

МЕТОДИ І МЕТОДИКИ

© В. В. Гавриляк, О. С. Яремкевич*

УДК 611.781:612.014.42

В. В. Гавриляк, О. С. Яремкевич*

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОФІЗИЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК КЕРАТИНУ ВОЛОСА
ЛЮДИНИ МЕТОДОМ ІМПЕДАНСНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ

Інститут біології тварин НААН (м. Львів)

*Національний університет «Львівська політехніка» (м. Львів)

Дана робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Вивчити регуляторні механізми біосинтезу продукції вівчарства», № державної реєстрації 0110U004171.

Вступ. Імпедансна спектроскопія, яка ґрунтується на вимірюванні електричного імпедансу різноманітних об'єктів, що володіють електропровідністю, в тому числі і біологічних, знаходить все більше застосування у біології та медицині [9]. Відомо, що комплексний опір біологічної тканини відображає її фізичні властивості, зокрема у низькочастотному діапазоні він пов'язаний із електричними властивостями позаклітинного середовища, а на високих частотах – внутрішньоклітинного середовища та ємнісними характеристиками клітинних мембран [13]. Діелектрична проникність біологічної структури змінюється у відповідь на дію різноманітних чинників, що знаходить свій вираз у імпедансі.

На сьогодні електричний імпеданс використовується в широкому діапазоні клінічних досліджень, зокрема для диференціації різних типів раку [1, 7], томографії [6] та аналізі складу організму [8].

У літературі є повідомлення про дослідження імпедансних характеристик епідермісу та власне шкіри [4, 5], нігтів [11], проте такі відомості стосовно людського волоса на сьогодні практично відсутні.

Мета дослідження полягала у вивченні біофізичних характеристик волоса людини у відповідь на дію хімічного чинника за допомогою імпедансної спектроскопії.

Об'єкт і методи дослідження. Для імпедансної спектроскопії кератинових волокон при змінному струмі частотою від 1 до 100 кГц була використана установка, створена на основі мікросхеми AD5933, яка є інтегральним перетворювачем вимірюваних параметрів у цифровий код [2–3]. Електроди, виготовлені із Аурому, підводили до зрізів на відстані 20 мм один від одного.

Для досліджень використали волосся людини із середнім діаметром $d=67,3$ мкм. Хімічне оброблення моделювали за допомогою 10% водного розчину тіогліколевої кислоти (ТГА) за температури 37 °С протягом 15 хв. Зразок, використаний в якості

контролю, за аналогічних умов витримували у дистильованій воді.

Через волос пропускали слабкий змінний струм різної частоти і вимірювали комплексний опір Z (Ом) та кут φ (град.). За отриманими експериментальними даними з використанням програми *Microsoft Excel* були отримані табличні дані та графіки їх частотних характеристик.

Поверхню волосся досліджували за допомогою сканувального електронного мікроскопа JEOL JSM-T 220A. Для забезпечення стікання заряду зразки напіляли купрумом за допомогою установки ВУП-5.

Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням достовірного інтервалу для оцінки ступеня вірогідності (P) за допомогою критерію Стьюдента (t). Розбіжності вважали статистично вірогідними при $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Структурні зміни поверхні волоса оцінювали за допомогою сканувальної електронної мікроскопії. На мікрофотографії (**рис. 1, А**) видно, що волос має рельєфну поверхню, кутикулярні луски щільно прилягають вздовж осі волоса. Деструктивні зміни, що виникають при обробленні волоса водним розчином тіогліколевої кислоти (ТГК), зовнішньо виражаються у частковому відшаруванні лусок та підйомі їх країв вздовж всієї довжини волоса (**рис. 1, В**).

Слід зазначити, що волос людини, як гетерогенна наноструктурована система, характеризується неоднорідними діелектричними властивостями. У загальних рисах волос складається із таких концентричних шарів, як кутикула, кортекс, а іноді і серцевина. Зовнішній шар, утворений зроговілими плоскими клітинами-лусками, має надзвичайно складну будову і вносить істотний вклад у діелектричні властивості волоса.

