

DOI 10.30898/1684-1719.2020.6.10

УДК 57.033

## О ПРИЧИНЕ НЕСТАЦИОНАРНОСТИ ПОКАЗАНИЙ ЁМКОСТНОГО ДАТЧИКА КРОВЕНАПОЛНЕНИЯ ДЛЯ ЖИВЫХ БИОТКАНЕЙ

С.Г. Сучков<sup>1</sup>, Д.А. Александров<sup>2</sup>, В.А. Николаевцев<sup>1</sup>, Д.С. Сучков<sup>1</sup>, А.С. Толстокоров<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г.Чернышевского, 410012, Саратов, ул. Астраханская, 83

<sup>2</sup>Саратовский государственный медицинский университет им. В.И.Разумовского, 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112

Статья поступила в редакцию 29 мая 2020 г., после доработки – 8 июня 2020 г.

**Аннотация.** На основе теоретических и экспериментальных исследований представлена гипотеза, основанная на наличии выпрямляющих свойств у некоторых калиевых каналов клеточных мембран, объясняющая нестационарность показаний ёмкостного датчика кровенаполнения для живых биотканей в отличие от стационарных показаний для мертвых биотканей, что позволяет расширить область его использования.

**Ключевые слова:** биоткань, кровенаполнение, ёмкостной датчик, диэлектрическая проницаемость.

**Abstract.** A hypothesis is presented that allows one to explain the practically important property of the previously developed capacitive sensor of biological tissues blood supply, namely the increase in time of sensor measurements for living biological tissues and the absence of this effect for non-living biological tissues. It is based on the presence of rectifying properties in some potassium channels of cell membranes. The experimental part of the work to confirm the hypothesis was performed on 7 male white laboratory rats weighing 200-250 grams. An open phenomenon opens up the fundamental possibility of using a capacitive blood supply sensor in practical medicine to expressly indicate the viability of tissues of injured and sick people. Due to the miniaturization and autonomy properties of the capacitive sensor which is considered in the work, it could find applications in disaster medicine

and emergency surgery for the urgent assessment of blood supply and tissue viability at the prehospital and hospital stages of emergency care.

**Key words:** biological tissue, blood supply, capacitive sensor, permittivity.

## **Введение**

В работе [1] сообщалось о создании малогабаритного измерителя кровенаполнения биотканей на основе ёмкостного датчика и о полученных на лабораторных крысах экспериментальных результатах, показавших возможность быстрого определения уровня кровенаполнения биотканей по измеряемой ёмкости электродов датчика, приложенных к биоткани. Было показано, что датчик обладает высокой чувствительностью к изменениям кровенаполнения биотканей, которые создавались искусственно путем введения как крови, так и анестетика, в область измерений. Введение крови приводило к кратному увеличению начальных показаний ёмкостного датчика, а введение дозы анестетика приводило к подавлению кровообращения и значительному снижению начальных показаний датчика.

Было обнаружено, что в живых биотканях, то есть при наличии кровообращения, измеренные значения ёмкости датчика постоянно и нелинейно (сначала быстро, потом медленнее) возрастали в течение десятков минут. На неживых биотканях зависимость показаний датчика от времени не наблюдалась.

Обнаруженная в [1] нестационарность показаний ёмкостного датчика на живых биотканях не описана в известной литературе. Поэтому в данной работе на основе модельных представлений об электрических характеристиках и процессах в клетках и биоткани и экспериментальных исследованиях на лабораторных крысах строится гипотеза, объясняющая эту нестационарность.

## **1. Электрическая модель клетки и биоткани**

В работе [1] была предложена эквивалентная схема участка биоткани между электродами ёмкостного датчика измерителя кровенаполнения (рис.1), которая позволила адекватно оценить изменения диэлектрической

проницаемости и удельного сопротивления биотканей с различным уровнем кровенаполнения.

