

УДК 591.147.6:577.311.6:577.121

ПОЛЯРИЗАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА И ЭЛЕКТРОПРОВОДНОСТЬ ТКАНЕЙ МЫШЕЙ ЛИНИИ СВА ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ НАГРУЗКЕ В РАННЕМ ПОСТМОРТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Торнуев Ю.В., Колдышева Е.В., Глухов Б.М., Кулешов В.М., Исаенко В.И.,
Семенов Д.Е., Чуринов Б.В.

*ФГБУ «Научно-исследовательский институт региональной патологии и патоморфологии»
Сибирского отделения Российской академии медицинских наук,
Новосибирск, e-mail: pathol@soramn.ru*

Проведен анализ поляризационных свойств тканей внутренних органов трупов лабораторных животных с учетом фактора прижизненной алкогольной интоксикации. Показано, что изменения коэффициента поляризации (Кп) тканей трупов относительно тканей интактных животных и животных, подвергавшихся при жизни стрессующему воздействию алкогольной нагрузки, в первые сутки после смерти имеют общую тенденцию к снижению, изменяются только численные значения показателей. Кп тканей внутренних органов в течение первых суток постмортального периода остается выше единицы, что свидетельствует о частичной сохранности структуры тканей. Прижизненная алкогольная интоксикация способствует более раннему разрушению структуры тканей. Органы, более чувствительные к воздействию алкоголя: сердце, надпочечник, селезенка, значительно страдают от литических изменений. Эти факты следует принимать во внимание при определении по показателям электроимпедансометрии срока давности наступления смерти, степени алкогольной интоксикации и сохранения жизнеспособности образцов тканей трансплантируемых органов.

Ключевые слова: алкогольная интоксикация, внутренние органы мышей линии СВА, постмортальный период, поляризационные свойства тканей

POLARIZATION PROPERTIES AND TISSUE ELECTRICAL CONDUCTIVITY OF CBA MICE WITH ALCOHOL LOAD AT THE EARLY POSTMORTEM PERIOD

Tornuev Y.V., Koldysheva E.V., Glukhov B.M., Kuleshov V.M.,
Isayenko V.I., Semenov D.E., Churin B.V.

*Research Institute of regional Pathology and Pathomorphology SD RAMS,
Novosibirsk, e-mail: pathol@soramn.ru*

The analysis of the internal organs tissue polarization properties from corpses of laboratory animals was performed taking into account the factor of lifetime alcohol intoxication. It was shown that changes in the coefficient of tissue polarization (CTP) of dead animals relative to intact animals and animals exposed to stressful alcohol load during their lifetime, on the first day after death all had a general tendency towards convergence, changed only in the numerical indices. CTP of internal organs during the first day of postmortem period remained more than one, indicating a partially preserved tissue structure. Lifetime alcohol intoxication contributes to earlier onset of the tissue structure destruction. The organs that are more sensitive to the effects of alcohol – the heart, adrenal, spleen, all suffer from significant lithiatic changes. These facts should be taken into account in determining the time of death by electric impedans method, together with the degree of alcohol intoxication and the viability of the graft tissue samples.

Keywords: alcohol intoxication, internal organs of CBA mice, postmortem period, the polarization properties of tissues

Явление поляризации тканей при их взаимодействии с внешним электрическим током широко используется для изучения их структурных особенностей и определяется емкостными свойствами мембран, перестройками белковых комплексов и перераспределением электрических зарядов внутри и вне клетки [7, 9, 11]. Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о высокой информативности и значимости поляризационных свойств тканей для диагностики функциональных состояний, в частности, коэффициента поляризации (Кп). Чем он выше, тем интенсивнее обмен веществ в исследуемом органе [3, 4]. Исследование коэффициента поляризации позволяет более четко представлять, что именно происходит с изучаемым объек-

том, каким конкретно образом происходит количественное изменение соотношения жидкость – белковые структуры с течением времени, либо при иных воздействиях, сопровождающихся его структурными реорганизациями.

