

Load Modeling of The Pulsed Power Generators for Electroporation Using Impedance Spectroscopy of Human Lung Normal and Cancer Cells

Ahmad Aziznia, Maryam A. Hejazi*

Faculty of Electrical and Computer engineering, University of Kashan, Kashan, Iran

E-mails: a.aziznia@grad.kashanu.ac.ir; mhejazi@kashanu.ac.ir

* Means corresponding author

Short Abstract

In this paper, the load of the pulsed power generators is modeled using the impedance spectroscopy of human lung normal and cancer cells for electroporation. Due to the differences in the electrical behavior of normal and cancer cells, cell modeling can be used in cancer diagnosis and treatment selectivity (causing cell death in cancer tissues and not damaging the cells, and normal tissues) is effective. Also, due to the wide changes in cell impedance under different conditions and the dependence of pulse generator structures on load impedance, cell modeling can have a significant effect on the design of pulse generators and the creation of pulse parameters with the greatest effect. In this paper, the impedance of biological samples is measured at different frequencies. Finally, for quantitative analysis of the electrical properties of cells, an accurate electrical equivalent circuit is provided for the load. The proposed electrical model is not cell-focused but on the set of cuvette and its internal contents. This electrical model, taking into account the effect of the two-layer electrical capacitor and parasitic effects, and expanding the frequency range from 100 Hz to 500 MHz. The results show that the equivalent electrical circuit provided in most cases with a low error is consistent with the impedance measurements performed for different samples.

Keywords

Impedance spectroscopy, Electrical cell modeling, Cancer detection and treatment, Electroporation, Bioelectric.

1- Short Introduction

Identifying the electrical characteristics of cells is used in many clinical applications as well as diagnosing different types of cancer. Accurate identification of the electrical characteristics of cells, in addition to facilitating the diagnosis of cancers, will also be very effective in cancer treatment methods. One of the most effective methods of cancer treatment that has been used recently is electroporation-based methods. The basis of the electroporation system is a pulsed power generator, which effectively transmits electrical pulses to the patient's body. The pulse power generator is highly dependent on the load impedance to have a suitable effect on the treatment. In this paper, considering the importance of charge impedance in the treatment and diagnosis of cancer, the impedance spectroscopy of various normal and cancer cells and then the modeling of cells as electrical circuits are discussed.

2- Proposed Work and Methodology

This study aimed to identify the frequency impedance spectrum of cancer cells to provide an accurate circuit model of cells for diagnostic and therapeutic users of cancer. Since the types of cancer cells are different and are cultured in different environments and also different buffers are used to dissolve them, the impedance of each type of cancer cell depends on the type of culture medium and Their buffer is different. In addition to the type of cell and buffer, the type and shape of the electrodes also have a significant effect on their impedance. First, using the impedance analyzer at high frequencies, the impedance of different samples of normal and cancer human cells is measured in electroporation cuvettes. Finally, an equivalent electrical circuit is provided for the samples. In this paper, the electrical model of cells located in treatment chambers is presented, considering the effect of the two-layer electrical capacitor and parasitic effects. To obtain the values of the electrical elements of the circuit, the curve fitting method is used using the MATLAB Curve Fitting Toolbox. Due to the complex nature of the impedance, the curve fitting operation must be performed both in the real part and in the imaginary part of the equation. If each part is matched separately, different values are obtained for the elements. Hence the fitting of the curve with the impedance size is done in which both real and imaginary values are effective.

3- Conclusion

The proposed electrical equivalent circuit parameters was adjusted to the measured values using the curve fitting method. The parameters obtained for the equivalent circuit with this method have a smaller error, which indicates the high accuracy of modeling. Given that it is possible to generate pulses with power spectrum density at low frequencies by electroporation devices, using extrapolation, the proposed equivalent circuit model from the measured range of 1 to 500 MHz, Developed up to the range of 100 kHz 500 MHz. The parameters of the developed model also have an RMSE error of less than 1%. The accuracy of the proposed model is investigated by the methods of sum squares of errors (SSE) and root mean squares of errors (RMSE), which shows the high accuracy of the model.

4- References

[11, 23, 24]

مدل سازی بار مولدهای توان پالسی در کاربرد الکتروپوریشن با استفاده از طیفسنجی امپدانس سلول های نرمال و سرطانی ریه انسان

احمد عزیزنیا

دانشجوی دکتری، دانشکده مهندسی برق و کامپیوتر - دانشگاه کاشان - کاشان - ایران

مریم السادات اخوان حجازی

استادیار، دانشکده مهندسی برق و کامپیوتر - دانشگاه کاشان - کاشان - ایران

چکیده

در این مقاله به مدل سازی بار مولدهای توان پالسی جهت کاربرد الکتروپوریشن و با استفاده از طیفسنجی امپدانس سلول های نرمال و سرطانی ریه انسان پرداخته شده است. با وجود تمایزاتی در رفتار الکتریکی سلول های نرمال و سرطانی، مدل سازی الکتریکی سلول ها می تواند در تشخیص سرطان و ایجاد انتخاب پذیری در درمان (مرگ در سلول های سرطانی و عدم آسیب به سلول های نرمال) مؤثر باشد. همچنین با توجه به تغییرات گسترده امپدانس سلول ها تحت شرایط مختلف و وابستگی ساختارهای مولدهای پالسی به امپدانس بار، مدل سازی بار می تواند در طراحی مولدهای پالسی برای ایجاد پارامترهای پالس با بیشترین اثرگذاری، بسیار مفید باشد. در این مقاله، امپدانس نمونه های زیستی واقع در کووت های الکتروپوریشن در فرکانس های مختلف اندازه گیری شده و در نهایت به جهت تجزیه و تحلیل کمی ویژگی های الکتریکی بار، یک مدار معادل الکتریکی دقیق ارائه می گردد. در واقع مدل الکتریکی ارائه شده، متمرکز به سلول ها نبوده و برای مجموعه کووت و محتویات داخلی آن است. این مدل با در نظر گرفتن اثر خازن دولایه الکتریکی و اثرات پارازیتی و بسط بازه فرکانسی از ۱۰۰ هرتز تا ۵۰۰ مگاهرتز ارائه شده است. نتایج نشان می دهد، مدل الکتریکی ارائه شده با دقت نسبتاً خوبی، با اندازه گیری های امپدانس انجام شده برای نمونه های مختلف مطابقت دارد.

کلمات کلیدی

طیفسنجی امپدانس، مدل سازی الکتریکی سلول، تشخیص و درمان سرطان، الکتروپوریشن، بیوالکتریک.

نام نویسنده مسئول: مریم السادات اخوان حجازی

ایمیل نویسنده مسئول: mhejazi@kashanu.ac.ir

تاریخ ارسال مقاله: ۱۴۰۰/۱۲/۰۹

تاریخ (های) اصلاح مقاله: ۱۴۰۱/۰۳/۰۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۰۵/۰۱

۱- مقدمه

سرطان دومین عامل مرگ‌ومیر در ایران و جهان است [۱]. شناسایی مشخصات الکتریکی سلول‌ها در کاربردهای بالینی زیادی همانند تشخیص سرطان تیروئید [۲]، تشخیص سرطان پوست [۳]، تشخیص سرطان‌های ریوی [۴]، تشخیص سرطان رحم [۵]، تشخیص سرطان پروستات [۶]، و تشخیص سرطان دهانی [۷] استفاده شده است.