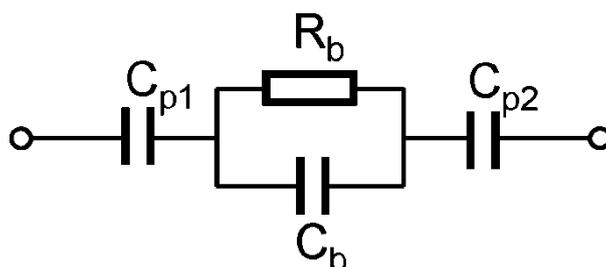


Рис. 1. Эквивалентная схема участка биоткани между электродами при измерении через кожу.

На рис.1 ёмкости  $C_{p1,2}$  образованы роговым слоем кожи и проводящей дермой (в качестве электрода),  $C_b$  - ёмкость участка биоткани, определяемая диэлектрической проницаемостью физиологических жидкостей и ёмкостями клеточных мембран,  $R_b$  - сопротивление участка биоткани, определяемое омическим электрическим сопротивлением физиологических жидкостей (как электролита). Ёмкостной датчик фактически измеряет полную ёмкость электродной структуры, расположенной на слоистой биоткани, как мнимую часть комплексного импеданса  $Z_B$  участка биоткани между электродами датчика

$$C_T^{-1} = -\omega \text{Im}(Z_B) = \frac{1}{C_{p1}} + \frac{1}{C_{p2}} + R_b \frac{\omega^2 R_b C_b}{1 + \omega^2 R_b^2 C_b^2}. \quad (1)$$

Из (1) следует, что при уменьшении сопротивления  $R_b$  полная ёмкость  $C_T$  увеличивается. Измерительное напряжение имеет частоту около 700 кГц и амплитуду около 1 В.

Для выяснения причины нестационарности показаний ёмкостного датчика на живых биотканях рассмотрим более подробно процессы переноса заряда ионов в клетках.

Клетки представляют собой микрообъекты размером от единиц до десятков и сотен микрометров. Они имеют прочную и очень тонкую (5-10 нм) диэлектрическую оболочку в виде плазматической мембраны, практически непроницаемой для ионов, и имеющей высокую удельную ёмкость около 1

мкФ/см<sup>2</sup> [2], что соответствует ёмкостям мембран отдельных клеток в зависимости от их размера  $C_S = 0.1 \div 10$  пФ.

Биологическое функционирование всех составляющих живых клеток является очень сложным электрохимическим процессом, поэтому ограничимся только основными электрическими процессами, связанными с ионными токами через селективные молекулярные каналы в плазматической мембране клеток. Во внеклеточной среде (в биоткани) преобладают ионы натрия, а в клетке — ионы калия, причем последних на порядок больше [2]. Поэтому для построения эквивалентной схемы клетки ограничимся только токами ионов калия  $K^+$ .

Для переноса ионов через мембрану существуют специальные транспортные механизмы — встроенные в мембрану белки, образующие каналы, называемые калиевыми, натриевыми, кальциевыми, хлорными и др. каналами. Количество ионных каналов в клетке очень велико. Так, например, в немиелиновых нервных волокнах 50-200 каналов на 1 мкм<sup>2</sup>, а в миелиновых нервных волокнах (перехваты Ранвье) - 13000 на 1 мкм<sup>2</sup> площади мембраны [2]. Проводимость калиевых каналов в зависимости от их вида составляет от 2 до 300 пСм [3]. Исходя из этих данных время заряда/разряда ёмкости мембраны клеток можно оценить величиной  $\tau_p = 10^{-5} \div 10^{-3}$  секунды, значительно превышающей период измерительного напряжения ( $1.4 \cdot 10^{-6}$  с).

Основной вклад в поддержание потенциала клетки вносят калиевые каналы семейств  $K_{ir}$  (*inwardrectifying  $K^+$  channels* — **калиевые каналы внутреннего выпрямления**) и  $K_{2p}$  (*two-poredomain  $K^+$  channels* — калиевые каналы с двумя поровыми доменами, которые часто называют каналами утечки). Ионные каналы селективно пропускают определенный тип ионов, например, калиевые каналы пропускают только ионы  $K^+$ , причем каналы семейства  $K_{ir}$  пропускают ионы только в одном направлении (внутрь клетки) [4]. В настоящее время идентифицированы семь подсемейств калиевых каналов внутреннего выпрямления в клетках разных тканей животных различных видов [5]. Калиевые каналы внутреннего выпрямления обнаружены также у растений [6]. Наличие каналов с внутренним выпрямлением лежит в основе

предлагаемой гипотезы о нестационарности показаний ёмкостного датчика для живых биотканей.

