

УДК 616.1, 591.1

Н.Л. Коломеец¹, О.В. Сулонова¹, С.Л. Смирнова¹, И.М. Рощевская²

БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИЙ ИМПЕДАНС ТЕЛА КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР РАЗНОГО ПОЛА ПРИ МОНОКРОТАЛИНОВОЙ МОДЕЛИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

¹ Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Сыктывкар, Российская Федерация;

² Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова, г. Москва, Российская Федерация

Резюме. *Цель работы* — изучение биоэлектрического импеданса тела у крыс обоего пола при индуцированной монокроталином легочной гипертензии. *Материалы и методы.* Многочастотные биоимпедансные исследования тела крыс обоего пола проведены спустя месяц после введения монокроталина (доза 60 мг/кг, подкожно). *Результаты.* Выявлена гипертрофия правого желудочка сердца у животных с экспериментально вызванной легочной гипертензией со значимо большей толщиной свободной стенки правого желудочка у самцов по сравнению с самками. Методом дисперсионного анализа показано значимое влияние взаимодействия фактора пола и действия монокроталина на показатели (амплитуда, отношение сопротивлений при низкой и высокой частоте тока) биоэлектрического импеданса тела. Амплитуды биоэлектрического импеданса тела, нормированные на длину тела, значимо ниже у самцов и выше у самок крыс с экспериментальной легочной гипертензией по сравнению с контрольными животными того же пола. У самок крыс с монокроталиновой моделью легочной гипертензии значимо ниже отношения амплитуд биоэлектрического импеданса тела при низкой и высокой частоте тока по сравнению с контрольными животными. *Выводы.* Изменения сопротивления тела крыс при легочной гипертензии свидетельствуют о воспалительном процессе. Половые различия в изменении показателей биоэлектрического импеданса тела указывают на более тяжелое проявление легочной гипертензии у самцов.

Ключевые слова: монокроталиновая модель легочной гипертензии, биоэлектрический импеданс тела

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Коломеец Наталия Леонидовна
nat.kolomeyets@gmail.com

Дата поступления 16.03.2020 г.

Образец цитирования:

Коломеец Н.Л., Сулонова О.В., Смирнова С.Л., Ро-

щевская И.М. Биоэлектрический импеданс тела крыс линии вистар разного пола при монокроталиновой модели легочной артериальной гипертензии. Вестник уральской медицинской академической науки. 2020, Том 17, №2, с. 98–109, DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-2-98-109

Легочная артериальная гипертензия — патофизиологическое состояние, сопровождающееся увеличением легочного сосудистого сопротивления, гипертрофией правого желудочка с дальнейшим развитием тяжелой сердечной недостаточности [1]. Половые гормоны могут быть ключевым фактором наблюдаемых различий в скорости развития и тяжести сердечных заболеваний в зависимости от пола [2, 3]. Однако для понимания половых различий в патогенезе легочной артериальной гипертензии необходимы дополнительные исследования [4].

Механизмы влияния половых гормонов на развитие легочной артериальной гипертензии можно раскрыть в исследованиях на моделях животных [5]. Классической моделью легочной артериальной гипертензии является введение монокроталина животным [6]. Монокроталин — пирролидиновый алкалоид, извлеченный из семян Кротолярии нарядной (*Crotalaria spectabilis*), используемый для провокации развития структурных изменений легочных артерий, приводящих к отеку легких и тяжелой легочной артериальной гипертензии [7].

В качестве индикаторов морфофункциональных изменений в организме человека и животных используют электрические свойства тканей. Электрическое сопротивление тканей, измеренное на высоких частотах тока, позволяет оценить внутриклеточные изменения, а в низкочастотном диапазоне обуславливается размерами межклеточных пространств, уровнем кровенаполнения и гидратации тканей. Показана возможность определения перераспределения объемов жидкостей и электролитов между вне- и внутриклеточными пространствами, нарушения структурной организации тканей с помощью отношения сопротивлений при низкой и высокой частоте тока [8].

Выявлены половые различия активного сопротивления биоэлектрического импеданса тела и отношения сопротивлений тела при разных частотах тока у здоровых людей [9, 10]. При этом различия показателей биоимпедансной спектроскопии тела при легочной гипертензии остаются не изученными.

Цель работы — изучение биоэлектрического импеданса тела у крыс обоего пола при индуцированной монокроталином легочной гипертензии.

Материалы и методы

Исследования проведены на четырехмесячных крысах линии Вистар, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (г. Санкт-Петербург). Животных содержали в условиях свободного доступа к воде и корму в помещении с естественным искусственным освещением. Крысы находились в вентилируемых клетках группами по 2–3 особи при температуре 20–22°C на подстилке из древесных стружек. Содержание, уход и все манипуляции, которым подвергались животные во время исследования, проводили в соответствии с международными правилами и нормами.

Крысы были разделены на четыре группы: самцы-контроль (n=5) и самцы с легочной гипертензией (n=9); самки-контроль (n=6) и самки с легочной гипертензией (n=13). Для моделирования легочной гипертензии экспериментальным животным обоего пола однократно подкожно вводили монокроталин (60 мг/кг веса животных; Sigma-Aldrich; Germany). Контрольным самцам и самкам крыс однократно подкожно вводили сопоставимую по объему жидкости дозу физиологического раствора (0,9% NaCl).

Измеряли длину (L) тела без хвоста у крыс в сантиметрах. Индекс массы тела вычисляли как отношение массы тела (г) к квадрату длины тела L (см²). Массу тела крыс и сердца определяли с помощью лабораторных электронных весов Acom JW-1 (Корея, точность 0,05 г).

Биоимпедансные исследования у крыс были проведены через четыре недели после введения препарата и физиологического раствора. Биоэлектрический импеданс тела регистрировали при помощи анализатора физических свойств материалов и веществ 126094W (Solartron Analytical, Великобритания). Измерения биоэлектрического импеданса тела выполняли тетраполярным методом у животных, лежащих на спине и находящихся под золетилловым наркозом (3,5 мг/100 г веса тела, внутримышечно). Электроды-крокодилы устанавливали попарно на левую переднюю и правую заднюю лапы (рисунок 1). Полученные измерения отражали усредненную во времени (в течение четырех секунд) характеристику электрического сопротивления.

