

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «Национальный исследовательский  
Томский политехнический университет»

На правах рукописи



Королук Евгений Сергеевич

ПРОГРАММНО-АППАРАТНЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ЭЛЕКТРОИМПЕДАНСНОЙ  
ВИЗУАЛИЗАЦИИ ЗОНЫ КРИОДЕСТРУКЦИИ

2.2.12 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата технических наук

Научный руководитель:  
доктор технических наук, профессор  
Бразовский Константин Станиславович

Томск – 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	15
1.1 Этапы развития криохирургии .....	15
1.2 Термодинамические процессы в криохирургии .....	20
1.3 Основные параметры для определения степени воздействия низких температур на биологической ткани .....	23
1.4 Влияние низких температур на ткани .....	26
1.5 Механизмы криогенного повреждения ткани.....	29
1.6 Визуализация в криохирургии .....	31
1.6.1 Ультразвуковая визуализация.....	32
1.6.2 Компьютерная томография .....	37
1.6.3 Магнитно-резонансная томография.....	40
1.6.4 Визуализация ткани после проведения процедуры криодеструкции.....	44
1.7 Постановка задачи.....	46
ГЛАВА 2 ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ИМПЕДАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ В МЕДИЦИНЕ.....	50
2.1 Приборы для измерения биоимпеданса.....	51
2.2 Разрешающая способность электрической импедансной томографии .....	56
2.3 Возможности применения магнитоиндукционной и магнитно-резонансной импедансная томографии .....	59
2.4 Постановка задачи.....	60
Краткие выводы по главе 2 .....	61
ГЛАВА 3 РАЗРАБОТКА ПРОГРАММНО-АППАРАТНОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ КОНТРОЛЯ ПРОЦЕДУРЫ ПРОВЕДЕНИЯ КРИОДЕСТРУКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ИМПЕДАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ.....	63
3.1 Разработка экспериментального исследования и модулей экспериментальной установки.....	63

3.2 Материалы и компоненты экспериментальной установки, разработка структурной схемы.....	66
3.2.1 Выбор хладагента.....	66
3.2.2 Разработка и изготовление криостата.....	67
3.2.3 Прототипирование и изготовление криосенсоров.....	69
3.2.4 Разработка структурной схемы и выбор основных электронных компонентов.....	72
3.2.5 Меры по повышению электробезопасности и помехозащищенности устройства .....	74
3.3 Основные модули экспериментальной установки.....	79
3.3.1 Плата электрического импедансного томографа.....	79
3.3.1.1 Метрологические характеристики многоканальной измерительной системы.....	85
3.3.2 Встроенное программное обеспечение экспериментальной установки ..	88
3.3.3 Формирование сигнала зондирующего тока данных .....	90
3.3.4 Программное обеспечение для сбора томографических данных .....	92
3.3.5 Программное обеспечение для визуализации томографических изображений.....	93
3.4 Сборка экспериментальной установки .....	97
Краткие выводы по главе 3 .....	99
<b>ГЛАВА 4 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ АПРОБАЦИЯ РАЗРАБОТАННОЙ УСТАНОВКИ. ПРОВЕДЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b>	<b>100</b>
4.1 Методика проведения экспериментальных исследований по получению спектров исследуемой ткани.....	100
4.2 Тестирование термоизоляционной камеры. Проведение тестовых испытаний .....	102
4.3 Получение электроимпедансных спектров во время полной заморозки объектов исследования .....	106
4.4 Получение электроимпедансных спектров во время точечной заморозки объектов исследования .....	113
4.5 Подведение итогов первого этапа экспериментальных исследований .....	120

4.6 Методика проведения экспериментальных исследований по получению томографических изображений с помощью электроимпедансной томографии ..	121
4.7 Получение электроимпедансных томографических изображений.....	122
4.8 Результаты второго этапа экспериментальных исследований .....	128
Краткие выводы по главе 4 .....	129
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	131
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	132
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	133
ПРИЛОЖЕНИЕ А – Акты внедрения результатов работы .....	152
ПРИЛОЖЕНИЕ Б – Патент на полезную модель.....	158
ПРИЛОЖЕНИЕ В – Свидетельства о государственной регистрации программы для ЭВМ .....	159
ПРИЛОЖЕНИЕ Г – Эскиз принципиальной схемы платы управления прототипа электроимпедансного томографа .....	162
ПРИЛОЖЕНИЕ Д – Эскиз принципиальной схемы платы мультиплексора прототипа электроимпедансного томографа.....	166

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность работы.**

Одной из основных проблем применения холода в медицине является сложность определения границ зоны криодеструкции и температуры охлаждения. Вследствие индивидуальных особенностей ткани различной скорости охлаждения и значительного температурного градиента в процессе замораживания, определение глубины промерзания ткани представляет сложную научно-техническую задачу. Чрезмерное воздействие холода может стать причиной крайне нежелательных осложнений, таких как обструкция кровеносных и лимфатических сосудов, перфорация и повреждение здоровых тканей. При недостаточной интенсивности воздействия, проведенная процедура может оказаться неэффективной и привести к развитию как локальных осложнений в виде воспалительного процесса, так и системных, таких как послеоперационная тромбоэмболия, сепсис, а в случае опухолевого процесса существует риск формирования вторичных метастазов.

В настоящее время для определения границ зоны и степени промерзания биологических тканей ограниченно применяются магнитно-резонансная, компьютерная и ультразвуковая томография (МРТ, КТ, УЗТ), которые имеют специфические ограничения методического и технического характера. «Золотой стандарт» представлен методом МРТ, который позволяет получить количественные характеристики зоны криодеструкции и оценить степень повреждения тканей. Однако, МРТ исследование доступно только в специализированных подразделениях и имеет ряд существенных ограничений и противопоказаний. Возможности УЗТ ограничены особенностями распространения ультразвука в замороженной ткани. Несмотря на то, что разработано несколько программно-аппаратных ультразвуковых комплексов для данного направления, они не имеют широкого практического применения в силу технических и методических проблем ультразвуковой визуализации зоны криодеструкции.

Возможным решением этой проблемы может стать метод, основанный на регистрации изменений электрических параметров биологических тканей в процессе криовоздействия. Большинство описанных недостатков и ограничений можно преодолеть с помощью томографического метода исследований – электроимпедансной томографии (ЭИТ). Суть метода заключается в том, что при прохождении через биологический объект переменного эклектического тока на поверхности регистрируется разность потенциалов между электродами. На основе данных измерений можно определить пространственное распределение электрической проводимости внутри исследуемого биообъекта и визуализировать образования ледяных структур внутри биологической ткани. Особо следует отметить, что оборудование для ЭИТ компактно, при эксплуатации нет необходимости использовать специально оборудованное помещение и обслуживающего технического персонала.

#### **Степень изученности проблемы.**

О применении холода в медицине известно достаточно давно. Первые исследования, показывают, что низкие температуры применялись более 2500 лет тому назад, когда Гиппократ указал на эффективность холода при лечении травм и травматических отеков. Известно множество примеров успешного применения льда в качестве анестетика. На рубеже XIX и XX веков благодаря появлению новых хладагентов в виде сжиженного воздуха, твердой углекислоты и жидкого азота удалось существенно расширить возможности применения холода. Холодовое воздействие нашло применение при лечении папиллом, бородавок, гематом, раковых поражений кожи.

Развитием данного направления занимались как зарубежные исследователи такие как M. Faraday, James Arnott, L. Cailletet, W. Pusey, H. Allington, I. Cooper, S. Zacarian, Dr. Neel, Dr. Anderson, Nikolai N. Korpan, так и отечественные: М.А. Беридзе, А.Д. Сперанского, Э.И. Канделя, Д.Р. Чирешкина и А.И. Шальникова, В.И. Фрейдович, Л.К. Куликов, В.А. Непомнящий, Н.В. Мерзликин, А.А. Шалимов, Т.Б. Комкова Б.И. Альперовича, Т.Б. Комкова, М.Д. Ханевича, Г.М. Манихас и др.

Успешно работают коллективы научно-исследовательского института проблем криобиологии и криомедицины, Санкт-Петербургское хирургическое отделение РАН, институт хирургии имени А.В. Вишневского, ассоциация криохирургов США, общеевропейское общество криохирургов, Национальный институт рака, Национальный институт медицины и др.

В настоящее время основные усилия разработчиков криохирургического оборудования, изучающих воздействие холода на биологические ткани, сосредоточены на улучшении метрологических характеристик медицинской аппаратуры, снижению массогабаритных и стоимостных показателей, а также увеличению точности проведения криодеструкции за счет передовых методов анализа и обработки биосигналов.

Несмотря на кажущуюся простоту метода, процедура криодеструкции не гарантирует полного удаления патологически измененных тканей. Сложность корректного выбора режима проведения криовоздействия обусловлена тем, что методы оценки глубины и времени промораживания недостаточно точны и в значительной степени субъективны. Причины высокой погрешности кроются в больших различиях содержания воды и концентрации электролитов в тканях разных видов, а также значительным температурным градиентом между поверхностью и внутренними областями биологических объектов. Если верхний слой клеток замораживается практически мгновенно, то скорость охлаждения следующего слоя на глубине 2-3 мм в несколько раз ниже. С ростом глубины криовоздействия значительно увеличивается погрешность определения скорости и степени промерзания биологических тканей.

Анализ отечественной и зарубежной литературы за последние тридцать лет по теме исследования показал, что существуют различные подходы к повышению точности проведения криодеструкции, однако, степень их разработанности недостаточна для внедрения в практическую криохирургию. Ряд авторов (N. Korgan, I. Cooper, и др.) отмечают, что неинвазивное измерение импеданса биологической ткани позволит повысить точность определения границ и глубины криовоздействия. В работах отечественных ученых (Д.В. Белик, К.Д. Белик) были

заложены научные основы и детально проработаны практические аспекты применения импедансных измерений в электрохирургическом оборудовании. J.F. Edd, L. Horowitz, B. Rubinsky отметили возможность применения электроимпедансных измерений при криохирургических операциях. В исследованиях проведен детальный теоретический анализ и рассмотрены вопросы практической реализации метода одночастотной двумерной электроимпедансной визуализации для контроля разрушения тканей, однако, присущие этому способу недостатки значительно ограничивают его возможности.

Представляемая работа продолжает исследования в области создания нового криохирургического оборудования, направленные на повышение качества объективного контроля зоны криодеструкции за счет неинвазивной визуализации процесса разрушения тканей в процессе воздействия.

**Гипотеза данного исследования** заключается в возможности визуализация зоны криодеструкции, которая основана на зависимости электрического импеданса биологических тканей от уровня жизнеспособности клеток. В процессе замораживания происходит постепенная гибель клеток вследствие механического разрушения клеточных мембран кристаллами воды, что приводит к значительному изменению электроимпедансного спектра, измеряемого в широкой полосе частот. Эта закономерность позволяет вычислить и визуализировать границы зоны криодеструкции с помощью метода широкополосной ЭИТ.

**Цель диссертационной работы** – создание программно-аппаратного комплекса для оценки границ зоны криодеструкции и глубины промерзания биологических тканей на основе электроимпедансных измерений.

Для достижения поставленной цели были сформулированы **следующие задачи исследования.**

1. Провести аналитические и патентные исследования в области методов и аппаратуры для измерения электрического импеданса биологической ткани при холодом воздействии.

2. Сформулировать требования к программно-аппаратному комплексу для измерения электрического импеданса и визуализации зоны криодеструкции

биологической ткани при изменении температуры в диапазоне от минус 50 до плюс 25 °С.

3. Разработать и реализовать портативный программно-аппаратный комплекс для измерения электроимпедансного спектра в полосе частот от 10 до 1000 кГц и визуализации зоны криодеструкции биологической ткани при изменении температуры в заданном диапазоне.

4. Разработать алгоритмические и программные средства для трехмерной реконструкции и визуализации зоны криодеструкции на основе измерений электрического импеданса.

**Объект исследования** – системы медицинского назначения для измерения биоимпедансного спектра живых тканей, программно-аппаратные комплексы для анализа биоимпеданса, криохирургические аппараты, модели живых систем.

**Предмет исследования** – программно-аппаратный комплекс для проведения электрической импедансной томографии; электрические параметры биологической ткани, получаемые вовремя криодеструкции; анализ результатов тестирования исследуемых образцов с помощью ЭИТ.

**Методология и методы исследования** – теоретические и экспериментальные методы с использованием теории биотехнических систем медицинского назначения. Современные методы построения программно-аппаратных комплексов медицинского назначения. Методы разработки встроенного программного обеспечения для встраиваемых систем и разработки, прикладных программ для персонального компьютера. Методы измерения импеданса биологических объектов.

Исследования по тестированию экспериментального образца программно-аппаратного комплекса для электроимпедансной визуализации зоны криодеструкции были проведены на остаточном материале, полученном из биологических моделей с использованием мышечной ткани, ткани печени, ксенографтов колоректального рака человека из клеточной линии НТС 116. Протоколы проведения экспериментальных исследований утверждены локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (регистрационный

номер № 17/2022, дата поступления протокола-заявки на рассмотрение 21.09.2022, № 1 от 27.09.2022 г.).

Экспериментальные исследования проведены на базе лабораторного оборудования Исследовательской школы химических и биомедицинских технологий Томского политехнического университета под руководством соискателя.

Обработка данных проводилась в среде статистической обработки данных R методами описательной и сравнительной статистики.

**Достоверность и обоснованность полученных результатов** подтверждается использованием современного серийно выпускаемого поверенного оборудования, сравнением полученных результатов с уже известными данными, описанными в научной литературе, математическим моделированием с использованием пакета прикладных программ MATLAB, Octave, EIDORS.

Контроль основных технических параметров осуществлялся с помощью измерительного оборудования: измеритель RLC (GW Instek LCR-7810G, основная приведенная погрешность не более 0,1 %, полоса частот от 20 Гц до 1 МГц, диапазон импеданса 1 Ом – 100 МОм); внешний измерительный модуль АЦП E20-10 (Л-кард, Россия, основная приведенная погрешность не более 0,25 %).

### **Научная новизна работы.**

1. Впервые разработан способ определения границ и размеров зоны криовоздействия, основанный на измерении электроимпедансного спектра биологических тканей с последующей визуализацией пространственного распределения полного импеданса.

2. Впервые получены экспериментальные данные о зависимости биоимпедансного спектра различных биологических тканей в полосе частот  $10 \div 1000$  кГц от температуры в диапазоне от минус 50 °С до плюс 25 °С, позволяющие определить критерии достижения криодеструкции.

3. Впервые разработан и реализован программно-аппаратный комплекс для многоканального измерения электрического импеданса биологических тканей в

диапазоне частот от 10 до 1000 кГц с разрешением 10 кГц в режиме реального времени. ¶

### **Практическая значимость работы.**

Применение разработанного программно-аппаратного комплекса для визуализации зоны криодеструкции биологических тканей в составе медицинских криохирургических аппаратов повысит качество и минимизирует побочные эффекты от криохирургических вмешательств.

Определены температурные диапазоны и скорости промерзания биологических тканей, при которых обеспечивается полная криодеструкция патологических образований с минимальным влиянием на здоровые ткани. Эти данные необходимы для создания нового поколения криохирургических аппаратов с автоматически управляемым режимом криодеструкции.

Полученные результаты могут быть использованы для создания новой криохирургической аппаратуры, позволяющей повысить эффективность и безопасность лечения за счет улучшения контроля зоны деструкции, снижения объема повреждения здоровых тканей и, как следствие, вероятности развития послеоперационных осложнений. Практическая значимость результатов исследования подтверждается соответствующими актами, представленными в приложении А к работе. Результаты исследования использованы при выполнении научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ в компании ООО «Электроимпедансная визуализация» для создания широкополосного электроимпедансного томографа.

### **Личный вклад автора.**

Основные научные теоретические и экспериментальные исследования выполнены автором самостоятельно или при его непосредственном участии.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Способ определения границ и размеров зоны криодеструкции, основанный на многоканальной регистрации электрического импеданса биологических тканей в диапазоне частот от 10 до 1000 кГц с последующей математической

реконструкцией и визуализацией трехмерного пространственного распределения полного импеданса.

2. Результаты экспериментальных исследований электрического импеданса биологических тканей в диапазоне частот от 10 до 1000 кГц при изменении температуры от минус 50 °С до плюс 25 °С, на основе которых установлено, что критерием достижения температуры деструкции биологических тканей является статистически значимое увеличение импеданса по сравнению с исходными значениями.

3. Программно-аппаратный комплекс для измерения в реальном времени электрического импеданса биологических тканей в процессе криодеструкции, содержащий 16 токовых и 16 потенциальных каналов с временным мультиплексированием. Частотный диапазон измерительного тракта от 10 до 1000 кГц с возможностью программирования сигнала зондирующего тока произвольной формы. Комплекс позволяет расширить функциональные возможности криохирургического оборудования и повысить эффективность хирургического лечения за счет визуального контроля размеров зоны криодеструкции.

#### **Апробация работы.**

Основные результаты проведенных исследований докладывались и обсуждались на следующих конференциях: X Всероссийская научная конференция "Наука. Технологии. Инновации" (г. Новосибирск, 2016); IV Всероссийский молодежный форум с международным участием «Инженерия для освоения космоса» (г. Томск, 2016); V Международный молодежный Форум «Инженерия для освоения космоса» (г. Томск, 2017); XV Международная научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Молодежь и современные информационные технологии» (г. Томск, 2017); XII Всероссийская научная конференция молодых ученых «Наука. Технологии. Инновации» (г. Новосибирск, 2018); V Международная научная конференция «Информационные технологии в науке, управлении, социальной сфере и медицине» (г. Томск, 2018); XIII Всероссийской научной конференции молодых ученых «Наука. Технологии. Инновации» (г. Новосибирск, 2019); V Международная конференция по

инновациям в неразрушающем контроле SibTest (г. Екатеринбург, 2019); XXI Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых Химия и химическая технология в XXI веке (г. Томск, 2020); XIV Всероссийская научная конференция молодых ученых "Наука. Технологии. Инновации" (г. Новосибирск, 2020); XXII Международная конференция «Химия и химическая технология в XXI веке» (г. Томск, 2021); XXIII Международная конференция «Химия и химическая технология в XXI веке» (г. Томск, 2022);

### **Реализация и внедрение результатов работы.**

Основные результаты работы получены в рамках следующих НИОКР:

1. Фонд содействия инновациям. Проект "CRYO. Система визуализации биологической ткани во время криохирургических операций», договор № 3176Гс1/48717 от 26.08.2019.

2. Российский фонд фундаментальных исследований. Название проекта: "Разработка и экспериментальные исследования метода визуализации зоны криодеструкции биологических тканей". Номер договора: 19-38-90276\19 от 21.08.2019.

3. Фонд содействия инновациям. Проект: «ЭльВиро. Система поддержки принятия врачебных решений на основе электроимпедансной томографии». Номер договора: 1ГАИИС13-D7/72213 от 21.12.2021.

4. Программа «Приоритет 2030». Проект: «ЭльВиро. Система поддержки принятия врачебных решений на основе электроимпедансной томографии». Сибирский государственный медицинский университет.

5. Фонд содействия инновациям. Программа «Старт-ИИ». Проект: «ЭльНейро - технология встраиваемых систем поддержки принятия врачебных решений для электроимпедансной визуализации». Номер договора: 193ГС1ИИС12-D7/80634 от 26.12.2022.

6. Фонд содействия инновациям. Программа «Студенческий стартап (очередь II)». Проект: «Cell State. Программно-аппаратный комплекс для оценки функционального состояния клеток на основе широкополосной импульсной

электроимпедансной спектроскопии». Номер договора: 723ГССС15-L/81180 от 01.12.2022.

Практические и теоретические результаты работы внедрены в Исследовательской школе химических и биомедицинских технологий Томского Политехнического Университета, ФГБУ «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, на кафедру военно-морской хирургии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, ООО «Электроимпедансная визуализация», ООО «РБС ТЕХНИК», ООО «МИП ДИВА-3Д».

#### **Публикации.**

По теме диссертации опубликовано 22 работы, из них – 2 статьи в научных журналах, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий ВАК; 3 публикации в зарубежных изданиях, входящих в базу Scopus и Web of Science. Получен патент на полезную модель РФ (приложение Б) и 4 свидетельства о регистрации программы для ЭВМ (приложение В). Кроме того, результаты исследований изложены в 3 научно-технических отчетах по НИР, зарегистрированных в ЦИТИС.

#### **Структура и объём диссертации.**

Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, списка литературы из 174 наименований, списка сокращений, 5 приложений. Диссертационная работа изложена на страницах 167 страницах машинописного текста, содержит 72 рисунка и 6 таблиц.

## ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 1.1 Этапы развития криохирургии

Криохирургия (греч. *kryos* – холод) – метод использования низких температур для удаления патологических тканей, применяемые в разных областях медицины.

Анализ литературы показывает, что холод как лечебный фактор, использовался давно. Около 2500 лет назад Гиппократ указывал на эффективность холода при лечении травм и травматических отеков, а Авиценна, был один из первых, кто исследовал воздействие холода как анестетик. В научных работах 18 века [1–4] говорилось, о благоприятном воздействии холода на гематомы. В течение 19 века публиковались работы врачей, использующих холодные методы при ампутации конечностей, что позволяло проводить операции безболезненно [5; 6]. В 1851 г. английский врач Дж. Арноттом разработал медицинский прибор – криодеструктор, который охлаждал патологические ткани до температуры минус 24 °С. О способности холода к обезболиванию и деструкции было хорошо известно к тому времени, однако, для дальнейшего развития методов применения холода потребовались новые технологические достижения, особенно в области криогенных жидкостей [3; 4].

В конце 19 века производились попытки использования эфирного спрея для проведения криохирургических операций, однако, из-за высокой токсичности и недостаточно низкой для криодеструкции температуры, эфирный спрей не нашел широкого применения. В 1895 г. К. Линде разработал первую коммерческую установку для получения жидкого воздуха, а в 1899 г. произошло первое клиническое применение жидкого газа для лечения доброкачественных и злокачественных кожных заболеваний: бородавки, невусы, рак кожи и др.

В начале 20 века произошло быстрое распространение холодных методов в медицине. Появился новый метод криодеструкции тканей с помощью сухого льда. Изначально сухой лед получали путем испарения диоксида углерода, находящийся

в сжиженном виде в стальных баллонах, а в 1911 г. в журнале «The Lancet», Джоном Хилтон Эдвардсом была описана первая установка для получения сухого льда, что в дальнейшем расширило его применение.

Шотландский врач и дерматолог Р. Крэнстон Лоу активно использовал сухой лед для лечения тромбозов [6; 8]. В 1917 г. дерматологи продемонстрировали использование сухого льда для лечения папиллом [7; 9]. Несмотря на то, что температура поверхности сухого льда остается достаточно высокой (температура сублимации составляет минус 78,5 °С) и не может эффективно использоваться для лечения злокачественных опухолей, метод оставался популярным до середины 20 века.

В 1892 г. шотландским физиком и химиком сэром Джеймсом Дюаром разработана колба, в межстеночном пространстве которой был откачан воздух [6]. В настоящее время в контейнерах, для перевозки и хранения хладагентов, применяется схожая конструкция.

Сложные способы получения сжиженных газов и методов лечения с помощью холода привели к тому, что в начале 20 века образовались две новые профессии – врачи, использующие низкие температуры для лечения заболеваний и разработчики криохирургического оборудования, инструментов, а также производители криогенных сред [10].

Начиная с первой половины 20 века начал использоваться жидкий кислород в качестве хладагента. Применение данной криогенной среды потенциально опасно – жидкий кислород взрывоопасен и легко горит. По этой причине жидкий кислород не нашел широкого применения в криохирургии [7; 11], несмотря на низкую температуру кипения равной минус 183 °С

Открытие и разработка хлорфторуглеродных хладагентов заменило токсичные и опасные хладагенты, такие как сернистый газ и аммиак, что создало первую холодильную систему замкнутого цикла в криохирургии с рабочими температурами минус 40 °С и ниже [12]. Разработанные криодеструкторы позволяли быстро производить заморозку тканей с помощью различных аппликаторов.

Начиная с 1940 гг. в СССР и в США начали разрабатывать и применять коммерческие системы для получения сжиженных газов – гелия, водорода, жидкого азота. Жидкий азот с 1950 г. стал коммерчески доступным и начал использоваться в клинической практике [7; 8; 9; 13]. Аппликаторы с ватным тампоном на конце, смоченных в жидком азоте, стали широко использоваться для удаления доброкачественных и злокачественных опухолей, лечения кожных заболеваний. Жидкий азот, несмотря на низкую точку кипения – минус 196 °С, негорючесть и относительную безопасность применения, не стал широко использоваться для криодеструкции глубоких слоев ткани из-за низкой способности к промораживанию составляющую несколько миллиметров [8; 9]. По этой причине устройства, используемые в криохирургии до 1960 гг., были малоэффективны и могли промораживать ткань на глубину несколько миллиметров.

Современное развитие криохирургии берет начало с совместной разработки инженера А. Ли и нейрохирурга И. Купера, благодаря разработке прототипа первой криохирургической системы с изолированным зондом троакарного типа, способной доставлять жидкий азот. Хорошо проводящий тепло, металл на конце зонда позволял эффективно проводить замораживание ткани. Разработанный прототип послужил толчком к развитию зондов для лечения внутренних органов с минимальными повреждениями [14].

Во второй половине 20 века начались попытки увеличения глубины криодеструкции ткани с помощью использования медных цилиндров большого объема, охлажденных до температуры жидкого азота [15]. Преимущество использования медных дисков во время проведения процедуры криодеструкции на очаге поражения – высокая теплопроводность и теплоемкость меди по сравнению с ватными тампонами. С помощью медного диска можно оказывать дополнительное давление, что повышало глубину разрушения ткани. Несмотря на увеличение глубины деструкции ткани (до 7 мм), возникала неопределенность с точностью деструкции, необходимая для удаления злокачественных образований [7; 8; 9; 15].

В 1980 гг. под руководством хирурга Н.Н. Корпана проводились исследования по разработке современных высокоэффективных методов лечения с использованием жидкого азота в области современной криохирургии. Результатом работы стало разработка современных методов для удаления злокачественных образований. Основное требование для эффективной деструкции биологических тканей заключалось в циклическом замораживании с помощью экстремально низких температур с последующим оттаиванием. С увеличением циклов заморозки-оттаивания повышалась эффективность и глубины криодеструкции. На основании проведенных теоретических, экспериментальных и клинических исследований были разработаны криохирургические инструменты и деструкторы, которые по настоящее время используются в различных медицинских направлениях [14]. В это же время, под руководством профессора Бориса Альперовича проводились работы по созданию ультразвукового скальпеля с рабочей температурой режущей части минус 110 °С. В момент выхода на рабочую температуру включались ультразвуковые колебания, предотвращающие прилипание криоинструмента к внутренним тканям [16].

Бурное развитие технологий визуализации с помощью ультразвука в 1990 гг., повысило интерес к криохирургии [17; 18; 19]. С помощью двумерного и трехмерного ультразвукового изображения, получаемых во время проведения криохирургических операций, удавалось направлять наконечник криоинструмента в область очага поражения, контролировать процесс проведения криохирургической процедуры, размер и область замороженной ткани.

В середине 1990 гг. была разработана специализированная система аргон-гелий высокого давления [14]. Свойства гелия позволяет производить охлаждение до минус 180 °С, гелий используется для оттаивания и повторного нагрева. Использование газа позволяет увеличить скорость замораживания и размораживания зонда, что повышает контроль над проведением операции. Проводилась работа по уменьшению диаметру криохирургического зонда. Сверхтонкие зонды с острыми наконечниками позволяет проводить прямое чрескожное криовоздействие [14; 20].

В начале 21 века клиническое применение криохирургии расширилось. Некоторые виды рака, например, предстательной железы, лечатся только с помощью криохирургических методов [21]. Благодаря развитию современных средств визуализации в медицине стало возможно совместное использование криодеструкторов и томографического оборудования для визуализации границ и глубины криохирургического воздействия [22].

Современное применение криохирургии зависит от информации о степени деструкции, величины замороженной области, информации, полученной с использованием методов визуализации. Ультразвуковое исследование позволяет контролировать образование ледяных структур внутри ткани, однако, метод имеет различные ограничения – визуализация проводится до ближайшей замороженной плоскости ткани. Получаемое изображение двумерно, по этой причине эффект акустического затемнения препятствует проведению визуализации [23; 24]. Развитие трехмерных ультразвуковых акустических систем позволит решить данную проблему [25]. Другое ограничение ультразвука заключается в невозможности получения информации о температуры замораживаемой ткани с помощью метода визуализации. Совместное применение термомониторинга с использованием термопар, терморезисторов повышает информативность при проведении криохирургической процедуры.

Новые направления визуализации в криохирургии, такие как КТ, МРТ, ЭИТ имеют преимущество, так как позволяют визуализировать все поперечное сечение области криодеструкции. Несмотря на то, что при использовании метода КТ, данные визуализации не приходят в режиме реального времени с задержкой 1-2 минуты, данный тип визуализации все равно считается приемлемым. Данные, полученные с помощью МРТ, показывают возможность определения температуры внутри замораживаемой области [26].

Предложение использовать метод ЭИТ перспективен в качестве метода мониторинга замерзания ткани и контроля области криодеструкции. Визуализация в данном методе происходит с помощью пропускания переменного тока малой амплитуды, измеряя электрический потенциал на поверхности. Затем происходит

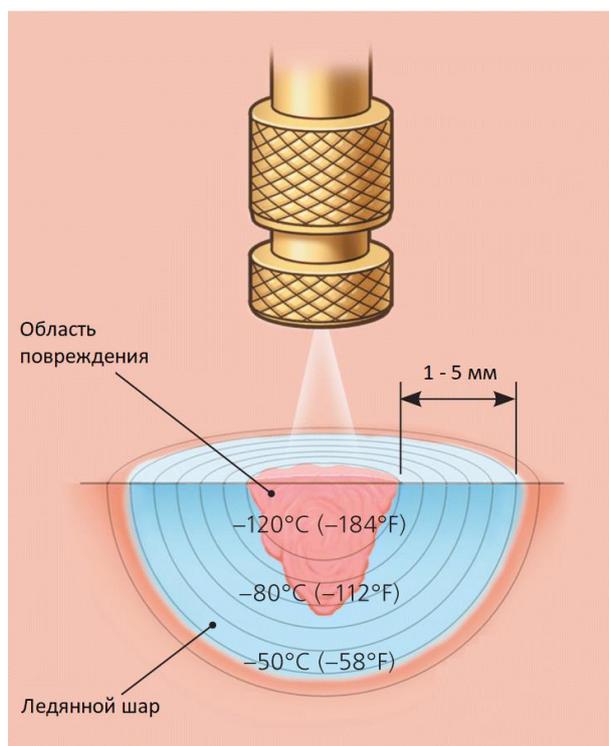
определение электрического импеданса, который анализируется и создается томографическое изображение [27–31].

До последнего времени, криохирургическое оборудование, используемое в медицине, было малоэффективным и могло воздействовать на поверхностные слои ткани на небольшую глубину. Появление современных криохирургических технологий позволяет повысить глубину и точность криодеструкции. В настоящее время проводятся опыты по применению криохирургии для лечения миомы матки, злокачественных опухолей почек, молочной железы, поджелудочной железы и других органов [17; 32; 33].

## **1.2 Термодинамические процессы в криохирургии**

С появлением и внедрением современных и производительных криозондов, стало возможно эффективно проводить деструкцию биологических тканей, расположенных глубоко внутри. Для оценки степени заморозки биологических объектов, необходимо понимать химические, физические, термодинамические процессы, происходящих внутри замораживаемой зоны биологической ткани.

Современная техника выполнения криохирургических операций предполагает проведение однократного, либо нескольких циклов нагрева и заморозки тканей. Таким образом, происходит передача тепла между клетками ткани и наконечником криоинструмента с дальнейшей деструкцией ткани, застоем крови в сосудах, появлением воспалительной реакции. При использовании криоспрея, криозонда, аппликатора, смоченным хладагентом наблюдается изменение цвета замораживаемой ткани на белый. Постепенно точка касания ткани и криоинструмента расширяется, как в диаметре, так и в глубину, образуя шарообразные ледяные структуры – ледяные шары, в соответствии с рисунком 1.1 [34]. Визуальная оценка области криоповреждения, позволяет планировать, оценивать и управлять степенью криоповреждения.



Внутренняя зона – область повреждения (крионекроза), внешняя зона – зона образования ледяного шара.

Рисунок 1.1 – Образование ледяного шара с использованием криоспрея

Среди механизмов повреждения биологической ткани различают механизмы прямого и непрямого действия. К механизмам прямого повреждения включают в первую очередь образования кристаллов льда как внутри, так и вне клеток, движение воды по направлению осмотического градиента, повреждение белковых структур из-за воздействия холода. Механизмами непрямого действия является застой крови в сосудах, локальное снижение кровотока (ишемия), появление воспалительных реакций.

При проведении криохирургической процедуры возникают четыре процесса [35].

1. Прямое повреждение. Происходит в центральной области криовоздействия при образовании льда внутри и снаружи клеток, коагуляционный некроз.

2. Сосудистое повреждение. Происходит процесс микроциркуляторной недостаточности, некроз вследствие снижения кровотока во время оттаивания, на периферийных областях криовоздействия.

3. Апоптоз. Процесс клеточной гибели, длящийся до 8 часов на периферийных областях криовоздействия.

4. Иммунологическая реакция. Процесс иммунной реакции организма из-за формирования антител к замороженной ткани во всем организме.

Скорость охлаждения ткани определяет скорость передачи тепла. Быстрая передача тепла возможна при высоком градиенте температуры между хладагентом и тканью, на которое будет производиться воздействие. Максимальная скорость передачи тепла происходит на начальном этапе проведения процедуры, когда температура биологической ткани максимальна (например, температура кожи равной 36 °С) и температура аппликатора минимальна (например, при использовании жидкого азота, температура будет составлять минус 196 °С).

Передача тепла производится двумя способами [36; 37; 38].

1. Прямой теплообмен. Хладагент попадает непосредственно на биологическую ткань. Получая тепло от тканей, испаряется (кипит) забирая тепло;

2. Кондуктивный теплообмен. Молекулы замороженной ткани передают кинетическую энергию аппликатору.

Температура охлаждения биологической ткани является основным фактором, вызывающим повреждение клеток. Считалось, что для терапии, температура охлаждения ткани до минус 20 °С оценивается как достаточная. Более серьезное повреждение ткани должно происходить в температурном диапазоне от минус 20 °С до минус 30 °С. Эксперименты *in vivo* выявили, что данная температура недостаточная. Разрушение ткани происходит неустойчиво и неполно. Для эффективной деструкции биологической ткани животного происхождения, особенно злокачественных опухолей, необходимо применять несколько циклом замораживания-оттаивания. Дальнейшие экспериментальные исследования, связанные с удалением злокачественных опухолей у животных, показали, что необходимо использовать рабочую температуру деструкции равной минус 60 °С и

ниже, а летальная температура биологической ткани лежит в диапазоне от минус 40 °С и ниже [24; 39–43].

Для эффективной деструкции применяются хладагенты, позволяющие достигать необходимых температур. Вещество должно иметь достаточно низкую рабочую температуру повышения степени деструкции ткани. Список наиболее популярных хладагентов, применяемых в криохирургии показан в таблице 1.1 [44]. Наиболее популярным из них является жидкий азот, так как температура данного хладагента достаточная для деструкции ткани. Данный газ относительно безопасен, легок в хранении и транспортировке, имеет низкую стоимость.

Таблица 1.1 – Некоторые популярные газы, используемые в криохирургии, и их температура кипения (сублимации).

Название хладагента	Температура кипения (сублимации)
Диоксид углерода (CO <sub>2</sub> )	–78,5 °С
Оксид азота (I) / веселящий газ (N <sub>2</sub> O)	–88,5 °С
Аргон (Ar)	–185,8 °С
Жидкий азот (N <sub>2</sub> )	–195,75 °С

### **1.3 Основные параметры для определения степени воздействия низких температур на биологической ткани**

В настоящее время для оценки степени воздействия (глубина и ширина замораживаемой области) низких температур выделяют несколько основных параметров: скорость охлаждения; температура охлаждения; длительность заморозки; скорость оттаивания.

### **Скорость охлаждения ткани.**

Скорость охлаждения биологической ткани может быть: медленной – скорость охлаждения составляет менее 10 °С в минуту; умеренной – скорость охлаждения составляет от 10 °С до 100 °С в минуту; быстрой – скорость охлаждения составляет от 100 °С до 250 °С; сверхбыстрой – скорость охлаждения составляет от 250 °С в минуту и выше. Несмотря на то, что при любой скорости охлаждения, клетки биологической ткани замерзнут, скорость охлаждения вносит решающее значение. Низкая скорость не позволит эффективно заморозить патологическую область из-за физических процессов, происходящих внутри ткани. Происходит процесс обезвоживания клеток, вызывающий гиперосмолярность. Мембраны и клеточные структуры не разрушаются, что приводит к обратимому повреждению клеток и ткани. Апоптоз происходит только у части клеток [24].

Высокая скорость замораживания обеспечивает быстрый рост ледяных структур внутри клеток, который вызывает необратимой повреждение ткани, разрушая клеточные структуры изнутри [45].

Важно отметить, что максимальная скорость охлаждения будет находиться только в областях прилегания хладагента, либо аппликатора криодеструктора к области воздействия. Даже при высокой скорости охлаждения участка ткани, на периферии в области образования ледяного шара, скорость уменьшится до умеренной, а затем до низкой [45].

Хотя и степень криодеструкции биологической ткани зависит от скорости охлаждения, но вероятность гибели клеток не является прямо пропорциональной. Данный феномен описан в работах и показан в соответствии с рисунком 1.2 [46–49]. Большой процент гибели клеток происходит при очень низкой скорости замораживания до низкой температуры. Успешную деструкцию оказывает процесс дегидратации и гиперосмолярность. При росте скорости охлаждения процент выживаемости клеток возрастает благодаря прекращению процесса дегидратации. При высокой скорости охлаждения происходит образование кристалла льда внутри клетки. Если увеличивать скорость охлаждения еще сильнее, то образования льда внутри клеточных структур не происходит.

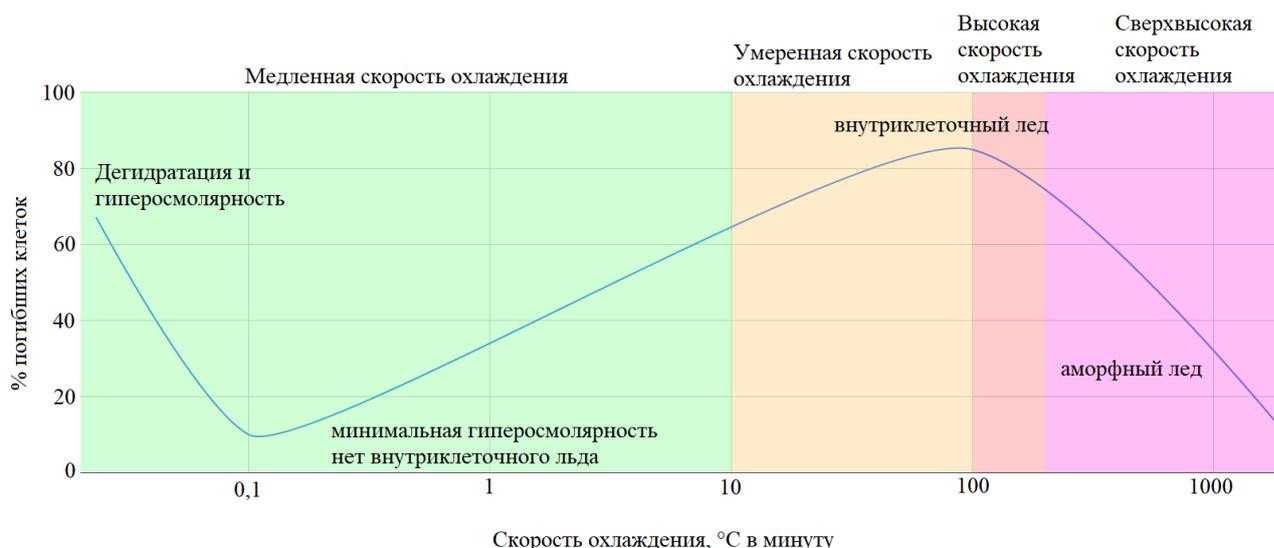


Рисунок 1.2 – Зависимость скорости охлаждения от процентного соотношения погибших клеток биологической ткани

### Температура охлаждения ткани.

Для проведения успешной криохирургической процедуры необходимо охладить ткань до достаточно низких температур. Температура, до которой происходит охлаждение ткани, определяет возможность образования ледяных кристаллов внутри клеток. Начало процесса случайного образования кристаллов льда внутри клетки, происходит при температуре от минус 40 °C и ниже. С другой стороны, различные биологические ткани по-разному восприимчивы к холоду, летальная температура среди них различается. Например, летальная температура кератиноцитов – основа клеток эпидермиса составляет не менее минус 35 °C, для эндотелия – основы внутренней поверхности кровеносных сосудов составляет не менее минус 25 °C. Эффективное удаление злокачественных образований происходит при охлаждении клетки до температуры минус 45 °C и ниже [24].

### Длительность заморозки ткани.

Время, в течение которого биологические ткани остаются в замороженном состоянии усиливает эффект криовоздействия. Постепенно ледяные кристаллы внутри клеток будут увеличиваться, что приведет к увеличению степени повреждения клеток. Затем, после образования льда последует процесс рекристаллизации [45]. Считается, что при достаточно сильном замораживании

(минус 50 °С и ниже) длительность заморозки не влияет на качество проведения криодеструкции [24].

### **Скорость оттаивания ткани.**

Медленное оттаивание ткани со скоростью менее 10 °С в минуту является одним из основных деструктивных факторов. В момент оттаивания происходят процессы рекристаллизации кристаллов льда внутри клеток, что способствует дальнейшему росту кристаллов, процессам дегидратации и разрушению структуры клеток.

## **1.4 Влияние низких температур на ткани**

Различные типы тканей обладают разной чувствительностью, как к летальной температуре, так и к степени криохирургического воздействия. В работах [50–52] и др. описывались экспериментальные исследования по анализу летальной температуры для тканей и клеток, показанных в таблице 1.2.

Таблица 1.2 – Экспериментальные исследования *in vivo* по определению летальной температуры различных типов биологической ткани и клеток.

Ткань/клетка	Животное	Летальная температура
Костная ткань (остеоциты)	собака	–2 °С
Предстательная железа		–4 °С –40 °С
Меланоциты (кожа)		–4 °С
Поверхностный слой кожи		–40 °С
Небо		–40 °С
Опухоль печени	крыса	–4 °С
Клетки печени		–15 °С –38 °С
Аденокарцинома		–40 °С
Поверхностный слой кожи	мышь	–40 °С
Саркома		–60 °С
Злокачественная опухоль		–60 °С
Клетки печени	свинья	–15 °С
Клетки почки		–15 °С
Защечный мешок	хомячок	–18 °С

Снижение температуры понижает скорость протекания реакций внутри ткани и обмен веществ клеток замедляется. В таких условиях белок утрачивает свою первоначальную структуру и, затем, не способен выполнять свои функции, в том числе ферментативные (каталитические).

На успешность проведения процедуры влияют различные соотношения и параметры, такие как соотношение, площади поверхности клетки и объема клетки, проницаемость клеточной мембраны, организация и структура ткани. Установлено, что чувствительность ткани к криоповреждению зависит от плотности клеток, а области с большим количеством соединительной ткани более устойчивы к замораживанию [52].

После проведения процедуры криодеструкции на кожу происходит формирование коагуляционного некроза. В дерме содержится большое количество фибробластов, коллагена и эластина, которые малочувствительны к криохирургическому воздействию и являются основой для регенерации тканей. Замечено, что после криодеструкции коллаген сохраняется лучше, чем после ожогов. Постепенное образование фибробластов приведет к более быстрому и качественному заживлению, в случае отсутствия рубцовых структур. Кроме того, оставшийся коллаген будет способствовать более высокой эпителизации поражения [38].

Важно отметить, что процедуру проведения криохирургического воздействия на поверхность кожи следует проводить с осторожностью из-за высокой чувствительности к холоду волосяных фолликул, потовых желез и меланоцитов. При длительном и глубоком замораживании ткани следует ожидать выпадения волос и нарушения пигментации в замороженной области. Благодаря этому свойству криохирургию применяют для эффективного и безболезненного лечения дистихиаза, наиболее чаще встречающиеся у собак [53; 54].