Структурним елементом кортексу є фібрили – щільно упаковані волоконця товщиною 6–7 нм, які в свою чергу складаються із тоненьких α -волоконць або протофібрил [12]. Протофібрили об'єднуються у мікрофібрили, які складають основну масу волосини і входять до складу кристалічної частини кератину. Фібрили утворюють масивні агрегати товщиною 0,05-1,1 мкм, а проміжки між ними заповнені

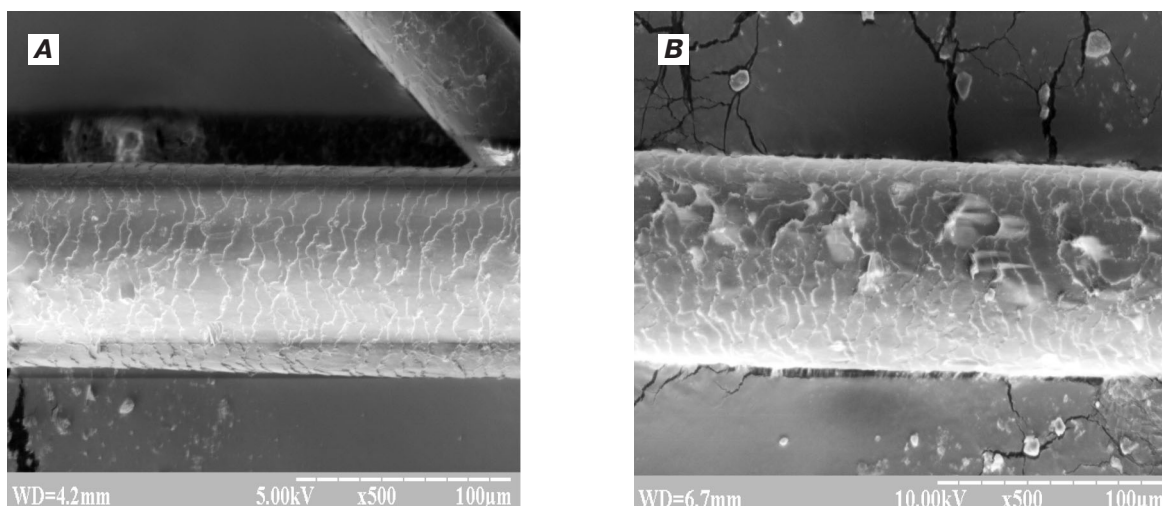


Рис. 1. Зображення зовнішньої поверхні волоса людини (X 500):

А – контрольний зразок, В – зразок після оброблення ТГК.

аморфним середовищем – матриксом, який характеризується високим вмістом цистину. Якщо врахувати, що волос людини є структурованим біокомпозитом, роль матриці в якому виконують філаментні структури, а наповнювача – матриксні протеїни, то логічно припустити, що волос умовно можна розділити на дві фази, а саме діелектрика (фібрили) та електропровідного матеріалу – аморфного матриксу.

Результати проведених досліджень засвідчили, що загальний імпеданс волоса людини знаходиться в межах 2–16 Ом, причому спостерігається лінійна залежність між комплексним опором і частотою електричного струму, яка в умовах наших досліджень відповідала α - і β -дисперсії (рис. 2). Характерно, що ця залежність зберігається і для хімічно обробленого волосся.

Важливо відзначити, що вірогідні різниці у комплексному опорі нормального і хімічно обробленого волосся спостерігаються лише у низькочастотному діапазоні, а при частоті струму понад 50 кГц вони практично нівелюються. Такі зміни, очевидно, пов'язані із діелектричними властивостями кутикулярного шару, тоді як високочастотна ділянка графіка характеризує імпеданс кортексу.

Результати досліджень засвідчили, що імпеданс нативного волоса при частоті струму від 1 до 40 кГц вірогідно вищий порівняно із хімічно обробленим волосом. Найнижче значення загального опору було зафіксоване при частоті 10 кГц (3,59 Ом та 1,77 Ом, $P_{2264} > 0,01$ відповідно для нативного та обробленого волоса). При частоті 40 кГц загальний імпеданс, як нативного, так і хімічно обробленого волоса збільшувався удвічі порівняно із комплексним опором при частоті 10 кГц, хоча оброблення волоса ТГК призводило до зниження імпедансу порівняно до контролю, що, очевидно, пов'язано із

розривом дисульфідних та водневих зв'язків між поліпептидними ланцюгами кератину. Деякі автори вважають, що волосся, як і роговий шар шкіри, за будовою схожі, тому електричний механізм провідності волоса може відповідати моделі провідності рогового шару шкіри [5].