شناسایی دقیق مشخصات الکتریکی سلول‌ها علاوه بر تسهیل در تشخیص سرطان‌ها، بر روش‌های درمان سرطان نیز بسیار مؤثر خواهد بود. مهم‌ترین روش‌های درمان سرطان شامل شیمی‌درمانی، پرتودرمانی، جراحی و ژن‌درمانی می‌شوند. امروزه روش‌های نوین و ترکیبی بسیاری برای درمان سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این روش‌ها از الگوریتم‌های مختلف بهینه‌سازی و تطبیقی جهت ایجاد درمان مؤثر و عدم بازگشت سرطان استفاده می‌گردد [۸]. یکی دیگر از روش‌های مؤثر درمان سرطان که اخیراً مورد استفاده قرار گرفته است، روش‌های مبتنی بر الکتروپوریشن هستند. الکتروپوریشن یک روش کم‌ترتهاجمی با مراقبت‌های بالینی کم‌تر و اثربخشی بالا است. الکتروپوریشن با اعمال پالس‌های الکتریکی منافذی دائمی در غشای سلولی ایجاد می‌کند، که با اعمال تعداد کافی از پالس‌های ولتاژ بالا، منجر به مرگ سلول می‌شود [۱۰].

اساس سیستم الکتروپوریشن یک مولد توان پالسی است، که به‌طور مؤثری پالس‌های الکتریکی را به بدن بیمار منتقل کند. مولد توان پالسی جهت داشتن اثرگذاری مناسب بر درمان، بسیار وابسته به امپدانس بار است. به‌طوری‌که در ساختارهای مختلف مولد پالسی، تولید پالس‌های طراحی‌شده فقط برای بارهایی با امپدانس نزدیک به امپدانس طراحی‌شده برای مولد امکان‌پذیر است [۱۱]. در فرآیند الکتروپوریشن امپدانس بافت‌های بیولوژیکی ناشناخته است. در نتیجه، تهیه یک پیش‌بینی دقیق از بار بدون آزمایش مقدماتی تقریباً غیرممکن است. درک صحیح از بار و واکنش امپدانس آن در مقابل پالس‌های توان بالا چهارچوب طراحی مولد پالسی را مشخص می‌کند. در نتیجه شناسایی مشخصات الکتریکی بار مولد پالسی در قالب یک مدار معادل الکتریکی می‌تواند در طراحی سیستم الکتروپوریشن بسیار مفید واقع شود. در واقع مدل‌سازی الکتریکی مجموعه تجهیزات لازم جهت اعمال پالس‌ها شامل محفظه درمان، الکترودها، اتصالات و نیز خود بافت و یا سلول‌ها به‌عنوان بار مولد پالسی تلقی می‌گردند، لذا شناسایی رفتار الکتریکی این مجموعه و نه بافت‌ها و سلول‌ها به‌تنهایی، در طراحی مولد پالسی مورد توجه است.

حساسیت سلول‌های سرطانی به پالس الکتریکی در مقایسه با سلول‌های نرمال بیشتر است، لذا می‌توان با انتخاب بهینه پارامترهای پالس اعمالی موجب الکتروپوریشن برگشت‌ناپذیر در سلول‌های سرطانی و عدم آسیب به سلول‌های نرمال اطراف آن شد [۱۲]. با توجه به مطالعات صورت گرفته، سلول‌های سرطانی و سلول‌های سالم به لحاظ رفتار الکتریکی دارای تفاوت‌هایی هستند. به‌طوری‌که ظرفیت و میزان نفوذپذیری غشای سلول‌های بدخیم نسبت به سلول‌های طبیعی افزایش می‌یابد [۱۳، ۱۴]. لذا شناسایی دقیق رفتار الکتریکی سلول‌ها علاوه بر امکان تشخیص سلول‌های سرطانی از نرمال می‌تواند در انتخاب پذیری درمان نیز مؤثر باشد. منظور از انتخاب پذیری درمان، ایجاد مرگ سلولی در بافت‌های سرطانی و عدم ایجاد آسیب در سلول‌ها و بافت‌های نرمال اطراف آن‌ها است.

یکی از روش‌های متداول شناسایی مشخصات الکتریکی سلول‌ها و بافت‌های زیستی طیف‌سنجی امپدانس (Impedance Spectroscopy) است. در این تکنیک امپدانس نمونه زیستی در فرکانس‌های مختلف اندازه‌گیری می‌شود [۱۵، ۱۶]. این روش به دلیل ویژگی‌هایی همچون تداخل بسیار کم با نمونه

اندازه‌گیری، جمع‌آوری اطلاعات جامع و نتایج قابل اطمینان به‌شکل وسیعی در زمینه الکتروشیمیایی و زیستی مورد استفاده قرار گرفته است. در تکنیک طیف‌سنجی، ولتاژ به ناحیه مرزی نمونه زیستی اعمال می‌شود و سیگنال‌های جریان به‌دست‌آمده از آن جمع‌آوری و تحلیل می‌شوند. با استفاده از منحنی مشخصه امپدانس در طیف فرکانسی برخی اطلاعات کاربردی همچون جنبه‌های فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی مربوط به بافت و سوسپانسیون‌های سلولی از این طریق به‌دست می‌آید [۱۷].

با اندازه‌گیری خصوصیات الکتریکی دو رده سلول سرطانی و نرمال پستان نشان داد، سه نوع سلول که هر کدام دارای یک امضای الکتریکی متمایز هستند، می‌تواند برای تمایز بین سلول‌ها مورد استفاده قرار گیرد [۱۳]. با این حال، طیف‌سنجی امپدانس فقط می‌تواند ویژگی‌های امپدانس الکتریکی بافت‌ها و سلول‌های بیولوژیکی را نشان دهد. به‌منظور تجزیه و تحلیل کمی ویژگی‌های امپدانس الکتریکی بافت‌ها و سلول‌هایی بیولوژیکی، ایجاد یک مدل مدار معادل انتخابی برای بافت و استخراج پارامترهای مشخص در مدار ضروری است [۱۸، ۱۹]. استخراج پارامترهای مشخصه مدار معادل نه تنها تکرارپذیری نتایج آزمایش را بهبود می‌بخشد، بلکه تفاوت بین افراد آزمایش‌شده را نیز بهتر تشخیص می‌دهد.

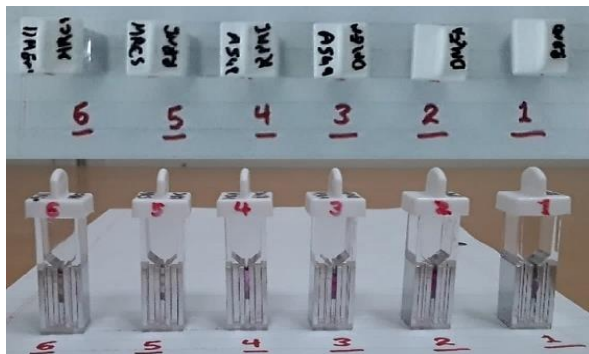
یک مدل الکتریکی ساده توسط فریک از یک سلول واحد برای فرکانس‌هایی تا چندین مگاهرتز در نظر گرفته شده است [۲۰]. در این مدل هر قسمت بینهایت کوچکی از محیط خارج سلولی و درون سلولی به‌عنوان مقاومت و هر قسمت بینهایت کوچک غشاء به‌عنوان ظرفیت مدل‌سازی می‌شود. نهایتاً در این روش با ترکیب همه عناصر یک مدار معادل ساده از سلول‌ها کنار هم حاصل می‌گردد. در این مدل اثرات بین سلولی و اثر کانال‌های یونی در نظر گرفته نشده است. یک مدل نسبتاً ساده و دقیق با تعمیم مدل فریک و با در نظر گرفتن اثرات بین سلولی ارائه شده است [۲۱، ۲۲]. در این مدل غشای سلولی صرفاً دی‌الکتریک در نظر گرفته نمی‌شود و یک مقاومت به دلیل کانال‌های یونی و یک مقاومت متغییر نیز جهت در نظر گرفتن افزایش رسانایی ناشی از پدیده الکتروپوراسیون در بخش مربوط به غشای سلولی مدل الکتریکی سلول اضافه می‌گردد.