Принято считать, что способность к поляризации присуща только живым тканям, между тем уровень Кп некоторое время после гибели объекта поддерживается на сравнительно высоком уровне и становится равным единице только при полном разрушении структуры ткани. Как правило, при аутолизе сопротивление тканей токам высокой частоты длительное время (до 30 ч и более) после смерти может сохраняться практически неизменным, и снижение Кп определяется в основном поведением низ-

кочастотного сопротивления. Снижение Кп тканей в пределах 70–80 % в последующие сутки приводит к практическому отсутствию частотного градиента электропроводности, свидетельствуя о полном разрушении структуры тканей.

Эти обстоятельства позволили использовать на практике показатели электрического импеданса для определения времени наступления смерти [1, 2, 4].

Однако в ряде случаев изменения электропроводности тканей в раннем посмертном периоде наблюдали на обеих частотах, что может быть, по нашему мнению, связано с тем фактом, что любые прижизненные экзо- и эндогенные факторы, вызывающие морфологические изменения в тканях, например, алкогольная интоксикация, приводят к изменению импеданса на обеих частотах и снижению Кп по сравнению с тканями интактных животных [6, 8]. То есть исходные значения показателей электропроводности в этих случаях должны быть различны. Для проверки нашего предположения необходимо провести дополнительные специальные эксперименты.

Цель настоящего исследования – изучение поляризационных характеристик тканей внутренних органов трупов лабораторных животных с учетом фактора прижизненной алкогольной интоксикации.

Материал и методы исследования

В экспериментах использованы ткани внутренних органов мышьяк-самцов линии СВА ($n = 14$), подвергнутых при жизни действию принудительной алкогольной нагрузки (10% раствор этанола в виде питья) в сочетании с низко-белковой диетой [6]. Эксперименты проведены в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных (Страсбург, 1986) и одобрены биоэтическим комитетом ФГБУ «НИИ региональной патологии и патоморфологии» СО РАМН.

Исследовали ткани почки, печени, сердца, легкого, селезенки и надпочечника. Электрические параметры образцов тканей трупов ($n = 6$) размером $2 \times 1 \times 1$ мм и целого надпочечника измеряли в первые сутки после смерти животного с помощью стандартного электроимпедансометра «Тонус-2» последовательно на низкой (10 кГц) и высокой (1 мГц) частотах. Активный измерительный электрод был выполнен в виде иглы с диаметром кончика 60 мкм, индифферентный – диаметром 10 мм.

Образец ткани помещали в центре индифферентного электрода, затем с помощью микрометрического винта подвели активный электрод до касания с образцом, обеспечивая надежный электрический контакт. Осуществляли три последовательных измерения показателей с их последующим усреднением. Затем рассчитывали соотношение импедансов тканей на этих частотах – коэффициент поляризации Кп, по величине которого судили о поляризационных свойствах тканей [7, 8]. Контролем служили ткани внутренних органов мышьяк, содержащихся в тех

же условиях ($n = 8$), но извлеченные непосредственно после забоя животного. Полученные результаты сравнивали с данными электропроводности тканей внутренних органов мышьяк СВА, содержащихся на стандартном рационе и свободном доступе к воде ($n = 4$).

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного анализа электрических параметров тканей погибших животных установлено снижение в первые сутки коэффициента поляризации всех исследованных органов относительно контрольной группы и группы сравнения, который, однако, оставался выше единицы, что свидетельствовало о частичной сохранности частотного градиента электропроводности и, следовательно, структуры тканей. Так, изменение Кп почки, печени, сердца и легкого экспериментальных животных относительно интактных составило в среднем 15, 22, 24 и 16 % соответственно ($p < 0,05$), что находится в удовлетворительном согласии с данными литературы [2, 3, 6]. При этом надпочечник и селезенка значительно страдали от литических изменений – снижение Кп достигало 55 и 70 % [6, 8].

