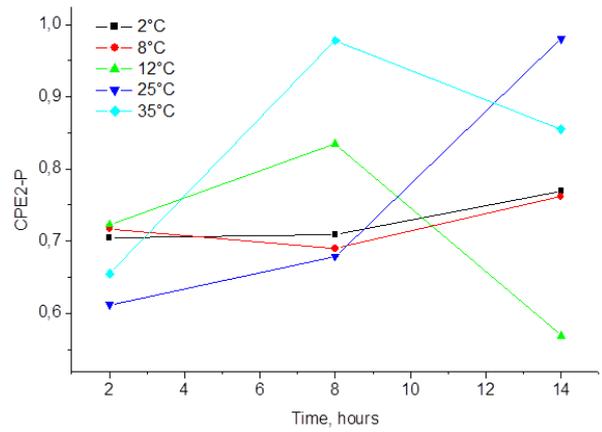
Цікавою є поведінка параметру від зразка, що витримувався при температурі 35°C, значення якого є суттєво меншими у порівнянні із рештою температур (рис. 3.39а), що може вказувати незначний залишок носіїв заряду.

Опір внутрішньо-клітинної ділянки (R2) на противагу демонструє ріст у часовому періоді від 8-ми до 14-ти годин із попереднім спадом у періоді від 2-ох до 8-ми годин, зокрема у випадку 12°C та 25°C (рис. 3.39 б).

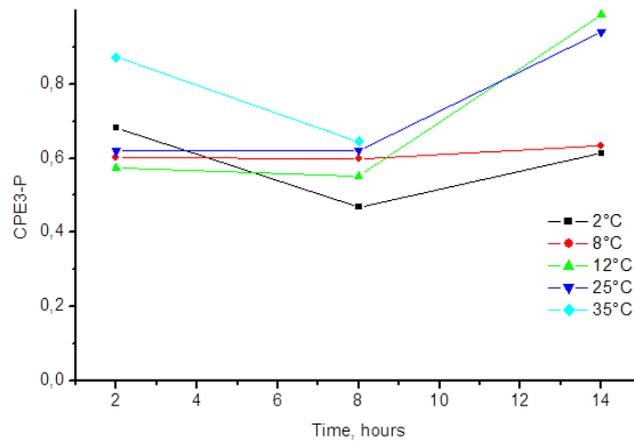
Мембранний опір (R3) у випадку 2-ох та восьми градусів не демонструє жодних змін, проте у випадку 12°C характерний різким ростом у періоді від 8-ми до 14 годин, у випадку 25°C спостерігається різкий спад у цьому ж часовому проміжку.



а



б



в

Рис. 3.40. Вплив температури на значення параметрів CPE1-P(а), CPE2-P (б) та CPE3-P (в) тканин печінки під впливом температури при діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц, $-Z''$ - уявна частина, Z' – дійсна частина.

CPE1-P відповідає параметрам елемента CPE-1 як практично ідеального конденсатора, який з часом трансформується в елемент Варбурга (рис. 3.40а). Варто зауважити, що для 2-ох градусів значення CPE1-P є вищими за 1 через потенційні процеси кристалізації, через що відповідну еквівалентну схему також можна вважати не адекватною.

Для елементів СРЕ2-Р (рис. 3.40 б) та СРЕ3-Р (рис. 3.40 в) чіткої тенденції до змін не спостерігається.

3.3 Дисперсія електронних параметрів тканин печінки різного ступеня пошкодження

Зона мембранного пошкодження, унаслідок некротичних впливів, передбачає змішування зовнішньо-клітинного та внутрішнього-клітинного вмісту внаслідок лізису клітини [266], що, окрім цього, порушує процес перенесення зарядів, ознаки виникнення якого можуть бути зауважені на різних ступенях деградації тканини під впливом температури.

Саме тому наступний етап досліджень полягав у визначенні особливостей змін провідності, резонансної частоти і тангенсу кута втрат, які можуть бути якісними індикаторами змін іонної концентрації у зоні руйнування.

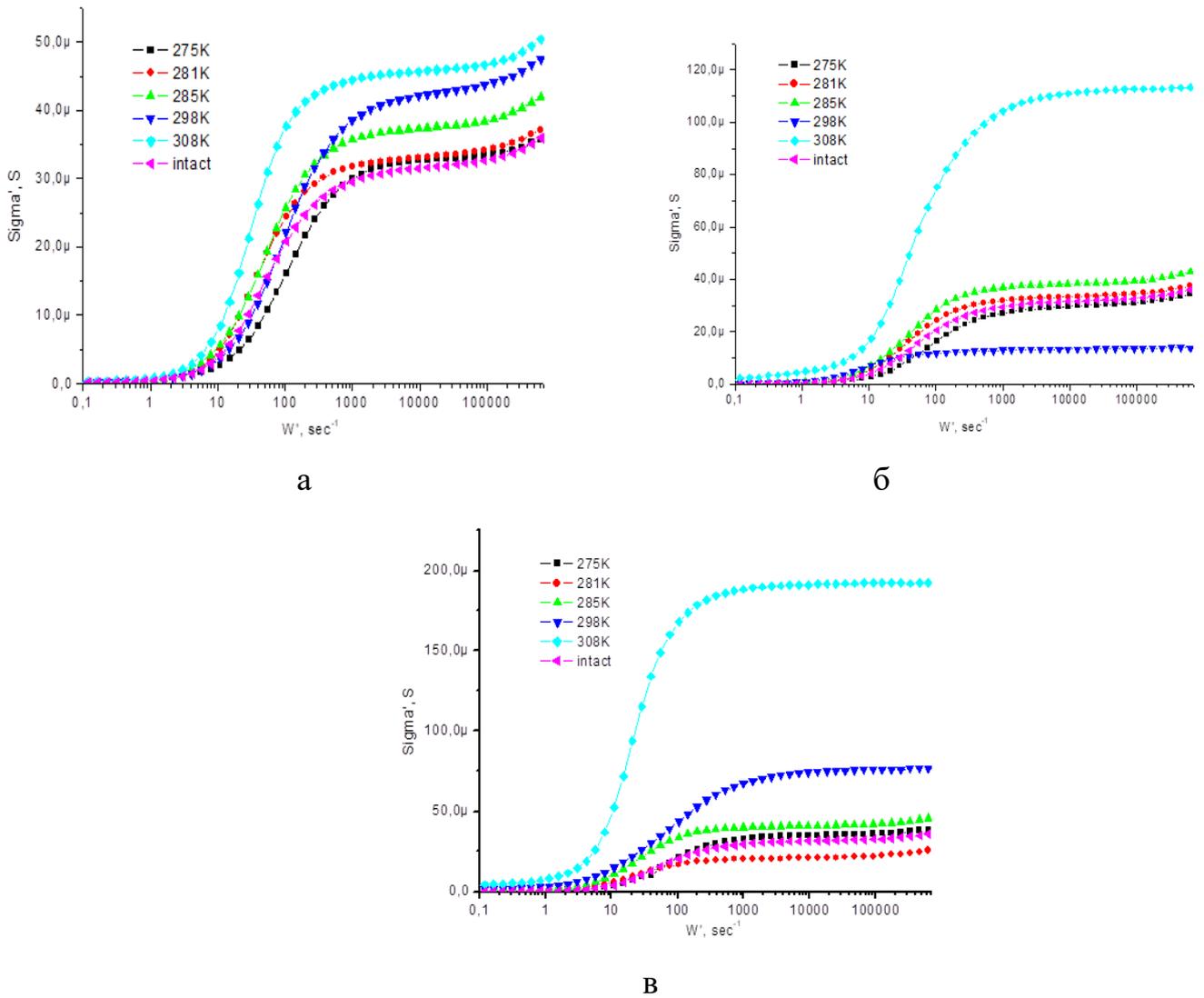


Рис. 3.41. Спектри залежності провідності від частоти зразків печінки, які витримувались під впливом температури протягом а) 2-ох, б) 8-ми та в) 14-ти годин.

Використовуючи співвідношення:

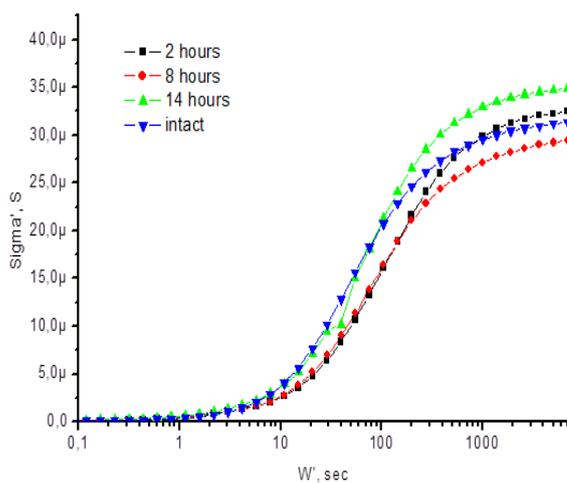
$$R = R' + iR'', \sigma = \frac{1}{R} = \frac{1}{R' + iR''} = \frac{R' - iR''}{R'^2 + R''^2} = \frac{R'}{R'^2 + R''^2} - i \frac{R''}{R'^2 + R''^2};$$

де $\sigma' = \frac{R'}{R'^2 + R''^2}$ і $\sigma'' = \frac{R''}{R'^2 + R''^2}$ – дійсна та уявна частина комплексної електричної провідності системи, побудовані залежності $\sigma'(w)$ вибраної групи температур (рис. 3.41).

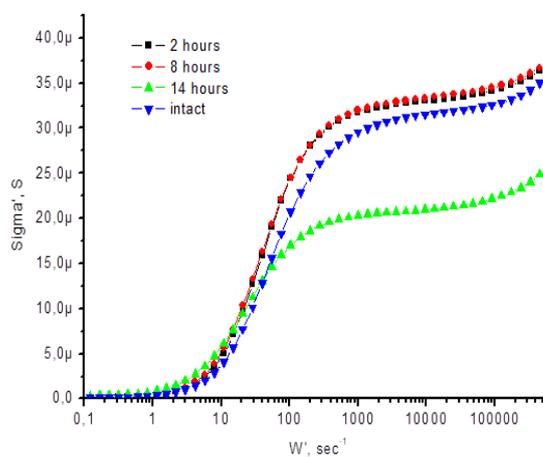
Діапазон вибраних частот, у межах 0,01 Гц – 100 кГц (α -дисперсія), характеризує механізми поляризації іонів з-за низьких частот у залежності від розміщення носіїв заряду біля мембрани [267] та проходження струму через неї [268].

Поступове та сукупне збільшення провідності всіх зразків спостерігається у випадку 2-ох годинного впливу температур (рис. 3.41а). Окрім цього, варто зауважити, що зростання результуючої провідності прямо пропорційне зростанню температури, що вказує на пряму залежність першої від ступеня пошкодження мембрани.

З іншого боку, різкий ріст провідності при 308 К протягом 8-ми та 14-ти годинного витримування зі збереженням рівня провідності для інших температур при цьому ж часовому інтервалі (рис. 3.41б) може вказувати на підвищену концентрацію іонів, накопичених за тривалий час температурного впливу у зоні мембранного пошкодження.



а



б

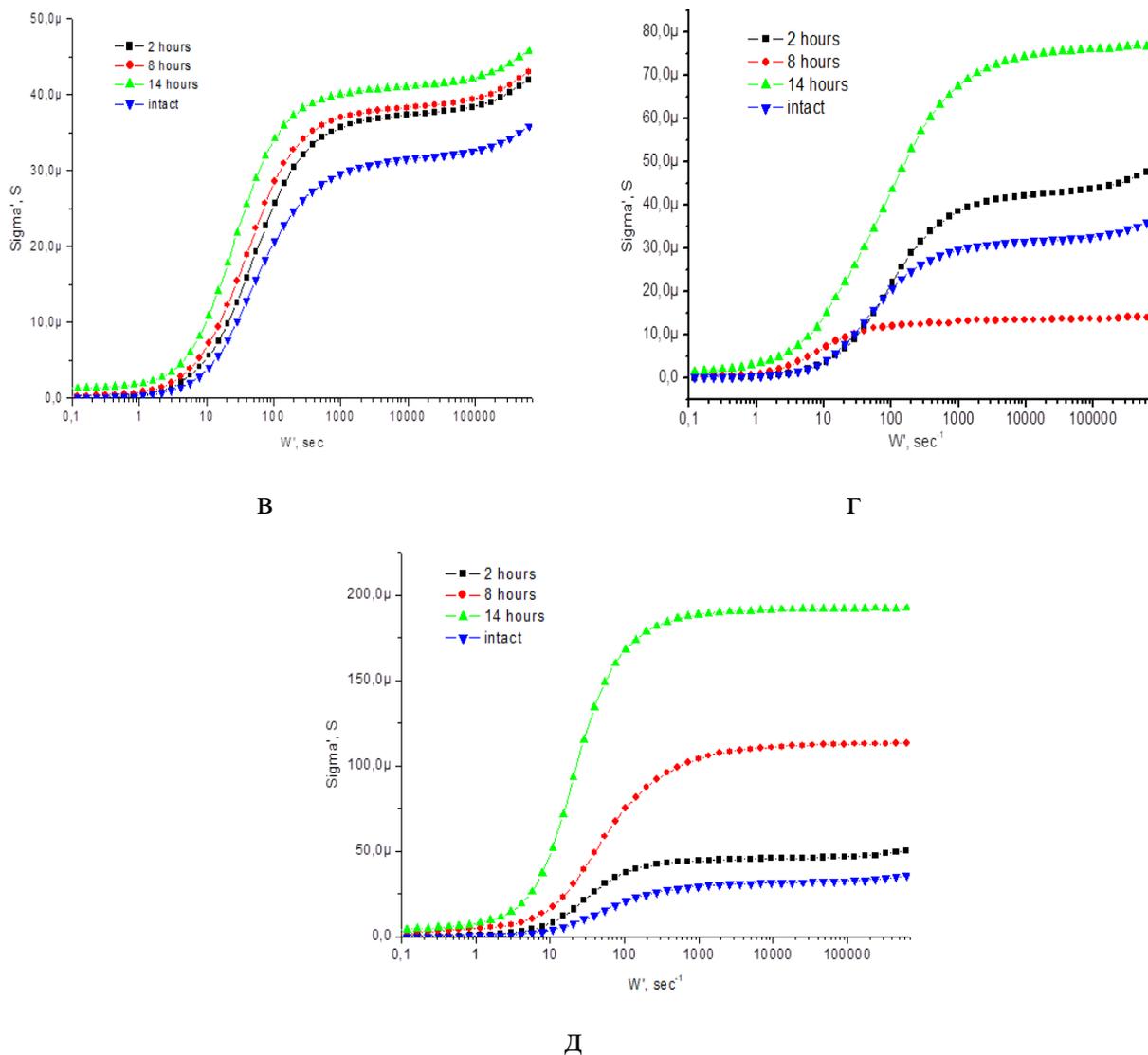
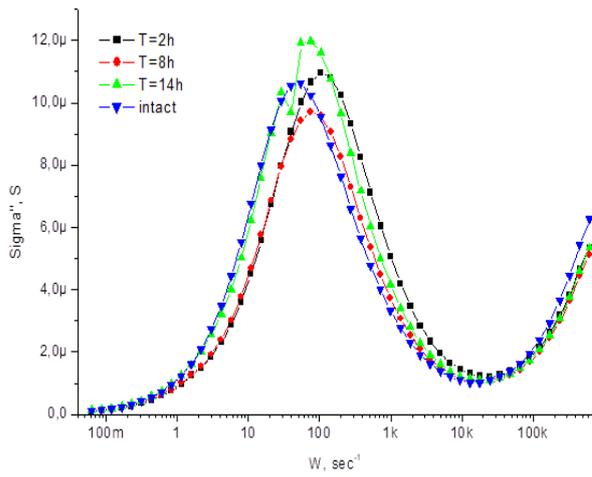
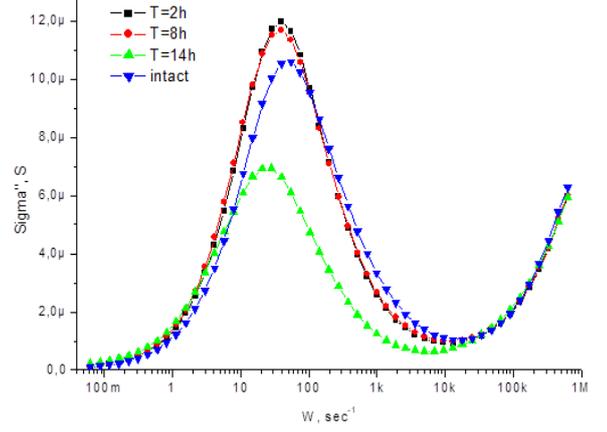


Рис. 3.42. Спектри залежності провідності зразків печінки на постійному струмі від частоти, які витримувались протягом 2-ох, 8-ми та 14-ти годин під впливом: а) 275К, б) 281К, в) 285К, г) 298К, д) 308К.

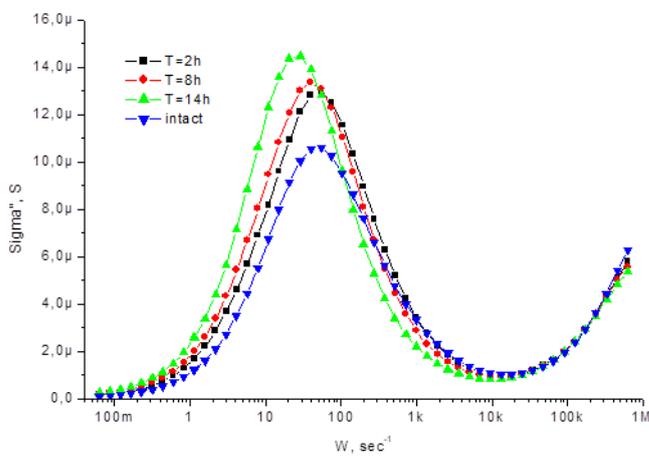
Збільшення концентрації іонів у ділянці пошкодженої або зруйнованої межі розподілу спричинює збільшення провідності, зокрема, зі збільшенням часу впливу температури (рис. 3.42в, 3.42г та 3.42д), що відтворює подібну тенденцію у попередньому випадку (рис. 3.41). Подібна ситуація потенційно може привести до утворення достатньої кількості зруйнованих елементів для формування диполів, що буде досліджено у подальшому.



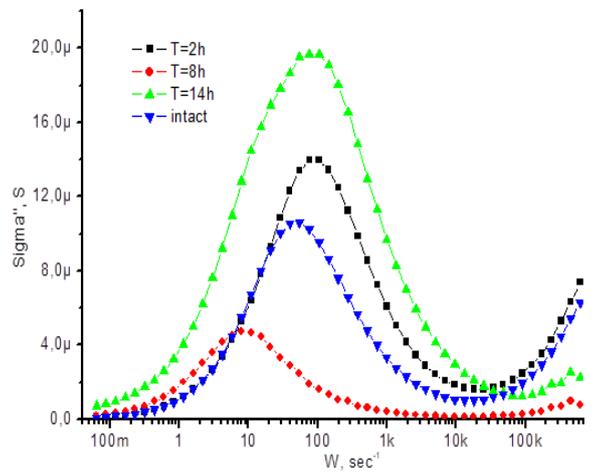
а



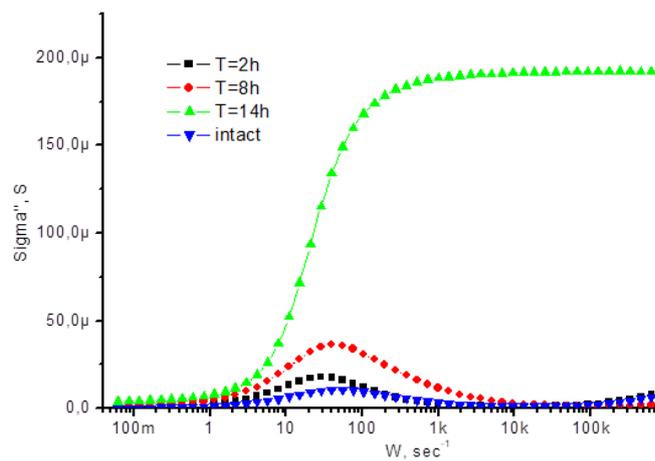
б



В



Г



Д

Рис. 3.43. Спектри залежності уявної частини провідності від частоти зразків печінки, які витримувались протягом 2-ох, 8-ми та 14-ти годин під впливом: а) 275К, б) 281К, в) 285К, г) 298К, д) 308К.

Зростання мінімального числа уявної частини провідності вказує, у свою чергу, на збільшення ємнісної поведінки (рис. 3.43 а, 3.43 б та 3.43 в) через іонний рух із подальшим накопиченням зарядів у ділянці мембрани.

По мірі підвищення температури спостерігається поступовий спад уявної частини провідності, зокрема, під 2-ох та 8-ми часовим впливом температури у порівнянні із іншими температурними значеннями (рис. 3.43д), що вказує на високу ступінь інтенсивності руйнівних процесів, що зумовлює високий запас зарядів у зоні пошкодження.

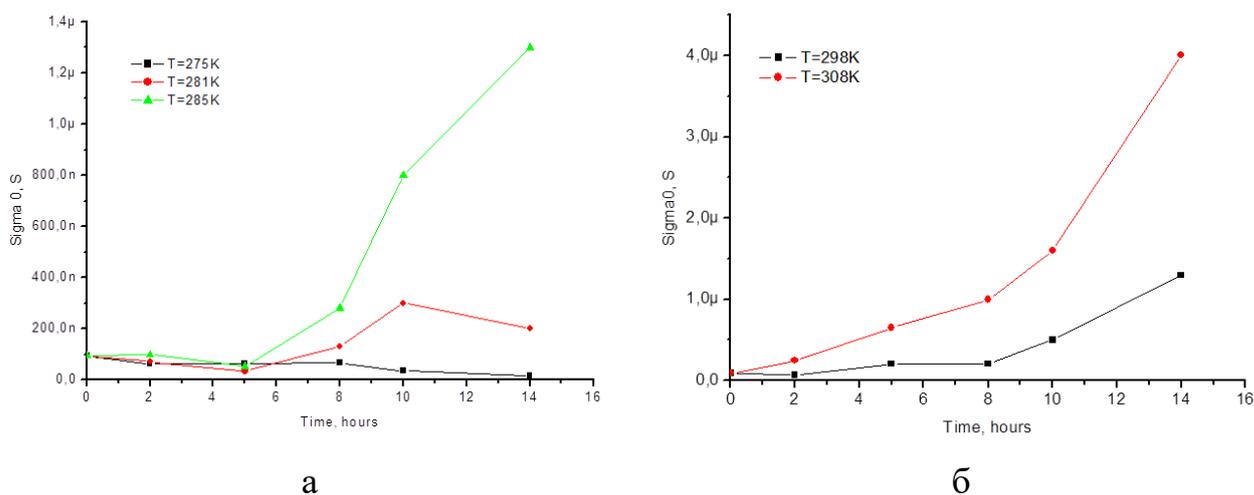


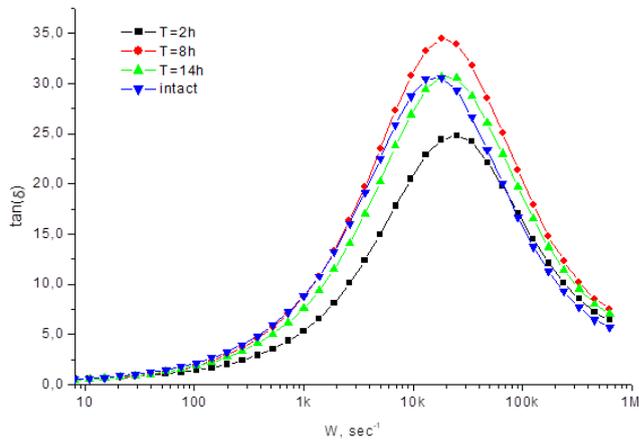
Рис. 3.44. Спектри залежності провідності на змінному струмі від часу.

Для визначення характеру поведінки носіїв заряду в електролітній підсистемі досліджуваних зразків використовувались результати обчислень АС-провідності за методом Коула-Коула [269, 270]. Графіки залежності $\sigma_0(t)$ за різних температур приведені на рис. 3.44 (а, б).

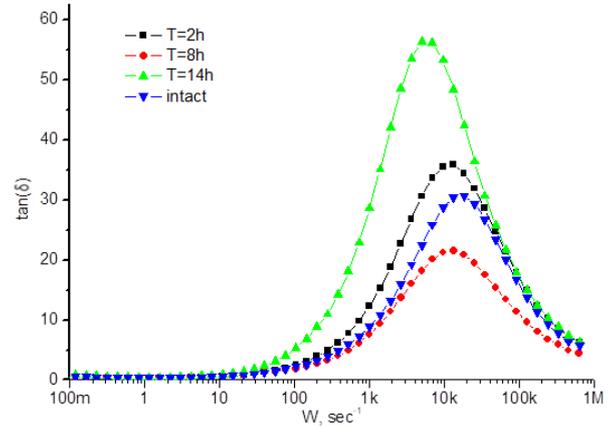
Зростання провідності на змінному струмі при збільшенні тривалості впливу температури та зростання температури безпосередньо вказує, як у попередньому випадку, на наявність руйнівних процесів. Як наслідок, накопичена концентрація

іонів могла сприяти виникненню внутрішнього електричного поля при застосуванні змінного струму, яке перешкоджає проникненню зовнішнього.

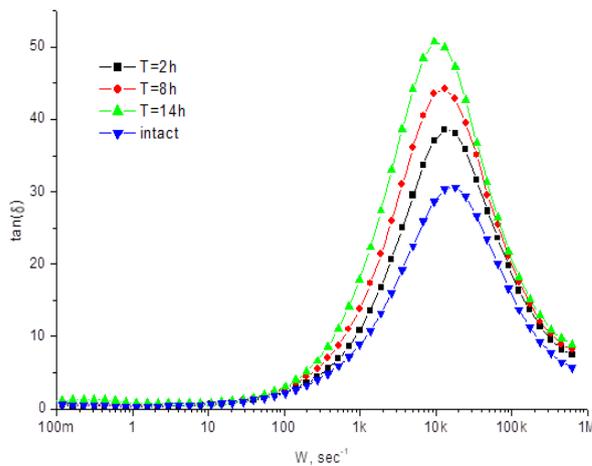
Окрім цього, відсутність межі розподілу у вигляді плазматичної мембрани, як межі розподілу, привело до зростання рухливості носіїв заряду, що, у свою чергу, також сприяло збільшенню провідності.



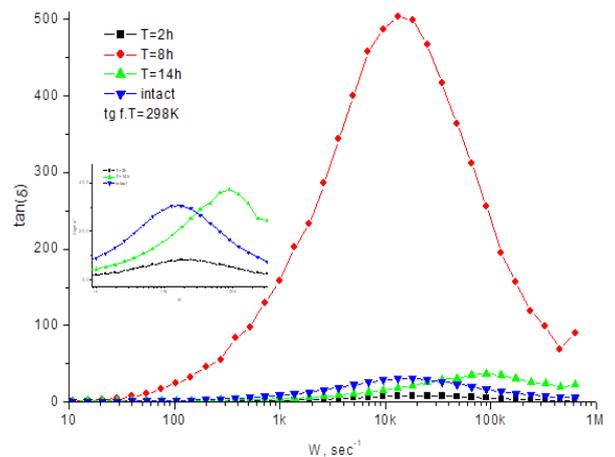
а



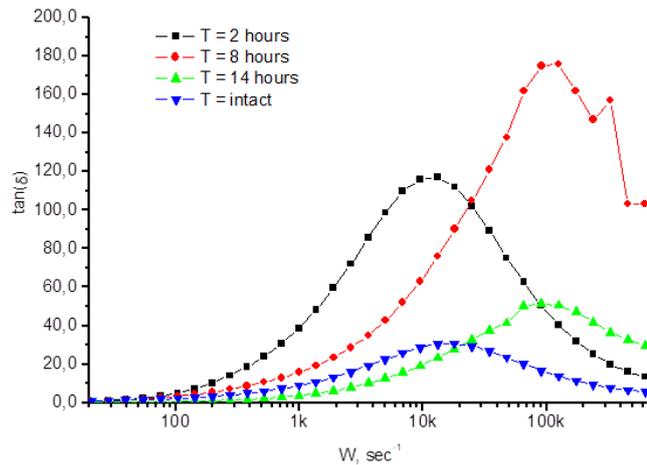
б



в



г



Д

Рис. 3.45. Залежність тангенсу кута втрат від частоти при а) 275К, б) 281К, в) 285К, г) 298К та д) 308К. У вкладці зображена високочастотна ділянка спектру.

Задля кращого розуміння особливостей процесів переорієнтування диполів під дією зовнішнього синусоїдального електричного поля обчислювали значення тангенса кута діелектричних втрат, графіки залежності яких ($tg \delta(\omega)$) представлені на рис. 3.45.

Зростання мінімального значення тангенсу кута втрат (рис. 3.45 а, 3.45 б та 3.45 в) вказує на збільшення кількості диполів внаслідок загаданих процесів руйнування, які можуть бути сформовані як мембранними елементами, так і внутрішньо-клітинними органелами, чому відповідає виконаний гістологічний аналіз відповідних зразків (рис. 3.31 а, 3.31 б).

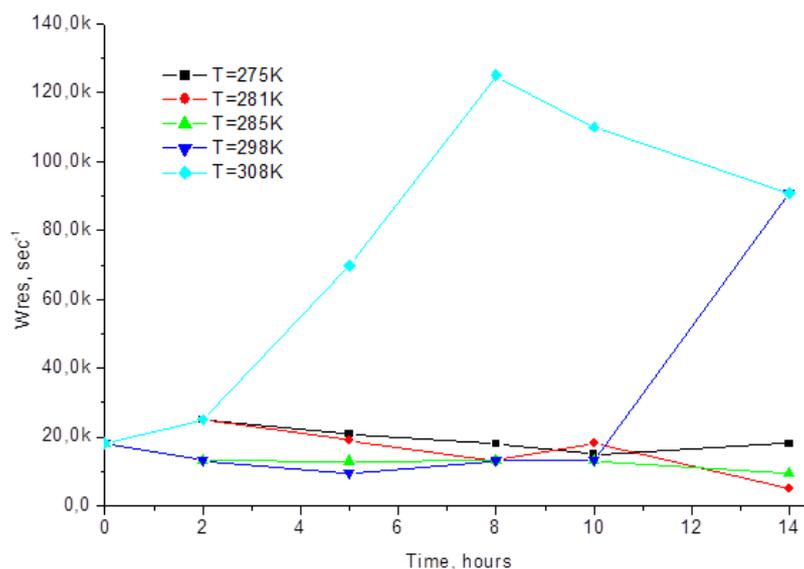


Рис. 3.46. Спектри залежності резонансної частоти від часу при різних температурах: а) 275К, б) 281К, с) 285К, d) 298К та е) 308К.

За положеннями піків на кривій, на основі розрахунків $tg \delta(\omega)$, було визначено залежність $\omega_{res}(t)$. Графіки залежності представлені на рис. 3.46.

Чіткою є тенденція до спаду резонансної частоти, що спостерігається за умови зменшення температури та частоти, чому відповідає утворення диполя більшого розміру, що можна зауважити практично у всіх випадках.

У своїй сукупності підвищення температури, окрім руйнування мембрани, спричиняє збільшення тангенса кута втрат та резонансної частоти через зростання кількості диполів певного розміру, якими можуть бути частини мембранних компонентів або елементи внутрішньо-клітинних органел, чому відповідає зменшення параметрів СРЕ- та R- експериментальних зразків під впливом 298К та 308К, у порівнянні із інтактними [227].

