

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

1. Райхбаум Е.А., Николаев Н.С. Способ определения порога возбуждения биологических объектов // Системные и клеточные механизмы регуляции физиологических функций. Межвузовский сборник. Иркутск, 1978. - С.136-141.
2. Николаев Н.С. Влияние температуры на пассивные электрические свойства мышечной ткани плотвы // Тез. докл. I конф. мол. ученых ИГУ. - Иркутск, 1983. - С.6.
3. Николаев Н.С., Багдасарьян И.В. Пассивные электрические свойства поперечнополосатых мышечных тканей большой голомянки // Тез. докл. II конф. молод. ученых ИГУ. - Иркутск, 1984. - С.25.
4. Николаев Н.С., Пликетт Ф. Исследование пассивных электрических свойств мышечных тканей рыб Сассейна озера Байкал // Исследование рыб Восточной Сибири. - Иркутск, 1987. - С.97-104.
5. Николаев Н.С., Дмитриева Т.М. Электрические свойства мышечной ткани рыб в условиях загрязненной водной среды // Тез. докл. XXIX Всесоюз. гидр. Сопещения. - Ростов-на-Дону, 1987. - С.98-99.
6. А.с. 1334936 СССР, МКМ³ & ОI N 27/00. Способ определения загрязненности тканей рыб токсическими и чужеродными веществами / Т.М.Дмитриева, Н.С.Николаев, (СССР), Ф.Пликетт (ГДР). - Зс.

Н.С. Николаев

Подписано к печати 12.09.90. Заказ 68. Объем 1.0. Формат 60x90.
Тираж 100 экз.

Подразделение оперативной полиграфии Иркутского государственного университета. 664003, Иркутск, Гагарина, 36

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО НАРОДНОМУ ОБРАЗОВАНИЮ
ИРКУТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

НИКОЛАЕВ НИКОЛАЙ СЕРГЕЕВИЧ

УДК 577.03.08

ИССЛЕДОВАНИЕ ЕМКОСТНЫХ СВОЙСТВ МЫШЕЧНОЙ
ТКАНИ ПРОМЫСЛОВЫХ РЫБ

03.00.13 - физиология человека и животных

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Иркутск - 1990

Диссертационная работа выполнена в лаборатории экологической физиологии НИИ Биологии Иркутского государственного университета (зав. лаб. - к.б.н., с.н.с. Дмитриева Т.М.).

Научный руководитель: д.б.н., профессор Ю.П.Козлов

Официальные оппоненты: д.б.н., профессор Н.С.Косицын
д.б.н., С.Н.Орлов

Ведущее учреждение - Институт эволюционной морфологии и экологии животных АН СССР.

Защита диссертации состоится "18" октября 1990 г. в 14 час.
_____ мин. на заседании специализированного Совета К 063.32.03

в Иркутском государственном университете,
Сухо-Батара, 5,

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке
университета.

Автореферат разослан _____

Ученый секретарь
кандидат биологических наук _____

Актуальность исследования. В настоящее время в электрофизиологических исследованиях используются методы, которые дают возможность при помощи точных физических измерений определять закономерности функционирования сложных биологических систем. Аналитическая модель суспензии клеток проанализирована и математически описана Р.Шваном (1963) (Schwan, 1957; Schwan, 1963; Stoy et al., 1982). Изучение электрических характеристик возбудимой биоткани (Чандхьян и Юрьев, 1957) и клеточной мембраны (Ходжкин, 1964) способных модифицироваться в зависимости от условий жизнедеятельности биобъекта предсказывают, что величина емкостного и омического сопротивления (импеданса) клеточной мембраны является важнейшим детерминантом и существенным коррелятом проявления барьерных функций тканевых структур. Результаты исследования барьерных свойств биотканей успешно используются в биологии (Pliquet, 1979, 1986; Дмитриева и др., 1982; Тарусов, 1938, 1941) и медицине (Шевалье, 1973, 1988; Вогралик и др., 1985; Портнов, 1987; Николаев и др., 1987), а также в пищевой промышленности (Pliquet et al., 1976; Свинцов и др., 1979) и фармакологии (Mertens et al., 1978; Lap et al., 1987; Костер, 1983). Тем не менее, в рыбной промышленности, этот метод еще не получил применения. Исследования с этих позиций импеданса мышечной ткани различных видов рыб представляется наиболее актуальным, т.к. позволяет осуществлять прижизненную диагностику физиологического состояния мышечной ткани, которая функционально активна, имеет однородную структурную организацию и составляет относительно большую долю от общей массы тела.

Более того, пойкилотерные свойства мышечной ткани рыб обеспечивают возможность выявления температурных зависимостей ее величины импеданса, что является одним из критериев определения физиологического состояния мышечной ткани.

№ 1005
Библиотека

Усиление антропогенного воздействия на водную среду приводит к нарастающему прессу токсических веществ на мышечную ткань, которая способна в десятки и сотни раз повышать в себе концентрацию токсиантов, что приводит к возникновению различных заболеваний, например, миопатий осетровых в Волго-Каспийском бассейне. Сложившаяся экологическая обстановка требует широкого изучения электрических характеристик тканей рыб, на базе точного количественного измерения физических параметров и взаимосвязи этих параметров с физико-биохимическими превращениями в этих тканях в процессе отмирания, развития патологического процесса, автолиза, бактериального разложения и т.д.