На кровеносные сосуды воздействие низкой температуры приводит сужению и застою кровотока. При охлаждении до температуры от минус 25 °С и ниже возникает повреждение эндотелия. В области образования ледяного шара

возникает отек и гиперемия, образуя область покраснения на месте криовоздействия с дальнейшим образованием тромбов в капиллярах и некроза [38].

После оттаивания области охлаждения, в течение нескольких часов происходит образование отека, повреждение капилляров, кровоизлияний. Из-за плохого кровоснабжения возникает некроз. В случае проведения процедуры криодеструкции на поверхности кожи возникает эпидермальный пузырь в области криовоздействия.

Кровеносные сосуды большего размера, артерии при заморозке не теряют своих термодинамических функций, однако, наблюдается разрушение миоцитов (гладкомышечных клеток) и эндотелия. Восстановление происходит за счет разрастания ткани путем размножения клеток делением (пролиферация) их избыточного новообразования (гиперплазия). Из-за больших размеров, нарушения кровотока в артериях значительно меньше, чем в капиллярах [24]. С уменьшением размеров артерий риск локального снижения кровотока, тромбоза с последующим некрозом увеличивается.

Вены имеют более высокую теплоемкость сравнимую с артериями, обусловленной циркуляцией крови по организму, состоят из более стойких структур, по этой причине они более устойчивы к холодovому воздействию, чем артерии.

При охлаждении ткани до температур от плюс 5 °С до плюс 10 °С тромбоз наблюдается у 60–70 % капилляров, 30–40 % в мелких артериях и венах. При охлаждении ткани до температур до минус 20 °С тромбоз наблюдается во всех капиллярах, мелких артериях и венах.

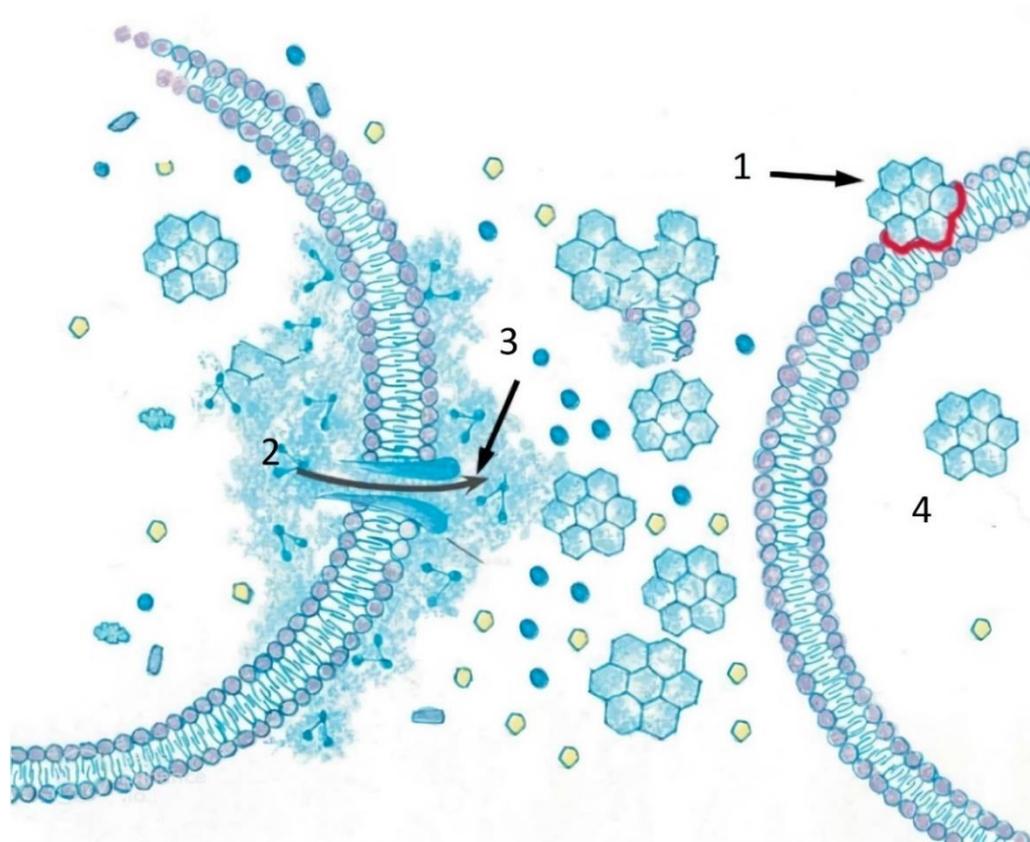
Способность регенерации и степень повреждения нервных клеток после проведения криохирургической операции зависит от минимальной температуры ткани, которая была достигнута. Наиболее уязвимым участком в нейроне является миелиновая оболочка, а перинервий и эпинервий менее чувствителен к холоду. После повреждения распространение нервных импульсов прекращается, тем самым вызывая уменьшение болевой чувствительности [24; 55; 56]. Благодаря данному свойству криохирургическое удаление различных образований на

поверхности кожи нашло большое распространение из-за отсутствия у пациента болевого эффекта. Длительность эффекта так же напрямую зависит от температуры охлаждения. При охлаждении нервной ткани до температуры от минус 15 °С до минус 20 °С восстановление проводимости нервных импульсов проходила через несколько часов. Охлаждение до температур от минус 60 °С и ниже приводило к длительному восстановлению проводимости, которая восстанавливалась около 40 дней. Известны случаи, при которых проводимость не восстанавливалась [55; 57]. Экспериментально установлено, что охлаждение нервной ткани до температуры минус 120 °С и ниже приводит к необратимым изменениям и гибели нервной клетки [55].

### **1.5 Механизмы криогенного повреждения ткани**

Неблагоприятное воздействие низких температур на клетки происходит при достижении гипотермического диапазона (для человека около плюс 30 °С). В этот момент органеллы клеток подвергаются стрессу. Несмотря на успешные эксперименты по длительному нахождению организмов без специальных средств криопротекторов, по мере уменьшения температуры, метаболизм постепенно ухудшается вплоть до полной гибели клеток при температуре ниже плюс 20 °С.

При уменьшении температуры до точки кристаллизации воды (образования внутриклеточного льда), происходят необратимые изменения клеток. По мере дальнейшего охлаждения продолжается процесс роста кристаллов льда, в соответствии с рисунком 1.3 (цифра 1). Клетки сжимаются, а мембраны и составляющие клетки повреждаются. Длительная продолжительность процесса приводит к увеличению концентрации электролита, достаточным для разрушения клетки. Дополнительно создается гиперосмотическая среда, вытягивающая воду из клеток. Несмотря на то, что возникающие вредные процессы приводят к обезвоживанию клеток и критически высокому уровню электролитов, наиболее опасным эффектом является образование внутриклеточного льда, что почти всегда приводит к летальному исходу, в соответствии с рисунком 1.3 (цифра 2 и 3) [56].



1 – кристаллы льда повреждают клеточные мембраны; 4 – внутриклеточные кристаллы вызывают повреждение или гибель клеток; 2 – молекулы воды; 3 – вода из клетки выходит наружу через поврежденную внутриклеточную мембрану разбавляя избыточную концентрацию электролита, что приводит к «высыханию» и гибели клетки; 4 – внутриклеточные кристаллы повреждают органеллы клеток и происходит гибель клеток.

Рисунок 1.3 – Схематически изображенный механизм криогенного повреждения ткани

Клеточная мембрана является барьером для образования льда до температур от минус 7 °С до минус 10 °С. При низкой скорости охлаждения и понижения температуры до минус 15 °С происходит гетерогенный механизм образования льда в клетках, а при более высоких скоростях и низких температурах охлаждения до минус 40 °С и ниже гомогенное образование. После образования внутриклеточного льда лед разрушает органеллы клеток и клеточные мембраны. Как правило, такой способ считается наиболее губительным для клеток, в соответствии с рисунком 1.3 (цифра 4).

## 1.6 Визуализация в криохирургии

Рассмотрев в параграфах 1.1–1.6 современное направление развития криохирургии, процессы, протекающие внутри отдельных клеток и тканей, основные параметры, применяемые для оценки успешности воздействия низких температур на паталогическую ткань, очевидно, что современные системы – криодеструкторы не могут гарантировать качество и точность проведения криохирургических операций без должного контроля зоны заморозки (ледяного шара). Для полного контроля над ходом проведения процедуры нужно не только знать температуру замороженной ткани, но и уметь визуализировать границу и глубину заморозки. Если для удаления поверхностных образований можно наблюдать образование ледяного шара визуально, то для лечения глубоких структур уже не обойтись без средств визуализации.

Основная трудность, замедляющая повсеместное использование криохирургии для лечения опухолей на внутренних органах, заключается в трудности контроля объема замораживаемой ткани. Применение методов термометрии, размещением температурных датчиков (например, термопары или терморезисторы) на поверхности и внутри зоны воздействия криоагента, позволяет получать точную информацию о температуре. Основной недостаток таких систем – низкое пространственное разрешение из-за того, что датчики температуры могут измерять температуру точечно. Использование инвазивных методов затруднительно, так как нарушается изначальная структура ткани, что впоследствии может приводить к высоким погрешностям при измерении [59].

В начале 1990 гг., в ряде работ [60; 61; 62] представлен ультразвуковой способ визуализации области криодеструкции. Кроме использования ультразвука предложены методы МРТ и ЭИТ.

При использовании методов визуализации, проходящих сквозь ткани и кожу, для контроля процесса удаления, и разрушения биологических тканей требуется адекватное качество визуализации позволяющее контролировать

термодинамические процессы и степень повреждения биологической ткани во время проведения процедуры криодеструкции.

### 1.6.1 Ультразвуковая визуализация

Один из наиболее популярных методов визуализации в криохирургии для мониторинга криодеструкции доброкачественных и злокачественных образований почек, печени, молочной и поджелудочной железы. Применение ультразвуковой визуализации позволяет в режиме реального времени проводить контроль образования ледяных структур внутри ткани. В случае использования инвазивных криозондов – корректировать их местоположение для правильного расположения. Из-за невозможности определения температуры в области воздействия наконечника криоинструмента, применяется совместно с использованием температурных датчиков и ультразвуковыми системами визуализации [63; 64].

Способность отражения ультразвуковой волны от границы сред является основой визуализации метода из-за различий акустического импеданса (волнового сопротивления) размороженной и замороженной ткани. Исследование показывает, что акустический импеданс замороженной ткани приблизительно в 4 раза больше, чем незамёрзший [65]. Для сравнения, в таблице 1.3 представлены различные типовые значения коэффициентов отражения на границах сред биологических тканей.

Таблица 1.3 – Типовые значения коэффициента отражения ( $K_{отр}$ ) некоторых сред

Граница сред	$K_{отр}$ , %
Воздух – мягкая биологическая ткань	99,95
Мягкая биологическая ткань – воздух	99,90
Воздух – кожа	99,9
Мозговая ткань – костная ткань черепа	66,0
Мышечная ткань – костная ткань	64,0
Мышечная ткань – жировая ткань	10,0
Вода – сталь	86

Процесс формирования гиперэхогенной зоны и расширения области ледяного шара показан в соответствии с рисунками 1.4 и 1.5 [63].

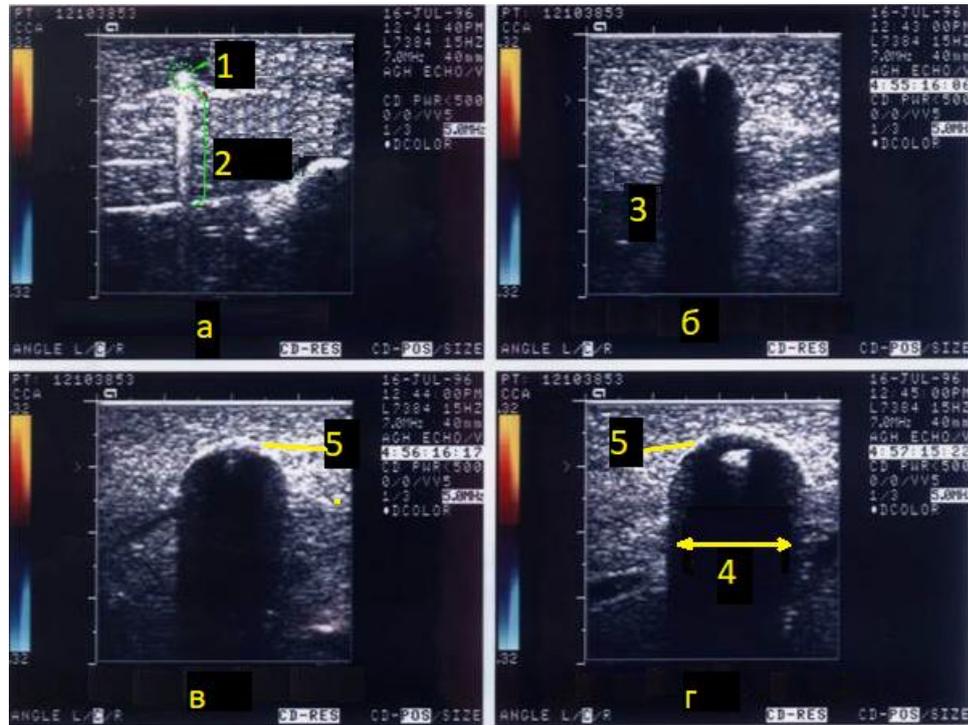


Рисунок 1.4 – Процесс визуализации проведение криохирургической операции с помощью ультразвукового исследования. Используемый образец: мышечная ткань овцы из грудной области

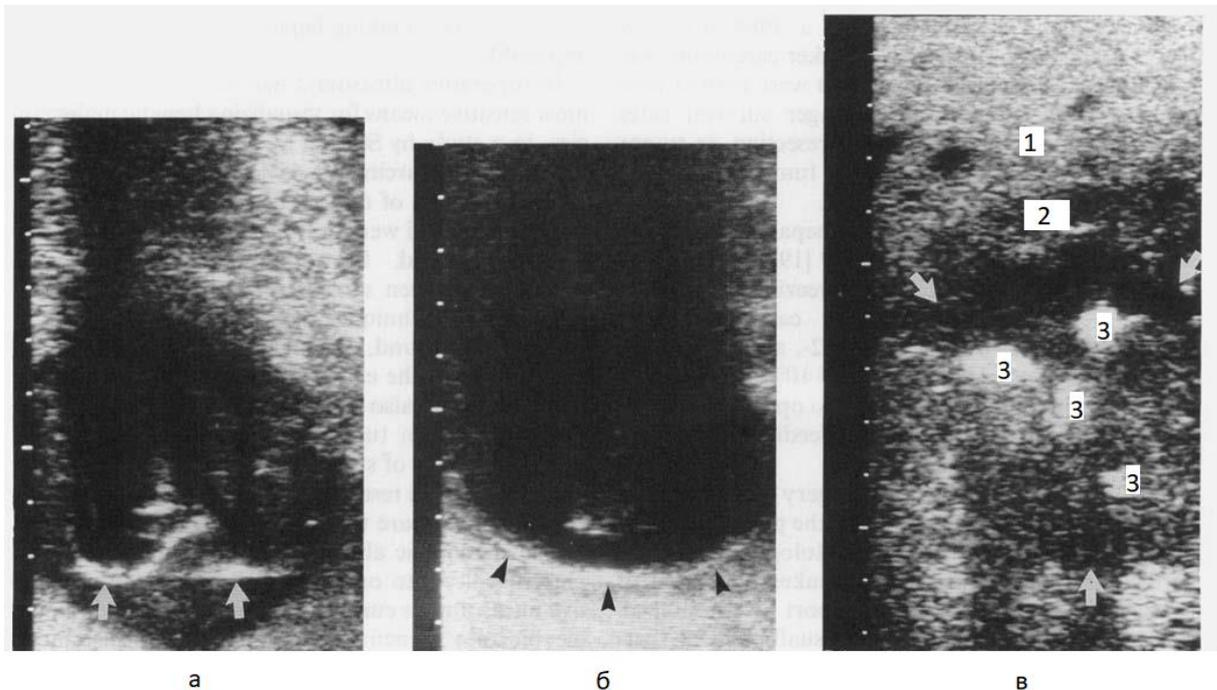


Рисунок 1.5 – Процесс визуализации проведение криохирургической операции с помощью ультразвукового исследования

Процесс визуализации характеризуется тем, что в первые несколько десятков секунд после начала проведения процедуры, в точке контакта аппликатора и биологической ткани происходит образование гиперэхогенного сферического края с полным задним акустическим затенением. Постепенно с ростом ледяного шара гиперэхогенный сферический край продолжает увеличиваться. Эффект объясняется резким изменением акустического сопротивления при замораживании ткани, что приводит к возникновению сильного отражения. Чем больше разница между акустическим импедансом между замороженной и размороженной средой, тем большее количество звуковых волн отразится. Если разница между акустическим импедансом достаточно большая, то практически все звуковые волны отразятся и не пройдут сквозь замораживаемую область. Гиперэхогенная поверхность, очерчивающая область ледяного шара, на ультразвуковом изображении отчетливо видна и продолжает увеличиваться, пока не достигнет максимального значения. После окончания процедуры происходит обратный процесс, гиперэхогенная сферическая область уменьшается до полного исчезновения, оканчивая процесс размораживания ледяного шара. Растаивая, в области криоповреждения остается очертание гипоэхогенной области, которое появляется не всегда, в зависимости от состояния не подверженной воздействию ткани.

В соответствии с рисунком 1.4, используемое оборудование: линейный датчик с частотой сканирования 7 МГц. Ультразвуковой датчик расположен сверху, криохирургический зонд перпендикулярно ультразвуковому датчику. Замороженная область показана на ультразвуковом изображении черным цветом, где:

- а) начало криохирургической процедуры: 1 – наконечник криохирургического зонда, 2 – криохирургический зонд;
- б) 1 минута после начала процедуры заморозки. Цифрой 3 представлена область акустического затемнения, возникшей за растущим ледяным шаром;
- в) 1 минута после начала процедуры заморозки;

г) 1 минута после начала процедуры заморозки. 4 – диаметр ледяного шара. Цифрой 5 показана гипоэхогенная область.

В соответствии с рисунком 1.5, показан используемый образец: клетки печени с метастатическим поражением приблизительно 60 мм в диаметре [66]. Где:

а) Введение криохирургического зонда в метастатическое поражение печени. Начало процедуры замораживания. Стрелками показано месторасположением криохирургических зондов;

б) Ледяной шар, достигший максимального размера. Контрастно отображается гиперэхогенная область, показанная стрелками шаром;

в) Ткань печени после расстраивания. Область 1 – здоровая ткань печени, не подвергшейся замораживанию, область 2 – граница гиперэхогенной области, возникшей во время замораживания, 3 – места расположение криохирургических зондов, на ультразвуковом изображении отображаются в виде гиперэхогенного артефакта.

Диаметр ледяного шара и расстояние до поверхностных слоев ткани можно непрерывно контролировать в режиме реального времени с помощью ультразвука. Использование данного типа визуализации позволяет избегать заморозки поверхностных слоев ткани в случае проведения инвазивной операции, что полезно при лечении некоторых видов образований, например, злокачественных образований молочной железы. Использование ультразвука позволяет добиться визуализации замороженной области, но с рядом проблем таких как эффект акустического затемнения, необходимость использования дополнительного оборудования для определения температуры. Преимущество использования метода – удобство для пациента и безопасность использования.

Оттаявшая область после криохирургического воздействия становится контрастнее не замораживаемых областей. Как правило, образовавшаяся область больше, чем область криоповреждения ткани. Видимое повреждение отображается на ультразвуковом изображении. Данный эффект распространения разрушения за пределы области криоповреждения ткани позволяет более эффективно проводить лечение доброкачественных и злокачественных образований [68].

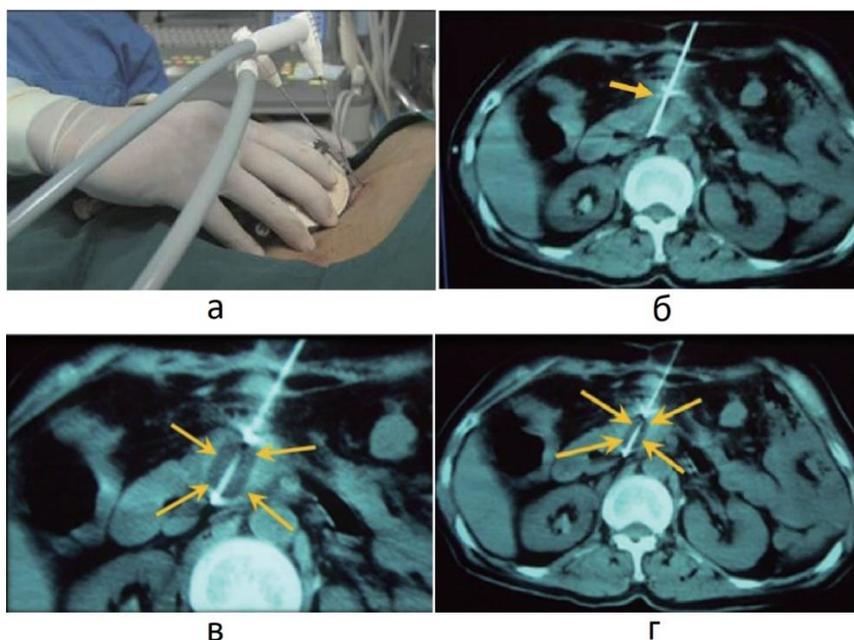
Различие акустического сопротивления замороженной и незамороженной ткани отражают ультразвуковые волны, тем самым визуализируя границы формирования полусферы ледяного шара. Границы области криохирургического поражения соответствуют области поражения, полученные на ультразвуковом изображении. Например, при проведении криохирургической процедуры по удалению злокачественных образований на печени, границы роста ледяного шара выделяются более контрастно по сравнению с тканью печени, не подвергшейся замораживанию. Как правило, поражение контрастной области носит геморрагический характер. При анализе тканей, подвергшихся процессу замораживания, основными причинами смерти клеток являются кровоизлияние и застой крови. Ткань печени, окружающая область заморозки при повторном исследовании не остается поврежденной. Проведенные экспериментальные исследования [69] показали возможность прогнозирования области криоповреждения ткани с помощью ультразвука на примере здоровой печени свиньи. Область некроза, выявленной на гистологии совпадала с месторасположением и габаритами ледяного шара, образованным во время криохирургической процедуры.

Несмотря на все преимущества применения ультразвука, в криохирургии существует ряд недостатков, не позволяющих широко использовать метод в хирургии. Основным является возможность визуализации только переднего края полусферы ледяного шара, растущим при заморозке. Информация об обратной полусфере и внутренней структуре остается недоступна из-за несоответствия акустического импеданса между замороженной и размороженной тканью. Данный недостаток применения ультразвука может быть несущественным при интраоперационном применении из-за возможности перемещения ультразвукового сканера. Однако, при чрескожном ведении криохирургических зондов не всегда удается найти адекватное ультразвуковое окно для качественной визуализации. Внутренние органы, ребра, подкожная ткань, пузырьки газа внутри организма будут значительно ухудшать визуализацию.

Другим важным недостатком метода является нечеткая визуализация границы образования ледяного шара. На ультразвуковом изображении можно определить только примерную границу области. В случае необходимости необходимо использовать дополнительные методы термометрии для определения температуры ткани, на которой происходит процедура криодеструкции.

### 1.6.2 Компьютерная томография

Процесс визуализации образования ледяного шара, границы и глубину криохирургического воздействия, можно контролировать с помощью КТ. Ледяные шары контрастируют на томографическом изображении и легко визуализируются из-за низкого ослабления рентгеновского излучения, по сравнению с более высоким ослаблением незамороженных тканей окружающих криохирургическое воздействие, в соответствии с рисунком 1.6 [70, 71].



А – процесс введения двух криозондов чрескожно; Б – введение криохирургического зонда в злокачественное образование поджелудочной железы (показано стрелкой); В – начало процедуры замораживания. Стрелкой показан процесс образование ледяного шара; Г – томографическое изображение, полученное через 8 минут после замораживания, ледяной шар достиг максимальных размеров и заморозил опухоль (показано стрелками).

Рисунок 1.6 – Процесс проведения чрескожной трансперитонеальной криохирургической операции на поджелудочную железу с использованием КТ

Область замороженной ткани является областью с низкой плотностью (гиподенсным образованием) и низкой степенью затухания. Средний денситометрический показатель (шкала единиц Хаунсфилда) области криовоздействия приблизительно равна 0 HU (единиц шкалы Хаунсфилда, типовые значения данной шкалы показаны в таблице 1.4). В результате проведенных экспериментов [70] на основе модели печени свиньи, показано, что точность визуализации области ледяного шара, его форма достаточна для использования метода для проведения чрескожного криовоздействия.

Таблица 1.4 – Типовые значения среднего денситометрический показатель (шкала единиц Хаунсфилда) исследуемых материалов.

Исследуемый материал		Единицы Хаунсфилда, HU
Жидкости	вода	0
	лимфа	–30
	кровь (несвернувшаяся)	от +13 до +50
	кровь (свернувшаяся)	от +50 до +75
	желчь	от –5 до +15
Воздух		–1000
Жир		от –120 до –90
Мягкие ткани		от +100 до +300
Внутренние органы	печень	от +55 до +65
	почки	от +20 до +45
	Легкое	от –700 до –600
	мышцы	от +35 до +55
Кости	корковая	от +1800 до +1900
	губчатая	от +300 до +400

В настоящее время метод КТ популярен и хорошо распространен. Для визуализации процедуры криодеструкции подойдет современный компьютерный томограф. До этапа проведения криохирургической операции проводятся обследование по поиску и анализу патологической ткани, постановки

окончательного диагноза. Для правильной постановки диагноза применяют методы диагностики, к которым относится, в том числе КТ. Использование компьютерного томографа на этапе проведения диагностики позволяет использовать полученные томографические изображения во время криодеструкции патологической ткани. Благодаря развитию современных технологий, ведется работа по уменьшению времени построения томографического изображения. Потенциальные возможности использования компьютерно-томографической флюороскопии хорошо подходят для установки криохирургических зондов и контроля процесса замораживания ткани. Современная двухмерная мультипланарная реконструкция повышает точность проведения криохирургической операции, помогая избегать повреждения соседних структур с областью криовоздействия, таких как печень, почки, сердце, крупные сосуды. Наиболее распространенное применение метода нашло в области лечения злокачественных образований поджелудочной железы, печени, почек и легких [67].

Основным преимуществом метода КТ, по сравнению с использованием ультразвука, заключается в качестве визуализации области криодеструкции. Если при ультразвуковом способе визуализации возникают проблемы с отображением обратной стороны ледяного шара, то при использовании КТ отображается вся площадь.

Недостатками метода КТ являются [70; 75]:

- 1) воздействие ионизирующего излучения на пациента;
- 2) трудность проведения визуализации патологической ткани и замороженной области, в случае применения метода в слабоконтрастной среде;
- 3) артефакты, при применении криохирургической аппаратуры, например, металлические криозонды введённые чрескожно;
- 4) трудность в проведении процедуры визуализации у пациентов с ожирением из-за небольшого размера гантри;
- 5) недостаточно высокая скорость построения томографического изображения у некоторых аппаратов.

Частично данные ограничения можно преодолеть при совместном использовании метода КТ с ультразвуком, либо при использовании других методов визуализации, с использованием современных достижений в области КТ.

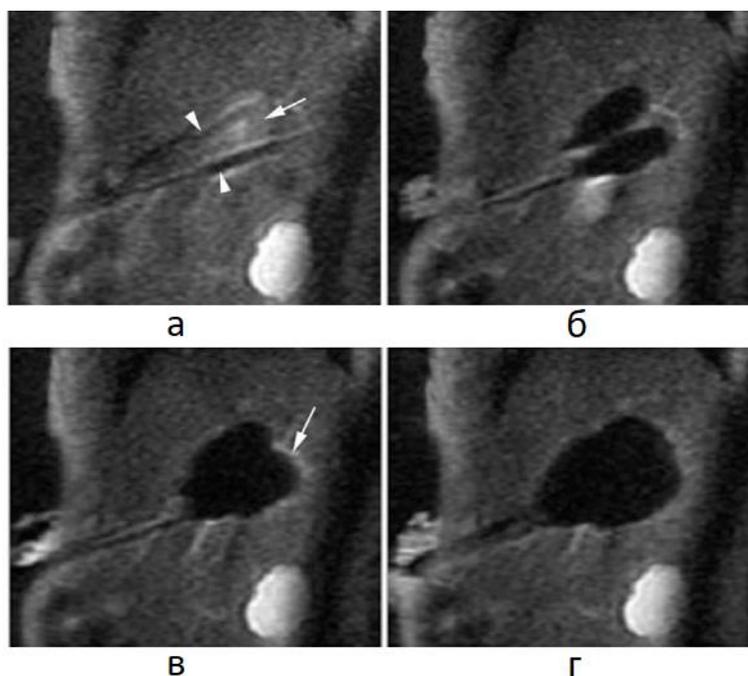
Проводятся работы [75] по визуализации внутренних структур замораживаемой области ледяного шара, анализу корреляции между значением среднего денситометрического показателя и температурой области криохирургического воздействия. Несмотря на перспективы определения температуры внутри области криохирургического воздействия без использования дополнительных средств контроля температур, данный метод находится на стадии разработки.

### **1.6.3 Магнитно-резонансная томография**

В конце 1980 гг. начали проводить эксперименты по визуализации области криоповреждения ткани, в результате которых показали возможность использования метода МРТ в криохирургии. В результате проведенных работ [76–78] было показано, что контраст области замороженной ткани на магнитно-резонансном топографическом изображении достаточен для определения точных границ и зоны криовоздействия. Позже показана возможность мониторинга процесса замораживания и размораживания биологической ткани в динамике с помощью короткого времени сканирования необходимой области [79]. Высокий уровень контраста обеспечивался в режиме импульсной последовательности – градиентное эхо. Томографическое изображение получено с использованием: режима градиентного эха в сканере с индукцией магнитного поля равной 0,1 Тл.; в режиме T1-взвешенной МРТ с турбо спин-эхом с индукцией магнитного поля равно 1,5 Тл.

Во время проведения процедуры криодеструкции в зоне воздействия неизбежно образуются твердые ледяные структуры, преимущественно состоящие из воды. Являясь твердым телом, состоящим из льда, замороженная область имеет короткое время T1 и T2 релаксации. Данное свойство замороженной

области приводит к тому, что данная область имеет низкий уровень сигнала. При замораживании тканей с высоким содержанием жидкости, во время криодеструкции льда, данная область «отсутствует» на томографическом изображении, в соответствии с рисунком 1.7 [83]. Наблюдается и обратный эффект: при завершении криодеструкции, замороженная область, постепенно растаивая «проявляется» на томографическом изображении. При этом граница между замороженной и незамороженной областью четко очерчивается, позволяя точнее контролировать границу и объем зоны обледенения ледяного шара. После оттаивания область, подвергнутая заморозке, плохо визуализируется на томографическом изображении. Данная информация показывает процесс реактивной гиперемии в приграничных областях [80; 81; 82].



А – Процесс введения двух криозондов (верхняя и нижняя стрелка), в метастазы печени (правая стрелка). Режим: быстрое спин-эхо на T2-взвешенном изображении; Б – Начало процедуры замораживания. Формирование ледяных шаров возле наконечников зондов; В – Продолжение процедуры замораживания. Границы двух ледяных шаров достигли друг друга, образовав один. Границы ледяного шара добрались до границ метастазов печени (показано стрелкой); Г – Произошла полная заморозка злокачественного образования.

Рисунок 1.7 – Процесс проведения чрескожной криохирургической операции на метастазы печени, находящиеся на расстоянии 3,5 см от рака молочной железы

Применение систем визуализации с использованием метода МРТ предоставляет ряд преимуществ [83].

1. С помощью МРТ можно производить измерение температуры в зоне криохирургического воздействия, как в зоне образования ледяного шара, так и на границе замороженной и незамороженной области. Таким образом, прогнозируется, какая часть области криохирургического воздействия будет подвергнута некрозу.

2. Высокая точность в определении границ, глубины, диаметра области образования ледяного шара, обусловленная свойствами замороженной ткани во время получения томографического изображения. Высокая точность проведения процедуры позволяет применять криохирургические методы лечения точно – замораживать патологическую ткань и приграничную область с минимальным воздействием на здоровую ткань.

3. Возможность проведения процедуры визуализации в режиме реального времени, что позволит контролировать рост ледяных структур внутри ткани.

4. Мультипланарная реконструкция томографических снимков, полученных с помощью МРТ, дополненная информацией о температуре внутри области криохирургического воздействия, позволят визуализировать область криохирургического воздействия в трехмерный объект (3D объект) [84–87].

5. МРТ визуализирует не только область обратимого криоповреждения ткани, возникающей на границе зон замороженной и незамороженной области, но и зону оттаявшей ткани.

Для повышения качества получаемых изображений применяют метод контрастирования (введения контрастных веществ) в МРТ. При визуализации процессов замораживания ткани данный метод также нашел применение. Например, использование контрастного агента Мангафодипира (брендовое название – Тесласкан в виде тринатрия мангафодипира, MnDPDP) [88–90] повышает качество получаемого томографического изображения. Мангафодипир является гепатобилиарным (распространяется с желчью) контрастным веществом. Суть работы заключается в том, что здоровые ткани печени взаимодействуют с

марганцем, входящий в контрастный агент, и поглощают его. Патологические ткани слабо, либо не взаимодействуют с марганцем. Марганец сокращает время продольной релаксации (T1), тем самым делая участки со здоровой тканью более яркими и контрастными по сравнению с более темной патологической тканью.

Использованием магнитно-резонансных томографов в криохирургии накладывает ряд ограничений из-за конструктивных особенностей томографов. Томографы закрытого типа в соответствии с рисунком 1.8, которые обычно применяют для диагностики конструктивно ограничивают доступ к пациенту. Как правило, хирурги сталкиваются с проблемой нехватки места при введении криозондов. К тому же при использовании аппаратов закрытого типа для введения, регулировки и вытаскивания криозондов, сканирование пациента является громоздкой.



Слева – магнитно-резонансный томограф закрытого типа. Справа – магнитно-резонансный томограф открытого типа.

Рисунок 1.8 – Магнитно-резонансный томограф

Для решения данной проблемы были разработаны томографы открытого типа без использования тоннеля в соответствии с рисунком 1.8. Несмотря на «открытость» томографа, рабочее пространство для проведения криохирургической операции по-прежнему ограничено, находится в диапазоне от 40 до 60 см.

Существует ряд противопоказаний, препятствующих проведению процедуры МРТ на пациентках. К таким противопоказаниям относят различные материалы,

сплавы, имплантаты (в том числе и кардиостимуляторы) чувствительные к магнитному полю. Во время проведения процедуры визуализации с использованием магнитно-резонансного томографа, кардиостимулятор может перейти в асинхронный ритм и вызвать аритмию.

Дополнительно описанные физические и конструктивные ограничения, приводят к тому, что проведение криохирургической процедуры так же увеличивается, что является недостатком метода.

Метод МРТ обладает рядом преимуществ для визуализации структуры криохирургического повреждения ткани, однако не нашел широкого применения в хирургии из-за высоких требований, возникающих при проведении процедуры визуализации.

#### **1.6.4 Визуализация ткани после проведения процедуры криодеструкции**

Дальнейшее изучение области деструкции возникшей, во время проведения процедуры криохирургии зависит от возможности проведения визуализации. Наиболее часто применяются методы МРТ, КТ, УзТ, ПЭТ-КТ (комбинация метода позитронно-эмиссионной и КТ).

Проведение процедуры визуализации во время криохирургической процедуры показывает размер области деструкции, границу образования ледяного шара. Визуализация после криохирургической процедуры необходима для оценки успешности проведения операции, отвечая на ряд вопросов: произошла ли полная деструкция патологической ткани; осталась ли патологическая ткань после проведения процедуры; необходимость повторной криодеструкции.

Через несколько дней зона деструкции подвергается тромбозу с увеличением количества и концентрации кровеносных сосудов. На границе криоповреждения ткани образуется зона воспаления.

В случае, если постоперационная визуализация не выявила наличие неповрежденных патологических образований, пациента отправляют на повторную процедуру визуализации через несколько дней, недель или месяцев.

Частота и количество проведения повторных процедур визуализации зависит от состояния пациента, зоны криодеструкции и может продолжаться до нескольких лет или полного заживления. Для визуализации используются методы КТ и МРТ, УзТ. Одним из обязательных условий является повторяемость как в оборудовании, методах, так и по времени для возможности прямого сравнения результатов лечения.

По результатам исследований [91; 92], связанных с оценкой зоны криодеструкции в послеоперационный период показано, что область замораживания уменьшается медленно и равномерно в течение нескольких месяцев или нескольких лет. Увеличение зоны криоповреждения, неравномерность заживления указывают на наличие рецидива. В общем, полное рассасывание зоны криодеструкции происходит в течение 1–3 лет.

Повторное образование патологии на томографических снимках, полученных с помощью КТ, зависит от первоначально установленного диагноза. Увеличение количества узлов в ткани свидетельствует о возобновлении заболевания.

На T1-взвешенном изображении криоповреждение изоинтенсивно, а на T2-взвешенном изображении гипо, либо изоинтенсивно. На интенсивность сигнала влияет от стадии некроза. При успешном проведении процедуры происходит постепенное уменьшение степени деструкции на томографическом изображении. На границе области деструкции ткани может образоваться область увеличения количества кровеносных сосудов зависящей от стадии рассасывания замороженной области.

Ультразвуковое исследование области деструкции является наиболее предпочтительным из-за простоты и удобства метода. Проведенные исследования [52; 79; 95] показывают, что применение ультразвука с контрастным усилением может стать альтернативной МРТ и КТ.

Применение метода позитронно-эмиссионной томографии с использованием радиофармпрепарата фтордезоксиглюкозы (FDG-PET) и ПЭТ-КТ могут предоставить дополнительную информацию во время проведения процедуры

визуализации при лечении злокачественных образований, определения качества проведенной криохирургической процедуры, повторного возобновления патологического образования [96]. В то же время, некоторые патологические образования, такие как карцинома, могут слабо накапливать фтордэзоксиглюкозу. По этой причине данный метод может быть менее информативным.

### **1.7 Постановка задачи**

Криохирургией называют метод удаления патологической ткани с помощью низких температур. За последние 200 лет метод прошел развитие от базового применения – обезболивание ушибов с помощью снега, до современного состояния – удаление доброкачественных и злокачественных образований чрескожно под контролем средств визуализации. Данный метод нашел широкое применение в медицине для лечения патологических кожных образований, ограниченно применяется для лечения раковых опухолей на внутренних органах: печень, почки, легкие и др.

Несмотря на множество решенных проблем применения криохирургии в медицине, остается ряд нерешенных вопросов. Основным из них, является трудность в определении границы области криоповреждения ткани. Данная проблема стала наиболее острой при появлении современных криохирургических аппаратов, позволяющих более качественно и точно проводить деструкцию патологических тканей. Проблема точного прогнозирования области криоповреждения ткани возникает из-за нескольких факторов: разная скорость охлаждения патологической и здоровой ткани, отличие физических свойств у разных типов ткани, высокий градиент температур между замороженной и незамороженной тканью.

С одной стороны, чрезмерное воздействие холода станет причиной повреждения здоровых тканей. С другой стороны, при недостаточной интенсивности воздействия процедура окажется неэффективной и приведет к

развитию локальных осложнений в виде рецидива заболевания, воспалительного процесса или системных, таких как послеоперационная тромбоэмболия и сепсис.

Для получения максимальной пользы от лечения необходимо понимание механизмов повреждения клеток. Реагирование ткани на травму, вызванную холодом, зависит от температуры, скорости замораживания и варьируется от воспаления до полного разрушения. Важно понимать, что холод неравномерно воздействует на обрабатываемые области. В пограничной зоне ткани охлаждаются, короткий период времени с небольшой скоростью. Конечная температура находится в диапазоне от плюс 10 °С до минус 10 °С и нагревание при отсутствии охлаждения происходит довольно быстро. Здоровые клетки, имеющие изотерму близкую к 0 °С, выживают. Злокачественные образования выживают при изотерме до минус 60 °С. На данном диапазоне очевидны различия в чувствительности клеток к замораживанию. Температура около минус 10 °С наносит небольшой ущерб охлажденной здоровой клетки, так как клетка в течение определенного периода времени защищена от воздействия низкой температуры. После дальнейшего падения температуры образуются кристаллы льда, что наносит более серьезные повреждения для клеток.

Температура будет сильно различаться в различных областях ткани, на которую воздействовали криохирургическими методами. Области, прилегающие к криозонду, достигают температур близких к температуре криоагента, тогда как в периферийных областях температура будет близка к температуре замерзания или нормальной температуре ткани. Зная точные границы температур в разных областях ткани можно с большой точностью знать границы разрушения ткани.

Развитие современных средств визуализации значительно расширили границы в области постановки диагноза в медицине. Традиционные способы томографии с использованием УЗТ, КТ, МРТ в настоящее время являются основой для средств визуализации. Несмотря на множество преимуществ данных систем, существует ряд недостатков не позволяющих применять данные методы в криохирургии. Интенсивное вихревое магнитное поле при магнитно-резонансном сканировании предъявляет экстремальные требования к томографу, медицинской

аппаратуре и кабинету исследований. Существует широкий спектр противопоказаний при проведении операций на пациенте. Принцип проведения компьютерной рентгеновской томографии основан на применении рентгеновского излучения. Вследствие этого происходит воздействие ионизирующего излучения на пациента. Использование ультразвука затруднительно из-за физических свойств, неоднородности замороженной ткани.

Метод МРТ и КТ является наиболее подходящим и точным вследствие физических свойств области замороженной ткани. Зона криодеструкции практически полностью состоит из льда и отображается контрастно на томографическом изображении. Однако, недостатки методов не позволяют широко использовать их в криохирургии.

Решением этой проблемы может стать другой, более дешевый метод, который не требует специального помещения и обслуживающего технического персонала. Большинство описанных недостатков и ограничений преодолеваются с помощью томографического метода исследований ЭИТ. Суть метода заключается в том, что при прохождении электрического тока безопасного уровня через исследуемый биообъект, на его границе и поверхности будет регистрироваться разность потенциалов из-за наличия импеданса внутри ткани. Регистрируя разность потенциалов, можно определить импеданс и проводимость исследуемого объекта. Определив данные параметры, строится область распределения импеданса и, таким образом, визуализировать образования ледяных структур внутри биологической ткани.

В результате проведенных исследований можно сформировать следующие выводы:

- 1) криохирургия является перспективным методом в медицине, имеющим множество преимуществ;
- 2) одним из основных недостатков, мешающим широкому внедрению криохирургических методов лечения, является трудность в определении границ области криоповреждения ткани;

3) трудность прогнозирования области криодеструкции возникает из-за физиологических особенностей живых тканей;

4) существующие методы визуализации в медицине, основанные на принципе МРТ, КТ и УЗТ, позволяют определять область криоповреждения ткани, однако, из-за наличия различных технических и физических недостатков, не нашли широкого применения в криохирургии;

5) в отсутствии простых и эффективных средств визуализации, хирурги, применяющие криохирургические методы лечения, вынуждены использовать эмпирические методы прогнозирования области криодеструкции ткани;

6) для визуализации границы области криодеструкции, необходимо использовать другой, альтернативный метод визуализации.

## ГЛАВА 2 ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ИМПЕДАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ В МЕДИЦИНЕ

Основа метода импедансной спектроскопии и ЭИТ была заложена в конце 19 века английским ученым Оливером Хевисайдом, введением терминов проводимость, индуктивность, импеданс, адмитанс. Применение импедансной спектроскопии в физических системах начинается в 1894 году с работы Нернста, представив аналог электрической схемы для электролитических систем, в которых емкость и сопротивление являются функциями частоты [97; 98].

В 1920 гг. измерение импеданса, сопротивления и ёмкости стали практиковать в биологических системах. Проводились измерения электрических параметров клеток овощей, диэлектрической реакции различных суспензий крови, импеданса мышечных волокон, тканей кожи и других биологических мембран. В ходе данных экспериментов найдена закономерность, согласно которой импеданс зависит от частоты. Таким образом, обнаружена емкость клеточных мембран.

В 1940–1970 гг. осуществлялись фундаментальные исследования двойного диэлектрического слоя и эквивалентных схем для кинетики электрохимических процессов, где элементы схем не зависели от частоты. В этот же период импедансная визуализация стала применяться в трех основных направлениях: медицине, геофизике и промышленной визуализации [99]. Проводились множественные экспериментальные исследования по влиянию температуры биообъектов на изменение полного электрического сопротивления, активной и реактивной части, в ходе которых было выяснено, что при замораживании биообъекта происходит значительное увеличение импеданса [28; 79; 100; 101].