یک مدل مداری بهبودیافته که در آن علاوه بر اجزای سلولی، مدار معادل شامل سایر اجزای سیستم اندازه‌گیری امپدانس نیز می‌شود [۲۳]. در این مدل سیتوپلاسم توسط یک مقاومت و یک خازن سری، غشای سلولی توسط یک مقاومت و یک خازن موازی، مقاومت محیط کشت با یک مقاومت و رفتار دی‌الکتریک محیط کشت و ظرفیت دولایه در سطح الکترودها نیز هر یک با یک خازن نشان داده می‌شوند. همچنین یک مدل مناسب برای کووت و محتویات داخلی (سوسپانسیون سلولی) ارائه گردیده است [۲۴]. در این مدل علاوه بر اثر خازن دولایه، کووت و اتصالات آن (نگهدارنده کووت) توسط اندوکتانس، مقاومت و خازن سرگردان مدل‌سازی می‌شوند.

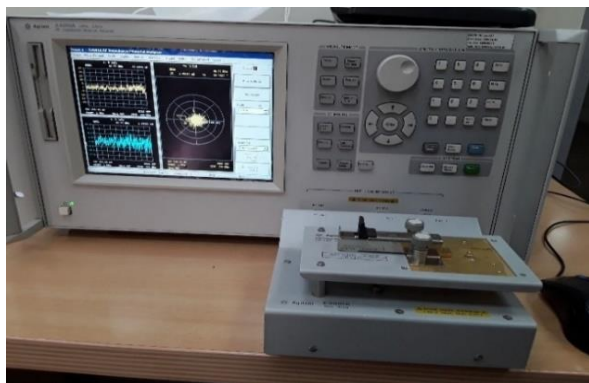
روش حداقل مربعات دارای مزایای دقت بالا و سرعت محاسبه سریع است که به‌طور گسترده‌ای در تطبیق داده‌ها استفاده شده است. این روش با به حداقل رساندن مجموع مربعات خطاهای بین نمونه و داده‌های پیش‌بینی‌شده، بهترین تطبیق عملکرد داده‌ها را پیدا می‌کند، و سپس حل بهینه محلی پارامترهای ناشناخته را به دست می‌آورد. استخراج پارامترهای مدار معادل را می‌توان با استفاده از یک مسئله تطبیق حداقل مربعات غیرخطی بهینه کرد.

هدف از این پژوهش شناسایی طیف فرکانسی امپدانس سلول‌های سرطانی و نرمال واقع در کووت‌های الکتروپوریشن برای ارائه یک مدل دقیق از مجموعه کووت و سوسپانسیون سلولی درون آن به‌عنوان بار مولدهای پالسی برای

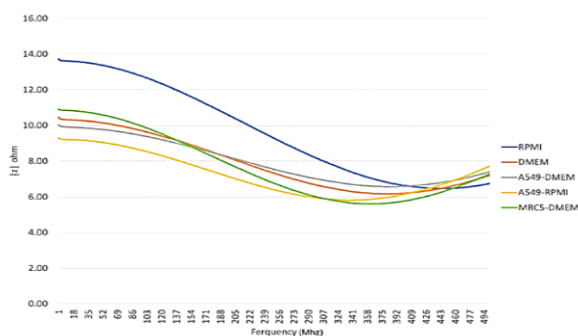
وجود دارد [۲۷].



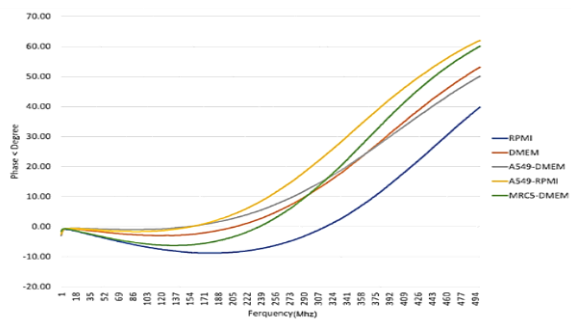
شکل ۱- نمونه‌های مختلف سوسپانسیون سلول‌های سرطانی و نرمال انسانی در کووت‌های الکتروپوریشن ۱ میلی‌متری



شکل ۲- امپدانس آنالایزر مدل Agilent E4991A و نگهدارنده مدل Agilent 16192A.



شکل ۳- اندازه امپدانس نمونه‌های سلولی مختلف بر حسب فرکانس



شکل ۴- فاز امپدانس نمونه‌های سلولی مختلف بر حسب فرکانس

کاربرهای الکتروپوریشن است. در این مقاله مدل الکتریکی، با در نظر گرفتن اثر خازن دولایه الکتریکی و اثرات پارازیتیک و با بسط بازه فرکانسی ۱۰۰ هرتز تا ۵۰۰ مگاهرتز ارائه شده است.

۲- طیف‌سنجی امپدانس سلول

همان‌طور که ذکر شد، با توجه به اهمیت بار در عملکرد مولد پالسی در این مقاله به طیف‌سنجی امپدانس کووت و محتویات آن (سوسپانسیون سلولی) پرداخته شده و مشخصات الکتریکی سوسپانسیون سلولی به‌تنهایی موردنظر نیست. با توجه به این موضوع که نوع سلول‌های سرطانی متفاوت بوده و در محیط‌های مختلف کشت داده می‌شوند و همچنین جهت محلول کردن آن‌ها از بافرهای مختلف استفاده می‌گردد، لذا امپدانس هر نوع سلول سرطانی بسته به نوع محیط کشت و بافر آن‌ها متفاوت است. علاوه بر نوع سلول و بافر، نوع و شکل الکترودها نیز در میزان امپدانس آن‌ها اثر بسزایی دارند. در این مقاله، جهت ارائه مدار معادل الکتریکی، به طیف‌سنجی امپدانس سوسپانسیون سلول‌های سرطانی و نرمال انسانی در کووت‌های الکتروپوریشن مانند شکل ۱ پرداخته می‌شود. طیف‌سنجی امپدانس سلول‌های سرطانی ریه A549 و سلول‌های نرمال ریه MRC5 در محیط‌های کشت 10% RPMI FBS و DMEM در کووت‌های الکتروپوریشن ۱ میلی‌متری انجام شده است. در شکل کووت شماره ۱ تا ۶ به ترتیب مربوط به نمونه RPMI، DMEM، DMEM+ A549، RPMI+ MRC5، RPMI+ A549 و DMEM+ MRC5 هستند. آماده‌سازی سلول‌ها در نمونه‌های مورد استفاده در این مطالعه با روش دفریز سلول توسط انستیتوی پاستور ایران و دقیقاً مطابق پروتکل‌های این انستیتوی انجام شده است [۲۵].