Кількість джерел дипольної поляризації також зростає внаслідок руйнування мембрани, що також сприяє збільшенню ω_{res} .

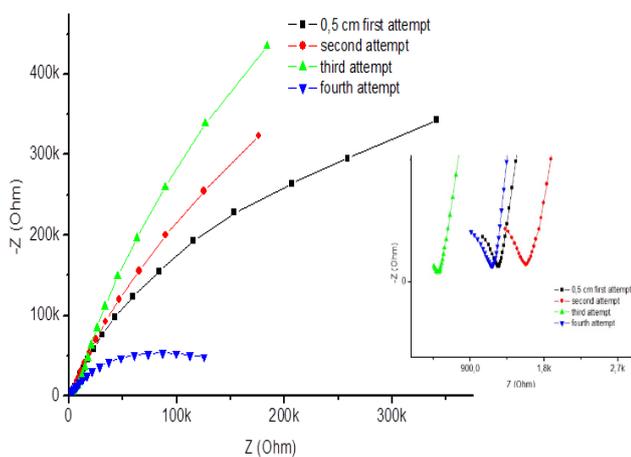
Отже, процеси деструкції тканини, під впливом температури відображаються у зменшенні комплексного опору як дійсної, так і уявної його частин, що пов'язано із структурними пошкодженнями мембрани, що також сприяє збільшенню її проникності (рис. 3.37). Збільшення концентрації носіїв заряду як зовнішньо-, так і

внутрішньо-клітинних, у ділянках руйнування сприяє збільшенню провідності (рис. 3.44) на змінному струмі.

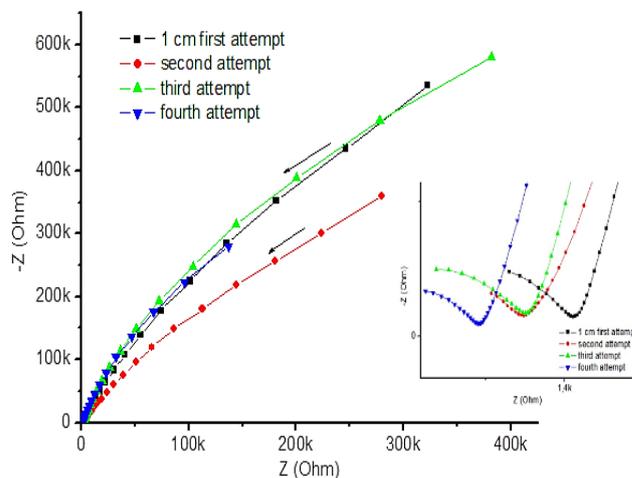
З іншого боку, зникнення меж розподілу зумовлює більшу рухливість накопиченої кількості іонів, веде до зростання провідності на постійному струмі (рис. 3.43). Елементи зруйнованої мембрани та висока концентрація іонів спричинюють утворення великої кількості диполів (рис. 3.45) достатньо невеликого розміру, що спостерігається при поданні зовнішнього, змінного електричного поля (рис. 3.46).

3.4 Амплітудно-частотний вплив змішаного електричного поля на параметри імпедансного спектру біологічної тканини

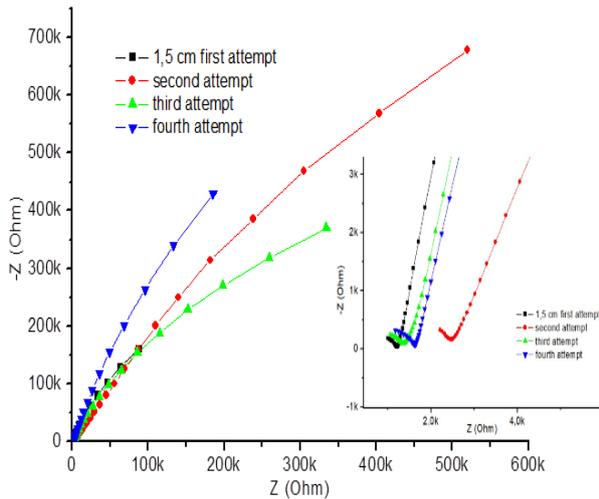
Представлені спектри імпедансної спектроскопії зразків різної товщини (0,5 – 2 см) отримані шляхом чотирикратних послідовних повторень експерименту (рис. 3.47).



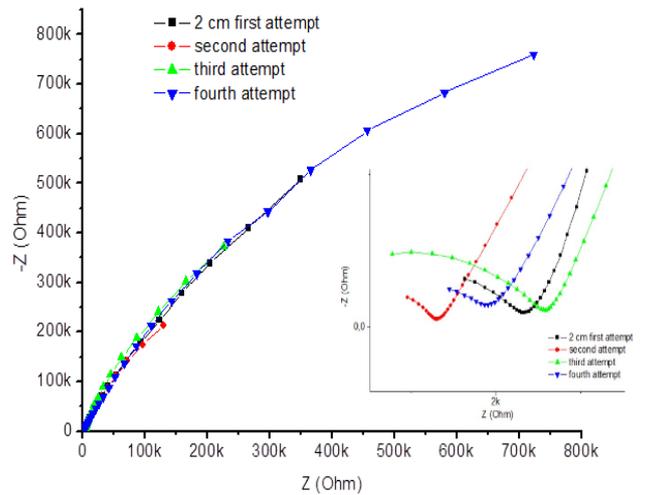
а



б



В



Г

Рис. 3.47. Спектри імпедансу тканин печінки певних розмірів після проведення 4-ох разового вимірювання.

Не спостерігалось суттєвих відмінностей характеру поляризаційних віток між повторами вимірювань (рис. 3.47 в та рис. 3.47 г).

З іншого боку, можна зауважити суттєве зниження дійсної та уявної частини комплексного імпедансу для всього діапазону використовуваних частот (рис. 3.47 а). Подібне зменшення нахилу поляризаційної вітки спостерігалось у випадку зразка розміром 1,5 см (рис. 3.47 в), хоч і не демонструвало такого різкого характеру.

Аналіз вищенаведених діаграм Найквіста (рис. 3.47) дозволив побудувати відповідні електричні еквівалентні схеми.

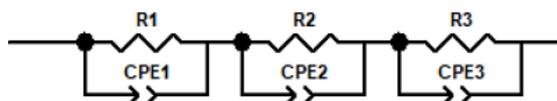


Рис. 3.48. Електрична еквівалентна схема зразків печінки розмірами 0,5 см, 1 см, 1,5 см і 2 см.

Значення параметрів компонентів вказаних схем наведені у табл. 3.13. СРЕ-та R- параметри електричних еквівалентних схем зразків відповідних розмірів, де R – це опір, а СРЕ-Т – це елемент постійної фази, для якого визначено проміжні елементи між активним опором (при СРЕ-Р = 0) або ідеальним конденсатором (СРЕ-Р = 1). Для СРЕ-Р < 1 елемент визначається як псевдоконденсатор.

Таблиця 3.13.

Параметри еквівалентних схем (рис. 3.48).

№	см	R1 $\times 10^5$	СРЕ1- Т $\times 10^{-5}$	СРЕ1- Р $\times 10^{-1}$	R2 $\times 10^5$	СРЕ2- Т $\times 10^{-5}$	СРЕ2- Р $\times 10^{-1}$	R3 $\times 10^3$	СРЕ3- Т $\times 10^{-7}$	СРЕ3- Р $\times 10^{-1}$
1	0,5	25,8	2,16	7,07	1,93	3,67	9,85	1,25	0,578	6,11
2		0,022	4,69	7,13	0,0165	0,0036	4,63	1190	268	8,62
3		0,122	3,01	6,96	0,00533	0,00719	4,76	1890	247	9,12
4		0,0193	6,49	10,4	1,55	2,23	7,81	1,19	0,172	5,63
1	1	2,77	2,33	7,77	25,9	2,48	9,03	1,47	1,41	5,55
2		3,09	2,32	7,42	1570	2,69	7,38	1,27	2,32	5,01
3		0,629	12,3	11,2	27,3	1,38	8,16	1,28	3,45	5,39
4		0,0123	39,8	6,01	12,2	3,23	8,72	1,05	3,81	5,16
1	1,5	1,15	8,53	7,87	6,48	10,6	9,47	1,24	1,43	5,55
2		83,7	0,826	6,65	1,49	8,56	10,4	2,48	0,173	6,3
3		2,2	1,82	7,76	9,05	3,3	9,36	1,48	7,68	4,47
4		6,34	2,6	7,91	13,4	8,86	11	1,66	1,49	5,66
1	2	0,69	2,85	8,09	20,2	1,57	8,41	2,24	1,33	5,14
2		0,0162	16,8	5,92	10,8	3,26	7,99	1,67	0,343	6,03
3		3,25	2,65	7,87	7,51	7,12	10,7	2,37	2,02	5,49
4		4690	1,12	7,63	6,16	0,66	7,26	1,98	0,343	6,01

Аналіз динаміки зміни параметрів еквівалентних схем СРЕ та R дозволив побудувати відповідні графіки (рис. 3.49 а, 3.49 б та 3.49 в).

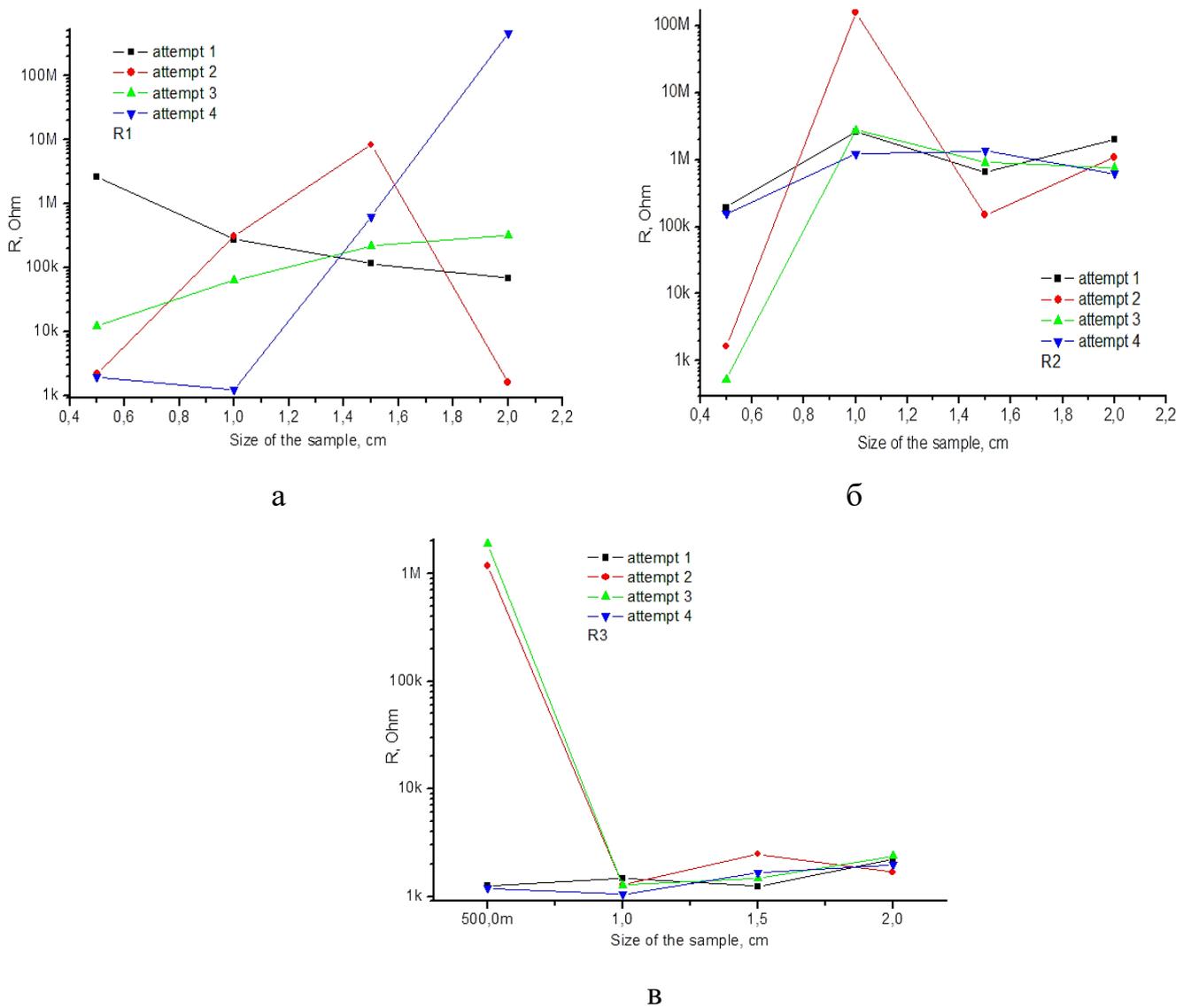
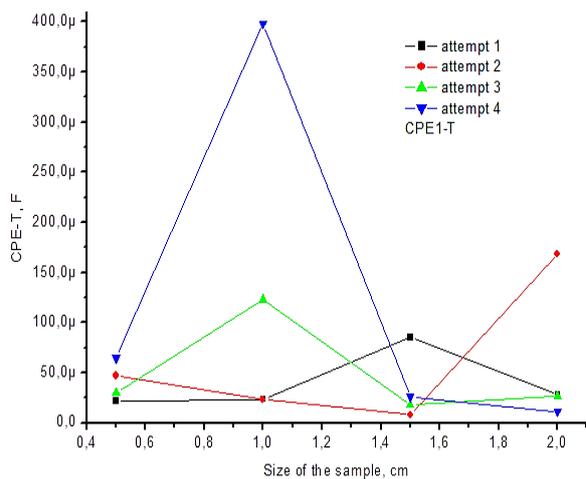


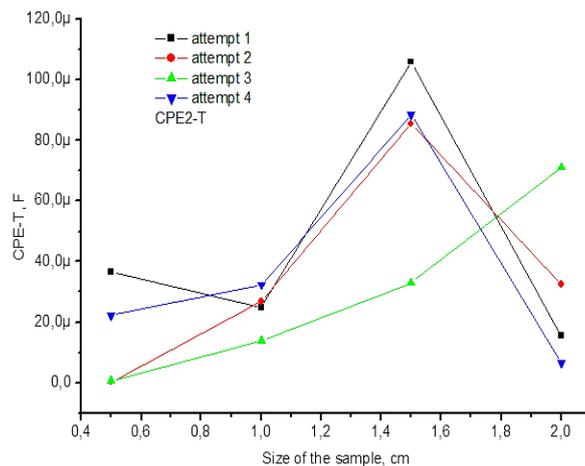
Рис. 3.49. Вплив розміру зразка на зміни параметру R еквівалентної схеми при діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц.

Можна зауважити специфічний характер зміни кривої параметру R1, зокрема різкий спад та ріст у випадку 2-го та 3-го повторів, відповідно, при збільшенні розміру зразка. Окрім цього, друга група повторів (1 та 3) характеризується подібною, проте не такою вираженою, тенденцією (рис 3.49в). У випадку R2 та R3 варто відзначити певні подібності у динаміці змін, для прикладу, різке початкове зростання (R2) та спадання (R3) значень (рис. 3.49а і б).

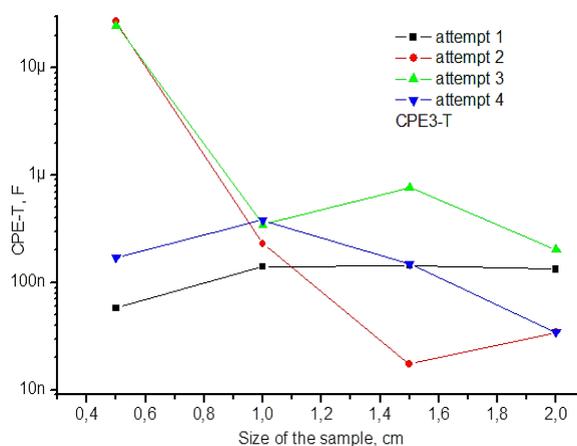
Окрім цього, варто відзначити суттєво менший мембранний опір (R3) у порівнянні із зовнішньо- та внутрішньо-клітинним [271].



а



б

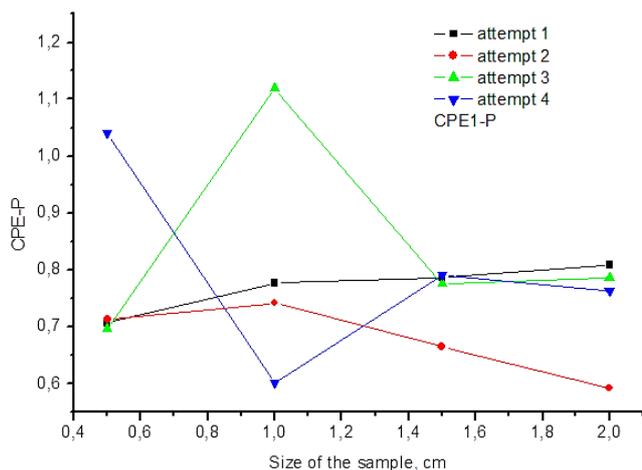


в

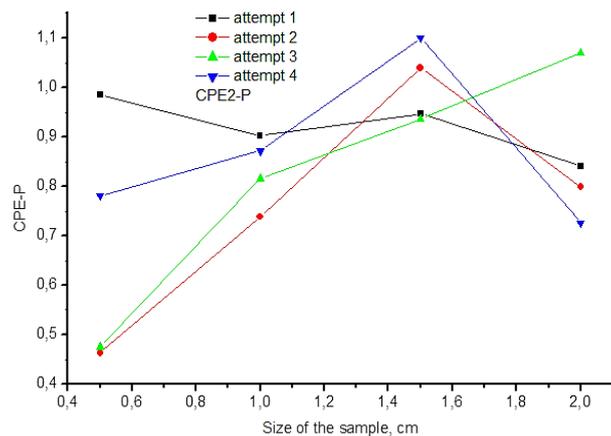
Рис. 3.50. Вплив розміру зразка на зміни параметру СРЕ-Т еквівалентної при діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц.

Спостерігались закономірні зміни значень ємності (СРЕ2-Т), зокрема різкий підйом кривої при зменшенні розміру зразка до 1,5 см з різким послідовним спадом при 1 см (рис. 3.50 б).

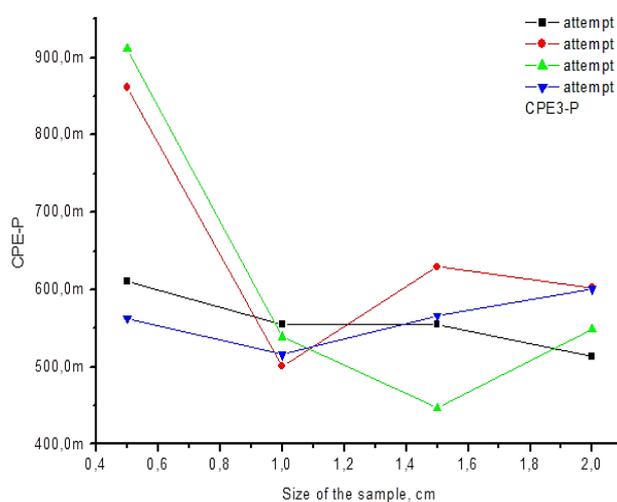
СРЕ1-Т не демонстрував чітких закономірних змін значень при відповідних змінах розміру зразків. СРЕ3-Т демонструє загальну тенденцію до незначного збільшення зі зменшення розміру зразка, зокрема від 1,5 см у більшості повторів (рис. 3.50в). Варто відзначити незначну схожість поведінки кривих групи 2-го і 3-го повторів та 1-го і 4-го, що також спостерігалось у випадку R3 (рис 3.50 в).



а



б



в

Рис. 3.51. Вплив розміру зразка на зміни параметру CPE-P еквівалентної схеми при діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц.

Криві 2-го і 3-го повторів та 1-го і 4-го CPE2-P та CPE3-P змінюються подібним чином при протилежних динаміках (рис. 3.51 б і рис. 3.51 в), що спостерігалось раніше (рис. 3.50б і в). Є необхідним зауважити схожість поведінки кривих групи 2-го і 3-го повторів та 1-го і 4-го, що спостерігалось у випадку CPE3-T, R2 та R3 (рис. 3.49 б і в, 3.50 в).

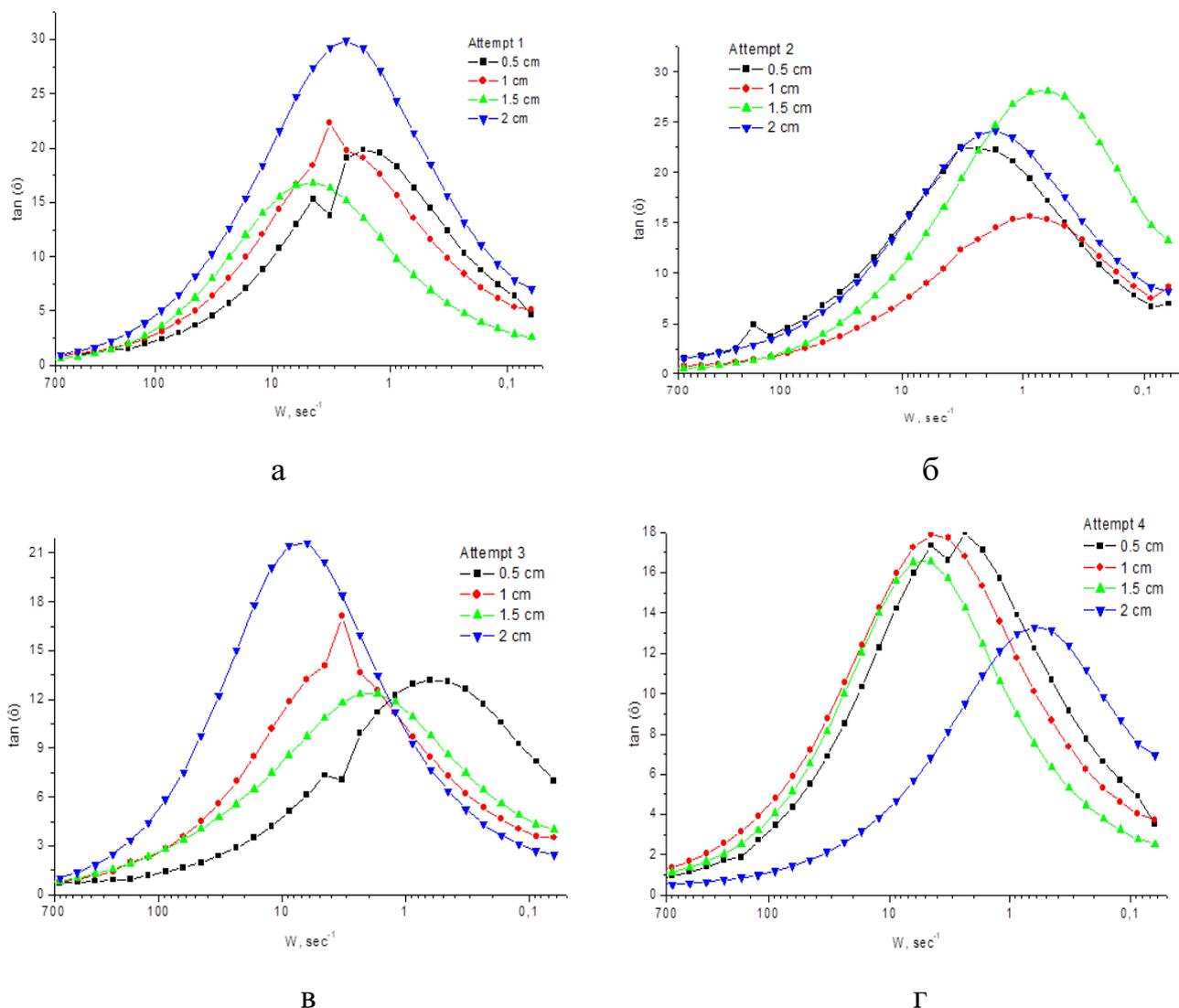


Рис. 3.52. Вплив розміру зразка на зміни тангенсу кута втрат при діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц.

Отримані значення тангенсу кута втрат збільшуються у незначній степені по мірі збільшення розміру зразка, тому можна зауважити поступове часткове зростання піків кривих. Крива 0,5 см не відповідала заданій тенденції, окрім цього, суттєвих відмінностей між іншими кривими параметру у більшості повторів не спостерігалось. Крива 2 см демонструвала певні яскравіші відмінності у порівнянні із іншими (рис. 3.52 а, б та в), проте також не спостерігалось чіткої закономірності.

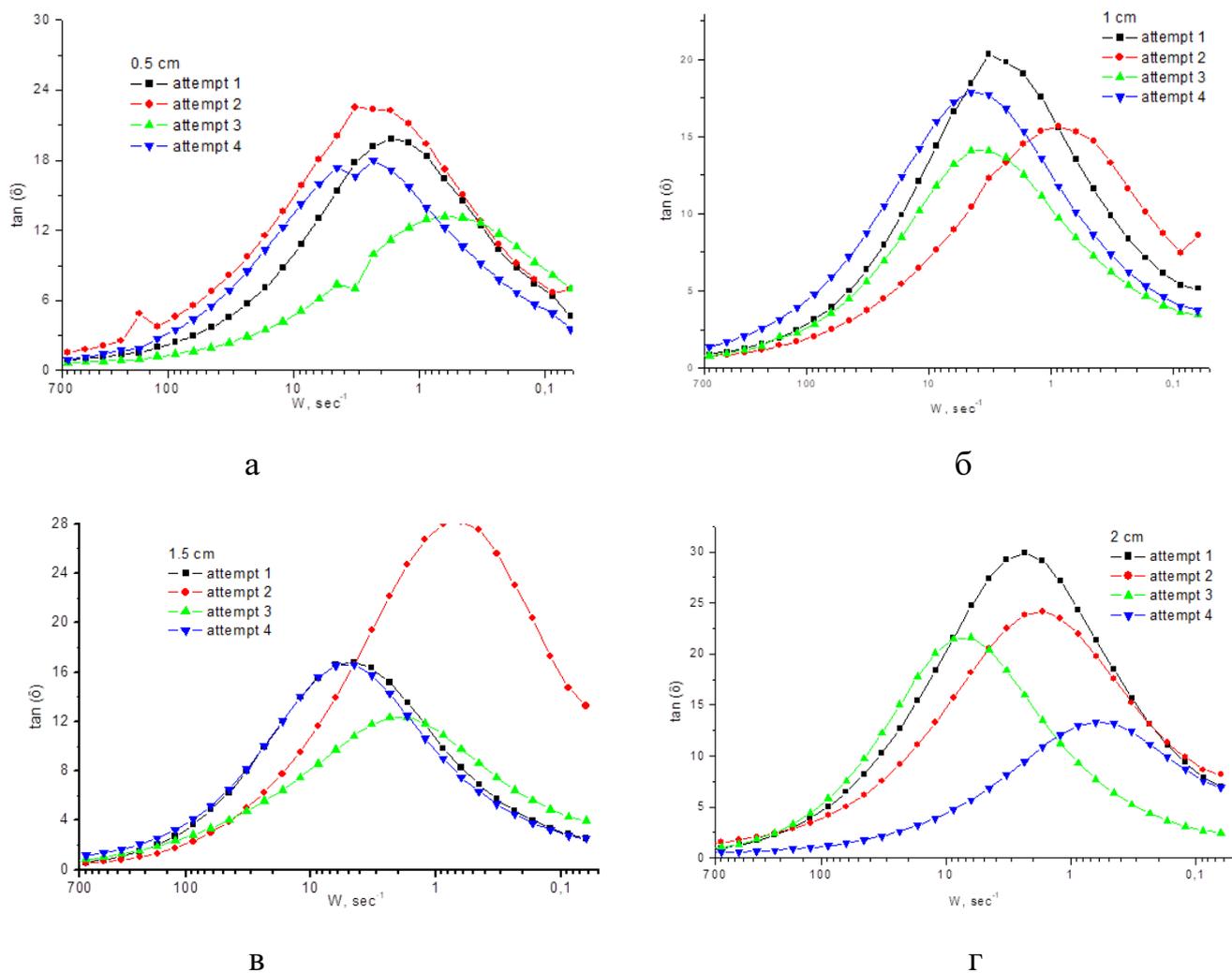


Рис. 3.53. Вплив розміру зразка на зміни тангенсу кута втрат при діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц.

У даній формі порівняння достатньо складно зауважити яскраві відмінності між кривими тангенса кута втрат. Не спостерігається різких відмінностей від базової поведінки кривих, що вказує на відсутність процесів, які б чітко вказували на загострення стресових процесів у зразках при різних повторах.

3.4.1 Вплив використання інвазивних електродів на параметри імпедансного спектра

Експериментально отримані діаграми Найквіста досліджуваних зразків для різних значень L взаємно розміщених інвазивних електродів зображені на рис. 3.54, який ілюструє частотну дисперсію дійсної та уявної частин комплексного опору.

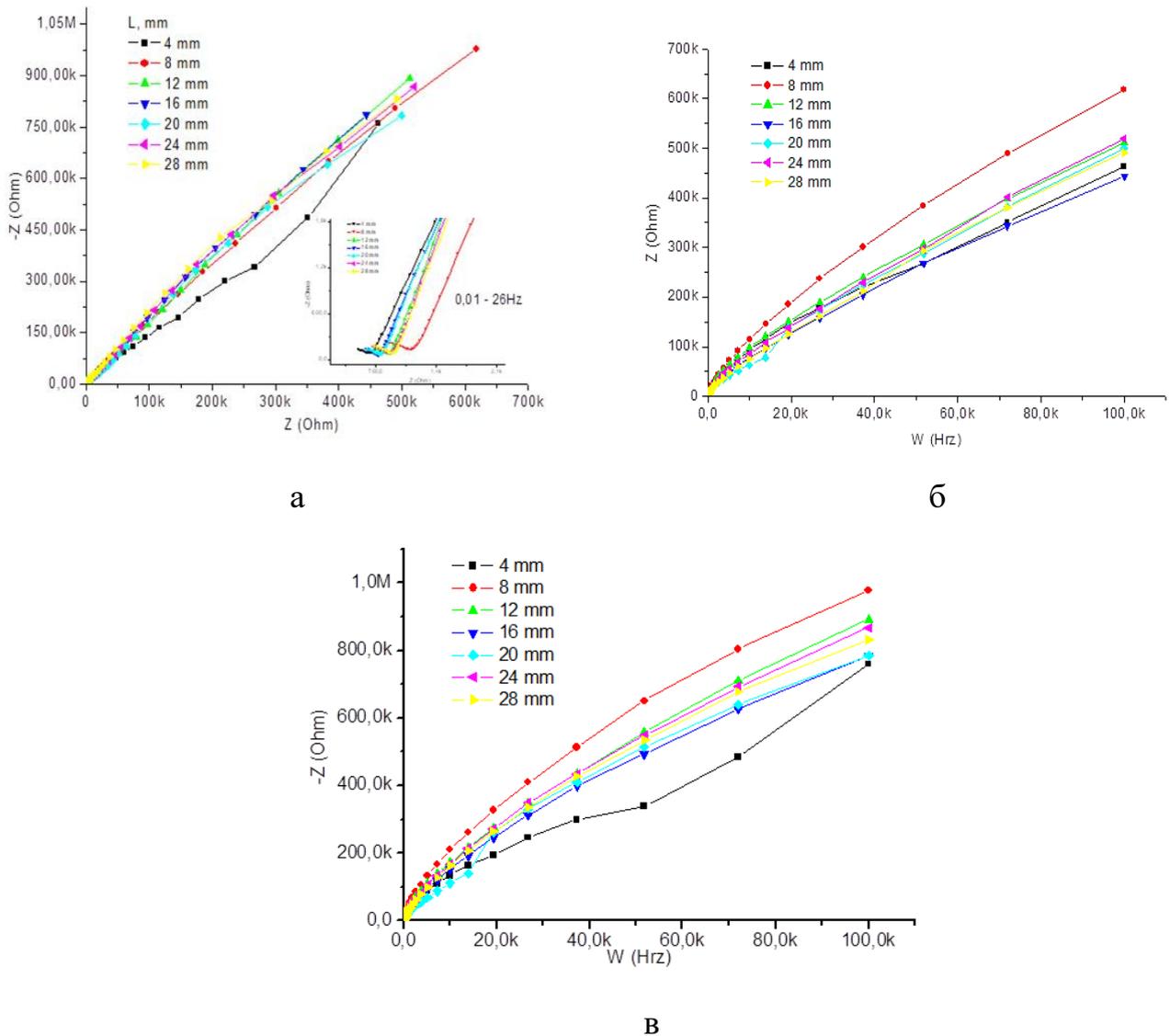


Рис. 3.54. Спектри імпедансу тканин печінки із використанням голкових електродів – а) комплексний опір; б) частотна залежність дійсної та уявної частин (в) комплексного імпедансу.