В медицине появилось несколько перспективных направлений применения импедансной томографии, связанных с визуализацией и мониторингом внутренних органов и тканей [99; 102; 103].

До 1978 г. ЭИТ применялась для неклинических исследований, пока Росс Хендерс и Джон Вебстер не опубликовали первое импедансное изображение

тканей человека [26]. Они составили карту проводимости тканей с помощью снятых характеристик напряжения и тока. В ходе исследований выявлено, что области низкой проводимости на полученном изображении соответствуют легким человека.

Развитие ЭИТ начиналось как ответвление рентгеновской КТ, и было ошибочно в теоретических основах, так как считалось, что электрические токи текут по прямым линиям [99].

Нейрохирург Алим-Луи Бенаби был первым, кто предложил использовать импедансную томографическую систему для визуализации опухолей головного мозга. Использовался прототип сканера импеданса, который имел два параллельных массива электродов, находящихся в резервуаре, заполненном физиологическим раствором. Прототип обнаруживал изменение импеданса, наблюдаемое между электродными решетками [99].

## **2.1 Приборы для измерения биоимпеданса**

Существуют важные особенности измерения импеданса биологических объектов по сравнению с измерениями в других сферах. К основным ограничениям, которые связаны с особенностями строения биологической ткани, относят поляризацию биологической ткани и необходимость использования различных частотных диапазонов. Вследствие этих недостатков необходимо использовать специализированную аппаратуру.

Первая аппаратура анализирующий импеданс ткани в процессе работы сердечной деятельности предложена А.А. Петровым в конце 1940 в начале 1950 гг. Как правило, реографический сигнал имеет одну из наиболее простых структур для изучения.

Одночастотные биоимпедансные анализаторы частей тела человека появились в начале 1980 гг. Электроды располагались между двумя областями тела, либо между конечностями (стандартное расположение). Кабель показывал к какой конечности необходимо подключать электрод. Обычно электроды

подключались к правой руке и правой ноге. Устройства работали на определенной частоте равной несколько кГц.

Упрощенно, принцип метода наиболее просто описать уравнением сопротивления однородного проводника  $R$ , по формуле (2.1):

$$R = \frac{l \cdot \rho}{S} \quad (2.1)$$

где  $\rho$  – удельное сопротивление проводника;

$l$  – длина проводника;

$S$  – площадь поперечного сечения.

Удельное сопротивление ткани относительно постоянно, как и длина биологического объекта. Изменение сопротивления происходит за счет изменения объема крови и увеличения поперечного сечения сосудов.

Компания RJL Systems первая выпустила на рынок биоимпедансные анализаторы – биоанализатор quantum II. Достоинства приборов такого класса являлись малые габариты, автономность, наличие дисплея для отображения результатов измерения, возможностью подключения принтера для печати результатов, возможность диагностики состава тела [104].

В это время стали разрабатываться прототипы для получения изображений с помощью импеданса.

Базовые физические основы метода выходят из взаимосвязи электромагнитного поля и электрическим током, описываемый уравнениями Максвелла [105–107], по формулам (2.2–2.5):

$$\nabla \cdot D = p_v, \quad (2.2)$$

$$\nabla \cdot B = 0, \quad (2.3)$$

$$\nabla \times E = -\frac{\partial B}{\partial t}, \quad (2.4)$$

$$\nabla \times H = \frac{\partial D}{\partial t} + J, \quad (2.5)$$

где  $\nabla$  – дифференциальный оператор;

$\rho$  – плотность стороннего электрического заряда;

$D$  – электрическая индукция;

$B$  – магнитная индукция;

$E$  – напряженность электрического поля;

$H$  – напряженность магнитного поля;

$J$  – плотность электрического тока.

Традиционная численная модель – уравнение Лапласа для низких частот получается непосредственно из уравнения Максвелла для гармонического возбуждения  $e^{-j\omega t}$  [108], по формуле (2.6):

$$\nabla(\sigma^* \nabla \Phi) = 0 \quad (2.6)$$

где  $\sigma^*$  – комплексная проводимость;

$\nabla \Phi$  – потенциал электрического поля.

Первые опубликованные томографические изображения получены Дэвидом Бабером и Брайан Брауном в 1982–1983 гг. Были показаны изображения рук, на которых области повышенного сопротивления примерно соответствовали костям и жиру. В дальнейшем, по мере развития ЭИТ получены и опубликованы изображения опорожненного желудка, сердечного цикла и цикла вентиляции легких в грудной клетке [109]. Ими же в 1987 году разработана первая клиническая система для импедансной томографии Sheffield Mark 1 [108], которая затем несколько раз усовершенствовалась. В 2001 г. систему Sheffield Mark 3.5 обновили, характеристики представлены в таблице 2.1.

Преимуществами Sheffield Mark [107] по сравнению с ультразвуковыми, КТ и МРТ-сканерами являются низкая стоимость и портативность. Однако, томографические изображения получались низкого разрешения и импедансная томография на тот момент выхода первой версии, не получила широкого клинического применения [111; 112].

В 1987 г. группа ученых применила метод ЭИТ для визуализации мозга новорожденного ребенка. В системе использовалось 16 электродов, расположенных вокруг головы в виде кольца. В отличие от системы Sheffield, ток протекал между парами электродов, расположенных друг напротив друга. Это увеличивало количество путей протекания тока и повышало чувствительность разработанной системы [107].

В середине 1990 гг. Герхард Хеллиге и Гюнтер Хан разработали цифровую систему импедансной томографии GOE MF 2 [107], которая была усовершенствованием системы Sheffield Mark 1. Устройство специально разработано для контроля функции легких с помощью импедансной томографии.

В конце 1990 гг. в связи с развитием электроники разработчики технических, активно сосредоточились на улучшении метрологических характеристик медицинской аппаратуры – увеличении точности в оценки импеданса за счет передовых методов анализа и обработки биосигналов.

А.В. Корженевский и В.А. Черепенин из Института радиотехники и электроники РАН в 1997–1998 гг. смогли решить математическую задачу визуализации внутренних тканей человеческого тела с помощью импедансной томографии, создав первый электроимпедансный маммограф, который в настоящее время получил широкое распространение [113]. По сравнению с традиционными методами, такими как рентген или УЗИ, ЭИТ незначительно уступает в точности диагностирования патологий молочной железы. Однако, благодаря своим особенностям, скорости и возможности многократного прохождения процедуры, импедансная маммография получила применение в медицине.

В 2007 г. компания Drager разработала систему для электро-импедансной визуализации легких Pulmo Vista 500 [107], которая на сегодняшний день является одной из самых успешных коммерческих систем для импедансной томографии легких в мире.

Кроме коммерческих устройств, существует ряд экспериментальных прототипов электрических импедансных томографов, использующих различную архитектуру представленных в таблице 2.1

Таблица 2.1 – Сравнение различных систем визуализации, работающих по принципу ЭИТ на технологии цифровой обработки сигналов (ЦОС) и программируемой логической интегральной схеме (ПЛИС)

Название системы	Технология	Кол-во источников сигнала	Частотный диапазон	Используемый сигнал	Способ зондирования	Кол-во каналов	Год разработки	Ссылка
Sheffield Mk 3.5	ЦОС	один	от 2 до 1600 кГц	синусоидальный, используется 30 частот, до 10 частот одновременно	др. за др.	8	2001	[118]
UCLH Mk 2 / UCLH Mk 2.5	ЦОС	один	от 0,02 до 1000 кГц	синусоидальный, используется 30 частот, до 10 частот одновременно	др. напротив др.	64/32	2003/2006	[119; 120]
–	ЦОС/ ПЛИС	несколько	от 10 до 10000 кГц	синусоидальный, используется 20 частот	др. за др.	64	2008	[121]
ОХВАСТ-5	ПЛИС	несколько	от до 100 кГц	синусоидальный, используется 20 частот	др. к др., либо др. за др.	64	2008	[122]
KNUMark2.5	ЦОС/ ПЛИС	несколько	от 0,010 до 500 кГц	синусоидальный, используется 9 частот, до 6 частот одновременно	др. к др., либо др. за др.	16	2014	[123]
–	ПЛИС	один	от 0,100 до 10000 кГц	синусоидальный, используется 47 частот	др. к др.	32	2015	[124]
SWEIT	ПЛИС	один	от 1 до 1100 кГц	широкополосный	др. к др.	16	2019	[125]

В настоящее время ЭИТ нашла медицинское применение области маммографии и визуализации легких. Импедансные методы контроля зоны разрушения при электрохирургических операциях хорошо разработаны и используются в клинической практике [114; 115]. Продолжаются работы [116; 117] по внедрению ЭИТ для оценивания баланса жидкости в организме, исследования функционального состояния головного мозга, определения параметров костной ткани и легочных перфузий.

## **2.2 Разрешающая способность электрической импедансной томографии**

Классическая система ЭИТ, как правило, состоит из нескольких основных частей: один или несколько источников тока, модуль сбора данных для измерения потенциала, блок мультиплексирования для переключения источника тока и модуля сбора данных между измеряемыми электродами.

Наиболее часто используют низкочастотные фиксированные значения переменного тока низкой частоты, например, 10, 20 или 50 кГц. Преимуществом низкочастотного тока заключается в возможности оценки резистивной и емкостной составляющей, а также предотвращает эффект поляризации в электродах. Недостаток подхода – необходимость применения методов ЦОС, синхронизации аналоговых частей томографа.

В методе ЭИТ можно использовать различные подходы передачи тока и снятия потенциала с исследуемого объекта. В целом подходы разделяются на два основных метода: с одним источником тока и несколькими источниками тока. Применение подхода с несколькими источниками тока основан на модели «различимости» [126]. Основная суть подхода заключается в использовании независимого источника тока на каждую пару потенциальных электродов, что позволяет получать наиболее точную реконструкцию изображения для метода ЭИТ. Однако, применение в лабораторных электроимпедансных томографах оказалось затруднительным в виду необходимости увеличения количество генераторов тока и усложнения конструкции разрабатываемых устройств.

Подход с одним источником тока (биполярный подход), нашел наибольшее применение. Суть метода заключается в том, что один источник и один приемник тока используется в один момент времени. На остальных электродах происходит снятие потенциала. Для переключения источника тока используются различные схемы мультиплексирования. Наиболее распространенным алгоритмом переключения электродов является алгоритм соседнего (смежного) электрода, показанный в соответствии с рисунком 2.1. При использовании данного алгоритма в качестве источника и приемника протекания тока, а также снятия потенциала с электрического объекта используются соседние электроды. После завершения измерения происходит переключение пар электродов на соседние до окончания сканирования. Для получения равного динамического диапазона между различными парами электродов не производят снятия потенциала с пары электродов, между которыми протекает электрический ток.

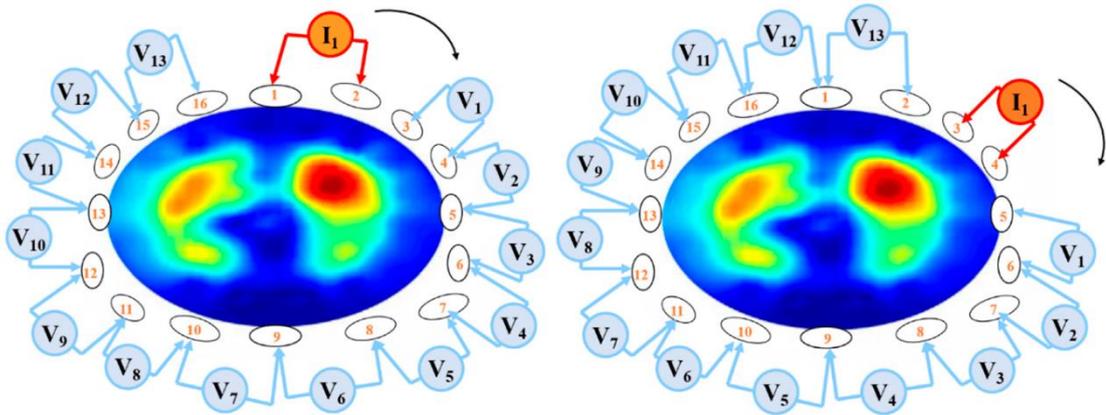


Рисунок 2.1 – Алгоритм соседнего (смежного) электрода

Поскольку данный метод симметричен, то выполняется принцип взаимности [127]. Количество независимых измерений будет определяться количеством электродов можно определить по следующей формуле (2.7):

$$M = \frac{N \cdot (N-3)}{2} \quad (2.7)$$

где  $M$  – количество независимых измерений;

$N$  – количество электродов.

Таким образом, для  $N = 8$ ,  $M = 20$ ; для  $N = 16$ ,  $M = 104$ ; для  $N = 32$ ,  $M = 464$ .

Количество электродов, которое необходимо использовать в методе ЭИТ остается открытым вопросом. Работы [128–130] указывают, что наилучшее теоретически возможное изображение при использовании 32 электродов составляет  $32 \times 32$  пикселя. При применении метода в реальных измерениях показало, что увеличение количества электродов и количество измерений напрямую влияет на разрешающую способность метода [131; 132]. С другой стороны, увеличения количества измерений напрямую влияет на время измерения и получения томографического изображения. В работе [131] показано, что увеличение количества электродов в 2 раза увеличивает время получения томографического изображения приблизительно в 3 раза.

Разрешающую способность метода легко показать на примере метода соседнего электрода при визуализации двумерной измерительной ячейки с  $N$  количеством электродов, расположенных равномерно по формуле (2.8) [133]:

$$R = \frac{1}{\sqrt{M}} = \frac{1}{\sqrt{N*(N-3)/2}} \quad (2.8)$$

где  $R$  – разрешающая способность;

$M$  – количество независимых измерений;

$N$  – количество электродов.

Для количества электродов  $N = 8$ , ожидаемая разрешающая способность  $R \sim 22$  % от диаметра объекта; для  $N = 16$ ,  $R \sim 9,8$  %; для  $N = 32$ ,  $R \sim 4,6$  %.

На практике методика сканирования электродов, количество измерений и используемых электродов является компромиссом между скоростью получения томографического изображения и разрешающей способностью метода. Повышая количество измерений, можно значительно повысить разрешающую способность метода. Во время тестирований (двумерной измерительной ячейки с диаметром 200 мм) при  $N = 16$ ,  $M = 10920$ , удалось визуализировать тестовый цилиндр диаметром 10 мм, повысив разрешающую способность метода до 0,5–1 %.

### **2.3 Возможности применения магнитоиндукционной и магнитно-резонансной импедансная томографии**

Кроме традиционных методов использования ЭИТ, существует два новых перспективных метода, которые все еще находятся на начальном этапе технического развития и используются только в качестве лабораторных прототипов.

Принцип работы магнитоиндукционной томографии (МИТ) аналогичен принципу работы ЭИТ, но вместо электрического тока и напряжения использует магнитное поле, получаемое с помощью катушек. У данного метода имеется несколько преимуществ: отсутствие поверхностного импеданса контакта электрод-кожа и импеданса наружного кожного покрова. Но недостатком является более тяжелое и громоздкое оборудование, чем оборудование для ЭИТ. Как правило, для получения достаточного отношения сигнал-шум необходимо использовать более высокие частоты. В настоящее время результаты МИТ отображаются в таком же или даже худшем качестве, чем результаты ЭИТ [134]. Этот метод имеет перспективы при диагностике патологий головного мозга, поскольку магнитные поля легко проходят через черепную коробку, а также для исследования процессов в грудной клетке или брюшной полости, если удастся увеличить чувствительность.

ЭИТ с магнитным резонансом (магнитно-резонансная ЭИТ) требует использования МРТ-сканера. Суть метода заключается в том, что электрический ток, проходя через исследуемый объект, генерирует небольшое магнитное поле, которое улавливается с помощью МРТ. Модель удельного сопротивления в трех измерениях может быть получена с помощью изменения изображений МРТ. Данный метод позволяет получить томографические изображения с более высоким разрешением, чем результаты, полученные при использовании ЭИТ. Однако, существенным недостатком является необходимость применения МРТ-томографа, что сказывается на увеличении массогабаритов и уменьшении мобильности оборудования.

С помощью ЭИТ с магнитным резонансом создаются более точные карты удельного сопротивления. Карты в дальнейшем могут использоваться для реконструкции алгоритмов в ЭИТ и изучения функционального состояния головного мозга.

Применение вышеописанных систем в криохирургии затруднительно, так как электроды-катушки, используемые в МИТ, имеют достаточно большой размер (около 1 см в диаметре) и из-за дополнительных требований, которые накладываются на измерительную аппаратуру, возникает сложность в уменьшении массогабаритных параметров [134]. ЭИТ с магнитным резонансом требует отдельного МРТ-сканера, поэтому невозможно создать компактную переносную систему. В связи с этим невозможно использовать данный метод в криохирургии.

## 2.4 Постановка задачи

В медицине давно известно о проведении исследований биологической ткани с помощью импеданса [135–140]. В работах [34; 35; 141–145] изучались свойства замораживаемой ткани с помощью определения импеданса. Для определения глубины холодового воздействия возможно применение инвазивных и неинвазивных методов. Наиболее распространенный инвазивный метод воздействия заключается во введении игольчатого электрода в исследуемую ткань, с последующим локальным охлаждением ткани вокруг электрода. Измерение сопротивления чаще всего происходит с помощью переменного электрического тока частотой от нескольких кГц. Данный метод достаточно прост, но выделяют следующие недостатки, вследствие которых падает точность инвазивного метода:

- разная скорость охлаждения ткани и металлической иглы, из-за чего область вокруг иглы замерзает быстрее, чем прилегающая охлаждаемая область;
- образование жидкости между контактом игла-ткань, которая так же будет замерзать быстрее прилегающих областей;
- поляризация электрода или тканей биообъекта, что может вызвать дрейф изолинии и понизить точность в измерении;

- неоднородность биологической ткани, в следствии чего, скорость охлаждения на разных участках будет различаться.

Устранить вышеописанные недостатки можно с помощью использования неинвазивного измерения распределения импеданса внутри исследуемого объекта. Для получения точных данных необходимо проводить большое количество независимых измерений зондирующего сигнала с частотой от нескольких кГц до сотен тысяч кГц и амплитудой электрического тока равной безопасному уровню. Преимущества данного метода диагностики заключаются в следующем: низкая стоимость диагностического исследования; возможность визуализации патологической ткани на всех этапах проведения криохирургической процедуры; безопасность; компактность устройства; неинвазивность процедуры.

Среди недостатков данного метода можно выделить: результаты исследования с более низким качеством разрешения, чем у МРТ и компьютерной рентгеновской томографией; сложность математических расчетов и множество параметров, которые нужно учитывать для проведения корректного измерения импеданса.

Данный метод может использоваться в криомедицине, так как обладает высокой чувствительностью, что важно для определения границы холодового воздействия. Позволяет визуализировать области ткани перед операцией для проведения более точного воздействия и визуализировать границу замершей области ткани во время операции, а также определить границы крионекроза после окончания операции.

## **Краткие выводы по главе 2**

1. Применение метода ЭИТ нашло свое применение в некоторых областях медицинской диагностики – маммографии, визуализации легких. В настоящее время проводятся экспериментальные исследования по возможности использования метода в других областях.

2. Существующие приборы, применяемые в промышленности, не подходят для измерения импеданса для биообъектов. Необходимо использовать специализированное оборудование, учитывая физические свойства биологической ткани.

3. Применение перспективных методов, таких как магнитоиндукционная и магнитно-резонансная импедансная томографии затруднительно в криохирургии.

4. Метод ЭИТ может быть использован в криохирургии. Во время замораживания биообъекта происходит резкое увеличение импеданса, что является надежным индикатором образования ледяных структур и использоваться для визуализации области криодеструкции с использованием метода ЭИТ.

## ГЛАВА 3 РАЗРАБОТКА ПРОГРАММНО-АППАРАТНОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ КОНТРОЛЯ ПРОЦЕДУРЫ ПРОВЕДЕНИЯ КРИОДЕСТРУКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ИМПЕДАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ

### 3.1 Разработка экспериментального исследования и модулей экспериментальной установки

Первым этапом выполнения работы являлась разработка экспериментального исследования метода визуализации зоны криодеструкции биологических тканей.

Эксперименты проводятся с целью получения, изучения и последующей обработки полученных данных для визуализации границы и глубины промерзания в исследуемых объектах и образцах. Для получения релевантных данных разработан следующий алгоритм проведения экспериментальных исследований:

а) включение измерительной аппаратуры, подключение датчиков и электродов к исследуемому образцу;

б) начало регистрации, электрических параметров с исследуемого образца;

в) регистрация электрических параметров;

1) во время исследования спектральных характеристик планируется охлаждение исследуемого образца до температуры как минимум минус 50 °С с последующим нагревом до температуры плюс 20 °С. Скорость охлаждения и нагрева при этом должна составлять не менее 10 °С/мин и не более 200 °С/мин;

2) для получения томографических изображений планируется визуализация исследуемого объекта в начальных условиях, в охлажденном и промежуточном состоянии;

г) прекращение регистрации, электрических параметров с исследуемого образца. Сохранение полученных результатов;

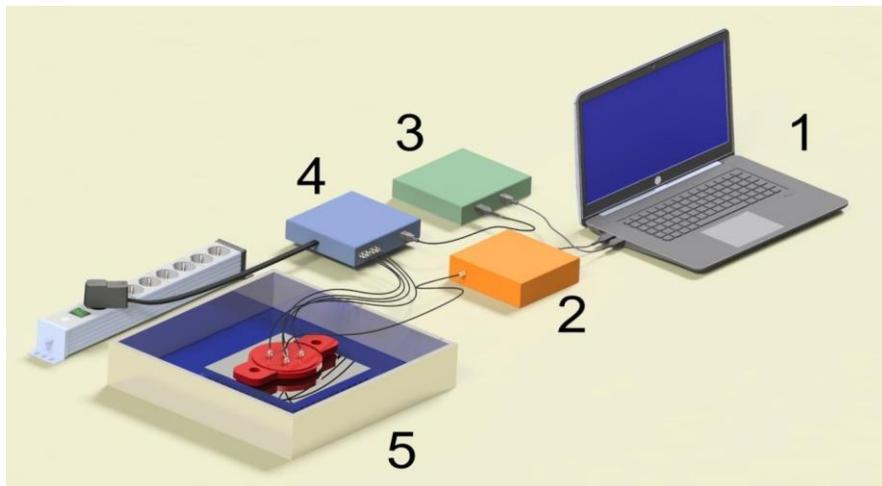
д) обработка полученных результатов с целью исследования электрической проводимости и диэлектрической проницаемости при воздействии низких температур на исследуемые образцы;

е) при необходимости, визуализация зоны криохирургического воздействия на исследуемые образцы.

С учетом предложенного алгоритма выполнения экспериментального исследования в разрабатываемой системе предложено использовать следующее оборудование, представленной в соответствии с рисунком 3.1.

1. Программно-аппаратный комплекс, используемый принцип ЭИТ, состоящий из источника и приемника зондирующего сигнала.

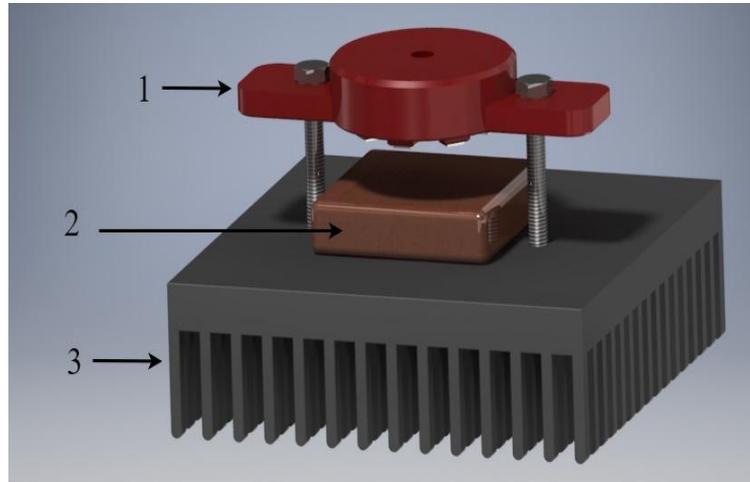
2. Криосенсор для исследования спектров биообъектов. Используется во время медленного охлаждения и нагрева образцов (от минус 50 °С и ниже до плюс 20 °С), более подробно показанный в соответствии с рисунком 3.2. Исследуемый образец помещается между радиатором и криосенсором. Для начала процедуры охлаждения криосенсор помещают в охлаждающую установку в соответствии с рисунком 3.1 (цифра 5) и постепенно приливают хладагент.



1 – ноутбук (система управления и получения томографических изображений); 2 – аналого-цифровой преобразователь; 3 – модуль измерения температуры; 4 – модуль зондирующих импульсов; 5 – охлаждающая установка для исследования биоимпедансных спектров.

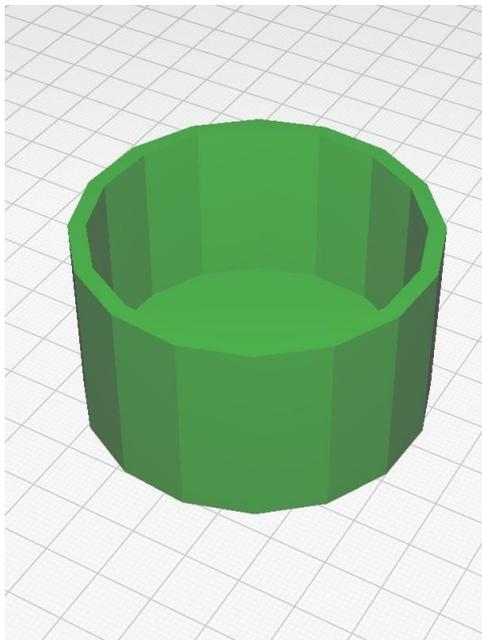
Рисунок 3.1 – Внешний вид разрабатываемой экспериментальной установки

3. Набор измерительных ячеек со встроенными датчиками и электродами для двумерной и трехмерной визуализации исследуемых объектов, показанной в соответствии с рисунком 3.2.



1 – криосенсор; 2 – исследуемый образец; 3 – радиатор для охлаждения и нагрева исследуемого образца.

Рисунок 3.2 – Установка по исследованию процесса заморозки и нагрева исследуемых образцов биологической ткани



Слева – трехмерный прототип ячейки, справа – изготовленная ячейка, винты выступают в качестве электродов.

Рисунок 3.3 – Измерительная ячейка для двумерной и трехмерной визуализации исследуемых объектов

## **3.2 Материалы и компоненты экспериментальной установки, разработка структурной схемы**

Основным элементом экспериментальной установки является аппаратный модуль, работающий на принципе ЭИТ. Аппаратный модуль состоит из двух составных частей: передатчик, представляющий собой генератор зондирующих электрических импульсов; приемник – аналого-цифровой преобразователь (АЦП), определяющий разность потенциалов между электродами в исследуемом объекте.

Для проведения экспериментальных исследований биоимпедансного спектра, необходимо разработать охлаждающую установку (криостат) для охлаждения и нагрева исследуемых образцов способную замораживать исследуемые образцы до температуры минус 50 °С и ниже, с возможностью нагрева до температуры плюс 20 °С и выше. Конструкция должна иметь возможность для быстрого извлечения, замены исследуемых образцов, а также нагрева. За основу была предложена конструкция теплоизоляционных камер, доработанная для проведения экспериментов. Материалы криостата должны выдерживать температуры охлаждения хладагентом, а корпус хорошо теплоизолирован.

### **3.2.1 Выбор хладагента**

В настоящее время в холодильных системах и криостатах используются различные хладагенты. На практике нашли применение около 30–40 рабочих веществ. К наиболее распространенным хладагентам относят аммиак, фреоны, углеводороды, сжиженные газы.

Проведение экспериментальных исследований по заморозке различных образцов, в том числе и биологических тканей, предъявляют достаточно жесткие требования к ходу проведения экспериментов. Среди основных типов выделяют следующее:

- безвредность. Хладагент должен быть безопасен для экспериментатора, так и не должен воздействовать на исследуемые образцы;

- низкой температурой хладагента, позволяющий охлаждать исследуемые объекты до температуры минус 50 °С и ниже;
- возможность работать при нормальном атмосферном давлении;
- низкая стоимость хладагента.

Наиболее подходящим хладагентам являются диоксид углерода (CO<sub>2</sub>) и азот (N<sub>2</sub>). По сравнению с аммиаком или фреонами для проведения экспериментальных исследований не требуется дорогостоящая холодильная установка. Стоимость заправки сосуда Дьюара, баллона с углекислым газом, либо сухого льда низка. С помощью использования сжиженного газа можно быстро производить замораживание. Оба типа хладагента являются малоопасными (4 класс опасности). Однако, у азота в сжиженном состоянии имеет ряд преимуществ. Например:

- Удобство использования. При нормальном атмосферном давлении сжиженный азот представляет собой жидкость, а диоксид углерода (углекислый газ) может находиться в твердой или газообразной форме. При работе с газообразной формой углекислого газа необходимо использовать газовое оборудование, работающее при высоком давлении (около 60 атмосфер), что требует специального оборудования. При работе с твердой формой углекислого газа не обеспечивается равномерный контакт сухого льда с охлаждающей поверхностью, вследствие чего охлаждение неравномерно.
- Более низкая температура хладагента. У жидкого азота она составляет минус 196 °С. У диоксида углерода (сухой лед) – минус 79 °С.

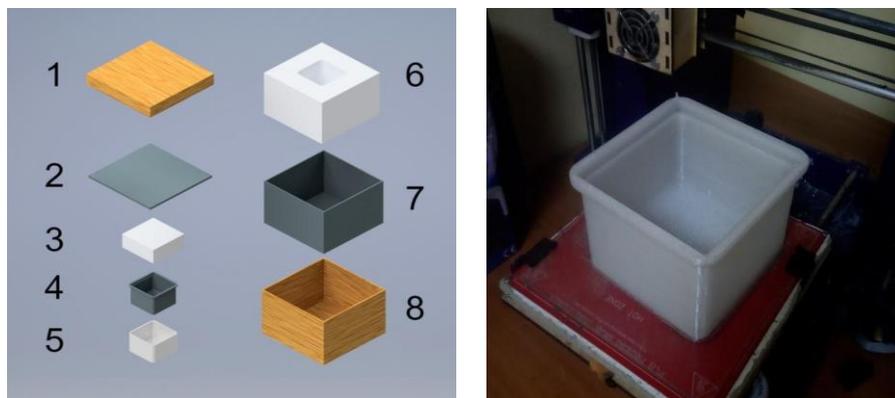
### **3.2.2 Разработка и изготовление криостата**

Криостат предназначен для искусственного снижения и поддержания пониженной температуры окружающей среды. В подобных установках система теплообмена с охлаждаемым объектом изготавливают по замкнутой или разомкнутой системе. Для простоты проведения экспериментальных исследований по изучению спектральных характеристик, предложено использовать разомкнутую систему теплообмена. Основные элементы конструкция состоит из:

- криокамеры – герметичной ёмкости, куда будет заливаться жидкий азот. Внутри будет находиться радиатор и исследуемый образец биологической ткани;
- теплоизоляционного слоя – предназначен для предотвращения первичных и конечных теплопотерь внутри криостата;
- внешнего корпуса криостата – защищает теплоизоляционные материалы от внешних воздействий;
- крышки криостата – уменьшает теплопотери во время проведения экспериментов.

В среде автоматизированного проектирования Autodesk Inventor был разработан цифровой прототип холодильной камеры. Габариты проектируемого изделия составляют:  $340 \times 340 \times 225$  (мм). В качестве материала использован PET-G пластик из-за способности выдерживать низкие температуры и низкой термоусадки.

Рабочая зона холодильной камеры  $120 \times 120 \times 80$  (мм), показанный в соответствии с рисунком 3.4.



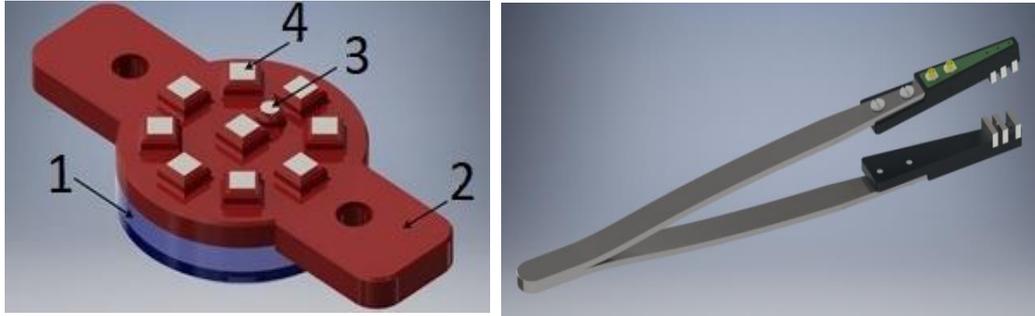
Слева – устройство криокамеры, где 1 – крышка холодильной установки; 2 – фольгированный пенополистирол; 3 – пенопласт; 4 – камера для жидкого азота; 5 – фольгированный пенополистирол; 6 – пенопласт; 7 – фольгированный пенополистирол; 8 – внешний корпус.

Справа – изготовленная камера для жидкого азота с помощью технологии 3D печати, материал: PET-G пластик.

Рисунок 3.4 – Устройство криокамеры

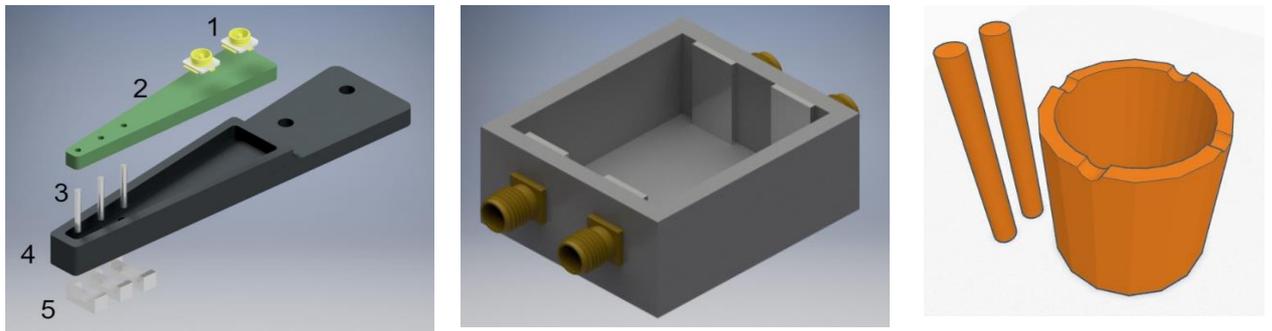
### 3.2.3 Прототипирование и изготовление криосенсоров

Криосенсор подключается непосредственно к биологическому объекту, используется для подачи и снятия электрических сигналов с исследуемого образца. В результате, было разработано несколько вариантов криоинструмента, показанные в соответствии с рисунками 3.5 и 3.6.



Слева – внешний вид криосенсора с девятью электродами и одной термопарой, где 1 - крышка криосенсора; 2 – корпус криосенсора; 3 – датчик температуры (термопара); 4 – электрод. Справа – внешний вид криопинцета.

Рисунок 3.5 – Криосенсор и криопинцет



Слева – устройство наконечника криопинцета, где 1 – помехозащищенные разъемы; 2 – стеклотекстолитовая плата; 3 – соединительный проводник; 4 – корпус наконечника; 5 – электроды. Посередине – внешний вид измерительной ячейки для точечного охлаждения исследуемого образца. Справа – модель измерительной ячейки для двумерной и трехмерной визуализации с тестовыми фантомами.

Рисунок 3.6 – Наконечник криопинцета и измерительные ячейки для точечного охлаждения, двумерной и трехмерной визуализации

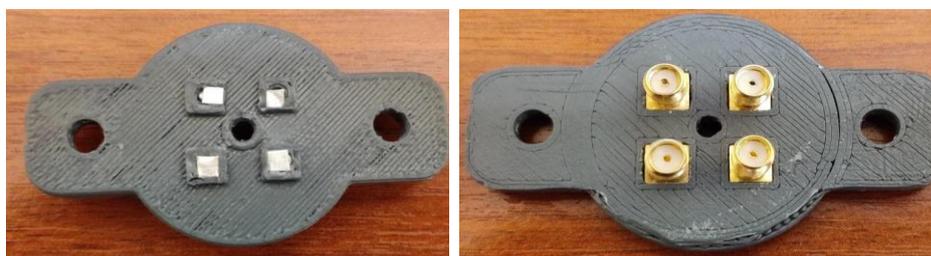
Проектируемые криосенсоры имеют несколько электродов, необходимых для пропускания электрического тока и снятия электрического потенциала с исследуемого биообъекта. К электродам должен подключаться разъем для

передачи данных на микроконтроллер. В некоторых вариантах криосенсора предусмотрена возможность подключения термопары для измерения внутренней температуры. Материал изготовления криосенсоров – PET-G пластик.

В результате изготовлено несколько вида криосенсоров:

- 1) криосенсор с датчиком температуры с четырьмя, девятью и двенадцатью электродами;
- 2) пинцет с криосенсором;
- 3) измерительные ячейки для точечного охлаждения различной длины и ширины;
- 4) измерительные ячейки в форме цилиндра для двухмерной и трехмерной визуализации.

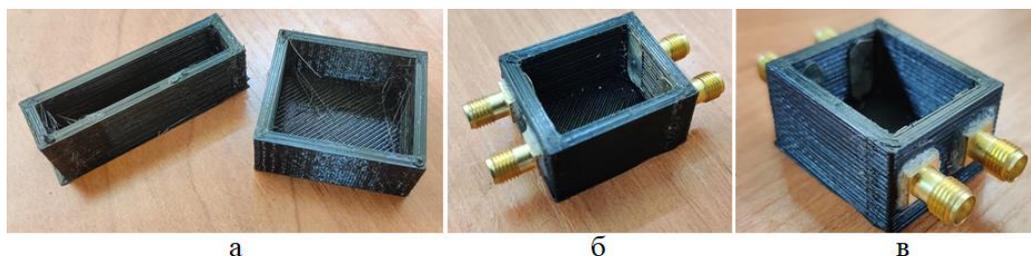
Разработанные криосенсоры показаны в соответствии с рисунками 3.7–3.10. В ходе дальнейших тестирования была подтверждена надежность конструкции и правильность выбора материалов для их изготовления.



Слева – лицевая сторона с установленными электродами.

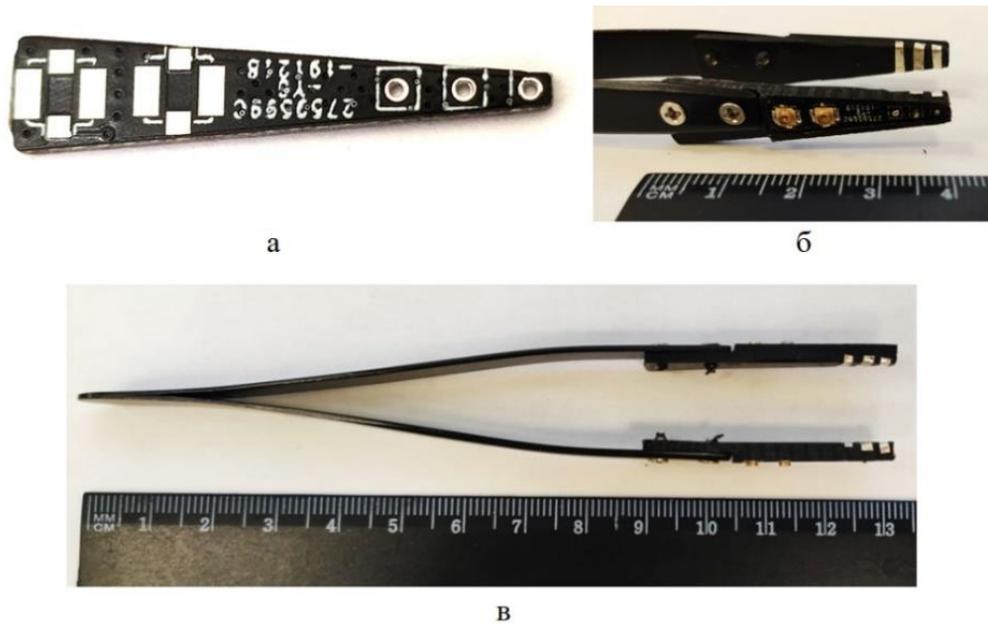
Справа – обратная сторона с установленными высокочастотными разъемами.

Рисунок 3.7 – Криосенсор с четырьмя электродами



а – внешний вид измерительных ячеек без установленных электродов и разъемов; б, в – измерительная ячейка с установленными электродами и разъемами.

Рисунок 3.8 – Измерительная ячейка для точечного охлаждения образцов



а – промышленно изготовленная печатная плата, компонент для подключения электродов и разъемов; б – наконечник криопинцета в сборе; в – внешний вид криопинцета.

Рисунок 3.9 – Внешний вид криопинцета



Слева – измерительная ячейка для трехмерной визуализации (винты-электроды располагаются в два ряда).

Справа – измерительная ячейка для двухмерной визуализации (винты-электроды расположены в ряд). Внутри ячейки расположены фантомы, для проведения тестовых визуализаций.

Рисунок 3.10 – Набор измерительных ячеек для визуализации

### 3.2.4 Разработка структурной схемы и выбор основных электронных компонентов

Электрическая часть установки состоит из следующих основных модулей:

- модуль приёма и обработки данных;
- система управления;
- модуль зондирующих импульсов (цифро-аналоговый преобразователь (ЦАП));
- АЦП необходим для получения разности потенциалов, пропускаемых через исследуемый объект;
- мультиплексор, используется при многоканальном измерении. Увеличивает количество пар электродов с 2 до  $n$ , где  $n$  – разрядность мультиплексора;
- модуль измерения температуры с термопарой используется в случае необходимости измерения температуры.

Более подробная структурная схема представлена в соответствии с рисунком 3.11.

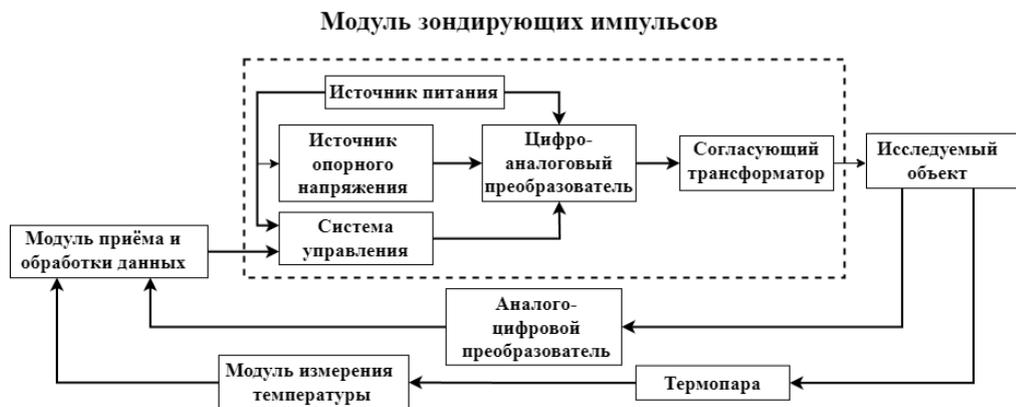


Рисунок 3.11 – Структурная схема электрической части установки. Источники питания не показаны

Устройство работает следующим образом. При включении устройства, Система управления инициализирует основные блоки. При получении разрешающей команды от модуля приема и обработки данных происходит активация устройства. ЦАП начинает генерировать зондирующий ток безопасного

уровня на исследуемый объект. Сигнал попадает на согласующий трансформатор и электроды, подключенные к исследуемому объекту. При многоканальном измерении задействуется мультиплексор. Далее, АЦП регистрирует разность потенциалов с другой пары электродов, подключенных к исследуемому объекту. Происходит первичный сбор и обработка данных, затем передача информации на модуль приёма и обработки данных.

В качестве модуля приёма и обработки данных будет использоваться персональный компьютер, ноутбук, либо миникомпьютер, со специальным программным обеспечением для анализа и обработки получаемой информации.

Система управления необходима для управления основными модулями устройства. В качестве системы управления может подойти любая система на кристалле (System-on-a-Chip). Во время разработки устройства предложено использовать микроконтроллеры серии STM32, компании ST electronics. Данный выбор обусловлен несколькими особенностями: высокой доступностью микросхем на отечественном рынке; широкой номенклатурой (семейств) микроконтроллеров; более низкой ценой, относительно других производителей; простотой использования (производитель предоставляет множество примеров разработки встроенного программного обеспечения, собственным программным обеспечением, облегчающим работу с микросхемой).