Известно [10], что непосредственно после извлечения органа из тела животных уровень электрического импеданса его тканей, как правило, возрастает по сравнению с показателями, полученными *in vivo*, из-за уменьшения количества внеклеточной жидкости и отсутствия кровотока. При этом в результате тепловой ишемии наблюдается дисбаланс концентрации ионов между внутри- и внеклеточной средами, вызванный увеличением осмотического давления и отеком клеток, что также изменяет электропроводность тканей. Характерно, что рост электрического импеданса сердца после его извлечения опережает во времени изменения в других органах.

Электропроводящие свойства тканей органов в течение некоторого времени после их извлечения (1–2 часа) остаются неизменными, после чего, если не принять мер консервации, происходит необратимое повреждение мембран клеток, способствующее снижению импеданса на низких частотах. И только спустя сутки начинается изменение (в среднем на 40–50 %) и выравнивание импедансов тканей уже на обеих частотах, Кп приближается к единице, что и зафиксировано нами. По нашим данным, изменение электрического импеданса тканей трупов на высоких и низких частотах составило для почки в среднем 50 %, пе-

чени – 20 и 22%, сердца – 52 и 23% соответственно. Импеданс селезенки на низких частотах изменился на 20%, а на высоких составил всего 60% относительно контроля ($p < 0,05$). Показатели надпочечника трупов на обеих частотах изменились в среднем на 22% и имели больший разброс, чем у других органов, возможно, вследствие большей чувствительности ткани к посмертным изменениям.

Мы полагаем, что зарегистрированная нами динамика электрического импеданса тканей внутренних органов трупов связана с изменениями их структуры в результате прижизненного воздействия этанола – частичным склерозированием стенок сосудов, нарушением электролитного обмена [1, 5]. Вследствие этого наблюдается изменение импеданса не только на низких частотах, но и генерализованная реакция возрастания импеданса тканей всех исследованных органов на высокой частоте [6], сопровождающая морфологические изменения. Так, по сравнению с контролем возрастает их электрическое сопротивление токам высокой частоты ($p < 0,05$), свидетельствуя об изменении свойств клеточных и внутриклеточных мембран и цитоплазмы клеток.

Кп почки, сердца и печени снизился незначительно (до 15%), поскольку наряду с ростом сопротивления на высокой частоте (от 30 до 45%) наблюдали его увеличение и на низкой частоте (в среднем на 23%). Снижение поляризационных характеристик надпочечника и селезенки было более существенно по сравнению с другими органами и достигало 35–40%. Структурные изменения в тканях свидетельствовали о развитии в организме стресс-реакции, заметнее всего выраженной в адреналовых железах. По нашему мнению, изменение линейных размеров коры надпочечника (рост) и соотношения между ее зонами вследствие воздействия этанола и делипидизации цитоплазмы адреналокортицитов пучковой зоны (острый стресс) напрямую способствовали росту сопротивления надпочечника токам высокой частоты до 55% и снижению Кп.

Мы полагаем, что зарегистрированные нами особенности электрофизических характеристик исследованных тканей могут быть следствием воздействия гидрофобных соединений, каковыми являются неполярные этиловые группы, хорошо растворяющие липиды и проникающие в клетку. При этом возможно нарушение баланса ионов в цитоплазме и изменение трансмембранной разности потенциалов. Как следствие, меняется проницаемость клеточных и внутриклеточных мембран, возрастает влияние содержимого клетки на электрофизиче-

ские свойства тканей, что и зафиксировано нами. Систематический прием даже слабых растворов и доз этанола вызывает компенсаторную перестройку метаболизма, патологический тип обменных процессов при этом закрепляется. Индивидуальные тканевые особенности, влияющие на характер частотной зависимости импеданса, мы связываем с размерами и формой клеток, биохимическими и биофизическими свойствами цитоплазмы.

Полученные данные находятся в удовлетворительном соответствии с известными результатами оценки проницаемости клеточных мембран и их емкостных свойств при изменении пищевого рациона и алкогольной интоксикации. Есть основания полагать, что зарегистрированная нами динамика градиента электропроводности тканей (коэффициента поляризации) экспериментальных животных является универсальной стрессовой реакцией организма – аналогичная динамика поляризационных свойств мышечных тканей отмечена при экстремальных термических воздействиях [2, 5].