При воздействии измерительного напряжения амплитудой около 1 В на участок биоткани длиной около 10 мм на одну клетку в среднем будет приходиться падение напряжения порядка  $10^{-3}$  В. Упрощенно, с точки зрения электрических свойств, клетку представим как ёмкость  $C_S$ , которая заряжается ионными токами  $K^+$ , проходящими через сопротивления калиевых каналов, причем часть из них ( $K_{ir}$ ) обладает односторонней проводимостью внутрь клетки (рис.2). При этом токами ионов натрия  $Na^+$  и кальция  $Ca^+$ , которые значительно меньше тока ионов калия внутри клетки, можно пренебречь ввиду их малости с электрической точки зрения, то есть их влияния на показания ёмкостного датчика, но, конечно, с биофизической точки зрения они имеют важнейшее значение. На внешней стороне мембраны образуется область отрицательного заряда благодаря тому, что отрицательные ионы хлора  $Cl^-$  электрическим полем выносятся из клетки наружу и распределяются на внешней поверхности мембраны конгруэнтно с областью накопления положительного заряда.

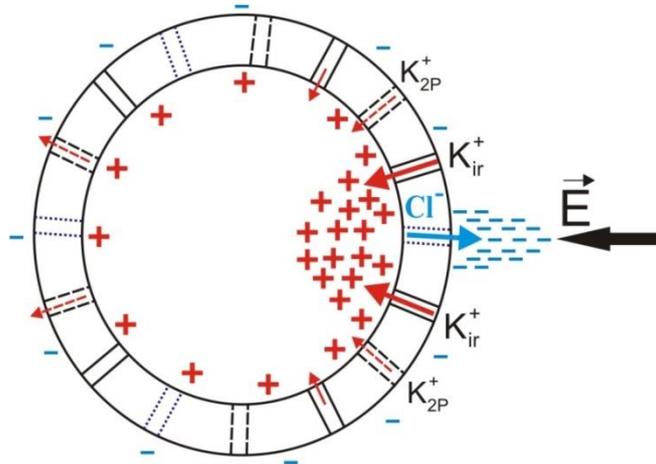


Рис.2 Увеличение концентрации ионов калия в клетке во внешнем электрическом поле.

При наложении внешнего электрического поля калиевые каналы с внутренним выпрямлением  $K_{ir}$  открываются с одной стороны клетки, обращенной к положительному полюсу электрического поля. Поэтому ионные

токи  $K^+$  втекают внутрь клетки в каждом полупериоде электрического напряжения как через каналы  $K_{ir}$ , так и через каналы  $K_{2P}$ . Поскольку подвижность ионов в среде цитоплазмы мала, время разряда ёмкости  $C_S$  значительно превышает период измерительного напряжения и его амплитуда значительно меньше мембранного потенциала (100 мВ [4]), то в клетке во времени будет медленно увеличиваться концентрация ионов  $K^+$  до тех пор, пока концентрация ионов калия вокруг клетки не уменьшится до уровня, когда втекающий в клетку ток ионов калия станет сравним с токами других ионов.

Втекание ионов калия  $K^+$  внутрь клетки происходит через сопротивление  $R_{K_{ir}}$  ионных каналов с внутренним выпрямлением и идеальный диод  $D_{K_{ir}}$ , а также через сопротивление  $R_{K_{2P}}$  невыпрямляющих ионных каналов утечки  $K_{2P}$ . Далее ионный ток  $K^+$  течет через сопротивление внутренней среды клетки (цитоплазмы)  $R_S$  в направлении электрического поля. При наложении переменного электрического поля благодаря выпрямляющим свойствам калиевых каналов  $K_{ir}$  происходит нарастание во времени концентрации ионов калия в клетке вследствие попеременного втекания их с противоположных сторон мембраны клетки. В соответствии с указанными представлениями эквивалентную схему протекания тока ионов  $K^+$  через клетку можно представить в виде, изображенном на рис.3.