До настоящего времени в отечественной, зарубежной и патентной научной литературе нет описания подобных исследований, в которых были бы приведены сведения по изучению пассивных электрических характеристик (импеданса) тканей рыб и в то же время, для практического применения ощущается постоянная необходимость в информации такого рода. В целях восполнения этого пробела выполнена данная работа, которая посвящена развитию импедансометрии тканей рыб, что предусмотрено такими Государственными программами, как "Сибирь" и программа по АН СССР "Исследование состояния осетровых рыб".

Цель исследования: Целью настоящей работы явилось исследование пассивных электрических свойств (импеданса) мышечной ткани рыб при различных физиологических состояниях, а также при патологии.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи исследования:

1. Разработать прижизненный экспресс-метод измерения пассивных электрических свойств (импеданса) мышечных тканей рыб.
2. Изучить пассивные электрические свойства различных уча-

стков мышечной ткани рыб в нормальном функциональном состоянии.

3. Изучить популяционно-видовые особенности величины импеданса мышечной ткани ряда промысловых рыб.

4. Изучить влияние ряда физических и химических факторов, в том числе химических загрязнителей на пассивные электрические свойства мышечной ткани рыб.

5. Изучить пассивные электрические свойства мышечной ткани рыб при их посмертных изменениях.

6. Изучить пассивные электрические свойства мышечной ткани рыб (на примере осетровых), пораженных миопатией.

Практическое значение работы. Практическая ценность предлагаемой работы заключается в разработке объективного и чувствительного метода оценки качества, в том числе товарного, мышечной ткани рыб. Построены тест-кривые, характеризующие изменение барьерных функций мышечной ткани промысловых видов рыб в соответствии с изменением их качества на разных стадиях посмертной деструкции. Обоснована возможность экспресс-оценки качества мышечной ткани товарной рыбы в процессе хранения, а также степени токсического загрязнения рыбных продуктов питания. Предложены рекомендации по отбору производителей осетровых для рыбоводного производства и рыбоперерабатывающей промышленности на основе определения параметров электрического импеданса мышечной ткани.

Научная новизна. Впервые для мышечных тканей рыб разработан импульсный экспресс-метод прижизненной оценки величины импеданса, который позволил исследовать пассивные электрические свойства различных участков мышечной ткани, а также популяционно-видовые особенности величины импеданса ряда промысловых рыб. Высокая чувствительность разработанного метода позволяет оценить влияние ряда физико-химических факторов, в том числе химических загрязнителей на величину импеданса мышечной ткани в нормальном функ-

циональном состоянии и с процессе патогенеза, например, миопатии, а также в посмертных изменениях. Впервые установлена и прослежена в процессе посмертных изменений зависимость величины изучаемого параметра от температуры, условий существования вида, действия токсикантов. Результаты проведенных исследований в теоретическом плане расширяют современные представления о физиологических изменениях в мышечной ткани в процессе развития посмертных изменений при различных температурах. Использование импульсного электрического метода определения емкостного параметра импеданса мышечной ткани в качестве "Способа оценки степени загрязненности тканей рыбы токсическими и чужеродными веществами" признано изобретением за № 1334936.

Апробация работы. Основные положения работы были представлены на конференциях молодых ученых ИГУ (Иркутск, 1983, 1984), на Всесоюзном совместном семинаре комплексной экспедиции Академии наук СССР и Александровского рыболовного завода (1990).

Реализация результатов исследования. Импульсный метод исследования пассивных электрических свойств (импеданса) биологических тканей прошел производственные испытания в Иркутском рыбокомбинате на базе Братского рыбозавода и в объединении Севкасприбвод на базе Александровского осетрового рыболовного завода. Этот метод применен в научной работе Центральной научно-исследовательской лаборатории Иркутского медицинского института; в клинике Иркутской городской клинической больницы отделения акушерства и гинекологии.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 5 научных работ и получено авторское свидетельство на изобретение (№ 1334936).

Объем и структура работы: Диссертация изложена на 122 страницах, включает 10 таблиц, 22 рисунка и состоит из Введения, об-

зора литературы, описания материала и методики исследования, изложения и обсуждения результатов исследования, заключения, выводов и списка цитированных источников, содержащего 155 наименований.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования. Работа выполнена на промысловых видах рыб, обитающих в различных участках акватории оз. Байкал, Иркутского и Братского водохранилища: омуль (*Coregonus autumnalis migratorius G.*), черный хариус (*Thymallus arcticus baicalensis D.*), сиг (*Coregonus lavaretus baicalensis D.*), ленок (*Brachymystax lenor P.*), большая голомянка (*Commephorus baicalensis P.*), малая голомянка (*Commephorus dybowskii K.*), длиннокрылка (*Cottocomephorus inermis J.*), налим (*Lota lota L.*), плотва (*Rutilus rutilus L.*), окунь (*Perca fluviatilis L.*), щука (*Esox lucius L.*), язь (*Leuciscus idus (Linne)*) и в реке Волге: русский осетр (*Acipenser güldenstädti B.*). Количество рыб, использованных в эксперименте с 1981 г. по 1990 г., составило: омуль - 162 экз., хариус - 141 экз., сиг - 36 экз., ленок - 48 экз., большая голомянка - 67 экз., малая голомянка - 21 экз., длиннокрылка - 51 экз., налим - 63 экз., плотва - 183 экз., окунь - 123 экз., щука - 57 экз., язь - 13 экз., осетр - 39 экз. Рыб отлавливали сетями, производителей осетровых исследовали на базе Александровского осетрового рыболовного завода (АОРЗ) после взятия у них половых продуктов для рыболовного производства.