Для связи с персональным компьютером, либо ноутбуком предложено использовать USB интерфейс, как самый универсальный и распространенный.

АЦП переводит разность потенциалов, полученных в ходе прохождения зондирующего сигнала через исследуемый объект в цифровой код, с которым происходит первичная обработка. Первично обработанный сигнал передается для дальнейшей обработки в модуль приёма и обработки данных. АЦП должен иметь большую разрядность (не менее 10), для более точной регистрации импульсов, подаваемых от ЦАП. Для передачи полученных данных на компьютер предложено использовать USB интерфейс.

На начальном этапе разработки устройства, в качестве модуля аналого-цифрового преобразования, предложено использовать внешний

быстродействующий модуль E20-10 [146]. Модуль построен на основе ПЛИС одним АЦП. Основными достоинствами модуля является низкий уровень шумов с разрядностью равной 14 бит и максимальной частотой преобразования равной 10 МГц. Количество каналов модуля – 4. При дальнейшей разработке модуль E20-10 был заменен на микросхему АЦП Ltc2245 с близкими характеристиками [147].

В качестве генератора зондирующего тока использовался ЦАП с токовым выходом. В дальнейшем, при разработке экспериментальной установки использовалась микросхема AD9764 (14 разрядный, до 125 мега выборок в секунду), производитель Analog Devices.

В случае необходимости, предусмотрена возможность измерения температуры внутри биообъекта, с помощью модуля измерения температуры. В качестве температурного датчика использовалась термопара совместно с микросхемой MAX31855 [148]. Особенностью микросхемы является возможность регистрации температуры с термопары в широком диапазоне от минус 270 °С, максимальная температура плюс 1800 °С.

### **3.2.5 Меры по повышению электробезопасности и помехозащищенности устройства**

Тема электробезопасности для медицинских устройств сложна и описана во множестве книг и стандартов как в России, так и зарубежном [149–153]. Существует ключевое различие между электрическими медицинскими устройствами, в которых путь протекания электрического тока проходит через сердце опасный уровень электрического тока может начинаться от нескольких десятков мкА, опасность «микрошока») и там, где путь протекания электрического тока лежит далеко от сердца (как правило, к таким системам относятся большинство систем ЭИТ, где больший уровень тока безопасен, опасность «макрошока») [154; 155]. Действующий стандарт ГОСТ Р МЭК 60601-1-2010 Изделия медицинские электрические (IEC 60601-1:2005 «Medical electrical equipment») и его части, регламентирует в том числе электрические требования,

предъявляемые к медицинским изделиям. Одно из требований стандарта заключается в соблюдении уровня Дополнительного тока в цепи пациента (Patient auxiliary current) – уровень тока, не приводящий к физиологическому воздействию. Для устройств типа В (не предназначенных для прямого соединения на сердце пациента), при переменном токе и нормальном состоянии, дополнительный ток должен составлять не более 10 мкА, что на первый взгляд, может являться на максимальным выходным уровнем тока, в экспериментальной установке. Однако, данные требования допустимы для питающей сети с частотой тока 50 и 60 Гц. Стандарт гласит, что для постоянного и переменного тока сложных форм, риск поражения прямо зависит от частоты. Наиболее высокий риск поражения электрическим током лежит в диапазоне от 10 до 200 Гц, и с ростом частоты снижается. На частоте 1 кГц риск поражения электрическим током в 1,5 раза ниже, чем на частоте максимально высокого риска. Исследования показывают, с дальнейшим ростом частоты, безопасный уровень тока значительно повышается, и составляет около 70 мА на частоте 10 кГц и 100 мА на 1 МГц, в соответствии с рисунком 3.12, и является точкой отсчета максимального уровня выходного тока в экспериментальной установке [156–158].

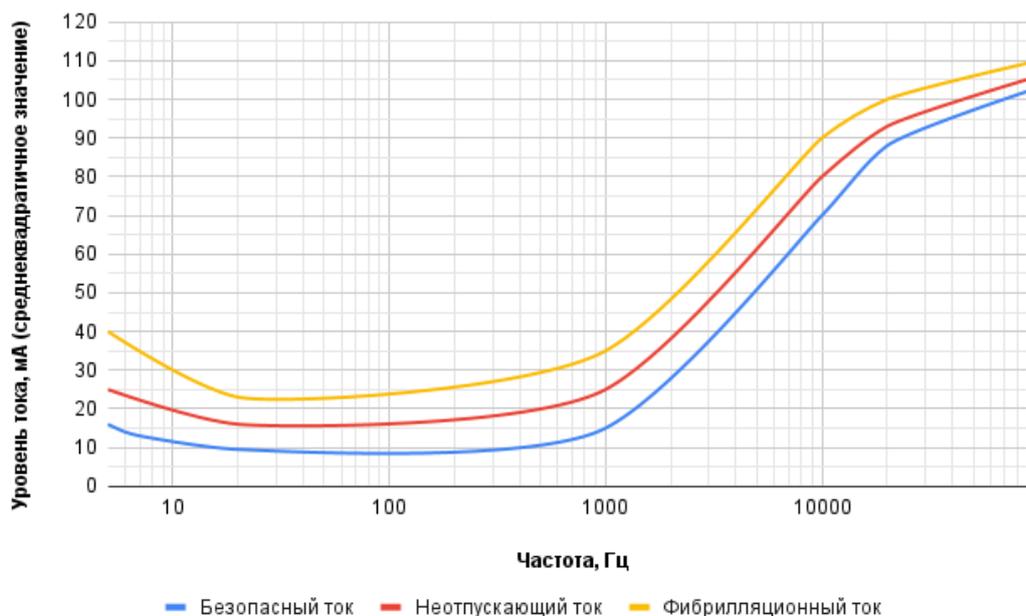
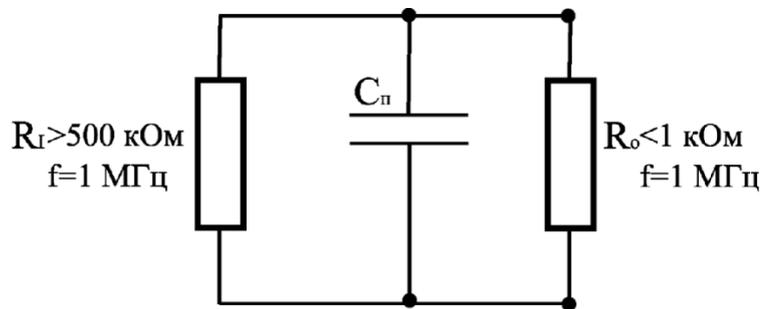


Рисунок 3.12 – Зависимость уровней тока от частоты, где нижняя линия в графике – безопасный ток, средняя линия в графике – неотпускающий ток, верхняя линия в графике – фибрилляционный ток

Для минимизации внешних воздействий на данные, получаемые во время экспериментальных исследований, по визуализации процесса заморозки биологических тканей необходимо исключить влияние (помехи, шумы, наводки) внешней окружающей среды на передаваемые данные.

В разрабатываемой установке использовалась частота передаваемого сигнала до нескольких МГц. В качестве провода для передачи данных, соединения электрических блоков устройств, обеспечения необходимой помехоустойчивости и снижения уровня перекрестных помех был выбран коаксиальный кабель. Использование неэкранированных проводов не позволяет достичь необходимых метрологических характеристик по причине наличия емкостной связи между соседними проводниками. Максимально допустимая величина эквивалентной емкости между проводниками, соединяющими выход источника тока и электродов, определяется из выходного сопротивления источника тока и частоты зондирующего сигнала. Эквивалентная схема показана в соответствии с рисунком 3.13.



$R_I$  – выходное сопротивление источника тока,  $R_o$  – эквивалентное сопротивление измеряемого объекта,  $C_п$  – эквивалентная паразитная емкость.

Рисунок 3.13 – Эквивалентная схема измерений с учетом паразитной емкости между проводами отведений

Выходное сопротивление источника тока составляет не менее 500 кОм на частоте зондирующего сигнала 1 МГц. Относительная погрешность измерения  $R_o$  на этой частоте не должна превышать 5 %. Следовательно, емкостное сопротивление  $C_п$  не должно быть меньше  $20 \times 500 \text{ кОм} = 10 \text{ МОм}$ . По формуле для расчета емкостного сопротивления получаем, что емкость  $C_п < 1,6 \times 10^{-14} \text{ Ф}$ ,

что недостижимо при использовании макроразмерных проводов. Использование коаксиального кабеля позволяет снизить величину эквивалентной паразитной емкости до величины порядка единиц пикофарад.

Связь коаксиального кабеля между электродами и электрическими модулями устройства будет проводиться с помощью миниатюрного коаксиального соединителя типа SMA. Преимущество данного типа соединителя заключается в хорошем экранировании сигнального провода (подавление внешних помех не менее 80 Дб на частотах до 3 ГГц) и возможности работы на высоких частотах вплоть до 18 ГГц, что с избытком перекрывает требуемый диапазон для разрабатываемого решения. К сожалению, электрические характеристики SMA-соединителей на низких частотах (ниже 1 ГГц) не регламентированы, за исключением максимального сопротивления центрального и бокового контактов. Для применения этих соединителей в разрабатываемом устройстве необходимо, чтобы емкость утечки не превосходила величины емкости утечки кабеля. Проведенные измерения показали, что эквивалентная емкость утечки между двумя разъемами, смонтированными на минимальном расстоянии друг от друга, во всем диапазоне рабочих частот составляет не более 1,5 пФ, в соответствии с рисунком 3.14.



Рисунок 3.14 – Эквивалентная емкость утечки разъема SMA в рабочем диапазоне частот

Разъемное соединение оснащено надежным резьбовым соединением, а компактные размеры позволяют удобно разместить на корпусе криосенсора измерительных ячеек и печатной платы требуемое количество соединителей.

Минимизация помех, поступающих от модуля приема и обработки данных, производилась с помощью дополнительной гальванической развязки на линиях USB. Она может быть выполнена с помощью любого двунаправленного цифрового изолятора, поддерживающий необходимую скорость. В качестве цифрового изолятора USB, выступала микросхема серии ISO772х, компании Texas Instruments [159]. Микросхема использовалась для передачи данных от Системы управления до Модуля приема и обработки данных. В дальнейшем, при разработке программного обеспечения и отладки прибора, дополнительно была задействована гальваническая развязка для программатора. В виде готового модуля USB-USB цифрового изолятора, выполненный на микросхеме ADUM3160, представленного в соответствии с рисунком 3.15. Питание программатора осуществляется с помощью стабилизированного DC-DC изолированного преобразователя [160; 161].

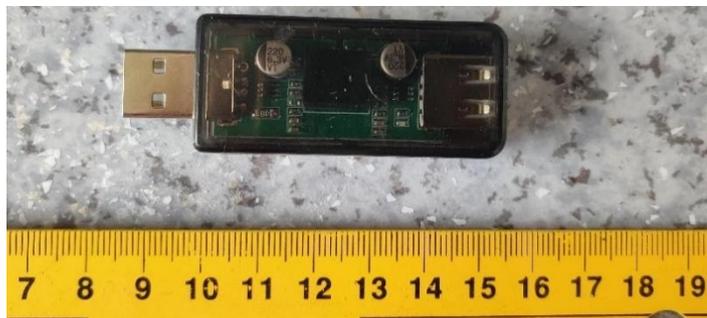


Рисунок 3.15 – USB-USB цифровой изолятор выполнен на микросхеме ADUM3160

Согласующий трансформатор, изготовленный в корпусе EF 20 [162]. Совмещает две основные функции: согласует нагрузку между ЦАП и исследуемым объектом, и дополнительно, обеспечивает гальваническую развязку, исследуемого объекта от электрической части устройства.

### 3.3 Основные модули экспериментальной установки

#### 3.3.1 Плата электрического импедансного томографа

Первым этапом разработки генератора зондирующих импульсов была разработка структурной схемы с учетом технических требований: частота выходного сигнала должна составлять от 10 до 1000 кГц [163; 164]. Ранее (см. пункт 3.2.5), был рассмотрен максимальный безопасный допустимый уровень выходного тока, который должен составлять не более 70 мА на частоте от 10 кГц.

С учетом технических требований из раздела была предложена структурная схема, в соответствии с рисунком 3.16.



Рисунок 3.16 – Структурная схема модуля генератора зондирующих импульсов

Разработанный модуль состоит из следующих компонентов: системы управления, источника опорного напряжения, ЦАП и согласующего трансформатора.

**Система управления.** В качестве основного компонента системы управления микросхемой ЦАП предложен микроконтроллер серии Stm32 (производитель компания STMicroelectronics). В ходе работы опробовано несколько моделей: STM32F103 и STM32H750. Начальный этап разработки устройства проходил на более простой системе. Основная задача генератора осуществлялась в генерации зондирующих импульсов в одноканальном режиме без возможности синхронизации. В дальнейшем, в ходе модернизации устройства, от системы управления потребовались дополнительные функции: сбор данных от

АЦП, первичная цифровая фильтрация сигнала, синхронизация работы по времени, реализация многоканального режима работы. В качестве замены использована более производительная серия STM32H750. Преимущества обоих решений: простота разработки, низкая стоимость, низкое питающее напряжение, необходимое быстроедействие для выполнения задач для генерации зондирующих сигналов.

**Источники питания.** Для повышения качества выходного сигнала, необходимо максимально минимизировать электромагнитные помехи, попадающие на печатную плату. Одним из основных источников помех являются помехи, попадающие на плату по цепям питания. Для их минимизации, подойдет любой линейный стабилизатор необходимой мощности. В качестве такого был использован стабилизатор AP1117 с выходным напряжением 3,3 В и выходным током до 1 А [165]. Питание на плату будет осуществляться через Type-C USB разъем с подключением внешнего источника питания.

В качестве формирователя отрицательного напряжения, необходимого для работы аналоговых мультиплексоров, использовался изолированный DC/DC преобразователь A0505S. Кроме основной функции – формирования отрицательного напряжения с низким уровнем помех, модуль дополнительно производит фильтрацию линии 5 В, которая используется для аналоговых мультиплексоров. Для подключения модуля, использовалась стандартная схема, предложенная производителем и показанная в соответствии с рисунком 3.17 [166].

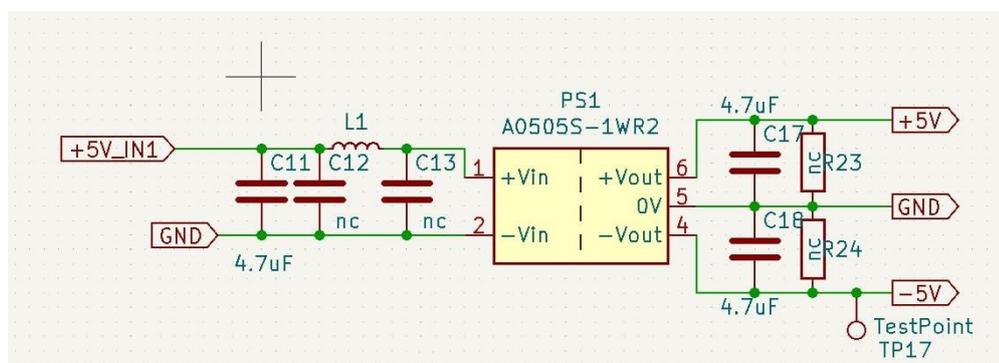
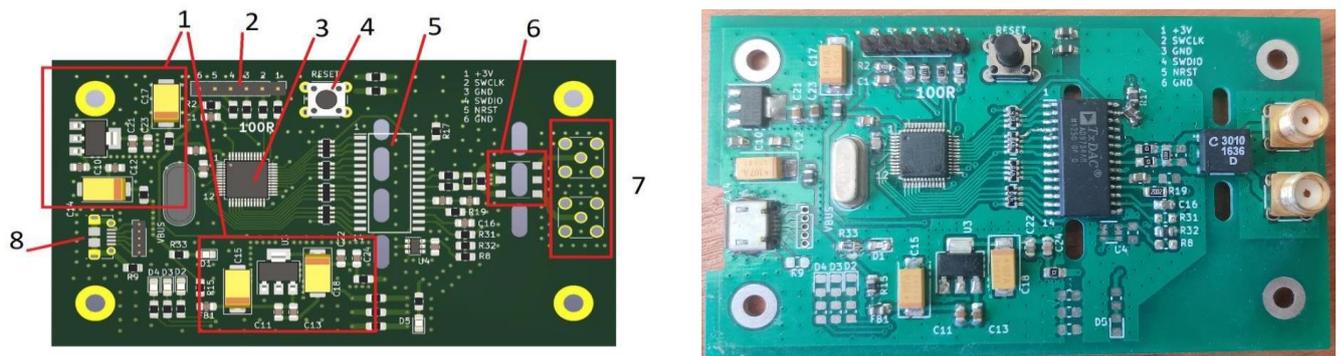


Рисунок 3.17 – Схема подключения DC/DC преобразователя A0505S

**Цифро-аналоговый преобразователь.** ЦАП необходим для генерации выходных зондирующих импульсов на исследуемый объект. К данному компоненту устройства предъявляются высокие требования к качеству воспроизводимого сигнала. Также ЦАП должен быть достаточно скоростным для генерации высокочастотных сигналов, иметь большую разрядность и низкий уровень собственных помех. В качестве ЦАП была выбрана микросхема AD9764 (производитель компания Analog Devices) с токовым выходом от 2 до 20 мА. С учетом требований (см. пункт 3.2.5), данный уровень тока является безопасным при использовании на пациенте. Максимальная частота работы преобразователя составляет до 125 мега выборок в секунду, разрядность – 14 бит.

**Согласующий трансформатор.** Основное назначение трансформатора заключается в согласовании нагрузки между выходом микросхемы ЦАП и исследуемым объектом. Дополнительно трансформатор обеспечивает гальваническую развязку между электрической схемой и биообъектом, а также повышает помехозащищенность схемы (см. пункт 3.2.5). В ходе разработки устройства было протестировано несколько решений. На начальном этапе разработки устройства использовались различные телекоммуникационные трансформаторы, применяемые в ADSL модемах. Например, широкополосный трансформатор PWB3010LB (производитель Coilcraft) с частотными характеристиками от 3,5 кГц до 125 МГц, который с запасом покрывает планируемый частотный диапазон от 10 кГц до 1 МГц [167]. После проведения тестирования согласующего трансформатора, данное решение выявило недостаток – затухание сигнала на низких граничных частотах. В дальнейшем согласующий трансформатор был заменен на трансформатор собственного изготовления с использованием стандартного каркаса и сердечника EF 20 [168]. Несмотря на выявленные недостатки, телекоммуникационные трансформаторы применялись в некоторых экспериментальных исследованиях.

Завершающим шагом стала разработка первой версии устройства, показанной в соответствии с рисунком 3.18. В качестве среды проектирования использовалась программа KiCad. Разработанный проект передан на производство в компанию JLPCSB. После изготовления на печатную плату напаяны компоненты и произведено тестирование. Итоговый результат работы по изготовлению генератора зондирующих импульсов показан в соответствии с рисунком 3.18 (одна из первых версий устройства).



Слева – цифровой прототип лицевой стороны печатной платы: 1 – понижающие преобразователи для питания компонентов платы, 2 – разъем для программирования, 3 – микроконтроллер, 4 – кнопка сброса (Reset), 5 – ЦАП, 6 – сигнальный трансформатор, 7 – посадочное место для установки sma разъемов, 8 – посадочное место для microUSB разъема (используется для подключения питания).

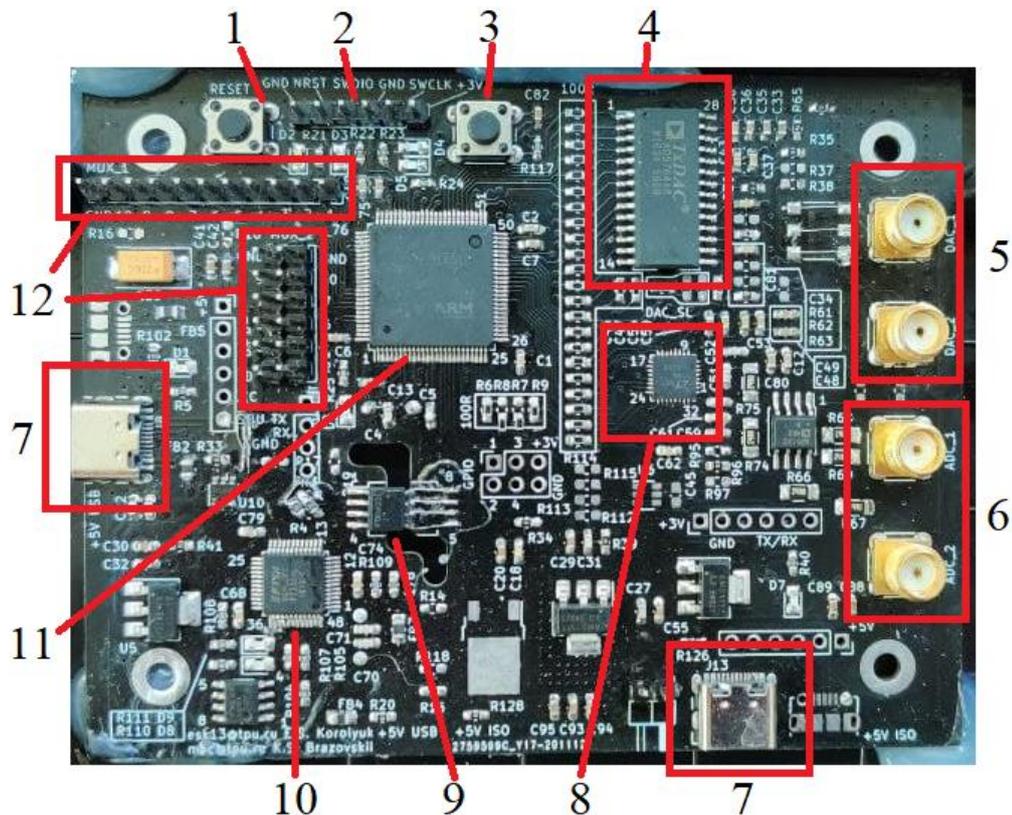
Справа – лицевая сторона изготовленной печатной платы с установленными компонентами.

Рисунок 3.18 – Генератор зондирующих импульсов

Результаты проведенных испытаний показали свою работоспособность – возможность подачи и снятия электрического сигнала высокой частоты на биообъект. Однако, основной недостаток разработанной системы заключался в невозможности работы в многоканальном режиме и синхронизации работы ЦАП и АЦП, для устранения которых потребовалось провести ряд доработок. Модернизация заключалась в добавлении собственного АЦП – Ltc2245, характеристики, сопоставимы АЦП E20-10 [169]. Для управления устройством, использовалась производительная серия микроконтроллеров STM32H750 (производитель компания STMicroelectronics). Передача данных на модуль приема

и обработки данных происходила по протоколу UART. В дальнейшем преобразование протокола UART в USB проводилось с помощью микросхемы FT232HL [170].

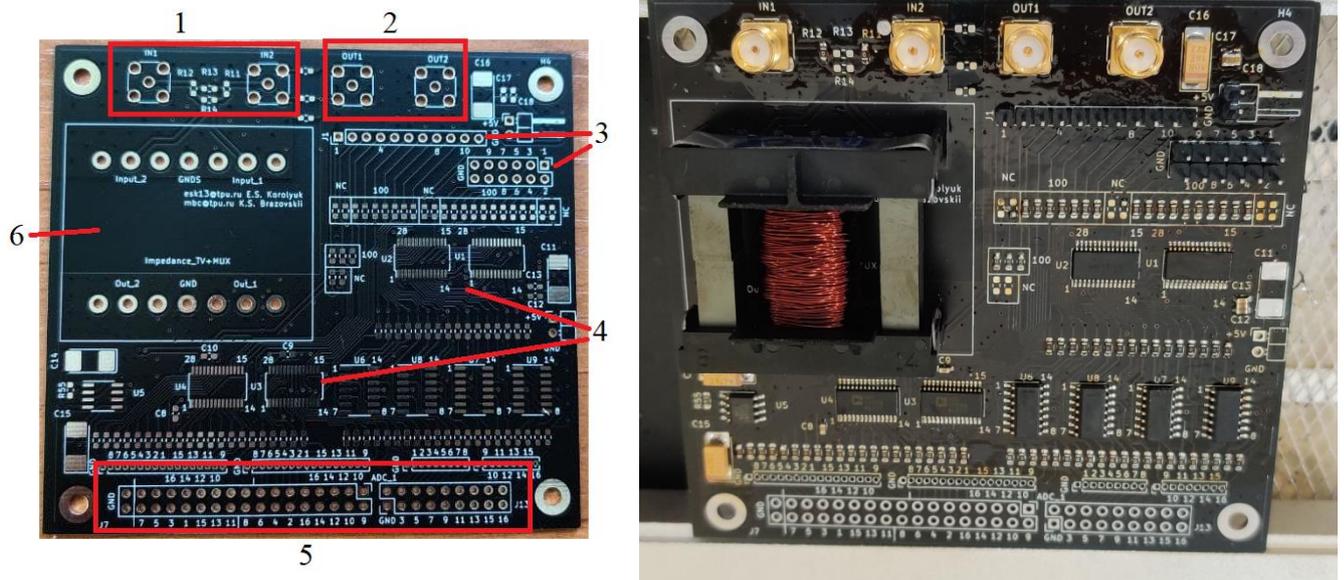
Модернизированная плата включает в себя несколько модулей: генератор зондирующих импульсов; аналого-цифрового преобразования; системы управления; программный модуль первичного приема и обработки, встроенный в микроконтроллер. Готовое устройство показано в соответствии с рисунком 3.19. Эскиз принципиальной схемы платы управления прототипа электроимпедансного томографа показан в приложении Г.



- 1 – кнопка сброса (Reset); 2 – разъем для программирования; 3 – пользовательская кнопка; 4 – ЦАП; 5 – выходной разъем генератора зондирующих импульсов; 6 – входной разъем для получения сигнала от исследуемого объекта; 7 – USB Type-C разъем; 8 – АЦП; 9 – гальваническая развязка для UART протокола; 10 – UART-USB преобразователь; 11 – микроконтроллер; 12 – разъемы для управления платой мультиплексора.

Рисунок 3.19 – Плата управления томографом

Добавление платы мультиплексора к устройству позволяет увеличить количество выходных каналов. Основой платы мультиплексора является микросхема Adg1606 – аналоговый мультиплексор с шестнадцатью каналами и малым сопротивлением открытого канала [171]. Принцип работы платы заключается в следующем: зондирующий сигнал, поступает на плату мультиплексора и согласующий трансформатор, затем проходя через мультиплексор, попадает на исследуемый объект. В этот же момент сигнал от с других электродов проходя через мультиплексор, попадает на АЦП. После получения сигнала система управления переключает выходные и входные каналы, процесс снятия сигнала повторяется снова. Готовая плата показана в соответствии с рисунком 3.20. Эскиз принципиальной схемы платы мультиплексора показан в приложении Д.



Слева – 1 – разъем для подключения генератора зондирующих импульсов (входной разъем); 2 – разъем для АЦП (снятый сигнал от исследуемого объекта) получения сигнала от исследуемого объекта; 3 – разъем для управления микросхемами мультиплексора; 4 – микросхема мультиплексора; 5 – выходные разъемы; 6 – посадочное место для подключения трансформатора.

Справа – плата мультиплексора с напаянными компонентами.

Рисунок 3.20 – Плата мультиплексора

### 3.3.1.1 Метрологические характеристики многоканальной измерительной системы

Многоканальная измерительная система для измерения электрического импеданса в широком диапазоне частот состоит из двух основных модулей: модуля формирования зондирующего сигнала и модуля измерения напряжения с последующим аналого-цифровым преобразованием. Для обеспечения оптимальных характеристик всего измерительного тракта выходные параметры модуля формирования зондирующего сигнала и модуля измерения напряжения должны быть согласованы в пределах допустимой относительной погрешности, не превышающей 5 %.

Источники погрешностей модуля формирования выходного сигнала включают:

- а) относительная погрешность задания выходного тока  $\Delta I_{\text{вых}}$ ;
- б) равномерность амплитудно-частотной характеристики формирователя выходного тока в пределах заданной полосы частот  $\Delta I(f)_{\text{вых}}$ ;
- в) собственный шум формирователя выходного тока  $I_{\text{шум}}$ ;
- г) зависимость выходного тока от сопротивления нагрузки  $\Delta I(R_{\text{н}})$ .

Погрешности представляют собой независимые случайные величины с нормальным распределением, поэтому суммарная погрешность модуля формирования выходного сигнала может быть представлена по формуле (3.1):

$$\Delta I = \sqrt{\Delta I_{\text{вых}}^2 + I_{\text{шум}}^2 + \Delta I(R_{\text{н}})^2} \quad (3.1)$$

где  $\Delta I_{\text{вых}}$  – относительная погрешность задания выходного тока;

$I_{\text{шум}}$  – собственный шум формирователя выходного тока;

$\Delta I(R_{\text{н}})$  – зависимость выходного тока от сопротивления нагрузки.

Измерения погрешностей проводились с использованием поверенного оборудования, имеющего собственную приведенную относительную погрешность измерения не более 0,1 %.

Погрешность  $\Delta I_{\text{вых}}$  определяется параметрами ЦАП и погрешностью задания опорного напряжения. Измеренные значения  $\Delta I_{\text{вых}} < 0,1 \%$  во всем диапазоне частот зондирующего тока.

Измеренная неравномерность амплитудно-частотной характеристики формирователя выходного тока в пределах заданной полосы частот  $\Delta I(f)_{\text{вых}}$  не превышала  $0,5 \%$  на краях диапазона (10 кГц и 1 МГц, соответственно).

Относительная погрешность, обусловленная собственным шумом формирователя выходного тока в диапазоне частот зондирующего тока, обратно пропорциональна величине выходного тока, и в диапазоне безопасных значений от 2 до 10 мА величина  $100 \times I_{\text{шум}}/I_{\text{вых}} < 0,5 \%$ .

Измеренное значение выходного сопротивления формирователя выходного тока  $R_{\text{вых}}$  на частоте 1 МГц составило  $91,8 \pm 0,1$  кОм. При сопротивлении нагрузки не более 900 Ом погрешность, обусловленная конечным выходным сопротивлением формирователя выходного тока, не превысит  $1 \%$ .

Таким образом используя формулу (3.1) и подставляя измеренные данные получаем формулу (3.2):

$$\Delta I = \sqrt{0,1^2 + 0,5^2 + 0,5^2 + 1^2} = 1,23 \% \quad (3.2)$$

Ожидаемая относительная погрешность формирования зондирующего тока не превышает  $1,3 \%$  при величине зондирующего тока от 2 до 10 мА, сопротивлении нагрузки не более 900 Ом и частоте в диапазоне от 10 кГц до 1 МГц. Наибольший вклад в общую погрешность вносит выходное сопротивление формирователя выходного тока.

Относительная погрешность модуля измерения напряжения и АЦП определяется:

- а) минимальным входным сопротивлением во всем диапазоне частот зондирующего тока  $R_{\text{вх}}$ ;
- б) уровнем собственных шумов буферного усилителя  $U_{\text{шум}}$ ;
- в) погрешностью АЦП  $\Delta U_{\text{ацп}}$ .

Считая погрешности независимыми нормально распределенными случайными величинами, формула (3.3) относительной погрешности может быть представлена в виде:

$$\Delta U = \sqrt{\Delta U(R_{вх})^2 + (100 \cdot U_{шум}/U_{вых})^2 + \Delta U_{ацп}^2} \quad (3.3)$$

где  $\Delta U(R_{вх})$  – погрешность измерения входного сопротивления;

$U_{шум}$  – собственный шум буферного усилителя;

$U_{вых}$  – собственный шум формирователя выходного тока;

$\Delta U_{ацп}$  – погрешность АЦП.

Измеренные значения погрешностей:

-  $\Delta U(R_{вх}) < 0,8 \%$  во всем диапазоне частот зондирующего тока и внутреннем сопротивлении источника сигнала не более 900 Ом;

-  $100 \times U_{шум}/U_{вых} < 0,1 \%$  в диапазоне входных напряжений от 5 мВ до 1 В, амплитудное значение;

-  $\Delta U_{ацп} < 0,3 \%$  в диапазоне входных напряжений от 10 мВ до 2 В.

Используя формулу (3.3) и подставляя измеренные значения погрешностей, получаем формулу (3.4):

$$\Delta U = \sqrt{0,8^2 + 0,1^2 + 0,3^2} = 0,9 \% \quad (3.4)$$

Относительная погрешность измерения напряжения не превышает 1 % в полосе частот от 10 кГц до 1 МГц при внутреннем сопротивлении источника сигнала не более 900 Ом и величине входного сигнала от 5 мВ до 1 В.

Суммарная погрешность измерительного тракта при измерении параметров действительной составляющей импеданса представлена формулой (3.5) и составляет:

$$\Delta R = \sqrt{\Delta U^2 + \Delta I^2} = \sqrt{1,3^2 + 0,9^2} = 1,58 \% \quad (3.5)$$

Проведенные измерения основных метрологических параметров показывают, что предложенные схемотехнические решения, выбранные электронные компоненты и конструкция узла печатного монтажа обеспечивают измерения действительной составляющей импеданса в диапазоне от 0,05 до 900 Ом с относительной погрешностью не более 1,6 % в полосе частот от 10 кГц до 1 МГц при величине зондирующего тока от 2 до 10 мА.

### 3.3.2 Встроенное программное обеспечение экспериментальной установки

Алгоритм основной программы показан в соответствии с рисунком 3.21.



Рисунок 3.21 – Алгоритм выполнения основной программы

Программа работает по следующему принципу.

1. При подаче питания на устройство проходит инициализация и настройка периферии устройства; включение интерфейса ввода/вывода (GPIO), таймеров, модуля прямого доступа к памяти (DMA), модуля тактирования. Запуск режима ожидания внешних микросхем: ЦАП и АЦП, аналоговых мультиплексоров.

2. Устройство переходит в режим ожидания и ожидает команду «Запуск» от Модуля приема и обработки данных. В качестве данного модуля выступает персональный компьютер либо ноутбук.

3. В момент получения команды «Запуск» (от персонального компьютера, либо ноутбука), запускается подпрограмма DMA, при выполнении которой происходит генерация зондирующих импульсов через исследуемый объект с помощью ЦАП и одновременного снятия разности потенциалов с исследуемого объекта.

Алгоритм подпрограммы DMA показан в соответствии с рисунком 3.22.

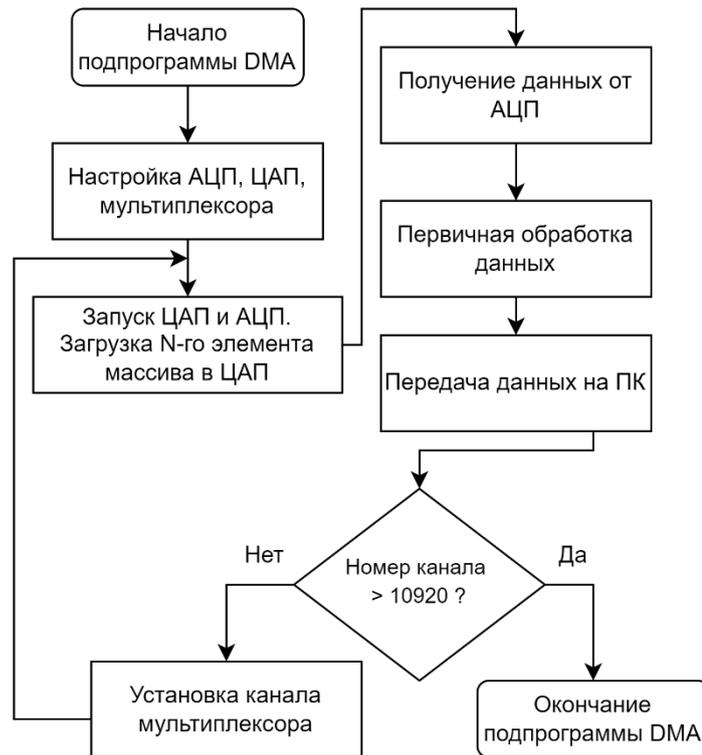


Рисунок 3.22 – Алгоритм выполнения модуля программы DMA

Подпрограмма работает по следующему принципу.

1. Устройство выходит из режима ожидания, происходит настройка внешних микросхем ЦАП и АЦП. Входы и выходы микросхем аналогового мультиплексора устанавливаются начальным этапом работы.

2. Запуск микросхем ЦАП. В ЦАП происходит загрузка N-го элемента массива, в котором сохранен зондирующий сигнала в цифровом виде, запуск АЦП. Передача данных в микросхему ЦАП и от микросхемы АЦП происходит без участия выполнения ядра микроконтроллера с помощью режима DMA.

### 3.3.3 Формирование сигнала зондирующего тока данных

Формирование сигнала зондирующего тока осуществляется методом прямого цифрового синтеза. Ключевыми компонентами установки, определяющими метрологические характеристики, являются высокоскоростной ЦАП с дифференциальным токовым выходом и АЦП с дифференциальным входом, и разрядностью не менее 14 бит и частотой преобразования не менее 10 МГц.

Формирование зондирующего сигнала и управление АЦП осуществляется микроконтроллером МК, содержащего, как минимум, два канала прямого доступа к памяти шириной 16 бит, и не менее 32 линий ввода-вывода. Таким требованиям соответствовали микроконтроллеры архитектуры ARM (Advanced RISC Machine) компании STMicroelectronics STM32F1, STM32F4, STM32H7, а также микроконтроллеры других производителей с близкими параметрами. Особенностью используемого решения для формирования широкополосного сигнала методом прямого цифрового синтеза является использование высокоэффективной архитектуры современных микроконтроллеров, способных обеспечить скорость обмена в режиме DMA до 24 Мбайт/сек. Проведенные измерения показали, что микроконтроллеры серии STM32F4 гарантируют устойчивый прием и передачу данных через порты ввода-вывода со скоростью до 12 Мбайт/сек, что соответствует частоте дискретизации сигнала ЦАП и АЦП 6 МГц. Микроконтроллеры STM32H7 обеспечивают частоту дискретизации до 12 МГц. Микроконтроллеры STM32F1 передачу данных с портов ввода-вывода с частотой дискретизации до 12 МГц без возможности приема.

Широкополосный сигнал зондирующего тока задается выражением:

$$S(x) = h(x) \frac{\sin^2(wx)}{wx}; \quad -\pi \leq x \leq \pi \quad (3.1)$$

где  $h$  – оконная функция, например, Хэмминга.

Выбор параметра  $w$  зависит от требуемой центральной частоты и ширины полосы зондирующего тока. Вычисление дискретных отсчетов ЦАП, соответствующих заданной спектральной характеристики, производится при инициализации микроконтроллера. Форма и спектр сигнала зондирующего тока при некоторых значениях параметра  $w$  приведены в соответствии с рисунками 3.23 и 3.24.

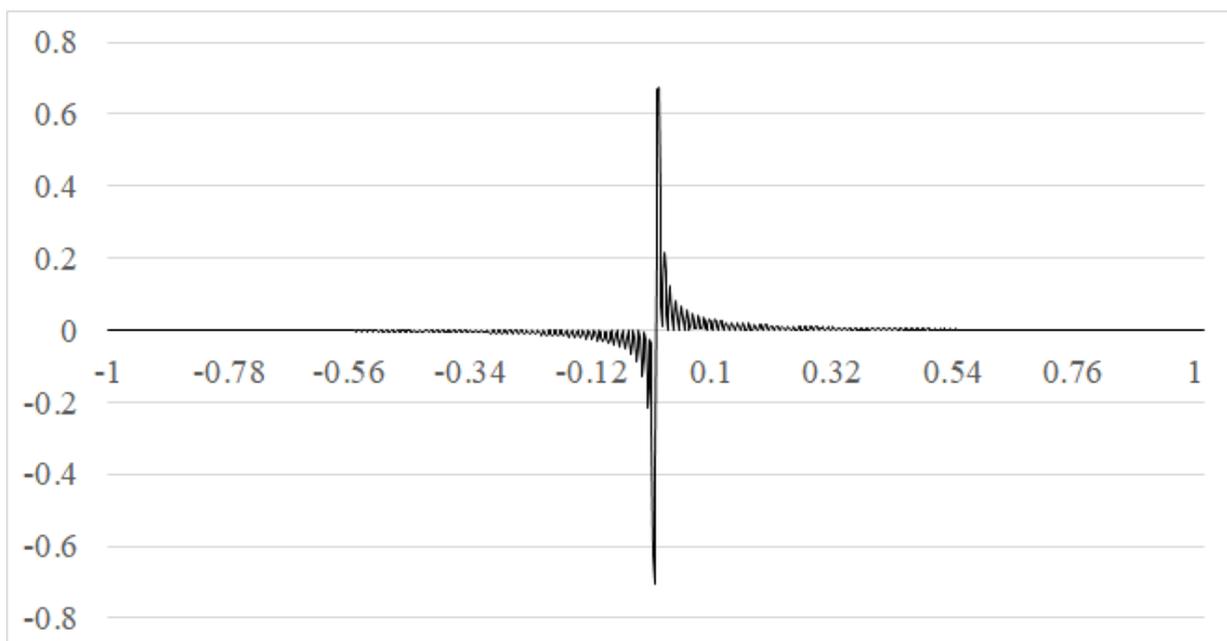


Рисунок 3.23 – Форма сигнала зондирующего тока

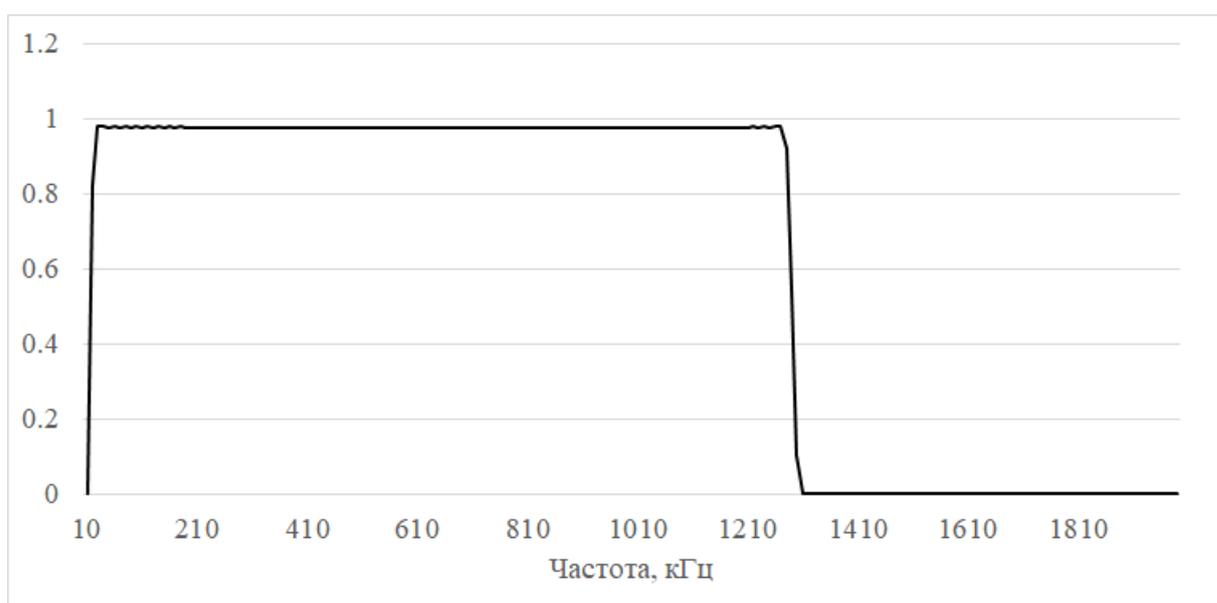
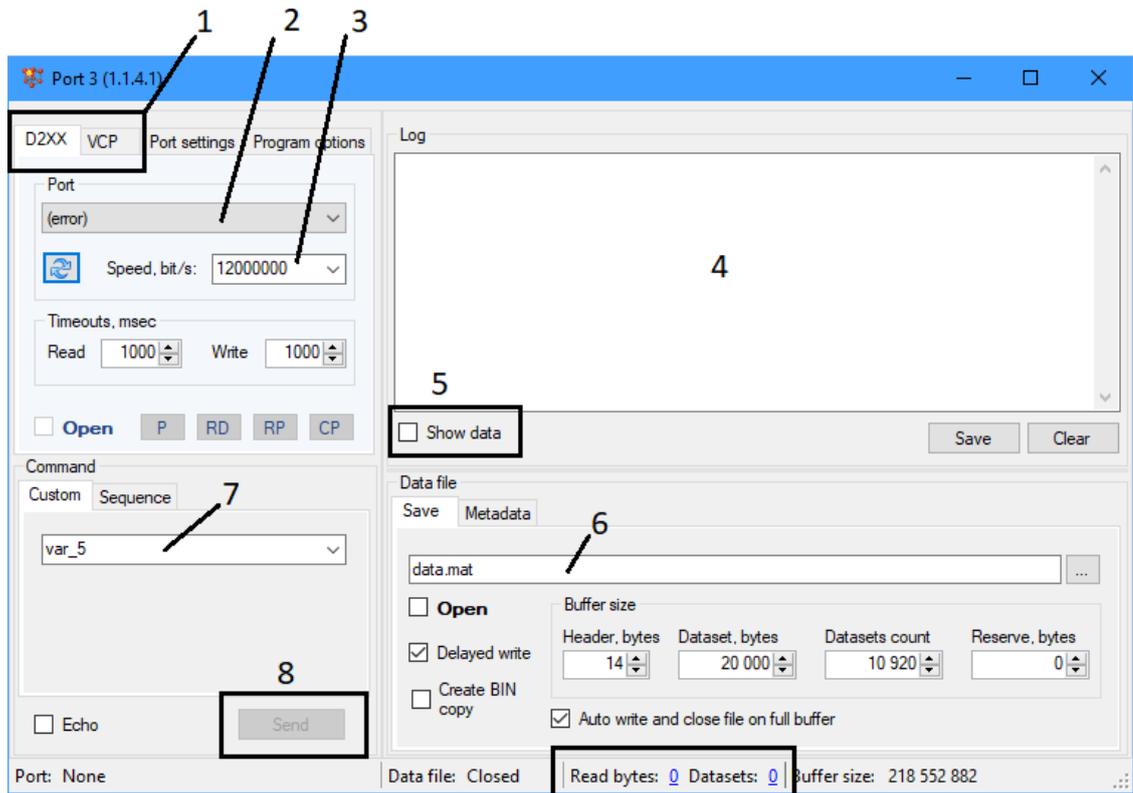


Рисунок 3.24 – Спектр зондирующего тока,  $w = 8$

### 3.3.4 Программное обеспечение для сбора томографических данных

Данные, получаемые от Системы управления экспериментальной установки, осуществляется с помощью программы «Port 3». Программа была разработана с использованием среды Visual Studio 2019, язык программирования C#. Главное окно программы отображено в соответствии с рисунком 3.25.