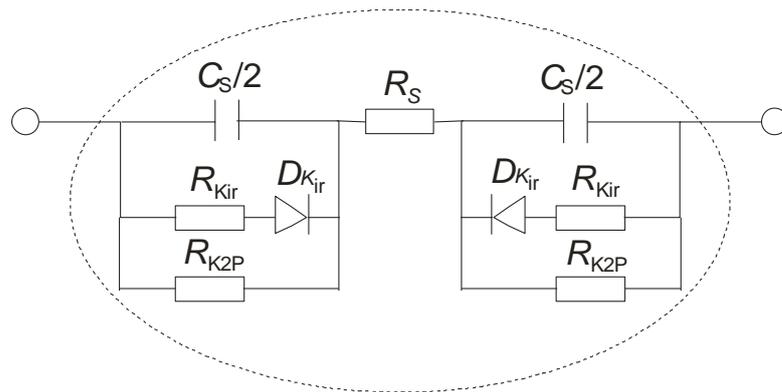


Рис.3. Эквивалентная схема протекания тока ионов  $K^+$  через клетку.

Сопротивление  $R_S$  обратно пропорционально концентрации ионов в цитоплазме, поэтому при воздействии внешнего электрического поля, когда концентрация ионов  $K^+$  внутри клетки нарастает во времени, оно,

соответственно, уменьшается.

Из приведенной эквивалентной схемы следует аналитическое выражение для комплексного импеданса клетки  $Z_C$  :

$$Z_C = \left[ R_S + \frac{R_{Kir}R_{K2P}(R_{Kir} + R_{K2P})}{(R_{Kir} + R_{K2P})^2 + \frac{\omega^2 R_{Kir}R_{K2P}C_S^2}{4}} + \frac{R_{K2P}}{1 + \frac{(\omega R_{K2P}C_S)^2}{4}} \right] - i\omega C_S/2 \left[ \frac{R_{Kir}R_{K2P}}{(R_{Kir}+R_{K2P})^2 + \omega^2 R_{Kir}R_{K2P}C_S^2/4} + \frac{R_{K2P}^2}{1 + (\omega R_{K2P}C_S)^2/4} \right], \quad (2)$$

откуда следует, что при увеличении концентрации ионов калия в клетке уменьшается только  $R_S$  и вещественная часть импеданса, а мнимая часть импеданса остается неизменной.

В каждом полупериоде измерительного напряжения происходит закачка ионов  $K^+$  внутрь множества клеток биоткани через сопротивление  $R_{Kir}$  (единицы МОм), а релаксация объемного положительного заряда предотвращается выпрямляющим свойством калиевых каналов  $K_{ir}$  и большой величиной сопротивления  $R_{K2P}$  (сотни МОм).

Таким образом, при наложении переменного измерительного напряжения на участок биоткани в клетках происходит увеличение концентрации ионов  $K^+$  и, следовательно, уменьшается омическое сопротивление клеток. Таким образом, на участке между электродами ёмкостного датчика уменьшается сопротивление биоткани  $R_b$ . При этом, как указывалось на основании (1), показания ёмкостного датчика (полная ёмкость  $C_T$ ) увеличиваются. Для различных образцов живых биотканей этот процесс происходит в течение времени от единиц до десятков минут, что может объясняться различной концентрацией ионов калия в межклеточной среде образцов биотканей. Для образцов мёртвых биотканей значимых изменений показаний ёмкостного датчика не происходит, что очевидно означает отсутствие ионных токов в клетках.

В работе [1] теоретически (на основании эквивалентной схемы рис.1) и экспериментально было показано, что при уменьшении сопротивления

биоткани на измерительном участке показания измерителя ёмкости, фактически измеряющего  $\text{Im}(Z_B)$ , повышаются. Поэтому возрастание во времени этих показаний можно объяснить накоплением ионов калия  $\text{K}^+$  в клетках. Следовательно, чем быстрее происходит нарастание показаний измерителя, тем интенсивнее идет метаболизм в клетках.