Фазовий кут φ зсуву діелектричної проникності характеризує співвідношення між активною і реактивною складовою імпедансу. Встановлено, що кут φ хімічно обробленого волоса (рис. 3), незалежно від частоти змінного струму, є нижчим порівняно з нативним волосом, причому його найнижче значення зафіксовано при частоті 40 кГц (відповідно $-73,87^\circ$ та $-61,25^\circ$, $P_{2264} > 0,01$).

Такі зміни, імовірно, пов'язані із ємнісними характеристиками кератинових волокон, які залежать від молекулярної рухливості ланцюгів α -кератинів, тоді як провідність – від мобільності молекул води, зв'язаних із полярними групами молекул кератину [10]. Отже, оброблення волоса ТГК, очевидно,

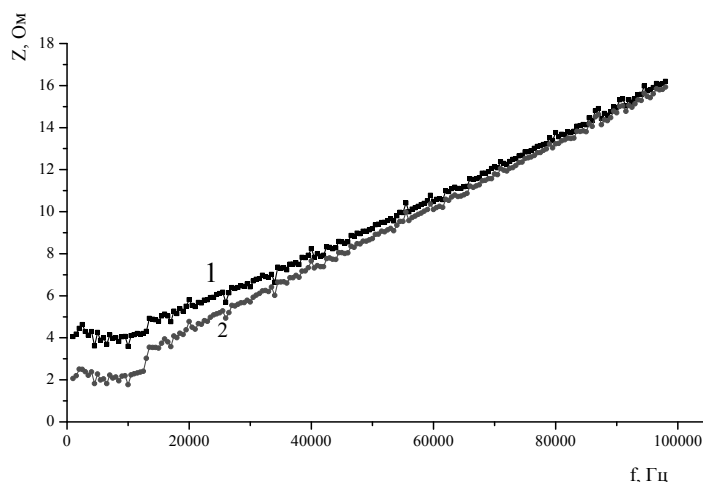


Рис. 2. Залежність комплексного опору волоса людини від частоти змінного електричного струму (1 – нативний волос; 2 – волос після оброблення ТГК).

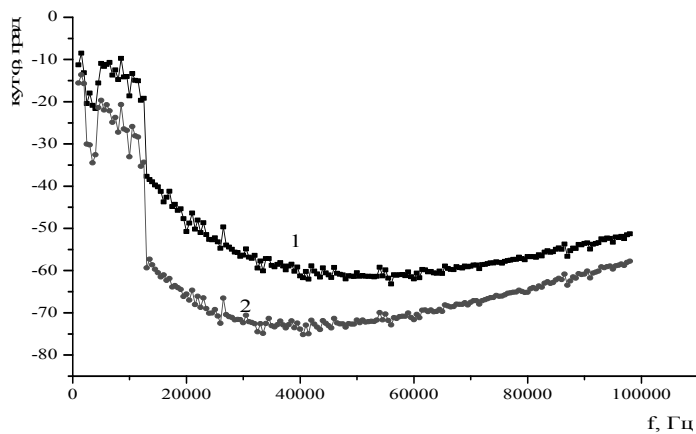


Рис. 3. Фазовий зсув кута – волоса людини (1 – нативний волос; 2 – волос після оброблення ТГК).

впливає на структуру клітинно-мембранних комплексів, змінюючи в першу чергу їх поляризаційні властивості.

Отже, проведені дослідження свідчать, що для волоса людини характерна дисперсія електропровідності, причому складові імпедансу – провідність та ємність залежать від стану цього кератинового волокна.

Висновки.

Комплексний опір кератинових волокон знаходиться у лінійній залежності від частоти змінного струму. Найбільші різниці у біоімпедансі нормального і хімічно обробленого волосся спостерігаються у низькочастотному діапазоні (від 100 Гц до 40 кГц). Імпеданс нативного волоса при частоті струму від 1 до 40 кГц вірогідно вищий порівняно із хімічно обробленим волосом, причому його найнижче значення зафіксоване при частоті 10 кГц (відповідно 3,59 Ом та 1,77 Ом, $P_{2264} > 0,01$).

Встановлено, що фазовий кут φ зсуву між активною і реактивною складовими опору хімічно обробленого волоса, незалежно від частоти змінного струму, є нижчим порівняно з нативним волосом, причому його найнижче значення зафіксовано при частоті 40 кГц (відповідно $-73,87^\circ$ та $-61,25^\circ$, $P_{2264} > 0,01$).