1 – вкладка выбора режима работы микросхемы. Режим VCP (Virtual COM port, виртуальный последовательный порт), D2XX – режим прямого доступа к USB-устройству; 2 – Индикация подключения устройства в системе Windows, выбор устройства; 3 – установка скорости передачи данных между персональным компьютером и экспериментальной установкой; 4 – окно отображения данных посылаемых и принимаемых от экспериментальной установки; 5 – настройка отображения данных. Если настройка активна, то данные отображаются в окне (цифра 4); 6 – выбор пути сохранения и имени файла. Программа поддерживает сохранения в формате BIN и MAT (формат контейнера данных, используемый программой MATLAB); 7 – окно выбора отправляемой команды в устройство экспериментальную установку; 8 – кнопка отправки выбранной команды в экспериментальную установку; 9 – счетчик полученных байт, пакетов от экспериментальной установки.

Рисунок 3.25 – Главное окно программы Port 3

Основное назначение программы заключается в сохранении промежуточных томографических измерений в файле. В дальнейшем, сохраненные файлы передаются в программный комплекс для построения томографических изображений.

### 3.3.5 Программное обеспечение для визуализации томографических изображений

Получение двухмерных и трехмерных изображений осуществлялось с использованием свободно распространяемого пакета EIDORS (electrical impedance and diffuse optical reconstruction software) для среды MATLAB или Octave [172]. Программа для визуализации (скрипт) была разработана в среде MATLAB R2021b, с использованием генератора сетки (mesh generator) Netgen 5.3. Алгоритм работы скрипта представлен в соответствии с рисунком 3.26.

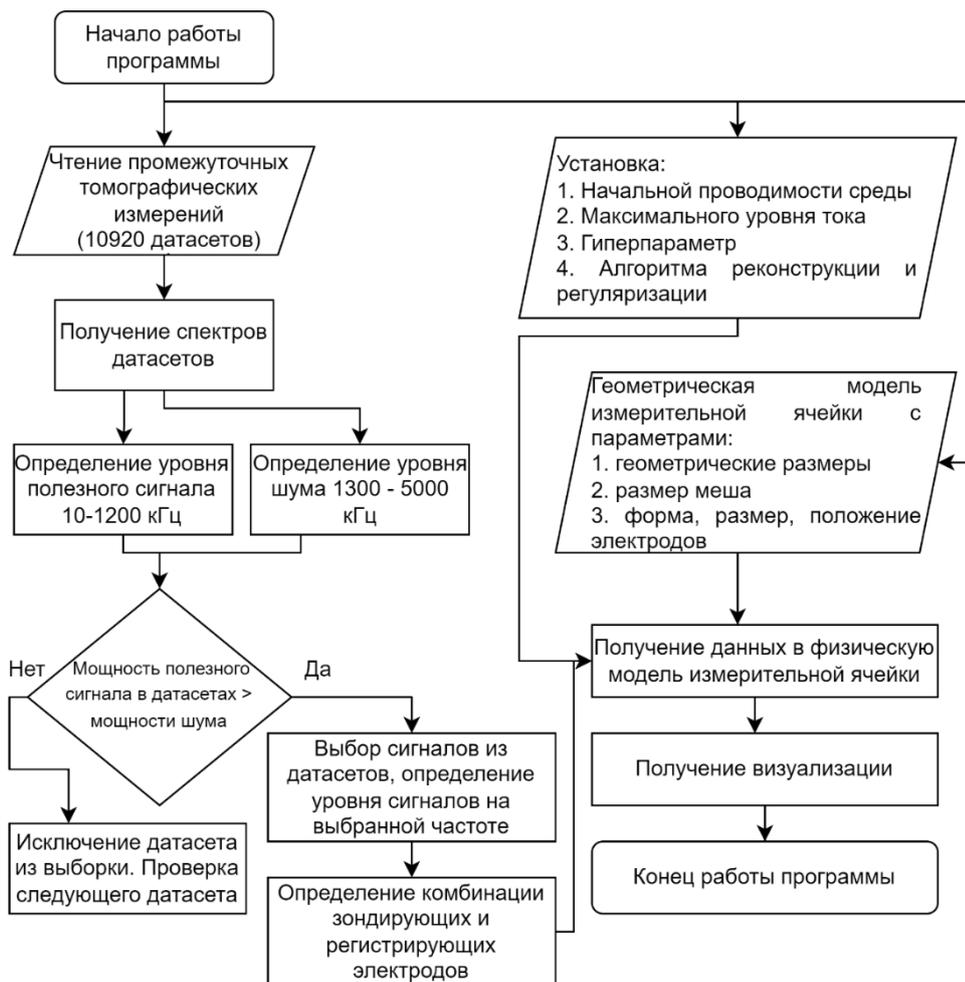


Рисунок 3.26 – Скрипт для визуализации томографических изображений

Разработанное программное обеспечение работает следующим образом.

В начальный момент времени при запуске скрипта происходит генерация модели с помощью генератора сетки Netgen 5.3. В программу передаются геометрические данные измерительной ячейки; форма, количество, расположение и размер электродов. В результате формируется трехмерная модель измерительной ячейки, показанная в соответствии с рисунком 3.27. Данная процедура выполняется однократно во время первого запуска скрипта либо измерении геометрических данных или данных электродов. В дальнейшем модель сохраняется, при повторном запуске происходит загрузка сгенерированной модели.

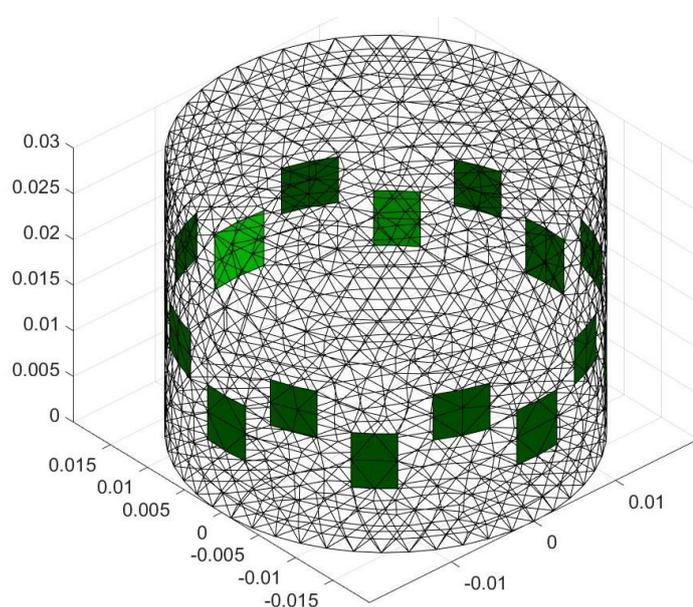


Рисунок 3.27 – Пример сгенерированной трехмерная модель измерительной ячейки (в форме полого цилиндра) с помощью генератора сетки Nethen 5.3

На втором этапе устанавливаются начальные параметров для пакета EIDORS: начальная проводимость среды, максимальный (амплитудный) уровень тока, настроенный на генераторе зондирующих импульсов. Происходит выбор алгоритма реконструкции. В качестве основного алгоритма реконструкции используется алгоритм Гаусса-Ньютона. При математическом моделировании и проведении тестирования, данный алгоритм показал себя как наиболее производительный с наиболее оптимальным качеством получаемого изображения, описываемый уравнением:

$$x = (J^T W J + \lambda^2 R)^{-1} J^T W y = B y \quad (3.2)$$

где  $x$  – распределение проводимости;

$J$  – матрицы чувствительности (якобиан);

$W$  – точность измерения модели;

$\lambda$  – значение гиперпараметра;

$R$  – матрица регуляризации;

$y$  – разница напряжений между однородным (начальным состоянием) и неоднородным (измененным) состоянием.

Первичная обработка данных, полученная от экспериментальной установки, собранные с помощью программы «Port 3». В ходе проведения измерений, неизбежно появление датасетов, уровень полезного сигнала близок, либо ниже уровня шума. Чаще всего такие датасеты возникают на максимальном удалении измеряющих электродов от зондирующих. Для исключения подобных измерений из выборки применялась формула (3.6) соотношения сигнал/шум (SNR):

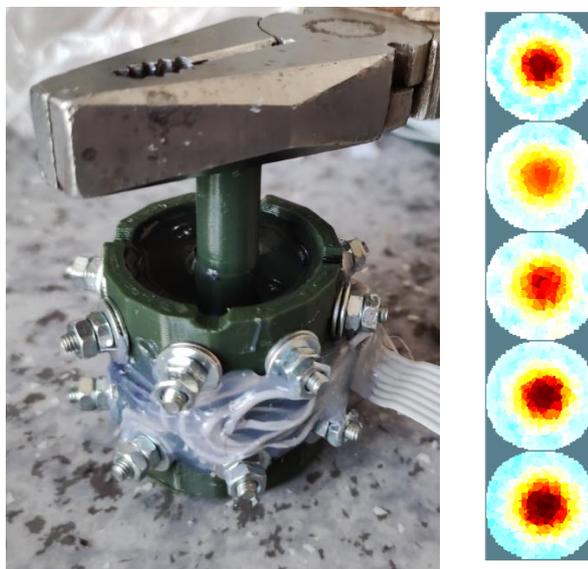
$$SNR = \frac{P_{signal}}{P_{noise}} \quad (3.6)$$

где  $P$  – средняя мощность.

В случае, если мощность полезной части сигнала больше уровня шума (в  $N$  раз и более), то сигнал используется для построения томографического изображения. В качестве наиболее оптимального соотношения мощности сигнала и шума было использовано число 10. При таком соотношении во время проведения экспериментальных измерений, на всех измеряемых ячейках количество отбраковываемых датасетов не превышало 1 %, при этом значительно уменьшилось количество артефактов на получаемом томографическом изображении.

Получение двухмерных и трехмерных изображений с использованием свободно распространяемого пакета EIDORS для среды MATLAB или Octave [172].

В результате выполнения данной части программы получалось двумерное (в виде срезов) и трехмерное томографическое изображение исследуемого объекта. Образец получаемых результатов показан в соответствии с рисунками 3.28 и 3.29, при значении гиперпараметра равен 0,003; частоте 50 кГц.



Слева – исследуемый объект, пластиковый цилиндр в измерительной ячейке. Используемая среда – физиологический раствор.

Справа – двухмерное томографическое изображение (в виде горизонтальных срезов), полученное с помощью метода ЭИТ.

Рисунок 3.28 – Получение томографического изображения

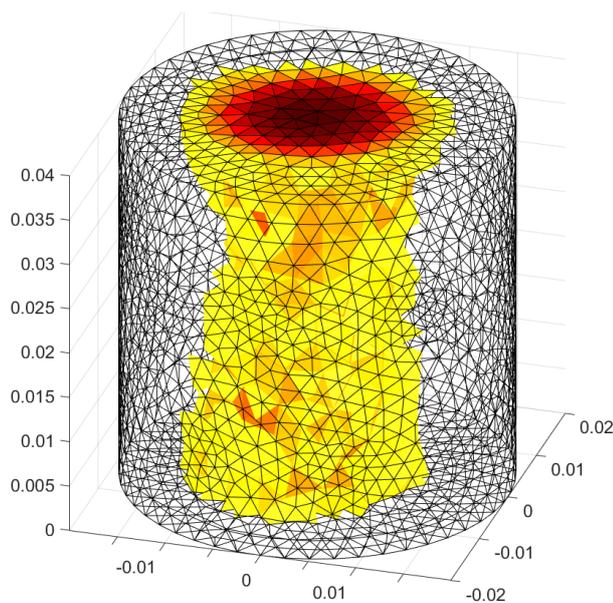
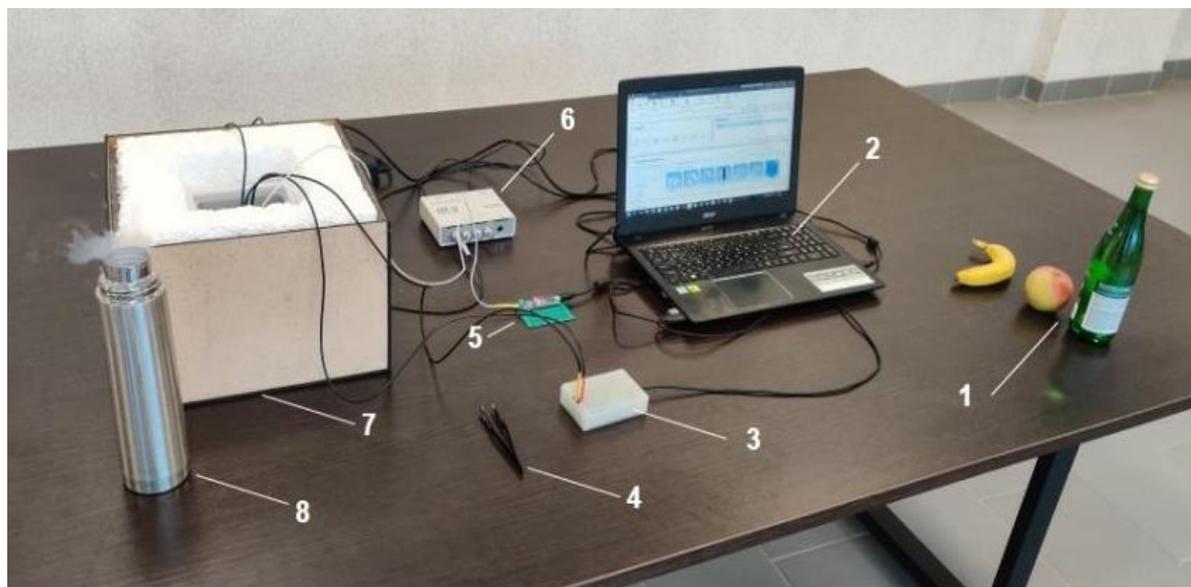


Рисунок 3.29 – Трехмерное томографическое изображение, полученное с помощью метода электроимпедансной томографии

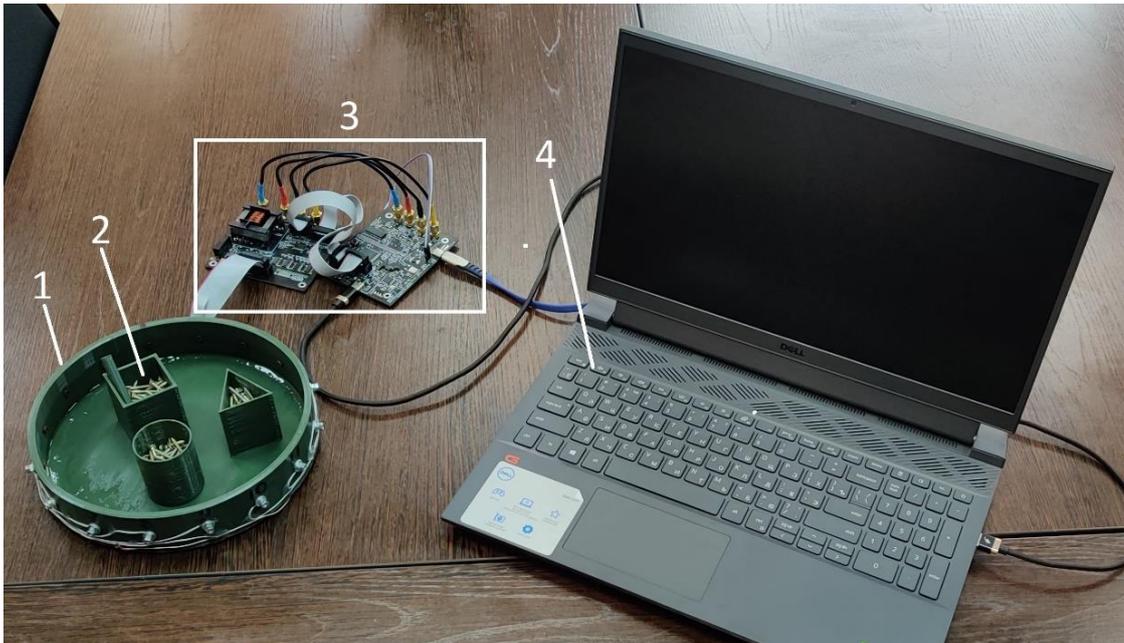
### 3.4 Сборка экспериментальной установки

Заключительным этапом разработки прототипа для контроля процедуры проведения криодеструкции с использованием метода ЭИТ являлась сборка экспериментальной установки. В качестве основы для сборки была использована концепция экспериментальной установки (см. параграф 3.1). Улучшая разработанную систему, менялся и внешний вид устройства. На первом этапе разработки ранняя версия системы визуализации (в соответствии с рисунком 3.30) представляла собой несколько отдельных несвязанных устройств, подключенных к персональному компьютеру. В поздней версии устройства (в соответствии с рисунком 3.31) основные компоненты системы визуализации (генератор зондирующих импульсов, АЦП) были помещены на одну плату с единой системой управления. Была добавлена плата аналогово мультиплексора, значительно увеличивающая количество выходных каналов с двух до шестнадцати.



1 – исследуемые образцы, 2 – ноутбук (используется в качестве системы управления и визуализации), 3 – генератор зондирующих импульсов, 4 – криопинцет, 5 – модуль измерения температуры, 6 – АЦП, 7 – охлаждающая установка, 8 – жидкий азот.

Рисунок 3.30 – Экспериментальная установка в разобранном виде (ранняя версия) системы визуализации



1 – измерительная ячейка, 2 – исследуемые образцы, 3 – электроимпедансный томограф, 4 – ноутбук (используется в качестве системы управления и визуализации).

Рисунок 3.31 – Экспериментальная установка в разобранном виде (поздняя версия) системы визуализации

В дальнейшем, плата управления томографом и плата мультиплексора была помещена в корпус, ранняя версия показана в соответствии с рисунком 3.32 (слева), комплект подключаемых электродов показан в соответствии с рисунком 3.32 (справа). Поздняя версия устройства изображена в соответствии с рисунком 3.33.



Слева – плата томографа и плата мультиплексора, подключенные друг к другу.

Слева – набор проводов для подключения к криосенсорам, где 1 – набор проводов с разъемом, 2 – набор проводов без разъёма, 3 – референсный провод.

Рисунок 3.32 – Модернизированная версия экспериментальной установки



Габариты разработанного устройства:  $270 \times 150 \times 190$  мм. Вес приблизительно 2 кг. Управление реализовано с помощью сенсорного экрана, механических кнопок и энкодера.

Рисунок 3.33 – Модернизированная версия экспериментальной установки

### Краткие выводы по главе 3

1. Разработан портативный программно-аппаратный комплекс – экспериментальная установка, использующая принцип ЭИТ для исследования криовоздействия на биообъекты.
2. Написано программное обеспечение для экспериментальной установки, реализующее возможность воздействия электрического тока безопасного уровня на биообъект с последующей его регистрацией.
3. По результатам проведенных исследований оптимальным хладагентом для проведения экспериментальных исследований в условиях лаборатории является жидкий азот. Оптимальный материал для изготовления криосенсоров, способным длительно выдерживать низкие температуры является PET-G пластик.
4. Разработано несколько типов криосенсоров, термоизоляционная камера, необходимые для проведения экспериментальных исследований.

## ГЛАВА 4 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ АПРОБАЦИЯ РАЗРАБОТАННОЙ УСТАНОВКИ. ПРОВЕДЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Заключительной частью работы по выполнению проекта в подготовке к проведению экспериментальных исследований метода визуализации зоны криодеструкции биологических тканей, проведение экспериментальных исследований и интерпретация результатов.

Запланированные экспериментальные исследования состоят из двух основных этапов: получение и изучение спектров исследуемых объектов во время полного и частичного (точечного) охлаждения, получение электроимпедансных томографических изображений.

### 4.1 Методика проведения экспериментальных исследований по получению спектров исследуемой ткани

В качестве исследуемых объектов использовались различные биологические образцы: ткани растительного и животного происхождения, включая ксеногенные модели рака человека, полученные на иммунодефицитных мышах.

Во время полного охлаждения замораживание исследуемых образцов происходило медленно, со всех сторон. В качестве системы охлаждения использоваться собранная ранее охлаждающая установка (см. параграф 3.1), и показана в соответствии с рисунком 4.1.

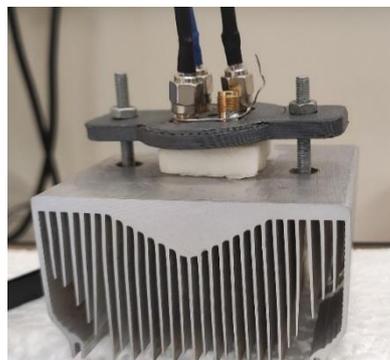


Рисунок 4.1 – Компонент системы – радиатор с криосенсором, для полного охлаждения исследуемого образца

Постепенное охлаждение будет происходить следующим образом: на основной компонент охлаждающей установки массивный алюминиевый радиатор ложится исследуемый образец, в соответствии с рисунком 4.1 (справа), сверху на радиатор накладывается криосенсор с электродами, подключенный к исследуемому образцу. Электроды используются для снятия электрических параметров с исследуемого объекта. Затем, алюминиевый радиатор ложится в термоизолированную камеру, в соответствии с рисунком 4.2, в которую небольшими порциями приливается жидкий азот. Таким образом, во время проведения экспериментальных исследований, образец контролируется и постепенно охлаждается до необходимых температур, а также получены импедансные спектры различных типов биологической ткани при различной температуре.



Рисунок 4.2 – Термоизоляционная камера с опущенным радиатором, криосенсором и исследуемым образцом

Визуализация образцов ксенографов происходила с помощью криопинцета, в соответствии с рисунком 4.3 (справа), с зажатой опухолью между электродами. Постепенное охлаждение производилось с помощью паров азота, испаряющийся из термоизоляционной посуды, в соответствии с рисунком 4.3 (слева). В виду малого размера ксенографов точечное охлаждение образцов не проводилось.



Слева – термос с жидким азотом, справа – криопинцет с ксенографом.

Рисунок 4.3 – Постепенное охлаждение исследуемого образца ксенографов с помощью криопинцета

Во время точечного охлаждения исследуемые образцы охлаждались неравномерно, с помощью аппликатора, охлажденного до температуры жидкого азота. Во время получения томографических изображений, использовались измерительные ячейки (см. пункт 3.2.3), с помощью которых, проводились необходимые экспериментальные исследования.

#### 4.2 Тестирование термоизоляционной камеры. Проведение тестовых испытаний

Во время тестирования запланирован ряд экспериментов, показывающий возможность охлаждения и нагрева образцов с заданными параметрами:

- медленное охлаждение тестового образца с помощью разработанной охлаждающей установки со скоростью охлаждения не более 30 °С/мин в температурном диапазоне от плюс 20 °С до минус 50 °С и ниже;
- медленный нагрев тестового образца с помощью разработанной охлаждающей установки со скоростью охлаждения не более 30 °С/мин в температурном диапазоне от минус 50 °С и ниже до плюс 20 °С.

В качестве тестового образца использовался ватный диск, смоченный в дистиллированной воде. Охлаждение осуществлялось с помощью прилива небольших порций жидкого азота на дно криогенной камеры. При достижении

максимальной отрицательной температуры, прилив жидкого азота прекращался, и закрывалась крышка охлаждающей установки. Ход проведения эксперимента с охлаждающей камерой показан в соответствии с рисунком 4.4.

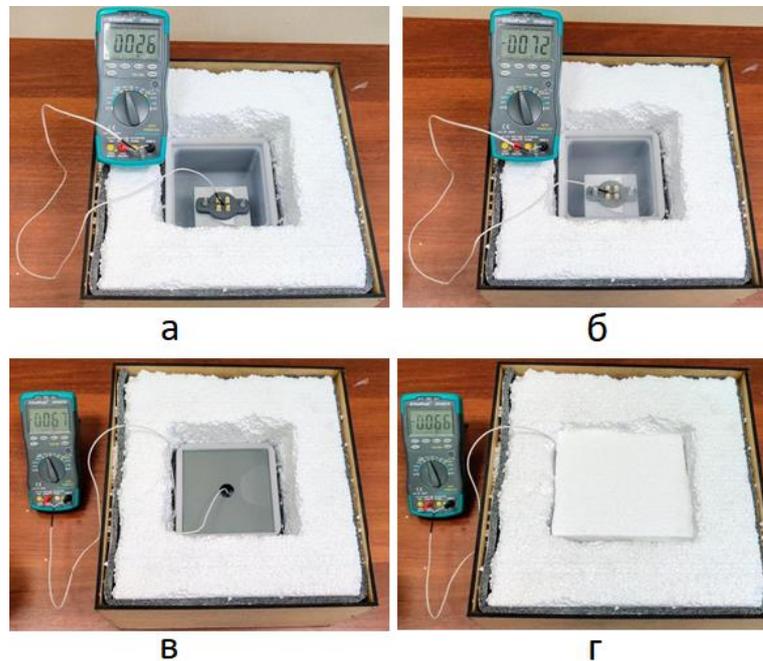


Рисунок 4.4 – Криосенсор с набором электродов в термоизолированной камере

В соответствии с рисунком 4.4:

- а) начало проведение эксперимента. Тестовый образец помещен в охлаждающую камеру и охлаждается. Температура составляет плюс 26 °С;
- б) тестовый образец охлажден до температуры минус 72 °С с помощью постепенного прилива в охлаждаемую камеру жидкого азота;
- в) после заморозки тестового образца криокамера накрывается пластиковой крышкой и медленно нагревается до комнатной температуры;
- г) для повышения теплоизоляционных свойств (уменьшения скорости нагрева исследуемого образца) пластиковая крышка закрывается слоем пенопласта.

При проведении дальнейших экспериментов на биологических образцах кроме измерения температуры будут фиксироваться электрические параметры исследуемого материала во время заморозки и отогрева исследуемых образцов. Температура измеряется с помощью термопары К-типа и мультиметра HoldPeak

HP890CN [173]. Погрешность при измерении температуры не превышает 5 °С в температурном диапазоне от минус 80 °С до минус 50 °С; 2,5°С в температурном диапазоне от минус 50 °С до плюс 400 °С. Результаты, полученные во время тестирования, показаны в соответствии с рисунками 4.5 и 4.6.

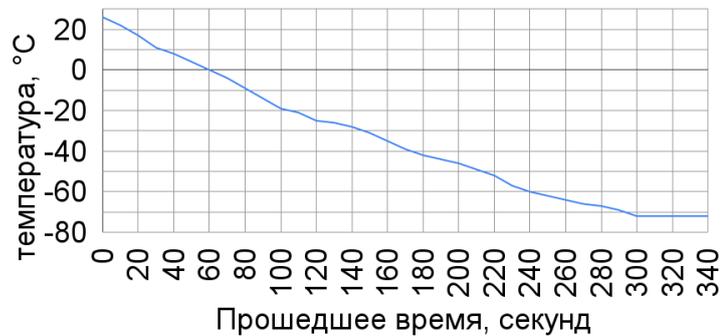


Рисунок 4.5 – Охлаждение тестового образца.



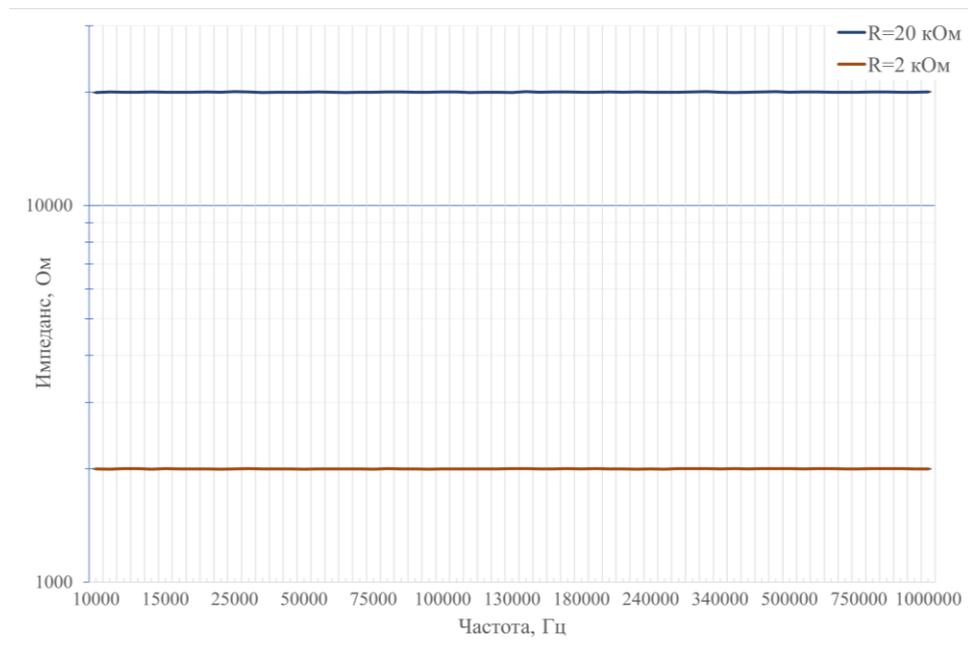
Рисунок 4.6 – Нагрев тестового образца.

В соответствии с рисунком 4.5, происходит охлаждение тестового образца. Начальная температура образца составляет плюс 26 °С, конечная температура минус 72 °С. Скорость охлаждения лежит в диапазоне от 15 °С до 30 °С/мин.

В соответствии с рисунком 4.6 происходит нагрев тестового образца. Начальная температура образца составляет минус 72 °С, конечная температура плюс 6 °С. Скорость нагрева образца составляет от 5 °С до 35 °С/час.

Данные, полученные в результате проведенных экспериментов, позволяют сделать вывод о том, что охлаждающая установка удовлетворяет всем требованиям для проведения экспериментальных исследования на исследуемых образцах. Скорость охлаждения может лежать в широком диапазоне и регулируется скоростью приливания жидкого азота. Минимальная скорость нагрева составляет не более 35 °С/час с закрытой крышкой охлаждающей камеры.

Для проверки генератора зондирующих импульсов и экспериментального прототипа установки для визуализации границ и глубины заморозки биологических тканей, использовались прецизионные smd резисторы с уже известным сопротивлением номиналом 2 и 20 кОм и допустимым отклонением не более 0,1 % [174; 175]. Измерение импеданса резисторов проводилось в частотном диапазоне от 10 до 1000 кГц. Результаты измерений показаны в соответствии с рисунком 4.7. Ошибка при измерении импеданса низка и составляла не более 1 %, что позволяет проводить измерения с заданной точностью.



Ось Y – импеданс в Омах (логарифмическая шкала), X – частота в Герцах, R – сопротивление тестовых резисторов.

Рисунок 4.7 – Измерение импеданса прецизионных smd резисторов с сопротивлением 2 и 20 кОм

Измерение соотношения сигнал/шум (SNR) проводилось в децибелах по формуле (4.1) и не превышало минус 60 дБ.

$$SNR(dB) = 20 \log\left(\frac{A_{signal}}{A_{noise}}\right) \quad (4.1)$$

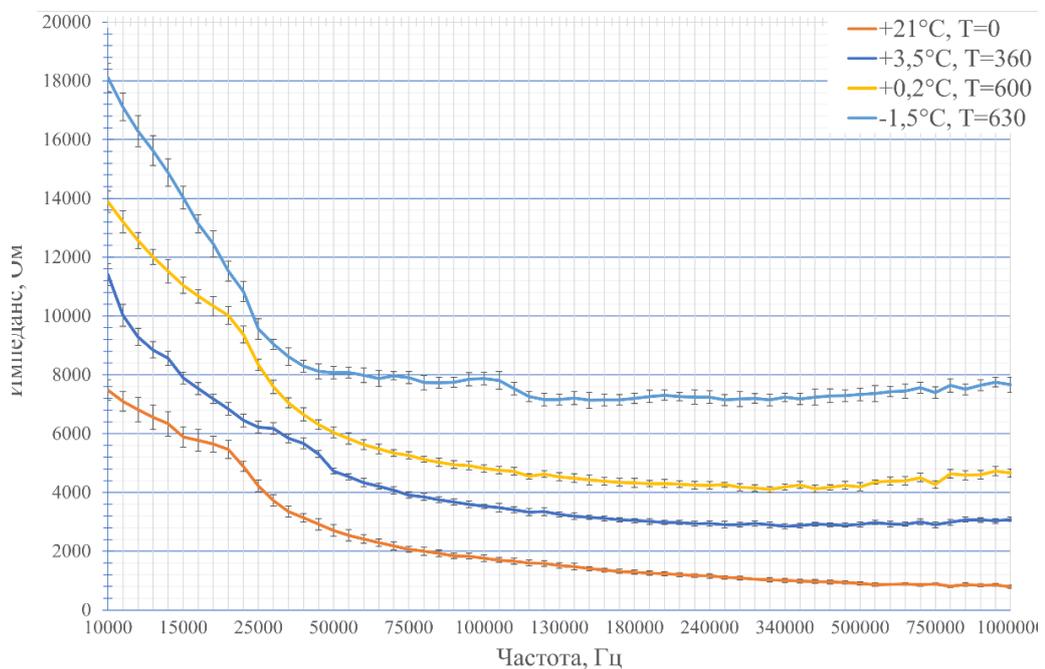
где A – среднеквадратичное изменение амплитуды.

Наибольшее влияние оказывает перекрестная помеха, возникающая из-за особенности конструкции (компоновки) микросхемы аналогового мультиплексора ADG1606, а также подключения электродов к микросхеме. Для повышения уровня SNR потребуется вводить дополнительные каскады коммутации, либо изменять архитектуру устройства [176].

### 4.3 Получение электроимпедансных спектров во время полной заморозки объектов исследования

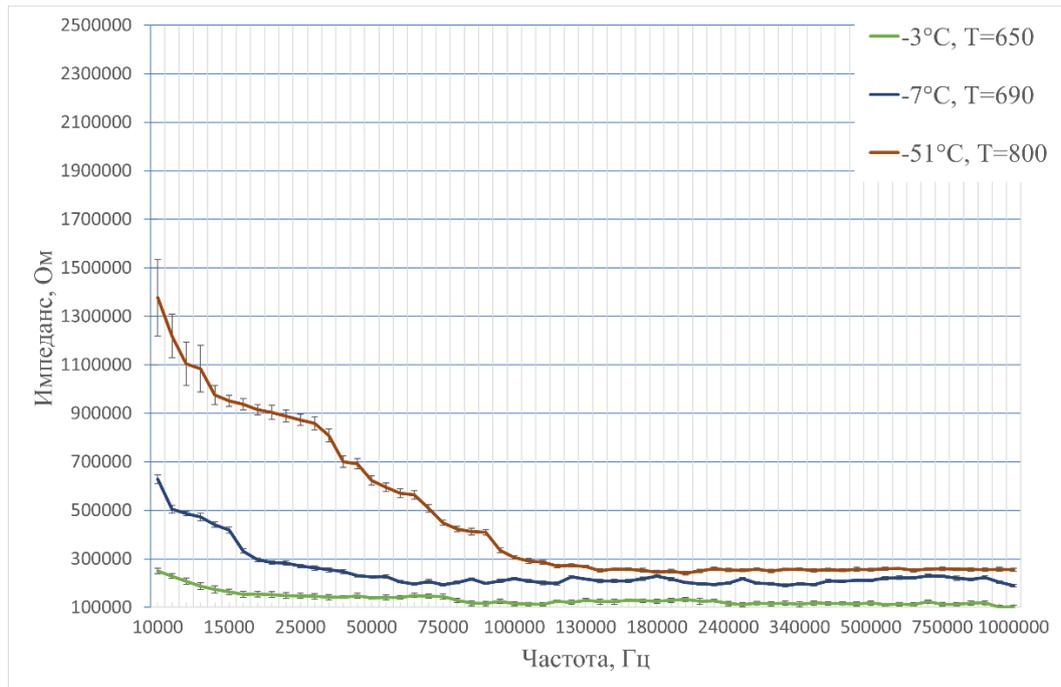
Измерение импеданса зеленого яблока.

Эксперименты посвящены исследованию импеданса зеленого яблока, очищенного от кожуры и семечек в частотном диапазоне от 10 до 1000 кГц. В качестве исследуемого образца использован кусочек зеленого яблока, очищенного от кожуры и семечек. Первоначальная температура исследуемого образца составляла плюс 21 °С, охлаждение осуществлялось до температуры минус 51 °С. Полученные результаты экспериментов показаны в соответствии с рисунками 4.8 и 4.9.



Ось Y – импеданс в Омах, ось X – частота в Герцах, T – время охлаждения исследуемого образца в секундах.

Рисунок 4.8 – Биоимпедансный спектр исследуемого образца – зеленое яблоко



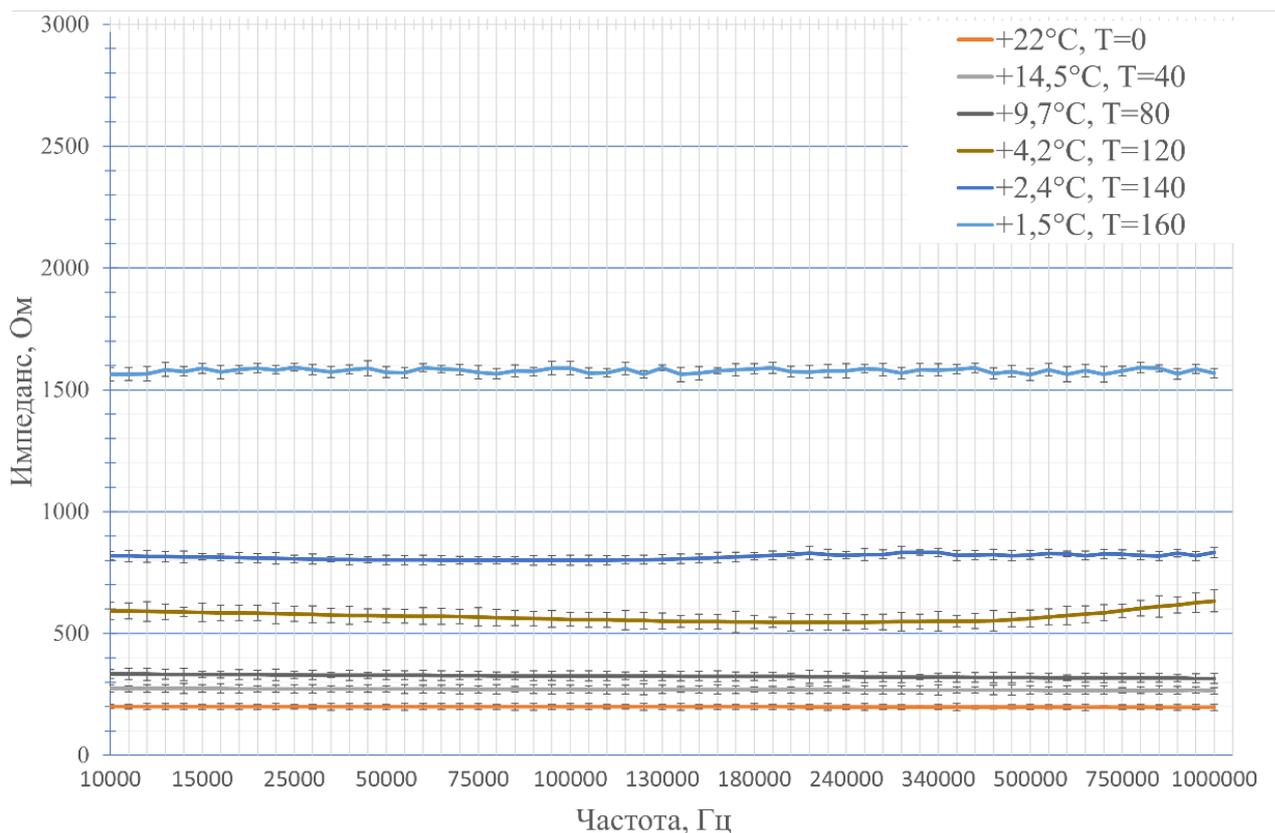
Ось Y – импеданс в Омах, ось X – частота в Герцах, T – время охлаждения исследуемого образца в секундах.