Факт развития генерализованной электрической реакции в организме животного в ответ на воздействие этанола согласуется с результатами исследования нейроэндокринных механизмов поддержания гомеостаза в процессе адаптации и позволяет предполагать их участие в формировании электрических параметров тканей.

Следовательно, исходные (предсмертные) значения показателей импеданса у этих животных уже существенно отличаются от нормы. Проведенное нами сравнение данных электроимпедансометрии тканей трупов с таковыми для животных, подвергавшихся при жизни воздействию алкогольной нагрузки, свидетельствует о том, что общая тенденция к снижению Кп в течение первых суток после гибели животного и в этом случае сохраняется, изменяются только его численные значения. В результате прижизненной алкогольной интоксикации организма снижается уровень Кп за счет изменения импеданса на обеих частотах [6], что способствует более раннему по сравнению с интактными животными развитию необратимых изменений тканей внутренних органов. Это и зафиксировано нами в настоящих экспериментах.

Так, Кп тканей трупов относительно тканей животных, подвергавшихся при жизни стрессующему воздействию алкогольной нагрузки, в среднем составил для печени – 89%, сердца – 86%, селезенки – 60%, почки 90% ($p < 0,05$). Изменение Кп легкого находилось в пределах ошибки измерения, надпочечника – составило 14%, но

по уровню Кп был значительно ниже, чем у других органов, кроме селезенки, и имел разброс значений от 1,5 до 1,9 (у интактных животных $K_p = 3,47 \pm 0,04$), свидетельствуя о необратимых изменениях и нежизнеспособности ткани. Для сравнения – значения Кп печени, сердца, почки и легкого поддерживались в первые сутки после смерти в интервале 3,5–2,3.

Эти факты, по нашему мнению, следует принимать во внимание при определении времени наступления смерти и сохранения жизнеспособности (по показателям электроимпедансометрии) образцов тканей трансплантируемых органов. Естественно, что динамика электрических параметров трансплантатов при хранении и консервации специфична для каждого органа. Например, ткани почки хранятся дольше, чем печени и сердца [5, 10]. Согласно нашим данным, необратимое разрушение структуры тканей селезенки, надпочечника и сердца в постмортальном периоде, сопровождающееся снижением Кп, наступает раньше, чем у почки и легкого, что также следует учитывать на практике.

Полученные нами результаты находятся в соответствии с данными литературы, свидетельствуя о связи показателей импеданса тканей внутренних органов в раннем постмортальном периоде с состоянием прижизненной алкогольной интоксикации животного.

Список литературы

1. Витер В.И., Онянов А.М. Импедансометрическая диагностика времени смерти на поздних сроках постмортального периода // Морфологические ведомости. Международный морфологический журнал. – 2008. – № 1. – С. 162–165.
2. Ковалева М.С., Халиков А.А., Вавилин А.Ю. Определение давности образования кровоподтеков методом импедансометрии // Проблемы экспертизы в медицине. – 2006. – № 3. – С. 15–19.
3. Колдышева Е.В., Торнуев Ю.В. Применение методов электроимпедансометрии в клинической практике // Сибирский научный вестник. – 2003. – № 4. – С. 28–31.
4. Никифоров Я.А. Особенности динамики электрического сопротивления тканей организма в позднем посмертном периоде // Проблемы экспертизы в медицине. Ижевск: Экспертиза. – 2003. – № 3. – С. 44–45.
5. Биоимпедансный анализ состава тела человека / Д.В. Николаев, А.В. Смирнов, И.Г. Бобринская, С.Г. Руднев. – М.: Наука, 2009. – 392 с.
6. Торнуев Ю.В., Колдышева Е.В. Динамика электрофизических параметров тканей мышей СВА при развитии стресс-реакции // Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов: мат. VI Всерос. научно-практ. конф. – Новосибирск, 2013. – С. 167–168.
7. Возрастная инверсия показателей электрического импеданса надпочечников при генетически детерминированных нарушениях метаболизма / Ю.В. Торнуев, Е.В. Колдышева, С.М. Балахнин, Б.М. Глухов, А.Г. Жук, В.И. Исаенко, С.Р. Сенчукова // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 5. – С. 203–206.
8. Торнуев Ю.В., Непомнящих Л.М., Колдышева Е.В. Воздействие низкоколиновой диеты и этанола на электро-

проводящие свойства тканей мышей СВА // Бюлл. экспер. биол. – 2005. – № 11. – С. 515–518.