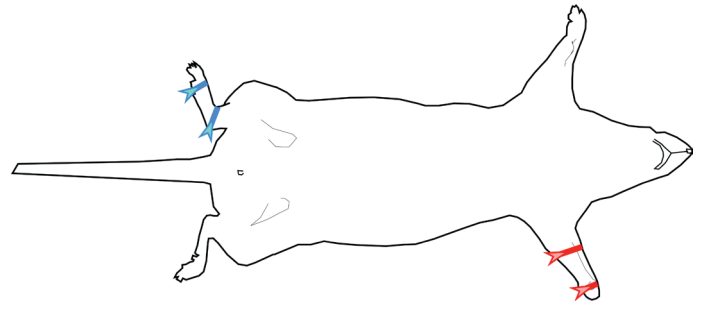


Рисунок 1. Схема расположения электродов попарно на левой передней и правой задней лапах крысы (токовые электроды были размещены на запястье и стопе, измеряющие — в локтевой и предплюсневой области).

После окончания эксперимента сердце вырезали, измеряли его массу, готовили поперечные гистологические срезы толщиной 7 мкм на микротом-криостате (“Leica” CM 1510S). Определяли толщину свободной стенки правого желудочка сердца крыс на уровне основания папиллярных мышц левого желудочка.

Вычисляли коэффициенты поляризации, равные соотношению амплитуд Z биоэлектрического импеданса тела крыс при низкой (5, 10, 40 кГц) и высокой (120 кГц) частоте синусоидального тока. Коэффициент поляризации не зависит от расстояния между измеряющими электродами, объема исследуемого участка тела, характеризует крутизну дисперсии сопротивления (уменьшения сопротивления с увеличением частоты тока) живой ткани.

Статистическая обработка проведена с помощью пакета программ статистического анализа Statistica 10.0 (StatSoft). Для проверки нормальности распределения количественных признаков использовали критерий Шапиро-Уилка. Масса и индекс массы тела, относительная масса сердца для всех сравниваемых групп соответствовали закону нормального распределения. Равенство дисперсий распределений признаков в группах проверяли по критерию Левена. Количественные признаки представлены как среднее арифметическое \pm стандартное отклонение. Уровень значимости различий принимали равным 0,05. Сравнения групп из совокупностей с распределением, отличающимся от нормального (масса сердца у самцов в контроле, длина тела и толщина правого желудочка сердца у самок крыс с легочной гипертензией), проводили по критерию Манна-Уитни (с описанием значения U -критерия, значений Z и ρ), с нормальным распределением — с помощью t -критерия Стьюдента (с описанием значения t -критерия, числа степеней свободы df , значения ρ). Использовали дисперсионный анализ для изучения влияния факторов «пол» (самцы и самки), «группа» (контрольная и с легочной гипертензией) на показатели биоэлектрического импеданса тела крыс (амплитуда с нормировкой на длину тела, коэффициентов поляризации). Применяли процедуру апостериорного сравнения средних (по критериям Бон-

феррони или Ньюмана-Кеулса), критерий Стьюдента с поправкой уровня статистической значимости ρ .

Уровень корреляции рассчитывали по Спирмену.

Результаты и обсуждение

У самцов крыс с легочной гипертензией масса сердца была больше ($U=5,5$, $Z=-2,2$, $\rho=0,028$), чем у контрольных самцов. У самок крыс контрольной и экспериментальной групп не выявлено значимых различий массы сердца. У самцов крыс с легочной гипертензией масса сердца ($t=2,9$, $df=18$, $\rho=0,010$) была значимо больше, чем у самок крыс в экспериментальной группе (Таблица 1).

Индекс массы тела и отношение массы сердца к массе тела значимо не различались у самцов и самок крыс линии Вистар в контрольной и экспериментальной группах. Масса и длина тела у самцов и самок крыс с легочной гипертензией значимо различалась (для массы тела: $t=3,5$, $df=19$, $\rho=0,002$; для длины тела: $U=27,5$, $Z=-2,0$, $\rho=0,042$).

Таблица 1

Морфометрические показатели у самцов и самок крыс в контроле и с легочной гипертензией

Параметр	Самцы-контроль (n=5)	Самцы с легочной гипертензией (n=9)	Самки-контроль (n=6)	Самки с легочной гипертензией (n=13)
Масса тела, г	239±14	267±24	248±25	230±22*
Длина тела, см	22±1	23±1	22±1	22±1*
Индекс массы тела, г/см ²	0,49±0,04	0,52±0,07	0,52±0,05	0,50±0,05
Масса сердца, г	1,0±0,1	1,1±0,1*	1,0±0,2	1,0±0,1*
Относительная масса сердца, г/кг	4,0±0,3	4,1±0,4	4,1±0,2	4,2±0,4
Толщина правого желудочка, мм	1,3±0,2	1,8±0,3*	1,1±0,1	1,5±0,1**

Примечание. Значимые различия при сравнении показателей контрольной и экспериментальной групп самок и самцов отмечены «*». Значимые различия у самок крыс с легочной гипертензией по сравнению с самцами отмечены «&».

Монокроталиновая модель легочной гипертензии характеризуется токсическим повреждением периферических сосудов легких, сердца, других органов, и воспалением [11]. Однократное введение монокроталина в зависимости от дозы вызывает развитие легочной гипертензии, гипертрофии правого желудочка или выраженной правожелудочковой сердечной недостаточности [12, 13].

При гистологическом исследовании через четыре недели после введения монокроталина в дозе 60 мг/кг нами была показана гипертрофия правого желудочка сердца у крыс с экспериментальной легочной гипертензией. Толщина свободной стенки правого желу-

дочка сердца у крыс с монокроталиновой моделью легочной гипертензии была значимо больше, чем у животных в контрольной группе того же пола (у самцов: $t=-3,6$, $df=11$, $\rho=0,004$; у самок: $U=0$, $Z=-3,2$, $\rho=0,001$).