Значення комплексного імпедансу не демонструє чіткої монотонної залежності від відстані між електродами для всього діапазону досліджуваних частот, що підтверджується характером поведінки кривих (рис. 3.54а).

Застосування апробованого нами [272] методу моделювання електричного імпедансу тканин печінки дозволило побудувати відповідні еквівалентні схеми, аналогічні до використовуваних нами для моделювання конденсаторної вимірювальної комірки.

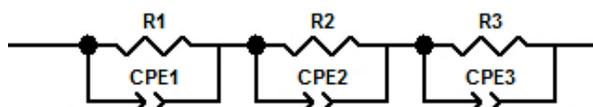


Рис. 3.55. Електрична еквівалентна схема зразків печінки із використанням голкових електродів для всіх відстаней.

Значення параметрів компонентів вказаних схем, обчислених апроксимацією експериментальних спектрів за допомогою програм Z-view, наведені у таблиці 1. CPE- та R- параметри електричних еквівалентних схем зразків відповідних розмірів, де R – це опір, а CPE-T – це елемент постійної фази, для якого визначено проміжні елементи між активним опором (при CPE-P = 0) або ідеальним конденсатором (CPE-P = 1). Для CPE-P < 1, елемент визначається як псевдоконденсатор.

Таблиця 3.14.

Параметри еквівалентних схем (рис. 3.54).

L, мм	R1 ×10 ⁴ , Ohm	CPE1- T ×10 ⁻⁵ , F	CPE1- P ×10 ⁻¹	R2 ×10 ² , Ohm	CPE2- T ×10 ⁻⁷ , F	CPE2- P ×10 ⁻¹	R3 ×10 ⁶ , Ohm	CPE3- T ×10 ⁻⁶ , F	CPE3- P ×10 ⁻¹
4	59,9	0,716	7,35	6,27	92,1	6,57	0,55	0,013	0,144
8	4,48	1,77	7,61	11,4	1,79	5,83	5,54	6,67	7,71
12	3,6	1,16	8,09	8,66	1,01	6,17	5,19	8,12	7,88
16	8,06	1,59	0,104	7,43	1,39	6,09	5,31	8,56	7,62
20	3,03	1	7,56	7,64	1,75	5,9	1,77	0,116	9,19
24	2,29	1,61	8,32	8,98	2,28	5,7	4,61	8,1	7,88
28	1,01	2,56	8,31	9,1	1,7	5,92	4,49	8,19	7,83

Динаміка залежності параметрів елементів еквівалентних схем CPE та R від відстані між голковими електродами, використаними під час експерименту, проілюстровані графічно на рис. 3.56а – в. Згідно точної інтерпретації складові елементи схеми R1-CPE, R2-CPE2 та R3-CPE3 відповідають компонентам електричної підсистеми тканини, відповідно внутрішній області клітинної оболонки та міжклітинних утворень [227].

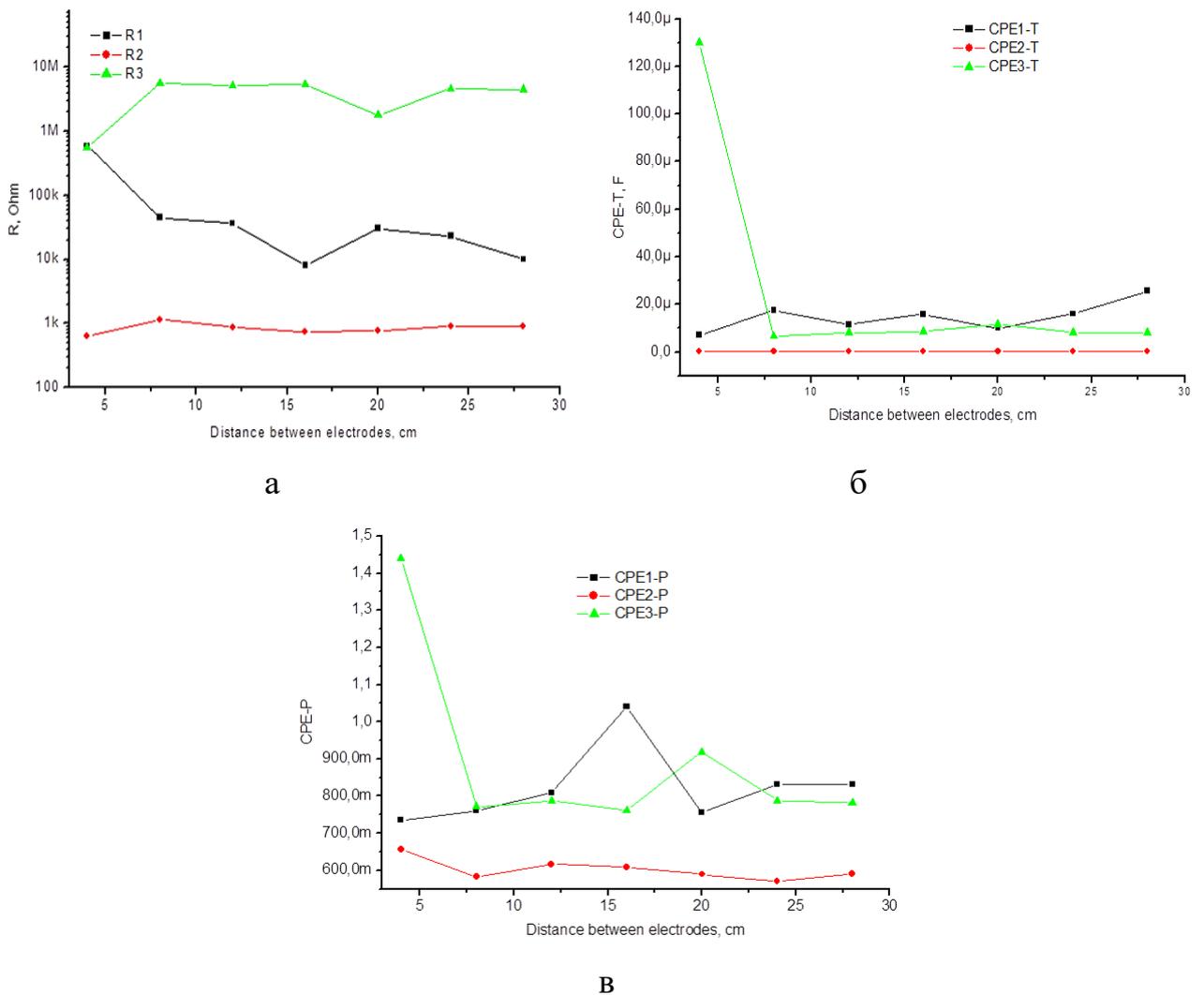


Рис. 3.56. Вплив відстані між голковими електродами на зміни параметру R (а), CPE-T (б), CPE-P (в) еквівалентної електричної схеми при діапазоні частот 0,01 Гц – 100 кГц.

Значення параметрів еквівалентних схем не продемонстрували монотонних залежностей від відстані між електродами. Хоча варто зауважити наявність дещо

подібної динаміки змін та форми кривої параметру зовнішньо-клітинного (R1) та мембранного (R3) опору (рис. 3.56). Таким чином, питання вирішення сильної нестабільності спектру електричного імпедансу при зміні умов експерименту (вибір форми та дислокації електродів, розміщення досліджуваної ділянки на органі) не розв'язується шляхом аналізу як самих значень досліджуваних величин, так і параметрів змодельованих елементів досліджуваних систем.

Розглянемо криві дисперсії дійсної та уявної частин електричної провідності, а, також, отримані діаграми Найквіста для різних значень L.

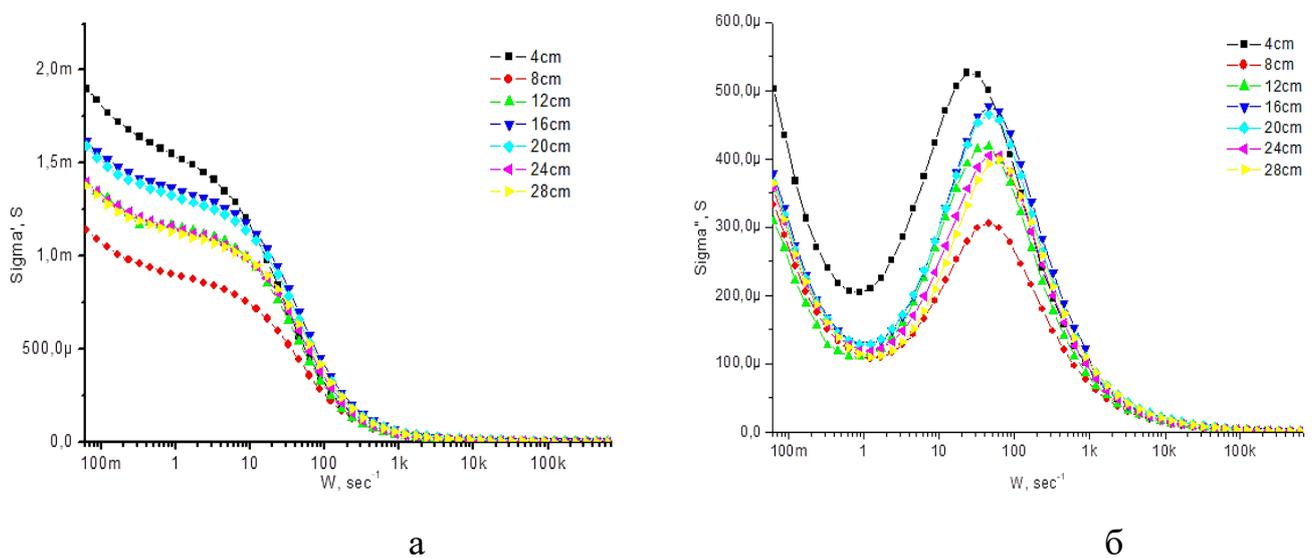


Рис. 3.57. Спектри залежності дійсної (а) та уявної частини (б) провідності зразків печінки на постійному струмі залежно від відстані між електродами.

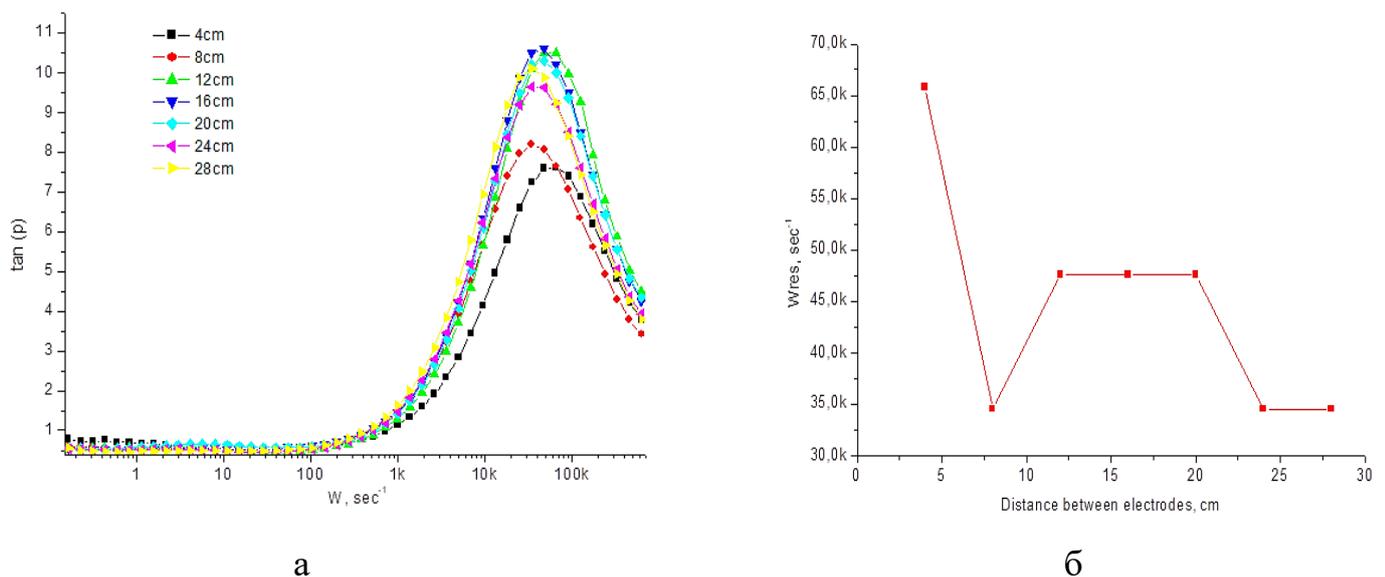


Рис. 3.58. Спектри залежності тангенсу кута втрат (а) та резонансної частоти (б) зразків печінки на постійному струмі в залежності від відстані між електродами.

За певної відмінності між цими кривими добре помітною є тенденція до збереження форми кривих при зміні відстані між електродами.

Спектр залежності дійсної частини провідності демонструє зменшення параметру σ в зоні переходу із діапазон низьких до високих частот із первинним значенням параметру, причому такий перехід відбувається за частоти, що не залежить від відстані між електродами (рис. 3.58а). Це може вказувати на вплив ділянки органу, де розміщувались електроди, зокрема на локальне зменшення кількості рідини та носіїв заряду відповідно, наявність ділянок із колагеном або фіброзом, які володіють меншою провідністю, аніж звичайні тканини при меншій кількості диполів води [273].

Також спостерігається зростання частотного положення піку уявної частини провідності, проте без чіткої залежності від відстані між електродами (рис. 3.58б). Подібна зміна висоти піків на різних ділянках розміщення електродів може бути наслідком впливу окремих частот, як було показано у нашій роботі [273]. Окрім цього, причинами може слугувати вже зазначена відмінність композиції органу у різних його сегментах.

Спектр тангенсу кута діелектричних втрат демонструє збільшення піків у залежності від відстані між голковими електродами (рис. 3.58а). Це підтверджує тенденцію до збільшення уявної складової провідності при зростанні відстані між електродами, проте ця залежність також не є чіткою. Оскільки у дослідженні використовувалися органи без попередньої обробки, кількість ділянок із різним тканинним складом та кількістю рідини є суттєвою, що дозволяє зробити висновок про достатню чутливість методу ІС до подібних змін.

Залежність положення резонансного піку від умов експерименту показує, що його початкове зміщення дозволяє зробити припущення про ймовірно вищу концентрацію іонів або рідини у цій ділянці вимірювання (рис. 3.58б). По мірі

збільшення відстані між електродами можна також зауважити різке зміщення піку при відстані між електродами 8 см та 12 см, що може вказувати на зміну композиції тканини у цій ділянці. Подібна зміна спостерігається на відстані 24 см і далі, що також може говорити про наявність ділянок із меншою провідністю у зв'язку із попереднім фіброзом або певними патологічними змінами досліджуваного органу.

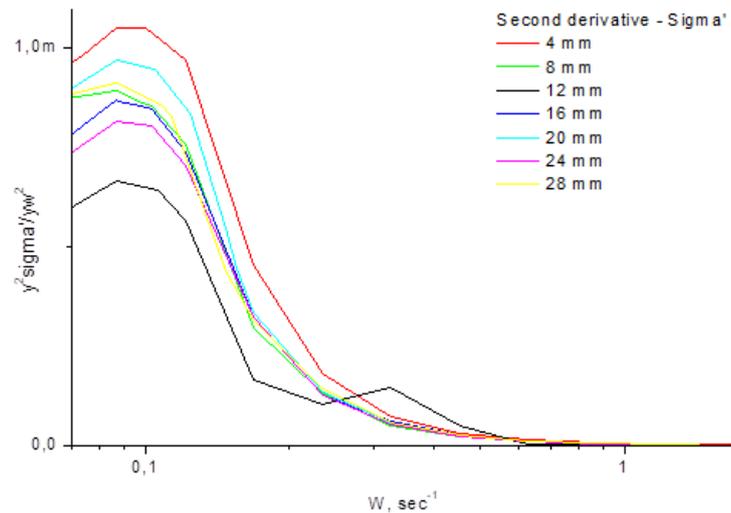
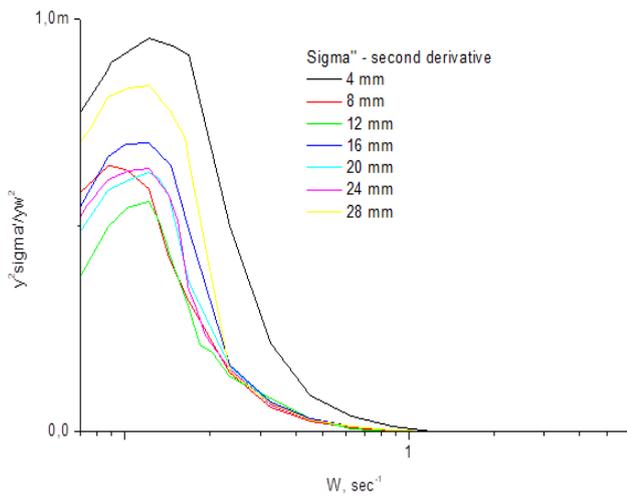
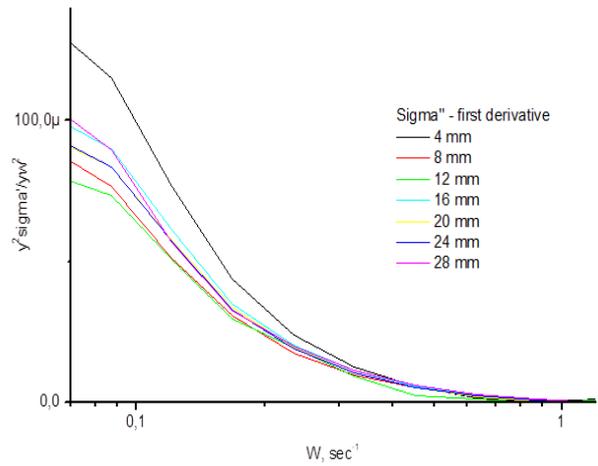


Рис.3.59. Графіки кривих другої похідної дійсної частини провідності на постійному струмі зразків печінки в залежності від відстані між електродами.

З метою уніфікованого аналізу характеру зміни форми кривих комплексних електричних параметрів імпедансу було обраховано другу похідну за частотою провідностей та тангенса діелектричних втрат досліджуваних зразків печінки в залежності від взаємного розташування електродів (рис. 3.59). Показано, що частотне розташування кривих різних відстаней між інвазивними електродами практично не відрізняються. Для прикладу, несуттєвою є різниця навіть між відстанню 4 мм та 12 мм (рис. 3.59). Враховуючи це, було вирішено застосувати другу похідну для подібної інтерпретації даних інших параметрів.



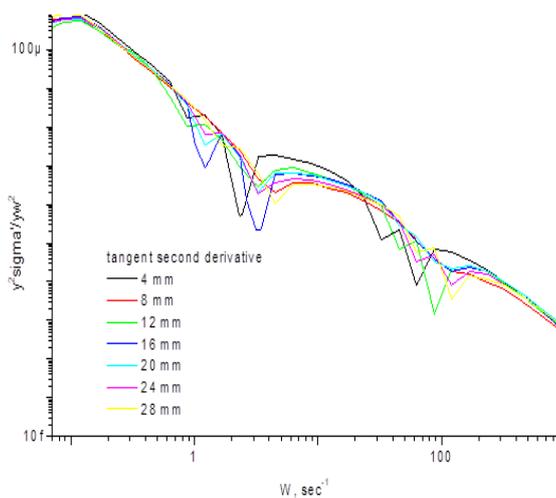
а



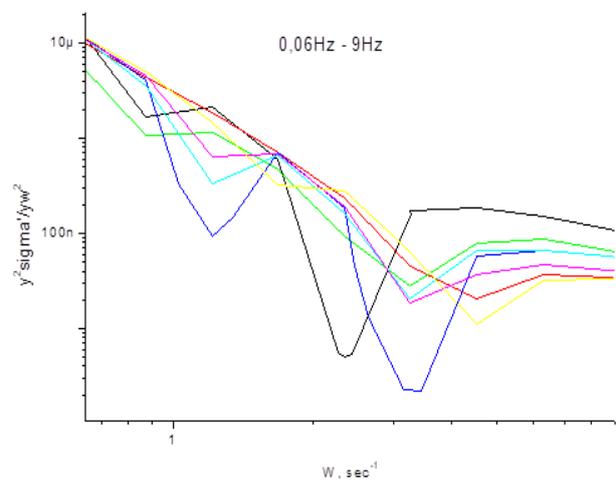
б

Рис. 3.60. Графіки кривих другої похідної уявної частини провідності на постійному струмі зразків печінки в залежності від відстані між електродами (а, б).

Було оброблено другу похідну уявної частини провідності (рис. 3.60). Відповідно до отриманого результату, отримано градієнтний спад піків досліджуваних зразків, що вказує на відносно різку зміну параметру у спектрі вказаних частот. Характер зміни провідності не відповідає відстані між електродами у повній степені, як і у випадку дійсної частини провідності (рис. 3.60а). Проте можна зауважити додатковий пік у спектрі частот 50 – 100 Гц (рис. 3.60б).



а

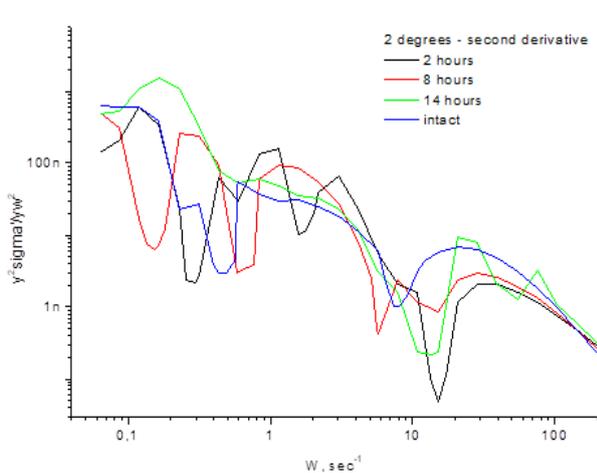


б

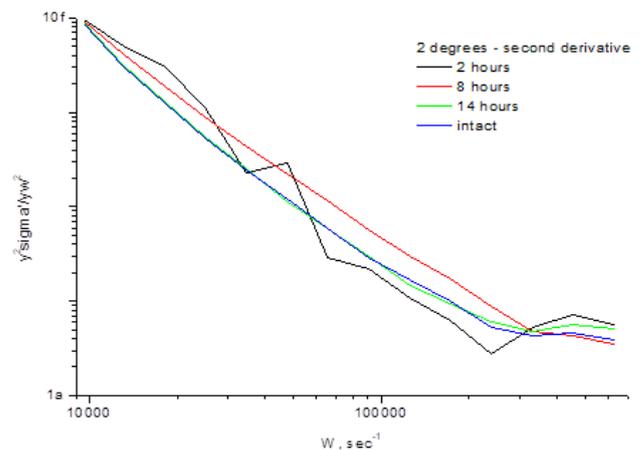
Рис. 3.61. Графіки кривих другої похідної тангенса кута втрат зразків печінки в залежності від відстані між електродами (а), де б – низькочастотна вкладка, 0.6 – 9 Гц.

Отриманий результат вказує на появу повторюваної тенденції (рис. 3.61б) появи у піків у визначеному спектрі частот 1 – 100 Гц. Подібне вказує на ймовірну чутливість біоімпедансу до загаданого спектру та резистивних компонентів клітини у зв'язку із проходженням змінного струму в позаклітинному просторі, насиченому електролітним розчином (α -дисперсія) та можливим структурними деформаціями, які можуть бути пов'язані із певними артефактами, зокрема невідповідним розміщенням інвазивних електродів або скупченням різномірних структур у ділянці вимірювання [274].

3.4.2 Вплив використання інвазивних електродів на параметри термочасового експерименту



а



б

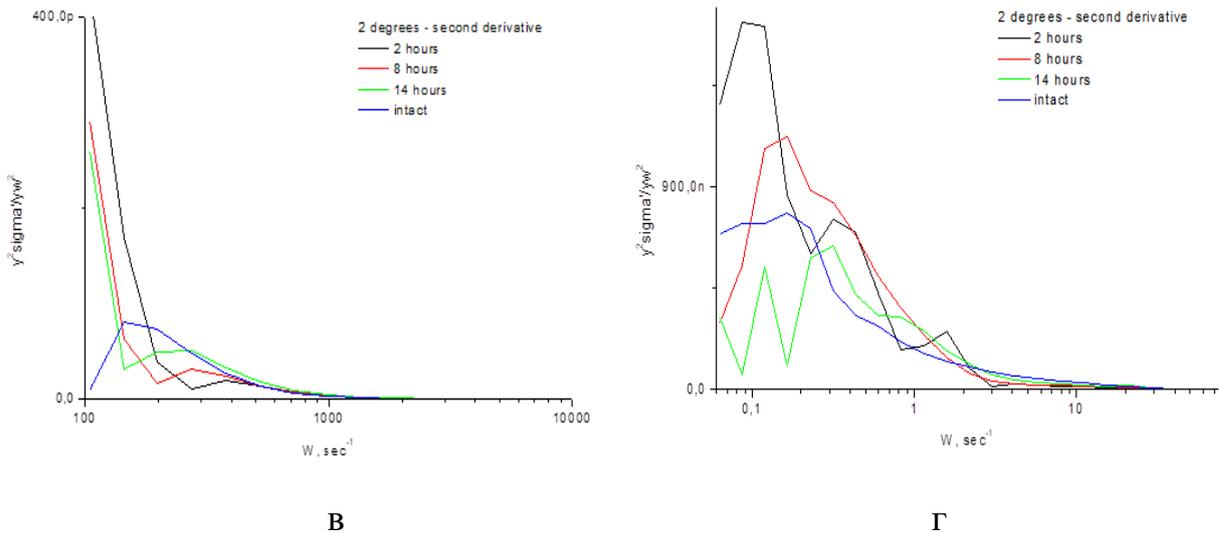
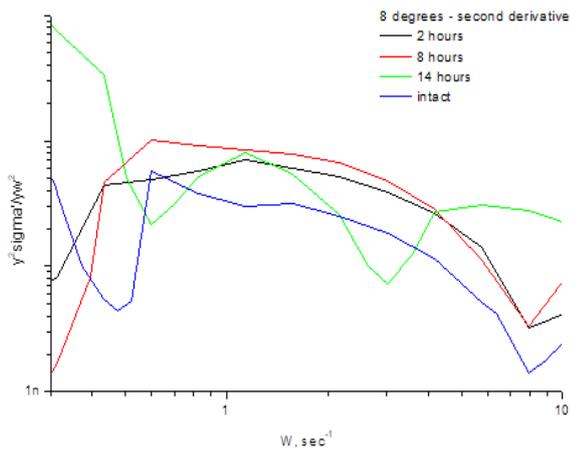
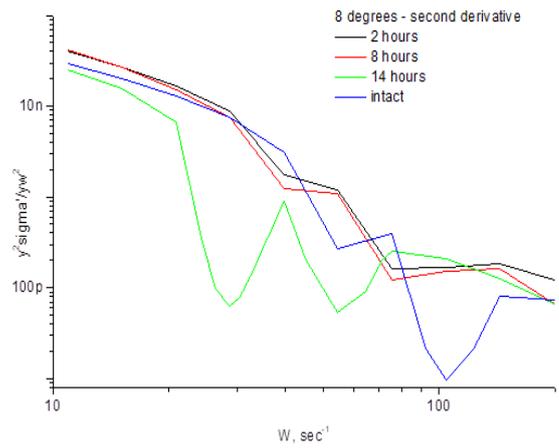


Рис. 3.62. Графіки кривих другої похідної дійсної, (а) нижчий діапазон, (б) вищий діапазон, та уявної частини (в, г) провідності зразків печінки під впливом температури 2 °С.

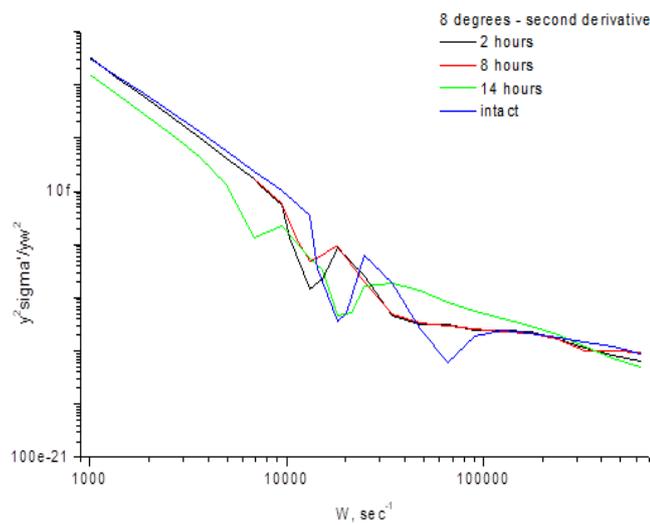
На графіках другої похідної термочасового експерименту [227] можна спостерігати піковий рух кривих різних часових інтервалів (рис. 3.62а) у подібному діапазоні низьких частот, що спостерігали раніше (рис. 3.61а, 3.60б). Враховуючи низьку ступінь руйнівного впливу використаної температури, можна відкинути можливість суттєвої деструктивної деформації. Причиною могло бути локальне скупчення рідини або електролітного розчину, до чого ІС є достатньо чутливим [275, 276]. Також варто врахувати відсутність подібних пікових значень провідності при високих частотах. Уявна частина провідності, у даному випадку, не демонструє суттєвих змін на такому ж діапазоні частот.



а



б



в

Рис. 3.63. Графіки кривих другої похідної дійсної (а) та уявної частини провідності, де (б) нижчий та (в) вищий діапазони зразків печінки під впливом температури 8 °С.

У випадку 8 °С, спостерігаються пікові значення уявної частини провідності як у низькому, так і високому діапазонах частот, зокрема у межах 10 - 100 кГц (рис. 3.63б, 3.63в). Це потенційно може бути пов'язано із поступовим підвищенням температури, що могло вплинути на чутливі мембранні компоненти. Окрім цього, присутнє зміщення піків експериментальних зразків на декілька значень, у порівнянні із інтактним (рис. 3.63в), яке, потенційно спричинено тканинною

деградацією, враховуючи високу тривалість впливу температури. Варто також врахувати безпосередній вплив частотного діапазону [277] та, беручи до уваги різноманіття форм клітин у печінці [278], можливий певний анізотропний ефект [279]. У випадку дійсної частини провідності суттєвих відмінностей значень як при низьких, так і при високих частотах не спостерігалось.