Подготовка экспериментального материала и схема проведения экспериментов. Живых рыб, выбранных из сетей, помещали в контейнеры с водой для транспортировки. Из общего количества живых рыб брали экземпляры одного вида, одинаковые по величине и массе для двух групп, одна из которых была контрольной. Прижизненное изучение импеданса мышечной ткани рыб проводили на живых, активно двигающихся экземплярах, которых маркировали и каждый, на протяжении

всего эксперимента, измеряли под своим номером. Для определения воздействия загрязняющих веществ на состояние мышечной ткани рыб в качестве последних использовали сточные воды Байкальского целлюлозно-бумажного комбината на конечном этапе их очистки. В качестве токсиканта использовали также водные растворы хлористого кадмия.

Особенности работы с объектом исследования в процессе его посмертных изменений. Для изучения влияния посмертных изменений в мышечной ткани рыб на величину импеданса этой ткани проводили серию прижизненных измерений, затем разрушали ЦНС на уровне продолговатого мозга и следили за изменением величины импеданса в процессе посмертных изменений. Измерения импеданса в посмертный период проводили через следующие интервалы времени: в течение первого часа - каждые 15 мин, в последующие 8 часов - через 1 час, в последующие двое суток - через каждые два часа.

Импульсный метод исследования импеданса биологических тканей.

Для исследования пассивных электрических свойств (импеданса) мышечной ткани рыб были использованы следующие приборы: генератор прямоугольных импульсов (Pliquet, 1979. ГДР), биполярные электроды (индивидуального изготовления), измерительное сопротивление ВС-0,25 (резистор точно известной величины), электронно-лучевой осциллограф типа ВМ-463 (ЧСФР, "Тесла"), (С 1-73). Блок-схема экспериментальной установки представлена на рис. 1.

Измерительные электроды были изготовлены из нержавеющей стали для хирургических инструментов, имеющей низкий потенциал поляризации в живых тканях и высокую механическую прочность и твердость. Электроды вводили до упора перпендикулярно к поверхности тела и следили, чтобы между электродами и исследуемой тканью не попадали чешуя, кости, засохшая слизь от предыдущих измерений, а также не оказались анатомические неоднородности типа крупных

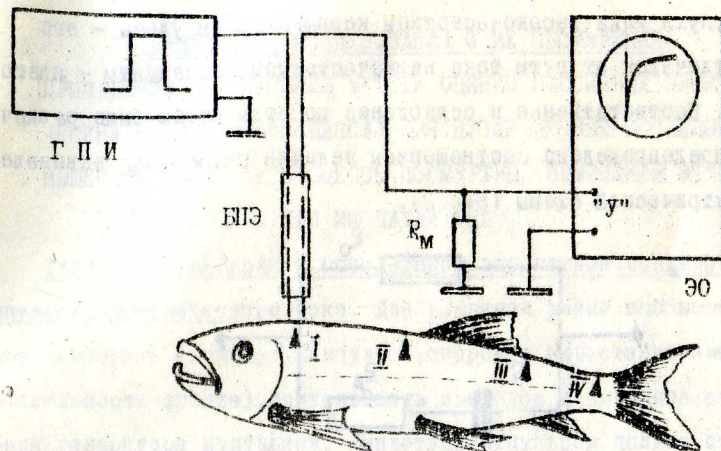


Рис. 1. Блок-схема экспериментальной установки.

- I-II-III-IV - стандартные участки измерения импеданса на теле рыбы.
- ГПИ - генератор прямоугольных импульсов с выходным сопротивлением $R_{ГПИ} = 0,1 \text{ Ом}$.
- БПЭ - биполярные игольчатые электроды, изготовлены соразмерно массе исследуемого вида рыбы.
- R_M - измерительное сопротивление ВС-0,25; точное значение номинала - $220 \pm 1\% \text{ Ом}$.
- ЭО - электронно-лучевой осциллограф типа ВМ-463 ("Тесла") или С 1-73.

кровеносных сосудов, жировых элементов, костей и т.п. Экспериментально установлено, что необходимо соразмерять размер электродов с размерами объектов измерения. Так, при исследовании белых мышечных тканей осетровых и бычковых рыб целесообразно применять два типа размеров электродов, т.к. рыбы отличаются по массе в тысячу раз. Непременным условием должно быть соотношение размеров величины отдельной клетки и расстояния между электродами, которое должно быть "бесконечно" больше среднего размера клеток измеряемой ткани.