آزمایشات بر روی سوسپانسیون‌های سلولی از طریق امپدانس آنالایزر مدل Agilent E4991A در رنج فرکانسی ۱ تا ۵۰۰ مگاهرتز انجام می‌شود و همچنین جهت اتصال کووت‌های الکتروپوریشن به امپدانس آنالایزر از نگهدارنده مخصوص Agilent 16092A مانند شکل ۲ استفاده می‌شود. در شکل‌های ۳ و ۴ به ترتیب اندازه و فاز امپدانس نمونه‌های سوسپانسیون سلولی در شکل ۱ نشان داده شده است. این آزمایش در یک تکرار انجام شده است. مقدار امپدانس اتصال کوتاه تجهیزات اندازه‌گیری از طریق تنظیمات دستگاه اندازه‌گیری شده و از مقدار نهایی کسر شده است.

۳- مدل مدار معادل

متداول‌ترین روش برای ایجاد الکتروپوریشن به‌صورت برون‌تنی استفاده از کووت‌های الکتروپوریشن است [۲۴]. سوسپانسیون سلولی در کووت‌ها بیشترین کاربرد را در مطالعات تخریب درون‌سلولی دارد که امکان سنجش رفتار دسته‌جمعی یک جمعیت سلولی را فراهم می‌کند [۲۶]. ساختار کووت از دو صفحه الکتروود موازی با سطح A و با فاصله d تشکیل شده است که به‌صورت موازی رویه‌روی هم قرار گرفته‌اند. کووت‌های الکتروپوریشن را می‌توان به‌عنوان یک خازن در نظر گرفت، که در آن الکتروودهای کووت الکتروپوریشن به‌عنوان صفحات رسانا و سوسپانسیون به‌عنوان ماده دی‌الکتریک خواهند بود. مدار خازن را می‌توان به‌صورت یک مدل ساده، شامل خازن و مقاومت موازی مدل کرد. این مدل در حالت DC و یا فرکانس‌های پایین معتبر است، اما اثرات فرکانس‌های بالا در این مدار دیده نمی‌شود. از مهم‌ترین اثرات فرکانس‌های بالا بر خازن، اثرات پارازیتیک سلفی و مقاومتی است. پارازیتیک سلفی یک اثر القایی ناخواسته است که به ناچار در کلیه قطعات و مدارات الکترونیکی واقعی

ممتد) برابر با مقاومت سری معادل یا (ESR (Equivalent Series Resistance) (خط‌چین) خواهد بود. مطابق شکل ۶ مقدار ESR از فرکانس‌های پایین تا فرکانس رزونانس، رابطه معکوس با فرکانس دارد و با کاهش فرکانس، افزایش می‌یابد [۲۷]. مطابق اندازه‌گیری‌های انجام شده (شکل ۳) و نتایج سایر مراجع، فرکانس رزونانس نمونه‌های زیستی در حدود ۴۰۰ مگاهرتز است [۲۴]. این فرکانس‌ها معادل پالس‌هایی با عرض در حدود چند دهم نانوثانیه تا حداکثر چند نانوثانیه هستند [۲۸]. همچنین حداقل عرض پالس‌های مورد استفاده در مطالعات الکتروپوریشن در حدود چند دهم نانوثانیه است [۲۹]. لذا به دلیل اینکه فرکانس‌های کاری الکتروپوریشن از فرکانس رزونانس نمونه‌های زیستی بیشتر نخواهد شد، استخراج و تطابق معادله مقاومت دی‌الکتریک از فرکانس‌های کم تا حدود فرکانس رزونانس کاملاً مناسب به نظر می‌رسد. برای دقیق‌تر شدن تطابق نمودار با معادلات لازم است که مقاومت ESR را در معادله به صورت مقاومت متغیر بیان شود. این مقاومت با کاهش فرکانس افزایش می‌یابد. این رفتار در اثر پدیده‌ای به نام تلفات دی‌الکتریک (Dielectric Loss) است. اتلاف دی‌الکتریک، اتلاف انرژی است که باعث گرم شدن یک ماده دی‌الکتریک در یک میدان الکتریکی متناوب می‌شود. به عنوان مثال، در یک خازن واقع در یک مدار با جریان متناوب، با افزایش فرکانس، اتلاف انرژی افزایش یافته و با افزایش دمای دی‌الکتریک مقاومت سیستم کاهش می‌یابد [۳۰]. رابطه این مقاومت و فرکانس را می‌توان به صورت رابطه (۶) بیان کرد، که R_E یک ضریب ثابت است.

$$R_{ESR} = \frac{R_E}{\omega} \quad (6)$$

زمانی که یک محلول حاوی یون‌های مثبت و منفی در مجاورت با یک الکتروود رسانا قرار می‌گیرد، اثر خازن دولایه (Double-layer capacitance) ناشی از دولایه‌های الکتریکی ظاهر خواهد شد [۲۴، ۳۱-۳۴]. هنگام اتصال الکتروود به منبع ولتاژ یون‌های محلول (با بار مخالف هر الکتروود) به سمت الکتروودها جذب شده و روی سطح آن قرار می‌گیرند. این لایه از یون‌ها به دلیل تماس مستقیم با سطح الکتروود به یک لایه تقریباً دائمی (تا برقرار بودن ولتاژ) در سطح آن ایجاد می‌کنند. به همین ترتیب یک لایه دیگر (با بار مخالف لایه اول) و با چسبندگی کمتر به لایه اول متصل می‌شود. این لایه‌های متناوب ایجاد شده در سطح الکتروودها، قابلیت ذخیره انرژی را دارند. از این رو در مدار معادل به صورت یک خازن سری با خازن اصلی نمونه قرار می‌گیرند.

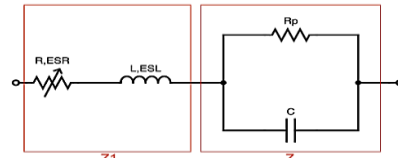
لایه‌های بعدی قدرت کافی برای اتصال به لایه دوم را ندارند و یا اتصال آن‌ها دائمی نیست، تنها اثر دولایه از این لایه‌های الکتریکی در سطح الکتروود مؤثر بوده و از تأثیر سایر لایه‌ها صرف‌نظر می‌گردد. اثر خازن دولایه به صورت خازن C_{dl} مدل می‌شود. با توجه موارد ذکر شده مدل نهایی کووت‌های الکتروپوریشن حاوی سوسپانسیون سلولی به صورت مدار شکل ۷ بهبود می‌یابد.

در رابطه (۷) امپدانس مدار معادل شکل ۷ بیان شده است.

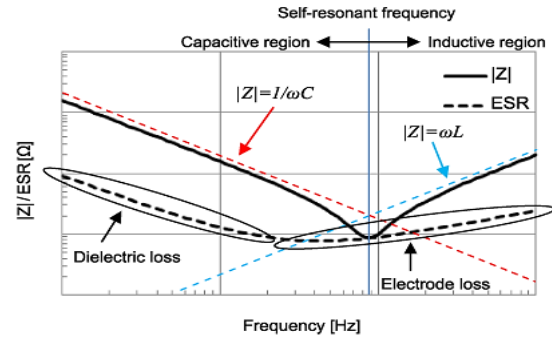
$$Z = \left(\frac{R_E}{\omega} + \frac{R_p}{1 + R_p^2 \omega^2 C^2} \right) - i \left(\frac{R_p^2 \omega C}{1 + R_p^2 \omega^2 C^2} - \omega L_{ESL} + \frac{1}{\omega C_{dl}} \right) \quad (7)$$

۴- پارامترهای مدار معادل

جهت به دست آوردن مقادیر المان‌های الکتریکی مدار معادل شکل ۷، از روش برازش منحنی، با استفاده از ابزار Curve Fitting Toolbox متلب استفاده می‌شود. در واقع، با این ابزار با انتخاب معادله مناسب و ورود داده‌های اندازه‌گیری

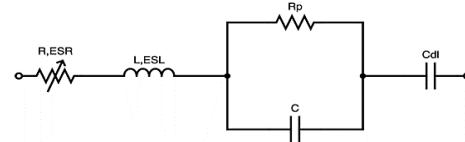


شکل ۵- مدار معادل خازن با در نظر گرفتن اثر پارازیتیک



شکل ۶- ناحیه رزونانس در طیف فرکانسی امپدانس - کاربرد در

محاسبه ESR و ESL [۲۷].