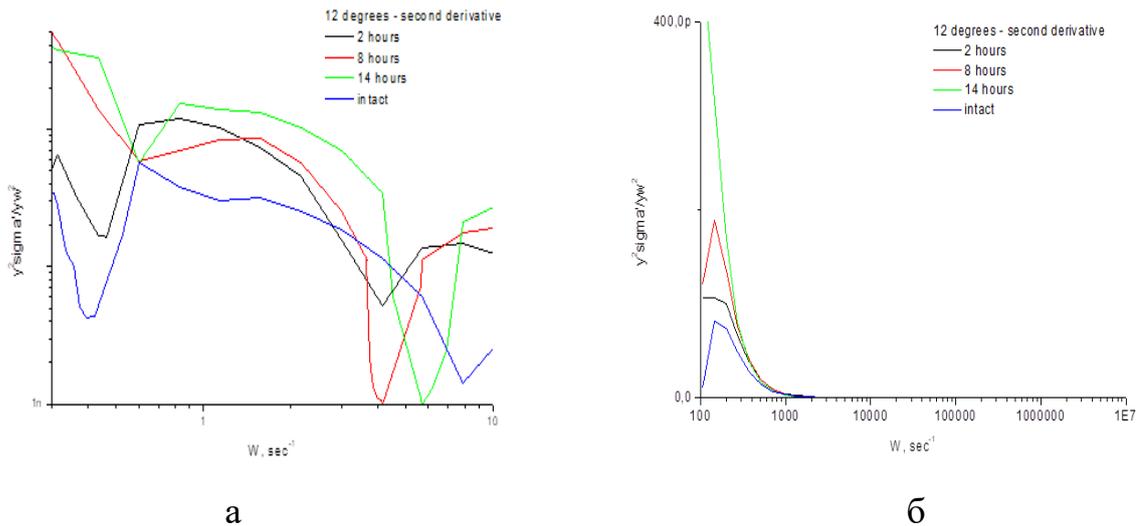
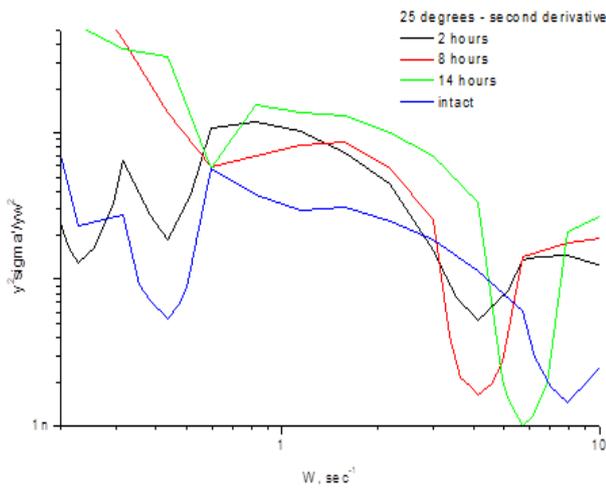
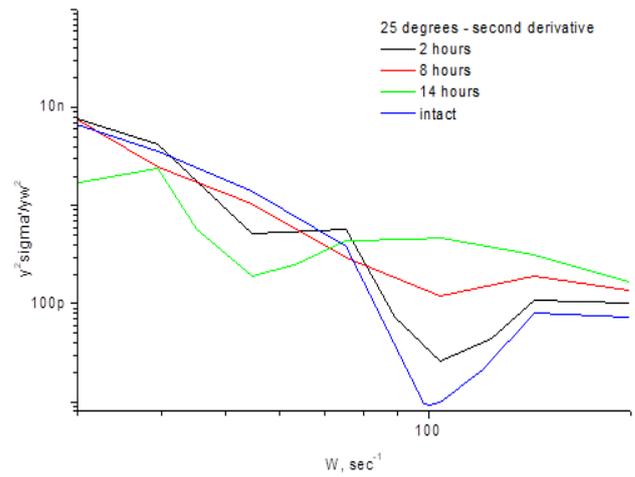


Рис. 3.64. Графіки кривих другої похідної дійсної (а) та уявної (б) частини провідності зразків печінки під впливом температури 12 °С.

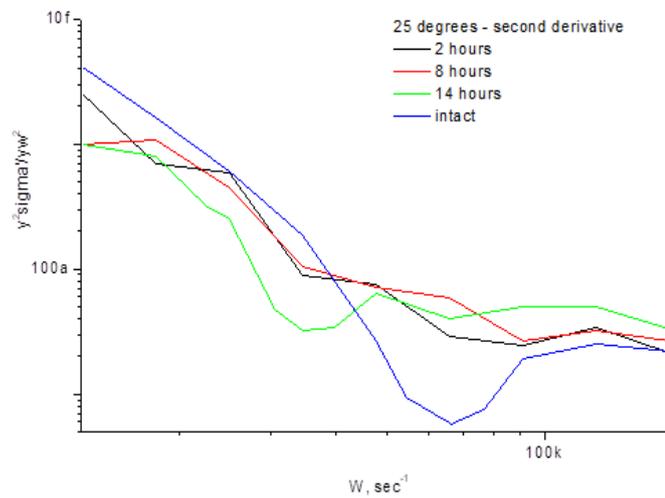
При 12°C були наявні пікові значення дійсної частини провідності (рис. 3.46а) у діапазоні низьких частот (рис. 3.46а). Варто зауважити подібність значень провідності у цьому діапазоні інтактних та експериментальних зразків. Криві уявної частини провідності не демонстрували суттєвих змін протягом всього спектру частот, що може вказувати на не достатній рівень руйнівного впливу використовуваної температури або тривалості її впливу.



а



б



в

Рис. 3.65. Графіки кривих другої похідної дійсної (а) та уявної частини провідності, де вищий діапазон (б), нижчий діапазон (в), під впливом температури 25 °С.

При впливі 25°С (рис. 3.65), у випадку дійсної частини, отримано значення у подібному діапазоні низьких частот до 12°С (рис. 3.65а). Також отримано пікові значення уявної частини провідності при 100 Гц, проте при вищому діапазоні, близько 10 – 100 кГц, пікової динаміки не було. Це може відображати як руйнівну дію температури, так і використовуваної частоти. Можна зауважити, що найбільш

пікові значення притаманні кривим інтактних зразків та 14-ти годинному часовому інтервалу, проте суттєвої динаміки не спостерігається.

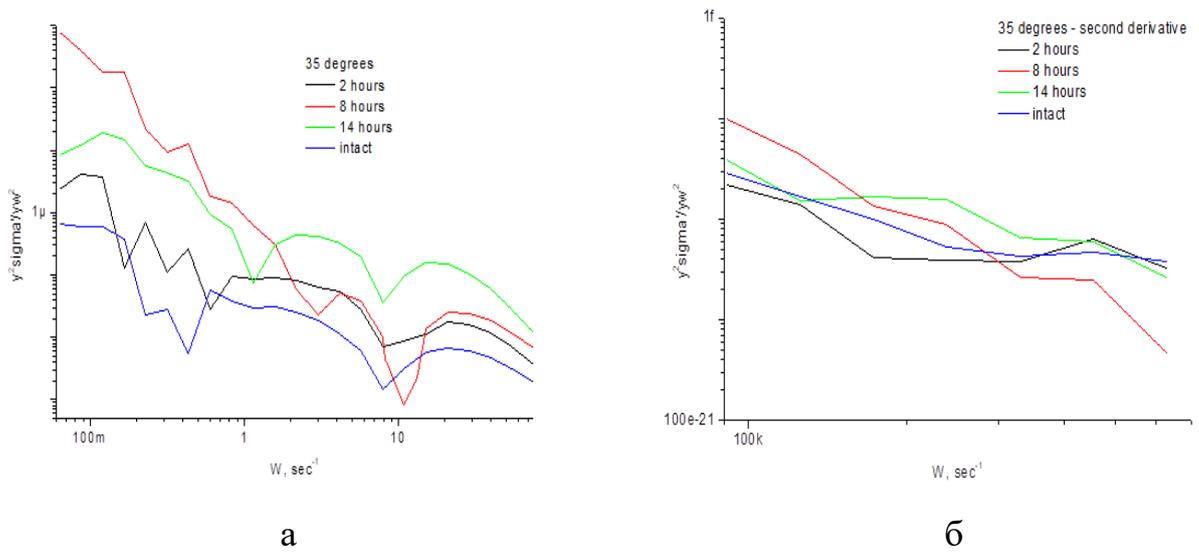
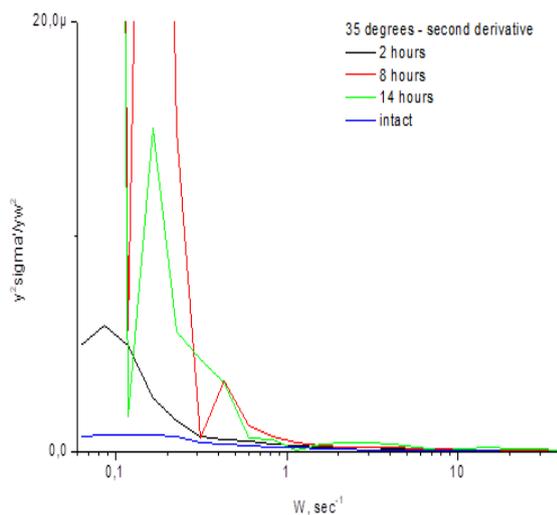
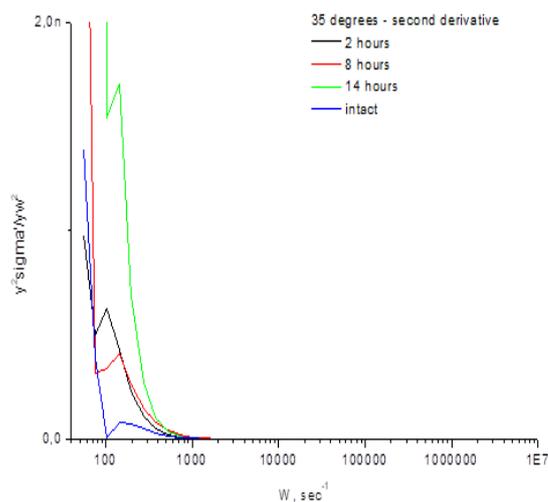


Рис.3.66. Графіки кривих другої похідної дійсної частини провідності, (а) вищий діапазон, (б) нижчий діапазон, зразків печінки під впливом температури 35 °С.

При 35°С, на вищому діапазоні, не виявлено чітких закономірностей, що, ймовірно, не дозволяє розглядати структурне руйнування, як причину чутливості біоімпедансу до змін іонної концентрації у зразку. З іншого боку, ступінь деструкції може бути занадто суттєвою для виявлення можливих змін у концентрації носіїв заряду, що пов'язане із суттєвим зменшенням кількості як зовнішньо, так і внутрішньо-клітинної рідини [227]. У діапазоні низьких частот спостерігали пікові значення у межах 6 – 10 Гц.



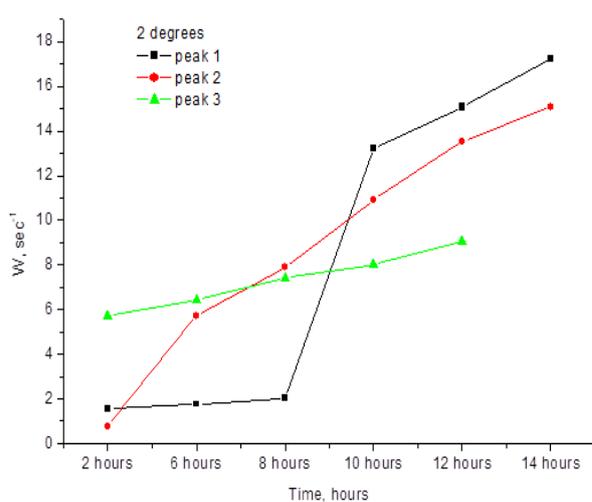
а



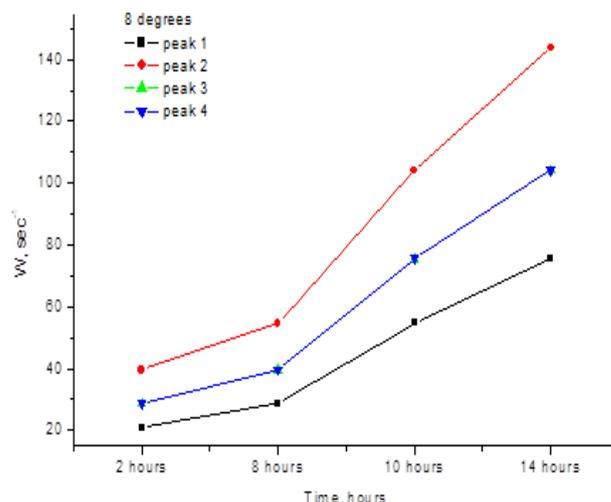
б

Рис. 3.67. Графіки кривих другої похідної уявної частини провідності, (а) нижчий діапазон, (б) вищий діапазон, зразків печінки під впливом температури 35 °С.

Друга похідна уявної частини провідності на нижчому діапазоні не продемонструвала закономірних змін (рис. 3.67а). На вищому діапазон пікові значення припадали на діапазон частот у межах 100 - 1000 Гц. Найвищих значень провідність на обох діапазонах досягла з-за 8 та 14 годинному часовому інтервалі (рис 3.67а, б).



а



б

Рис. 3.68. Графіки розміщення пікових значень уявної частини провідності зразків печінки під впливом, (а) 2 °С та 8 °С (б).

Можна зауважити, що поступове зменшення значень частоти уявної частини провідності під впливом $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ не залежить, у даному випадку, від значення температури. Окрім цього, спектр частоти, при яких було отримано всі пікові значення, не високий, що потенційно може свідчити про суттєву чутливість імпедансу до нього. Проте варто відзначити суттєве зменшення як кількості пікових значень, так і значень частоти при помірному збільшенні температури при досить тривалому впливі (рис. 15б, 16).

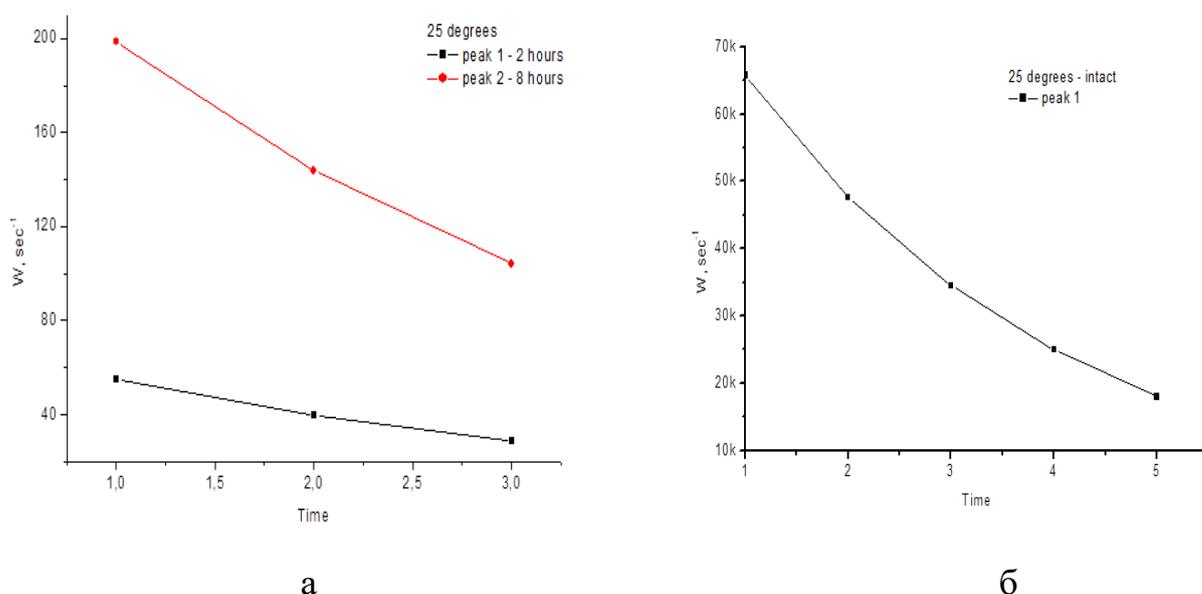


Рис. 3.69. Графіки розміщення пікових значень уявної частини провідності зразків печінки під впливом 25°C , вищій та нижчий діапазон (б).

При 25°C наявні пікові значення при восьми- та двох-годинному часовому інтервалі (рис. 3.69а). Можна зауважити суттєву різницю у частотах між різними часовими періодами впливу використаної температури на експериментальні та інтактний зразки (рис. 3.69а, б).

3.4.3 Вплив параметрів вимірювальної системи та відтворюваності результатів при повторних зйомках імпедансних спектрів

На рис. 3.70 зображені дисперсні криві дійсної та уявної частин електричної провідності тканин печінки після повторних експериментів. Спостерігається поступове зростання дійсної частини провідності від частоти, що вказує на зменшення впливу міжфазних меж і послаблення ємнісного опору. Уявна частина демонструє максимум у середньочастотному діапазоні, який відображає поляризацію на клітинних мембранах [280]. Зменшення розміру зразка яскравіше відображає вплив поверхневих ефектів, що посилює коливання уявної компоненти.

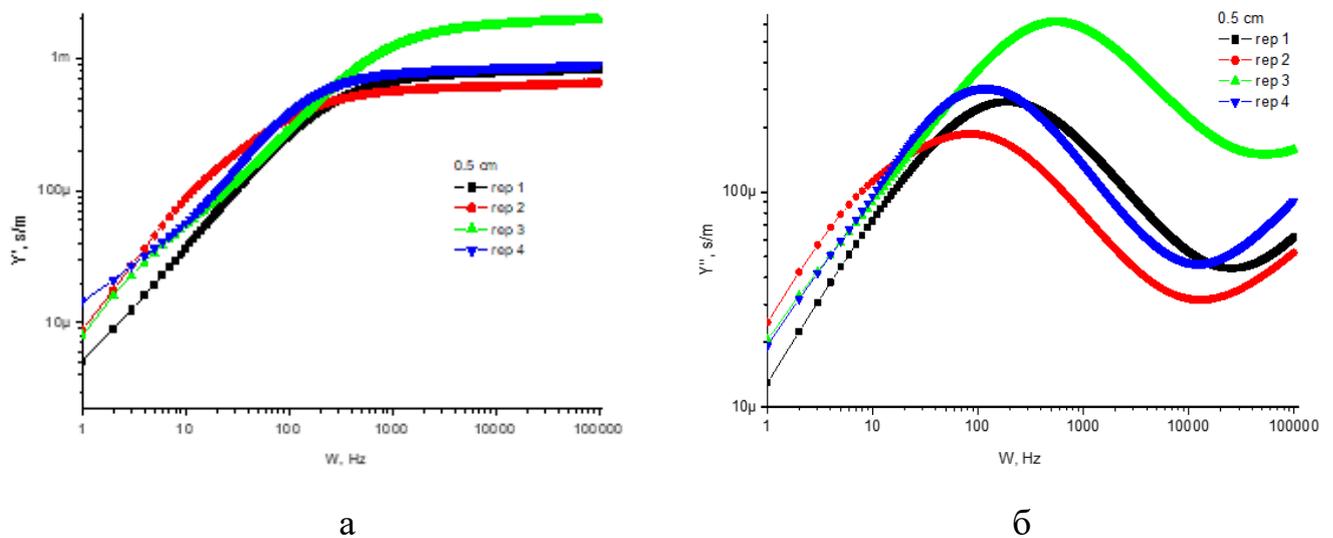


Рис. 3.70. Графіки залежності дійсної (а) та уявної частин (б) провідності зразків печінки розміром 0,5 см при повторній зйомці у залежності від частоти.

Повторна зйомка свідчить про нестабільність результатів за рахунок впливу формуючого сигналу. При цьому зберігається форма кривої, яка може служити індикатором стану досліджуваної системи. Для аналізу форми кривих знаходили їх похідні за частотою (рис. 3.71).

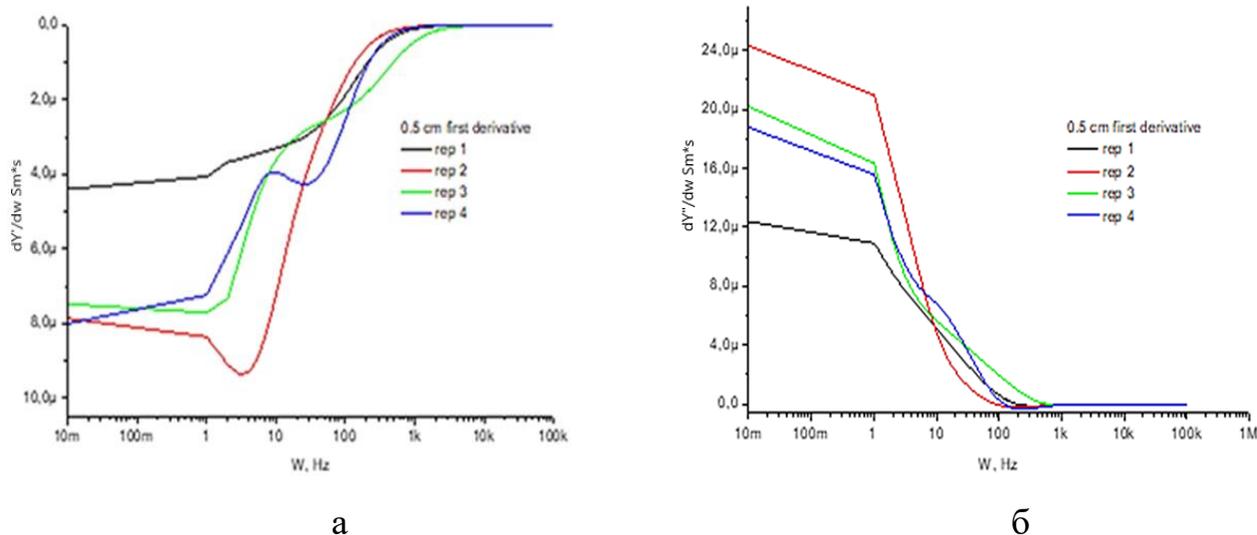
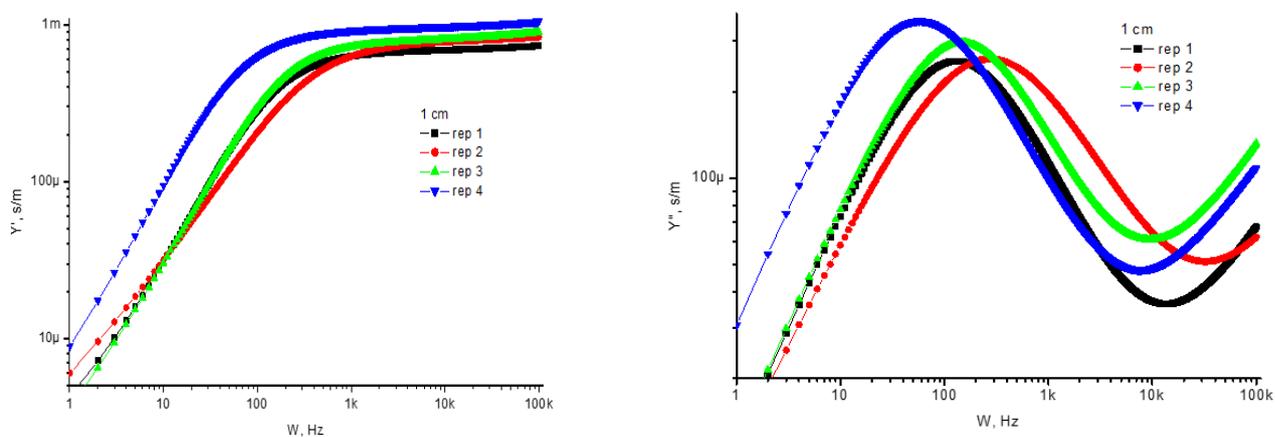


Рис. 3.71. Графіки залежності першої похідної дійсної (а) та уявної частин (б) провідності зразків печінки розміром 0,5 см при повторній зйомці у залежності від частоти.

У зразку 0,5 см провідність формується переважно за рахунок приповерхневих шарів, і саме тому графік похідної демонструє високу варіативність і наявність кількох чітких максимумів (рис. 3.71). Ці піки вказують на нестабільність провідних шляхів, які зазнають змін внаслідок навіть незначної деградації або втрати цілісності мембран. Після повторної зйомки особливо помітна розбіжність між кривими, що свідчить про велику чутливість до механічного чи біохімічного впливу. Така реакція може бути пов'язана зі збільшенням позаклітинної рідини після деградації, що перерозподіляє шляхи струму.



а

б

Рис. 3.72. Графіки залежності дійсної (а) та уявної частин (б) провідності зразків печінки розміром 1 см при повторній зйомці у залежності від частоти.

Із збільшенням розміру зразка тканин печінки помітна стабілізація дійсної провідності у низькочастотному діапазоні. Це свідчить про формування більш протяжного шляху для проходження струму через внутрішні структури тканини. Зміни уявної частини провідності вказують на зменшення впливу поляризаційних явищ на периферії зразка. Це може означати більшу роль механізмів провідності у загальній відповіді на зовнішнє електричне поле.

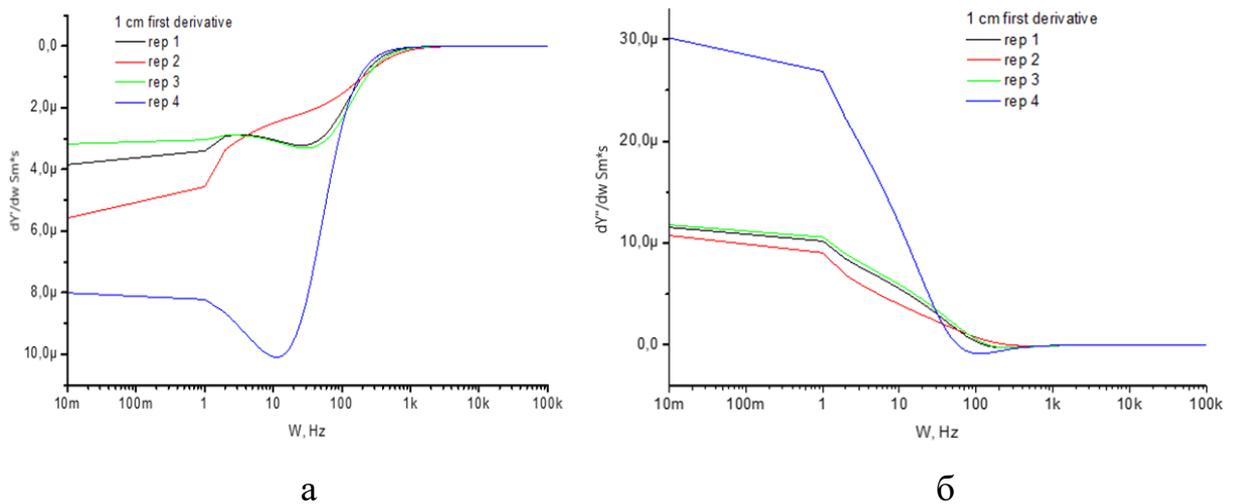


Рис. 3.73. Графіки залежності першої похідної дійсної (а) та уявної частин (б) провідності зразків печінки розміром 1 см при повторній зйомці у залежності від частоти.

На рис. 3.73 зразок демонструє часткове згладжування кривої похідної, зниження амплітуди локальних максимумів і звуження частотного діапазону активної зміни. Водночас зберігається загальна форма графіка, що вказує на стабілізацію провідності внаслідок формування нових стабільніших міжклітинних каналів або покращення рівномірності іонного середовища після початкової деструкції. Таким чином, тканина все ще реагує на частотне навантаження, але з меншим градієнтом і зниженим порогом збудливості.

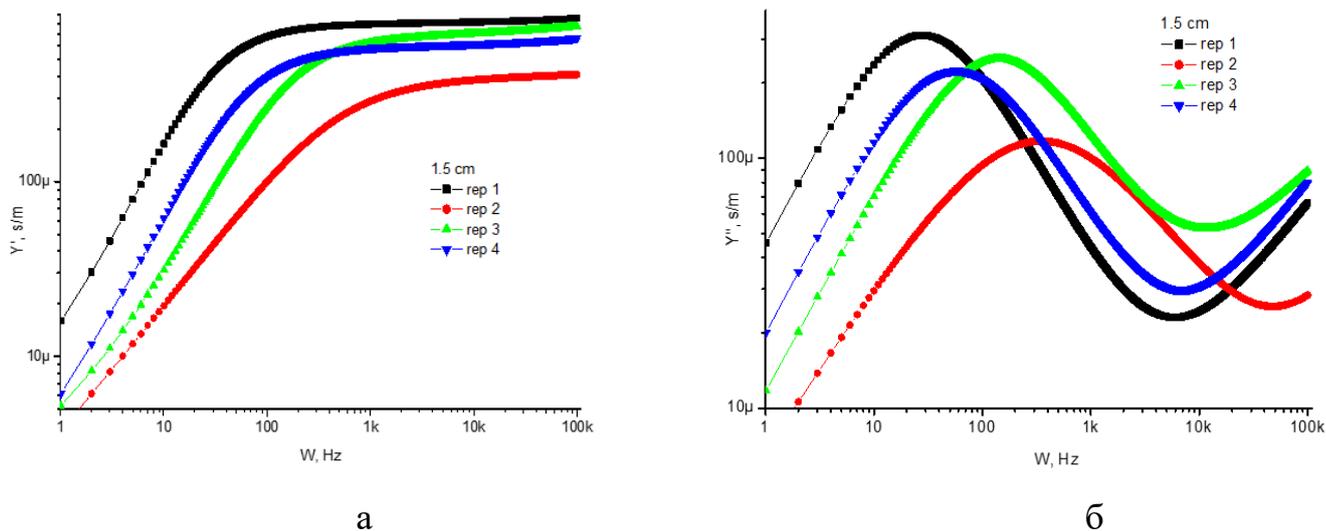
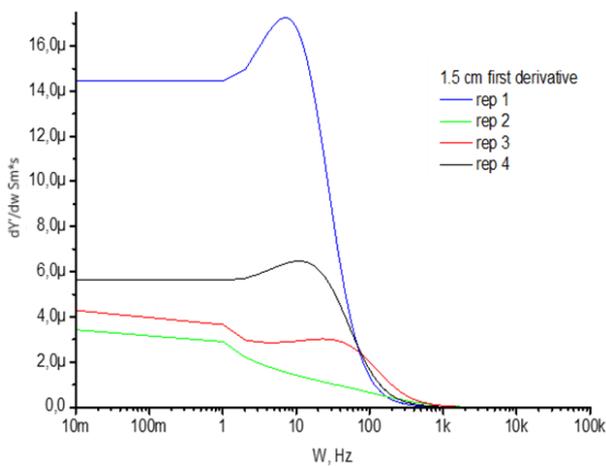
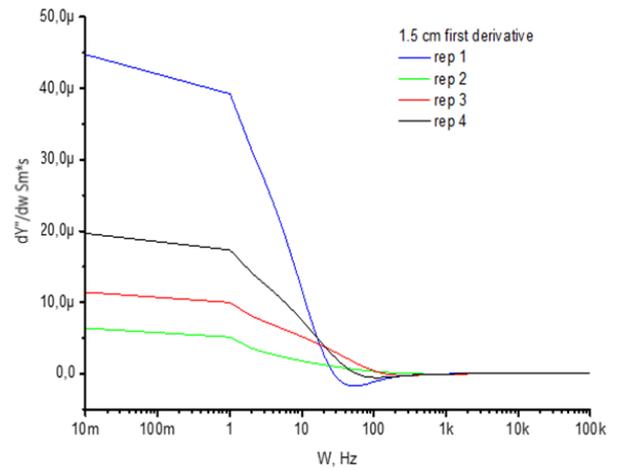


Рис. 3.74. Графіки залежності дійсної (а) та уявної частин (б) провідності зразків печінки розміром 1,5 см при повторній зйомці у залежності від частоти.

