



В. В. Бойко, П. Н. Замятин,
В. И. Жуков, П. Ф. Шапов,
В. П. Невзоров

ГУ «Институт общей
и неотложной хирургии НАМН
Украины», Харьков

Национальный технический
университет «Харьковский
политехнический институт»

© Коллектив авторов

ИЗМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ ПРИ МЕХАНИЧЕСКИХ ФАКТОРНЫХ ВЛИЯНИЯХ

Резюме. Представлены результаты измерительного эксперимента по исследованию изменений емкости мембран клеток крови и электропроводности ионной среды при звуковых и вибрационных воздействиях на образцы клеток крови. Доказано появление эффекта значительного уменьшения диэлектрической постоянной мембранных компонентов клеток крови, что указывает на их дополнительную поляризацию при механических воздействиях.

Ключевые слова: клеточные мембраны биологических тканей, механические факторные влияния, электрические параметры.

Введение

Многочисленные исследования электрических свойств клеточных мембран биологических тканей ограничивались до настоящего времени экспериментами, в которых воздействие на живые клетки осуществлялось в форме электрического либо химического возбуждения мембран. Экспериментальные исследования электрических процессов в клеточных мембранах биологических тканей при механических воздействиях последних — не проводились. Учитывая, что величина мембранного электрического потенциала клетки полностью определяется диэлектрическими свойствами билипидного слоя мембраны, жидкокристаллическая структура которого не может не порождать электромеханические эффекты, следует отметить важность и актуальность исследования таких эффектов при механических воздействиях на живые клетки.

В предыдущих сообщениях нами установлено, что патологические процессы в клетках сопровождаются деформациями как клеточных, так и внутриклеточных мембранных структур.

Изучение ультраструктурной организации субклеточных структур показало, что ограниченные элементарной мембранной органеллы должны приобретать под действием сил поверхностного натяжения в основном сферическую форму. Вместе с тем, существует понятие цитоскелета, т.е. структур, поддерживающих форму, характерную для данного типа клеток. Несмотря на наличие сил поверхностного натяжения, стремящихся придать внутриклеточным органеллам сферическую форму, можно привести множество примеров, когда субклеточные структуры не сохраняют правильную форму. Нами установлено, что различные патологические состояния сопровождаются деформациями внутриклеточных мембран, что

позволяет предположить существование сил, превосходящих по величине силы поверхностного натяжения [1].

Существующие методы электрохимических измерений, применяемых для исследования электрических характеристик биологических микрообъектов (бактерии, клетки, внутриклеточные мембраны и т.п.), эффективны если объект измерения достаточно статичен [3, 7-11] и обеспечены сложные технические требования и условия калибровки первичных электрохимических преобразователей [4-6].

Такие измерения удобны и дают неплохие результаты, если биологический материал подвергают факторным воздействиям, создающим эффект длительного последствия (например, электрическое или химическое возбуждение клеточных структур) [2, 6]. Для динамических факторных воздействий традиционные электрохимические методы измерения непригодны.

Следует отметить, что наряду с прямыми электрохимическими измерениями используют и не прямые спектрофотометрические [3], резонансные высокочастотные [4, 5] методы измерений, однако метрологическое обеспечение подобных измерительных экспериментов оставляют желать лучшего.

Цель работы — показать возможности метрологически обоснованного метода не прямых дифференциальных низкочастотных измерений емкости и проводимости биологических тканей с выделением электрических параметров, характеризующих клеточный уровень объекта исследования, когда последний подвергается механическим воздействиям.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследований использовались образцы крови, объемом 1,5-6,0 мл, которые с точки зрения электрических свойств

рассматривались как комплексная трехуровневая макроструктура, электрическая проводимость которой на 70 % определяется присутствующими в плазме крови солями, например, хлоридом натрия (первый уровень), на 25 % – белками плазмы (второй уровень) и на 5 % – клетками крови (третий уровень). Последний уровень, в отличие от двух первых, включает диэлектрическую (емкостную) составляющую, изменение характеристик которой несет информацию о механических факторных воздействиях на мембраны клеток крови. Стопки зрения электрических свойств образцов клеток крови, как биологическая макроструктура, рассматривался в виде параллельной цепи из емкости «С» и резистора (сопротивления) «R». Такая эквивалентная электрическая цепь широко применяется для описания моделей биологических объектов, вплоть до клеточного уровня [6], поскольку характеризует электрические свойства конденсатора с большими потерями активной мощности в его диэлектрике. При переменном токе ухудшение диэлектрических свойств диэлектрика такого конденсатора приводит к уменьшению угла сдвига, между вектором приложенного к конденсатору напряжения и вектором тока, протекающим через диэлектрик.

Интересной особенностью такой модели является то, что ее диэлектрические (изоляционные) свойства определяются в большей степени третьим, клеточным, фактически мембранным уровнем модели, а ионная проводимость только первым и вторым уровнями.