При моделировании легочной гипертензии у самцов крыс выявлены большие гипертрофические изменения сердца, чем у самок. У животных с монокроталиновой легочной гипертензией отмечена значимо большая толщина свободной стенки правого желудочка сердца у самцов в сравнении с самками ($U=11$, $Z=-2,5$, $\rho=0,011$).

Легочная гипертензия и гипертрофия правого желудочка сердца развиваются по-разному у самок и самцов у крыс.

При легочной гипертензии у самок крыс было выявлено более выраженное увеличение медиальной толщины в мелких легочных артериях. У самцов, в отличие от самок, обнаружена инфильтрация мелких легочных артерий воспалительными клетками, адвентициальный и медиальный фиброз [14].

Легочная гипертензия, вызванная монокроталином в дозе 60 мг/кг, у самок крыс отмечена с меньшим ремоделированием правого желудочка сердца [15], с более высоким адаптационным потенциалом систем регуляции сократимости миокарда [16, 17] в сравнении с самцами.

Выявлен защитный эффект эстрадиола относительно развития легочной гипертензии. В монокроталиновой модели легочной гипертензии при введении эстрадиола 17β крысам показано значительное ослабление ремоделирования легочных сосудов [18], подавление воспаления и фиброза [19], уменьшение объема отеменной жидкости [20] в легких.

При биоимпедансном исследовании в монокроталиновой модели нами были выявлены различия электрического сопротивления тела при легочной гипертензии у крыс обоего пола.

Многомерный дисперсионный анализ амплитуды биоэлектрического импеданса тела крыс, нормированной на длину тела, при частотах тока 5, 10, 40 и 120 кГц показал взаимодействие факторов «пол»*«группа» ($F_{4,25}=6,3$, $\rho=0,001$). Post-hoc анализ (критерий Бонферрони) позволил выявить связанные с полом статистически значимые различия у животных из контрольной и экспериментальной групп, межгрупповые статистически значимые различия у самцов и самок крыс при всех частотах тока. У самцов крыс с легочной гипертензией амплитуда биоэлектрического импеданса тела была значимо ниже, а у самок — значимо выше по сравнению с крысами контрольной группы того же пола (Таблица 2).

У самок крыс (без учета группы) выявлены значимые положительные корреляционные связи между показателями биоэлектрического импеданса тела и толщиной свободной стенки правого желудочка сердца (при 5 кГц: $r_s=0,69$, $\rho=0,002$; при 10 кГц: $r_s=0,73$, $\rho=0,0005$; при 40 кГц: $r_s=0,73$, $\rho=0,0003$; при 120 кГц:

$r_s=0,75, \rho=0,0002$). У самцов крыс не отмечены значимые связи между этими параметрами.

Значимо меньшие значения биоэлектрического импеданса тела у самцов крыс с экспериментальной легочной гипертензией в сравнении с контрольной группой могут свидетельствовать о накоплении внеклеточной жидкости в организме в результате воспалительного процесса.

Показано снижение биоимпеданса тела у больных с недостаточностью кровообращения, отражающее повышение степени клеточной и внеклеточной гипергидратации [8]. При воспалительном процессе электрический импеданс тканей тела вначале, при повреждении мембранных структур клеток, увеличивается, в стадии инфильтрата — снижается [21]. При фиброзе электрическое сопротивление ткани (миокарда) снижается [22].

Введение монокроталина (при дозе 60–100 мг/кг) приводит к токсичному повреждению, отеку, фиброзу легких [7]. Спустя месяц после введения монокроталина в легких у крыс отмечены структурные и функциональные изменения легочных сосудов, кровоизлияние и гиперемия, воспаление с некрозом альвеолярной перегородки [7, 23, 24].

У самок и самцов крыс с монокроталиновой моделью легочной гипертензии по-разному изменяется биоэлектрический импеданс легочной ткани в сравнении с контрольной группой. Ранее у самок крыс при монокроталиновом поражении нами выявлено значимое увеличение активного сопротивления и амплитуды биоэлектрического импеданса легочной ткани, указывающее (при низкой частоте тока) на подтвержденные гистологически эмфизематозные изменения в легких и (при более высокой частоте тока) воспалительные повреждения легочной ткани при монокроталиновом поражении, сужение просвета кровеносных сосудов в легких [25]. У самцов крыс при монокроталиновой модели легочной гипертензии показано уменьшение электрического сопротивления легких, указывающее на накопление внеклеточной жидкости в организме [26].

Дисперсионный анализ повторных измерений показал, что коэффициенты поляризации $Z_{10/120}$ и $Z_{40/120}$ биоимпеданса тела крыс оказались в зависимости от взаимодействия факторов «пол»*«группа» ($F_{1,29}=5,8, \rho=0,023$). Post-hoc анализ (критерий Ньюмана-Кеулса) позволил выявить связанные с полом статистически значимые различия ($\rho=0,021$) между животными двух контрольных групп. Показатель $Z_{40/120}$ у самок ($1,070\pm 0,012$) в контрольной группе крыс был значимо ниже, чем у самцов ($1,097\pm 0,019, t=-2,8, df=12, \rho=0,015$, критерий Стьюдента). Межгрупповые статистически значимые различия наблюдали у самок крыс (критерий Ньюмана-Кеулса, $\rho=0,046$). Значения коэффициентов $Z_{10/120}$ и $Z_{40/120}$ у самок с легочной гипертензией были значимо ниже ($Z_{40/120}$: $1,075\pm 0,012$ в сравнении с $1,097\pm 0,019, t=3,2, df=19, \rho=0,0046$, критерий

Стьюдента) в сравнении с контролем (Рисунок 2).