В мертвых клетках ионные каналы не работают, заряд в клетках не накапливается и изменений показаний ёмкостного датчика не происходит.

В любой биоткани содержится большое разнообразие клеток с различными электрическими характеристиками. Поэтому измеряемые значения ёмкости, во-первых, характеризуют усредненные электрические характеристики клеток биоткани, и, во-вторых, могут сильно отличаться от образца к образцу. Но эти различия несут информацию о своеобразии биофизических процессов, происходящих в различных организмах или растениях.

## 2. Экспериментальные результаты

Экспериментальная часть работы выполнена на 7 самцах белых лабораторных крыс массой 200-250 граммов. Все манипуляции на животных проведены в строгом соответствии с нормативными актами (Приказ Минздрава СССР «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» № 755 от 12.08.1977, Приказ Минздрава РФ «Об утверждении правил лабораторного практикума» № 266 от 19.06.2003). Экспериментальные животные содержались в стандартных условиях (12 часовой период освещения при температуре 18-22<sup>0</sup>С, влажность 50-70%) вивария ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России на обычном пищевом рационе. В ходе эксперимента под общим обезболиванием раствором Золетил 0.2 мл, в асептических условиях сбривали волосяной покров с кожи внутренней поверхности правого и левого бедра. Проводили измерения ёмкостным датчиком, установленным на поверхности кожи, в течение десяти минут с

интервалом в одну минуту. При статистической обработке использовали критерий Вилкоксона.

В отличие от предшествующей работы [1], в которой измерения проводились с применением датчика с плоскими электродами (рис.4а), в настоящем исследовании для повышения локальности и повторяемости измерений на животных малых размеров применен датчик коаксиальной конструкции, имеющий внешний диаметр 5 мм (рис.4б).