Для измерения емкости «С» и активного сопротивления «R» образца крови использовался мост переменного тока на частоте $f=1$ кГц. Такой мост реализует метод сравнения с образцовыми емкостью C_N и сопротивлением R_N и позволяет дополнительно измерять тангенс угла диэлектрических потерь

$$tg\delta = \frac{1}{\omega RC} \quad (1)$$

где $\omega=2\pi f$ – угловая частота напряжения на образце ($\omega = 6280$ рад/сек).

Подключение образца с клетками крови осуществлялось калиброванными проводами, соединяющими титановые пластины плоского конденсатора, между которыми находилась исследуемая кровь. Клетки крови выполняли функции диэлектрика. Площадь S пластин такого конденсатора и расстояние d между ними обеспечивали объем V крови, равный 6 см^3 .

Поскольку емкость конденсатора с плоскими пластинами равна

$$C = \frac{\epsilon_0 \cdot \epsilon \cdot S}{d}, \quad (2)$$

где: ϵ_0 – электрическая постоянная ($\epsilon_0 = \text{const}$)

ϵ – относительная диэлектрическая проницаемость диэлектрика

$$S = \text{const}, d = \text{const},$$

то любое изменение ϵ линейно связано с изменением емкости «С».

При факторном воздействии на образец измерение мостом переменного тока емкости C и ее относительного изменения γ_c под влиянием используемого в эксперименте фактора дает возможность определения относительного изменения γ_ϵ диэлектрической проницаемости, причем

$$\gamma_c = \gamma_\epsilon = \frac{\Delta c}{c} \cdot 100\%, \quad (3)$$

где Δc – абсолютная величина изменения емкости образца под воздействием влияющего фактора.

Результаты исследований их обсуждение

В ходе эксперимента проводились многократные измерения начальных емкости (C_0) и сопротивления (R_0) образца с кровью (до воздействия фактора «звуковое давление») и конечных C_k и R_k через 10 секунд после звукового воздействия. Интенсивность звукового давления составляла не менее 10^{-4} Вт/м². Диапазон звуковых частот (950×1050) Гц.

В табл. представлены усредненные результаты измерения цифровым мостом переменного тока, емкости и активного сопротивления образца с кровью. Здесь же приведены значения относительных изменений γ_ϵ и γ_r соответственно диэлектрической проницаемости и сопротивления образца с кровью после звукового воздействия на образец, которое подавалось периодически, с интервалом 30 сек. Моменты времени подачи звука обозначены по строкам, как t_1, \dots, t_5 .

Таблица

Изменения электрических параметров клеток крови под воздействием физических факторов

Момент времени звукового воздействия	Электрические параметры			Емкость, пФ			Сопротивление, Ом			Относительное изменение, %	
	C_0	C_k	ДС	R_0	R_k	DR	γ_ϵ	γ_r			
t_1	48,2	47,3	-0,9	336,7	336,02	-0,68	-1,87	-0,202			
t_2	46,7	45,8	-0,9	335,57	335,35	-0,22	-1,93	-0,066			
t_3	42,4	42,0	-0,4	326,69	326,05	-0,64	-0,94	-0,196			
t_4	41,6	41,2	-0,4	322,26	321,95	-0,31	-0,96	-0,096			
t_5	40,6	40,5	-0,1	321,34	321,23	-0,11	-0,27	-0,084			

Данные, приведенные в табл. свидетельствуют о том, что влияние звукового давления приводило во всех случаях к:

- а) ухудшению диэлектрических свойств образца (снижается емкость «С»);
- б) повышению ионной проводимости образца (уменьшается активное сопротивление «R»).



Причем относительное изменение γ_e (снижение диэлектрической проницаемости) гораздо больше (в среднем в 10 раз), чем изменение γ_r . Это означает, что эффект ухудшения диэлектрических свойств образца в 10 раз более значим, чем эффект от увеличения ионной проводимости этого же образца, когда на последний воздействует звуковое давление. Подобные эффекты были получены нами, когда образец с клетками крови подвергался механическим вибрациям амплитудой 0,2 мм и частотой 1000 Гц. Значительное превышение γ_e над γ_r свидетельствовало о влиянии механических воздействий на емкости клеточных мембран, особенно если учесть, что вклад электропроводности мембран в общую электропроводность образца — не более 5 %. Увеличение, хотя и небольшое, ионной проводимости объясняется эффектом механического «стряхивания» положительных ионов с адсорбционного слоя клеточных мембран. Уменьшение же емкости образца, по большей мере, связано с дополнительной поляризацией головок липидов, образующих билипидный слой клеточной мембраны. Такая поляризация вполне возможна, поскольку жидкокристаллическая структура липидов допускает появление пьезоэффекта

вследствие механических смещения, скручивания или деформации подобных молекул [11].

Выводы

1. Экспериментально доказано появление эффекта значительного ухудшения диэлектрических свойств (уменьшение емкости) клеточных микроструктур биологических тканей под воздействием механического давления.