Таблица 2

Амплитуда биоэлектрического импеданса тела у самцов и самок крыс в контроле и с легочной гипертензией

Частота тока, кГц	Группа животных и амплитуда биоэлектрического импеданса тела, Ом/см	Группа животных и амплитуда биоэлектрического импеданса тела, Ом/см	Значение достигнутого уровня статистической значимости по критерию Бонферрони	Значение критерия Стьюдента и достигнутого уровня статистической значимости (8 сравнений)
5	4: 116,1±18,0	2: 89,1±15,1	$\rho=0,030$	$t=-3,5, df=18, \rho=0,003$
	3: 71,8±21,0	4: 116,1±18,0	$\rho=0,0003$	$t=-4,9, df=17, \rho=0,0001$
		1: 117,3±26,2	$\rho=0,002$	
10	4: 113,1±17,4	2: 83,7±14,3	$\rho=0,021$	$t=-4,1, df=19, \rho=0,0006$
	3: 68,1±20,3	4: 113,1±17,4	$\rho=0,0003$	$t=-5,3, df=18, \rho=0,00005$
		1: 114,4±25,8	$\rho=0,003$	$t=3,6, df=11, \rho=0,004$
40	4: 104,1±16,6	2: 77,5±13,4	$\rho=0,031$	$t=-4,1, df=20, \rho=0,0006$
	3: 57,5±19,7	4: 104,1±16,6	$\rho=0,0004$	$t=-6,0, df=20, \rho=0,000007$
		1: 106,0±24,5	$\rho=0,003$	$t=4,2, df=13, \rho=0,001$
120	4: 96,8±15,4	2: 72,0±13,1	$\rho=0,031$	$t=-4,0, df=20, \rho=0,0007$
	3: 52,7±18,1	4: 96,8±15,4	$\rho=0,0004$	$t=-6,2, df=20, \rho=0,000005$
		1: 99,1±23,2	$\rho=0,002$	$t=4,3, df=13, \rho=0,0009$

Примечание: 1 — самцы в контрольной группе крыс, 2 — самцы с легочной гипертензией, 3 — самки в контрольной группе, 4 — самки с легочной гипертензией.

Снижение отношения амплитуд импеданса тела при низкой и высокой частоте тока отмечено при послеоперационном отеке, нарушении почечной и сердечной функции [27]. Показатель имеет значимую связь с уровнем креатинина и альбумина в крови, является маркером воспаления у пациентов с болезнью почек [28, 29]. Сопротивление тела человека при низкой частоте тока значимо меньше при хроническом заболевании дыхательной и сердечно-сосудистой систем, различие между значениями импедансов при низкой и высокой частоте тока заметно уменьшается, указывая на связанные с болезнью клеточные повреждения [30, 28].

Значимые изменения отношений амплитуд биоэлектрического импеданса тела у самок крыс с легочной гипертензией в сравнении с контролем могут указывать на воспаление при монокроталиновом поражении. Наблюдаемые половые различия в контрольной

группе животных в коэффициентах поляризации тела крыс с легочной гипертензией не отмечены.

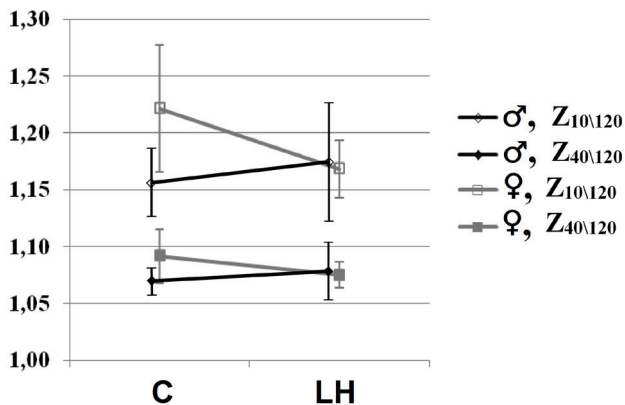


Рисунок 2. Результат двухфакторного дисперсионного анализа для отношений $Z_{10\backslash 120}$ и $Z_{40\backslash 120}$ амплитуд биоэлектрического импеданса тела крыс линии Вистар: взаимодействие факторов «пол»*«группа».

Условные обозначения:

По оси абсцисс: К — контрольные группы, ЛГ — группа самцов или самок с легочной гипертензией.

По оси ординат: $Z_{10\backslash 120}$ и $Z_{40\backslash 120}$ — коэффициенты поляризации (отношение амплитуд биоэлектрического импеданса тела крыс при низкой (10 или 20 кГц) и высокой (120 кГц) частотах тока).

Заключение

Методом биоимпедансной спектроскопии выявлены значимые различия в амплитудах и коэффициентах поляризации биоэлектрического импеданса тела у крыс с экспериментально вызванной легочной гипертензией в сравнении с контролем, указывающие на накопление внеклеточной жидкости в организме самцов и воспалительный процесс у самок. При вызванной монокротололином легочной гипертензии у самцов крыс выявлены большие гипертрофические изменения сердца, чем у самок. Показанные нами половые различия в амплитуде биоэлектрического импеданса тела крыс могут указывать на более выраженное проявление легочной гипертензии у самцов по сравнению с самками.

ЛИТЕРАТУРА

1. Simonneau G., Galiè N., Rubin L.J., Langleben D., Seeger W., Domenighetti G. et al. Clinical classification of pulmonary hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004; 43(12): 5S-12S
2. Komukai K., Mochizuki S., Yoshimura M. Gender and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2010; 24(6): 687-698.
3. Maric-Bilkan C., Manigrasso M.B. Sex differences in hypertension: contribution of the renin-angiotensin system. *Gen. Med. Excerpta Medica.* 2012; 9(4): 287-291.
4. Batton K.A., Austin C.O., Bruno K.A., Burger C.D., Shapiro B.P., Fairweather D. Sex differences in pulmonary arterial hypertension: role of infection and autoimmunity

in the pathogenesis of disease. *Biol. Sex Differ.* 2018; 9(1): 15.