شکل ۷- مدل الکتریکی کووت الکتروپوریشن حاوی سوسپانسیون سلولی با در نظر گرفتن اثر خازن دولایه الکتریکی و اثرات پارازیتیک

مدار شکل ۵ مدار معادل یک خازن با در نظر گرفتن اثرات پارازیتیک است. در مدار معادل شکل ۵ روابط (۱) تا (۵) برقرارند. اثر پارازیتیک در فرکانس‌های بسیار بالا تأثیرگذار و در فرکانس‌های پایین مقدار آن ناچیز است.

$$Z = \frac{R_p}{1 + R_p^2 \omega^2 C^2} - i \frac{R_p^2 \omega C}{1 + R_p^2 \omega^2 C^2} \quad (1)$$

$$C = -\frac{1}{\omega} \frac{Z''}{Z'^2 + Z''^2} \quad (2)$$

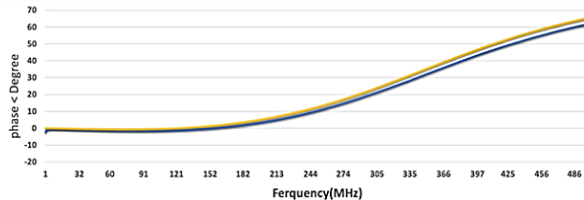
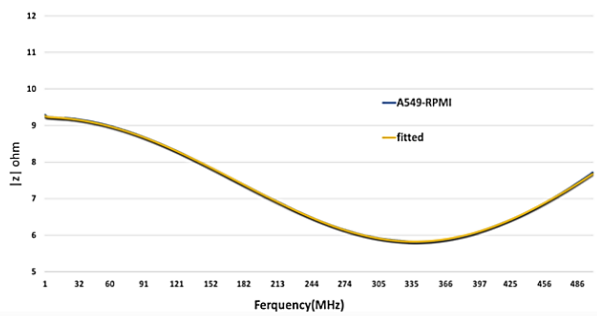
$$R_p = \frac{Z'^2 + Z''^2}{Z'} \quad (3)$$

$$Z_m = Z_1 + Z \quad (4)$$

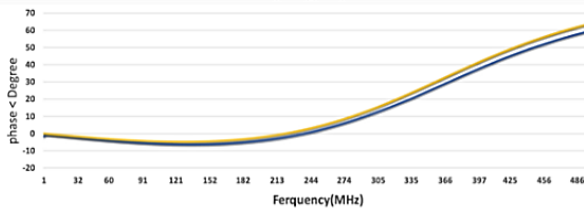
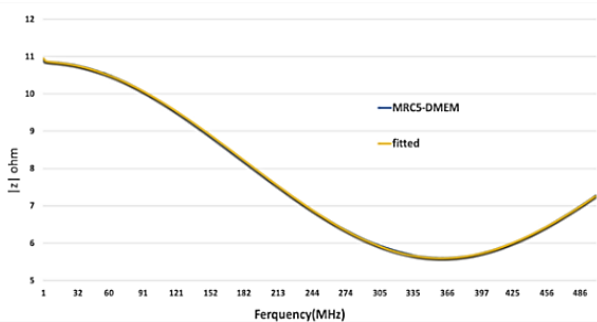
$$Z_1 = R_{ESR} + i \omega L_{ESL} \quad (5)$$

در روابط (۱) تا (۵) امپدانس مدار معادل خازن، R_p مقاومت موازی (سوسپانسیون)، C ظرفیت خازنی، ω فرکانس زاویه‌ای، Z' قسمت حقیقی امپدانس مدار معادل، Z'' قسمت موهومی امپدانس مدار معادل، Z_m امپدانس کل اندازه‌گیری شده، Z_1 امپدانس ناشی از اثر پارازیتیک، R_{ESR} مقاومت پارازیتیک و L_{ESL} اندوکتانس پارازیتیک خواهد بود. مقدار دو پارامتر R_{ESR} و L_{ESL} را می‌توان از نمودارهای امپدانس برحسب فرکانس برای نمونه‌های اندازه‌گیری شده، به دست آورد. همان‌طور که در شکل ۶ مشخص است در فرکانس‌های بسیار بالا خاصیت القایی پارازیتیک از خاصیت خازنی آن بیشتر می‌شود و مسیر امپدانس به سمت بالا برگشت می‌کند.

فرکانسی که در آن امپدانس نمونه حداقل مقدار را دارد، به فرکانس رزونانسی مشهور است. زیرا در این نقطه خاصیت سلفی و خازنی یکدیگر را خنثی می‌کنند. مطابق شکل ۶ در فرکانس رزونانسی امپدانس نمونه (خط



شکل ۱۰- تطبیق نمودار امپدانس نمونه RPMI – A549



شکل ۱۱- تطبیق نمودار امپدانس نمونه DMEM – MARC5

جدول ۱- اندازه پارامترهای مدار معادل

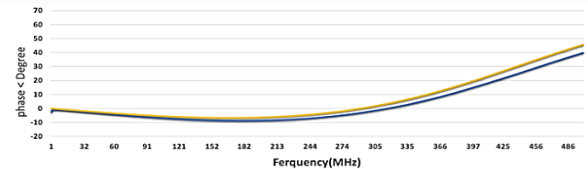
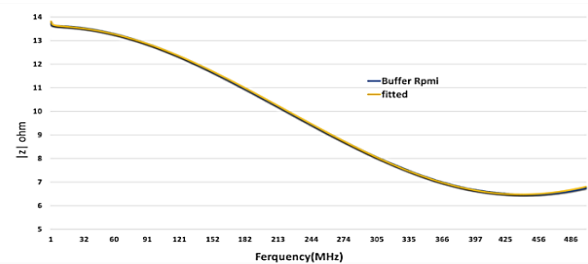
Test Sample	Circuit Elements					Goodness of fit	
	C (pF)	R_p (Ω)	C_{dl} (μ F)	R_{ESR} ($M\Omega$)	L_{ESL} (nH)	SSE	RMSE
RPMI	31.91	13.60	-	0.9	3.60	0.2018	0.0201
DMEM	39.86	10.32	-	0.76	3.52	0.0191	0.0061
A549-DMEM	36.9	10.04	-	0.84	3.48	0.089	0.0042
A549-RPMI	47.63	9.22	-	0.26	3.62	0.186	0.0061
MARC5-DMEM	45.76	10.84	-	0.66	3.65	0.0011	0.0015

شده، ضرایب معادله موردنظر جهت تطبیق با داده‌ها و با حداقل خطا تعیین می‌شود. با توجه به مختلط بودن ماهیت امپدانس، عملیات برازش منحنی بایستی هم در قسمت حقیقی و هم در قسمت موهومی معادله صورت گیرد. در صورت تطابق جداگانه هر قسمت مقادیر مختلفی برای المان‌ها به دست می‌آید. از این رو برازش منحنی با اندازه امپدانس انجام شده است که به‌طور هم‌زمان مقادیر حقیقی و موهومی در آن مؤثر است.