На рис. 3.74 помітно, що для великих зразків спостерігається вирівнювання дійсної провідності та зменшення амплітуди коливань уявної. Це вказує на домінування стабільних об'ємних механізмів переносу заряду. Зокрема, перенесення заряду, при якому струм взаємодіє не тільки з клітинними мембранами, і провідність перестає залежати тільки від локальних структур і стає чутливою до концентрації іонів, гідратації, тощо. Поляризаційні ефекти виявляються менш помітними, ймовірно, через збільшення відстані між електродами та зниження щільності струму поблизу меж зразка.



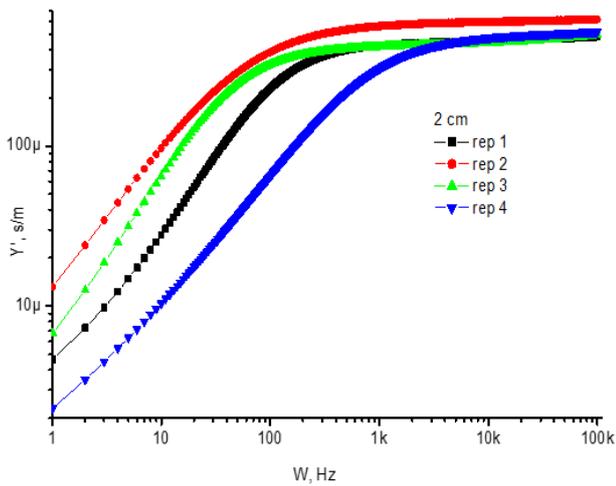
а



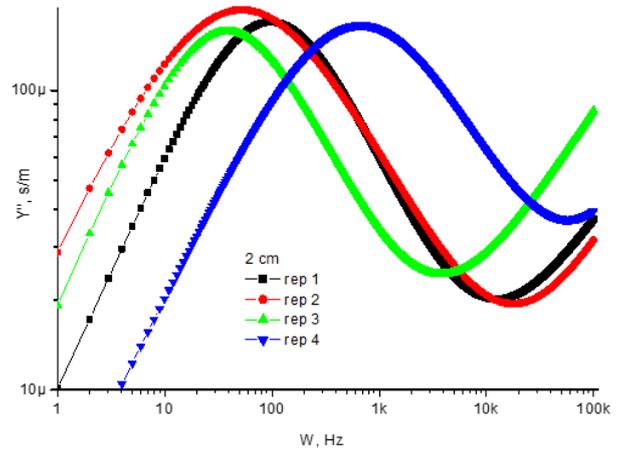
б

Рис. 3.75. Графіки залежності першої похідної дійсної (а) та уявної частин (б) провідності зразків печінки розміром 1,5 см при повторній зйомці у залежності від частоти.

Для зразка товщиною 1,5 см крива похідної стає ще більш згладженою, знижується амплітуда змін, і загальна форма набуває симетричного профілю. Це свідчить про перехід у режим, де домінують об'ємні канали провідності, які мають меншу чутливість до точкових пошкоджень. Частотна відповідь тканини стає більш інерційною, і спостерігається стабілізація функціональної геометрії струму, що може відповідати більш дифузному і рівномірному розподілу провідності у товщі (рис. 3.75). Це є типовим для більших зразків з підвищеною структурною неоднорідністю, де різні мікрообласті тканини можуть реагувати по різному на відповідні частотні зміни у зв'язку з їхньою будовою.



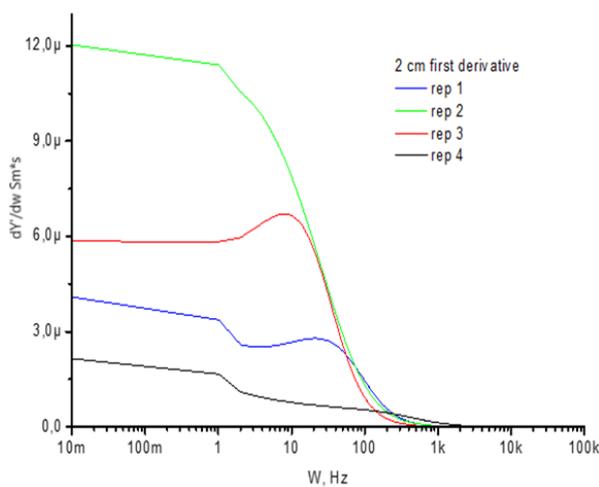
а



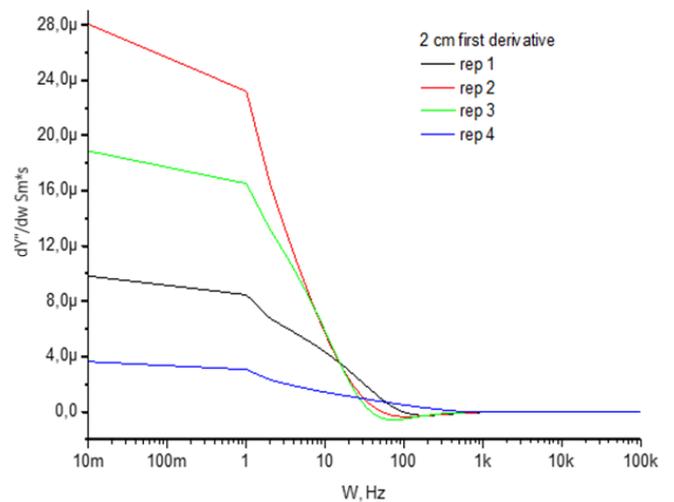
б

Рис. 3.76. Графіки залежності дійсної (а) та уявної частин (б) провідності зразків печінки розміром 2 см при повторній зйомці у залежності від частоти.

При цьому розмірі простежуються мінімальні зміни характеристик зразків. Це може вказувати на насичення електричних шляхів і поступову втрату контрасту між провідними і непровідними зонами (рис. 8). Уявна частина виявляє найменшу варіативність у порівнянні з попередніми зразками.



а



б

Рис. 3.77. Графіки залежності першої похідної дійсної (а) та уявної частин (б) провідності зразків печінки розміром 2 см при повторній зйомці у залежності від частоти.

Зразок 2 см демонструє мінімальну зміну похідної – крива близька до монотонної. Відсутність виражених екстремумів свідчить про низьку локальну реактивність тканини та загальну інертність до частотного збурення. Ймовірно, переважна частина струму проходить через внутрішньоклітинну рідину та міжклітинний матрикс, які мають стабільні провідні властивості, малочутливі до локальних мікродеструкцій. Зменшення частотної контрастності у похідній інтерпретується як показник структурної інерції тканини, що діє як фільтр для впливу частотного навантаження (рис. 3.77).

Таблиця 3.15

Положення локальних мінімумів похідної dy/dw в залежності від розміру зразка.

0.5 см		1см	
1 повтор	1,01	1 повтор	1,10
2 повтор	0,96	2 повтор	0,95
3 повтор	1,02	3 повтор	0,95
4 повтор	0,98	4 повтор	1,07
1,5 см		2 см	
1 повтор	1,2	1 повтор	1,12
2 повтор	1,04	2 повтор	0,95
3 повтор	1,02	3 повтор	0,97
4 повтор	1,22	4 повтор	0,96

Аналіз змін першої похідної провідності (рис. 3.70) дозволяє виділити ділянки з найбільш вираженими переходами в механізмах перенесення струму. Екстремуми у похідних відповідають частотам, де домінує поляризація на клітинних мембранах (альфа-дисперсія) або змінюється структура провідних шляхів. Для зразків малого розміру спостерігається підвищена чутливість до поверхневих ефектів, що призводить до зміщення й посилення коливань похідної, особливо уявної частини. Крім того, повторна зйомка могла викликати варіації у вологості, дифузії іонів або часткову перебудову клітинної архітектури, що також

відобразилось на формі похідної. Отримані дані демонструють, що перша похідна є інформативним маркером локальних змін у електричній поведінці тканини.

За аналогією розглянемо дисперсійні криві дійсної та уявної частин провідності тканин печінки, що піддавались деструктивним впливам (рис. 3.71). При цьому форма дисперсійної кривої, що визначається похідними $\frac{dY'(w)}{dw}$ та $\frac{dY''(w)}{dw}$, суттєво змінюється. У табл. 3.16 приведено загальні положення локальних мінімумів у низькочастотному діапазоні, дисперсія в якому визначається α -процесами.

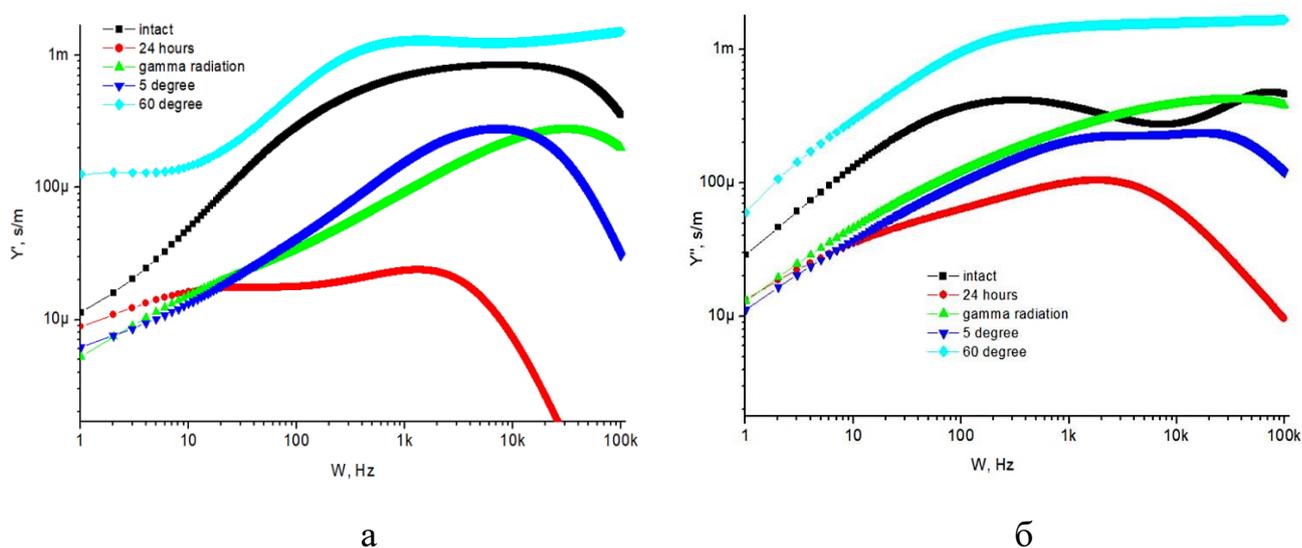


Рис. 3.78. Графіки залежності дійсної (а) та уявної частин (б) провідності тканин печінки під впливом деструктивних факторів у залежності від частоти.

У порівнянні із попередніми графіками зразки після впливу деструктивних факторів, як і очікувалось, демонструють істотні зміни у частотній поведінці. Зниження дійсної провідності на низьких частотах може бути ознакою порушення цілісності клітинних мембран і втрати провідних каналів. Уявна частина стає більш хаотичною, що може відображати руйнування структур, відповідальних за ємнісну поведінку.

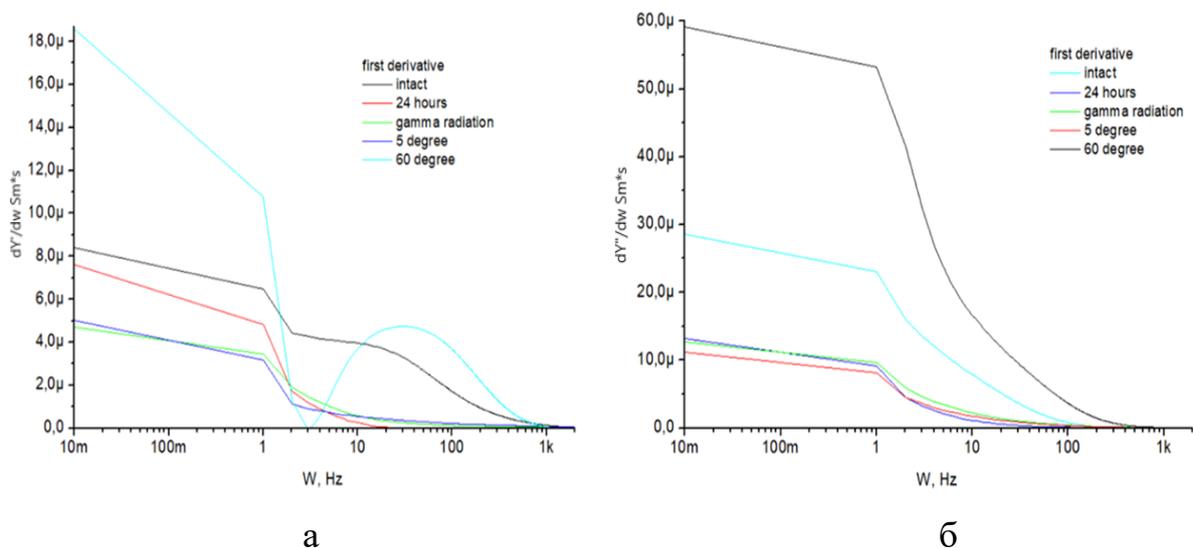


Рис. 3.79. Графіки залежності першої похідної дійсної (а) та уявної частини (б) провідності зразків печінки під впливом деструктивних факторів у залежності від частоти.

Рис. 3.79 ілюструє частотну залежність першої похідної дійсної частини провідності зразка товщиною 2 см після впливу зовнішніх деструктивних факторів. Графік демонструє малоамплітудний, згладжений профіль, в якому відсутні чітко виражені локальні піки, характерні для зразків меншої товщини або інтактних структур. Така форма кривої свідчить про високу електричну інерційність тканини, що сформувалася як результат глибоких змін внутрішньої архітектури провідності.

Зниження градієнтів у кривій похідної вказує на те, що основна частина струму проходить через деградовані, менш структуровані об'єми, де відсутні різкі переходи у провідності. Це може бути пов'язано з руйнуванням цілісності клітинних мембран, які в нормі утворюють бар'єри і діелектричні структури, що викликають сильні локальні зміни провідності з частотою, збільшення інтерстиціального простору, через який струм розподіляється рівномірніше, що знижує частотну чутливість та сприяє утворенню великих іонних басейнів – ділянок з підвищеною електролітною насиченістю, які гасять частотну фільтрацію і приводять до монотонізації кривої похідної.

Частоти мінімумів другої похідної у залежності від впливів деструктивних факторів на табл. 3.16

Таблиця 3.16

Положення локальних мінімумів похідної dy''/dw в залежності від впливу деструктивного фактору.

фактори	частота положення локального мінімуму, Гц
інтактний	0,9
24 години	1,1
γ-радіація	0,89
1 година при 5°	1
1 година при 60°	0,98

РОЗДІЛ IV. АНАЛІЗ ЗАКОНОМІРНОСТЕЙ ТРАНСФОРМАЦІЇ ІМПЕДАНСНИХ ПАРАМЕТРІВ ТА ВЕРИФІКАЦІЯ МАРКЕРІВ ДЕСТРУКЦІЇ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН

4.1 Порівняльний аналіз імпедансних характеристик біологічних тканин різної морфології.

Результати вимірювань, наведені у розділі III, свідчать про виражену залежність форми імпедансних спектрів від морфологічної організації досліджуваних тканин. Уже при первинному аналізі діаграм Найквіста (рис. 3.1) було встановлено суттєві відмінності між спектрами різних органів, що зумовлено як їхньою гістологічною структурою, так і функціональним навантаженням. Зокрема, зпривертає увагу відмінність у куті нахилу поляризаційних віток та геометричних розмірах напівкіл імпедансних кривих для мозку, легень, нирок і печінки при порівнянні параметрів зразків з однаковою геометрією. Найбільший радіус напівкола було зафіксовано для ниркової тканини, що свідчить про підвищене значення активної складової імпедансу порівняно з іншими органами. Такий ефект узгоджується з морфофункціональними особливостями нирки, зокрема наявністю чашково-мискової системи та можливим залишковим вмістом електролітів, які впливають на формування додаткового активного внеску в загальний імпеданс тканини [282].

Порівняно з ниркою, тканини мозку та легень характеризуються меншими значеннями комплексного опору. Для легеневої тканини це може бути пов'язано з високим рівнем васкуляризації та значною питомою часткою повітряних порожнин, що формують специфічну мікроструктуру з розвиненою мережею судин і капілярів [283]. Така організація зумовлює відносно високий вміст електролітів у міжклітинному просторі та відповідно зниження сумарного активного опору. Мозкова тканина, яка складається з сірої та білої речовини з розвиненою судинною мережею та складною архітектонікою нейрональних структур, зумовлює високу

поляризаційну активність нервової тканини. Це пояснюється особливостями мембранних процесів та іонного транспорту і може визначати специфічну форму імпедансної кривої та зменшення її активної складової [284]. Таким чином, відмінності у спектрах імпедансу відображають не лише різну провідність міжклітинного середовища, але й ступінь вираженості мембранних процесів, що визначають реактивну складову імпедансу.

Аналіз параметрів еквівалентних електричних схем показав, що для кожного типу тканини характерна власна конфігурація співвідношення R-CPE ланок. Для нирки спостерігається підвищення значень активних елементів, що корелює з більшим внеском позаклітинного компартменту, тоді як для мозку та легень більш суттєву роль відіграють ємнісні параметри, пов'язані з мембранною поляризацією. Це підтверджує коректність використання багатоланкової еквівалентної моделі для опису тканин із різною морфологічною організацією.

Таким чином, отримані експериментальні дані демонструють, що імпедансна спектроскопія є чутливим методом диференціації біологічних тканин за їхньою морфофункціональною структурою. Виявлені відмінності в активній та реактивній складових імпедансу створюють підґрунтя для подальшої інтерпретації трансформації параметрів еквівалентних схем під впливом деструктивних факторів, що буде детально розглянуто у наступних пунктах цього розділу.

4.2. Температурна деструкція як модель контрольованої трансформації: стадійність змін імпедансних параметрів

Температурний вплив використовувався як керована модель поступової трансформації тканини печінки, що дозволило простежити кількісну динаміку зміни імпедансних параметрів у діапазоні 0–60°C з урахуванням часової експозиції (2, 8 та 14 год). Отримані результати свідчать про нелінійний характер залежності

електричних параметрів від температури та дозволяють виділити чіткі порогові інтервали структурної перебудови [177, 198–203].

У діапазоні 2–12°C (низькотемпературний інтервал) при експозиції до 8 год зміни імпедансної відповіді мали переважно параметричний характер без зміни топології триланкової еквівалентної моделі. Зафіксовано зменшення зовнішньоклітинного опору R_e на 5–12% від інтактного значення; варіацію внутрішньоклітинного опору R_i у межах 3–10%, зміну параметра СРЕ-Т мембранної ланки до 8–15%, збереження R_z на рівні 90–95% від початкового значення. Фазовий кут у середньочастотному діапазоні (10^2 – 10^4 Гц) змінювався не більше ніж на 3–5°, що свідчить про збереження мембранної ємнісної складової. Загальна провідність σ у високочастотній області (≥ 10 кГц) зростала не більше ніж на 10–15%, що узгоджується зі зниженням в'язкості середовища та перерозподілом іонів без руйнування мембран [220, 222].

Таким чином, на цьому етапі спостерігалася оборотна функціональна перебудова без втрати структурних компонентів моделі.

Підвищення температури до 25–35°C (середній температурний діапазон) та експозиція 8–14 год супроводжувалися різким зростанням амплітуди змін імпедансних параметрів. Зареєстровано зменшення R_z на 30–60% від інтактного значення, зниження СРЕ-Т мембранної ланки на 25–40%, зростання провідності σ у високочастотному діапазоні на 35–55%;, зменшення фазового кута в β -області на 10–18°.

У цьому інтервалі спостерігалася часткове спрощення моделі: параметри третьої СРЕ-R гілки ставали статистично нестабільними, а її внесок у сумарний імпеданс зменшувався до <10% від загального значення.

Характерною ознакою стало зміщення характерної частоти максимуму імпедансної кривої у бік нижчих значень приблизно на 20–30%. Це може бути пов'язано зі зростанням ефективного розміру електропровідних комплексів та зміною мембранної поляризації [177, 200].

Отримані дані свідчать про перехід від функціональної перебудови до структурної деградації мембран, що супроводжується втратою селективної проникності та витоком іонів у позаклітинний простір.

У діапазоні 40–60°C (високотемпературний інтервал) спостерігалася повна структурна трансформація імпедансної відповіді. Для діапазону характерною є повна втрата третьої CPE-R ланки еквівалентної електричної схеми, зменшення сумарної ємнісної складової на 50–70%, зростання дійсного значення провідності σ на 60–90% від інтактного стану, а також зменшення реальної частини імпедансу в низькочастотній області на 40–65% і зміщення характерної частоти на 35–50% у бік нижчих значень.

Фазовий кут у середньочастотному діапазоні зменшувався більш ніж на 20°, що відображає втрату реактивної складової та домінування резистивного каналу провідності.

Такі зміни відповідають глибокій денатурації мембранних білків і руйнуванню ліпідного бішару, що підтверджено морфологічними спостереженнями (див. розд. III) [198–203].

Після повної втрати R_3 відновлення параметрів при зниженні температури не спостерігалася, що свідчить про необоротність трансформації.

Аналіз отриманих даних дозволив виділити кількісні критерії переходу між стадіями:

$\Delta R_3 \leq 10\%$ — функціональна перебудова;

$30\% \leq \Delta R_3 \leq 60\%$ — порогова мембранна деградація;

$\Delta R_3 \geq 70\%$ або повна втрата ланки — необоротна деструкція.

Зростання провідності σ понад 50% від інтактного значення корелювало з морфологічними ознаками некротичної трансформації, а зміна фазового кута більш ніж на 15° у β -діапазоні може розглядатися як електричний індикатор втрати мембранної цілісності.

Таким чином, температурна модель продемонструвала кількісно виражену стадійність трансформації імпедансних параметрів тканини печінки. Зміни мають

пороговий характер і відображають послідовний перехід від оборотної функціональної перебудови до необоротної структурної деструкції [177, 194, 200].

4.3 Частотна дисперсія, провідність, тангенс кута втрат та резонансна частота як потенційні маркери некротичного руйнування.

Отримані у розділі III результати свідчать, що при переході тканини печінки від інтактного стану до стадій деструкції змінюється не лише абсолютний рівень електричних параметрів, а й характер їх частотної залежності, тобто змінюється сама структура механізмів перенесення заряду. Саме тому аналіз частотної дисперсії комплексних електричних величин є не додатковим описом даних, а окремим аналітичним підходом, який дозволяє відокремити оборотні фізико-хімічні перебудови, ранні етапи мембранної дестабілізації, порогові події, пов'язані з руйнуванням мембрани, та режим повної втрати компартменталізації, характерний для некротичного типу трансформації [266].

У межах досліджуваного частотного діапазону (0,01 Гц – 100 кГц) ключовими є низькочастотні області, де внесок мембранних бар'єрів і поляризаційних явищ максимальний, і середньочастотні області, де проявляється ефективна “конкуренція” між активною провідністю електролітного середовища та реактивним (ємнісним) внеском меж поділу фаз. Саме тут спектральні криві демонструють найбільшу чутливість до структурних змін тканини. У розділі III це найвиразніше видно на кривих провідності та їх похідних (зокрема, рис. 3.41), а також на температурній еволюції параметрів еквівалентної моделі (рис. 3.21) і на зміні показників СРЕ (рис. 3.40) [264].

Насамперед, провідність (як характеристика, пов'язана з рухливістю іонів і ефективними шляхами їх перенесення) реагує на температурні та деструктивні впливи найбільш “прямо”. На ранніх етапах температурної дії зростання провідності має очікуваний фізичний зміст: збільшення температури підвищує рухливість заряджених частинок, зменшує в'язкість внутрішньо- та позаклітинного

середовищ і, відповідно, зменшує ефективний опір. Однак характерною ознакою ранньої стадії є те, що підвищення провідності не руйнує спектральну структуру: частотні криві зберігають характерний вигляд дисперсії, а модель зберігає триланкову структуру — змінюються передусім параметри (опори та параметри СРЕ), але не топологія еквівалентної схеми. Така поведінка узгоджується з тим, що мембрана ще виконує бар'єрну функцію, хоча її проникність уже може зростати, тобто маємо переважно параметричну деградацію без структурної трансформації [266].

На наступних етапах, коли деструкція стає глибшою, провідність зростає внаслідок втрати компартменталізації: внутрішньоклітинні іони та рідина виходять у позаклітинний простір, середовище стає електролітно більш однорідним, а бар'єрна роль мембрани зменшується. У такому режимі характерним стає згладжування частотної селективності: дисперсійний перехід стає менш вираженим, а частотні криві наближаються до поведінки системи з домінуванням резистивної складової. Це узгоджується з тим, що мембранний внесок (ємнісний/поляризаційний) слабшає, а провідність визначається переважно електролітним переносом заряду. Саме цю логіку важливо підкреслити: зростання σ тут уже є не просто фізичним наслідком нагрівання, а маркером втрати структурної ізоляції клітинних компартментів [266–268]. У контексті розділу III така трансформація супроводжується узгодженими змінами в параметрах моделі (див. рис. 3.21), де опори відповідних ланок змінюються стадійно [264].

Окремо варто наголосити на ролі параметрів СРЕ, оскільки в дослідженні тканини печінки вони фактично виконують функцію “перехідних” індикаторів між режимом частково збереженої мембранної структури та режимом її деградації. Параметр СРЕ (зокрема показник степеня, який у роботі фіксується як СРЕ1-Р) відображає міру відхилення системи від поведінки ідеального конденсатора, тому його зміни відображають реальну структурну неоднорідність та дисперсійність поляризаційних процесів. У розділі III показано, що за температур, близьких до 0 °С, значення СРЕ1-Р може перевищувати 1 (рис. 3.40а), що інтерпретовано як наслідок фазових (кристалізаційних) явищ та втрати адекватності

феноменологічної інтерпретації моделі для цього стану. Цей момент важливий методологічно: він демонструє, що при певних фізичних станах тканини (зміна агрегатного стану води, формування кристалічних структур) сама “класична” схема інтерпретації може давати параметри, які виходять за межі фізично коректних значень, - і це треба трактувати не як “аномалію вимірювання”, а як сигнал про зміну режиму процесів у тканині [264].

Друга група показників, які виявили виразну стадійність, — це значення тангенса кута діелектричних втрат ($\tan\delta$), що відображає баланс між активним (дисипативним) і реактивним (поляризаційно-ємнісним) механізмами відповіді тканини. Якщо провідність “підсвічує” іонний перенос, то $\tan\delta$ є чутливим до того, чи зберігається структурно організований внесок мембран і меж поділу, чи система вже переходить до режиму переважно резистивної дисипації. На ранніх етапах ушкодження зростання $\tan\delta$ у відповідній частотній області можна тлумачити як збільшення втрат у системі на тлі ще частково збережених поляризаційних процесів. Іншими словами, мембрана ще “працює” як структура, що формує реактивну складову, але одночасно зростає дисипація через підвищену проникність і втрату енергетично “ощадливого” режиму перенесення заряду. У міру поглиблення деструкції, коли мембранна організація руйнується, $\tan\delta$ змінює характер: система стає менш частотно селективною, а реактивний внесок слабшає — відповідно $\tan\delta$ може демонструвати іншу амплітудно-частотну поведінку, яку логічно розглядати як перехід до некротичної стадії [264, 266–268] (рис. 3.21, 3.40, 3.41).

Третій важливий параметр - резонансна частота вимірювального сигналу - виконує роль інтегрального показника, який відображає зміну співвідношення “ефективна ємність / ефективний опір” у системі. Її зміщення ми трактуємо як наслідок перебудови мікроструктурних механізмів поляризації та релаксації в тканині. На початкових етапах зміни резонансної частоти відповідають зміні електролітного середовища та рухливості іонів, а при прогресуванні деструкції вони відображають зміну спектру релаксаційних процесів і “укрупнення” ефективних дипольних/поляризаційних структур. Власне, цей параметр зручний

тим, що узагальнює складну спектральну перебудову до одного числового індикатора, який може бути зіставлений із модельними маркерами, зокрема, зі стадіями втрати внеску мембранної ланки в еквівалентній схемі (рис. 3.21, 3.40) [264].

У розділі III розмежовані два типи змін: параметричні зміни в межах сталої структури моделі та структурна трансформація моделі (втрата ланки/ланок). Для інтерпретації маркерів некротичного руйнування це є ключовою логічною рамкою. Параметричні зміни (зменшення/зростання R-елементів, зміна CPE-T, зміна показника CPE-P без втрати топології) відповідають таким станам, де тканина ще має структурні бар'єри, а процеси можуть бути частково оборотними або проміжними. Натомість втрату ланки слід трактувати як модельний еквівалент критичного структурного порогу - співвідношення впливів, коли певний механізм перенесення заряду (пов'язаний із мембранною поляризацією або ізольованими компартментами) перестає робити відчутний внесок у спектр. У фізіологічній інтерпретації це відповідає стадії, де мембрана вже не забезпечує функціональної ізоляції й система переходить до режиму "змішаного" електроліту саме це є характерною рисою некротичного руйнування [266–268].

Отримані експериментальні результати свідчать про системний характер перебудови електричних властивостей тканини у процесах її деструкції. Встановлено, що зростання провідності σ у всьому досліджуваному частотному діапазоні супроводжується зміною параметрів елементів CPE, що відображає трансформацію механізмів поляризації та зростання структурної неоднорідності середовища. Паралельно з цим фіксується зміна тангенса кута діелектричних втрат $\tan \delta$, яка характеризує перерозподіл між реактивною та активною складовими імпедансу й вказує на зменшення внеску мембранної ємнісної реакції та посилення дисипативних процесів. Одночасно спостерігається зміщення резонансної частоти, що є інтегральним наслідком зміни ефективного співвідношення «опір–ємність» у тканині та відображає перебудову релаксаційного спектра поляризаційних комплексів [266–268].

Таким чином, отримані параметричні зміни формують взаємопов'язану систему маркерів, у межах якої кожен показник відображає окремий аспект деструктивного процесу: провідність σ - електролітну компоненту та витік іонів; параметри СРЕ - ступінь структурної неоднорідності та характер поляризації; $\tan\delta$ - інтенсивність енергетичної дисипації та втрату мембранної реактивності; резонансна частота - зміни масштабів та часу релаксації поляризаційних структур.

Перехід від інтактного стану до некротичної деструкції відображається не одним параметром, а узгодженим набором спектральних та модельних змін. Ранні стадії характеризуються переважно параметричними зсувами (змінами опорів і СРЕ за сталої топології), а пізніші - структурною трансформацією, що проявляється в моделі як втрата внеску окремих ланок, а у спектральних параметрах - як згладжування дисперсії, підвищення провідності та перебудова $\tan\delta$ і резонансних характеристик. У сукупності це дозволяє розглядати частотну дисперсію, провідність, $\tan\delta$ та резонансну частоту як потенційні кількісні маркери стадійності некротичного руйнування тканини печінки [266–268].

4.4 Верифікація стабільності моделі та обмеження методу.