5. Austin E.D., Lahm T., West J., Tofovic S.P., Johansen A.K., Maclean M.R., Alzoubi A., Oka M. Gender, sex hormones and pulmonary hypertension. *Pulm. Circ.* 2013; 3(2): 294-314.
6. Morimatsu Y., Sakashita N., Komohara Y., Ohnishi K., Masuda H., Dahan D. et al. Development and characterization of an animal model of severe pulmonary arterial hypertension. *J. Vasc. Res.* 2012; 49(1): 33-42.
7. Gomez-Arroyo J.G., Farkas L., Alhussaini A.A., Farkas D., Kraskauskas D., Voelkel N.F. et al. The monocrotaline model of pulmonary hypertension in perspective. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2012; 302(4): L363-369.
8. Торнуев Ю.В., Непомнящих Д.Л., Никитюк Д.Б., Лапий Г.А., Молодых О.П., Непомнящих Р.Д. и др. Диагностические возможности неинвазивной биоимпедансометрии. *Фундаментальные исследования.* 2014; (10-4): 782-788.
9. Dittmar M. Reliability and variability of bioimpedance measures in normal adults: effects of age, gender, and body mass. *Am. J. Phys. Anthropol.* 2003; 122(4): 361-370.
10. Kuchnia A.J., Teigen L.M., Cole A.J., Mulasi U., Gonzalez M.C., Heymsfield S.B. et al. Phase Angle and Impedance Ratio: Reference Cut-Points From the United States National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2004 From Bioimpedance Spectroscopy Data. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition.* 2017; 41(8): 1310-1315.
11. Stenmark K.R., Meyrick B., Galie N., Mooi W.J., McMurtry I.F. Animal models of pulmonary arterial hypertension: the hope for etiological discovery and pharmacological cure. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2009; 297(6): L1013-1032.
12. Kay J.M., Suyama K.L., Keane P.M. Failure to show decrease in small pulmonary blood vessels in rats with experimental pulmonary hypertension. *Thorax.* 1982; 37: 927-930.
13. Balestra G.M., Mik E.G., Eerbeek O., Specht P.A., van der Laarse W.J., Zuurbier C.J. Increased in vivo mitochondrial oxygenation with right ventricular failure induced by pulmonary arterial hypertension: mitochondrial inhibition as driver of cardiac failure? *Respir. Res.* 2015; 16: 6.
14. Rafikova O., Rafikov R., Meadows M.L., Kangath A., Jonigk D., Black S.M. The sexual dimorphism associated with pulmonary hypertension corresponds to a fibrotic phenotype. *Pulm. Circ.* 2015; 5(1): 184-97.
15. Nadadur R.D., Umar S., Wong G., Eghbali M., Iorga A., Matori H. et al. Reverse right ventricular structural and extracellular matrix remodeling by estrogen in severe pulmonary hypertension. *J. Appl. Physiol.* 2012; 113(1): 149-158.
16. Балакин А.А., Кузнецов Д.А., Лисин Р.В., Мухлынина Е.А., Проценко Ю.Л. Гендерные особенности

адаптации к нагрузкам механизмов регуляции сократимости миокарда. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2013; (2): 39-43.

17. Lookin O., Kuznetsov D., Protsenko Y. Sex differences in stretch-dependent effects on tension and Ca(2+) transient of rat trabeculae in monocrotaline pulmonary hypertension. *J. Physiol. Sci.* 2015; 65(1): 89-98.

18. Yuan P., Wu W.H., Gao L., Zheng Z.Q., Liu D., Mei H.Y. et al. Oestradiol ameliorates monocrotaline pulmonary hypertension via NO, prostacyclin and endothelin-1 pathways. *Eur. Respir. J.* 2013; 41(5): 1116-1125.

19. Umar S., Iorga A., Matori H., Nadadur R.D., Li J., Maltese F. et al. Estrogen rescues preexisting severe pulmonary hypertension in rats. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 184(6): 715-723.

20. Farhat M.Y., Chen M.F., Bhatti T., Iqbal A., Cathapermal S., Ramwell P.W. Protection by oestradiol against the development of cardiovascular changes associated with monocrotaline pulmonary hypertension in rats. *Br. J. Pharmacol.* 1993. 110(2): 719-723.

21. Торнуев Ю.В., Хачатрян Р.Г., Хачатрян А.П., Махнев В.П., Осенний А.С. Электрический импеданс биологических тканей. М.: Изд-во ВЗПИ; 1990.

22. Amorós-Figueras G., Jorge E., García-Sánchez T., Bragós R., Rosell-Ferrer J., Cinca J. Recognition of Fibrotic Infarct Density by the Pattern of Local Systolic-Diastolic Myocardial Electrical Impedance. *Front Physiol.* 2016. 31(7): 389.

23. Ogata T., Shibagaki T., Kamma H., Yokose T., Iizima T. Alveolar damage: epithelial damage and endothelial damage. *Journal of Toxicologic Pathology.* 1989. 2(2): 223-240.

24. Yavuz T., Uzun O., Macit A., Comunoglu C., Yavuz O., Silan C. et al. Pyrrolidine dithiocarbamate attenuates the development of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension. *Pathol. Res. Pract.* 2013. 209(5): 302-308.

25. Коломеец Н.Л., Суслонина О.В., Смирнова С.Л., Гуляева А.С., Рощевская И.М. Параметры биоэлектрического импеданса легких у самок крыс линии Вистар при экспериментальной легочной гипертензии. *Российский Физиологический Журнал им. И.М. Сеченова.* 2019; 105(8): 1041-1053.

26. Коломеец Н.Л., Суслонина О.В., Смирнова С.Л., Рощевская И.М. Биоэлектрический импеданс тела крыс при монокроталиновой модели легочной гипертензии. *Биомедицина.* 2019; 15(1): 95-101.

27. Earthman C.P. Body Composition Tools for Assessment of Adult Malnutrition at the Bedside: A Tutorial on Research Considerations and Clinical Applications. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition.* 2015; 39(7): 787-822.

28. Demirci C., Aşçı G., Demirci M.S., Özkahya M., Töz H., Duman S. et al. Impedance ratio: a novel marker and a powerful predictor of mortality in hemodialysis patients.

Int. Urol. Nephrol. 2016. 48(7): 1155-1162.

29. Valdespino-Trejo A., Orea-Tejeda A., Castillo-Martínez L., Keirns-Davis C., Montañez-Orozco A., Ortiz-Suárez G. et al. Low albumin levels and high impedance ratio as risk factors for worsening kidney function during hospitalization of decompensated heart failure patients. *Exp. Clin. Cardiol.* 2013; 18(2): 113-117.

30. de Blasio F., de Blasio F., Miracco Berlingieri G., Bianco A., La Greca M., Franssen F.M. et al. Evaluation of body composition in COPD patients using multifrequency bioelectrical impedance analysis. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2016; 11: 2419-2426.