Перспективи подальших досліджень. Дослідження будуть продовжені у напрямі з'ясування модулів пружності філаментних структур волоса та їх зв'язку із імпедансними характеристиками за дії хімічних чинників.

Література

1. Eberg P. Assessment of skin lesions and skin cancer using simple electrical impedance indices / P. Eberg, I. Nicander, U. Holmgren [et al.] // *Skin Res. Technol.* – 2003. – Vol. 9. – P. 257-261.
2. AD5933 Application Note № “Measuring Grounded Impedance Profile Using the AD5933”, Analog Devices (<http://www.analog.com>).
3. AD5933 Datasheet: Analog Devices (<http://www.analog.com>).
4. Birgersson U. Non-invasive bioimpedance of intact skin: mathematical modeling and experiments / U. Birgersson, E. Birgersson, P. Aber [et al.] // *Physiol. Meas.* – 2011. – Vol. 32. – P. 1-18.
5. Birgersson U. Estimating electrical properties and the thickness of skin with electrical impedance spectroscopy: Mathematical analysis and measurements / U. Birgersson, E. Birgersson, S. Ollmar // *J. Electr. Bioimp.* – 2012. – Vol. 3. – P. 51-60.
6. Brown B H. Electrical impedance tomography (EIT): a review / B. H. Brown // *J. Med. Eng. Technol.* – 2003. – Vol. 27. – P. 387-393
7. Dua R. Detection of basal cell carcinoma using electrical impedance and neural networks / R. Dua, D. G. Beetner, W. V. Stoecker, D. C. Wunsch // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* – 2004. – Vol. 51(1). – P. 66-71.
8. Ellis K J. Human Body Composition: In Vivo Methods. / K. J. Ellis // *Physiological Reviews.* – 2000. – Vol. 80 (2). – P. 649-680
9. Grimnes S, Martinsen O. Bioimpedance and bioelectricity basics. – San Diego: Academic Press, 2000. – 309 p.
10. Martinsen O. Dielectric properties of some keratinized tissues. Part 2: human hair / O. Martinsen, S. Grimnes, E. Kongshaug // *Med. Biol. Eng. Comput.* – 1997. – Vol. 35. – P. 177-180.
11. Martinsen O. Water sorption and electrical properties of human nail / O. Martinsen, S. Grimnes, S. Nilsen // *Skin Research and Technology.* – 2008. – Vol. 14. – P. 142-146.
12. Robbins C. R. Chemical and physical behavior of human hair / C. R. Robbins. – New York, Berlin Heidelberg : Springer-Verlag. – 2012. – 724 p.
13. Schwan H. P. Electrical characteristics of tissues: A survey biophysics / H. P. Schwan. – 1963. – № 1. – P. 198-208.

УДК 611.781:612.014.42

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОФІЗИЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК КЕРАТИНУ ВОЛОСА ЛЮДИНИ МЕТОДОМ ІМПЕДАНСНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ

Гавриляк В. В., Яремкевич О. С.

Резюме. У статті представлено результати досліджень біофізичних характеристик волоса людини методом імпедансної спектроскопії при змінному струмі частотою від 1 до 100 кГц за дії водного розчину тіогліколевої кислоти. Установлено, що комплексний опір волокна залежить від частоти змінного струму, причому найбільша різниця у біоімпедансі нормального і хімічно обробленого волоса спостерігається у низькочастотному діапазоні (від 100 Гц до 40 кГц). Імпеданс нативного волоса при частоті струму від 1 до 40 кГц вірогідно вищий порівняно із хімічно обробленим волосом, причому його найнижче значення зафіксоване на частоті 10 кГц (відповідно 3,59 Ом та 1,77 Ом, $P_{2264} > 0,01$).

Показано, що фазовий кут φ зсуву між активною і реактивною складовими опору хімічно обробленого волоса, незалежно від частоти змінного струму, є нижчим порівняно з нативним волосом, а його найнижче значення зафіксовано при частоті 40 кГц (відповідно $-73,87^\circ$ та $-61,25^\circ$, $P 2264 > 0,01$).

Ключові слова: волос людини, електричний імпеданс, кут φ , структура, тиогліколева кислота.