В процессе измерения через биологическую ткань пропускали стандартные импульсы электрического тока прямоугольной формы.

При этом, путь тока высокочастотной компоненты импульса - его фронт, отличался от пути тока низкочастотной компоненты - плато импульса. Соответственно и ослабление по этим путям было различным, что предопределено соотношением величин C , R_0 , R_B эквивалентной электрической схемы (рис.2).

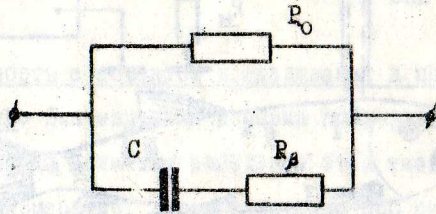


Рис.2. Эквивалентная электрическая схема биологической ткани.

R_0 - сопротивление внеклеточного пространства объема ткани, находящегося между электродами (зависит в основном от удельной электропроводности внеклеточной среды);

R_B - внутриклеточное сопротивление для той части тока, которая проходит через мембраны и клетки;

C - электрическая емкость биоткани, находящейся между электродами.

Обе компоненты электрического тока, проходя по измерительному сопротивлению R_M , создают на нем падение напряжения (деформированный прямоугольный импульс), форма и амплитуда которого отражают пассивные электрические свойства биоткани. На экране осциллографа наблюдали измеряемую величину деформации исходного прямоугольного импульса, благодаря чему было возможно по раздельности оценить элементы эквивалентной схемы C и R_0 , которые характеризуют емкостную и омическую компоненты импеданса биоткани. Таким образом, для оценки импеданса биоткани необходимо измерить два параметра деформированного импульса с экрана осциллографа, при условии, что все остальные параметры не изменяются в течение эксперимента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ПРИМЕНЕНИЕ ИМПУЛЬСНОГО МЕТОДА ОЦЕНКИ ПАСИВНЫХ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СВОЙСТВ (ИМПЕДАНСА) ДЛЯ ПРИЖИЗНЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ, В ПРОЦЕССЕ ПОСМЕРТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭТИХ ТКАНЕЙ И ПРИ МИОПАТИИ РЫБ

Физические подходы к определению параметров зондирующего импульса электрического тока. Для мышечной ткани рыб необходимо было подобрать амплитуду импульса, скорость нарастания амплитуды (длительность фронта), длительность импульса и выходное сопротивление генератора импульсов. Амплитуда импульсов должна отвечать требованиям "линейности" измерений, чтобы выполнялся закон Ома с учетом физиологических особенностей биообъекта. Скорость нарастания амплитуды должна быть высокой, чтобы импульс отвечал требованиям "ступенчатого воздействия", а отклик системы (мышечной ткани) характеризовался постоянной времени τ . Для повышения информативности длительность импульса должна удовлетворять неравенству $T > \tau$, где T - длительность зондирующего импульса. Для мышечной ткани рыб, как показали собственные измерения, достаточно, чтобы длительность импульса соответствовала $100 \cdot 10^{-6}$ сек. В нашей работе был использован генератор, обеспечивающий длительность фронта импульса порядка $(0,02-0,03) \cdot 10^{-6}$ с, что заведомо соответствует "ступенчатому воздействию". Внутреннее сопротивление генератора R_i должно удовлетворять неравенству $R_i \ll R_M$, в этом случае, влиянием этой величины на результат можно пренебречь. В реальной схеме экспериментальной установки этот параметр составлял $R_i = 0,1$ Ом. Остальные параметры эквивалентной схемы для контроля и настройки аппаратуры были следующие: $R_B = 100$ Ом, $C = 22000$ пф, $R_0 = 20 \cdot 10^3$ Ом. Номинальное значение $R_M = 220 \pm 1\%$ Ом. Для выполнения экспериментов использовано 7 типов биполярных игольчатых электродов (ИЭ) различных размеров (в см):

	длина	расстояние между электродами	диаметр
БПЭ (№ 1)	6	8	1,0
БПЭ (№ 2)	30	15	1,7
БПЭ (№ 3)	5	5	0,5

Физиологические особенности живой мышечной ткани как объекта измерения. Живая мышечная ткань рыб может переходить в возбужденное состояние (закон "все или ничего") под действием протекающего через нее электрического тока. Чтобы исключить это явление, сдвиг мембранного потенциала отдельной клетки не должен превышать 10-20 %. Из практики электростимуляции известно, что пороговая напряженность электрического поля для мышечной ткани составляет 10 В/см. Для надежности, снизив эту величину в 5 раз, можно утверждать, что амплитуда зондирующих импульсов 1-2 В/см будет с запасом удовлетворять требованию "линейности". Наши экспериментальные данные показывают, что амплитуда импульса 1,4 В (при расстоянии между электродами 8 мм и диаметре электродов 1 мм) вполне достаточна, чтобы получить на экране осциллографа кривую деформированного импульса при "линейном" воздействии на ткань электрическим током.