Авторы

Коломеец Наталия Леонидовна
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», Сыктывкар
К.ф.-м.н., научный сотрудник отдела сравнительной кардиологии
Российская Федерация, 167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 24
nat.kolomeyets@gmail.com

Суслонина Ольга Владимировна
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», Сыктывкар
Научный сотрудник отдела сравнительной кардиологии
Российская Федерация, 167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 24
evgeniu2006@inbox.ru

Смирнова Светлана Леонидовна
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», Сыктывкар
К.б.н., зав. отделом сравнительной кардиологии
Российская Федерация, 167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 24
smirnova.sl@mail.ru

Рощевская Ирина Михайловна
Федеральное государственное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова, Москва
Член-корр. РАН, главный научный сотрудник
Российская Федерация, 125315, г. Москва, Балтийская ул., 8
compcard@mail.ru

N.L. Kolomeyets¹, O.V. Syslonova¹, S.L. Smirnova¹, I.M. Roshchevskaya²

BIOELECTRIC IMPEDANCE OF THE BODY OF WISTAR RATS OF BOTH SEXES WITH A MONOCROTALINE MODEL OF PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION

¹ Federal Research Centre “Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences”, Syktyvkar, Komi Republic, Russian Federation;

² Federal State Budgetary Institution “Research Zakusov Institute Of Pharmacology”, Moscow

Abstract. *The aim of the work* was to study the bioelectric impedance of the body in rats of both genders with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. **Materials and methods.** Multi-frequency bioimpedance studies of the body of rats of both genders were carried out one month after the administration of monocrotaline (dose of 60 mg/kg, subcutaneously). **Results.** Hypertrophy of the right ventricle of the heart was revealed in animals with experimentally induced pulmonary hypertension, with a significantly greater thickness of the free wall of the right ventricle in males compared to females. Significant influence of the interaction of the gender factor and the effect of monocrotaline on the indicators of the bioelectric impedance of the body (amplitude, ratio of resistances at low and high current frequencies) was shown using the method of analysis of variance. The body bioelectric impedance amplitudes, normalized to body length, were significantly lower in the male rats and higher in the female rats with experimental pulmonary hypertension compared to the control animals of the same gender. In the female rats with the monocrotaline model of pulmonary hypertension, the ratio of the amplitudes of the bioelectric impedance of the body at low and high current frequencies was significantly lower than in the control animals. **Conclusion.** Changes in the body resistance of the rats with pulmonary hypertension indicate an inflammatory process. Gender differences in the changes in the bioelectrical impedance of the body indicate a more severe manifestation of pulmonary hypertension in the males.

Keywords: monocrotaline model of pulmonary hypertension, bioelectrical impedance of the body

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Natalia L. Kolomeyets

nat.kolomeyets@gmail.com

Received 16.03.2020

For citation:

Kolomeyets N.L., Syslonova O.V., Smirnova S.L., Roshchevskaya I.M. Bioelectric impedance of the body of wistar rats of both sexes with a monocrotaline model of pulmonary arterial hypertension. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science.

2020, Vol. 17, no. 2, pp. 98–109. DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-2-98-109 (In Russ)

Pulmonary arterial hypertension is a pathophysiological condition accompanied by an increase of pulmonary vascular resistance and by right ventricular hypertrophy with further development of severe heart failure [1]. Sex hormones can be a key factor in the observed differences in the rate of development and severity of heart disease depending on gender [2, 3]. However, additional studies are needed to understand the gender differences in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension [4].

The mechanisms of the influence of sex hormones on the development of pulmonary arterial hypertension can be revealed in studies on animal models [5]. The classic model of pulmonary arterial hypertension is the administration of monocrotaline to animals [6]. Monocrotaline is a pyrrolisidine alkaloid extracted from the seeds of *Crotalaria spectabilis*, used to provoke the development of structural changes in the pulmonary arteries, leading to pulmonary edema and severe pulmonary arterial hypertension [7].

The electrical properties of tissues are used as indicators of morphological and functional changes in humans and animals. The electrical resistance of tissues, measured at high current frequencies, makes it possible to evaluate intracellular changes, and in the low-frequency range the electrical resistance is determined by the size of intercellular spaces, the level of blood supply and tissue hydration. The possibility of determining the redistribution of the volumes of fluids and electrolytes between the extra- and intracellular spaces, the violation of the structural organization of tissues using the ratio of resistances at a low and high current frequency was shown [8].

Gender differences in the active resistance of the bioelectric impedance of the body and the ratio of the resistance of the body at different current frequencies in healthy people were identified [9, 10]. However, the differences in the measurements of bioimpedance spectroscopy of the body with pulmonary hypertension remain unstudied.

The aim of the work was to study the bioelectric impedance of the body in rats of both genders with monocrotaline-induced pulmonary hypertension.

Materials and methods

The studies were carried out on four-month-old Wistar rats from Rappolovo laboratory animal nursery (St. Petersburg). The animals were kept in a room with natural and artificial lighting with free access to water and feed. They were placed in ventilated cages in groups of 2-3 individuals at a temperature of 20-22°C on a bed of wood shavings. The contents, care and all the manipulations that animals were subjected during the study were carried out in accordance with international rules and regulations.

The rats were divided into four groups: male control (n=5) and males with pulmonary hypertension (n=9); female control (n=6) and females with pulmonary hypertension (n=13). To model pulmonary hypertension, monocrotaline (60 mg/kg animal weight; Sigma-Aldrich; Germany) was injected subcutaneously once to experimental animals of both genders. The control male and female rats were injected subcutaneously once with a dose of physiological saline (0.9% NaCl) comparable in the volume of liquid.

The length (L) of the rats' body without a tail was measured in centimeters. Body mass index was calculated as the ratio of the body weight (g) to the squared body length L (cm²). The mass of the rats' body and the mass of heart was determined using Acom JW-1 laboratory electronic scales (Korea, accuracy 0.05 g).