Рисунок 4.9 – Биоимпедансный спектр исследуемого образца – зеленое яблоко

Во время начала проведения эксперимента импеданс исследуемого объекта постоянен и экспоненциально убывает с увеличением частоты. Продолжая охлаждать исследуемый образец, происходит плавное увеличение импеданса во всем частотном диапазоне, в соответствии с рисунком 4.9. Плавное увеличение импеданса продолжается до образования кристаллов льда в исследуемом образце. При температуре минус 1,5 °C был измерен последний спектр ткани яблока до образования льда внутри клеток (кристаллы льда начинают образовываться). В дальнейшем скорость образования льда увеличивается и происходит быстрое увеличение импеданса по всему частотному диапазону. При температуре минус 7 °C исследуемый образец полностью замерзает, увеличение импеданса приостанавливается. По сравнению с жидкой фазой (до образования льда внутри клеток) импеданс возрос приблизительно в 100 раз (на 2 порядка). При дальнейшем охлаждении исследуемого образца, также продолжается увеличение импеданса, но уже не так быстро. Охладив образец зеленого яблока до температуры минус 51 °C,

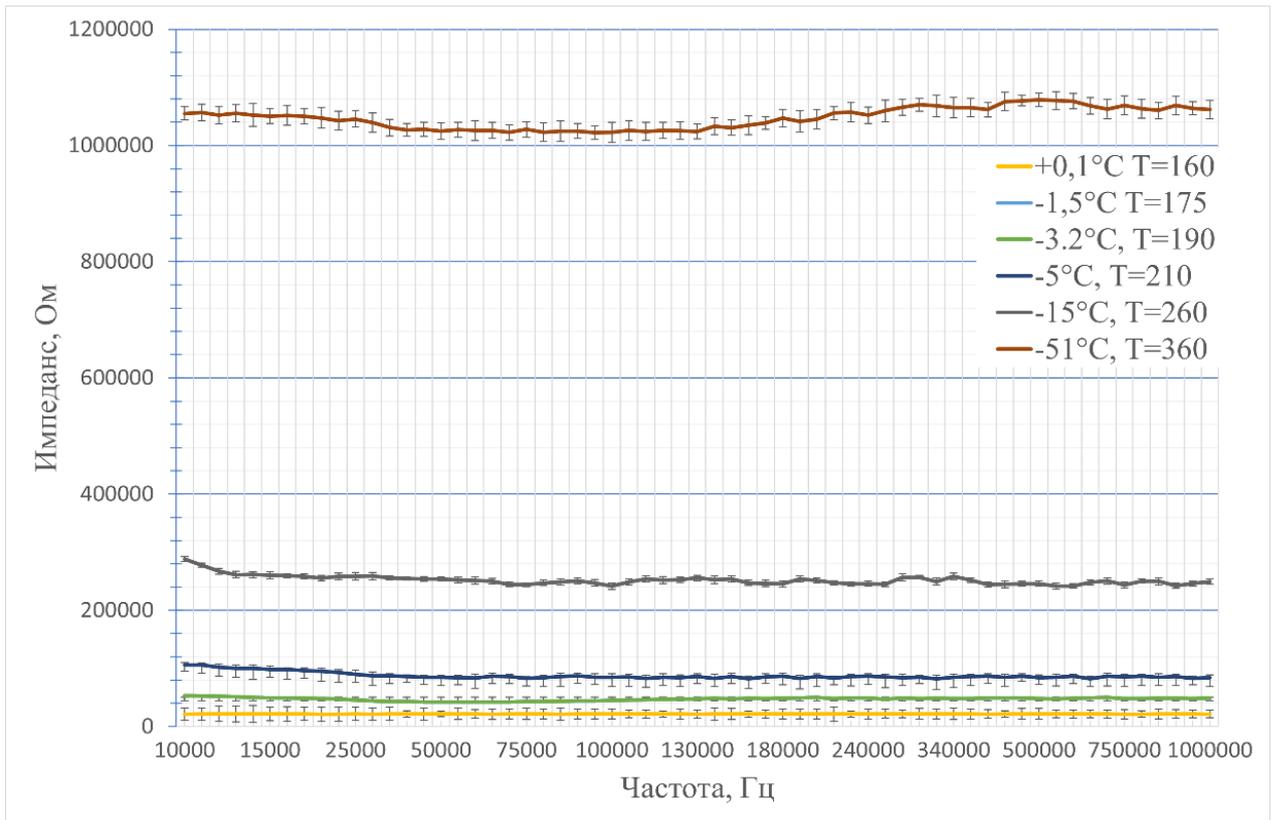
значение импеданса увеличилось приблизительно в 2-4 раза в частотном диапазоне от 10 до 100 кГц по сравнению с температурой минус 6° С. В частотном диапазоне от 100 до 1000 кГц значение импеданса выросло незначительно по сравнению с температурой минус 6° С.

Измерение импеданса мышечной ткани. Дальнейшие эксперименты посвящены исследованию импеданса мышечной ткани в частотном диапазоне от 10 до 1000 кГц. В качестве исследуемых образцов выбрана мышечная ткань без видимых вкраплений жира и прожилок. Первоначальная температура исследуемого образца составляла плюс 22° С, охлаждение осуществлялось до температуры минус 51° С. В результате проведенных экспериментов получены биоимпедансные спектры мышечной ткани, показанными в соответствии с рисунками 4.10 и 4.11.



Ось Y – импеданс в Омах, ось X – частота в Герцах, T – время охлаждения исследуемого образца в секундах.

Рисунок 4.10 – Биоимпедансный спектр исследуемого образца – мышечная ткань



Ось Y – импеданс в Омах, ось X – частота в Герцах, T – время охлаждения исследуемого образца в секундах.

Рисунок 4.11 – Биоимпедансный спектр исследуемого образца – мышечная ткань

Аналогично, как и в экспериментальном исследовании, с измерением биоимпедансных спектров зеленого яблока, импеданс мышечной ткани постоянен, и увеличивается во всем диапазоне при постепенном охлаждении исследуемого образца. В частотном диапазоне от 10 до 1000 кГц импеданс практически не изменяется. С понижением температуры и начала образования кристаллов льда в мышечной ткани, происходит резкое увеличение импеданса по всему частотному диапазону. Охладив мышечную ткань до температуры минус 52 °С, значение импеданса выросло приблизительно в 1000 раз (на 3 порядка) по сравнению с измеренным спектром, при котором еще не началось образование льда (температура составляла плюс 1,5 °С). При температуре исследуемого объекта равной плюс 2,4 °С и ниже наблюдается экспоненциальный рост импеданса, в частотном диапазоне начиная приблизительно от 130 кГц.

Измерение импеданса ксенографтов колоректального рака человека из клеточной линии НТС116.

Финальная серия экспериментальных исследований по охлаждению исследуемого объекта заключалась серии экспериментов по постепенному охлаждению ксенографтов, показанной в соответствии с рисунком 4.12.

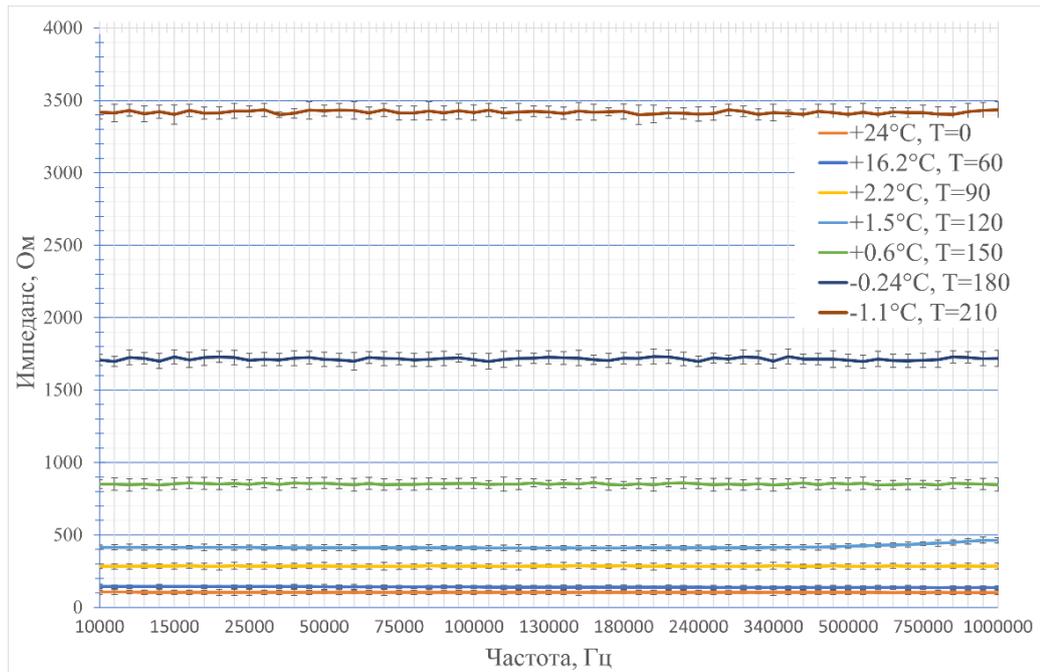


Рисунок 4.12 – Исследуемые образцы. Ксенографты колоректального рака человека из клеточной линии НТС116

Для получения схожих результатов использовались образцы максимально одинакового размера. В результате проведенных экспериментов на одном из образцов были получены биоимпедансные спектры ксенографтов, в соответствии с таблицей 4.1. Образец визуализации спектров показан в соответствии с рисунками 4.13 и 4.14. Первоначальная температура образца составляла плюс 24 °С, охлаждение осуществлялось до температуры минус 48 °С.

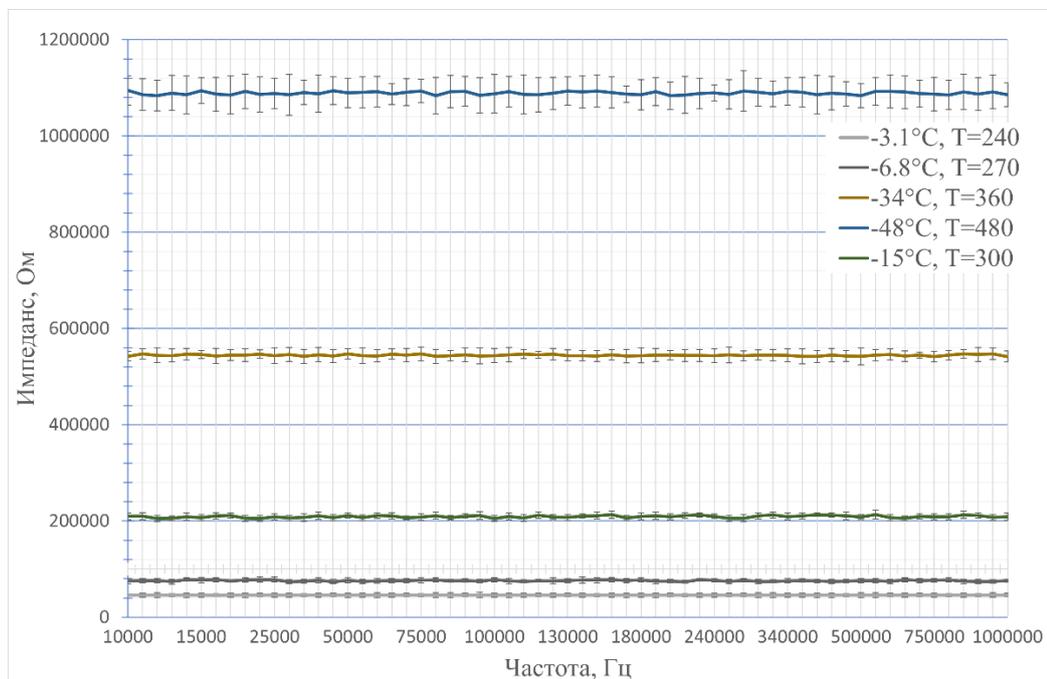
Таблица 1.4 – Типовые значения среднего денситометрический показатель (шкала единиц Хаунсфилда) исследуемых материалов.

Температура, °C	Среднее значение импеданса семи образцов в Омах, на частоте от 10 до 1000 кГц						
	1	2	3	4	5	6	7
+24	103	94	134	105	125	86	142
+16,2	140	128	178	144	160	135	154
+10	169	156	192	161	186	159	175
+6,6	213	235	256	232	245	262	241
+2,2	284	303	323	292	331	306	295
+1,5	417	446	412	415	521	402	561
+0,6	851	720	1056	872	971	753	1350
-0,24	1715	2026	1421	2102	2015	2678	1553
-1,1	3417	2540	4165	3742	3978	3555	3848
-3,1	45960	40180	36150	45950	51680	38910	45940
-6,8	75900	59100	66700	61600	73100	49300	55900
-10,3	91400	72600	89000	81500	94300	73600	86100
-15,0	209100	130200	101700	108900	149400	126700	119800
-22,3	412100	398300	295000	235600	326500	426100	325400
-34,0	544300	597100	415900	544500	498200	630800	510600
-48,0	1089000	901000	1257000	1089000	985000	829000	726000
-50,0	1089000	901000	1257000	1089000	985000	829000	726000
-52,3	1089000	901000	1258000	1090000	990000	829000	726000



Ось Y – импеданс в Омах в, ось X – частота в Герцах, T – время охлаждения исследуемого образца в секундах.

Рисунок 4.13 – Биоимпедансный спектр исследуемого образца – ксенографт колоректального рака человека из клеточной линии НТС 116



Ось Y – импеданс в Омах, ось X – частота в Герцах, T – время охлаждения исследуемого образца в секундах.

Рисунок 4.14 – Биоимпедансный спектр исследуемого образца – ксенографт колоректального рака человека из клеточной линии НТС 116

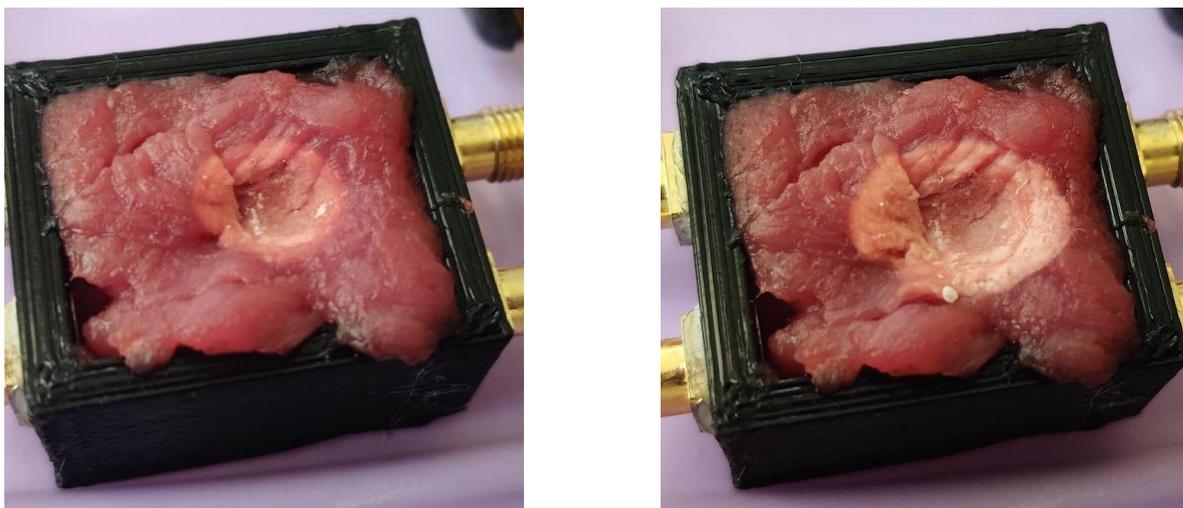
В результате проведенной серии экспериментальных исследований, образцы ксенографтов колоректального рака человека из клеточной линии НТС 116 показали схожее изменение импеданса, аналогичное другим образцам. В момент охлаждения импеданс увеличивается незначительно, до образования первых кристаллов льда. Затем происходит резкое увеличение импеданса по всему частотному диапазону вплоть до полного замерзания образца. На всех исследуемых образцах, спектры показали схожее поведение.

#### **4.4 Получение электроимпедансных спектров во время точечной заморозки объектов исследования**

Во время проведения экспериментальных исследований, исследуемый объект охлаждался точно и неравномерно. К небольшой области диаметром приблизительно 3-4 мм исследуемого образца прикладывался аппликатор, охлажденный в жидком азоте (охлаждение образца показано в соответствии с рисунками 4.15–4.17). Снятие спектров происходило по времени, примерно каждые 30 сек, а не по температуре, как в параграфе 4.3. В качестве исследуемых образцов выступали различные биологические ткани растительного и животного происхождения.



Рисунок 4.15 – Точечное охлаждение мышечной ткани с помощью аппликатора



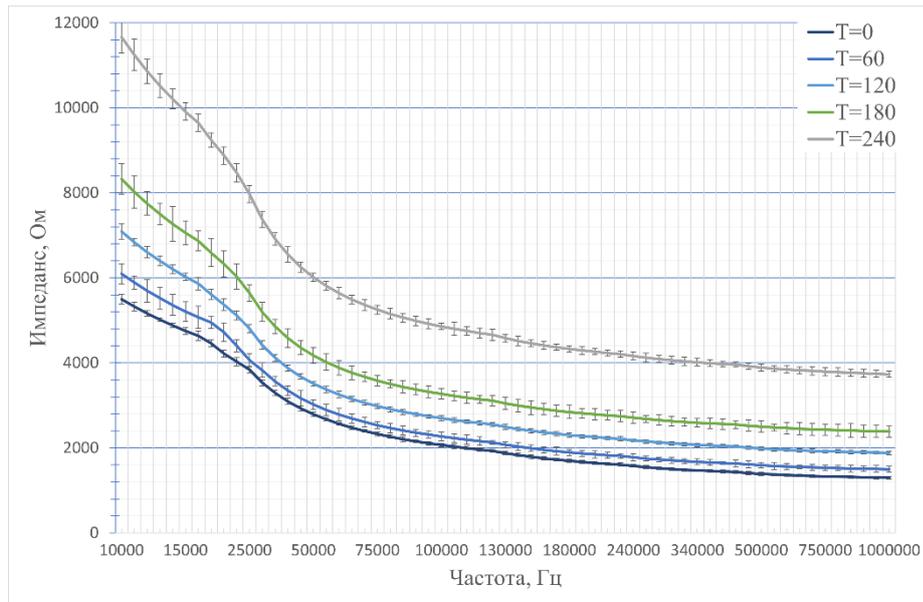
Слева – мышечная ткань через 60 сек охлаждения, справа – мышечная ткань через 120 сек охлаждения.

Рисунок 4.16 – Точечное охлаждение мышечной ткани



Рисунок 4.17 – Точечное охлаждение мышечной ткани. Мышечная ткань через 600 секунд охлаждения

**Измерение импеданса яблока.** В качестве первого образца, использовано яблоко в частотном диапазоне от 10 до 1000 кГц. В качестве исследуемого образца использован кусочек яблока сорта Фуджи, очищенного от кожуры и семечек. Первоначальная температура исследуемого образца составляла плюс 34 °С. Охлаждение осуществлялось с помощью аппликатора охлажденного до температуры жидкого азота в течение 240 сек. Полученные результаты экспериментов показаны в соответствии с рисунком 4.18.

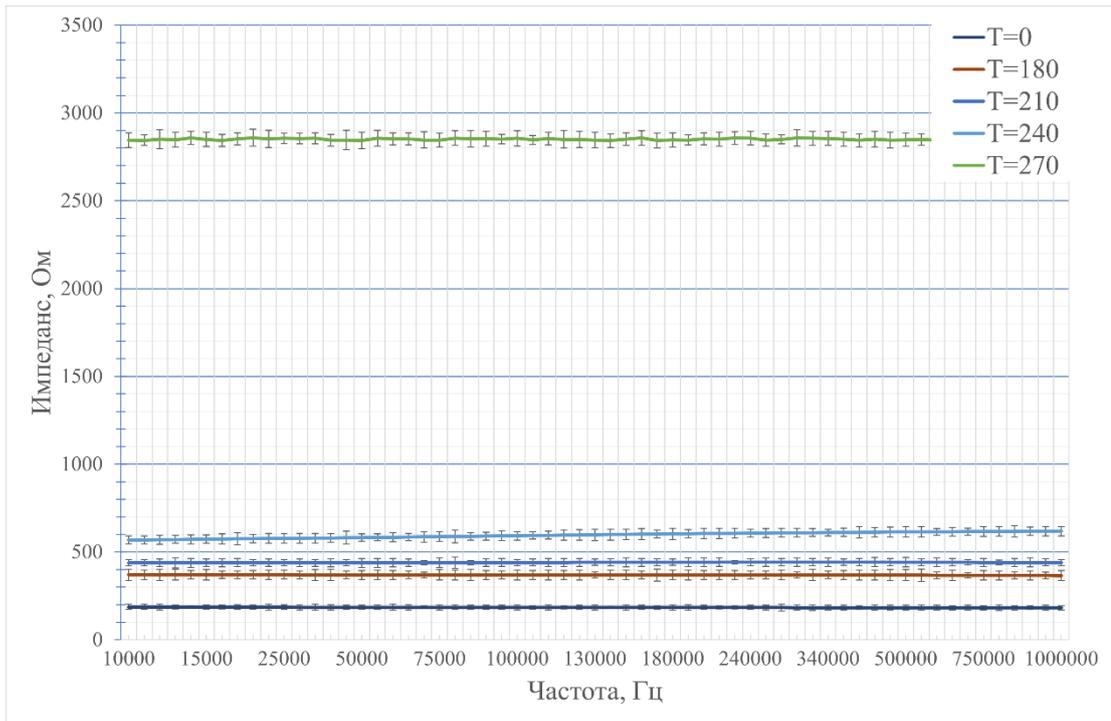


Ось Y – импеданс в Омах, ось X – частота в Герцах, T - время в секундах.

Рисунок 4.18 – Биоимпедансный спектр исследуемого образца – яблоко

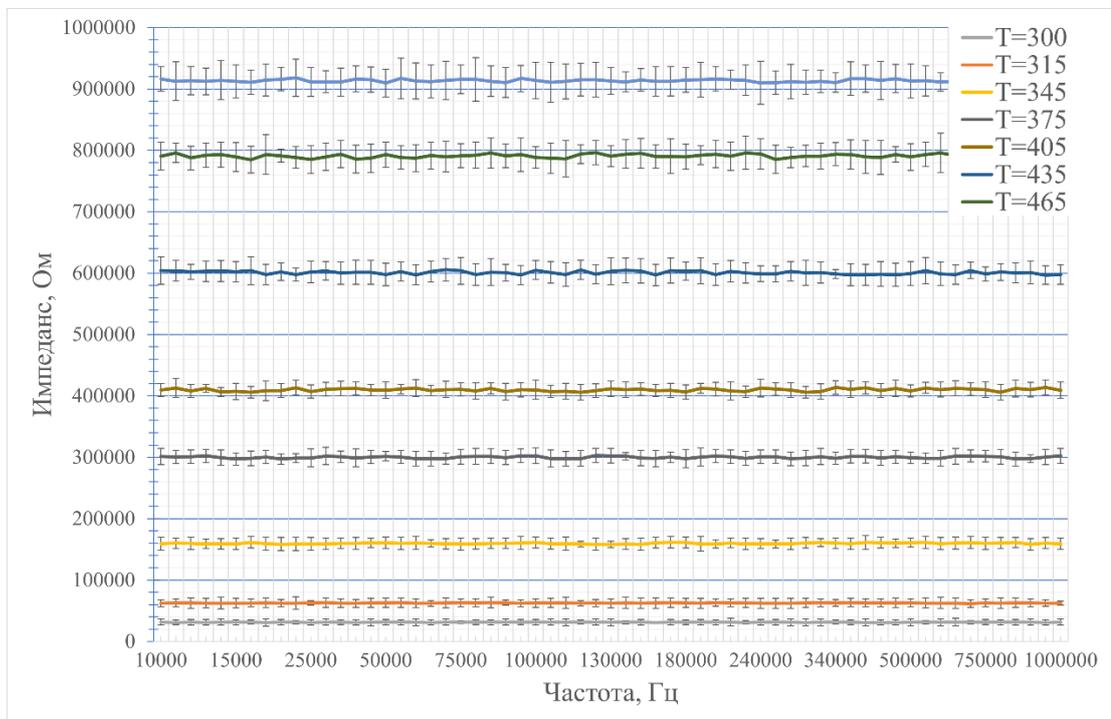
Во время начала проведения эксперимента, импеданс исследуемого объекта постоянен и экспоненциально убывает с увеличением частоты. Продолжая точно охлаждать исследуемый образец, происходит плавное увеличение импеданса во всем частотном диапазоне, в соответствии с рисунком 4.17. Из-за небольшого времени охлаждения исследуемого образца, жидкий азот не успел полностью заморозить яблоко. Импеданс исследуемого объекта приблизительно в 3 раза.

**Измерение импеданса мышечной ткани.** Дальнейшие эксперименты посвящены исследованию импеданса мышечной ткани в частотном диапазоне от 10 до 1000 кГц. В качестве исследуемых образцов выбрана мышечная ткань без видимых вкраплений жира и прожилок. Первоначальная температура исследуемого образца составляла плюс 31 °С. Охлаждение осуществлялось с помощью аппликатора охлажденного до температуры жидкого азота в течение 600 сек (10 мин). Полученные результаты экспериментов показаны в соответствии с рисунками 4.19 и 4.20.



Ось Y – импеданс в Омах, ось X – частота в Герцах, T - время в секундах.

Рисунок 4.19 – Биоимпедансный спектр мышечной ткани

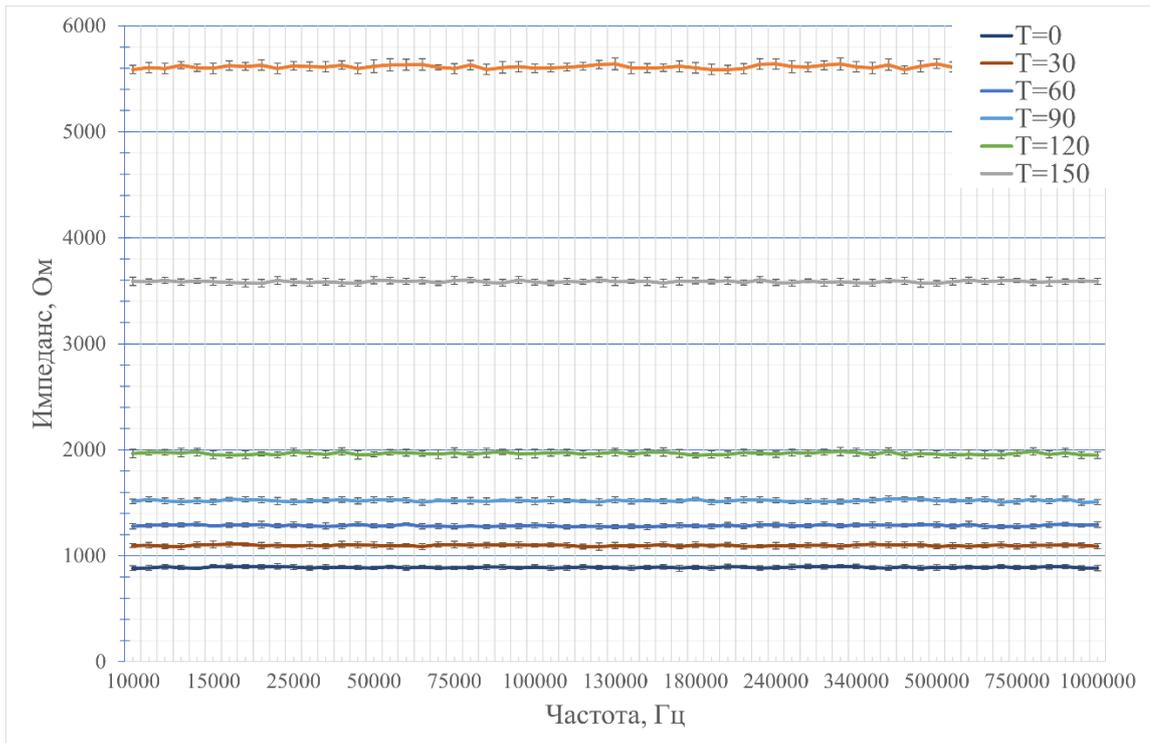


Ось Y – импеданс в Омах, ось X – частота в Герцах, T – время в секундах.

Рисунок 4.20 – Биоимпедансный спектр мышечной ткани

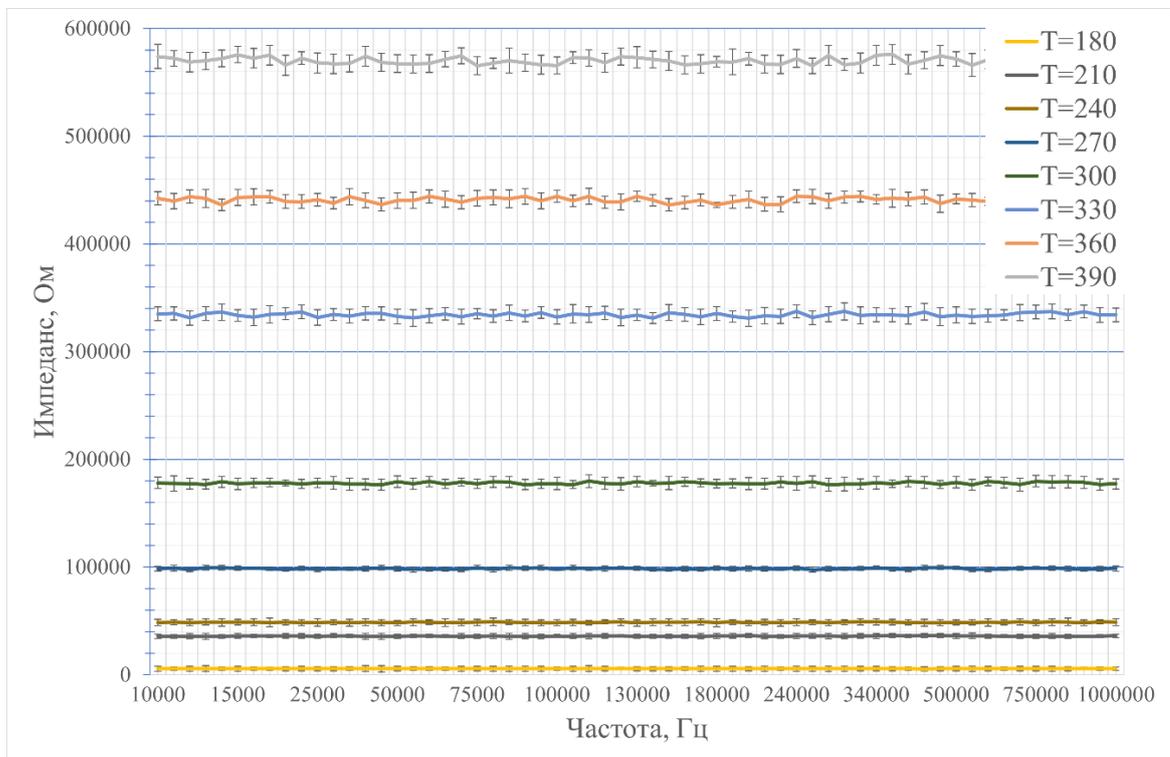
Процесс заморозки мышечной ткани можно разделить на несколько фаз. В начальной фазе экспериментальных исследований импеданс мышечной ткани постоянен и растет во всем частотном диапазоне при постепенном точечном охлаждении исследуемого образца (в соответствии с рисунком 4.19, период с 0 по 240 секунду). В данной начальной фазе охлаждения мышечной ткани исследуемый образец покрывается слоем льда только в месте соприкосновения аппликатора и мышечной ткани. Хотя температура аппликатора приблизительно равна минус 195 °С, но исследуемый образец обладает достаточной теплоемкостью и отдает тепло аппликатору до того момента, пока не охладиться до температур чуть выше температуры замерзания воды (приблизительно от плюс 1 до плюс 7 °С, в зависимости от удаленности от аппликатора), до того момента, как в внутри мышечной ткани не начнет увеличение кристаллов льда (в соответствии с рисунком 4.19, 270 секунда). При дальнейшем понижении температуры и начала образования кристаллов льда в мышечной ткани, происходит резкое увеличение импеданса по всему частотному диапазону на 2-3 порядка. До тех пор, пока жидкость в мышечной ткани не перейдет в твердое состояние – лед, импеданс продолжает резко увеличиваться, в соответствии с рисунком 4.20. Заключительная фаза заморозки наблюдается после того, как вся вода в исследуемом образце замерзла, данный процесс показан в соответствии с рисунком 4.20 с 375 по 600 секунду. Импеданс продолжает увеличиваться, что связано с полной заморозкой клеток.

**Измерение импеданса ткани печени.** Заключительные экспериментальные исследования посвящены исследованию импеданса ткани печени в частотном диапазоне от 10 до 1000 кГц. В качестве исследуемых образцов выбрана ткань печени без видимых вкраплений жира и прожилок. Первоначальная температура исследуемого образца составляла плюс 30 °С. Охлаждение осуществлялось с помощью аппликатора, охлажденным до температуры жидкого азота в течении 800 сек (13 мин 20 сек). Полученные результаты экспериментов показаны в соответствии с рисунками 4.21–4.23.



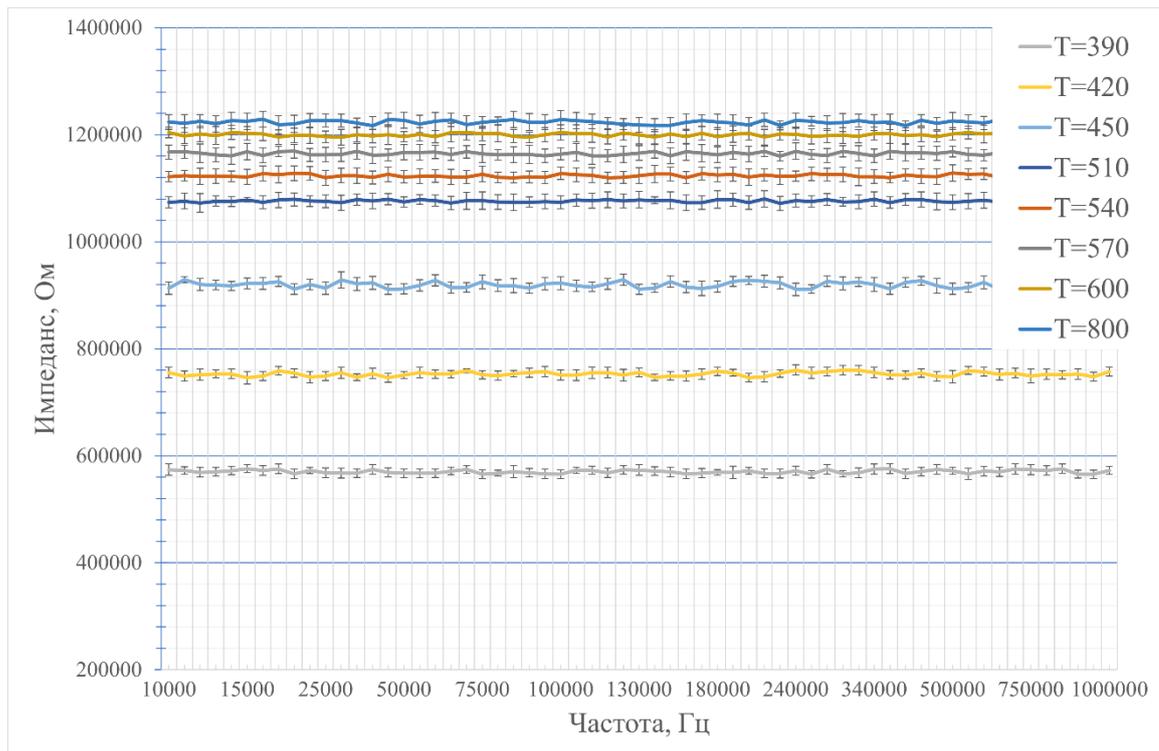
Ось Y – импеданс в Омах, ось X – частота в Герцах, T - время в секундах.

Рисунок 4.21 – Биоимпедансный спектр ткани печени



Ось Y – импеданс в Омах, ось X – частота в Герцах, T – время в секундах.

Рисунок 4.22 – Биоимпедансный спектр ткани печени



Ось Y – импеданс в Омах, ось X – частота в Герцах, T – время в секундах.

Рисунок 4.23 – Биоимпедансный спектр ткани печени

Процесс заморозки ткани печени аналогичен процессу заморозки мышечной ткани и проходит в 3 фазы.

Первая фаза (охлаждение образца до момента образования кристаллов льда) показана в соответствии с рисунком 4.20. Импеданс по всему частотному диапазону растет медленно и незначительно (с 0 по 90 секунду). На 120 секунде образец печени достаточно охладился, и жидкость стала замерзать глубже.

На 150 секунде начинается вторая фаза, наблюдается быстрое увеличение импеданса по всему диапазону, что показывает образование льда ткани печени. В дальнейшем, в соответствии с рисунками 4.20–4.22, импеданс начинает резко увеличиваться по всему частотному диапазону. Между 150 и 330 секундой импеданс увеличился приблизительно на 2 порядка.

Третья фаза заморозки образца показана в соответствии с рисунками 4.21 и 4.22 (начиная с 360 секунды). Жидкость внутри ткани печени полностью перешла

в твердое состояние. На 510 секунде рост импеданса замедляется и прекращается на 800 секунде. В дальнейшем исследуемый образец, совместно с измерительной ячейкой частично погружался в жидкий азот, что свидетельствует о полном охлаждении образца до температуры чуть выше температуры кипения жидкого азота (минус 195 °С) на 800 секунде эксперимента по охлаждению ткани печени.

#### **4.5 Подведение итогов первого этапа экспериментальных исследований**

Представлены экспериментальные исследования ранней версии лабораторного прототипа экспериментальной установки для визуализации границ и глубины заморозки биологических объектов, использующий принцип ЭИТ. Разработанная система позволяет проводить измерения с достаточной точностью, необходимой для определения степени заморозки исследуемых образцов – различных образцов растительной и животной ткани.

В ходе проведенных экспериментальных исследований получены спектральные зависимости и изучены биоимпедансные свойства биологических объектов – ткань зеленого яблока и мышечную ткань при температуре от плюс 22 °С до минус 51 °С, некоторые образцы охлаждались до температуры чуть выше температуры жидкого азота (минус 195 °С). Дополнительно при анализе данных была проведена статистическая обработка данных по критерию Стьюдента. Выявлены статистически достоверные различия между всеми измерениями.

По результатам экспериментальных исследований было выделено несколько фаз заморозки ткани.

1. Начальная фаза. Исследуемый образец имеет комнатную температуру. Спектральная характеристика биоимпеданса постоянна и имеет минимальное значение на всем исследованном частотном диапазоне.

2. Фаза охлаждения. Во время охлаждения спектр биоимпеданса начинает увеличиваться и плавно растет по всему частотному диапазону с дальнейшим понижением температуры до начала образования кристаллов льда внутри исследуемого объекта.

3. Фаза начала образования кристаллов льда. В данный момент внутри исследуемых образцов начинает образовываться кристаллы льда. Импеданс начинает резко возрастать и менять свою характеристику. В зависимости от типа исследуемого объекта могут возникать увеличение или уменьшение значений импеданса в определенном частотном диапазоне, относительно остального спектра.

4. Фаза замораживания. Спектральная характеристика импеданса продолжает резко увеличиваться до тех пор, пока вся жидкость не замерзнет внутри ткани. В зависимости от типа и строения ткани температура, при которой происходит окончательная заморозка, отличается. Основная причина связана с разным строением ткани, между растительной и животной тканью.

5. Фаза полного замораживания. В данной фазе замораживания вода внутри исследуемого образца полностью замерзла. Возникает неравномерность в импедансе, появляются области с более высоким и более низким импедансом, пики и спады в разных частотных диапазонах. При дальнейшем понижении температуры скорость увеличения импеданса начинает уменьшаться.

6. Окончание заморозки. В данной фазе замораживания при понижении температуры, импеданс перестает увеличиваться, что свидетельствует о полной замораживании исследуемого образца.

#### **4.6 Методика проведения экспериментальных исследований по получению томографических изображений с помощью электроимпедансной томографии**

Второй этап исследований, посвящен апробации программного обеспечения для построения томографических изображений с помощью метода ЭИТ. Визуализация происходила в измерительных ячейках (см. пункт 3.2.5), а получение томографических изображений с помощью программного обеспечения (см. пункт 3.3.5). Экспериментальные исследования проводились следующим образом: в измерительную ячейку помещалась среда для визуализации (например, физиологический раствор или мышечная ткань курицы), а затем проводилось томографическое сканирование среды для визуализации. В измерительную ячейку

помещался исследуемый объект (примеры объектов изображены в соответствии с рисунком 4.24, винты применялись для увеличения массы и предотвращения всплытия наиболее объемных фигур в физиологическом растворе и не влияли на результат измерений.) и проводилось повторное сканирование объекта.



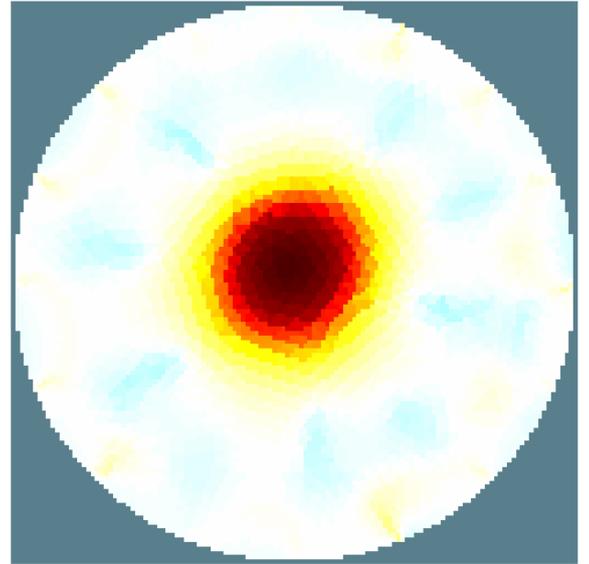
Рисунок слева – некоторые тестовые объекты, используемые для визуализации. Винты применялись для увеличения массы и предотвращения всплытия наиболее объемных фигур в физиологическом растворе и не влияли на результат измерений. Рисунок справа – образцы ксенографтов колоректального рака человека из клеточной линии НТС 116.

Рисунок 4.24 – Образцы, используемые для визуализации.

В результате вычитания разности между томографическим изображением конечного состояния исследуемой среды и начальным, формировалось двухмерное и трехмерное томографическое изображение.

#### **4.7 Получение электроимпедансных томографических изображений**

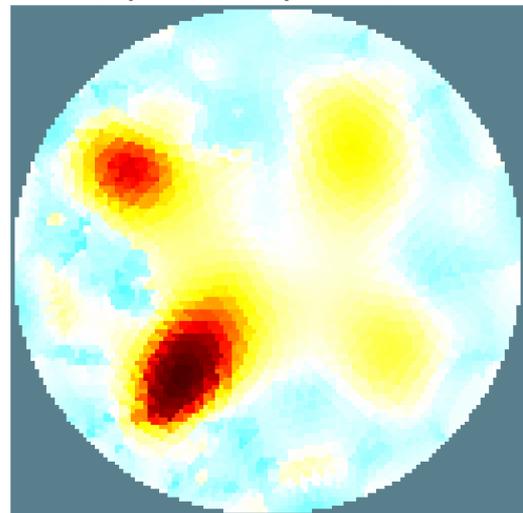
В ходе проведения экспериментальных исследований, проходила двухмерная и трехмерная визуализация различных объектов искусственного и животного происхождения. Результаты проведенных исследований представлены в соответствии с рисунками 4.25–4.30.



Исследуемая частота – 500 кГц, значение гиперпараметра – 0,0003.

Рисунок слева – фотография исследуемого объекта (шурупы использовались для добавления веса, предотвращая всплытия фигуры и не влияли на результаты измерения). Рисунок справа – двумерное томографическое изображение.

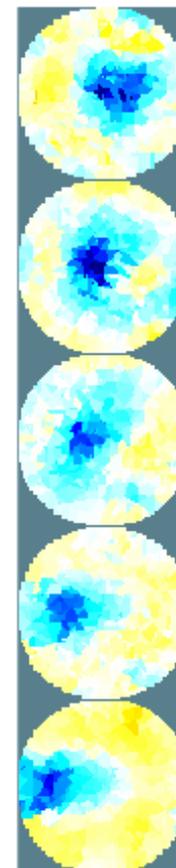
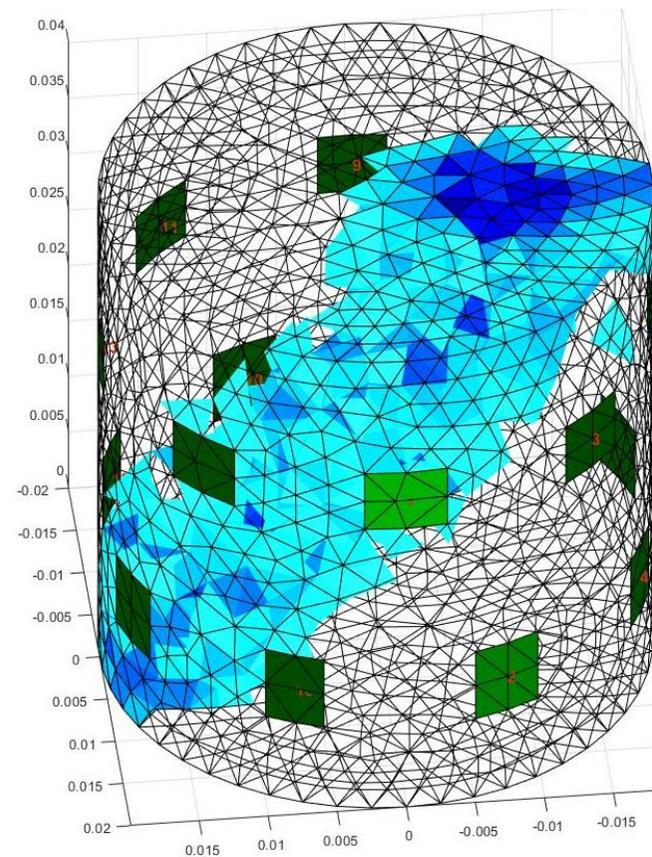
Рисунок 4.25 – Двумерная визуализация цилиндра в измерительной ячейке с помощью метода ЭИТ



Исследуемая частота – 500 кГц, значение гиперпараметра – 0,001.

Рисунок слева – фотография исследуемого объекта (шурупы использовались для добавления веса, предотвращая всплытия фигуры и не влияли на результаты измерения). Рисунок справа – двумерное томографическое изображение.