Контроль аппаратурных и экспериментальных погрешностей. Измерения с экрана осциллографа требуют применения приборов с точностью измерения вертикального отклонения не хуже на уровне 3-5 %. Нами был использован осциллограф БМ-463 (ЧСФР, "Тесла") с диаметром экрана 10 см, а также приборы отечественного производства: С1-55, С1-68, С1-73. При считывании показаний с экрана следует исключать ошибку на параллакс. Перед началом измерения необходимо проверить, чтобы результаты были получены в одном масштабе, одними электродами. Необходимо откорректировать начало ("ноль") шкалы измерения. Переключателем рода работ в положение "Проверка" к электродам подключается эквивалентная электрическая цепь, а на

экране регистрируют при этом эталонную калибровочную кривую, размер которой устанавливается порядка 90 % от площади экрана. Возвратив переключатель рода работ в положение "Измерение", приступают к работе. При этом, в любой момент можно подключить эквивалентную схему, получить на экране калибровочную кривую и подстроить при необходимости начало ("ноль") шкалы измерений, сместившейся под действием дестабилизирующих факторов.

ПРИМЕНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ИМПЕДАНСА МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЫБ.

Задачей данной серии исследований явилось сравнительное изучение величины импеданса мышечной ткани у промысловых видов рыб, занимающих различные экологические ниши в озере Байгал. В первой серии экспериментов было изучено распределение величины импеданса по длине тела рыбы. На теле рыб были определены стандартные участки для измерений, расположенные в дорсально-латеральной области: первый - в месте перехода головы в тело со стороны спины, второй - на 1 см перед спинным плавником, третий - на 1 см позади спинного плавника, четвертый - на 1 см перед хвостовым плавником. В данной серии экспериментов исследования проводили на следующих видах рыб: хариус, ленок, язь, щука, плотва и русский осетр. Для первых пяти видов рыб Иркутского водохранилища были применены электроды № 3, для русского осетра, обитающего в Волге - электроды типа № 1 и № 2. Сравнение полученных данных позволяет выделить две группы рыб: 1 - плотва и язь, у которых изменение величины импеданса в указанных участках максимально, а для остальных видов рыб - 2 группа - ленок, хариус, щука, русский осетр, изменение величины импеданса незначительно. Известно, что рыбы первой группы приспособлены к малоподвижному образу жизни, а вторая группа видов рыб способна к быстрому и длительному передвижению. Таким образом, мышечная ткань живой рыбы имеет характерные различия величины импеданса в зависимости от расположения

точки измерения на теле рыбы. Степень этих различий вероятно связана как с экологией различных видов рыб, так и различной концентрацией белка в исследованных участках мышечной ткани рыб. В следующей серии экспериментов исследовано различие величины импеданса мышечной ткани в одной и той же точке (№ 1), где обнаружены наибольшие значения измеряемого параметра в зависимости от вида рыбы. Эксперименты выполнены на 10 видах рыб с использованием электродов № 1. Полученные результаты показали, что величина импеданса у всех изученных нами видов рыб различна (табл. I).

Таблица I

Значение величины импеданса в точке I у разных видов рыб

Байкало-Ангарского бассейна

Вид рыбы	Величина импеданса (M ± m, усл.ед.)	Количество рыб
1. Б. голомянка	28,7 ± 0,62	26
2. Длиннокрылка	3,6 ± 0,25	20
3. Омуль	71,6 ± 1,4	36
4. Хариус	67,8 ± 3,15	42
5. Сиг	64,3 ± 1,6	6
6. Ленок	53,3 ± 1,5	24
7. Налим	57,9 ± 1,77	10
8. Плотва	73,1 ± 1,74	50
9. Окунь	69,2 ± 0,7	11
10. Щукa	65,7 ± 1,16	13

Наименшие значения величины импеданса, зарегистрированные у большой голомянки, возможно обусловлены биохимическими свойствами её мышечной ткани, в биохимическом составе липидов которой присутствует большое количество ненасыщенных жирных кислот (Швен и др., 1986, 1987). Различия величины импеданса у других видов рыб могут быть обусловлены особенностями в питании, а также усло-

виями занимаемой ими экологической ниши.

Влияние популяционно-видовых особенностей мышечных тканей

некоторых видов промысловых рыб на величину импеданса этих тканей. Для выяснения, насколько изменяется величина импеданса в зависимости от свойств мышечной ткани рыб, измерения проводили в различных участках тела половозрелых особей русского осетра, обитающего в различных ареалах акватории Каспийского моря. Измерения в этой области позволили получить информацию о состоянии глубоко залегающих слоев белых мышц, недоступных при измерениях через кожу, а также учесть ошибку измерения величины импеданса белых мышц при введении электродов № 2 через кожу, обусловленную прохождением через слой красных мышц и кожи. Вторая область - поверхность тела в ростральной части туловища на расстоянии не менее 10 см от краев жаберных крышек в промежутке между спинным и боковым рядами жучек. Третья область - то же, в средней части тела. Четвертая область - то же в хвостовой части тела, начиная от переднего края спинного плавника. Результаты показывают, что наибольшая величина импеданса наблюдается в области 1, т.е. при измерении из внутренней поверхности брюшины. У самцов, в отличие от самок, достоверно повышенное значение импеданса обнаружено в области 2 по сравнению с областью 3 и 4. При измерении электродами № 2 у самок, максимальная величина импеданса обнаружена в области 1, а минимальная - в области 4, тогда как у самок достоверность различий между результатами измерений в областях 2-3-4 не выявлено. Вероятно, это связано с более крупными размерами самок, а также с наличием жировых прослоек, в частности, на внутренней поверхности брюшной полости. Следующая серия экспериментов выполнена с целью проверки этого предположения. Для того, чтобы исследовать корреляцию величины импеданса красных и белых мышц осетра с размером особей, который в известной степени отражает их возраст, все