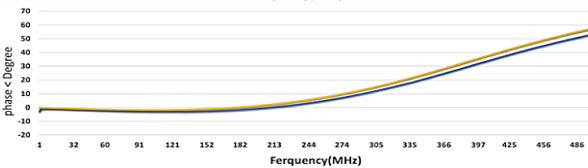
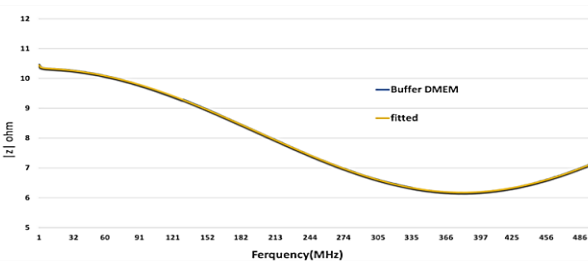
۵- نتایج تطبیق مدار معادل پیشنهادی

در شکل‌های ۸ تا ۱۱ نمودار تطبیق اندازه و فاز امپدانس مقادیر برخی نمونه‌های اندازه‌گیری شده با مدل مداری ارائه شده نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، مدل مداری به‌خوبی با مقادیر اندازه‌گیری شده امپدانس مطابقت دارد.

مقادیر مجموع مربعات خطاها (SSE) و ریشه میانگین مربعات خطاها (RMSE) دو پارامتری است که بیانگر دقت تطابق مقادیر اندازه‌گیری شده و مدار معادل ارائه شده است. لذا هرچه مقدار آن‌ها به صفر نزدیک‌تر باشد، بیانگر دقت بیشتر مدل خواهد بود. در جدول ۱ مقادیر پارامترهای مدار معادل ارائه شده با ذکر مقادیر SSE و RMSE بیان شده است. با توجه به اینکه اندازه‌گیری‌های امپدانس انجام شده در فرکانس‌های بالاتر از ۱ مگاهرتز صورت گرفته، لذا تخمین مقادیر C_{dl} با توجه به اثرات فرکانس پایین آن ممکن نخواهد بود.



شکل ۸- تطبیق نمودار امپدانس نمونه بافر RPMI



شکل ۹- تطبیق نمودار امپدانس نمونه DMEM

بوده و قابل صرف نظر کردن است و می توان آن را اتصال کوتاه در نظر گرفت.

$$Z_L = \omega L_{ESR} \text{ in } 1MHz \rightarrow Z_L \approx 22 m\Omega \quad (9)$$

بنابراین تنها عوامل اثرگذار در فرکانس های پایین مقاومت های R_p, R_{ESR} و خازن C_{dl} است. همچنین مشخص است که خازن C_{dl} تنها در فرکانس های پایین تر از ۱ مگاهرتز نسبت به مقاومت های مدار اثر بیشتری خواهد داشت. نمودار اندازه و فاز به دست آمده از اندازه گیری امپدانس در شکل های ۳ و ۴ نیز نشان دهنده این موضوع است، زیرا در فرکانس های پایین مقدار فاز ابتدا به صفر و سپس به سمت منفی (حالت خازنی) میل می کند.

از این رو با داشتن یک نقطه اندازه گیری شده در فرکانس ۱۰۰ هرتز می توان مقادیر خازن C_{dl} را در فرکانس پایین محاسبه کرد. در شکل ۱۲ مقدار امپدانس در فرکانس ۱۰۰ هرتز برای کووت ۱ میلی متری قابل استخراج است [۲۴]. مطابق شکل ۱۲ اندازه امپدانس در فرکانس ۱۰۰ هرتز برای نمونه های مختلف بسیار نزدیک به هم و در محدوده ۱۷۷۰ تا ۱۸۷۰ اهم است. محاسبات مربوط به مقدار خازن C_{dl} برای نمونه A549-RPMI در معادلات (۱۰) تا (۱۳) آورده شده است.

$$f < 1MHz \rightarrow Z = \frac{R_{ESR}}{\omega} + R_p - i \frac{1}{\omega C_{dl}} \quad (10)$$

$$f = 100 Hz \rightarrow Z = \frac{0.26M}{2\pi * 100} + 9.26 - i \frac{1}{2\pi * 100 * C_{dl}} \quad (11)$$

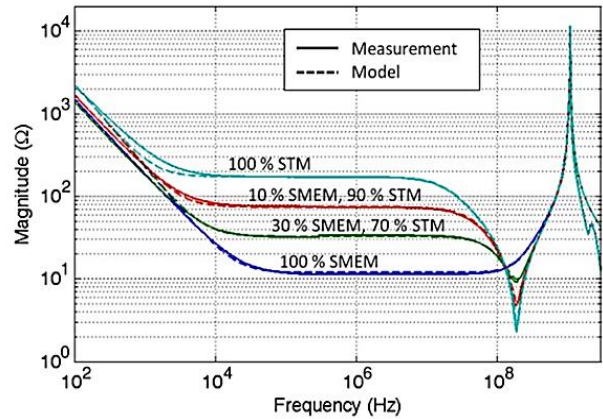
$$|Z| = 1770 = \sqrt{\left(\frac{0.26M}{2\pi * 100} + 9.26\right)^2 + \left(\frac{1}{2\pi * 100 * C_{dl}}\right)^2} \quad (12)$$

$$\rightarrow C_{dl} = 0.92 \mu F \quad (13)$$

به همین ترتیب مقادیر برای سایر نمونه ها نیز به سادگی قابل محاسبه خواهد بود. پس از مشخص شدن مقدار خازن C_{dl} یک بار دیگر فرآیند تطبیق امپدانس تکرار می شود تا خطای تطبیق بررسی شود. با وجود اینکه خازن C_{dl} در فرکانس های بالا عملاً تأثیرگذار نیست، جهت افزایش دقت مدل مداری ارائه شده در بازه فرکانسی از ۱۰۰ هرتز تا ۵۰۰ مگاهرتز، این محاسبات انجام شده است.

۷- نتایج تطبیق مدار معادل توسعه یافته در فرکانس های پایین

در جدول ۲ مقدار خطای تطبیق از فرکانس ۱۰۰ هرتز تا ۵۰۰ مگاهرتز با مقادیر پارامتر به دست آمده جدید برای خازن C_{dl} آورده شده است. با مقایسه جدول ۱ و ۲ می توان گفت که انتخاب مقدار خازن C_{dl} کمترین تأثیر را در تطبیق امپدانس در فرکانس های بالا داشته و مدار معادل از فرکانس ۱۰۰ هرتز تا ۵۰۰ مگاهرتز (مطابق با پارامترهای مدل در جدول ۱) به خوبی انطباق داده شده است. نمودار اندازه و فاز امپدانس اندازه گیری شده مربوط به نمونه MARC5-DMEM و حاصل شده از مدل مداری ارائه شده، از فرکانس ۱۰۰ هرتز تا ۵۰۰ مگاهرتز در شکل ۱۳ با محورهای لگاریتمی نمایش داده شده است.



شکل ۱۲- اندازه گیری امپدانس نمونه های مختلف در کووت های ۱ میلی متری [۲۴].