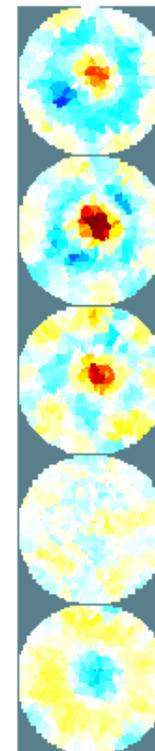
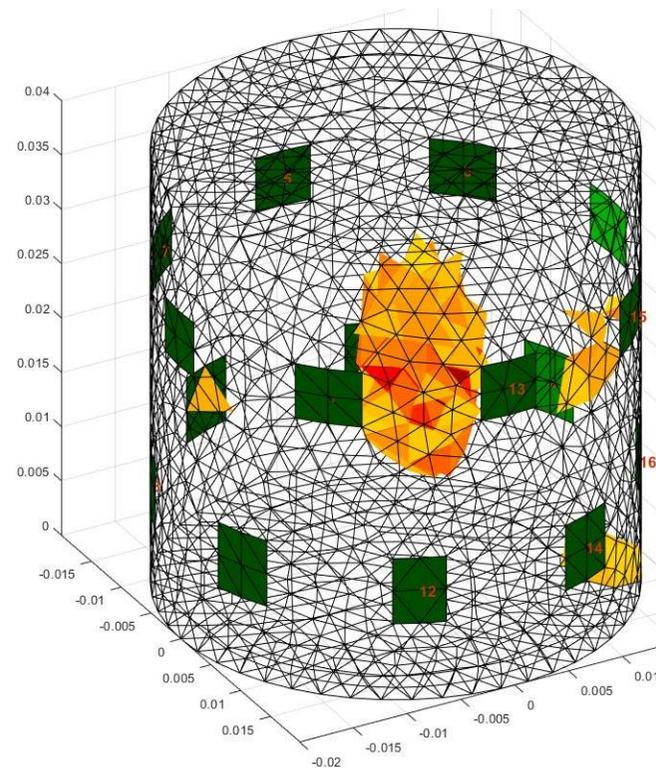
Рисунок 4.26 – Двумерная визуализация цилиндра в измерительной ячейке с помощью ЭИТ



Исследуемая частота – 50 кГц, значение гиперпараметра – 0,003.

Рисунок слева – фотография исследуемого объекта. Рисунок посередине – трехмерное томографическое изображение. Рисунок справа – двумерное томографическое изображение.

Рисунок 4.27 – Визуализация цилиндра в измерительной ячейке с помощью метода ЭИТ

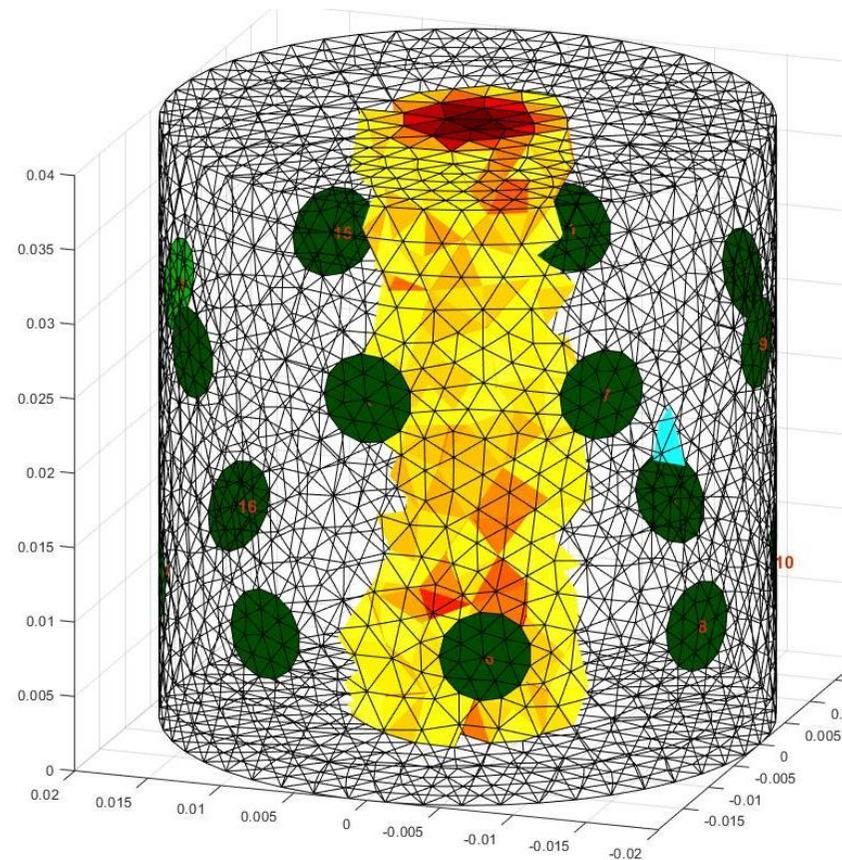
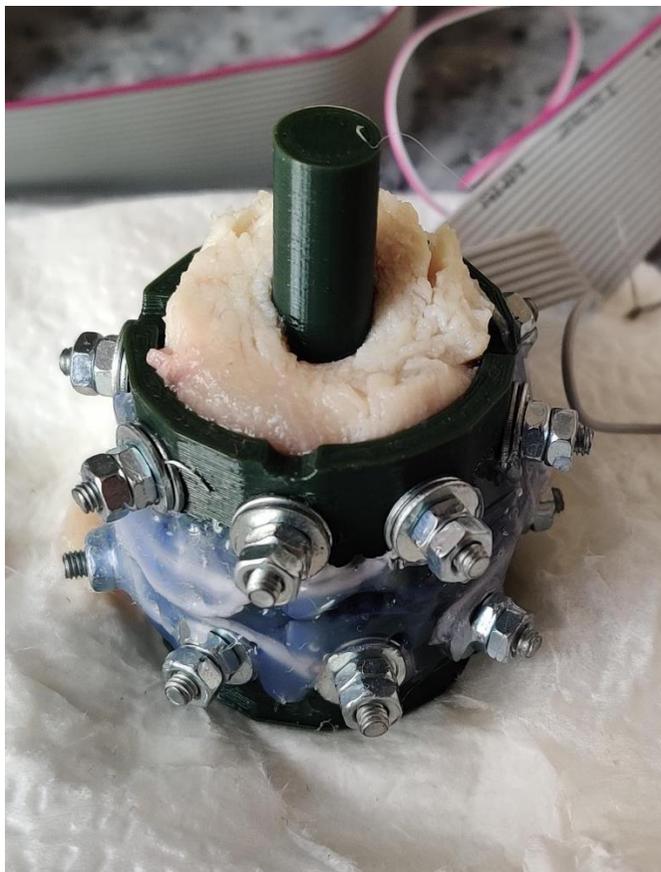


Исследуемая частота – 50 кГц, значение гиперпараметра – 0,0003.

Рисунок слева – фотография исследуемого объекта. Болт на дне ячейки использовался для подтопления ксенографтов в физиологическом растворе. Располагался значительно ниже уровня электродов и не влиял на результат измерений.

Рисунок посередине – трехмерное томографическое изображение. Рисунок справа – двумерное томографическое изображение.

Рисунок 4.28 – Визуализация цилиндра в измерительной ячейке с помощью метода ЭИТ



Исследуемая частота – 50 кГц, значение гиперпараметра – 0,0003.

Рисунок слева – фотография исследуемого объекта. Средой визуализации служит мышечная ткань курицы. Рисунок посередине – трехмерное томографическое изображение.

Рисунок 4.29 – Визуализация цилиндра в измерительной ячейке с помощью метода ЭИТ

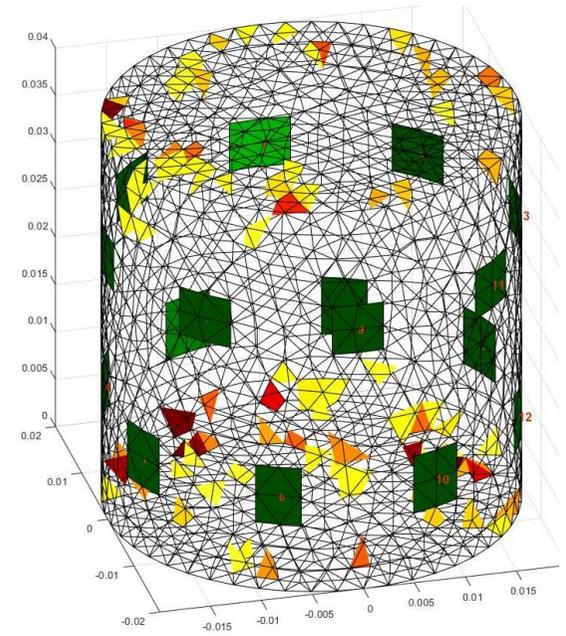
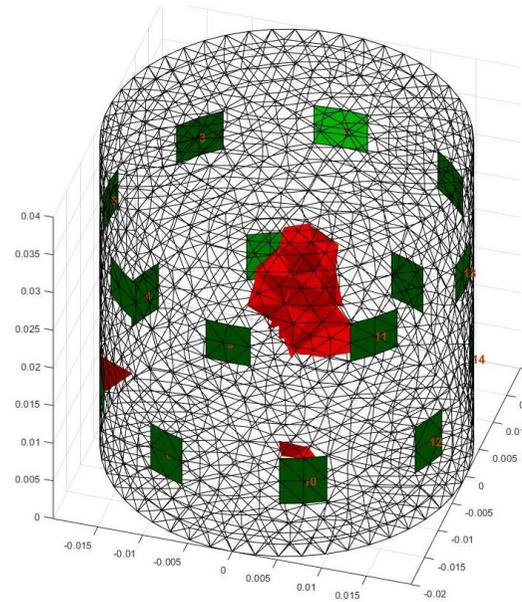


Рисунок слева – фотография исследуемого объекта. Средой визуализации служит мышечная ткань курицы.

Рисунок посередине – трехмерное томографическое изображение с замороженным ксенографтом. Температура ксенографта – минус 45 °С.

Рисунок справа – томографическое изображение с растаявшим ксенографтом. Температура ксенографта, мышечной ткани курицы и окружающей среды – плюс 24 °С. Исследуемая частота – 50 кГц, значение гиперпараметра – 0,0003.

Рисунок 4.30 – Визуализация ксенографта внутри мышечной ткани курицы.

#### 4.8 Результаты второго этапа экспериментальных исследований

Во время проведения экспериментальных исследований были получены двухмерные и трехмерные томографические изображения различных объектов искусственного и животного происхождения.

Для проверки возможностей разработанного устройства визуализация проводилась в двухмерном режиме, в соответствии с рисунками 4.27 и 4.28. Выявлено, что разработанная система позволяет измерения с точностью, достаточной для определения местоположения исследуемого объекта. При единичном включении тестового образца в измерительную ячейку на томографическом изображении удалось точно визуализировать форму и узнать размер исследуемого объекта. Увеличивая число включений, информация об объекте теряется, однако, информация о расположении объекта сохраняется. Импеданс замороженного объекта – мышечной, либо другого типа ткани (как показал первый этап экспериментальных исследований), а также ксенографта, при заморозке значительно возрастает до сотен кОм – единиц МОм, и в какой-то степени сопоставим с импедансом тестовых объектов в виде пластиковых цилиндров (импеданс на 4-5 порядков больше импеданса среды). На фоне нормальных значений импеданса ткани, лежащих в диапазоне сотен Ом, область криохирургического воздействия будет высококонтрастной при визуализации с помощью метода ЭИТ.

Трехмерная визуализация, значительно расширяет возможности двумерной электроимпедансной визуализации. При единичных контрастных импедансных включениях в однородной среде (на примере пластикового цилиндра, в соответствии с рисунком 4.29), удалось определить форму и размер исследуемого объекта с достаточной для практического применения точностью. Во время визуализации менее контрастного объекта – ксенографта колоректального рака человека из клеточной линии НТС 116 в однородной среде (в соответствии с рисунком 4.30), также удалось определить местоположение и трехмерную форму исследуемого объекта. Для имитации криохирургического воздействия на

биологическую ткань, проведена серия экспериментов по визуализации замороженного ксенографта до температуры минус 45 °С в неоднородной среде мышечной ткани курицы. В результате удалось определить местонахождение исследуемого объекта и частично воспроизвести его форму. Примерно через час после прогрева измерительной ячейки (включая среду и ксенографт) до комнатной температуры, измерение проведено повторно. В результате получено томографическое изображение (в соответствии с рисунком 4.32, справа) уже без включения, что свидетельствует о том, что импеданс ксенографта сравнялся с импедансом используемой среды.

По результатам проведенных исследований трехмерной визуализации были получены схожие результаты, как и при двумерной визуализации. Преимущество двумерной визуализации заключается в практически мгновенной скорости построения томографических изображений. В ходе проводимых экспериментов, требовалось около 0,1-0,2 сек на получение томографического изображения (в модели использовалось 3356 конечных элементов, диаметр измерительной ячейки составил 200 мм). Основное преимущество трехмерной визуализации заключается в возможности определения формы объекта, приближенной к реальной. Однако, для построения трехмерного томографического изображения требуется не менее 25–30 сек (в модели использовалось конечных элементов, диаметр ячейки составил 20 мм).

#### **Краткие выводы по главе 4**

1. Проведена проверка и тестирование параметров алгоритмов управления измерительной установкой программного обеспечения для реконструкции томографических изображений, криосенсоров, основных параметров измерительного тракта системы. Результаты тестирования показали, что разработанная экспериментальная установка выполняет свои функции в полном объеме.

2. Представлены результаты экспериментального исследования – биоимпедансные спектры биологических объектов растительного и животного происхождения. Изучены биоимпедансные свойства исследуемых образцов.

3. По мере замораживания, на несколько порядков увеличивается абсолютная величина полного электрического импеданса как биологических тканей, так и тканей растительного происхождения. При полном глубоком замораживании до температуры минус 50 °С и ниже наблюдается локальное увеличение электрического импеданса на некоторых участках биоимпедансного спектра в частотном диапазоне от 10 до 1000 кГц. При этом замораживание исследуемых объектов можно разделить на несколько фаз.

4. Полученные данные позволяют достоверно определять степень криповреждения биологических тканей путем измерения электрического импеданса в полосе частот от 10 до 1000 кГц.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведен сравнительный анализ основных визуализирующих методов диагностики для построения изображения внутренних сред биологического объекта. Выделены основные недостатки методов, мешающих их внедрению в криохирургию. В качестве альтернативного метода рассмотрена возможность применения ЭИТ для определения границ, глубины и области криовоздействия на биологические объекты.

2. Разработан и создан программно-аппаратный комплекс для оценки воздействия холода на биологический объект в температурном диапазоне от минус 50 °С до плюс 30 °С в режиме реального времени, в широком частотном диапазоне от 10 до 1000 кГц с величиной зондирующего тока от 2 до 20 мА.

3. Впервые получены биоимпедансные спектры различных образцов биологической ткани, включая ксенографты колоректального рака человека из клеточной линии НТС 116 в диапазоне температур от минус 50 °С до плюс 25 °С в частотном диапазоне от 10 до 1000 кГц с частотным разрешением 10 кГц в режиме реального времени.

4. Впервые в диапазоне частот от 10 до 1000 кГц определены области спектра электрического импеданса биологических тканей животного и растительного происхождения, значимо изменяющиеся в процессе холодового воздействия.

5. С помощью разработанной установки были проведены экспериментальные исследования для оценки воздействия холода на исследуемый объект, получены двухмерные и трехмерные томографические изображения с помощью ЭИТ.

Полученные результаты могут быть использованы для создания новой криохирургической аппаратуры с повышенной эффективностью и безопасностью клинического применения за счет улучшения контроля размеров зоны криодеструкции и величины холодового воздействия. Снижение вероятности повреждения здоровых тканей и близкорасположенных кровеносных сосудов позволит уменьшить риск развития послеоперационных осложнений и сократить период реабилитации после оперативного вмешательства.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АЦП – аналого-цифровой преобразователь.

КТ – компьютерная томография.

МИТ – магнитоиндукционная томография.

МРТ – магнитно-резонансная томография.

ПЛИС – программируемая интегральная схема.

УзТ – ультразвуковая томография.

ЦАП – цифро-аналоговый преобразователь.

ЦОС – цифровая обработка сигналов.

ЭИТ – электроимпедансная томография.

DMA – режим прямого доступа к памяти (direct memory access).

EIDORS – electrical impedance and diffuse optical reconstruction software.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Arnott, J. Practical illustrations of the remedial efficacy of a very low or anaesthetic temperature. – I. In *Cancer* / J. Arnott // *Lancet*. – 1850. – Vol. 56, N 1409. – P. 257–259.
2. Silver, K. The place of James Arnott (1797–1883) in the development of local anaesthesia in dentistry / K. Silver, J. Silver // *Br. Dent. J.* – 2016. – Vol. 220, N 5. – P. 249–252.
3. Wildsmith, J.A. Some (mostly Scottish) local anaesthetic heroes / J.A. Wildsmith // *J. R. Coll. Physicians. Edinb.* – 2012. – Vol. 42, N 2. – P. 179–183.
4. Robinson, D.H. Historical development of modern anesthesia / D.H. Robinson, A.H. Toledo // *J. Invest. Surg.* – 2012. – Vol. 25, N 3. – P. 141–149.
5. Roux, F.E. Neurosurgical work during the Napoleonic wars: Baron Larrey's experience / F.E. Roux, M. Reddy // *Clin. Neurol. Neurosurg.* – 2013. – Vol. 115, N 12. – P. 2438–2444.
6. Pasquali, P. A Short History of Cryosurgery / P. Pasquali // *Cryosurgery. A Practical Manual* / ed. P. Pasquali. – Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2016. – P. 3–17. – ISBN 978-3-662-51232-6.
7. Usatine, R.P. Cutaneous Cryosurgery / R.P. Usatine, D.L. Stulberg, G.B. Colver. – 4th ed. – CRC Press, 2005. – 152 p. – ISBN 9780429174087.
8. Awad, S.M. The story behind cryosurgery / S.M. Awad // *J. Surg. Dermatology*. – 2017. – Vol. 2, N 3. – P. 161–163.
9. Abramovits, W. The History of Dermatologic Cryosurgery / W. Abramovits // *Dermatological Cryosurgery and Cryotherapy* / eds W. Abramovits, G. Graham, Y. Harshai, R. Strumia. – Springer, 2016. – P. 3–6. – ISBN 978-1-4471-7387-8.
10. Averianov, M.Y. New Cryosurgical Instruments in Treatment of Tumors and Purulent Diseases of Skin and Subcutaneous Fat / M.Y. Averianov, V.I. Kochenov, V.V. Slonimsky // *Modern Technologies in Medicine*. – 2013. – Vol. 5, N 1. – P. 76–80.

11. Baust, J.G. Principles of Cryoablation / J.G. Baust, A.A. Gage, J.M. Baust // Dermatological Cryosurgery and Cryotherapy / eds W. Abramovits, G. Graham, Y. Harshai, R. Strumia. – Springer, 2016. – P. 9–16. – ISBN 978-1-4471-7387-8.
12. Bhatti, M.S. A Historical Look at Chlorofluorocarbon Refrigerants / M.S. Bhatti // ASHRAE Trans. – 1999. – Vol. 105. – P. 1186–1206.
13. Pasricha, J.S. Treatment of Skin Diseases / J.S. Pasricha, K.K. Verma. – 6th ed. – Jp. Medical. Ltd, 2013. – 324 p. – ISBN 9789350904565.
14. Modern cryosurgery for cancer / eds K. Xu, N.N. Korpan, L. Niu. – World Scientific Publishing Company, 2012. – 940 p. – ISBN-13 978-9814329651.
15. Update in Cosmetic Dermatology / eds A. Tosti, D. Hexsel. – Springer Berlin, Heidelberg, 2016. – 220 p. – ISBN 978-3-662-52292-9.
16. Альперович, Б.И. Хирургия печени : руководство / Б.И. Альперович. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 348 с. – ISBN 978-5-9704-2573-2.
17. Cryo-assisted resection en Bloc, and cryoablation in situ, of primary breast cancer coupled with intraoperative ultrasound-guided tracer injection: a preliminary clinical study / N.N. Korpan, K. Xu, P. Schwarzinger [et al.] // Technol. Cancer Res. Treat. – 2018. – Vol. 17. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5784566> (дата обращения: 02.03.2023).
18. Histological outcomes after focal high-intensity focused ultrasound and cryotherapy / T.T. Shah, V. Kasivisvanathan, C. Jameson [et al.] // World J. Urol. – 2015. – Vol. 33, N 7. – P. 955–964.
19. Pasquali P. Use of 22 MHz high-frequency ultrasound in the management of skin cancer / P. Pasquali, E. Camacho, A. Fortuño-Mar // Skin Cancer. A Practical Approach / eds A. Baldi, P. Pasquali, E.P. Spugnini. – 2nd ed. – Humana, 2014. – P. 245–256. – ISBN-13 978-1461473565.
20. Outcomes of ultrasound-guided percutaneous argon-helium cryoablation of hepatocellular carcinoma / Y. Yang, C. Wang, Y. Lu [et al.] // J. Hepatobiliary Pancreat. Sci. – 2012. – Vol. 19, N 6. – P. 674–684.

21. Cryosurgery, an alternative treatment option for organ-confined prostate cancer: current beliefs and practice patterns of urologists / M. Kongnyuy, D.M. Halpern, K.E. Kosinski, A.E. Katz // *Int. Urol. Nephrol.* – 2017. – Vol. 49, N 1. – P. 43–48.

22. Imaging of interstitial cryotherapy--an in vitro comparison of ultrasound, computed tomography, and magnetic resonance imaging / J. Tacke, R. Speetzen, I. Heschel [et al.] // *Cryobiology.* – 1999. – Vol. 38, N 3. – P. 250–259.

23. Ultrasound characteristics of renal cryosurgery / G.M. Onik, G. Reyes, J.K. Cohen, B. Porterfield // *Urology.* – 1993. – Vol. 42, N 2. – P. 212–215.

24. Gage, A.A. Experimental cryosurgery investigations in vivo / A.A. Gage, J.M. Baust, J.G. Baust // *Cryobiology.* – 2009. – Vol. 59, N 3. – P. 229–243.

25. Fenster, A. Three-dimensional ultrasound imaging / A. Fenster, D.B. Downey // *Annu. Rev. Biomed. Eng.* – 2000. – Vol. 2. – P. 457–475.

26. Denis de Senneville, B. Magnetic resonance temperature imaging / B. Denis de Senneville, B. Quesson, C.T. Moonen // *Int. J. Hyperthermia.* – 2005. – Vol. 21, N 6. – P. 515–531.

27. Davalos, R. Electrical impedance tomography of cell viability in tissue with application to cryosurgery / R. Davalos, B. Rubinsky // *J. Biomech. Eng.* – 2004. – Vol. 126, N 2. – P. 305–309.

28. Edd, J.F. Temperature dependence of tissue impedivity in electrical impedance tomography of cryosurgery / J.F. Edd, L. Horowitz, B. Rubinsky // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* – 2005. – Vol. 52, N 4. – P. 695–701.

29. Otten, D.M. Cryosurgical monitoring using bioimpedance measurements--a feasibility study for electrical impedance tomography / D.M. Otten, B. Rubinsky // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* – 2000. – Vol. 47, N 10. – P. 1376–1381.

30. Korolyuk, E. Improved system for identifying biological tissue temperature using electrical impedance tomography / E. Korolyuk, K. Brazovskii // *MATEC Web of Conferences.* – 2018. – Vol. 158. – P. 1019. – URL: [https://www.matec-conferences.org/articles/mateconf/abs/2018/17/mateconf\\_se2018\\_01019/mateconf\\_se2018\\_01019.html](https://www.matec-conferences.org/articles/mateconf/abs/2018/17/mateconf_se2018_01019/mateconf_se2018_01019.html) (дата обращения: 02.03.2023).

31. Using multiple-electrode impedance measurements to monitor cryosurgery / A. Hartov, P. LePivert, N. Soni, K. Paulsen // *Med. Phys.* – 2002. – Vol. 29, N 12. – P. 2806–2814.
32. Hai, J.J. *Biophysical Principles and Properties of Cryoablation* / J.J. Hai, H.F. Tse // *The practice of catheter cryoablation for cardiac arrhythmias* / ed. N.Y. Chan. – Wiley-Blackwell, 2013. – P. 1–7. – ISBN 9781118451830.
33. The efficacy of intralesional cryosurgery in the treatment of small- and medium-sized basal cell carcinoma: A pilot study / A.H. Weshahy, R.M. Abdel Hay, D. Metwally [et al.] // *J. Dermatolog. Treat.* – 2015. – Vol. 26, N 2. – P. 147–150.
34. Zimmerman, E.E. *Cutaneous cryosurgery* / E.E. Zimmerman, P. Crawford // *Am. Fam. Physician.* – 2012. – Vol. 86, N 12. – P. 1118–1124.
35. *Cancer of the Skin: Expert Consult* / D.S. Rigel, R. Friedman, J.K. Robinson [et al.]. – 2nd ed. – Saunders, 2011. – 720 p. – ISBN-13 978-1437717884.
36. Two-phase heat transfer model for multiprobe cryosurgery / X. Zhang, S.M. Chapal Hossain, G. Zhao [et al.] // *Applied. Thermal. Engineering.* – 2017. – Vol. 113. – P. 47–57.
37. Kuflik, E.G. *Cryosurgery updated* / E.G. Kuflik // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 1994. – Vol. 31, N 6. – P. 925–944.
38. Thai, K.E. *Cryosurgery of benign skin lesions* / K.E. Thai, R.D. Sinclair // *Australas. J. Dermatol.* – 1999. – Vol. 40, N 4. – P. 175–184.
39. Zouboulis, C.C. *Principles of cutaneous cryosurgery: an update* / C.C. Zouboulis // *Dermatology.* – 1999. – Vol. 198, N 2. – P. 111–117.
40. Gage, A.A. *What temperature is lethal for cells?* / A.A. Gage // *J. Dermatol. Surg. Oncol.* – 1979. – Vol. 5, N 6. – P. 459–460.
41. Swann, M.H. *Practical cryotherapy for skin disease* / M.H. Swann, T.A. Taylor // *Mo Med.* – 2007. – Vol. 104, N 6. – P. 509–512.
42. Yiu, W.K. *Synergistic effect of cool/thaw cycles on vascular cells in an in vitro model of cryoplasty* / W.K. Yiu, S.W. Cheng, B.E. Sumpio // *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2008. – Vol. 19, N 6. – P. 925–930.

43. Large volume hepatic freezing: association with significant release of the cytokines interleukin-6 and tumor necrosis factor  $\alpha$  in a rat model / J.K. Seifert, M.P. France, J. Zhao [et al.] // *World J. Surg.* – 2002. – Vol. 26, N 11. – P. 1333–1341.

44. Poling, B.E. *The Properties of Gases and Liquids* / B.E. Poling, J.M. Prausnitz, J.P. O'Connell. – 5th ed. – McGRAW-HILL, 2000. – 768 p. – ISBN-13 978-0070116825.

45. Hoffmann, N.E. *The cryobiology of cryosurgical injury* / N.E. Hoffmann, J.C. Bischof // *Urology.* – 2002. – Vol. 60, N 2, Suppl. 1. – P. 40–49.

46. Choi, J. Attachment state shifts viability versus cooling rate (inverted u curve) during freezing for human dermal fibroblasts / J. Choi, J.C. Bischof // *ASME 2011 Summer Bioengineering Conference, Parts A and B : Proceedings of the ASME 2011 Summer Bioengineering Conference.* – Pennsylvania, USA, 2011. – P. 39–40. – ISBN 978-0-7918-5458-7.

47. Development and estimation of a novel cryoprobe utilizing the Peltier effect for precise and safe cryosurgery / H. Takeda, S. Maruyama, J. Okajima [et al.] // *Cryobiology.* – 2009. – Vol. 59, N 3. – P. 275–284.

48. A parametric study of freezing injury in ELT-3 uterine leiomyoma tumour cells / J. Bischof, W. Fahssi, D. Smith [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2001. – Vol. 16, N 2. – P. 340–348.

49. Budman, H. Control of the cryosurgical process in nonideal materials / H. Budman, J. Dayan, A. Shitzer // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* – 1991. – Vol. 38, N 11. – P. 1141–1153.

50. Gage, A.A. Mechanisms of tissue injury in cryosurgery / A.A. Gage, J. Baust // *Cryobiology.* – 1998. – Vol. 37, N 3. – P. 171–186.

51. Gage, A.A. Critical temperature for skin necrosis in experimental cryosurgery / A.A. Gage, J.A. Caruana, M. Montes // *Cryobiology.* – 1982. – Vol. 19, N 3. – P. 273–282.

52. Minimally invasive cryosurgery--technological advances / J. Baust, A.A. Gage, H. Ma, C.M. Zhang // *Cryobiology.* – 1997. – Vol. 34, N 4. – P. 373–384.

53. Evaluation of partial tarsal plate excision using a transconjunctival approach for the treatment of distichiasis in dogs / A. Paella Gómez, S. Mazzucchelli, E. Scurrall [et al.] // *Vet. Ophthalmol.* – 2020. – Vol. 23, N 3. – P. 506–514.

54. *Manual of Oculoplastic Surgery* / eds M.R. Levine, R.C. Allen. – 5th ed. – Springer, 2018. – 563 p. – ISBN-13 978-3319745114.

55. Mechanism research of cryoanalgesia / L. Zhou, P. Kambin, K.F. Casey [et al.] // *Neurol. Res.* – 1995. – Vol. 17, N 4. – P. 307–311.

56. Tomares, S. Exacerbation of Inflammation by Aggressive Cold Therapy: Preventing Microcellular Ice Crystal Injury / S. Tomares // DC Aligned, Powered by MeyerDC™ : [site]. – 2018, Feb. 27. – URL: <http://news.meyerdc.com/chiropractors/exacerbation-inflammation-aggressive-cold-therapy-preventing-microcellular-ice-crystal-injury> (дата обращения: 12.03.2023).

57. Cryoanalgesia. Ultrastructural study on cryolytic lesion of sciatic nerve in rat and rabbit / V.A. Fasano, S.M. Peirone, S. Zeme [et al.] // *Acta Neurochir. Suppl. (Wien)*. – 1987. – Vol. 39. – P. 177–180.

58. Peripheral nerve pathology following sciatic cryoneurolysis: relationship to neuropathic behaviors in the rat / R. Wagner, J.A. DeLeo, H.M. Heckman, R.R. Myers // *Exp. Neurol.* – 1995. – Vol. 133, N 2. – P. 256–264.

59. Королюк, Е.С. Повышение эффективности определения степени криовоздействия с помощью импедансной томографии / Е.С. Королюк, Г.Б. Ханахмедова // *Инженерия для освоения космоса : сборник научных трудов V Всероссийского молодежного форума с международным участием / Томский политехнический университет.* – Томск, 2017. – С. 84–87.

60. Real time ultrasonic monitoring of hepatic cryosurgery / J.C. Gilbert, G.M. Onik, W.K. Hoddick, B. Rubinsky // *Cryobiology.* – 1985. – Vol. 22, N 4. – P. 319–330.

61. Sonographic monitoring of hepatic cryosurgery in an experimental animal model / G. Onik, J. Gilbert, W. Hoddick [et al.] // *AJR Am. J. Roentgenol.* – 1985. – Vol. 144, N 5. – P. 1043–1047.

62. Ultrasound-guided hepatic cryosurgery in the treatment of metastatic colon carcinoma. Preliminary results / G. Onik, B. Rubinsky, R. Zemel [et al.] // *Cancer*. – 1991. – Vol. 67, N 4. – P. 901–907.

63. Cryotherapy of breast cancer under ultrasound guidance: initial results and limitations / S.O. Pflaiderer, M.G. Freesmeyer, C. Marx [et al.] // *Eur. Radiol.* – 2002. – Vol. 12, N 12. – P. 3009–3014.

64. Chen, R.N. Laparoscopic cryoablation of renal masses / R.N. Chen, A.C. Novick, I.S. Gill // *Urol. Clin. North. Am.* – 2000. – Vol. 27, N 4. – P. 813–820.

65. Simon, C.J. Current role of image-guided ablative therapies in lung cancer / C.J. Simon, D.E. Dupuy // *Expert. Rev. Anticancer. Ther.* – 2005. – Vol. 5, N 4. – P. 657–666.

66. Breast Cancer Cryosurgery / N.N. Korpan, J.C. d’Almeida Gonçalves, P.J. Le Pivert [et al.] // *Atlas of Cryosurgery* / ed. N.N. Korpan. – Springer, 2001. – P. 343–398. – ISBN-13 978-3211834497.

67. Rabin, Y. Minimally invasive breast cryosurgery / Y. Rabin, T.B. Julian, P. Olson // *Basics of Cryosurgery* / ed. N.N. Korpan. – Springer, 2012. – Ch. 3.2. – P. 213–223. – ISBN-13 978-3211837016.

68. Cryosurgery of liver cancer / G.M. Onik, D. Atkinson, R. Zemel, M.L. Weaver // *Semin. Surg. Oncol.* – 1993. – Vol. 9, N 4. – P. 309–317.

69. Sindelar, W.F. Histological and ultrastructural changes in rat kidney after cryosurgery / W.F. Sindelar, N. Javadpour, D.H. Bagley // *J. Surg. Oncol.* – 1981. – Vol. 18, N 4. – P. 363–379.

70. Hepatic cryoablation: US monitoring of extent of necrosis in normal pig liver / S.M. Weber, F.T. Lee, T.F. Warner [et al.] // *Radiology*. – 1998. – Vol. 207, N 1. – P. 73–77.

71. CT-monitored percutaneous cryoablation in a pig liver model: pilot study / F.T. Lee, S.G. Chosy, P.J. Littrup [et al.] // *Radiology*. – 1999. – Vol. 211, N 3. – P. 687–692.

72. Cryosurgery for Hepatocellular Carcinoma / K. Xu, L. Niu, Y. Hu [et al.] // *Modern Cryosurgery for Cancer*. – 2012. – P. 531–562. – URL:

[https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/9789814329668\\_0029](https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/9789814329668_0029) (дата обращения: 12.03.2023).

73. Cryosurgery with combination of (125)iodine seed implantation for the treatment of locally advanced pancreatic cancer / K.C. Xu, L.Z. Niu, Y.Z. Hu [et al.] // *J. Dig. Dis.* – 2008. – Vol. 9, N 1. – P. 32–40.

74. Follow-up of renal masses after cryosurgery using computed tomography; enhancement patterns and cryolesion size / P. Beemster, S. Phoa, H. Wijkstra [et al.] // *BJU Int.* – 2008. – Vol. 101, N 10. – P. 1237–1242.

75. Maiwand, M.O. Cryosurgery for lung cancer: clinical results and technical aspects / M.O. Maiwand, G. Asimakopoulos // *Technol. Cancer. Res. Treat.* – 2004. – Vol. 3, N 2. – P. 143–150.

76. Computerized tomography guided percutaneous renal cryoablation with the patient under conscious sedation: initial clinical experience / A. Gupta, M.E. Allaf, L.R. Kavoussi [et al.] // *J. Urol.* – 2006. – Vol. 175, N 2. – P. 447–452.

77. Sequential changes after radiofrequency ablation and cryoablation of renal neoplasms: role of CT and MR imaging / S. Kawamoto, S. Permpongkosol, D.A. Bluemke [et al.] // *Radiographics.* – 2007. – Vol. 27, N 2. – P. 343–355.

78. Isoda, H. Sequential MRI and CT monitoring in cryosurgery--an experimental study in rats / H. Isoda // *Nihon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi.* – 1989. – Vol. 49, N 12. – P. 1499–1508.

79. Patent N US-5706810-A United States Patent, IPC A61B18/02. Magnetic Resonance Imaging Assisted Cryosurgery : N US-46125395-A : Application date 06.01.1995 : Grant date 01.12. 1998 / B. Rubinsky, J. Gilbert, S. Wong [et al.]. – 29 p. – URL: <https://portal.unifiedpatents.com/patents/patent/US-5706810-A> (дата обращения: 02.03.2023).

80. Rubinsky, B. Cryosurgery / B. Rubinsky // *Annu. Rev. Biomed. Eng.* – 2000. – Vol. 2. – P. 157–187.

81. An ESR-CT imaging of the head of a living rat receiving an administration of a nitroxide radical / S. Ishida, S. Matsumoto, H. Yokoyama [et al.] // *Magn. Reson. Imaging.* – 1992. – Vol. 10, N 1. – P. 109–114.

82. Percutaneous renal tumor cryoablation with magnetic resonance imaging guidance / W.B. Shingleton, P.E. Sewell // *J. Urol.* – 2001. – Vol. 165, N 3. – P. 773–776.

83. MR-guided transvaginal cryotherapy of uterine fibroids with a horizontal open MRI system: initial experience / M. Dohi, J. Harada, T. Mogami [et al.] // *Radiat. Med.* – 2004. – Vol. 22, N 6. – P. 391–397.

84. Cryoablation of colorectal liver metastases: minimally invasive tumour control / T. Mala, B. Edwin, Ø. Mathisen [et al.] // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 39, N 6. – P. 571–578.

85. MRI-guided cryotherapy / P.R. Morrison, S.G. Silverman, K. Tuncali, S. Tatli // *J. Magn. Reson. Imaging.* – 2008. – Vol. 27, N 2. – P. 410–420.

86. Handbook of Medical Image Processing and Analysis / ed. I. Bankman. – 2nd ed. – Academic Press, 2008. – 1000 p. – (Academic Press Series in Biomedical Engineering). – ISBN-13 978-0123739049.

87. A 3D statistical shape model of the pelvic bone for segmentation / H. Lamecker, M. Seebass, H. Hege, P. Deufhard // *SPIE Medical Imaging.* – 2004. – Vol. 5370. – URL: <https://doi.org/10.1117/12.534145> (дата обращения: 12.03.2023).

88. Ella, A. Construction of an MRI 3D high resolution sheep brain template / A. Ella, M. Keller // *Magn. Reson. Imaging.* – 2015. – Vol. 33, N 10. – P. 1329–1337.

89. Kwan, R.K. MRI simulation-based evaluation of image-processing and classification methods / R.K. Kwan, A.C. Evans, G.B. Pike // *IEEE Trans. Med. Imaging.* – 1999. – Vol. 18, N 11. – P. 1085–1097.

90. Preclinical evaluation of MnDPDP: new paramagnetic hepatobiliary contrast agent for MR imaging / G. Elizondo, C.J. Fretz, D.D. Stark [et al.] // *Radiology.* – 1991. – Vol. 178, N 1. – P. 73–78.

91. Detection of colorectal hepatic metastases using MnDPDP MR imaging and diffusion-weighted imaging (DWI) alone and in combination / D.M. Koh, G. Brown, A.M. Riddell [et al.] // *Eur. Radiol.* – 2008. – Vol. 18, N 5. – P. 903–910.

92. Diagnosis and staging of pancreatic cancer: comparison of mangafodipir trisodium-enhanced MR imaging and contrast-enhanced helical hydro-CT / W. Schima,

R. Függer, E. Schober [et al.] // AJR Am. J. Roentgenol. – 2002. – Vol. 179, N 3. – P. 717–724.

93. Place of cryosurgery in the treatment of malignant liver tumors / R. Adam, E. Akpınar, M. Johann [et al.] // Ann. Surg. – 1997. – Vol. 225, N 1. – P. 39–38.

94. Perivascular and intralesional tissue necrosis after hepatic cryoablation: results in a porcine model / S.M. Weber, F.T. Lee, D.O. Chinn [et al.] // Surgery. – 1997. – Vol. 122, N 4. – P. 742–747.

95. Korpan, N.N. Hepatic cryosurgery for liver metastases. Long-term follow-up / N.N. Korpan // Ann. Surg. – 1997. – Vol. 225, N 2. – P. 193–201.

96. Quality of life and sexuality of men with prostate cancer 3 years after cryosurgery / J.W. Robinson, B.J. Donnelly, J.C. Saliken [et al.] // Urology. – 2002. – Vol. 60, N 2, Suppl. 1. – P. 12–18.

97. ter Haar, G. Safety and bio-effects of ultrasound contrast agents / G. ter Haar // Med. Biol. Eng. Comput. – 2009. – Vol. 47, N 8. – P. 893–900.

98. Cryosurgery and radiofrequency ablation for unresectable colorectal liver metastases / J. Joosten, G. Jager, W. Oyen [et al.] // Eur. J. Surg. Oncol. – 2005. – Vol. 31, N 10. – P. 1152–1159.

99. Impedance spectroscopy: emphasizing solid materials and systems / eds J.R. Macdonald, W.R. Kenan. – Wiley-Interscience, 1987. – 368 p. – ISBN-13 978-0471831228.

100. Macdonald, J.R. Impedance spectroscopy / J.R. Macdonald // Ann. Biomed. Eng. – 1992. – Vol. 20, N 3. – P. 289–305.

101. Electrical impedance tomography // Industrial Tomography. Systems and Applications / ed. M. Wang. – 2nd ed. – Woodhead, 2022. – Ch. 2. – P. 31–76. – ISBN-13 978-0128230152 .

102. Biological Effects of Low Temperatures // Fundamentals of Cryobiology. Physical Phenomena and Mathematical Models / ed. A.I. Zhmakin. – Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2009. – Ch. 3. – P. 37–92. – ISBN-13 978-3540887843.

103. Barron, R.F. Cryogenic Heat Transfer / R.F. Barron, G.F. Nellis. – 2nd ed. – CRC Press, 2016. – 704 p. – ISBN 9781315373430.

104. A 4.9 m $\Omega$ -Sensitivity Mobile Electrical Impedance Tomography IC for Early Breast-Cancer Detection System / S. Hong, K. Lee, U. Ha [et al.] // IEEE Journal of Solid-State Circuits. – 2015. – Vol. 50, N 1. – P. 245–257.
105. Quantum II – Body Composition Analyzer // RJL Systems : [site]. – URL: <https://www.rjlsystems.com/products/quantum-ii> (дата обращения: 13.05.2021).
106. Brown, B.H. Electrical impedance tomography (EIT. – P. a review) / B.H. Brown // J. Med. Eng. Technol. – 2003. – Vol. 27, N 3. – P. 97–108.
107. Donnevert, J. Maxwell's Equations. From Current Density Distribution to the Radiation Field of the Hertzian Dipole / J. Donnevert. – Springer Vieweg, 2020. – 192 p. – ISBN-13 978-3658293758.
108. Full Maxwell Equations as a forward model for EIT in the mammography geometry / A.B. Brownell, D. Isaacson, G.J. Saulnier, J.C. Newell // 2011 IEEE 37th Annual Northeast Bioengineering Conference (NEBEC) / Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE). – Troy (NY), USA, 2011. – P. P2\_005. – ISBN 9781612848266.
109. Gencer, N.G. Electrical impedance tomography using induced currents / N.G. Gencer, M. Kuzuoglu, Y.Z. Ider // IEEE Trans Med Imaging. – 1994. – Vol. 13, N 2. – P. 338–350.
110. Finite element implementation of Maxwell's equations for image reconstruction in electrical impedance tomography / N.K. Soni, K.D. Paulsen, H. Dehghani, A. Hartov // IEEE Trans. Med. Imaging. – 2006. – Vol. 25, N 1. – P. 55–61.
111. Chitturi, V. Spatial resolution in electrical impedance tomography: A topical review / V. Chitturi, N. Farrukh // J. Electr. Bioimpedance. – 2017. – Vol. 8. – P. 66–78.
112. Harrach, B. Resolution Guarantees in Electrical Impedance Tomography / B. Harrach, M. Ullrich // IEEE Trans. Med. Imaging. – 2015. – Vol. 34, N 7. – P. 1513–1521.
113. Breast Ultrasound / A.N. Sencha, E.V. Evseeva, M.S. Mogutov, Y.N. Patrunov. – Springer, 2013. – 269 p. – ISBN-13 978-3642365010.