исследованные нами рыбы были разнесены на 6 размерных групп. В первые три группы (длина до ко на хвостового плавника от начала рострума) не более 125 см, от 126 до 130 см, и 131 до 140 см) попали исключительно самцы а в следующие три размерные группы (от 141 до 155 см, от 156 до 165 см и от 166 до 181 см) исключительно самки. По результатам экспериментов видно, что самцы двух первых размерных групп при измерении электродами № 2 достоверно не различаются по значению величины импеданса во всех исследованных областях тела. Самки, как правило, отличались от наиболее мелких самцов по значению импеданса измеренному двумя типами электродов № 1 и № 2, однако прямой корреляции значений величины импеданса с размером рыб этого пола выявить не удалось. Разделение исследуемых рыб на худых, средней упитанности и упитанных и исследование величины импеданса в зависимости от содержания жира в мышечной ткани показало, что при измерении электродом № 2 у упитанных рыб в средней и хвостовой части тела обнаружены повышенные значения величины импеданса. Возможно, это связано с более лучшим физиологическим состоянием мышечной ткани или с повышенным содержанием холестерина в структуре биомембран мышечной ткани упитанных рыб.

Влияние среды обитания на значения величины импеданса живой мышечной ткани рыб. Для изучения этого вопроса, исследовали одни и те же виды рыб, обитающие в различных участках акватории Байкало-Ангарского бассейна, кот рыб отличаются по своим биотическим и абиотическим параметрам. Эксперименты проводили на 4-х видах рыб: омуль, хариус, плотва и окунь, причем две последних вида взяли из двух ареалов: Чивыркуйский залив и Братское водохранилище. Результаты измерений показали, что наибольшее значение величины импеданса зарегистрировано у омуля, отловленного в районе Селенгинского мелководья, а наименьшая у омуля, выловленного в Чивыр-

куйском заливе. Для остальных районов акватории (Малое Море, район мыса Большая Коса, бухта Богучанская) величины импеданса различались незначительно. Для мышечной ткани хариуса наибольшее значение импеданса отмечено у рыб, выловленных в районе Селенгинского мелководья (пос. Посольск), а наименьшая - у хариусов, отловленных в Чивыркуйском заливе. По остальным участкам акватории озера Байкал (бухта Богучанская, Малое Море, мыс Большая Коса, устье реки Томпа) различия измеряемой величины незначительны. Для окуня и плотвы, обитающих в озере Байкал, величина импеданса мышечной ткани практически одинакова - $63,6 \pm 1,33$ и $62,5 \pm 1,5$ усл. ед. Таким образом, количественная характеристика импеданса мышечной ткани рыб зависит от условий местобитания одного и того же вида рыб, причем, все обнаруженные вариации величины импеданса могут быть связаны с биотическими и абиотическими факторами занимаемой данным видом экологической ниши.

Влияние температуры на пассивные электрические свойства мышечной ткани рыб. В данном разделе работы была исследована зависимость величины импеданса живой мышечной ткани рыб от температуры среды их обитания (от 0-1 °C до 26 °C) через 4-5 °C и последующим обратным снижением до исходного значения. Измерения проводили стандартном участке № 1. Нами обнаружена прямо пропорциональная зависимость величины импеданса от температуры, т.е. с повышением последней, величина импеданса увеличивается, а при снижении температуры до исходного уровня имеет место полная обратимость величины импеданса. В количественном отношении эта зависимость составляет 1 % на 1 °C. Таким образом, количественное значение температурного коэффициента величины импеданса мышечной ткани рыб, находящихся в нормальном физиологическом состоянии, равно 1 % на 1 °C находится в соответствии с термодинамическим влиянием температуры среды обитания рыб на ход физико-химических про-

№ 121
Библиотека

цессов в мышечной тканях и может быть обусловлен приспособлением организма к условиям конкретной экологической ниши.

ПАССИВНЫЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЫШЕЧНЫХ ТКАНЕЙ ПРИ ИХ ПОСМЕРТНЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ.

Известно, что развитие посмертных изменений в мышечной ткани рыб характеризуется последовательным наступлением характерных периодов: живая рыба, посмертное окоченение, разрыхление посмертного окоченения, автолиз, бактериальное разложение. Промежутки времени между измерениями выбраны нами в соответствии со скоростью наступления характерных периодов (см. методика), но у таких рыб, как большая голомянка, наступление автолиза начинается значительно позже двух суток. В этой связи, измерения были продолжены до семи суток через каждые 4-6 часов. Исследование посмертных изменений проведено на 9 видах рыб: большая голомянка, бычок-длиннокрылка, омуль, хариус, сит, ленок, налим, плотва, окунь. Динамика посмертных изменений импеданса состояла из трех периодов: в первые часы после смерти, величина импеданса оставалась практически постоянной (фаза плато), второй период - быстрое снижение измеряемого показателя до уровня, соизмеримого с импедансом бесструктурного электропроводного раствора, третий период - незначительное снижение величины импеданса. Сравнительные данные по динамике измерений величины импеданса показывают, что приближенные величины измеряемого параметра зависят от вида рыб, а в ходе посмертных изменений наибольшая продолжительность и поддержания нативного состояния бесструктур мышечной ткани (фаза плато) отмечена для глубоководных рыб: большая голомянка и длиннокрылый бычок, наименьшая - для ленка и хариуса.