Bioimpedance studies in rats were performed four weeks after the administration of the drug and the physiological saline. Bioelectric impedance of the body was recorded using an analyzer of physical properties of materials and substances 126094W (Solartron Analytical, the UK). The bioelectric impedance of the body was measured with tetrapolar method in animals lying on their back and under zoletil anesthesia (3.5 mg / 100 g of body weight, intramuscularly). Crocodile electrodes were placed in pairs on the left forefoot and right hindfoot (Figure 1). The measurements obtained reflected the time-averaged (during four seconds) characteristic of electrical resistance.

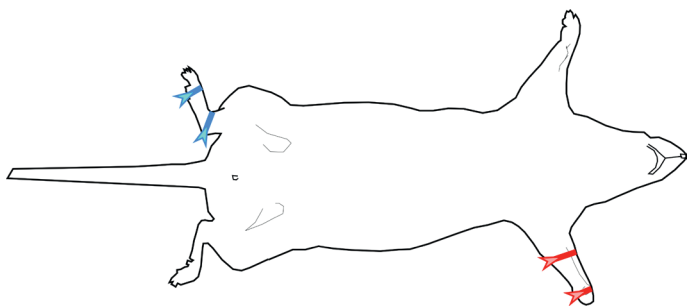


Figure 1. The arrangement of electrodes in pairs on the left forefoot and right hindfoot of the rat (current electrodes were placed on the wrist and foot, measuring electrodes — in the ulnar and tarsal region).

After the experiment, the heart was excised, its mass was measured, and transverse histological sections with a thickness of 7 µm were prepared on a microtome cryostat (Leica CM 1510S). The thickness of the free wall of the right ventricle of the rats' heart was determined at the level

of the base of the papillary muscles of the left ventricle.

The polarization coefficients equal to the ratio of the amplitudes Z of the bioelectric impedance of the rats' body were calculated at a low (5, 10, 40 kHz) and high (120 kHz) sinusoidal current frequency. The polarization coefficient does not depend on the distance between the measuring electrodes and the volume of the studied body section, and characterizes the steepness of the resistance dispersion (decrease in resistance with increasing current frequency) of living tissue.

Statistical processing was carried out using the statistical analysis software package Statistica 10.0 (StatSoft). To check the normality of the distribution of quantitative traits, the Shapiro-Wilk test was used. Mass, body mass index, and relative heart mass for all compared groups corresponded to the law of normal distribution. The equality of variances of the distribution of traits in the groups was checked using the Leven criterion. The quantitative traits are presented as arithmetic mean ± standard deviation. The significance level of the differences was taken equal to 0.05. Comparisons of the groups from the populations with a non-normal distribution (heart mass of the males in the control group, body length and right ventricular thickness of the female rats with pulmonary hypertension) were carried out according to the Mann–Whitney criterion, with a normal distribution – using the Student's t-test. We used the analysis of variance to study the influence of the factors "gender" (males and females) and "group" (control and with pulmonary hypertension) on the bioelectrical impedance of rats (amplitude normalized to body length, polarization coefficients). We used the procedure of a posteriori comparison of mean values (according to the Bonferroni or Newman-Keuls criteria) and the Student criterion with the correction of the level of statistical significance ρ . The Spearman correlation coefficient (rs) was used to assess the relationship between the variables.

Results and discussion

The heart mass was higher in the male rats with pulmonary hypertension ($U = 5.5$, $Z = -2.2$, $\rho = 0.028$) than in the control males. In the female rats of the control and experimental groups, no significant differences in the heart mass were revealed. In the male rats with pulmonary hypertension, the heart mass ($t = 2.9$, $df = 18$, $\rho = 0.010$) was significantly higher than in the female rats in the experimental group (Table 1).

The body mass index and the ratio of heart mass to body mass did not significantly differ between the male and female Wistar rats in the control and experimental groups. The body mass and length in the male and female rats with pulmonary hypertension significantly varied (for body weight: $t = 3.5$, $df = 19$, $\rho = 0.002$; for body length: $U = 27.5$, $Z = -2.0$, $\rho = 0.042$).

Table 1
Morphometric indices in the male and female rats in the control groups and with pulmonary hypertension

Parameter	Males control (n=5)	Males with pulmonary hypertension (n=9)	Female control (n=6)	Females with pulmonary hypertension (n=13)
Body weight, g	239±14	267±24	248±25	230±22 ^{&}
Body length, cm	22±1	23±1	22±1	22±1 ^{&}
Body mass index, g/cm ²	0,49±0,04	0,52±0,07	0,52±0,05	0,50±0,05
Heart mass, g	1,0±0,1	1,1±0,1*	1,0±0,2	1,0±0,1 ^{&}
Relative heart weight, g/kg	4,0±0,3	4,1±0,4	4,1±0,2	4,2±0,4
The thickness of the right ventricle, mm	1,3±0,2	1,8±0,3*	1,1±0,1	1,5±0,1 ^{&}

Note. Significant differences when comparing the parameters of the control and experimental groups of females and males are marked with «*». Significant differences in the female rats with pulmonary hypertension compared to the males are marked with «&».

The monocrotaline model of pulmonary hypertension is characterized by toxic damage to the peripheral vessels of the lungs, heart, and other organs, and by inflammation [11]. A single dose-dependent administration of monocrotaline causes the development of pulmonary hypertension, right ventricular hypertrophy, or severe right ventricular heart failure [12, 13].

In histological examination four weeks after the administration of monocrotaline at a dose of 60 mg/kg, we showed hypertrophy of the right ventricle of the heart in the rats with experimental pulmonary hypertension. The thickness of the free wall of the right ventricle of the heart in the rats with the monocrotaline model of pulmonary hypertension was significantly higher than in the animals in the control group of the same gender (in males: $t = -3.6$, $df = 11$, $p = 0.004$; in females: $U = 0$, $Z = -3.2$, $p = 0.001$).

When modeling pulmonary hypertension, greater hypertrophic changes in the heart were detected in the male rats than in the females. In the animals with monocrotaline pulmonary hypertension, a significantly greater thickness of the free wall of the right ventricle of the heart was observed in the male rats compared to the females ($U = 11$, $Z = -2.5$, $p = 0.011$).

Pulmonary hypertension and right ventricular hypertrophy of the heart develop differently in the female and male rats.