جدول ۲- اندازه پارامترهای مدار معادل با گسترش بازه فرکانسی تا ۱۰۰ هرتز

Test Sample	Circuit Elements					Goodness of fit	
	C (pF)	R _p (Ω)	C _{dl} (μF)	R _{ESR} (MΩ)	L _{ESL} (nH)	SSE	RMSE
RPMI	31.91	13.60	1.56	0.9	3.60	0.2010	0.0201
DMEM	39.86	10.32	1.24	0.76	3.52	0.0199	0.0062
A549-DMEM	36.9	10.04	1.38	0.84	3.48	0.0084	0.0043
A549-RPMI	47.63	9.22	0.92	0.26	3.62	0.0015	0.0017
MARC5-DMEM	45.76	10.84	1.12	0.66	3.65	0.0701	0.0118

۶- توسعه مدار معادل در فرکانس های پایین

عرض پالس های اعمالی متناسب با عکس فرکانس مشخصه آن ها است [۲۴، ۲۸، ۳۵]. همچنین دستگاه های الکتروپوریشن امکان تولید پالس های الکتریکی در بازه گسترده ای از عرض پالس را (از چند صد پیکوثانیه تا چند میلی ثانیه) دارا هستند [۳۶، ۳۷]. لذا با توجه به اینکه مدل ارائه شده در گستره فرکانس بالا ارائه شده است، برای داشتن اثرات فرکانس پایین (متناسب با پالس های عریض) به بسط گستره فرکانس تا ۱۰۰ هرتز پرداخته می شود. با توجه به پارامترهای محاسبه شده امپدانس ناشی از خازن C در فرکانس ۱ مگاهرتز از رابطه (۸) به دست می آید.

$$Z_C = \frac{1}{\omega C} \text{ in } 1MHz \rightarrow Z_C \approx 4.3 k\Omega \quad (8)$$

همان طور که انتظار می رود امپدانس خازن C در فرکانس های پایین در مقایسه با R_p بسیار بزرگ بوده و می توان آن را مدار باز در نظر گرفت. همچنین در فرکانس های پایین مقدار امپدانس سلف در مقایسه با R_p و R_{ESR} بسیار کوچک

[4] C. J. Treppe, C. R. Phillips, J. Solà, A. Adler, S. A. Haas, M. Rapin, S. H. Böhm, and D. A. Reuter, "Electrical impedance tomography (EIT) for quantification of pulmonary edema in acute lung injury," *Critical care*, vol. 20, no. 1, pp. 1-9, 2015.

[5] J. A. Corscaden, *Gynecologic cancer*: Edinburgh Thomas Nelson & Sons, 1951.

[6] S. Khan, A. Mahara, E. S. Hyams, A. R. Schned, and R. J. Halter, "Prostate cancer detection using composite impedance metric," *IEEE transactions on medical imaging*, vol. 35, no. 12, pp. 2513-2523, 2016.

[7] C. Murdoch, B. H. Brown, V. Hearnden, P. M. Speight, K. D'Apice, A. M. Hegarty, J. A. Tidy, T. J. Healey, P. E. Highfield, and M. H. Thornhill, "Use of electrical impedance spectroscopy to detect malignant and potentially malignant oral lesions," *International journal of nanomedicine*, vol. 9, pp. 4521, 2014.

[۸] مصطفی نظری، «کنترل تطبیقی مدل مرجع بر مبنای معادله ریگاتی وابسته به حالت برای درمان زمان محدود سرطان با استفاده از یک درمان ترکیبی» مجله مهندسی برق دانشگاه تبریز، جلد ۴۸، شماره ۱، صفحات ۳۸۰-۳۶۹، ۱۳۹۷.

[۹] فرزانه جعفریپیشه، حامد خدادادی، «بهینه‌سازی مصرف دارو در درمان سرطان با استفاده از درمان ترکیبی شیمی‌درمانی و ایمنی‌درمانی» مجله مهندسی برق دانشگاه تبریز، جلد ۴۸، شماره ۴، صفحات ۱۵۰۳-۱۴۹۱، ۱۳۹۷.

[10] E. W. Lee, S. Thai, and S. T. Kee, "Irreversible electroporation: a novel image-guided cancer therapy," *Gut and liver*, vol. 4, no. Suppl 1, pp. S99, 2010.

[11] H. Akiyama, and R. Heller, *Bioelectrics*: Springer, 2017.

[12] Y. Mi, C. Yao, C. Jiang, C. Li, C. Sun, L. Tang, and H. Liu, "A ns- μ s duration, millitesla, exponential decay pulsed magnetic fields generator for tumor treatment," *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, vol. 18, no. 4, pp. 1111-1118, 2011.

[13] G. Qiao, W. Wang, W. Duan, F. Zheng, A. J. Sinclair, and C. R. Chatwin, "Bioimpedance analysis for the characterization of breast cancer cells in suspension," *IEEE Transactions on biomedical engineering*, vol. 59, no. 8, pp. 2321-2329, 2012.

[14] P. Agoramurthy, and R. Sundararajan, "Electric field distribution of human breast tissue." pp. 1-4.

[15] D. D. Stupin, E. A. Kuzina, A. A. Abelit, A. K. Emelyanov, D. M. Nikolaev, M. N. Ryazantsev, S. V. Koniakhin, and M. V. Dubina, "Bioimpedance Spectroscopy: Basics and Applications," *ACS Biomaterials Science & Engineering*, vol. 7, no. 6, pp. 1962-1986, 2021.

[16] S. Ren, K. Sun, D. Liu, and F. Dong, "A statistical shape-constrained reconstruction framework for electrical impedance tomography," *IEEE transactions on medical imaging*, vol. 38, no. 10, pp. 2400-2410, 2019.

[17] M. R. Baidillah, A.-A. S. Iman, Y. Sun, and M. Takei, "Electrical impedance spectro-tomography based on dielectric relaxation model," *IEEE Sensors Journal*, vol. 17, no. 24, pp. 8251-8262, 2017.

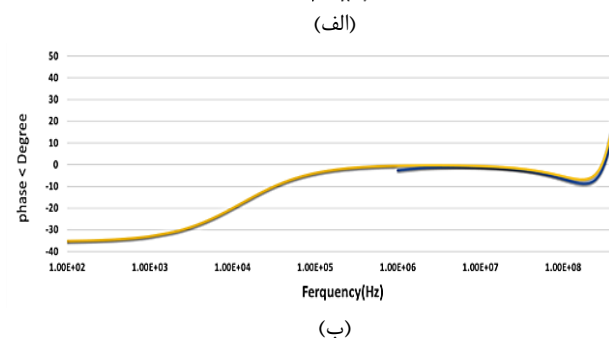
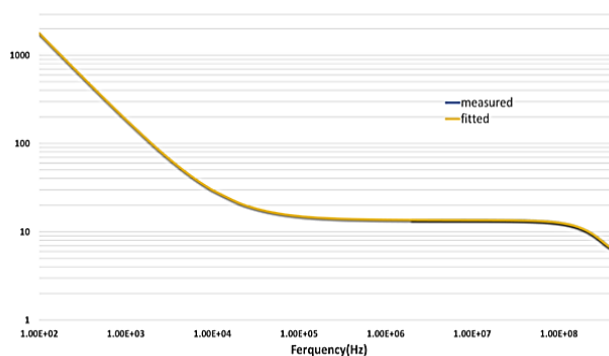
[18] J. Li, H. Huang, and T. Morita, "Stepping piezoelectric actuators with large working stroke for nano-positioning systems: a review," *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 292, pp. 39-51, 2019.