Динамика изменений величины импеданса мышечной ткани в условиях посмертных изменений при различных температурах. Исследования этой серии экспериментов выполнены на промысловых частико-

вых рыбах - плотва, окунь, с целью выяснения влияния температуры хранения рыбы на ход посмертных изменений в ее тканях. Первая серия экспериментов заключалась в исследовании величины импеданса при хранении рыбы при температуре 1-2°C, вторая - при температуре хранения 14-16°C и третья - при 20-22°C. Анализ результатов показал, что наибольшей глубины деградации мышечной ткани достигает при температуре хранения 20-22°C. Развитие посмертных изменений при температуре 1-2°C, по-видимому, тормозится, в результате чего динамика величины импеданса не имеет четко выраженной фазы быстрого снижения величины импеданса, а полого уменьшается по окончании фазы плато.

Зависимость динамики величины импеданса мышечной ткани рыб при посмертных изменениях от среды обитания. Данное исследование выполнено с целью изучения влияния среды обитания на динамику посмертных изменений импеданса мышечной ткани рыбы. Исследования проведены на рыбах одного и того же вида, обитающих в различных участках акватории озера Байкал. Показано, что количественная характеристика посмертных изменений величины импеданса мышечной ткани рыб имеет не только видовые особенности, но и меняется в зависимости от условий местообитания у одного и того же вида рыб. Для глубоководных обитателей озера Байкал (большая и малая голомянка, длиннокрылый бычок) обнаружена большая продолжительность сохранения бесструктур мышечной ткани, которая в 2-3 раза превышала этот параметр у обитателей мелководья (плотва, щука). Для рыб, адаптированных к аквариальным условиям и свежестловленных характерно существенное различие хода посмертных изменений. У адаптированных рыб практически не наблюдается периода поддержания исходной величины импеданса на исходном уровне, а монотонно снижается в процессе хранения. Установленная нами зависимость влияния адаптации к аквариальным условиям служила в дальнейшем

контролем при изучении действия загрязняющих веществ на величину импеданса.

Зависимость динамики импеданса мышечной ткани рыб от степени антропогенного загрязнения водной среды. Было изучено влияние сточных вод предприятий ЦБП и их основных составляющих: фенолов и ионов тяжелых металлов на импеданс мышечной ткани рыб. Было установлено, что длительная экспозиция рыб в растворах сточных вод в разведении 1:20 (в течение трех суток) и неразбавленных сточных водах (в течение суток) приводит к снижению начальной величины импеданса живой мышечной ткани рыб. Так, у хариусов из контрольной группы (чистая вода) начальная величина импеданса составляла $72,2 \pm 0,3$ усл. ед., в то время как у рыб находящихся в растворах разбавленных и неразбавленных сточных вод этот параметр составляет $65,3 \pm 0,2$ и $66,5 \pm 0,3$ усл. ед. соответственно, что свидетельствует о снижении барьерных свойств живой мышечной ткани у опытных групп рыб. Исследование действия фенольной составляющей сточных вод на величину импеданса мышечной ткани проведено на плотве, хариусе и омуле. Установлено, что смесь гваякола и резорцина (4:1) в концентрации от 10^{-4} М до 10^{-5} М приводит к снижению исходной величины импеданса живой мышечной ткани и сокращает время поддержания барьерных свойств биоструктур мышечных тканей. Аналогичные результаты получены при изучении действия хлористого кадмия в концентрациях 10^{-4} М - 10^{-5} М. Эксперименты выполнены на плотве, омуле, хариусе. Установлено, что наибольшие изменения пассивных электрических свойств наблюдаются в мышечной ткани омуля, исходная величина которого после пребывания в растворах фенолов и солей тяжелых металлов снижается на 25 % по сравнению с нормой. Последующая фаза плато у опытной группы рыб практически отсутствует. У остальных видов рыб характер изменения динамики аналогичен таковому у омуля, хотя в количественном отношении эти измене-

ния менее выражены. Таким образом, полученные данные говорят о том, что растворы фенолов и солей тяжелых металлов влияют на пассивные электрические свойства мышечных тканей, приводя к ускорению развития посмертных изменений этого показателя.