Побудована в роботі триланкова електрична еквівалентна модель тканини печінки була не лише інструментом апроксимації експериментальних даних, але й засобом структурної інтерпретації процесів деструкції. Тому критично важливим етапом дослідження стала перевірка її стабільності, відтворюваності та чутливості до геометричних і методологічних чинників.

Аналіз серій повторних вимірювань показав, що для інтактних зразків коефіцієнт варіації основних параметрів (R_1 , R_2 , R_3 та параметрів СРЕ) не перевищував 5–8%, що свідчить про високу відтворюваність спектрів у межах контрольованих умов. При цьому форма годографа імпедансу та положення характерних частот залишались стабільними. Така поведінка підтверджує адекватність обраної моделі для опису структури інтактної тканини.

Водночас було встановлено, що зміна геометричних параметрів зразка (довжини та площі поперечного перерізу) впливає переважно на абсолютні значення резистивних компонентів, але не змінює структури моделі. Зменшення товщини зразка призводило до пропорційного зниження сумарного опору, що відповідає класичній залежності $R \sim 1/S$. Проте відносні співвідношення між R_1 , R_2 та R_3 зберігалися, а наявність або відсутність третьої ланки не залежала від геометрії. Це дозволяє розглядати втрату R_3 не як артефакт вимірювання, а як об'єктивний структурний маркер мембранної деградації.

Особливу увагу приділено впливу повторних вимірювань на один і той самий зразок. Показано, що за умов дотримання низькоамплітудного режиму (0–5 мВ) спектральна характеристика не зазнає статистично значущих змін у межах одного експериментального циклу. Це підтверджує, що вимірювальний сигнал не індукує додаткових структурних трансформацій тканини, а метод залишається неінвазивним у межах використаних параметрів.

Разом із тим, аналіз результатів показав і низку обмежень. По-перше, біологічна тканина є мікроструктурно неоднорідною, тому локальні ділянки можуть демонструвати різну швидкість деградації, що відображається у варіабельності параметрів R_2 та CPE_2 на ранніх етапах. По-друге, у високочастотній області можливий вплив розподілених параметрів вимірювальної системи, що потребує коректної калібровки та контролю контактного імпедансу. По-третє, спрощення складної тривимірної структури тканини до зосередженої R–CPE схеми неминуче є феноменологічним наближенням.

Однак саме феноменологічний підхід виявився ефективним для виділення структурно значущих маркерів. Отримані результати демонструють, що:

- параметричні зміни R_1 та R_2 відображають перерозподіл електролітів та води;
- зменшення R_3 є кількісним показником втрати мембранної цілісності;
- зсув характерних частот дисперсії корелює з укрупненням структурних комплексів;

- зростання провідності та $\tan \delta$ відображає домінування дисипативних процесів у деструктурованій тканині.

Таким чином, запропонована модель дозволяє не лише апроксимувати спектри імпедансу, але й формалізувати стадійність некротичної трансформації. Її стабільність щодо геометричних параметрів та повторних вимірювань свідчить про можливість використання моделі як інструмента порівняльного аналізу тканин різного стану.

Важливим результатом є встановлення того, що втрата третьої ланки моделі (R_3 – CPE_3) має пороговий характер і не є поступовою деградацією параметра, а відповідає структурному переходу системи. Це дозволяє розглядати момент її зникнення як електрофізичний критерій переходу від оборотної функціональної перебудови до необоротної деструкції.

Узагальнюючи, можна стверджувати, що проведене дослідження підтвердило структурну чутливість імпедансної спектроскопії до температурно-індукованої трансформації тканини печінки. Поєднання параметричного аналізу еквівалентної моделі з частотними характеристиками спектра дозволило сформулювати систему кількісних маркерів, придатних для диференціації стадій пошкодження.

Саме ця сукупність результатів становить концептуальну основу роботи та обґрунтовує можливість подальшого застосування методу спектроскопії електричного імпедансу для об'єктивної експресної оцінки некротичних змін біологічних тканин.

Таким чином, проведений комплексний аналіз експериментальних даних дозволив встановити закономірності трансформації електричних параметрів біологічних тканин під впливом контрольованих деструктивних чинників. Показано, що зміни активної та реактивної складових імпедансу мають стадійний характер і відображають послідовні морфофункціональні перебудови тканини — від первинних параметричних коливань до втрати окремих структурних ланок еквівалентної моделі. Виявлена кореляція між температурними режимами,

часовими інтервалами експозиції та перебудовою триланкової R–CPE структури еквівалентної електричної схеми підтверджує можливість використання імпедансної спектроскопії як інструмента кількісної оцінки ступеня мембранної деградації та некротичного руйнування. Отримані результати формують методологічну основу для подальшого впровадження імпедансного підходу в задачах моніторингу стану тканин та слугують підґрунтям для узагальнень, сформульованих у загальних висновках роботи.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що профілі (діаграми Найквіста та частотні залежності дійсної і уявної частини електричної провідності) імпедансних спектрів досліджуваних біологічних тканин інтактних зразків різних органів (печінка, нирки, мозок, легені, серце) є строго специфічними та детерміновані їхньою унікальною гістологічною архітектонікою. Механізм формування відповідної картини частотного відгуку полягає у тому, що об'ємна частка клітинних мембран та іонний склад тканинних рідин формують індивідуальні шляхи проходження струму, що визначає параметри β -дисперсії та форму поляризаційних петель на діаграмах Найквіста. Виявлена відмінність у спектрах дозволяє стверджувати, що імпедансна спектроскопія може виступати як метод ідентифікації тканинної приналежності зразків, базуючись на їхніх пасивних електричних властивостях.
2. Доведено адекватність застосування шестиелементної схеми (3R-CPE) для кількісного опису біосистем. Феноменологічна модель ґрунтується на фізичній інтерпретації внеску у інтегральні параметри окремих ланок, зокрема, перша описує міжклітинний простір, друга - внутрішньоклітинні органели, а третя - бар'єрні властивості плазматичної мембрани, що дозволяє локалізувати інтерпретацію деструктивних змін на конкретному структурному рівні біологічної тканини.
3. З'ясовано, що при досягненні критичного порогу температури зберігання зразка (30-35 °C) ініціюється механізм теплової денатурації інтегральних білків мембрани. Наслідком цього є порушення цілісності біліпідного шару та повне зникнення мембранної ланки (3R₃-CPE₃) з еквівалентної схеми, що електрично маркує перехід тканини до стану незворотної деструкції. Застосування гістологічного аналізу дозволило виявити температурні особливості трансформації параметрів еквівалентної схеми, що свідчать про збереження структури та відсутність некторичних змін тканини при витримці за температур 2 - 12 °C, появу набряків гепатоцитів та розширення синусоїдів в

околі температури 25 °C і виражену вакуолізацію та фрагментацію хроматину при підвищенні температури до 35 °C, що проявляється у структурній трансформації еквівалентної електричної схеми спектру. Різке зростання провідності при пошкодженні зумовлене механізмом вирівнювання концентраційних градієнтів. Руйнування мембранних насосів та утворення нанопор призводить до масового витоку внутрішньоклітинних іонів (зокрема калію) у позаклітинне середовище, що перетворює анізотропну біосистему на ізотропний електроліт.

4. Встановлено, що процеси деструкції тканин печінки має характер термочасової кумулятивної деградації: ступінь пошкодження тканини є інтегральним показником дії температури та часу зберігання тканини за заданої температури. Механізм цього явища пов'язаний з процесами автолізу: тривала експозиція навіть при помірних температурах активує лізосомальні ферменти, які поступово руйнують цитоскелет та мембрани, що електрично проявляється як повільне згладжування імпедансних характеристик. Шляхом зіставлення даних електричного імпедансу та оптичної мікроскопії доведено прямий зв'язок між втратою ємнісних елементів схеми та фізичною деструкцією клітин, механізм якого полягає у вакуолізації цитоплазми та фрагментації ядерного матеріалу (хроматину) з часом, що призводить до зникнення діелектричних меж розподілу зарядів і, як наслідок, зниження значень параметрів СРЕ-Т еквівалентної електричної схеми.
5. З'ясовано, що зростання тангенса кута діелектричних втрат та зміщення резонансної частоти вимірювальної комірки зумовлені зміною масштабів релаксаторів. Зниження значень резонансної частоти спостерігається на початкових етапах деструкції, що свідчить про утворення великих за розміром фрагментів зруйнованих клітин, які мають більший час релаксації.¹Зростання резонансної частоти відбувається при глибокій денатурації білків, коли ці великі фрагменти розпадаються на дрібні рухливі молекули та іони, що здатні реагувати на поле вищої частоти, що скорочує час релаксації та зміщує максимум енергетичних втрат у високочастотну область спектра.

6. Експериментально доведено, що зміна геометричних розмірів зразків впливає лише на амплітудні значення опору, тоді як частотні характеристики дисперсії залишаються незмінними, що зумовлено збереженням питомих електричних властивостей одиничного об'єму тканини незалежно від загальної кількості паралельних іонних шляхів перенесення електричного заряду. Встановлено, що багаторазове подання вимірювального сигналу високої частоти (близько 100 кГц) може ініціювати мікроструктурні зміни в мембранах - ефект "електричного стресу". Це призводить до зміни форми клітин через ізотропний тиск електричного поля, що необхідно враховувати при проведенні повторних моніторингових досліджень змін у зразках біологічних тканин під впливом різних деструктивних чинників.
7. Встановлено, що використання розрахунку похідної функції провідності дозволяє реєструвати надтонкі структурні зміни параметрів спектру електричного імпедансу. Механізм високої чутливості цього методу ґрунтується на виявленні моментів зміни швидкості поляризації структурних елементів, що виступає випереджаючим індикатором патологічних процесів ще до появи видимих ознак некрозу. Розрахунок другої похідної дійсної частини електричної провідності дозволяє виявити приховані екстремуми, які відповідають конкретним частотам релаксації структурних елементів. Встановлено, що ці екстремуми є надзвичайно чутливими до фазових переходів у мікроструктурі об'єктів: у здорових тканинах піки похідної чіткі та локалізовані, тоді як у пошкоджених тканинах спостерігається згладжування похідної та зміщення піків у високочастотну область, що є наслідком втрати структурної ієрархії.
8. Виявлений стабільний мінімум провідності на частоті ~ 1 Гц визначено як універсальний маркер розділення провідних режимів. Механізм стабільності цього мінімуму зумовлений межею між повільною приелектродною поляризацією та швидкою об'ємною провідністю тканини, що дозволяє об'єктивно оцінювати стан зразка незалежно від геометричних артефактів,

способів проведення експерименту чи його повторюваності за зміщенням положення низькочастотного мінімуму провідності.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Clavien P. A., Rüdiger H. A., Selzner M. Mechanism of hepatocyte death after ischemia: apoptosis versus necrosis // *Hepatology*. – 2001. – Vol. 33, № 6. – P. 1555–1557. – DOI: <https://doi.org/10.1053/jhep.2001.0103306>.
2. Vaupel P., Höckel M. Blood supply, oxygenation status and metabolic micromilieu of breast cancers: characterization and therapeutic relevance // *International Journal of Oncology*. – 2000. – Vol. 17, № 5. – P. 869–879. – DOI: <https://doi.org/10.3892/ijo.17.5.869>.
3. Majno G., Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis: an overview of cell death // *American Journal of Pathology*. – 1995. – Vol. 146, № 1. – P. 3–15.
4. Barros L. F., Hermosilla T., Castro J. Necrotic volume increase and the early physiology of necrosis // *Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular & Integrative Physiology*. – 2001. – Vol. 130, № 3. – P. 401–409. – DOI: [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(01\)00438-X](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(01)00438-X).
5. Gage A. A., Baust J. Mechanisms of tissue injury in cryosurgery // *Cryobiology*. – 1998. – Vol. 37, № 3. – P. 171–186. – DOI: <https://doi.org/10.1006/cryo.1998.2115>.
6. Farber E., Rubin H. Cellular adaptation in the origin and development of cancer // *Cancer Research*. – 1991. – Vol. 51, № 11. – P. 2751–2761.
7. Біохімічні механізми апоптозу : навч. посіб. / Л. І. Остапченко, Т. В. Синельник, Т. В. Рибальченко, В. К. Рибальченко. – Київ : ВПЦ «Київський університет», 2018. – 310 с. – ISBN 978-966-439-302-4.

- 8.** Vaux D. L., Strasser A. The molecular biology of apoptosis // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 1996. – Vol. 93, № 6. – P. 2239–2244. – DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.93.6.2239>.
- 9.** Kanuka H., Hisahara S., Sawamoto K. et al. Proapoptotic activity of Caenorhabditis elegans CED-4 protein in Drosophila: implicated mechanisms for caspase activation // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 1999. – Vol. 96, № 1. – P. 145–150. – DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.96.1.145>.
- 10.** Ferri K. F., Kroemer G. Organelle-specific initiation of cell death pathways // Nature Cell Biology. – 2001. – Vol. 3, № 11. – P. E255–E263. – DOI: <https://doi.org/10.1038/ncb1101-e255>.
- 11.** Kerr J. F., Wyllie A. H., Currie A. R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics // British Journal of Cancer. – 1972. – Vol. 26, № 4. – P. 239–257. – DOI: <https://doi.org/10.1038/bjc.1972.33>.
- 12.** Lekshmi A., Varadarajan S. N., Lupitha S. S. et al. A quantitative real-time approach for discriminating apoptosis and necrosis // Cell Death Discovery. – 2017. – Vol. 3. – Article 16101. – DOI: <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2016.101>.
- 13.** Okada M., Adachi S., Imai T. et al. A novel mechanism for imatinib mesylate-induced cell death of BCR-ABL-positive human leukemic cells: caspase-independent necrosis-like programmed cell death mediated by serine protease activity // Blood. – 2004. – Vol. 103, № 6. – P. 2299–2307. – DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2003-05-1605>.
- 14.** Wang K. Molecular mechanisms of liver injury: apoptosis or necrosis // Experimental and Toxicologic Pathology. – 2014. – Vol. 66, № 8. – P. 351–356. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etp.2014.04.004>.
- 15.** Lockshin R., Zakeri Z. Caspase-independent cell death? // Oncogene. – 2004. – Vol. 23. – P. 2766–2773. – DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207514>.

- 16.** Jäättelä M., Tschopp J. Caspase-independent cell death in T lymphocytes // *Nature Immunology*. – 2003. – Vol. 4. – P. 416–423. – DOI: <https://doi.org/10.1038/ni0503-416>.
- 17.** Beere H. M. The stress of dying: the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis // *Journal of Cell Science*. – 2004. – Vol. 117, № 13. – P. 2641–2651. – DOI: <https://doi.org/10.1242/jcs.01284>.
- 18.** Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death // *Toxicologic Pathology*. – 2007. – Vol. 35, № 4. – P. 495–516. – DOI: <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>.
- 19.** Humphries F., Yang S., Wang B., Moynagh P. N. RIP kinases: key decision makers in cell death and innate immunity // *Cell Death & Differentiation*. – 2015. – Vol. 22, № 2. – P. 225–236. – DOI: <https://doi.org/10.1038/cdd.2014.126>.
- 20.** Edinger A. L., Thompson C. B. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy // *Current Opinion in Cell Biology*. – 2004. – Vol. 16, № 6. – P. 663–669. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2004.09.011>.
- 21.** Trump B. F., Berezesky I. K., Chang S. H., Phelps P. C. The pathways of cell death: oncosis, apoptosis, and necrosis // *Toxicologic Pathology*. – 1997. – Vol. 25, № 1. – P. 82–88. – DOI: <https://doi.org/10.1177/019262339702500116>.
- 22.** Buja L. M. Oncosis: an important non-apoptotic mode of cell death // *Experimental and Molecular Pathology*. – 2012. – Vol. 93, № 3. – P. 302–308. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2012.09.018>.
- 23.** Majno G., Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis: an overview of cell death // *American Journal of Pathology*. – 1995. – Vol. 146, № 1. – P. 3–15.
- 24.** Jäättelä M., Tschopp J. Caspase-independent cell death in T lymphocytes // *Nature Immunology*. – 2003. – Vol. 4. – P. 416–423. – DOI: <https://doi.org/10.1038/ni0503-416>.
- 25.** Krishna M. Patterns of necrosis in liver disease // *Clinical Liver Disease*. – 2017. – Vol. 10. – P. 53–56. – DOI: <https://doi.org/10.1002/cld.653>.

- 26.** Kelly K. J., Plotkin Z., Dagher P. C. Guanosine supplementation reduces apoptosis and protects renal function in the setting of ischemic injury // *Journal of Clinical Investigation*. – 2001. – Vol. 108, № 9. – P. 1291–1298. – DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI13018>.
- 27.** Uezono T., Maruyama W., Matsubara K. et al. Norharman, an indoleamine-derived beta-carboline, induces apoptotic cell death in human neuroblastoma SH-SY5Y cells // *Journal of Neural Transmission*. – 2001. – Vol. 108, № 8–9. – P. 943–953. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s007020170014>.
- 28.** Catchpole D. R., Stewart B. W. Etoposide-induced cytotoxicity in two human T-cell leukemic lines: delayed loss of membrane permeability rather than DNA fragmentation as an indicator of programmed cell death // *Cancer Research*. – 1993. – Vol. 53, № 18. – P. 4287–4296.
- 29.** Golstein P., Kroemer G. Cell death by necrosis: towards a molecular definition // *Trends in Biochemical Sciences*. – 2007. – Vol. 32, № 1. – P. 37–43. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2006.11.001>.
- 30.** Gage A. A., Augustynowicz S., Montes M. et al. Tissue impedance and temperature measurements in relation to necrosis in experimental cryosurgery // *Cryobiology*. – 1985. – Vol. 22, № 3. – P. 282–288. – DOI: [https://doi.org/10.1016/0011-2240\(85\)90148-8](https://doi.org/10.1016/0011-2240(85)90148-8).
- 31.** Chan F. K., Shisler J., Bixby J. G. et al. A role for tumor necrosis factor receptor-2 and receptor-interacting protein in programmed necrosis and antiviral responses // *Journal of Biological Chemistry*. – 2003. – Vol. 278, № 51. – P. 51613–51621. – DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M305633200>.
- 32.** Holler N., Zaru R., Micheau O. et al. Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule // *Nature Immunology*. – 2000. – Vol. 1, № 6. – P. 489–495. – DOI: <https://doi.org/10.1038/82732>.

- 33.** Vercammen D., Beyaert R., Denecker G. et al. Inhibition of caspases increases the sensitivity of L929 cells to necrosis mediated by tumor necrosis factor // *Journal of Experimental Medicine*. – 1998. – Vol. 187, № 9. – P. 1477–1485. – DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.187.9.1477>.
- 34.** Barros L. F., Hermosilla T., Castro J. Necrotic volume increase and the early physiology of necrosis // *Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular & Integrative Physiology*. – 2001. – Vol. 130, № 3. – P. 401–409. – DOI: [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(01\)00438-X](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(01)00438-X).
- 35.** Jänicke R. U., Sprengart M. L., Wati M. R., Porter A. G. Caspase-3 is required for DNA fragmentation and morphological changes associated with apoptosis // *Journal of Biological Chemistry*. – 1998. – Vol. 273, № 16. – P. 9357–9360. – DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.273.16.9357>.
- 36.** Overton E. Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle // *Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich*. – 1899. – Bd. 44. – S. 88–135.
- 37.** Danielli J. F., Davson H. A contribution to the theory of permeability of thin films // *Journal of Cellular and Comparative Physiology*. – 1935. – Vol. 5. – P. 495–508. – DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.1030050409>.
- 38.** Fricke H., Morse S. The electric capacity of tumors of the breast // *Journal of General Physiology*. – 1925. – Vol. 9. – P. 153–167. – DOI: <https://doi.org/10.1085/jgp.9.2.153>.
- 39.** Eisenberg R. S., Mathias R. T. Structural analysis of electrical properties of cells and tissues // *Critical Reviews in Bioengineering*. – 1980. – Vol. 4, № 3. – P. 203–232.
- 40.** Григор'єва Л. І., Томілін Ю. А. Основи біофізики і біомеханіки. – Миколаїв : ЧДУ ім. Петра Могили, 2011. – 298 с.

- 41.** Vucenovic S. M., Setrajcic J., Vojnović M. et al. Physiological processes when an electrical current passes through the tissues and organs // *Radiation and Applications*. – 2017. – DOI: <https://doi.org/10.21175/RadProc.2017.58>.
- 42.** Антонюк В. С., Бондаренко М. О., Ващенко В. А. та ін. Біофізика і біомеханіка [Електронний ресурс] : підручник. – Київ : НТУУ «КПІ», 2012. – 346 с.
- 43.** Сливко Е. І., Мельнікова О. З., Іванченко О. З., Біляк Н. С. Медична і біологічна фізика : навч. посіб. – Запоріжжя, 2018. – 291 с.
- 44.** Остапченко Л. І., Компанець І. В., Синельник Т. Б. Біологічні мембрани та основи внутрішньоклітинної сигналізації: методи дослідження : навч. посіб. – Київ : ВПЦ «Київський університет», 2017. – 447 с.
- 45.** Cell membrane: structure and physical properties // *Integrated Molecular and Cellular Biophysics*. – Dordrecht : Springer. – DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8268-9_3.
- 46.** Pomorski T., Holthuis J. C., Herrmann A., van Meer G. Tracking down lipid flippases and their biological functions // *Journal of Cell Science*. – 2004. – Vol. 117, № 6. – P. 805–813. – DOI: <https://doi.org/10.1242/jcs.01055>.
- 47.** Bordi F., Cametti C., Di Biasio A. Passive electrical properties of biological cell membranes determined from Maxwell–Wagner conductivity dispersion measurements // *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*. – 1989. – Vol. 276, № 2. – P. 135–144. – DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(89\)87305-X](https://doi.org/10.1016/0022-0728(89)87305-X).
- 48.** Fricke H., Morse S. The electric capacity of tumors of the breast // *Journal of Cancer Research*. – 1926. – Vol. 10. – P. 340–376.
- 49.** Joines W. T., Zhang Y., Li C., Jirtle R. L. The measured electrical properties of normal and malignant human tissues from 50 to 900 MHz // *Medical Physics*. – 1994. – Vol. 21, № 4. – P. 547–550. – DOI: <https://doi.org/10.1118/1.597312>.

- 50.** O'Rourke A. P., Lazebnik M., Bertram J. M. et al. Dielectric properties of human normal, malignant and cirrhotic liver tissue: in vivo and ex vivo measurements from 0.5 to 20 GHz // *Physics in Medicine and Biology*. – 2007. – Vol. 52, № 15. – P. 4707–4719. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0031-9155/52/15/022>.
- 51.** Swarup A., Stuchly S. S., Surowiec A. Dielectric properties of mouse MCA1 fibrosarcoma at different stages of development // *Bioelectromagnetics*. – 1991. – Vol. 12, № 1. – P. 1–8. – DOI: <https://doi.org/10.1002/bem.2250120102>.
- 52.** Haemmerich D., Staelin S. T., Tsai J. Z. et al. In vivo electrical conductivity of hepatic tumours // *Physiological Measurement*. – 2003. – Vol. 24, № 2. – P. 251–260. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0967-3334/24/2/302>.
- 53.** Coster H. The physics of cell membranes // *Journal of Biological Physics*. – 2003. – Vol. 29. – P. 363–399. – DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1027362704125>.
- 54.** Haemmerich D., Schutt D. J., Wright A. W. et al. Electrical conductivity measurement of excised human metastatic liver tumours before and after thermal ablation // *Physiological Measurement*. – 2009. – Vol. 30, № 5. – P. 459–466. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0967-3334/30/5/003>.
- 55.** Anamourlis C. The cell membrane // *Southern African Journal of Anaesthesia and Analgesia*. – 2020. – Vol. 26. – P. S1–S7. – DOI: <https://doi.org/10.36303/SAJAA.2020.26.6.S3.2527>.
- 56.** Dourado A. H. B. Electric double layer: the good, the bad, and the beauty // *Electrochem*. – 2022. – Vol. 3, № 4. – P. 789–808. – DOI: <https://doi.org/10.3390/electrochem3040052>.
- 57.** Robinson R. C., Glaser R. *Biophysics*. – Berlin : Springer-Verlag, 2001. – 361 p.
- 58.** Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al. *Molecular Biology of the Cell*. – 4th ed. – New York : Garland Science, 2002.

- 59.** Stillwell W. Membrane transport // An Introduction to Biological Membranes. – 2nd ed. – Academic Press, 2016. – P. 423–451. – DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63772-7.00019-1>.
- 60.** Purschke M., Laubach H. J., Anderson R. R., Manstein D. Thermal injury causes DNA damage and lethality in unheated surrounding cells: active thermal bystander effect // Journal of Investigative Dermatology. – 2010. – Vol. 130, № 1. – P. 86–92. – DOI: <https://doi.org/10.1038/jid.2009.205>.
- 61.** McRae D. A., Esrick M. A., Mueller S. C. Changes in the noninvasive, in vivo electrical impedance of three xenografts during the necrotic cell-response sequence // International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics. – 1999. – Vol. 43, № 4. – P. 849–857. – DOI: [https://doi.org/10.1016/S0360-3016\(98\)00487-8](https://doi.org/10.1016/S0360-3016(98)00487-8).
- 62.** Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al. Molecular Biology of the Cell. – 4th ed. – New York : Garland Science, 2002.
- 63.** Ramahi A. A., Ruff R. Membrane potential // In: Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering. – 2014. – DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385157-4.00062-2>.
- 64.** Südhof T. C. The cell biology of synapse formation // Journal of Cell Biology. – 2021. – Vol. 220. – DOI: <https://doi.org/10.1083/jcb.202103052>.
- 65.** Bennett M. V. L. Gap junctions as electrical synapses // Journal of Neurocytology. – 1997. – Vol. 26. – P. 349–366. – DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1018560803261>.
- 66.** Pereda A. E. Electrical synapses and their functional interactions with chemical synapses // Nature Reviews Neuroscience. – 2014. – Vol. 15, № 4. – P. 250–263. – DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn3708>.

- 67.** Li Z., Sheng M. Some assembly required: the development of neuronal synapses // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2003. – Vol. 4. – P. 833–841. – DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm1242>.
- 68.** Peters M., Stinstra J., Leveles I. The electrical conductivity of living tissue: a parameter in the bioelectrical inverse problem // In: Electrical Impedance Tomography. – 2010. – DOI: https://doi.org/10.1007/978-0-387-49963-5_9.
- 69.** Eisenberg R. S. Electrical structure of biological cells and tissues: impedance spectroscopy, stereology, and singular perturbation theory // arXiv. – 2015.
- 70.** Bharati S., Rishi P., Tripathi S. K., Koul A. Changes in the electrical properties at an early stage of mouse liver carcinogenesis // Bioelectromagnetics. – 2013. – Vol. 34, № 6. – P. 429–436. – DOI: <https://doi.org/10.1002/bem.21783>.
- 71.** Khalil S. F., Mohktar M. S., Ibrahim F. The theory and fundamentals of bioimpedance analysis in clinical status monitoring and diagnosis of diseases // Sensors. – 2014. – Vol. 14, № 6. – P. 10895–10928. – DOI: <https://doi.org/10.3390/s140610895>.
- 72.** Brown B. H. Electrical impedance tomography (EIT): a review // Journal of Medical Engineering & Technology. – 2003. – Vol. 27. – P. 97–108. – DOI: <https://doi.org/10.1080/0309190021000059687>.
- 73.** Kyle U. G., Bosaeus I., De Lorenzo A. D. et al. Bioelectrical impedance analysis – part II: utilization in clinical practice // Clinical Nutrition. – 2004. – Vol. 23, № 6. – P. 1430–1453. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.09.012>.
- 74.** Bounik R., Cardes F., Ulsan H. et al. Impedance imaging of cells and tissues: design and applications // BME Frontiers. – 2022. – Vol. 2022. – DOI: <https://doi.org/10.34133/2022/9857485>.
- 75.** Thomasset M. A. Bioelectric properties of tissue: impedance measurement in clinical medicine // Lyon Médical. – 1962. – Vol. 94. – P. 107–118.

- 76.** Nyboer J. Electrical impedance plethysmography. – 2nd ed. – Springfield, IL : Charles C. Thomas, 1970. – 335–341 p.
- 77.** Hoffer E. C., Meador C. K., Simpson D. C. Correlation of whole-body impedance with total body water volume // *Journal of Applied Physiology*. – 1969. – Vol. 27, № 4. – P. 531–534. – DOI: <https://doi.org/10.1152/jappl.1969.27.4.531>.
- 78.** Kyle U. G., Bosaeus I., De Lorenzo A. D. et al. Bioelectrical impedance analysis – part II: utilization in clinical practice // *Clinical Nutrition*. – 2004. – Vol. 23, № 6. – P. 1430–1453. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.09.012>.
- 79.** Genton L., Hans D., Kyle U. G., Pichard C. Dual-energy X-ray absorptiometry and body composition: differences between devices and comparison with reference methods // *Nutrition*. – 2002. – Vol. 18, № 1. – P. 66–70. – DOI: [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(01\)00700-6](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(01)00700-6).
- 80.** Holmes D., Morgan H. Single cell impedance cytometry for identification and counting of CD4 T-cells in human blood using impedance labels // *Analytical Chemistry*. – 2010. – Vol. 82, № 4. – P. 1455–1461. – DOI: <https://doi.org/10.1021/ac902568p>.
- 81.** Woodrow G., Oldroyd B., Turney J. H. et al. Measurement of total body water by bioelectrical impedance in chronic renal failure // *European Journal of Clinical Nutrition*. – 1996. – Vol. 50, № 10. – P. 676–681.
- 82.** Jaffrin M. Y., Morel H. Body fluid volumes measurements by impedance: a review of bioimpedance spectroscopy (BIS) and bioimpedance analysis (BIA) methods // *Medical Engineering & Physics*. – 2008. – Vol. 30, № 10. – P. 1257–1269. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2008.06.009>.
- 83.** Simpson J. A., Lobo D. N., Anderson J. A. et al. Body water compartment measurements: a comparison of bioelectrical impedance analysis with tritium and sodium bromide dilution techniques // *Clinical Nutrition*. – 2001. – Vol. 20, № 4. – P. 339–343. – DOI: <https://doi.org/10.1054/clnu.2001.0398>.

- 84.** Pierson R. N. Jr., Wang J., Colt E. W., Neumann P. Body composition measurements in normal man: the potassium, sodium, sulfate and tritium spaces in 58 adults // *Journal of Chronic Diseases*. – 1982. – Vol. 35, № 6. – P. 419–428. – DOI: [https://doi.org/10.1016/0021-9681\(82\)90056-X](https://doi.org/10.1016/0021-9681(82)90056-X).
- 85.** Markx G. H., Davey C. L. Dielectric properties of biological cells at radiofrequencies: applications in biotechnology // *Enzyme and Microbial Technology*. – 1999. – Vol. 25, № 3–5. – P. 161–171.
- 86.** Da Silva G. M. G., Faia P. M., Mendes S. R., Araújo E. S. A review of impedance spectroscopy technique: applications, modelling, and case study of relative humidity sensors development // *Applied Sciences*. – 2024. – Vol. 14, № 13. – Art. 5754. – DOI: <https://doi.org/10.3390/app14135754>.
- 87.** Petchakup C., Li K. H. H., Hou H. W. Advances in single cell impedance cytometry for biomedical applications // *Micromachines*. – 2017. – Vol. 8, № 3. – Art. 87. – DOI: <https://doi.org/10.3390/mi8030087>.
- 88.** Sun T., Morgan H. Single-cell microfluidic impedance cytometry: a review // *Microfluidics and Nanofluidics*. – 2010. – Vol. 8. – P. 423–443. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s10404-010-0580-9>.
- 89.** Zhang X., Wang W., Nordin A. et al. The influence of the electrode dimension on the detection sensitivity of electric cell-substrate impedance sensing (ECIS) and its mathematical modeling // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2017. – Vol. 247. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.03.047>.
- 90.** Cheung K., Gawad S., Renaud P. Impedance spectroscopy flow cytometry: on-chip label-free cell differentiation // *Cytometry Part A*. – 2005. – Vol. 65, № 2. – P. 124–132. – DOI: <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20141>.
- 91.** Deurenberg P., Deurenberg-Yap M. Validation of skinfold thickness and hand-held impedance measurements for estimation of body fat percentage among Singaporean

Chinese, Malay and Indian subjects // *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. – 2002. – Vol. 11, № 1. – P. 1–7. – DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1440-6047.2002.00258.x>.