114. A method for reconstructing tomographic images of evoked neural activity with electrical impedance tomography using intracranial planar arrays / K.Y. Aristovich, G.S. dos Santos, B.C. Packham, D.S. Holder // *Physiol. Meas.* – 2014 – Vol. 35, N 6. – P. 1095–1109.
115. Белик, Д.В. Импедансные медицинские системы для хирургии / Д.В. Белик, К.Д. Белик // *Биотехносфера.* – 2010. – N 5/6. – С. 78–87.
116. Белик, Д.В. Импедансные электрохирургические аппараты : дис. ... д-ра техн. наук / К.Д. Белик. – Новосибирск, 2009. – 217 с.
117. Imaging fast electrical activity in the brain with electrical impedance tomography / K.Y. Aristovich, B.C. Packham, H. Koo [et al.] // *Neuroimage.* – 2016. – Vol. 124, Pt. A. – P. 204–213.
118. Mk3.5: a modular, multi-frequency successor to the Mk3a EIS/EIT system / A.J. Wilson, P. Milnes, A.R. Waterworth [et al.] // *Physiol. Meas.* – 2001. – Vol. 22, N 1. – P. 49–54.
119. Electrical impedance tomography spectroscopy (EITS) for human head imaging / R.J. Yerworth, R.H. Bayford, B. Brown [et al.] // *Physiol. Meas.* – 2003. – Vol. 24, N 2. – P. 477–489.
120. Design and calibration of a compact multi-frequency EIT system for acute stroke imaging / A. McEwan, A. Romsauerova, R. Yerworth [et al.] // *Physiol. Meas.* – 2006. – Vol. 27, N 5. – P. S199–210.
121. Halter, R.J. A broadband high-frequency electrical impedance tomography system for breast imaging / R.J. Halter, A. Hartov, K.D. Paulsen // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* – 2008. – Vol. 55, N 2, Pt. 1. – P. 650–659.
122. Yue, X. FPGA design and implementation for EIT data acquisition / X. Yue, C. McLeod // *Physiol. Meas.* – 2008. – Vol. 29, N 10. – P. 1233–1246.
123. Multi-frequency electrical impedance tomography system with automatic self-calibration for long-term monitoring / H. Wi, H. Sohal, A.L. McEwan [et al.] // *IEEE Trans. Biomed. Circuits. Syst.* – 2014. – Vol. 8, N 1. – P. 119–128.

124. FPGA-based voltage and current dual drive system for high frame rate electrical impedance tomography / S. Khan, P. Manwaring, A. Borsic, R. Halter // *IEEE Trans. Med. Imaging.* – 2015. – Vol. 34, N 4. – P. 888–901.
125. A Wideband Electrical Impedance Tomography System Based on Sensitive Bioimpedance Spectrum Bandwidth / C. Tan, S. Liu, J. Jia, F. Dong // *IEEE Trans. Instrum. Meas.* – 2020. – Vol. 69, N 1. – P. 144–154.
126. Mariappan, L. Magnetoacoustic tomography with magnetic induction: bioimpedance reconstruction through vector source imaging / L. Mariappan, B. He // *IEEE Trans. Med. Imaging.* – 2013. – Vol. 32, N 3. – P. 619–627.
127. Isaacson, D. Distinguishability of conductivities by electric current computed tomography / D. Isaacson // *IEEE Trans. Med. Imaging.* – 1986. – Vol. 5, N 2. – P. 91–95.
128. Geselowitz, D.B. An application of electrocardiographic lead theory to impedance plethysmography / D.B. Geselowitz // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* – 1971. – Vol. 18, N 1. – P. 38–41.
129. Thoracic Electrical Impedance Tomography-The 2022 Veterinary Consensus Statement / O.A. Brabant, D.P. Byrne, M. Sacks [et al.] // *Front. Vet. Sci.* – 2022. – Vol. 9. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9354895> (дата обращения: 02.03.2023).
130. Bedside measurement of changes in lung impedance to monitor alveolar ventilation in dependent and non-dependent parts by electrical impedance tomography during a positive end-expiratory pressure trial in mechanically ventilated intensive care unit patients / I.G. Bikker, S. Leonhardt, D. Reis Miranda [et al.] // *Crit. Care.* – 2010. – Vol. 14, N 3. – P. R100.
131. The number of electrodes and basis functions in EIT image reconstruction / M. Tang, W. Wang, J. Wheeler [et al.] // *Physiol. Meas.* – 2002. – Vol. 23, N 1. – P. 129–140.
132. Zhang, Y. Advancing Hand Gesture Recognition with High Resolution Electrical Impedance Tomography / Y. Zhang, R. Xiao, C. Harrison // *UIST '16* :

Proceedings of the 29th Annual Symposium on User Interface Software and Technology. – Tokyo, Japan, 2016. – P. 843–850. – ISBN 978-1-4503-4189-9.

133. Brazey, B. Robust imaging using electrical impedance tomography: review of current tools / B. Brazey, Y. Haddab, N. Zemiti // Proc. Math. Phys. Eng. Sci. – 2022. – Vol. 478, N 2258. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8808710> (дата обращения: 02.03.2023).

134. Тихомиров, А.М. Импеданс биологических тканей и его применение в медицине / А.М. Тихомиров ; Российский государственный медицинский университет. – Москва, 2006. – 12 с.

135. Епифанцев, В.В. Программно-аппаратный комплекс для проведения исследований импеданса биологических тканей / В.В. Епифанцев, В.А. Устюжанин, А.А. Ишков // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2013. – N 4. – С. 62–65.

136. Голев, И.М. Температурная зависимость электрического импеданса паренхимных тканей овощей / И.М. Голев, Е.Ю. Бобкина // Теоретические и практические аспекты естественных и математических наук. – 2012. – N 1. – С. 103–108.

137. Gersing, E. Impedance spectroscopy on living tissue for determination of the state of organs / E. Gersing // Bioelectrochem. Bioenerg. – 1998. – Vol. 45, N 2. – P. 145–149.

138. Baker, L.E. Principles of the impedance technique / L.E. Baker // IEEE Eng. Med. Biol. Mag. – 1989. – Vol. 8, N 1. – P. 11–15.

139. Березовский, В.А. Биофизические характеристики тканей человека : справочник / В.А. Березовский, Н.Н. Колотилов. – Киев : Наукова думка, 1990. – 222 с. – ISBN 5-12-001374-0.

140. Белик, К.Д. Методы моделирования при изменении импеданса и оценки глубины расположения объекта в среде с известной электрической проводимостью / К.Д. Белик, В.В. Губарев // Научный вестник Новосибирского государственного технического университета. – 2009. – N 4. – С. 17–24.

141. Ivanov, I.T. Effect of Permeant Cryoprotectants on Membrane Skeleton of Erythrocytes / I.T. Ivanov, B.K. Paarvanova // *Probl. Cryobiol. Cryomed.* – 2019. – Vol. 29, N 3. – P. 237–245.
142. Le Pivert, P.J. Measurement of intratissue bioelectrical low frequency impedance: a new method to predict per-operatively the destructive effect of cryosurgery / P.J. Le Pivert, P. Binder, T. Ougier // *Cryobiology.* – 1977. – Vol. 14, N 2. – P. 245–250.
143. Gage, A.A. Cryosurgery for tumors / A.A. Gage, J.G. Baust // *J. Am. Coll. Surg.* – 2007. – Vol. 205, N 2. – P. 342–356.
144. Устройство для хронической внеклеточной регистрации нейронной активности у свободноподвижных животных / А.М. Куличенко, В.Б. Павленко, Ю.О. Фокина, А.Г. Ильичев // *Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. Серия: Биология, химия.* – 2010. – Т. 23, N 1. – С. 52–57.
145. Mechanisms of cryoablation: clinical consequences on malignant tumors / J.G. Baust, A.A. Gage, T.E. Bjerklund Johansen, J.M. Baust // *Cryobiology.* – 2014. – Vol. 68, N 1. – P. 1–11.
146. E20-10. Быстродействующий внешний модуль ввода-вывода на шину USB 2.0 // LCARD : [сайт]. – URL: <https://www.lcard.ru/products/external/e20-10> (дата обращения: 02.03.2023).
147. 14-Bit 10Msps. Low Power 3V ADC // Digchip : Database on electronics components : [site]. – URL: <https://www.digchip.com/datasheets/parts/datasheet/262/LTC2245.php> (дата обращения: 02.03.2023).
148. MAX31855. Cold-junction compensated thermocouple-to-digital converter typical application circuit // Digchip : Database on electronics components : [site]. – URL: <https://www.digchip.com/datasheets/parts/datasheet/280/MAX31855.php> (дата обращения: 02.03.2023).

149. Capuano, M. *Electrical Safety Manual, 2004 Edition – A Comprehensive Guide to Electrical Safety Standards for Health Care Facilities* / M. Capuano // *Biomed. Instrum. Technol.* – 2005. – Vol. 39, N 2. – P. 163–164.
150. *Medical Devices. Regulations, Standards and Practices* / S. Ramakrishna, L. Tian, C. Wang [et al.]. – Woodhead Publishing, 2015. – 256 p. – (Woodhead Publishing Series in Biomaterials). – ISBN-13 978-0081002896.
151. Imai, Y. *Medical electrical equipment--Part 1-3: General requirements for basic safety and essential performance--collateral standard: radiation protection in diagnostic X-ray equipment JIS T 0601-1-3* / Y. Imai // *Nihon Hoshasen Gijutsu Gakkai Zasshi.* – 2009. – Vol. 65, N 11. – P. 1599–1601.
152. ГОСТ Р МЭК 60601-1-2010. Изделия медицинские электрические. Часть 1. Общие требования безопасности с учетом основных функциональных характеристик : национальный стандарт РФ : издание официальное : утв. и введ. в действие Приказом Федерального агентства по техн. рег. и метрол. от 23 ноября 2010 г. N 492-ст : введен впервые : дата введения 2011-09-01 / разработан ООО "Испытательный центр АФК". – Москва : Стандартинформ, 2017. – 293 с.
153. Ливенсон, А.Р. *Электробезопасность медицинской техники* / А.Р. Ливенсон. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 1981. – 279 с.
154. *A New Mechanism of Male Plug for Electrical Protection* / R. Rodríguez, M. Curado, E. Sardiña, J. Toribio // *Inventions.* – 2022. – Vol. 7, N 4. – P. 123. – URL: <https://www.mdpi.com/2411-5134/7/4/123> (дата обращения: 02.03.2023).
155. IEEE 3003.1-2019. *IEEE Recommended Practice for System Grounding of Industrial and Commercial Power Systems* : PAR Approval 12.06.2008 : Published : 08.09.2019 // IEEE Standards Association : [site]. – ISBN-13 978-1504460620. – URL: <https://standards.ieee.org/ieee/3003.1/4438> (дата обращения: 02.03.2023).
156. Hart, W.F. *A Five-Part Resistor-Capacitor Network for Measurement of Voltage and Current Levels Related to Electric Shock and Burns* / W.F. Hart // *Electrical shock safety criteria : Proceedings of the first international symposium on electrical shock safety criteria* / ed. J.E. Bridges. – Pergamon Press, 1985. – Ch. 3. – P. 183–192. – ISBN 978-0-08-025399-2.

157. Discussion of «Reevaluation of Lethal Electric Currents» 1 // IEEE Transa. Ind. Gen. Appl. – 1968. – Vol. IGA-4, N 6. – P. 676–677.
158. Bridges, J.E. Impact of recent developments in biological electrical shock safety criteria / J.E. Bridges, M. Vainberg, M.C. Wills // IEEE Trans. Power Deliv. – 1987. – Vol. 2, N 1. – P. 238–248.
159. ISO772x : High-Speed, Robust EMC Reinforced Dual-Channel Digital Isolators / Texas Instruments Incorporated. – Dallas, Texas, 2018. – 42 p.
160. ADuM3160 : Full/Low Speed USB Digital Isolator // Digchip : Database on electronics components : [site]. – 2010. – 12 p. – URL: <https://www.digchip.com/datasheets/3261105-adum3160.html> (дата обращения: 02.03.2023).
161. ADuM3160 : Full/Low Speed 2.5 kV USB Digital Isolator // Digchip : Database on electronics components : [site]. – 2010. – 16 p. – URL: <https://www.digchip.com/datasheets/parts/datasheet/2/041/ADUM3160.php> (дата обращения: 02.03.2023).
162. Ferrites and accessories : E 20/10/6 (EF 20) Core and accessories : B66311 // Digchip : Database on electronics components : [site]. – 2013. – 10 p. – URL: <https://www.digchip.com/datasheets/parts/datasheet/919/B66311.php> (дата обращения: 02.03.2023).
163. Bernard, L. Caractérisation électrique des tissus biologiques et calcul des phénomènes induits dans le corps humain par des champs électromagnétiques de fréquence inférieure au GHz / L. Bernard ; Universidade federal de Minas Gerais. – Belo Horizonte, 2007. – 130 p.
164. Применение биоимпедансного анализа в тканевой инженерии / В.В. Антипенко, Е.А. Печерская, С.А. Зарывахина, О.В. Карпанин // Вестник Пензенского государственного университета. – 2020. – N 4. – С. 95–100.
165. AP1117 : 1A low dropout positive adjustable or fixed-mode regulator // Digchip : Database on electronics components : [site]. – 2010. – 12 p. – URL: <https://www.digchip.com/datasheets/parts/datasheet/052/AP1117.php> (дата обращения: 02.03.2023).

166. DC/DC Converter : A\_S-1WR3&B\_LS-1WR3 Series / MORNSUN // Digchip : Database on electronics components : [site]. – 2021. – 5 p. – URL: <https://www.digchip.com/datasheets/parts/datasheet/2/1007/AS1WR3.php> (дата обращения: 02.03.2023).

167. PWB-4-AL : Surface Mount Wideband RF Transformers // Digchip : Database on electronics components : [site]. – 2013. – 8 p. – URL: <https://www.digchip.com/datasheets/parts/datasheet/2/3634/PWB4ALB.php> (дата обращения: 02.03.2023).

168. FT232HL : USB Hi-Speed to Single Channel Serial UART/FIFO/JTAG/SPI/I2C IC, LQFP-48. Single Channel Hi-Speed USB to Multipurpose UART/FIFO : Version 2.0 // FTDIChip : [site]. – 2019. – 55 p. – URL: <https://ftdichip.com/products/ft232hl/> (дата обращения: 02.03.2023).

169. ADG1606/ADG1607 : 4.5  $\Omega$  RON, 16-Channel, Differential 8-Channel,  $\pm 5$  V, +12 V, +5 V, and +3.3 V Multiplexers // Digchip : Database on electronics components : [site]. – 2009. – 24 p. – URL: <https://www.digchip.com/datasheets/parts/datasheet/041/ADG1607.php> (дата обращения: 02.03.2023).

170. Adler, A. EIDORS Version 3.10 / A. Adler // Electrical impedance tomography : proceedings of the 20th international conference on biomedical applications / eds A. Boyle, K. Aristovich, A. Witkowska-Wrobel, D. Holder. – London, 2019. – P. 63. – URL: <http://www.sce.carleton.ca/faculty/adler/publications/publications.html> (дата обращения: 02.03.2023).

171. Digital Multimeter HP-770HC // HoldPeak : [site]. – URL: <https://www.holdpeak.com/product/262.html> (дата обращения: 02.03.2023).

172. High Precision Chip Resistors // Panasonic Industry : [site]. – URL: <https://industrial.panasonic.com/ww/products/pt/high-precision-chip-resistors> (дата обращения: 02.03.2023).

173. Data sheet. Thick film chip resistors : precision grade : RE series // YAGEO : [site]. – URL:

[https://www.yageo.com/en/Product/Index/rchip/thick\\_film\\_precision](https://www.yageo.com/en/Product/Index/rchip/thick_film_precision) (дата обращения: 02.03.2023).

174. Бразовский, К.С. Методы и технические средства оценки функционального состояния головного мозга человека на основе электрических измерений: диссертация на соискание ученой степени доктора технических наук : дис. ... д-ра техн. наук / К.С. Бразовский. – Томск, 2015. – 369 с.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А – Акты внедрения результатов работы



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)



УТВЕРЖДАЮ

Проректор по науке и  
трансферу технологий

Л.Г. Сухих

«12» 12 2022 г.

### АКТ

о внедрении результатов исследований Королюка Евгения Сергеевича на тему «Программно-аппаратный комплекс для электроимпедансной визуализации зоны криодеструкции» на соискание ученой степени кандидата технических наук.

Настоящим удостоверяется, что результаты исследований Е.С. Королюка в виде программно-аппаратного комплекса для электроимпедансной визуализации зоны криодеструкции, были использованы в научно-исследовательской деятельности Исследовательской школы химических и биомедицинских технологий ТПУ при выполнении работ по гранту РФФИ № 20.2100.РФФИ2.2019. В учебном процессе по курсу «Приборы, системы и изделия медицинского назначения», для аспирантов направления подготовки 2.2.12. Приборы, системы и изделия медицинского назначения

Директор ИШХБМТ ТПУ  
д.х.н., профессор

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'M. E. Trusova'.

М. Е. Трусова

Минздрав России  
Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования

«Сибирский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)  
Московский тракт, д. 2, г. Томск, 634050  
Телефон (3822) 53 04 23;  
Факс (3822) 53 33 09  
e-mail: office@ssmu.ru  
http://www.ssmu.ru

ОКПО 01963539 ОГРН 1027000885251  
ИНН 7018013613 КПП 701701001

№ \_\_\_\_\_  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_



УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе и  
исследовательской подготовке

д-р мед. наук, профессор

О.С. Федорова

2022г.

### АКТ

о внедрении результатов исследований Королюка Евгения Сергеевича на тему «Программно-аппаратный комплекс для электроимпедансной визуализации зоны криодеструкции» на соискание ученой степени кандидата технических наук.

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: председатель – к-та мед. наук, ведущий научный сотрудник научно-образовательной лаборатории «Бионические цифровые платформы» (НОЛ «БЦП»), доцент кафедры Медицинской и биологической кибернетики СибГМУ Толмачев И.В. и членов: руководитель НОЛ «БЦП» Каверина И.С., ассистент НОЛ «БЦП», канд. техн. наук Солдатов А.А., руководитель Сетевого медицинского ИТ-парка Стасевский В.И. удостоверяем, что результаты исследований Королюка Е.С. в виде программно-аппаратного комплекса для электроимпедансных измерений, внедрены в работу НОЛ «БЦП», а также сетевого медицинского ИТ-парка СибГМУ с 2021г. Разработанный программно-аппаратный был использован для решения следующих медицинских задач:

1. Оценка и визуализации биологической ткани во время криохирургических операций
2. Выявлению, дифференцировке и оценке тяжести травматического поражения головного мозга, инсульта и отека головного мозга при оказании неотложной и экстренной помощи.
3. Визуализации вентиляционно-перфузионного соотношения для легочной системы в процессе проведения интенсивной терапии

В рамках реализации программы «Приоритет 2030» СибГМУ в НОЛ «БЦП» (проект: «ЭльВиро. Система поддержки принятия врачебных решений на основе данных электроимпедансной томографии») результаты исследований Королюка Е.С. используется для создания системы поддержки принятия врачебных решений на основе технологии гибридного искусственного интеллекта (комбинация биофизических динамических моделей, экспертной генерации сценариев и нейросетевых технологий для ускорения поиска решения данных получаемых от электроимпедансного томографа). Разрабатываемый подход позволяет частично решить проблему малого объема накопленных данных и осуществлять аугментацию за счет биофизического моделирования на основе возможных клинических сценариев развития сценариев развития патологических процессов.

Председатель:

Ведущий научный сотрудник НОЛ «БЦП»,  
к-т. мед. наук, доцент

Члены:

1. Руководитель НОЛ «БЦП»
2. Ассистент НОЛ «БЦП», канд.тех. наук
3. Руководитель Сетевого медицинского ИТ-парка

Толмачев И.В.

Каверина И.С.

Солдатов А.А.

Стасевский В.И.

УТВЕРЖДАЮ  
 Заместитель начальника академии по  
 научной работе  
 доктор медицинских наук доцент  
 полковник медицинской службы  
 Е.Ивченко  
 «06» марта 2023 г.

**АКТ О ВНЕДРЕНИИ**  
 Результатов диссертационного исследования

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: председателя – начальника кафедры военно-морской хирургии, полковника м/с, доктора мед. наук, доцента Д.Сулова и членов: заместителя начальника кафедры военно-морской хирургии, полковника м/с, кандидата мед.наук Д.Дымникова, преподавателя кафедры военно-морской хирургии, доктора мед.наук профессора М.Коржука удостоверяем, что результаты диссертационной работы Королюка Евгения Сергеевича «Программно-аппаратный комплекс для электроимпедансной визуализации зоны криодеструкции» внедрены в практику деятельности кафедры военно-морской хирургии «ФГБВОУ ВМедА им. С.М.Кирова». В частности, разработанный программно-аппаратный комплекс используется для:

1. Проведения экспериментальных исследований по изучению развития канцероматоза брюшины и визуализации с помощью электрической импедансной томографии.
2. Визуализация зон опухолевого роста и определение импедансометрических характеристик опухолевой ткани на препаратах оперированных пациентов с помощью биоимпедансометрии.

Преимуществами использования разработанного «Программно-аппаратного комплекса для электроимпедансной визуализации зоны криодеструкции» заключается в использовании встраиваемой системы искусственного интеллекта, построенной на принципе двухэтапного математического моделирования и алгоритмов сегментации изображения. Наличие нейросетевого модуля значительно повышает скорость обработки данных, реконструкции томографических изображений и определения импедансометрических свойств тканей.

В отличие от традиционных систем томографической визуализации – МРТ, КТ, ультразвуковой томографии для работы разработанного программно-аппаратного комплекса не требуется специализированный персонал и помещение. Отсутствуют ограничения по работе совместно с другими видами медицинского оборудования. Метод является безопасным, а процедура является безболезненной.

Председатель комиссии:  
 начальник кафедры военно-морской хирургии,  
 доктор мед. наук доцент полковник м/с

Д.Сулов

Члены комиссии:  
 1) заместитель начальника кафедры военно-морской хирургии,  
 кандидат мед.наук полковник м/с

Д.Дымников,

2) преподаватель кафедры военно-морской хирургии,  
 доктор мед. наук профессор

М.Коржук

Общество с ограниченной ответственностью  
"ЭЛЕКТРОИМПЕДАНСНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ"

ИНН 7017462246, КПП 701701001, ОГРН 1197031059928, РФ, 634050, г. Томск, Московский  
тракт 6/4. E-mail: eit\_visual@mail.ru

10.11.2022

**АКТ**

об использовании результатов исследований Е. С. Королюка «Программно-  
аппаратный комплекс для электроимпедансной визуализации зоны  
криодеструкции»

ООО «Электроимпедансная визуализация» с 2019 года занимается разработкой томографических систем, работающих на принципе электрической импедансной томографии для решения задач криохирургии, электрохирургии, нейровизуализации и визуализации легких. Одной из основных проблем мешающие широкому внедрению криохирургического метода удаления патологических тканей заключается в трудности в определении точных границ и глубины воздействия холода на биологическую ткань. Особенно это актуально при удалении злокачественных образований на внутренних органах. Электрическая импедансная томография позволяет обойти текущие ограничения криохирургического метода лечения, позволяет с высокой точностью определять границу и глубину холодового воздействия.

Для решения данной задачи было принято решение разработать собственный электроимпедансный томограф в виде портативного программно-аппаратного комплекса. При разработки были использованы результаты исследований, выполненные в Национальном исследовательском Томском политехническом университете и в Сибирском Государственном Медицинском Университете. Эти результаты исследований обобщены в кандидатской диссертации Королюка Е.С. «Программно-аппаратный комплекс для электроимпедансной визуализации зоны криодеструкции». Они послужили основой для разработки собственного портативного программно-аппаратного работающего на принципе электрической импедансной томографии.

Руководитель отдела разработки



В. В. Руденко

11.01.2023г.

УТВЕРЖДАЮ  
Генеральный директор  
ООО «РБС ТЕХНИК»



Д.А. Пьянков  
2023г

**АКТ**

Об использовании результатов исследований Е. С. Королюка «Программно-аппаратный комплекс для электроимпедансной визуализации зоны криодеструкции»

11 января 2023г.

г. Томск

Настоящим актом подтверждаем, что следующие результаты исследований Королюка Е.С. «Программно-аппаратный комплекс для электроимпедансной визуализации зоны криодеструкции» обладают актуальностью, представляют практический интерес и были использованы при разработки спортивных тренажеров компании ООО «РБС ТЕХНИК». Методика измерения биоимпеданса используется для биоимпедансного анализа состава тела человека, занимающегося на тренажере. Проект реализуется в рамках НИОКР «Система анализа и прогнозирования тренировочного процесса для спортсменов по первичным биометрическим данным».

Главный конструктор  
ООО «РБС ТЕХНИК»

П.М. Момот

13.01.2023г.



УТВЕРЖДАЮ  
Генеральный директор  
ООО МИП ДИВА-3Д

Иван Васильев

13.01.2023 2022г

### АКТ

Об использовании результатов исследований Е. С. Королюка «Программно-аппаратный комплекс для электроимпедансной визуализации зоны криодеструкции»

Настоящий акт подтверждает, что следующие результаты исследований Е. С. Королюка «Программно-аппаратный комплекс для электроимпедансной визуализации зоны криодеструкции» внедрены в практику деятельности ООО "Малое инновационное предприятие "Дива-3д" (г. Томск) для использования в разработке 3D-принтеров собственной разработки линейки «Diva»:

1. Разработан и протестирован сопло собственной конструкторской разработки с использованием наработок, полученных в результатах исследований Е. С. Королюка. Метод электроимпедансной визуализации (импедансометрии) используется для контроля параметров филамента во время трехмерной печати.
2. Разработано и протестировано программное обеспечение для управления соплом собственной разработки.

3D принтеры линейки «Diva» являются инновационным решением компании для использования в различных областях в том числе и для медицинского применения. Разработанное устройство используется для создания высокоточных прототипов стоматологических имплантов, печати костей, биосовместимых протезов, моделей органов, индивидуальных имплантов. Ведутся экспериментальные исследования по печати биоразлагаемых имплантов с помощью 3D принтеров линейки «Diva».

Разработки в области 3D печати ООО "Малое инновационное предприятие "Дива-3д" являются победителями различных конкурсов, в ходе которых были получены множество наград. В 2021г. компания заняла первое место в интенсиве «Архипелаг 2021» организуемой Национальной технологической инициатива на территории Томской области.

Главный конструктор  
ООО МИП ДИВА-3Д

Кравченко М.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б – Патент на полезную модель

## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



**ПАТЕНТ**

НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ

№ 199056

**УСТРОЙСТВО УПРАВЛЕНИЯ ПРОЦЕССОМ  
ЭЛЕКТРОИМПЕДАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ ПРИ  
ЗАМОРАЖИВАНИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ**

Патентообладатель: *Общество с ограниченной ответственностью  
"Электроимпедансная визуализация" (RU)*

Авторы: *Королюк Евгений Сергеевич (RU),  
Бразовский Константин Станиславович (RU)*

Заявка № 2020118747

Приоритет полезной модели 07 июня 2020 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре полезных  
моделей Российской Федерации 11 августа 2020 г.

Срок действия исключительного права

на полезную модель истекает 07 июня 2030 г.

*Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности*

*Г.П. Ивлиев*



**ПРИЛОЖЕНИЕ В – Свидетельства о государственной регистрации  
программы для ЭВМ**

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



**СВИДЕТЕЛЬСТВО**  
о государственной регистрации программы для ЭВМ

**№ 2020616821**

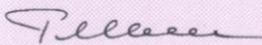
**Встроенное программное обеспечение для генератора  
зондирующих импульсов электрического импедансного  
томографа**

Правообладатель: *Общество с ограниченной ответственностью  
"Электроимпедансная визуализация" (RU)*

Авторы: *Королюк Евгений Сергеевич (RU),  
Бразовский Константин Станиславович (RU)*

Заявка № **2020615950**  
Дата поступления **11 июня 2020 г.**  
Дата государственной регистрации  
в Реестре программ для ЭВМ **23 июня 2020 г.**

*Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности*

 **Г.П. Ивлиев**



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



# СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2021668677

**Эльвира. Внешнее программное обеспечение для  
электрического импедансного томографа**

Правообладатели: **Королюк Евгений Сергеевич (RU), Конев  
Артур Валерьевич (RU), Бразовский Константин  
Станиславович (RU)**

Авторы: **Королюк Евгений Сергеевич (RU), Конев Артур  
Валерьевич (RU), Бразовский Константин  
Станиславович (RU)**

Заявка № 2021666809

Дата поступления **25 октября 2021 г.**

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ **18 ноября 2021 г.**

*Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности*



ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ  
Сертификат 0x02A5CFBCC00B1ACF59A40A2F08092E9A118  
Владелец **Ивлиев Григорий Петрович**  
Действителен с 15.01.2021 по 15.01.2035

*Г.П. Ивлиев*

## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2022668039

«Эльвира. Программное обеспечение для импедансного  
томографа»

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Королюк Евгений Сергеевич (RU), Конев Артур Валерьевич (RU), Бразовский Константин Станиславович (RU), Пleshков Максим Олегович (RU), Толмачев Иван Владиславович (RU), Каверина Ирина Сергеевна (RU), Лантев Владислав Витальевич (RU), Стасевский Виктор Игоревич (RU)*

Заявка № 2022666409

Дата поступления 08 сентября 2022 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ 29 сентября 2022 г.

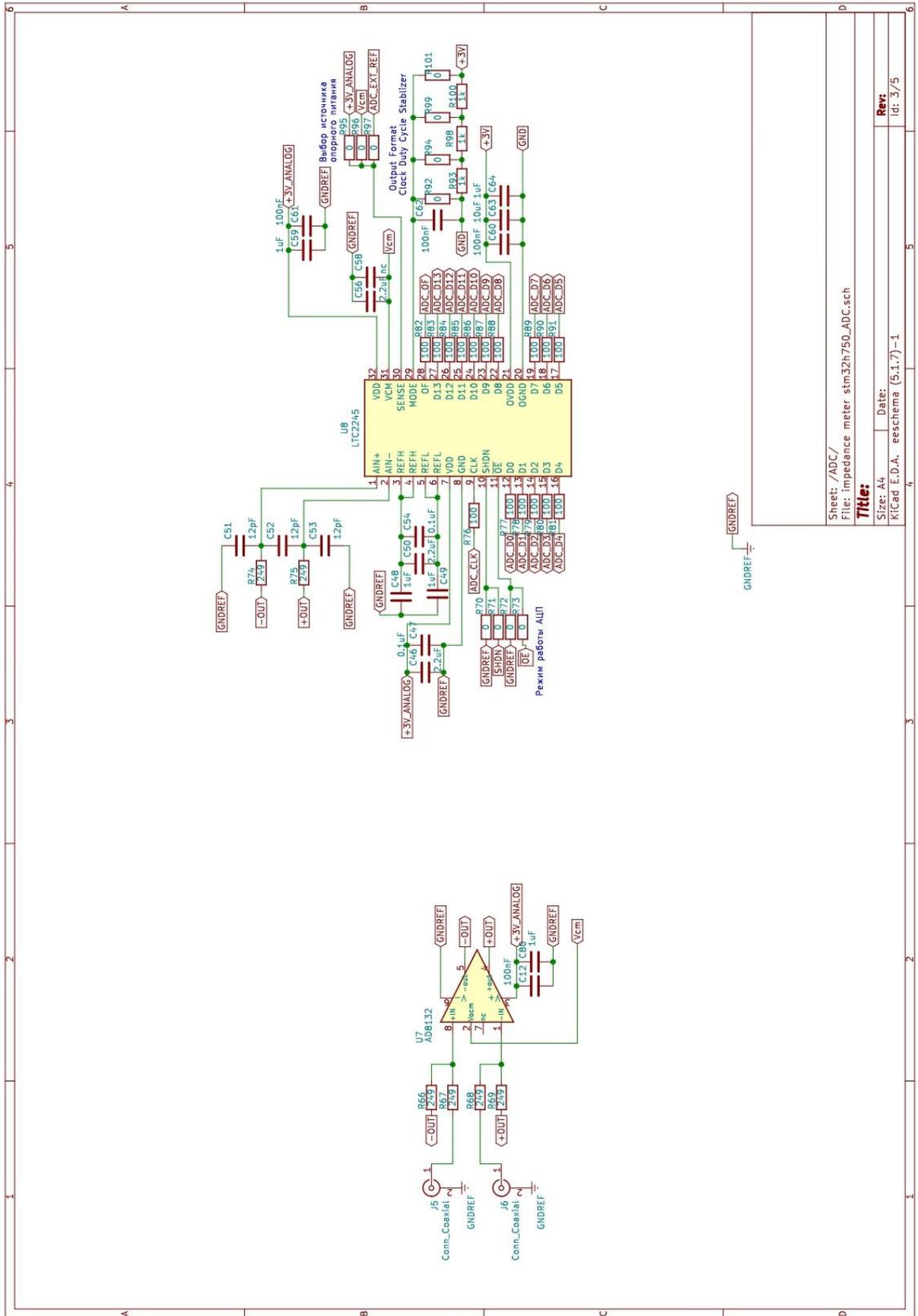


Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ  
Сертификат 68b80077e14e40f0a94eebd24145d5c7  
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**  
Действителен с 20.05.2022 по 26.05.2023

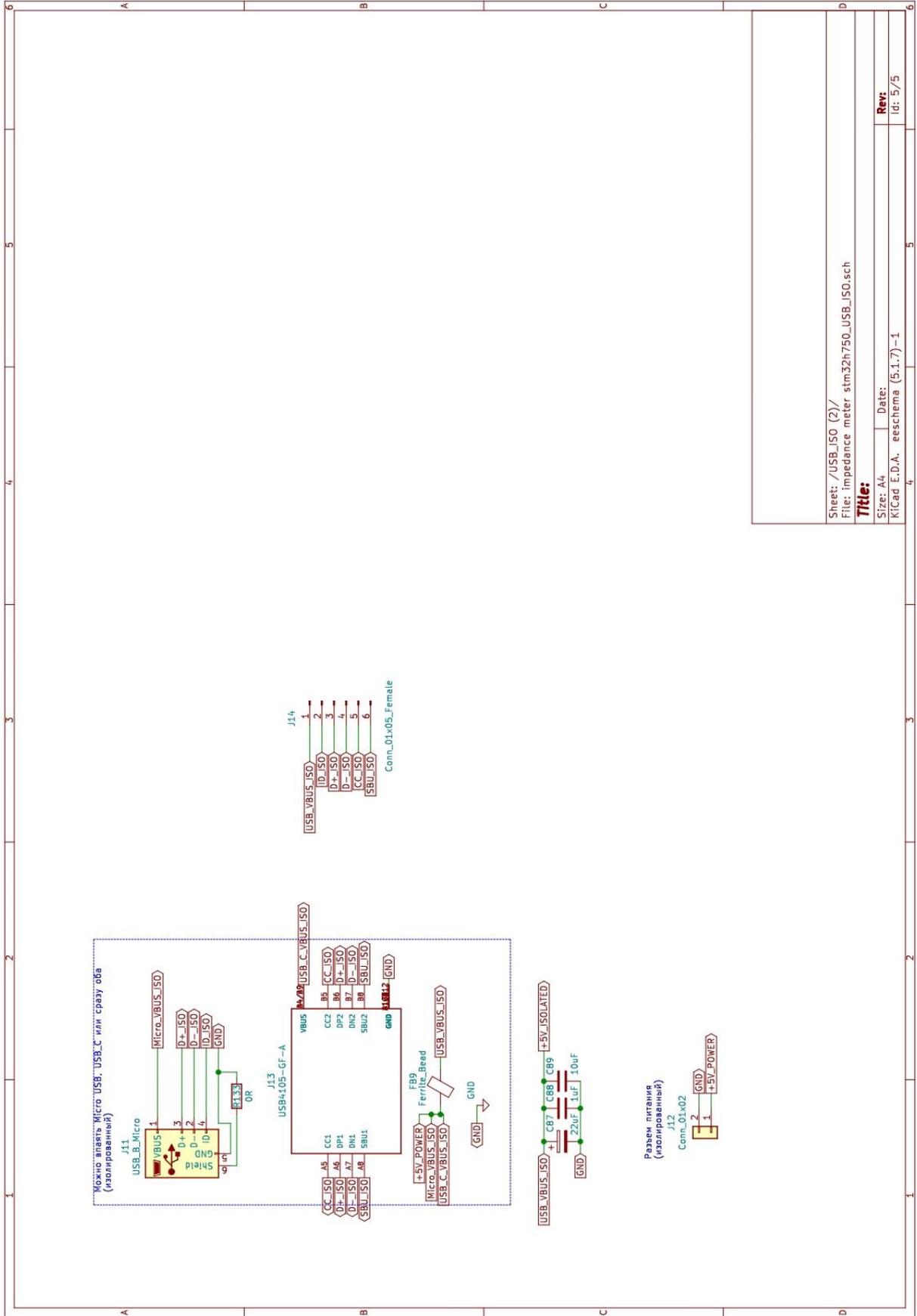
Ю.С. Зубов





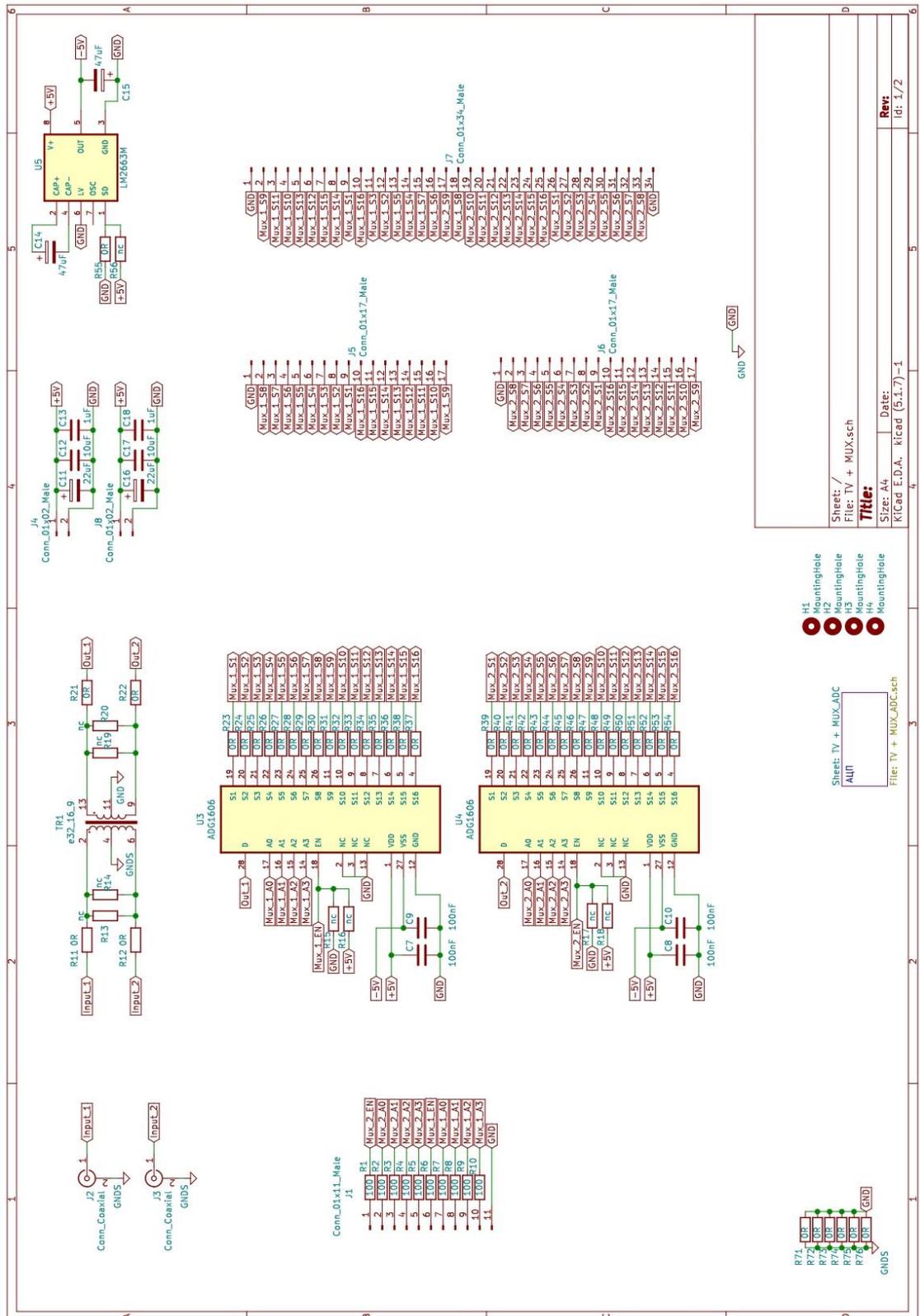
Sheet: /ADC/  
 File: impedance meter stm32h750\_ADC.sch  
**Title:**  
 Size: A4 Date:  
 K/Cad E.D.A. eeschema (5.1.7) -1  
 Rev: 1  
 Id: 3/5

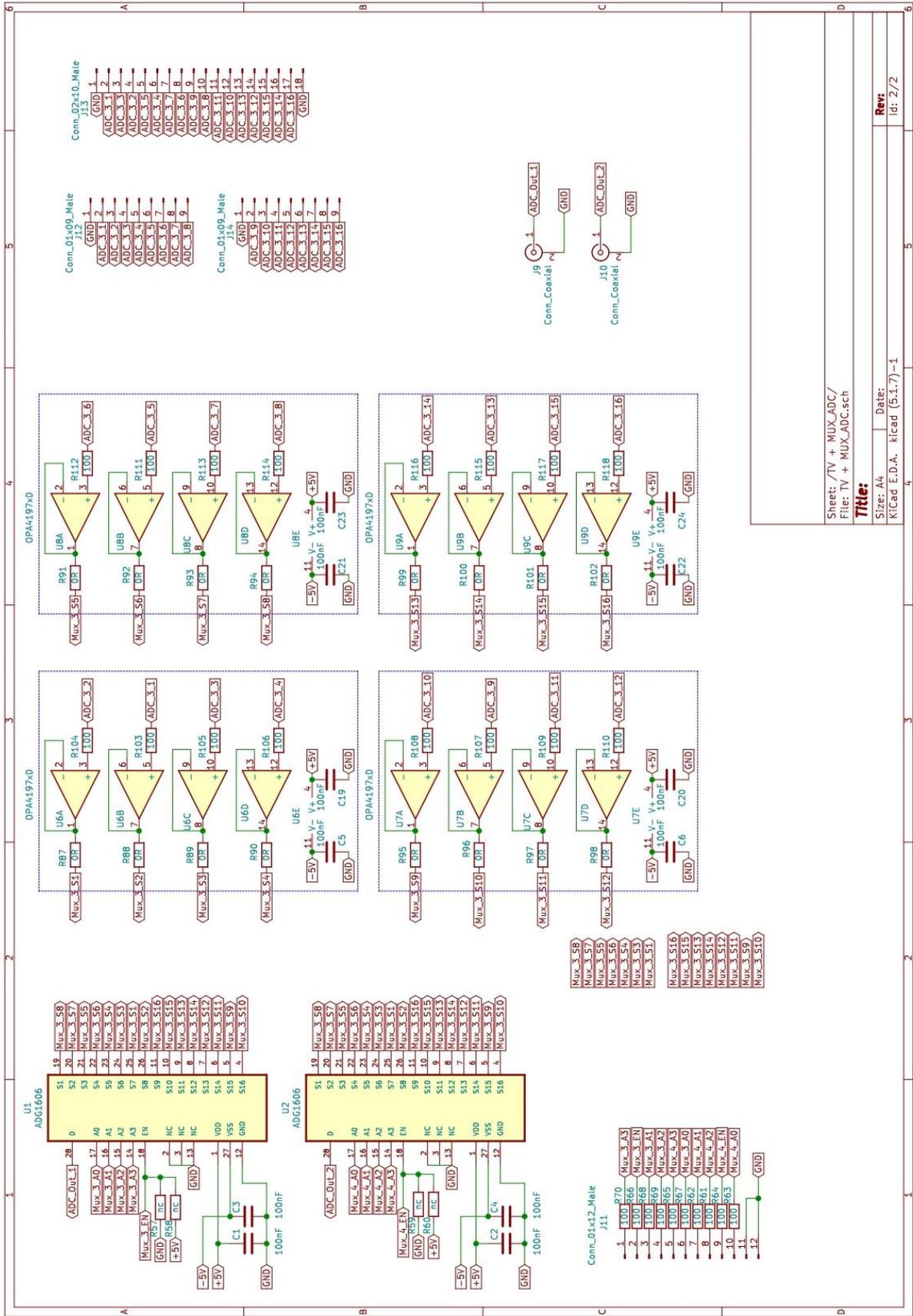




Sheet: /USB\_ISO (2)/  
 File: impedance\_meter\_sim32h750\_USB\_ISO.sch  
**Title:**  
 Size: A4 Date:  
 KICad E.D.A. eeschema (5.1.7) -1  
**Rev:**  
 Id: 5/5

# ПРИЛОЖЕНИЕ Д – Эскиз принципиальной схемы платы мультиплексора прототипа электроимпедансного томографа





Sheet: /TV + MUX\_ADC/  
File: TV + MUX\_ADC.sch  
**Title:**  
Size: A4 Date:  
KICad E.D.A. kicad (5.1.7)-1  
Rev:  
Id: 2/2