Пассивные электрические свойства мышечной ткани при миопатии осетровых рыб. Данное исследование выполнено с целью выявления пораженных миопатией особей и локализации участков мышечной ткани с различной степенью развития миопатии. Измерения выполнены с короткими (электрод № 1, длина - 6 мм) и длинными (электрод № 2, длина 30 мм) электродами соответственно красных и белых мышц. Обнаружено, что величина импеданса как красных, так и белых мышц последовательно убывает с увеличением степени поражения тканей. У пораженных миопатией самок разница между величинами импеданса в симметричных точках тела по разные стороны спинной линии жучек максимальна и составляет около 17 %, тогда как у самок и относительно здоровых самок эти значения существенно ниже. Среди асимметричных (по величине импеданса) рыб оказались все 100 % рыб пораженных миопатией. Красные мышцы во второй стадии поражения имели величину импеданса на 23,6 % ниже, чем в норме, а на третьей стадии на 42,7 % ниже. Для белых мышц эти величины составляли соответственно 23,9 % - 2 стадия и 39,0 % - 3 стадия.

Таким образом, при развитии миопатии у осетровых рыб величина импеданса как красной, так и белой мышечной ткани снижается. В прижизненной диагностике это может быть обнаружено путем измерения импеданса в различных участках тела как красной, так и белой мышечной ткани, а также путем определения степени асимметрии измеряемого параметра в симметрично расположенных точках тела.

ВЫВОДЫ

1. Разработан модифицированный вариант экспресс-метода прижизненной структурно-функциональной диагностики состояния мышечной ткани рыб на основе измерения пассивных электрических свойств (импеданса) биоструктур живых клеток.

2. Показано, что емкостное сопротивление интактной мышечной ткани рыб определяется как популяционно-видовыми особенностями, структурно-функциональной организацией ткани, так и локально распределенным соотношением в ней жировых и соединительно-тканых элементов. Так, у глубоководных рыб приближенные значения импеданса ниже, чем у пелагических, однако посмертные изменения этого показателя происходят медленнее; у малоподвижных видов вариабельность импеданса мышц по длине тела выше, чем у подвижных.

3. Емкостное сопротивление мышечной ткани рыб однонаправленно снижается при нарушении ее функционального состояния, повреждении, деструкции ткани в посмертный период, что может быть использовано в качестве прямого количественного показателя интенсивности соответствующих изменений.

4. Величина электрического импеданса мышц живых рыб линейно зависит от температуры воды в физиологическом диапазоне и увеличивается в целом на 1 % при повышении температуры на 1°C. Зависимость кинетики посмертных изменений импеданса мышечной ткани от температуры носит нелинейный характер.

5. Изменение показателей емкостного сопротивления мышечной ткани и прогрессирующего их снижения в процессе деструкции самой ткани (в посмертных условиях) может служить адекватной оценкой качества товарной рыбы. Динамика посмертных изменений импеданса мышечной ткани имеет фазу плато, период быстрого снижения и медленных изменений, причем, длительность каждого периода сокращается

у рыб адаптированных к аквариальным условиям по сравнению с рыбами сразу после их вылова.

6. Очищенные промышленные сточные воды предприятий целлюлозно-бумажной промышленности в модельных экспериментах вызывает снижение импеданса мышечной ткани живых рыб. Фенольная фракция сточных вод и водный раствор хлористого кадмия в концентрации 10^{-4} - 10^{-5} M, снижая исходную величину импеданса на 20-30 %, ускоряя развитие посмертных изменений этого показателя.

7. При развитии миопатии у осетровых рыб существенно снижаются пассивные электрические свойства (импеданс) как у красной, так и белой мышечной ткани. Предложенный метод оценки устойчивости биоструктур (по величине емкостного сопротивления) позволяет прижизненно диагностировать данное заболевание осетровых без рассечения мышечной массы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

1. Райхбаум Е.Я., Николаев Н.С. Способ определения порога возбуждения биологических объектов // Системные и клеточные механизмы регуляции физиологических функций. Межвузовский сборник. Иркутск, 1978. - С.136-141.
2. Николаев Н.С. Влияние температуры на пассивные электрические свойства мышечной ткани плотвы // Тез. докл. I конф. мол. ученых ИГУ. - Иркутск, 1983. - С.6.
3. Николаев Н.С., Багдасарьян И.В. Пассивные электрические свойства поперечнополосатых мышечных тканей большой голомянки // Тез. докл. II конф. молод. ученых ИГУ. - Иркутск, 1984. - С.25.
4. Николаев Н.С., Пликетт Ф. Исследование пассивных электрических свойств мышечных тканей рыб Сассейна озера Байкал // Исследование рыб Восточной Сибири. - Иркутск, 1987. - С.97-104.
5. Николаев Н.С., Дмитриева Т.М. Электрические свойства мышечной ткани рыб в условиях загрязненной водной среды // Тез. докл. XXIX Всесоюз. гидрох. Собрания. - Ростов-на-Дону, 1987. - С.98-99.
6. А.с. 1334936 СССР, МКИ³ & ОI N 27/00. Способ определения загрязненности тканей рыб токсическими и чужеродными веществами / Т.М.Дмитриева, Н.С.Николаев, (СССР), Ф.Пликетт (ГДР). - Зс.

Н.С. Николаев

Подписано к печати 12.09.90. Заказ 68. Объем 1.0. Формат 60x90.
Тираж 100 экз.

Подразделение оперативной полиграфии Иркутского государственного университета. 664003, Иркутск, Гагарина, 36