9. Heymsfield S.B., Lohman T.G., Wang Z., Going S.B. Human body composition Champaign Human Kinetics. – 2005. – 533 p.

10. Ishikawa M., Hirose H., Sasaki E. et al. Evaluation of myocardial viability during simple cold storage with the use of electrical properties in broad frequencies // J. Heart Lung Transplant. – 1996. – Vol. 15, N 10. – P. 1005-1011.

11. Johnson M.S., Nagy T.R. Animal body composition methods // Human body composition, 2nd ed. (Eds. S.B.Heymsfield, T.G. Lohman, Z.Wang, S.B.Going). Champaign, IL: Human Kinetics. – 2005. – P. 141–150.

Referenses

1. Viter V.I., Onyanov A.M. *Morfologicheskie vedomosti. Mezhdunarodniy morfologicheskiy zhurnal – Morphological statements. International morphological journal*, 2008, no.1, pp. 162–165.
2. Kovaleva M.S., Khalikov A.A., Vavilin A.Yu. *Problemy ekspertizy v meditsine – Problemes of expertise in medicine*, 2006, no. 3, pp. 15–19.
3. Koldysheva E.V., Tornuev Yu.V. *Sibirskiy nauchniy vestnik – Siberian scientific bulletin*, 2003, no. 4, pp. 28–31.
4. Nikiforov A.Ya. *Problemy ekspertizy v meditsine. Izhevsk: Ekspertiza – Problemes of expertise in medicine. Izhevsk: Expertise*, 2003, no. 3, pp. 44–45.
5. Nikolaev D.V., Smirnov A.V., Bobrinskaya I.G., Rudnev S.G. *Bioimpedansniy analiz sostava tela cheloveka [Bioimpedance analyses of the composition of the human body]*. Moscow, Nauka, 2009. 392 p.
6. Tornuev Yu. V., Koldysheva E.V. *Fundamentalnie aspekty kompensatorno-prisposobitelnykh protsessov Mat. VI Vseross. Nauchno-prakt. konf. (Fundamental aspects of compensatory-adaptive processes. Materials VI scientific practice conference)*. Novosibirsk, 2013, pp. 167–168.
7. Tornuev Yu.V., Koldysheva E.V., Balakhnin S.M., Glukhov B.M., Zhuk A.G., Isaenko V.I., Senchukova S.R. *Fundamentalnie issledovaniya – Fundamental research*, 2012, no. 5, pp. 203–206.
8. Tornuev Yu.V., Nepomnyashchikh L.M., Koldysheva E.V. *Bull. eksper. biol. – Bulletin of experimental biology and medicine*, 2005, no. 11, pp. 515–518.
9. Heymsfield S.B., Lohman T.G., Wang Z., Going S.B. Human body composition Champaign Human Kinetics, 2005. 533 p.
10. Ishikawa M., Hirose H., Sasaki E. et al. // J. Heart Lung Transplant, 1996, Vol. 15, no.10, pp. 1005–1011.
11. Johnson M.S., Nagy T.R. // Human body composition, 2nd ed. (Eds. S.B.Heymsfield, T.G. Lohman, Z.Wang, S.B. Going). Champaign, IL: Human Kinetics, 2005, pp. 141–150.

Рецензенты:

Волков А.М., д.м.н., заведующий лабораторией патоморфологии и электронной микроскопии, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, г. Новосибирск;

Меньщикова Е.Б., д.м.н., руководитель группы свободнорадикальных процессов, ФГБУ «Научный центр клинической и экспериментальной медицины» Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 31.05.2013.