УДК 611.781:612.014.42

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КЕРАТИНА ВОЛОСА ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ИМПЕДАНСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Гавриляк В. В., Яремкевич Е. С.

Резюме. В статье представлены результаты исследования биофизических характеристик волоса человека методом импедансной спектроскопии при переменном токе частотой от 1 до 100 кГц под влиянием водного раствора тиогликолевой кислоты. Установлено, что комплексное сопротивление волоса зависит от частоты переменного тока, причем наибольшая разница в импедансе нормальных и химически обработанных волос наблюдается в низкочастотном диапазоне (от 100 Гц до 40 кГц). Импеданс нативного волоса при частоте тока от 1 до 40 кГц достоверно выше по сравнению с химически обработанным волосом, причем его самое низкое значение зафиксировано на частоте 10 кГц (соответственно 3,59 Ом и 1,77 Ом, $P 2264 > 0,01$).

Показано, что фазовый угол φ смещения между активной и реактивной составляющими сопротивления химически обработанных волос независимо от частоты переменного тока ниже по сравнению с нативным волосом, а его самое низкое значение зафиксировано при частоте 40 кГц (соответственно $-73,87^\circ$ и $-61,25^\circ$, $P 2264 > 0,01$).

Ключевые слова: волос, электрический импеданс, угол φ , структура, тиогликолевая кислота.

UDC 611.781:612.014.42

Biophysics Characteristic of Human Hair Keratin by Impedance Spectroscopy

Havrylyak V. V., Iaremkevych O. S.

Abstract. Impedance spectroscopy, based on electrical impedance measuring of various objects, including biological, is analytical technique that has found widespread use in biology and medicine. It has been known that impedance of biological tissue reflects its biophysical properties in the frequencies range from 1 Hz to 100 kHz.

Today the electric impedances used in a wide range of clinical trials, particularly for the differentiation of various types of cancer, tomography and the analysis of the body content.

The literature data inform about impedance characteristics of the epidermis, skin and nails but little attention has been paid to studies the dielectric properties of human hair.

The main purpose of this research is to examine the biophysical characteristics of human hair by impedance spectroscopy in response to chemical factors after the action of the alternating current at a frequency from 1 Hz to 100 kHz.

In the experiment human hair with an average diameter of $d = 67,3 \mu\text{m}$ were used. Hair treatment with 10% aqueous solution of thioglycolic acid at 37°C during 15 min was designed. The alternating current of varying frequency passed through the human hair and bioimpedance Z (Ohm) and angle φ (degree) were measured.

Structural changes in the surface of the untreated and chemically treated hair were evaluated by scanning electron microscopy. The destruction of cuticle layer of human hair after the influence of thioglycolic acid was observed.

It should be noted that the reliable differences in bioimpedance of untreated and chemically treated hair are observed only in the low-frequency range. These changes, perhaps, are related to the dielectric properties of cuticle layer of hair, while impedance in the high-frequency range is associated with cortex.

It has been shown that the electric impedance of keratin fibers depends linearly on the frequency of the alternating current. Obtained results show that impedance of the untreated hair at current frequency from 1 Hz to 40 kHz is significantly higher compared to chemically treated hair. The lowest value of bioimpedance both untreated and chemically treated hair was fixed at a frequency of 10 kHz (3.59 Ohm and 1.77 Ohm, $P 2264 > 0,01$ respectively). Lower impedance of chemically treated hair is apparently due to the rupture of disulfide and hydrogen links between polypeptide chains of keratin.

It has been detected that the phase angle φ of permittivity of chemically treated hair, regardless of the alternating current frequency, is lower compared to the untreated hair and its lowest value was fixed at a frequency of 40 kHz (-73.87° and -61.25° respectively, $P 2264 > 0,01$).

These changes are obviously related to the capacitive characteristics of keratin fibers, which depend on the molecular mobility of α -keratin chains, while their conductivity depends on the mobility of water molecules associated with the polar groups of the keratin molecules. Thus, hair treatment with aqueous solution of thioglycolic acid affects the structure of cell-membrane complexes, primarily by changing their polarization properties.

It was concluded that the human hair is characterized by dielectric dispersion and impedance components – conductivity and capacitance depend on the state of the keratin fibers.

Key words: human hair, electrical impedance, angle φ , structure, thioglycolic acid.

Рецензент – проф. Іщейкіна Ю. В.

Стаття надійшла 14. 01. 2014 р.