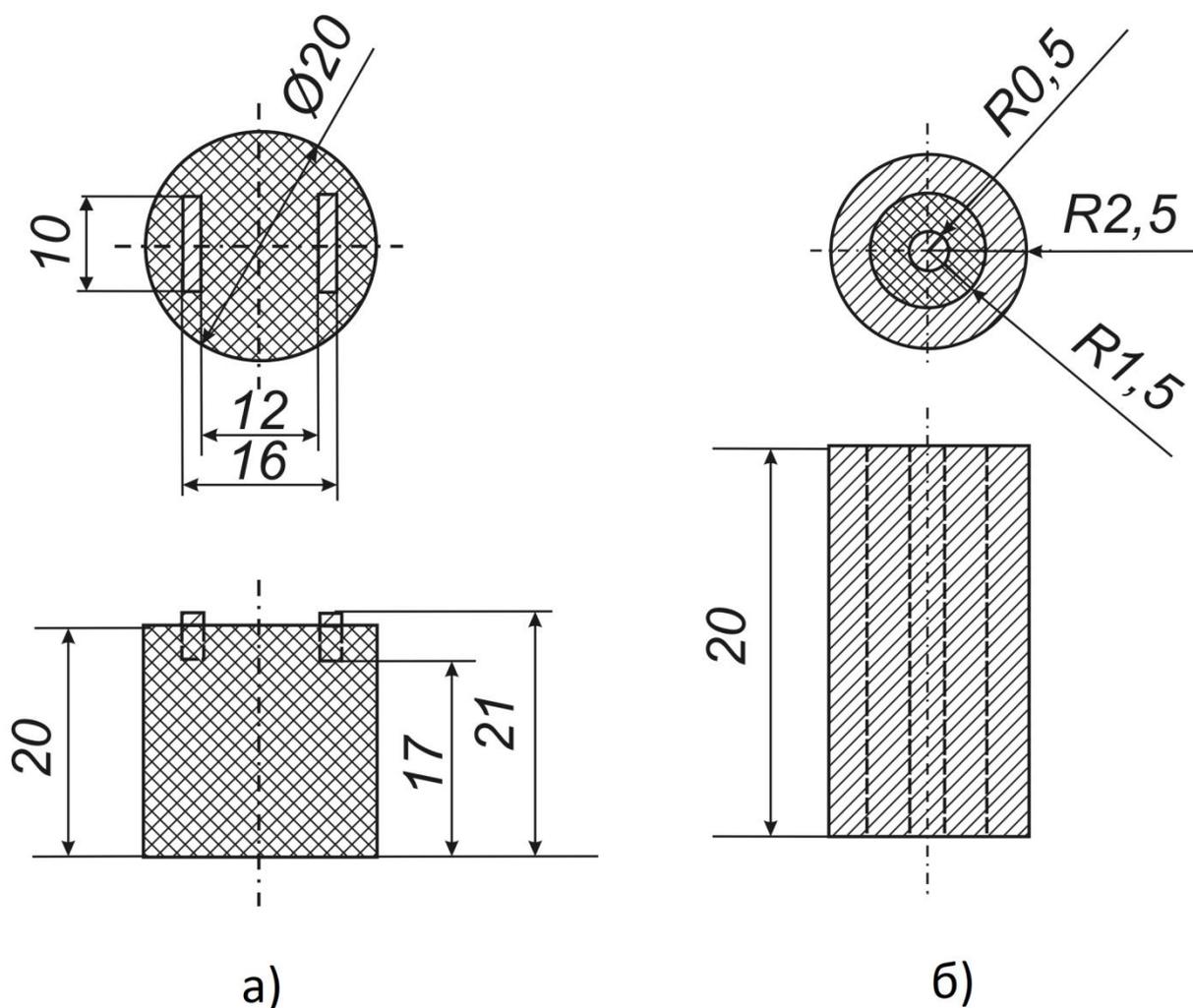


Рис.4. Чертеж конструкции датчика с а) плоскими б) коаксиальными электродами.

При завершении прижизненной части эксперимента животных умерщвляли углублением наркоза до остановки сердечной деятельности. Повторные исследования производили через сутки после смерти животных.

Результаты измерений ёмкостным датчиком (в пикофарадах), установленным на поверхности кожи бедра живых лабораторных крыс, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Измерения  $C_T$  на поверхности кожи бедра живых лабораторных крыс.

Время	1мин	2мин	3мин	4мин	5мин	6мин	7мин	8мин	9мин	10мин
Животное 1	32.1	57.2	75.1	86.5	90.2	94.2	97.4	100.1	103.8	100.5
Животное 2	50.4	65.1	68.1	71.6	78.1	83.2	86.1	88.5	87.6	87.7
Животное 3	11.6	16.7	21.2	23.1	27.6	29.8	31.3	33.6	35.6	36.1
Животное 4	19.5	33.7	37.1	43.2	48.6	53.6	54.9	56.6	58.6	60.7
Животное 5	21.2	32.7	43.6	52.5	61.0	63.1	63.3	63.4	64.3	64.3
Животное 6	35.7	44.5	49.2	53.3	56.7	50.6	51.3	53.1	54.3	55.7
Животное 7	6.2	10.4	14.7	16.2	19.0	22.3	24.1	25.1	25.4	26.4

Результаты измерений на поверхности кожи бедра тех же лабораторных крыс, но через сутки после их смерти, все время находившихся при комнатной температуре, представлены в таблице 2.

Таблица 2. Измерения  $C_T$  на поверхность кожи бедра тех же лабораторных крыс через сутки после смерти (при комнатной температуре).

Время	1мин	2мин	3мин	4мин	5мин	6мин	7мин	8мин	9мин	10мин
Животное 1	65.9	66.1	65.8	64.1	64.6	63.8	64.9	65.1	65.2	64.9
Животное 2	71.6	69.8	69.7	69.4	69.2	68.8	69.1	69	68.8	68.6
Животное 3	89.6	87.8	83.6	82.2	81.7	81.5	81.9	82.3	81.7	81.6
Животное 4	62.3	62.8	63.3	63.4	64.9	64.4	64.3	64.1	64.5	64.4
Животное 5	57.4	59.6	56.3	61.4	64.1	63.7	65.6	67.1	65.3	66.6
Животное 6	87.5	87.9	86.5	84.3	82.6	81.9	80.7	81.4	81.1	80.8
Животное 7	51.4	52.1	53.2	53.1	54.2	54.1	54.3	54.4	54.1	54.2

При измерениях, представленных в [1], где использовался датчик с плоскими электродами с расстоянием между ними 12 мм (рис.4а), различие данных для разных животных было значительно меньше. Вероятно, это связано с различной глубиной проникновения электрического поля датчика в биоткань. У коаксиального датчика глубина проникновения составляет около 1 мм, в то время как у датчика с плоскими электродами - около 7-8 мм. Поэтому, видимо, большое влияние на результаты измерений оказывает состояние кожи, которое у различных особей может значительно отличаться.