92. Gudivaka R., Schoeller D. A., Kushner R. F., Bolt M. J. Single- and multifrequency models for bioelectrical impedance analysis of body water compartments // *Journal of Applied Physiology*. – 1999. – Vol. 87, № 3. – P. 1087–1096. – DOI: <https://doi.org/10.1152/jap.1999.87.3.1087>.

93. Utter A. C., Nieman D. C., Ward A. N., Butterworth D. E. Use of the leg-to-leg bioelectrical impedance method in assessing body-composition change in obese women // *American Journal of Clinical Nutrition*. – 1999. – Vol. 69, № 4. – P. 603–607. – DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.4.603>.

94. Moon J. R. Body composition in athletes and sports nutrition: an examination of the bioimpedance analysis technique // *European Journal of Clinical Nutrition*. – 2013. – Vol. 67, Suppl. 1. – P. S54–S59. – DOI: <https://doi.org/10.1038/ejcn.2012.165>.

95. Fogelholm M., van Marken Lichtenbelt W. Comparison of body composition methods: a literature analysis // *European Journal of Clinical Nutrition*. – 1997. – Vol. 51, № 8. – P. 495–503. – DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1600448>.

96. Fuller N. J., Sawyer M. B., Laskey M. A. et al. Prediction of body composition in elderly men over 75 years of age // *Annals of Human Biology*. – 1996. – Vol. 23, № 2. – P. 127–147. – DOI: <https://doi.org/10.1080/03014469600004352>.

97. Chumlea W. C., Schubert C. M., Sun S. S. et al. A review of body water status and the effects of age and body fatness in children and adults // *Journal of Nutrition, Health & Aging*. – 2007. – Vol. 11, № 2. – P. 111–118.

98. Coppini L. Z., Waitzberg D. L., Campos A. C. Limitations and validation of bioelectrical impedance analysis in morbidly obese patients // *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. – 2005. – Vol. 8, № 3. – P. 329–332. – DOI: <https://doi.org/10.1097/01.mco.0000165013.54696.64>.

- 99.** Serrano M. D. M., de Espinosa M. G.-M., Zamorano E. M. Relationship between physical measures of anthropometry and bioimpedance measures // Handbook of Anthropometry. – New York : Springer, 2012. – P. 459–473.
- 100.** Coulter W. H. Means for counting particles suspended in a fluid : US Patent 2,656,508. – 1953.
- 101.** Davalos R., Rubinsky B. Electrical impedance tomography of cell viability in tissue with application to cryosurgery // Journal of Biomechanical Engineering. – 2004. – Vol. 126, № 2. – P. 305–309. – DOI: <https://doi.org/10.1115/1.1695577>.
- 102.** Amini M., Hisdal J., Kalvøy H. Applications of bioimpedance measurement techniques in tissue engineering // Journal of Electrical Bioimpedance. – 2018. – Vol. 9, № 1. – P. 142–158. – DOI: <https://doi.org/10.2478/joeb-2018-0019>.
- 103.** Appel A. A., Anastasio M. A., Larson J. C., Brey E. M. Imaging challenges in biomaterials and tissue engineering // Biomaterials. – 2013. – Vol. 34, № 28. – P. 6615–6630. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.05.033>.
- 104.** Wu Y., Fahimi Hanzae F., Jiang D. et al. Electrical impedance tomography for biomedical applications: circuits and systems review // IEEE Open Journal of Circuits and Systems. – 2021. – Vol. 2. – P. 380–397. – DOI: <https://doi.org/10.1109/OJCAS.2021.3075302>.
- 105.** Grimnes S., Martinsen Ø. G. Bioimpedance & Bioelectricity Basics. – 3rd ed. – Oxford : Elsevier, 2014.
- 106.** Wen, J., Wu, P., Li, J., Xu, H., Li, Y., Chen, K., Li, G., Lv, Z., & Wang, X. (2025). Application of bioelectrical impedance detection techniques: Cells and tissues. *Biosensors & bioelectronics*, 273, 117159. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2025.117159>.

- 107.** Wang L., Wang H., Wang L. et al. Analysis of the sensitivity and frequency characteristics of coplanar electrical cell-substrate impedance sensors // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2008. – Vol. 24, № 1. – P. 14–21. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.03.018>.
- 108.** Bragos R., Sarro E., Fontova A. et al. Four versus two-electrode measurement strategies for cell growing and differentiation monitoring using electrical impedance spectroscopy // *Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*. – 2006. – Vol. 1. – P. 2106–2109. – DOI: <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2006.260287>.
- 109.** Sarro E., Fontova A., Soley A. et al. Four electrode EIS measurement on interdigitated microelectrodes for adherent cell growing and differentiation monitoring // *IFMBE Proceedings*. – 2007. – Vol. 17. – P. 77–80. – DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-540-73841-1_23.
- 110.** Radke S. M., Alocilja E. C. Design and fabrication of a microimpedance biosensor for bacterial detection // *IEEE Sensors Journal*. – 2004. – Vol. 4, № 4. – P. 434–440. – DOI: <https://doi.org/10.1109/JSEN.2004.830300>.
- 111.** Grimnes S., Martinsen Ø. G. Sources of error in tetrapolar impedance measurements on biomaterials and other ionic conductors // *Journal of Physics D: Applied Physics*. – 2006. – Vol. 40. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0022-3727/40/1/S02>.
- 112.** Wang G., Holder D. *Electrical impedance tomography*. – 1st ed. – Bristol : Institute of Physics Publishing, 2005.
- 113.** Wang B., Weiland J. D. Analysis of the peak resistance frequency method // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2016. – Vol. 63, № 10. – P. 2086–2094. – DOI: <https://doi.org/10.1109/TBME.2015.2510335>.
- 114.** Yufera A., Rueda A. A method for bioimpedance measure with four- and two-electrode sensor systems // *Proceedings of the Annual International Conference of the*

IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. – 2008. – P. 2318–2321. – DOI: <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2008.4649662>.

115. Pennati, F., Angelucci, A., Morelli, L., Bardini, S., Barzanti, E., Cavallini, F., Conelli, A., Di Federico, G., Paganelli, C., & Aliverti, A. (2023). Electrical Impedance Tomography: From the Traditional Design to the Novel Frontier of Wearables. *Sensors*, 23(3), 1182. <https://doi.org/10.3390/s23031182>.

116. Lionheart W. R. B. EIT reconstruction algorithms: pitfalls, challenges and recent developments // *Physiological Measurement*. – 2004. – Vol. 25. – P. 125–142. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0967-3334/25/1/021>.

117. Campbell C. E., Laane M. M., Haugarvoll E., Giaever I. Monitoring viral-induced cell death using electric cell-substrate impedance sensing // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2007. – Vol. 23, № 4. – P. 536–542. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2007.06.015>.

118. Stupin D. D., Kuzina E. A., Abelit A. A. et al. Bioimpedance spectroscopy: basics and applications // *ACS Biomaterials Science & Engineering*. – 2021. – Vol. 7, № 6. – P. 1962–1986. – DOI: <https://doi.org/10.1021/acsbmaterials.0c01570>.

119. Jeong S. H., Lee D. W., Kim S. et al. A study of electrochemical biosensor for analysis of three-dimensional (3D) cell culture // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2012. – Vol. 35, № 1. – P. 128–133. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.02.039>.

120. Singh M., Kant R. Theory of anomalous dynamics of electric double layer at heterogeneous and rough electrodes // *Journal of Physical Chemistry C*. – 2014. – Vol. 118. – P. 5122–5130. – DOI: <https://doi.org/10.1021/jp410999b>.

121. Hibino M., Itoh H., Kinoshita K. Jr. Time courses of cell electroporation as revealed by submicrosecond imaging of transmembrane potential // *Biophysical Journal*. – 1993. – Vol. 64, № 6. – P. 1789–1800. – DOI: [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(93\)81550-9](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(93)81550-9).

- 122.** Xiao C., Luong J. H. On-line monitoring of cell growth and cytotoxicity using electric cell-substrate impedance sensing (ECIS) // *Biotechnology Progress*. – 2003. – Vol. 19, № 3. – P. 1000–1005. – DOI: <https://doi.org/10.1021/bp025733x>.
- 123.** Liebetrau J. M., Miller H. M., Baur J. E. et al. Scanning electrochemical microscopy of model neurons: imaging and real-time detection of morphological changes // *Analytical Chemistry*. – 2003. – Vol. 75, № 3. – P. 563–571.
- 124.** Miklavčič D., Pavšelj N., Hart F. Electric properties of tissues // In: *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*. – 2006. – DOI: <https://doi.org/10.1002/9780471740360.ebs0403>.
- 125.** Wang P., Liu Q. *Cell-Based Biosensors: Principles and Applications*. – Norwood : Artech House, 2009.
- 126.** Lee J., Ha U., Yoo H.-J. 30-fps SNR equalized electrical impedance tomography IC with fast-settle filter and adaptive current control for lung monitoring // *Proceedings of the IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS)*. – 2016. – P. 109–112. – DOI: <https://doi.org/10.1109/ISCAS.2016.7527182>.
- 127.** Ross H. Technical developments to enable electrical impedance tomography (EIT) measurement of blood flow to monitor cardiac output : PhD thesis. – 2010.
- 128.** Avery J., Dowrick T., Faulkner M. et al. A versatile and reproducible multi-frequency electrical impedance tomography system // *Sensors*. – 2017. – Vol. 17. – Art. 280. – DOI: <https://doi.org/10.3390/s17020280>.
- 129.** Kerner Z., Pajkossy T. On the origin of capacitance dispersion of rough electrodes // *Electrochimica Acta*. – 2000. – Vol. 46. – P. 207–211. – DOI: [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(00\)00574-0](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(00)00574-0).

130. Dryden M. D., Wheeler A. R. DStat: a versatile, open-source potentiostat for electroanalysis and integration // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10, № 10. – Art. e0140349. – DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140349>.

131. Bertelsen, C. V., Skands, G. E., González Díaz, M., Dimaki, M., & Svendsen, W. E. (2023). Using Impedance Flow Cytometry for Rapid Viability Classification of Heat-Treated Bacteria. *ACS omega*, 8(8), 7714–7721. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07357>.

132. Bertelsen, C. V., Skands, G. E., González Díaz, M., Dimaki, M., & Svendsen, W. E. (2023). Using Impedance Flow Cytometry for Rapid Viability Classification of Heat-Treated Bacteria. *ACS omega*, 8(8), 7714–7721. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07357>.

133. Fish, R. M., & Geddes, L. A. (2009). Conduction of electrical current to and through the human body: a review. *Eplasty*, 9, e44.

134. Dittami G. M., Ayliffe H. E., King C. S., Rabbitt R. D. A multilayer MEMS platform for single-cell electric impedance spectroscopy and electrochemical analysis // Journal of Microelectromechanical Systems. – 2008. – Vol. 17, № 4. – P. 850–862. – DOI: <https://doi.org/10.1109/JMEMS.2008.921726>.

135. Asphahani F., Thein M., Wang K. et al. Real-time characterization of cytotoxicity using single-cell impedance monitoring // Analyst. – 2012. – Vol. 137, № 13. – P. 3011–3019. – DOI: <https://doi.org/10.1039/c2an16079j>.

136. Wazir H., Chay S. Y., Zarei M. et al. Effects of storage time and temperature on lipid oxidation and protein co-oxidation of low-moisture shredded meat products // Antioxidants. – 2019. – Vol. 8, № 10. – Art. 486. – DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox8100486>.

137. Soyer A., Özalp B., Dalmış Ü., Bilgin V. Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat // Food

Chemistry. – 2010. – Vol. 120, № 4. – P. 1025–1030. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.042>.

138. Xie X., Liu R., Xu Y. et al. In vitro hyperthermia studied in a continuous manner using electric impedance sensing // RSC Advances. – 2015. – Vol. 5. – DOI: <https://doi.org/10.1039/C5RA04743A>.

139. Jócsák, I., Végvári, G. & Vozáry, E. Electrical impedance measurement on plants: a review with some insights to other fields. *Theor. Exp. Plant Physiol.* **31**, 359–375 (2019). <https://doi.org/10.1007/s40626-019-00152-y>.

140. Chen Ni, Zhonghua Ni, Nan Xiang; A perspective on microfluidic impedance cytometry in cellular biophysical property analysis. *Biomicrofluidics* 1 September 2025; 19 (5): 051302. <https://doi.org/10.1063/5.0290852>.

141. Swisher S. L., Lin M. C., Liao A. et al. Impedance sensing device enables early detection of pressure ulcers in vivo // Nature Communications. – 2015. – Vol. 6. – Art. 6575. – DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms7575>.

142. Arndt S., Seebach J., Psathaki K. et al. Bioelectrical impedance assay to monitor changes in cell shape during apoptosis // Biosensors and Bioelectronics. – 2004. – Vol. 19, № 6. – P. 583–594. – DOI: [https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(03\)00269-0](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(03)00269-0).

143. Qiu Y., Liao R., Zhang X. Impedance-based monitoring of ongoing cardiomyocyte death induced by tumor necrosis factor-alpha // Biophysical Journal. – 2009. – Vol. 96, № 5. – P. 1985–1991. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2008.11.036>.

144. Lamarche B. J., Yang G., Zhang J. et al. Combining live cell imaging with cellular impedance to monitor apoptotic cell death in real time // The FASEB Journal. – 2020. – Vol. 34. – P. 1–1.

145. Ward, L.C., Brantlov, S. Bioimpedance basics and phase angle fundamentals. *Rev Endocr Metab Disord* **24**, 381–391 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11154-022-09780-3>.

- 146.** Ljungqvist, O., Hedenborg, G., Jacobson, S.H. *et al.* Whole body impedance measurements reflect total body water changes. A study in hemodialysis patients. *J Clin Monit Comput* **7**, 163–169 (1990). <https://doi.org/10.1007/BF02915581>.
- 147.** Coratella, G., Campa, F., Matias, C. N., Toselli, S., Koury, J. C., Andreoli, A., Sardinha, L. S. B., & Silva, A. M. (2021). Generalized bioelectric impedance-based equations underestimate body fluids in athletes. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, *31*(11), 2123–2132. <https://doi.org/10.1111/sms.14033>.
- 148.** Branco, M. G., Mateus, C., Capelas, M. L., Pimenta, N., Santos, T., Mäkitie, A., Ganhão-Arranhado, S., Trabulo, C., & Ravasco, P. (2023). Bioelectrical Impedance Analysis (BIA) for the Assessment of Body Composition in Oncology: A Scoping Review. *Nutrients*, *15*(22), 4792. <https://doi.org/10.3390/nu15224792>.
- 149.** Simpson J. A., Lobo D. N., Anderson J. A. *et al.* Body water compartment measurements: a comparison of bioelectrical impedance analysis with tritium and sodium bromide dilution techniques // *Clinical Nutrition*. – 2001. – Vol. 20, № 4. – P. 339–343. – DOI: <https://doi.org/10.1054/clnu.2001.0398>.
- 150.** Francisco, R., Jesus, F., Nunes, C. L., Carvalho, A., Alvim, M., Campa, F., Sardinha, L. B., Mendonca, G. V., Lukaski, H., & Silva, A. M. (2023). Prediction of body water compartments by raw bioelectrical impedance parameters in athletes: Comparison between series and parallel measurements. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, *33*(10), 1998–2008. <https://doi.org/10.1111/sms.14443>.
- 151.** Xie X., Kolthoff N., Bärenholt O., Nielsen S. P. Validation of a leg-to-leg bioimpedance analysis system in assessing body composition in postmenopausal women // *International Journal of Obesity*. – 1999. – Vol. 23, № 10. – P. 1079–1084. – DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801034>.
- 152.** Kuriyan R. (2018). Body composition techniques. *The Indian journal of medical research*, *148*(5), 648–658. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1777_18.

153. Carla M Prado, M Cristina Gonzalez, Kristina Norman, Rocco Barazzoni, Tommy Cederholm, Charlene Compher, Gordon L Jensen, Takashi Abe, Thiago Gonzalez Barbosa-Silva, Anja Bosy-Westphal, Owen T Carmichael, Carrie P Earthman, William J Evans, David A Fields, Laurence Genton, Houchun Harry Hu, Murat Kara, Jennifer L Miles-Chan, Marina Mourtzakis, Manfred J Muller, Camila E Orsso, Stany Perkisas, Luís B Sardinha, John A Shepherd, Mario Siervo, Boyd JG Strauss, Yosuke Yamada, Shankuan Zhu, Steven B Heymsfield, Methodological standards for body composition—an expert-endorsed guide for research and clinical applications: levels, models, and terminology, *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 122, Issue 2, 2025, Pages 384-391, ISSN 0002-9165, <https://doi.org/10.1016/j.ajcnut.2025.05.022>.

154. Campa, F., Toselli, S., Mazzilli, M., Gobbo, L. A., & Coratella, G. (2021). Assessment of Body Composition in Athletes: A Narrative Review of Available Methods with Special Reference to Quantitative and Qualitative Bioimpedance Analysis. *Nutrients*, *13*(5), 1620. <https://doi.org/10.3390/nu13051620>.

155. Lu, H., Ayers, E., Patel, P., & Mattoo, T. K. (2023). Body water percentage from childhood to old age. *Kidney research and clinical practice*, *42*(3), 340–348. <https://doi.org/10.23876/j.krcp.22.062>.

156. Cogliandro, V., Yester, D., Westfall, A. O., Raper, J. L., Saag, M. S., Henostroza, G., Overton, E. T., & Willig, A. L. (2020). Obesity Affects the Association of Bioelectrical Impedance Phase Angle With Mortality in People Living With HIV. *The Journal of the Association of Nurses in AIDS Care : JANAC*, *31*(1), 51–59. <https://doi.org/10.1097/JNC.0000000000000077>.

157. Ramos-Álvarez, J. J., Montoya, J. J., Solís-Mencia, C., Miguel-Tobal, F., López-Tapia, P., Sánchez-Oliver, A. J., Domínguez, R., & Martínez-Sanz, J. M. (2021). Anthropometric Profile Assessed by Bioimpedance and Anthropometry Measures of Male and Female Rugby Players Competing in the Spanish National League. *Applied Sciences*, *11*(24), 11759. <https://doi.org/10.3390/app112411759>.

- 158.** Domínguez-Barbosa, A., Reyes-Romo, D., Salvador-Quezada, M., Becerra-Morales, S. N., Lopez-Gonzalez, D., Serralde-Zúñiga, A. E., Guevara-Cruz, M., & Medina-Vera, I. (2025). Associations Between Body Composition Measurements and Muscle Ultrasound Parameters Amongst Children and Adolescents with Overweight and Obesity. *Nutrients*, 17(16), 2659. <https://doi.org/10.3390/nu17162659>.
- 159.** Nasir, Nida, Al Ahmad, Mahmoud, Cells Electrical Characterization: Dielectric Properties, Mixture, and Modeling Theories, *Journal of Engineering*, 2020, 9475490, 17 pages, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/9475490>.
- 160.** Mansor, M. A., Ahmad, M. R., Petru, M., & Rahimian Kolor, S. S. (2023). An impedance flow cytometry with integrated dual microneedle for electrical properties characterization of single cell. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 51(1), 371–383. <https://doi.org/10.1080/21691401.2023.2239274>.
- 161.** Righetto M, Brandi C, Reale R, Caselli F. Integrating impedance cytometry with other microfluidic tools towards multifunctional single-cell analysis platforms. *Lab on a Chip*. 2025 Feb;25(5):1316-1341. DOI: 10.1039/d4lc00957f.
- 162.** Cobb J., Hotchkiss R., Karl I., Buchman T. Mechanisms of cell injury and death // *British Journal of Anaesthesia*. – 1996. – Vol. 77. – P. 3–10. – DOI: <https://doi.org/10.1093/bja/77.1.3>.
- 163.** Jaffe L. F., Nuccitelli R. Electrical controls of development // *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*. – 1977. – Vol. 6. – P. 445–476. – DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.bb.06.060177.002305>.
- 164.** Jaffe L. F., Poo M. M. Neurites grow faster towards the cathode than the anode in a steady field // *Journal of Experimental Zoology*. – 1979. – Vol. 209, № 1. – P. 115–128. – DOI: <https://doi.org/10.1002/jez.1402090114>.
- 165.** Hinkle L., McCaig C. D., Robinson K. R. The direction of growth of differentiating neurones and myoblasts from frog embryos in an applied electric field // *Journal of*

Physiology. – 1981. – Vol. 314. – P. 121–135. – DOI: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1981.sp013695>.

166. Stump R. F., Robinson K. R. Xenopus neural crest cell migration in an applied electrical field // *Journal of Cell Biology*. – 1983. – Vol. 97, № 4. – P. 1226–1233. – DOI: <https://doi.org/10.1083/jcb.97.4.1226>.

167. Zhao Y., Inayat S., Dikin D. A. et al. Patch clamp technique: review of the current state of the art and potential contributions from nanoengineering // *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part N: Journal of Nanoengineering and Nanosystems*. – 2008. – Vol. 222, № 1. – P. 1–11. – DOI: <https://doi.org/10.1243/17403499JNN149>.

168. Reid B., Zhao M. The electrical response to injury: molecular mechanisms and wound healing // *Advances in Wound Care*. – 2014. – Vol. 3, № 2. – P. 184–201. – DOI: <https://doi.org/10.1089/wound.2013.0442>.

169. Mathias R. T., Kistler J., Donaldson P. The lens circulation // *Journal of Membrane Biology*. – 2007. – Vol. 216, № 1. – P. 1–16. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s00232-007-9019-y>.

170. Lois N., Reid B., Song B. et al. Electric currents and lens regeneration in the rat // *Experimental Eye Research*. – 2009. – Vol. 90. – P. 316–323. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2009.11.007>.

171. Banks T., Luckman P., Frith J., Cooper-White J. Effects of electric fields on human mesenchymal stem cell behaviour and morphology using a novel multichannel device // *Integrative Biology*. – 2015. – Vol. 7. – DOI: <https://doi.org/10.1039/C4IB00297K>.

172. Chifflet S., Hernández J. A., Grasso S. A possible role for membrane depolarization in epithelial wound healing // *American Journal of Physiology – Cell Physiology*. – 2005. – Vol. 288, № 6. – P. C1420–C1430. – DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00259.2004>.

- 173.** Zuberi M., Liu-Snyder P., Ul Haque A. et al. Large naturally-produced electric currents and voltage traverse damaged mammalian spinal cord // *Journal of Biological Engineering*. – 2008. – Vol. 2. – Art. 17. – DOI: <https://doi.org/10.1186/1754-1611-2-17>.
- 174.** Bryan B., Andrews C., Hurley R., Taber K. Electrical injury, part I: mechanisms // *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*. – 2009. – Vol. 21. – P. 241–244. – DOI: <https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.21.3.iv>.
- 175.** Sta Iglesia D. D., Vanable J. W. Jr. Endogenous lateral electric fields around bovine corneal lesions are necessary for and can enhance normal rates of wound healing // *Wound Repair and Regeneration*. – 1998. – Vol. 6, № 6. – P. 531–542. – DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1524-475x.1998.60606.x>.
- 176.** Vieira A. C., Reid B., Cao L. et al. Ionic components of electric current at rat corneal wounds // *PLoS ONE*. – 2011. – Vol. 6, № 2. – Art. e17411. – DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017411>.
- 177.** Wang H., He Y., Yan Q. et al. Correlation between the dielectric properties and biological activities of human ex vivo hepatic tissue // *Physics in Medicine & Biology*. – 2015. – Vol. 60, № 6. – P. 2603–2617. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0031-9155/60/6/2603>.
- 178.** Garner A. L., Chen G., Chen N. et al. Ultrashort electric pulse induced changes in cellular dielectric properties // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2007. – Vol. 362, № 1. – P. 139–144. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.07.159>.
- 179.** Gharooni M. et al. Bioelectronics of the cellular cytoskeleton: monitoring cytoskeletal conductance variation for sensing drug resistance // *ACS Sensors*. – 2019. – Vol. 4. – P. 353–362. – DOI: <https://doi.org/10.1021/acssensors.8b01142>.

- 180.** Hu G., He B. Magnetoacoustic imaging of electrical conductivity of biological tissues at a spatial resolution better than 2 mm // PLoS ONE. – 2011. – Vol. 6, № 8. – Art. e23421. – DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023421>.
- 181.** Pathiraja A. A., Weerakkody R. A., von Roon A. C., Ziprin P., Bayford R. The clinical application of electrical impedance technology in the detection of malignant neoplasms: a systematic review // Journal of Translational Medicine. – 2020. – Vol. 18, № 1. – Art. 227. – DOI: <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02395-9>.
- 182.** Al Ahmad M., Al Natour Z., Mustafa F., Rizvi T. A. Electrical characterization of normal and cancer cells // IEEE Access. – 2018. – Vol. 6. – P. 25979–25986. – DOI: <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2018.2830883>.
- 183.** Cone C. D. Jr. Unified theory on the basic mechanism of normal mitotic control and oncogenesis // Journal of Theoretical Biology. – 1971. – Vol. 30, № 1. – P. 151–181. – DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(71\)90042-7](https://doi.org/10.1016/0022-5193(71)90042-7).
- 184.** Beech J. A theory of carcinogenesis based on an analysis of the effects of carcinogens // Medical Hypotheses. – 1987. – Vol. 24, № 3. – P. 265–286. – DOI: [https://doi.org/10.1016/0306-9877\(87\)90073-9](https://doi.org/10.1016/0306-9877(87)90073-9).
- 185.** Laufer S., Ivorra A., Reuter V. E., Rubinsky B., Solomon S. B. Electrical impedance characterization of normal and cancerous human hepatic tissue // Physiological Measurement. – 2010. – Vol. 31, № 7. – P. 995–1009. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0967-3334/31/7/009>.
- 186.** Jossinet J., Schmitt M. A review of parameters for the bioelectrical characterization of breast tissue // Annals of the New York Academy of Sciences. – 1999. – Vol. 873. – P. 30–41. – DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb09446.x>.
- 187.** Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation // Cell. – 2011. – Vol. 144, № 5. – P. 646–674. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.

- 188.** Halter R. J., Schned A., Heaney J. et al. Electrical properties of prostatic tissues: I. Single frequency admittivity properties // *Journal of Urology*. – 2009. – Vol. 182, № 4. – P. 1600–1607. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.juro.2009.06.007>.
- 189.** Sarreshtehdari, A., García-Sánchez, T., Sánchez-Velázquez, P., Ielpo, B., Berjano, E., Villamonte, M., Moll, X., & Burdio, F. (2024). Electrical Conductivity Measurement in Human Liver Tissue: Assessment on Normal vs. Tumor Tissue and under In Vivo vs. Ex Vivo Conditions. *Biosensors*, 14(8), 382. <https://doi.org/10.3390/bios14080382>.
- 190.** Curley, S. A., Marra, P., Beaty, K., Ellis, L. M., Vauthey, J. N., Abdalla, E. K., Scaife, C., Raut, C., Wolff, R., Choi, H., Loyer, E., Vallone, P., Fiore, F., Scordino, F., De Rosa, V., Orlando, R., Pignata, S., Daniele, B., & Izzo, F. (2004). Early and late complications after radiofrequency ablation of malignant liver tumors in 608 patients. *Annals of surgery*, 239(4), 450–458. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000118373.31781.f2>.
- 191.** Canicattì, E., Sánchez-Bayuela, D. Á., Romero Castellano, C., Aguilar Angulo, P. M., Giovanetti González, R., Cruz Hernández, L. M., Ruiz Martín, J., Tiberi, G., & Monorchio, A. (2023). Dielectric Characterization of Breast Biopsied Tissues as Pre-Pathological Aid in Early Cancer Detection: A Blinded Feasibility Study. *Diagnostics*, 13(18), 3015. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13183015>.
- 192.** McRae D. A., Esrick M. A., Mueller S. C. Non-invasive, in vivo electrical impedance of EMT-6 tumours during hyperthermia: correlation with morphology and tumour-growth-delay // *International Journal of Hyperthermia*. – 1997. – Vol. 13, № 1. – P. 1–20. – DOI: <https://doi.org/10.3109/02656739709056426>.
- 193.** Nishida A., Andoh A. The role of inflammation in cancer: mechanisms of tumor initiation, progression, and metastasis // *Cells*. – 2025. – Vol. 14, № 7. – Art. 488. – DOI: <https://doi.org/10.3390/cells14070488>.

- 194.** Skourou C., Hoopes P. J., Strawbridge R. R., Paulsen K. D. Feasibility studies of electrical impedance spectroscopy for early tumor detection in rats // *Physiological Measurement*. – 2004. – Vol. 25, № 1. – P. 335–346. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0967-3334/25/1/037>.
- 195.** Spies C., Trohman R. G. Electrocutation and life-threatening electrical injuries: narrative review // *Annals of Internal Medicine*. – 2006. – Vol. 145, № 7. – P. 531–537. – DOI: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-145-7-200610030-00011>.
- 196.** Lee R. C., Zhang D., Hannig J. Biophysical injury mechanisms in electrical shock trauma // *Annual Review of Biomedical Engineering*. – 2000. – Vol. 2. – P. 477–509. – DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.2.1.477>.
- 197.** Lee R. C. Cell injury by electric forces // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2005. – Vol. 1066. – P. 85–91. – DOI: <https://doi.org/10.1196/annals.1363.007>.
- 198.** Rubinsky B., Cravalho E. G., Mikic B. Thermal stresses in frozen organs // *Cryobiology*. – 1980. – Vol. 17, № 1. – P. 66–73. – DOI: [https://doi.org/10.1016/0011-2240\(80\)90009-7](https://doi.org/10.1016/0011-2240(80)90009-7).
- 199.** Yu T., Liu J., Zhou Y. Evidences of thermal stress wave induced in deeply frozen biomaterials by a strong and instantaneous heating // *Journal of Thermal Stresses*. – 2004. – Vol. 27. – P. 1089–1100.
- 200.** Rabin Y., Taylor M. J., Wolmark N. Thermal expansion measurements of frozen biological tissues at cryogenic temperatures // *Journal of Biomechanical Engineering*. – 1998. – Vol. 120, № 2. – P. 259–266. – DOI: <https://doi.org/10.1115/1.2798310>.
- 201.** Fuld G. J., Hansen R. G., Loes N. Cryogenic cooling of biological samples for electron and optical microscopy // In: Kelley J. P. (ed.). *Applications of Cryogenic Technology*. – Boston : Springer, 1991. – Vol. 10. – DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9232-4_10.