[19] Q. Lu, J. Wen, Y. Hu, K. Chen, H. Bao, and J. Ma, "Novel inertial piezoelectric actuator with high precision and stability based on a two fixed-end beam structure," *Smart Materials and Structures*, vol. 28, no. 1, pp. 015030, 2018.

[20] H. Fricke, "A mathematical treatment of the electric conductivity and capacity of disperse systems II. The capacity of a suspension of conducting spheroids surrounded by a non-conducting membrane for a current of low frequency," *Physical Review*, vol. 26, no. 5, pp. 678, 1925.

[21] A. Ivorra, "Tissue electroporation as a bioelectric phenomenon: Basic concepts," *Irreversible electroporation*, pp. 23-61: Springer, 2010.

[22] T. García-Sánchez, R. Bragós, and L. M. Mir, "In vitro analysis of various cell lines responses to electroporative electric pulses by means of electrical impedance spectroscopy," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 117, pp. 207-216, 2018.



شکل ۱۳- تطبیق نمودار امپدانس MARC5-DMEM (الف): اندازه

امپدانس (ب): فاز امپدانس

۸- نتیجه‌گیری

در این مقاله، با توجه به اهمیت وجود مدار معادل دقیق از سلول‌ها و بافت‌های سالم و سرطانی در تشخیص و درمان سرطان، یک مدل مدار الکتریکی جهت توصیف امپدانس اندازه‌گیری شده است. در این راستا به اندازه‌گیری امپدانس سلول‌های سرطانی و نرمال در کووت‌های الکتروپوریشن ۱ میلی‌متری و در طیف فرکانسی ۱ تا ۵۰۰ مگاهرتز با روش طیف‌سنجی امپدانس پرداخته شده است. مدل مداری با در نظر گرفتن ویژگی‌های الکتریکی بار (خازنی) متشکل از دو صفحه موازی و سوسپانسیون سلولی ارائه شده است.

اندازه پارامترهای مدار معادل الکتریکی پیشنهاد شده، با استفاده از روش برازش منحنی با مقادیر اندازه‌گیری شده تطبیق داده شدند. پارامترهای به‌دست‌آمده برای مدار معادل با این روش دارای خطای نسبتاً پایینی بوده که بیانگر دقت بالای مدل‌سازی است. با توجه به اینکه امکان تولید پالس با چگالی طیف توانی در فرکانس‌های پایین توسط دستگاه‌های الکتروپوریشن (امکان تولید پالس‌هایی با عرض میلی‌ثانیه) وجود دارد، با استفاده از برون‌یابی، مدل مدار معادل پیشنهادی از بازه اندازه‌گیری شده ۱ تا ۵۰۰ مگاهرتز به بازه ۱۰۰ کیلوهرتز تا ۵۰۰ مگاهرتز توسعه داده شد. پارامترهای مدل توسعه داده شده نیز دارای خطای تطبیق نسبتاً پایینی است.

مراجع

[1] B. Farhood, G. Geraily, and A. Alizadeh, "Incidence and mortality of various cancers in Iran and compare to other countries: a review article," *Iranian journal of public health*, vol. 47, no. 3, pp. 309, 2018.

[2] J. Yao, L. Wang, K. Liu, H. Wu, H. Wang, J. Huang, and J. Li, "Evaluation of electrical characteristics of biological tissue with electrical impedance spectroscopy," *Electrophoresis*, vol. 41, no. 16-17, pp. 1425-1432, 2020.

[3] R. P. Braun, J. Mangana, S. Goldinger, L. French, R. Dummer, and A. A. Marghoob, "Electrical impedance spectroscopy in skin cancer diagnosis," *Dermatologic clinics*, vol. 35, no. 4, pp. 489-493, 2017.

- [32] K. Ghoshal, S. Chakraborty, C. Das, S. Chattopadhyay, S. Chowdhury, and M. Bhattacharyya, "Dielectric properties of plasma membrane: A signature for dyslipidemia in diabetes mellitus," *Archives of biochemistry and biophysics*, vol. 635, pp. 27-36, 2017.
- [33] P. B. Ishai, M. S. Talary, A. Caduff, E. Levy, and Y. Feldman, "Electrode polarization in dielectric measurements: a review," *Measurement science and technology*, vol. 24, no. 10, pp. 102001, 2013.
- [34] A. Ivorra, M. Genescà, A. Sola, L. Palacios, R. Villa, G. Hotter, and J. Aguiló, "Bioimpedance dispersion width as a parameter to monitor living tissues," *Physiological measurement*, vol. 26, no. 2, pp. S165, 2005.
- [35] L. Redondo, M. Zalyka, and A. Kandratsyev, "Solid-state generation of high-frequency burst of bipolar pulses for medical applications," *IEEE Transactions on Plasma Science*, vol. 47, no. 8, pp. 4091-4095, 2019.
- [36] J. T. Camp, Y. Jing, J. Zhuang, J. F. Kolb, S. J. Beebe, J. Song, R. P. Joshi, S. Xiao, and K. H. Schoenbach, "Cell death induced by subnanosecond pulsed electric fields at elevated temperatures," *IEEE Transactions on plasma science*, vol. 40, no. 10, pp. 2334-2347, 2012.
- [37] G. Saulis, and R. Saulė, "Size of the pores created by an electric pulse: Microsecond vs millisecond pulses," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, vol. 1818, no. 12, pp. 3032-3039, 2012.
- [23] W. Gu, and Y. Zhao, "Cellular electrical impedance spectroscopy: an emerging technology of microscale biosensors," *Expert review of medical devices*, vol. 7, no. 6, pp. 767-779, 2010.
- [24] A. Silve, R. Vezinet, and L. M. Mir, "Nanosecond-duration electric pulse delivery in vitro and in vivo: experimental considerations," *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, vol. 61, no. 7, pp. 1945-1954, 2012.
- [25] Available online at: <http://fa1.pasteur.ac.ir/Pages.aspx?id=329>.
- [26] C. Jiang, R. V. Davalos, and J. C. Bischof, "A review of basic to clinical studies of irreversible electroporation therapy," *IEEE Transactions on biomedical Engineering*, vol. 62, no. 1, pp. 4-20, 2014.
- [27] M. Honda, "A Guide to Measurement Technology and Techniques, The Impedance Measurement Handbook," Yokogawa-Hewlett Packard LTD, 1989.
- [28] A. Silve, A. G. Brunet, B. Al-Sakere, A. Ivorra, and L. Mir, "Comparison of the effects of the repetition rate between microsecond and nanosecond pulses: Electropermeabilization-induced electro-desensitization?," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, vol. 1840, no. 7, pp. 2139-2151, 2014.
- [29] K. H. Schoenbach, S. Xiao, R. P. Joshi, J. T. Camp, T. Heeren, J. F. Kolb, and S. J. Beebe, "The effect of intense subnanosecond electrical pulses on biological cells," *IEEE Transactions on plasma science*, vol. 36, no. 2, pp. 414-422, 2008.
- [30] I. S. Zheludev, "Electrical Conduction and Dielectric Losses," *Physics of Crystalline Dielectrics*, pp. 455-532: Springer, 1971.
- [31] Y. Feldman, R. Nigmatullin, E. Polygalov, and J. Texter, "Fractal-polarization correction in time domain dielectric spectroscopy," *Physical Review E*, vol. 58, no. 6, pp. 7561, 1998.