При замерах у мертвых животных через сутки после смерти при комнатной температуре показатели ёмкостного датчика в течение 10 минут не имели значимого роста, напротив отмечено некоторое (статистически не значимое) снижение показателей. Причем величина показаний ёмкостного датчика для мертвых тканей, как правило, значительно превышает начальные значения для живых тканей. Возможно, такие изменения показаний для мертвых биотканей связаны с утерей свойства внутреннего выпрямления калиевых каналов семейств  $K_{ir}$ , и их меньшим сопротивлением, чем каналы  $K_{2p}$ , что приводит к уменьшению общего сопротивления биоткани  $R_b$  и, следовательно, к увеличению показаний ёмкостного датчика.

## **Заключение**

Таким образом, представленная в данной работе гипотеза позволяет объяснить практически важное свойство разработанного ранее ёмкостного датчика кровенаполнения биотканей [1], а именно нарастание во времени показаний датчика для живых биотканей и отсутствие этого эффекта для неживых биотканей. Это открывает принципиальную возможность его применения в практической медицине для экспресс-индикации жизнеспособности тканей пострадавших и больных.

Рассмотренный ёмкостной датчик в силу своей миниатюрности и автономности может найти применения в медицине катастроф, в неотложной хирургии для срочной оценки кровенаполнения и жизнеспособности тканей на догоспитальных и госпитальных этапах оказания экстренной помощи.

## Литература

1. Сучков С.Г., Александров Д.А., Николаевцев В.А., Сучков Д.С., Толстиков А.В., Папаева Ж.В., Толстокоров А.С. Измеритель кровенаполнения биотканей на основе ёмкостного датчика. Журнал радиоэлектроники. 2019. № 4. Режим доступа: <http://jre.cplire.ru/jre/apr19/11/text.pdf>. DOI 10.30898/1684-1719.2019.4.11
2. Hediger M.A., Clemenson B., Burrier R.E., Bruford E.A. The ABCs of membrane transporters in health and disease (SLC series): Introduction. // Mol. Aspects Med. 2013. Vol. 34. P. 95.
3. Мельников К.Н., Вислобоков А.И., Колпакова М.Э., Борисова В.А., Игнатов Ю.Д. Калиевые ионные каналы клеточных мембран // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2009. Т.7. №. 1. С. 3-27.
4. Hille B. Ion Channels of Excitable Membranes. Third edition. // Sinauer Associates, Inc., 2001. 788 p.
5. Kubo Y., Adelman J.P., Clapham D.E., Jan L.Y., Karschin A., Kurachi Y., Lazdunski M., Nichols C.G., Seino S., Vandenberg C.A. International Union of Pharmacology. LIV. Nomenclature and molecular relationships of inwardly rectifying potassium channels // Pharmacological Reviews. 2005. Vol. 57. No. 4. P. 509.
6. Hedrich R., Moran O., Conti F., Busch H., Becker D., Gambale F., Dreyer I., Kuch A., Neuwinger K., Palme K. Inward rectifier potassium channels in plants differ from their animal counterparts in response to voltage and channel modulators // European Biophysics Journal. 1995. Vol. 24. No. 2. P. 107.

**Для цитирования:**

Сучков С.Г., Александров Д.А., Николаевцев В.А., Сучков Д.С., Толстиков А.С. О причине нестационарности показаний ёмкостного датчика кровенаполнения для живых биотканей. Журнал радиоэлектроники [электронный журнал]. 2020. №6. Режим доступа: <http://jre.cplire.ru/jre/jun20/10/text.pdf>. DOI: 10.30898/1684-1719.2020.6.10.