- 202.** Han B., Bischof J. C. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing // *Cryobiology*. – 2004. – Vol. 48, № 1. – P. 8–21. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2003.11.002>.
- 203.** Mazur P. Cryobiology: the freezing of biological systems // *Science*. – 1970. – Vol. 168, № 3934. – P. 939–949. – DOI: <https://doi.org/10.1126/science.168.3934.939>.
- 204.** Patel P., Bhat A., Markx G. A comparative study of cell death using electrical capacitance measurements and dielectrophoresis // *Enzyme and Microbial Technology*. – 2008. – Vol. 43. – P. 523–530. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2008.09.006>.
- 205.** Skourou C., Hoopes P. J., Paulsen K. D. Tissue permittivity: a monitor for progressive tissue fibrosis as observed in bystander tissues following experimental high dose rate irradiation // *Cancer Biology & Therapy*. – 2009. – Vol. 8, № 23. – P. 2223–2229. – DOI: <https://doi.org/10.4161/cbt.8.23.9983>.
- 206.** Mansor M. A., Ahmad M. R. Single cell electrical characterization techniques // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2015. – Vol. 16, № 6. – P. 12686–12712. – DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms160612686>.
- 207.** Ahmad M. R., Nakajima M., Fukuda T. et al. Single cells electrical characterizations using nanoprobe via ESEM-nanomanipulator system // *Proceedings of the 9th IEEE Conference on Nanotechnology (IEEE-NANO)*. – 2009. – P. 589–592.
- 208.** Warren M., Bragós R., Casas O. et al. Percutaneous electrocatheter technique for on-line detection of healed transmural myocardial infarction // *Pacing and Clinical Electrophysiology*. – 2000. – Vol. 23, № 8. – P. 1283–1287. – DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1540-8159.2000.tb00945.x>.
- 209.** Osterman K. S., Hoopes P. J., DeLorenzo C. et al. Non-invasive assessment of radiation injury with electrical impedance spectroscopy // *Physics in Medicine & Biology*. – 2004. – Vol. 49, № 5. – P. 665–683. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0031-9155/49/5/002>.

- 210.** Nikitin, V., & Dubko, A. (2023). Frequency dependences of the impedance of the equivalent electrical shems of substitution of living biological tissues that simulate the normal and pathological state. *International Science Journal of Engineering & Agriculture*, 2(2), 10–20. <https://doi.org/10.46299/j.isjea.20230202.02>.
- 211.** Han A., Frazier A. B. Ion channel characterization using single cell impedance spectroscopy // *Lab on a Chip*. – 2006. – Vol. 6, № 11. – P. 1412–1414.
- 212.** Edd J. F., Horowitz L., Rubinsky B. Temperature dependence of tissue impedivity in electrical impedance tomography of cryosurgery // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2005. – Vol. 52, № 4. – P. 695–701. – DOI: <https://doi.org/10.1109/TBME.2005.844042>.
- 213.** Miller M. A., Zachary J. F. Mechanisms and morphology of cellular injury, adaptation, and death // In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. – 2017. – P. 2–43.e19. – DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-35775-3.00001-1>.
- 214.** Tieleman D. P. The molecular basis of electroporation // *BMC Biochemistry*. – 2004. – Vol. 5. – Art. 10. – DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2091-5-10>.
- 215.** Wang Y., Li Y., Huang J. et al. Correlation between electrical characteristics and biomarkers in breast cancer cells // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11. – Art. 14294. – DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93793-6>.
- 216.** Ward L. C., Brantlov S. Bioimpedance basics and phase angle fundamentals // *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. – 2023. – Vol. 24. – P. 381–391. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s11154-022-09780-3>.
- 217.** Hills A., Byrne N. Bioelectrical impedance and body composition assessment // *Malaysian Journal of Nutrition*. – 1998. – Vol. 4, № 1. – P. 107–112.

- 218.** Stahn A., Terblanche E., Gunga H. C. Use of bioelectrical impedance: general principles and overview // In: Handbook of Anthropometry / ed. V. Preedy. – New York : Springer, 2012. – DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1788-1_3.
- 219.** Ariyoshi K., Siroma Z., Mineshige A. et al. Electrochemical impedance spectroscopy. Part 1: fundamentals // Electrochemistry. – 2022. – Vol. 90. – Art. 102007. – DOI: <https://doi.org/10.5796/electrochemistry.22-66071>.
- 220.** Barbero G., Lelidis I. Analysis of Warburg's impedance and its equivalent electric circuits // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2017. – Vol. 19. – P. 24934–24944. – DOI: <https://doi.org/10.1039/C7CP04032F>.
- 221.** Dean D. A., Ramanathan T., Machado D., Sundararajan R. Electrical impedance spectroscopy study of biological tissues // Journal of Electrostatics. – 2008. – Vol. 66, № 3–4. – P. 165–177. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.elstat.2007.11.005>.
- 222.** Suresh S. Biomechanics and biophysics of cancer cells // Acta Biomaterialia. – 2007. – Vol. 3, № 4. – P. 413–438. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2007.04.002>.
- 223.** Zixuan Luo, Zichao Gao, Zeyang Cai, Xiaoyu Yan, Shiqiang Liu, Lingyun Xiao, Shichun Yang, Sida Zhou, A review of on-board electrochemical impedance spectroscopy for low-cost in situ characterization technology, Journal of Energy Storage, Volume 141, Part D, 2026, 119153, ISSN 2352-152X, <https://doi.org/10.1016/j.est.2025.119153>.
- 224.** Díaz B., Nóvoa X. R., Pérez C. Electrochemical impedance spectroscopy study on the behavior of reinforced concrete elements under loading // Corrosion and Materials Degradation. – 2022. – Vol. 3, № 4. – P. 759–769. – DOI: <https://doi.org/10.3390/cmd3040039>.
- 225.** Aljarrah M., Salman F. A simple analysis of impedance spectroscopy: review // Journal of The Institution of Engineers (India): Series D. – 2021. – Vol. 102. – P. 1–6. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s40033-021-00252-7>.

- 226.** Приймак Т. В., Червінко Д., Войтків Г., Гасюк І. М., Груб'як А. Б. Трансформація спектру електричного імпедансу біологічних тканин під впливом деструктивних факторів // Наукові нотатки. – 2021. – № 71. – DOI: <https://doi.org/10.36910/6775.24153966.2021.71.18>.
- 227.** Pryimak T., Popadynets O., Gasiuk I., Kotyk T. Electrical impedance spectrum transformation of liver tissues under the influence of temperature // International Journal of Engineering Research and Applications. – 2021. – Vol. 11, № 12. – P. 1–11. – DOI: <https://doi.org/10.9790/9622-1112010111>.
- 228.** Rutkove S. B., Fogerson P. M., Garmirian L. P., Tarulli A. W. Reference values for 50-kHz electrical impedance myography // Muscle & Nerve. – 2008. – Vol. 38, № 3. – P. 1128–1132. – DOI: <https://doi.org/10.1002/mus.21075>.
- 229.** Smye, S. W., Evans, C. J., Robinson, M. P., & Sleeman, B. D. (2007). Modelling the electrical properties of tissue as a porous medium. *Physics in medicine and biology*, 52(23), 7007–7022. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/52/23/016>.
- 230.** Franceschetti D. R., Macdonald J. R., Buck R. P. Interpretation of finite-length Warburg-type impedances in supported and unsupported electrochemical cells with kinetically reversible electrodes // Journal of The Electrochemical Society. – 1991. – Vol. 138, № 5. – P. 1367–1371.
- 231.** Gabriel C. Dielectric properties of biological tissue: variation with age // Bioelectromagnetics. – 2005. – Suppl. 7. – P. S12–S18. – DOI: <https://doi.org/10.1002/bem.20147>.
- 232.** Batra P., Kapoor R. Electrical bioimpedance: methods and applications // International Journal of Advance Research and Innovation. – 2015.
- 233.** Gersing E. Impedance spectroscopy on living tissue for determination of the state of organs // Bioelectrochemistry and Bioenergetics. – 1998. – Vol. 45, № 2. – P. 145–149. – DOI: [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(98\)00079-8](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(98)00079-8).

- 234.** Casas O. Contribution a la obtención de imágenes paramétricas en tomografía de impedancia eléctrica para la caracterización de tejidos biológicos : PhD thesis. – Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, 1998.
- 235.** Gabriel Gheorghe A., Constantinescu F., Nițescu M., Marin M. E. Circuit models of bioelectric impedance // IntechOpen. – 2020. – DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.91004>.
- 236.** Gudivaka R., Schoeller D. A., Kushner R. F., Bolt M. J. G. Single- and multifrequency models for bioelectrical impedance analysis of body water compartments // Journal of Applied Physiology. – 1999. – Vol. 87, № 3. – P. 1087–1096. (*дублює №92*)
- 237.** Chinen K., Kinjo I., Zamami A. et al. New equivalent-electrical circuit model and a practical measurement method for human body impedance // Bio-Medical Materials and Engineering. – 2015. – Vol. 26, Suppl. 1. – P. S779–S786. – DOI: <https://doi.org/10.3233/BME-151369>.
- 238.** Freeborn T. J. Bioimpedance analysis using fractional-order equivalent electrical circuits // In: Azar A. T., Radwan A. G., Vaidyanathan S. (eds.). Fractional Order Systems. – Academic Press, 2018. – P. 205–237. – DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816152-4.00007-8>.
- 239.** Ibba P., Falco A., Abera B. D. et al. Bio-impedance and circuit parameters: an analysis for tracking fruit ripening // Postharvest Biology and Technology. – 2020. – Vol. 159. – Art. 110978. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.110978>.
- 240.** Freeborn T. J. A survey of fractional-order circuit models for biology and biomedicine // IEEE Journal on Emerging and Selected Topics in Circuits and Systems. – 2013. – Vol. 3. – P. 416–424. – DOI: <https://doi.org/10.1109/JETCAS.2013.2265797>.
- 241.** Haeverbeke M. V., Stock M., De Baets B. Equivalent electrical circuits and their use across electrochemical impedance spectroscopy application domains // IEEE Access. –

2022. – Vol. 10. – P. 51363–51379. – DOI:
<https://doi.org/10.1109/ACCESS.2022.3174067>.

242. Helmholtz H. Ueber einige Gesetze der Vertheilung elektrischer Ströme in körperlichen Leitern mit Anwendung auf die thierisch-elektrischen Versuche // *Annalen der Physik und Chemie*. – 1853. – Vol. 165, № 6. – P. 211–233.

243. De Lorenzo A., Andreoli A., Matthie J., Withers P. Predicting body cell mass with bioimpedance by using theoretical methods: a technological review // *Journal of Applied Physiology*. – 1997. – Vol. 82, № 5. – P. 1542–1558. – DOI:
<https://doi.org/10.1152/jappl.1997.82.5.1542>.

244. Hayden R. I., Moyse C. A., Calder F. W. et al. Electrical impedance studies on potato and alfalfa tissue // *Journal of Experimental Botany*. – 1969. – Vol. 20, № 2. – P. 177–200.

245. Zhang M. I. N., Willison J. H. M. Electrical impedance analysis in plant tissues // *Journal of Experimental Botany*. – 1991. – Vol. 42, № 11. – P. 1465–1475.

246. Jócsák I., Végvári G., Vozáry E. Electrical impedance measurement on plants: a review with some insights to other fields // *Theoretical and Experimental Plant Physiology*. – 2019. – Vol. 31, № 3. – P. 359–375.

247. Albelda Aparisi P., Fortes Sánchez E., Contat Rodrigo L. et al. A rapid electrochemical impedance spectroscopy and sensor-based method for monitoring freeze-damage in tangerines // *IEEE Sensors Journal*. – 2021. – Vol. 21, № 10. – P. 12009–12018. – DOI: <https://doi.org/10.1109/JSEN.2021.3065846>.

248. Chowdhury A., Singh P., Bera T. K. et al. Electrical impedance spectroscopic study of Mandarin orange during ripening // *Journal of Food Measurement and Characterization*. – 2017. – Vol. 11, № 4. – P. 1654–1664.

- 249.** Bauchot A. D., Harker F. R., Arnold W. M. The use of electrical impedance spectroscopy to assess the physiological condition of kiwifruit // *Postharvest Biology and Technology*. – 2000. – Vol. 18, № 1. – P. 9–18.
- 250.** Frączek M., Kręcicki T., Moron Z. et al. Measurements of electrical impedance of biomedical objects // *Acta of Bioengineering and Biomechanics*. – 2016. – Vol. 18, № 1. – P. 11–17.
- 251.** Grossi M., Riccò B. Electrical impedance spectroscopy (EIS) for biological analysis and food characterization: a review // *Journal of Sensors and Sensor Systems*. – 2017. – Vol. 6. – P. 303–325. – DOI: <https://doi.org/10.5194/jsss-6-303-2017>.
- 252.** Friedman, S. L., & Pinzani, M. (2022). Hepatic fibrosis 2022: Unmet needs and a blueprint for the future. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 75(2), 473–488. <https://doi.org/10.1002/hep.32285>.
- 253.** Yao J., Wang L., Liu K. et al. Evaluation of electrical characteristics of biological tissue with electrical impedance spectroscopy // *Electrophoresis*. – 2019. – DOI: <https://doi.org/10.1002/elps.201900420>.
- 254.** Shi Y., Bai X., Yang J. et al. Optimized measurement methods and systems for the dielectric properties of active biological tissues in the 10 Hz–100 MHz frequency range // *Frontiers in Physiology*. – 2025. – Vol. 16. – DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2025.1537537>.
- 255.** Pinto S., Pinzón E., Melendez A. et al. Limpieza de electrodos y reproducibilidad de medidas de impedancia eléctrica en células HeLa en solución acuosa // *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. – 2020. – Vol. 44. – P. 257–268. – DOI: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.919>.
- 256.** Tomáš Doležal, Martin Štumpf, Qirui Hua, Ondrej Franek, Measurement of electrical conductivity of human tissue: A feasibility study of a novel time-domain

approach, Measurement, Volume 242, Part A, 2025, 115763, ISSN 0263-2241, <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2024.115763>.

257. Gerasimenko T., Nikulin S., Zakharova G. et al. Impedance spectroscopy as a tool for monitoring performance in 3D models of epithelial tissues // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2020. – Vol. 7. – Art. 474. – DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00474>.

258. Emran S., Lappalainen R., Kullaa A. M., Myllymaa S. Concentric ring probe for bioimpedance spectroscopic measurements: design and ex vivo feasibility testing on pork oral tissues // *Sensors*. – 2018. – Vol. 18, № 10. – Art. 3378. – DOI: <https://doi.org/10.3390/s18103378>.

259. Abdelbaset R., Shawky S. M., Abdullah M. A. A. et al. A new label-free spiral sensor using impedance spectroscopy to characterize hepatocellular carcinoma in tissue and serum samples // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14. – Art. 13155. – DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-63141-5>.

260. Garr Barry V., Chiang J. L., Bowman K. G. et al. Bioimpedance-derived membrane capacitance: clinically relevant sources of variability, precision, and reliability // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2022. – Vol. 20, № 1. – Art. 686. – DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph20010686>.

261. Jokhi R. P., Ghule V. V., Brown B. H., Anumba D. O. Reproducibility and repeatability of measuring the electrical impedance of the pregnant human cervix: the effect of probe size and applied pressure // *Biomedical Engineering Online*. – 2009. – Vol. 8. – Art. 10. – DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-925X-8-10>.

262. Guermazi M., Fendri A., Kanoun O., Derbel N. Potential of impedance spectroscopy for real-time assessing of food quality // *IEEE Instrumentation & Measurement Magazine*. – 2018. – Vol. 21, № 6. – P. 44–48. – DOI: <https://doi.org/10.1109/MIM.2018.8573593>.

- 263.** Chaudhry H. S., Tripathi C. P. Histopathological effect of thiourea on the ovarian tissues of *Sarcophaga ruficornis* (Fabr.) // *Experientia*. – 1976. – Vol. 32, № 1. – P. 103–104. – DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01932647>.
- 264.** Lepock J. R. Protein denaturation during heat shock // *Advances in Molecular and Cell Biology*. – 1997. – Vol. 19. – P. 223–259. – DOI: [https://doi.org/10.1016/S1569-2558\(08\)60079-X](https://doi.org/10.1016/S1569-2558(08)60079-X).
- 265.** Edd J. F., Rubinsky B. Imaging cryosurgery with EIT: tracking the ice front and post-thaw tissue viability // *Physiological Measurement*. – 2008. – Vol. 29, № 8. – P. 899–912. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0967-3334/29/8/004>.
- 266.** Tajparast M., Glavinović M. I. Effect of ion concentration, solution and membrane permittivity on electric energy storage and capacitance // *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*. – 2018. – Vol. 1860, № 11. – P. 2385–2403. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2018.06.003>.
- 267.** Alsayed, A. R. (2025). Pathophysiology of Cellular Injury: Mechanisms, Adaptations, and Clinical Implications. Preprints. <https://doi.org/10.20944/preprints202503.0846.v1>.
- 268.** Abasi S., Aggas J. R., Garayar-Leyva G. G. et al. Bioelectrical impedance spectroscopy for monitoring mammalian cells and tissues under different frequency domains: a review // *ACS Measurement Science Au*. – 2022. – Vol. 2, № 6. – P. 495–516. – DOI: <https://doi.org/10.1021/acsmeasuresciau.2c00033>.
- 269.** Tarasov A., Titov K. On the use of the Cole–Cole equations in spectral induced polarization // *Geophysical Journal International*. – 2013. – Vol. 195, № 1. – P. 352–356. – DOI: <https://doi.org/10.1093/gji/ggt251>.
- 270.** Olekhovich N. M., Radyush Y. V., Pushkarev A. V. Electrical properties of materials // *Physics of the Solid State*. – 2012. – Vol. 54. – P. 2236–2243. – DOI: <https://doi.org/10.1134/S1063783412110248>.

- 271.** Thanapholsart J., Khan E., Lee G. A. A current review of the uses of bioelectrical impedance analysis and bioelectrical impedance vector analysis in acute and chronic heart failure patients: an under-valued resource? // *Biological Research for Nursing*. – 2023. – Vol. 25, № 2. – P. 240–249. – DOI: <https://doi.org/10.1177/10998004221132838>.
- 272.** Ayush Mehra, Brooke E. Starkoff, Brett S. Nickerson, The evolution of bioimpedance analysis: From traditional methods to wearable technology, *Nutrition*, Volume 129, 2025, 112601, ISSN 0899-9007, <https://doi.org/10.1016/j.nut.2024.112601>.
- 273.** Cowling R. T., Kupsy D., Kahn A. M. et al. Mechanisms of cardiac collagen deposition in experimental models and human disease // *Translational Research*. – 2019. – Vol. 209. – P. 138–155. – DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2019.03.004>.
- 274.** Sharma, P., Kumar, P., Sharma, R., Bhatt, V. D., & Dhot, P. S. (2019). Tissue Engineering; Current Status & Futuristic Scope. *Journal of medicine and life*, 12(3), 225–229. <https://doi.org/10.25122/jml-2019-0032>.
- 275.** Hirsch K. R., Blue M. N. M., Smith-Ryan A. E. Sensitivity of raw bioimpedance values to acute feeding in healthy young adults: potential utility for application // *Measurement in Physical Education and Exercise Science*. – 2023. – Vol. 27, № 3. – P. 283–291. – DOI: <https://doi.org/10.1080/1091367X.2023.2172682>.
- 276.** Tinsley G., Stratton M., Harty P. et al. Influence of acute water ingestion and prolonged standing on raw bioimpedance and subsequent body fluid and composition estimates // *Journal of Electrical Bioimpedance*. – 2022. – Vol. 13. – P. 10–20. – DOI: <https://doi.org/10.2478/joeb-2022-0003>.
- 277.** Nahar, T. T., Rahman, M. M., & Kim, D. (2025). Effect of Ground Motion Duration and Frequency Characteristics on the Probabilistic Risk Assessment of a Concrete Gravity Dam. *Infrastructures*, 10(10), 259. <https://doi.org/10.3390/infrastructures10100259>.

- 278.** Ray K. Mapping the cells in the liver — uncharted subtypes and heterogeneity // Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. – 2019. – Vol. 16. – P. 513. – DOI: <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0192-0>.
- 279.** Buendia R. Improvements in bioimpedance spectroscopy data analysis: artefact correction, Cole parameters and body fluid estimation : PhD thesis. – KTH, 2013.
- 280.** Dandan Wang, Xiaoyu Ma, Yijin Zhao, Wenting Zou, Hua Wang, Yang Gao, Shimeng Wan, Jian Ni, Lilan Xin, Hai-Bing Zhou, Hongbing Cai, Chune Dong, The discovery of acyl thiourea derivatives as potent hydrophobic tagging degraders targeting SIRT2 for the treatment of ovarian cancer, Chinese Chemical Letters, Volume 37, Issue 4, 2026, 111143, ISSN 1001-8417, <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2025.111143>.
- 281.** Gabriel C., Gabriel S., Corthout E. The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey // Physics in Medicine & Biology. – 1996. – Vol. 41, № 11. – P. 2231–2249. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0031-9155/41/11/001>.
- 282.** Gabriel S., Lau R. W., Gabriel C. The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz // Physics in Medicine & Biology. – 1996. – Vol. 41, № 11. – P. 2251–2269. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0031-9155/41/11/002>.
- 283.** Gabriel S., Lau R. W., Gabriel C. The dielectric properties of biological tissues: III. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues // Physics in Medicine & Biology. – 1996. – Vol. 41, № 11. – P. 2271–2293. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0031-9155/41/11/003>.
- 284.** Grimnes S., Martinsen Ø. G. Cole electrical impedance model — a critique and alternative // IEEE Transactions on Biomedical Engineering. – 2005. – Vol. 52, № 1. – P. 132–135. – DOI: <https://doi.org/10.1109/TBME.2004.836499>.

- 285.** Cole K. S., Cole R. H. Dispersion and absorption in dielectrics I. Alternating current characteristics // *Journal of Chemical Physics*. – 1941. – Vol. 9, № 4. – P. 341–351. – DOI: <https://doi.org/10.1063/1.1750906>.
- 286.** Foster K. R., Schwan H. P. Dielectric properties of tissues and biological materials: a critical review // *Critical Reviews in Biomedical Engineering*. – 1989. – Vol. 17, № 1. – P. 25–104.
- 287.** Schwan H. P. Electrical properties of tissue and cell suspensions // *Advances in Biological and Medical Physics*. – 1957. – Vol. 5. – P. 147–209.
- 288.** McAdams E. T., Jossinet J., Lackermeier A., Risacher F. Factors affecting electrode-gel-skin interface impedance in electrical impedance tomography // *Medical and Biological Engineering and Computing*. – 1996. – Vol. 34, № 6. – P. 397–408.
- 289.** Geddes L. A., Baker L. E. The specific resistance of biological material — a compendium of data for the biomedical engineer and physiologist // *Medical and Biological Engineering*. – 1967. – Vol. 5. – P. 271–293.
- 290.** Duck F. A. *Physical Properties of Tissue: A Comprehensive Reference Book*. – London : Academic Press, 1990.
- 291.** Martinsen Ø. G., Grimnes S., Schwan H. P. Interface phenomena and dielectric properties of biological tissue // *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*. – 2002. – P. 2643–2652.
- 292.** Ward, Leigh & Brantlov, Steven. (2023). Bioimpedance basics and phase angle fundamentals. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 24. 1-11. [10.1007/s11154-022-09780-3](https://doi.org/10.1007/s11154-022-09780-3).
- 293.** Scharfetter H., Merwa R., Brunner P. et al. How to choose the optimal frequency range for electrical impedance tomography // *Physiological Measurement*. – 2003. – Vol. 24, № 2. – P. 291–302. – DOI: <https://doi.org/10.1088/0967-3334/24/2/305>.

294. Holder D. Electrical Impedance Tomography: Methods, History and Applications. – Bristol : Institute of Physics Publishing, 2004.

295. Bayford R. Bioimpedance tomography (electrical impedance tomography) // Annual Review of Biomedical Engineering. – 2006. – Vol. 8. – P. 63–91. – DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.8.061505.095716>.

296. Brown B. H. Electrical impedance tomography (EIT): a review // Journal of Medical Engineering & Technology. – 2003. – Vol. 27, № 3. – P. 97–108. – DOI: <https://doi.org/10.1080/0309190021000059687>.

297. Adler A., Boyle A. Electrical impedance tomography: tissue properties to image measures // IEEE Transactions on Biomedical Engineering. – 2017. – Vol. 64, № 11. – P. 2494–2504. – DOI: <https://doi.org/10.1109/TBME.2017.2659540>.

ДОДАТКИ

Додаток А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті, що індексуються в міжнародних наукометричних базах:

1. Приймак Т. В. ТРАНСФОРМАЦІЯ СПЕКТРУ ЕЛЕКТРИЧНОГО ІМПЕДАНСУ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН ПІД ВПЛИВОМ ДЕСТРУКТИВНИХ ФАКТОРІВ [Електронний ресурс] / Т. В. Приймак, І. М. Гасюк, А. Б. Груб'як // Міжвузівський збірник «НАУКОВІ ПОТЯТКИ». Луцьк, №71, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.36910/6775.24153966.2021.71.18>.

URL: https://eforum.lntu.edu.ua/index.php/naukovi_notatky/article/view/582

2. Taras Pryimak, Oksana Popadynets, Ivan Gasiuk, & Taras Kotyk. (2021). Electrical impedance spectrum transformation of liver tissues under the influence of temperature. *International Journal of Engineering Research and Applications*, 11(12), 1–11.

DOI: <https://doi.org/10.9790/9622-1112010111>.

3. T.V. Pryimak, I.M. Gasyuk, A.V. Grubyak, D.M. Chervinko, Transformation of the electrical impedance spectra of biological tissues under the influence of destructive factors, *Materials Today: Proceedings*, Volume 62, Part 9, 2022, Pages 5796-5799, ISSN 2214-7853.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.02.654>.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214785322018399>

4. T. V. Pryimak, I. M. Gasiuk, D. M. Chervinko, "Transformation of Frequency Dispersion of Electrical Parameters of Liver Tissue Depending on its Storage Temperature," *SSRG International Journal of Applied Physics*, vol. 10, no. 2, pp. 1-6, 2023. *Crossref*.

DOI: <https://doi.org/10.14445/23500301/IJAP-V10I2P101>.

URL: <https://www.internationaljournalsssrg.org/IJAP/paper-details?Id=186>

5. Pryimak, T., Chervinko, D., Voitkiv, H., & Hasyuk, I. (2024). Amplitude-Frequency Effect of Mixed Electric Field on Impedance Spectrum Parameters of Biological Tissue. *Physics and Chemistry of Solid State*, 25(2), 269–277.

DOI: <https://doi.org/10.15330/pcss.25.2.269-277>.

URL: <https://journals.pnu.edu.ua/index.php/pcss/article/view/7676>

Публікації в збірках наукових конференцій:

1. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Груб'як А. Б. Деструктивна трансформація параметрів електричної еквівалентної схеми тканин печінки. *Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології* : Матеріали міжнар. конф., м. Київ, 27 верес. 2019 р. Київ, 2019. С. 202–205.

2. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Попадинець О. Г. Термочасові зміни імпедансних спектрів тканин печінки, отриманих у широкому частотному діапазоні. *Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні*

технології : Матеріали міжнар. конф., м. Київ, 23 верес. 2020 р. Київ, 2020. С. 216–220.

3. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Червінко Д. М. Вплив факторів зйомки на спектри електричного імпедансу біологічних тканин. *Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології* : Матеріали міжнар. конф., м. Київ, 9 жовт. 2023 р. Київ, 2023.

4. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Червінко Д. М. Transformation of Frequency Dispersion of Electrical Parameters of Liver Tissues Depending on Storage Temperature. *Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології* : Матеріали міжнародної конференції, Київ, 27 September 2024. Київ. P. 196–205.

DOI: <https://doi.org/10.17721/3041-1491/2024.11>

URL: chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://conference.rb.knu.ua/all_book_2024.pdf

ДОДАТКИ

Додаток Б

Список публікацій здобувача за темою дисертації та відомості про апробацію результатів дисертації

Статті у наукових виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України категорії Б:

1. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Груб'як А. Б. Трансформація спектру електричного імпедансу біологічних тканин під впливом деструктивних факторів / *Наукові нотатки*. 2021. №71. С. 128 – 136.

DOI: <https://doi.org/10.36910/6775.24153966.2021.71.18>.

URL: https://eforum.lntu.edu.ua/index.php/naukovi_notatky/article/view/582

Статті, що індексуються в міжнародних наукометричних базах Scopus або Web of Science:

2 Pryimak, T., Chervinko, D., Voitkiv, H., & Hasyuk, I. Amplitude-Frequency Effect of Mixed Electric Field on Impedance Spectrum Parameters of Biological Tissue. / *Physics and Chemistry of Solid State*. 2024. 25(2), P. 269–277. ISSN: 1729-4428.

DOI: <https://doi.org/10.15330/pcss.25.2.269-277>.

URL: <https://www.scopus.com/pages/publications/85201768119?origin=resultslist>

3 T.V. Pryimak, I.M. Gasyuk, A.V. Grubyak, D.M. Chervinko, Transformation of the electrical impedance spectra of biological tissues under the influence of destructive factors, *Materials Today: Proceedings*, Volume 62, Part 9, 2022, P. 5796-5799.

ISSN 2214-7853.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.02.654>.

URL: <https://www.scopus.com/pages/publications/85128869619?origin=resultslist>

4. Bayliak, M.M., Mosiichuk, N.M., Sorochynska, O.M., ... Garaschuk, O., Lushchak, V.I. Middle aged turn point in parameters of oxidative stress and glucose catabolism in mouse cerebellum during lifespan: minor effects of every-other-day fasting / *Biogerontology* *Open source preview*. 2021. 22(3). pp. 315–328.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s10522-021-09918-x>

URL: <https://www.scopus.com/pages/publications/85103390286?origin=resultslist>

Статті у наукових виданнях інших країн:

5. Taras Pryimak, Oksana Popadynets, Ivan Gasiuk, & Taras Kotyk. Electrical impedance spectrum transformation of liver tissues under the influence of temperature. / *International Journal of Engineering Research and Applications*. 2021. 11(12), P. 1–11.

DOI: <https://doi.org/10.9790/9622-1112010111>.

URL: <https://www.ijera.com/papers/vol11no12/Ser-1/A1112010111.pdf>

Тези наукових конференцій:

6. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Груб'як А. Б. Деструктивна трансформація параметрів електричної еквівалентної схеми тканин печінки. *Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології* : Матеріали міжнар. конф., м. Київ, 27 верес. 2019 р. Київ, 2019. С. 202–205.

URL: <chromeextension://efaidnbnmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://vomfi.knu.ua/wp-content/uploads/2021/09/zbirnik-MF-20200110.pdf>

7. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Попадинець О. Г. Термочасові зміни імпедансних спектрів тканин печінки, отриманих у широкому частотному діапазоні. *Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології* : Матеріали міжнар. конф., м. Київ, 23 верес. 2020 р. Київ, 2020. С. 216–220.

URL: <https://medphys.knu.ua/uk/issue/view/312/317>

8. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Червінко Д. М. Вплив факторів зйомки на спектри електричного імпедансу біологічних тканин. *Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології* : Матеріали міжнар. конф., м. Київ, 9 жовт. 2023 р. Київ, 2023.

URL: <https://medphys.knu.ua/uk/issue/view/312>

9. Приймак Т. В., Гасюк І. М., Червінко Д. М. Transformation of Frequency Dispersion of Electrical Parameters of Liver Tissues Depending on Storage

Temperature. *Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології* : Матеріали міжнародної конференції, Київ, 27 September 2024. Київ. P. 196–205.

DOI: <https://doi.org/10.17721/3041-1491/2024.11>

URL: chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://conference.rb.knu.ua/all_book_2024.pdf

Апробація матеріалів дисертації. Представлені в дисертаційній роботі результати були оприлюднені та обговорювалися на: VIII Міжнародна конференція ”Медична фізика - сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології” (2019), IX Міжнародна конференція «Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології» (2020), X Міжнародна конференція «Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології» (2021), XI Міжнародна конференція «Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології» (2024).