2. Уменьшение емкости и сопротивления биологической ткани под влиянием факторного механического воздействия указывает на увеличение тангенса угла диэлектрических потерь (в среднем от величины 9,85 до значения 10,02, то есть на 1,7 %), что свидетельствует о появлении дополнительного поглощения тканью тепловой мощности от источника факторного влияния (если при этом образец находится под действием электрического поля). Это означает, что механическая (например, звуковая) энергия преобразуется в тепловую непосредственно клеточными и субклеточными компонентами, например мембранами, следствием чего могут являться эффекты химико-биологической активации всех энергетических процессов живого организма, когда в последнем активированы электромагнитные поля.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бойко В.В.* Деформация внутриклеточных оргanelл, возникающая в процессе развития различных патологических состояний / В.В. Бойко, В.П. Невзоров // Экспериментальна і клінічна медицина. — 2002. — № 4. — С. 49-54.
2. *Гордієнко Є.О.* Фізика біомембран / Є. О. Гордієнко, В. В. Товстяк: [Підручник.] — К. : Наук. думка, 2009. — 272 с.
3. *Мунтян. М. С.* Руководство по определению энергетических характеристик бактериальных и внутриклеточных мембран: [учебное пособие для студентов вузов] / М.С. Мунтян, Л.В. Хитрина, М.Ю. Грабович, А.Т. Епринцев. — Воронеж : Издательско-полиграфический центр Воронежского государственного университета, 2010. — 64 с.
4. *Система* для исследования диэлектрической проницаемости биологических тканей: мат. 4-го Международного радиоэлектронного форума [«Прикладная радиоэлектроника. Состояние и перспективы развития»] / Е.А. Антоненко, Н.П. Мустецов, В.А. Катрич, А.И. Карпов. — Х., 2011. — С. 87-90.
5. *Шван Х. П.* Воздействие высокочастотных полей на биологические системы: Электрические свойства и биофизические механизмы / Х.П. Шван, К.Р. Фостер // ТИИЭР. — 1980. — Т. 68, № 1. — С. 121-132.
6. *Эккерт Р.* Физиология животных: Механизмы и адаптация : В 2-х т. Т. 1 / Р. Эккерт, Д. Рэнделл, Дж. Огастин: пер. с англ. — М. : Мир, 1991. — 424 с.
7. *Hockings P. D.* The measurement of transmembrane electrical potential with lipophilic cations / P.D. Hockings, P.J. Rogers // Biochim. Biophys. Acta. — 1996. — Vol. 1282. — P. 101-106.
8. *Control of membrane potential by external H⁺ concentration in Bacillus Subtilis as determined by an ion-selective electrode / S. Hosoi [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. — 1980. — Vol. 600. — P. 844-852.*
9. *Membrane potential of mitochondria measured with an electrode sensitive to tetraphenylphosphonium and relationship between proton electrochemical potential and phosphorylation potential in steady state / N. Kamo [et al.] // J. Membrane Biol. — 1979. — Vol. 49. — P. 105-121.]*
10. *Rottenberg H.* The measurement of membrane potential and pH in cells, organelles, and vesicles / H. Rottenberg // Methods Enzymol. — 1979. — Vol. 55. — P. 547-569.
11. *Robert B. Meyer.* Piezoelectric effects in liquid crystals / B. Meyer Robert // Physical review letters. — 1969. — Vol. 22, № 18. — P. 212-215.



ЗМІНИ ЕЛЕКТРИЧНИХ
ПАРАМЕТРІВ КЛІТИННИХ
МЕМБРАН БІОЛОГІЧНИХ
ТКАНИН ПРИ
МЕХАНІЧНИХ ФАКТОРНИХ
ВПЛИВАХ

*В.В. Бойко, П.М. Замятін,
В.І. Жуков, П.Ф. Щапов,
В.П. Невзоров*

Резюме. Представлено результати вимірювального експерименту по дослідженню змін ємності мембран клітин крові й електропровідності іонного середовища при звукових і вібраційних впливах на зразки клітин крові. Доведено появу ефекту значного зменшення діелектричної постійної мембранних компонентів клітин крові, що вказує на їхню додаткову поляризацію при механічних впливах.

Ключові слова: *клітинні мембрани біологічних тканин, механічні факторні впливи, електричні параметри.*

CHANGES IN THE
ELECTRICAL PARAMETERS
OF THE CELL MEMBRANES
OF BIOLOGICAL TISSUES
UNDER INFLUENCES
OF MECHANICAL FACTOR

*V.V. Boyko, P.N. Zamyatin,
V.I. Zhukov, P.F. Shchapov,
V.P. Nevzorov*

Summary. The results of the measuring experiment to study changes in blood cell membrane capacitance and conductivity of ionic medium in sound and vibration effects on samples of blood cells are provided. Appearance of the effect of significant decrease in the dielectric constant of membrane components of blood cells, indicating that they are more polarized under mechanical loads is proved.

Key words: *cell membranes of biological tissues, mechanical factors, electrical parameters.*