A more pronounced increase in medial thickness in small pulmonary arteries was revealed in the female rats with pulmonary hypertension. In the males, unlike females, infiltration of small pulmonary arteries by inflammatory cells, adventitious and medial fibrosis were detected [14].

Pulmonary hypertension caused by monocrotaline at a dose of 60 mg/kg in the female rats was marked by lower remodeling of the right ventricle of the heart [15], with

a higher adaptive potential of the systems for regulating myocardial contractility [16, 17] compared to the males.

The protective effect of estradiol with respect to the development of pulmonary hypertension was revealed. In the monocrotaline model of pulmonary hypertension with the administration of estradiol 17 β to the rats, a significant weakening of pulmonary vascular remodeling [18], suppression of inflammation and fibrosis [19], and decrease in the volume of edematous fluid [20] in the lungs were shown.

In a bio-impedance study in the monocrotaline model, differences in the electrical resistance of the body in the rats of both genders with pulmonary hypertension were determined.

Multivariate analysis of variance of the bioelectric impedance amplitude of the body of the rats, normalized to body length at current frequencies of 5, 10, 40, and 120 kHz, showed the interaction of the “gender”*“group” factors ($F_{4.25} = 6.3$, $p = 0.001$). Post-hoc analysis (Bonferroni test) revealed gender-related statistically significant differences in animals from the control and experimental groups and statistically significant intergroup differences in the male and female rats at all current frequencies. In the male rats with pulmonary hypertension, the amplitude of the bioelectric impedance of the body was significantly lower, and in the females it was significantly higher compared to the rats of the control group of the same gender (Table 2).

The female rats (not taking the group into account) showed significant positive correlation between the bioelectrical impedance of the body and the thickness of the free wall of the right ventricle of the heart (at 5 kHz: $r_s = 0.69$, $p = 0.002$; at 10 kHz: $r_s = 0.73$, $p = 0.0005$; at 40 kHz: $r_s = 0.73$, $p = 0.0003$; at 120 kHz: $r_s = 0.75$, $p = 0.0002$). In the male rats, no significant associations between these parameters were noted.

Significantly lower values of the bioelectric impedance of the body in the male rats with experimental pulmonary hypertension compared to the control group may indicate the accumulation of extracellular fluid in the body as a result of the inflammatory process.

A decrease in the body bioimpedance in the patients with circulatory failure was shown, which reflects an increase in the degree of cellular and extracellular hyperhydration [8]. In the inflammatory process, the electrical impedance of body tissues initially increases with damage to the membrane structures of cells, and decreases in the stage of infiltration [21]. With fibrosis, the electrical resistance of the tissue (myocardium) decreases [22].

The introduction of monocrotaline (at a dose of 60-100 mg/kg) leads to toxic damage, edema, and pulmonary fibrosis [7]. A month after the administration of monocrotaline in the lungs, the rats showed structural and functional changes in the pulmonary vessels, hemorrhage, hyperemia, and inflammation with necrosis of the alveolar septum [7, 23, 24].

In the female and male rats with the monocrotaline model of pulmonary hypertension, the bioelectrical impedance

of the lung tissue changes differently in comparison with the control group. Earlier, a significant increase in the resistance and amplitude of the bioelectrical impedance of the lung tissue in the female rats with monocrotaline lesion was revealed, indicating (at a low current frequency) histologically confirmed emphysema changes in the lungs and (at a higher current frequency) inflammatory lesions of the lung tissue with monocrotaline lesion and narrowing of the lumen of blood vessels in the lungs [25]. In the male rats with the monocrotaline model of pulmonary hypertension, a decrease in the electrical resistance of the lungs was shown, indicating the accumulation of extracellular fluid in the body [26].

Analysis of repeated measurements showed that the polarization coefficients $Z_{10\backslash 120}$ and $Z_{40\backslash 120}$ of the bioimpedance of the rats' body turned out to depend on the interaction of the factors "gender"*"group" ($F_{1,29}=5,8$, $\rho = 0,023$). The post-hoc analysis (Newman-Keuls test) revealed gender-related statistically significant differences ($\rho = 0,021$) between the animals of the two control groups. The index $Z_{40\backslash 120}$ in the females ($1,070 \pm 0,012$) in the control group of the rats was significantly lower than in the males ($1,097 \pm 0,019$, $t = -2,8$, $df = 12$, $\rho = 0,015$, Student's test). Intergroup statistically significant differences were observed in the female rats (Newman-Keuls test, $\rho = 0,046$). The values of the coefficients $Z_{10\backslash 120}$ and $Z_{40\backslash 120}$ in the females with pulmonary hypertension were significantly lower ($Z_{40\backslash 120}$: $1,075 \pm 0,012$ in comparison with $1,097 \pm 0,019$, $t = 3,2$, $df = 19$, $\rho = 0,0046$, Student's test) compared to the control (Figure 2).

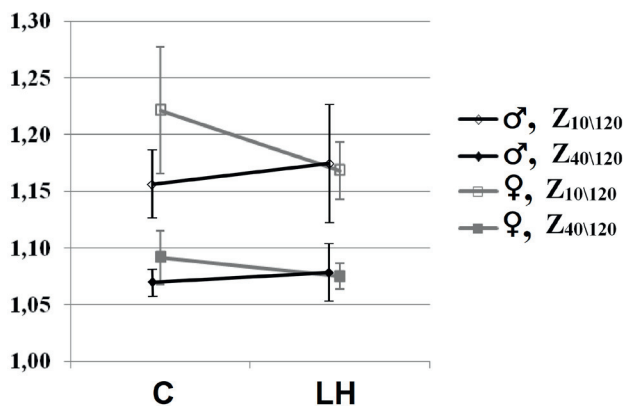


Figure 2. The result of two-way analysis of variance for the ratios $Z_{10\backslash 120}$ and $Z_{40\backslash 120}$ of the amplitudes of the bioelectric impedance of the body of Wistar rats: the interaction of the factors «gender»*«group».

Legend:

On the abscissa axis: C — control groups, LH — group of males or females with pulmonary hypertension.

On the ordinate axis: $Z_{10\backslash 120}$ and $Z_{40\backslash 120}$ — the polarization coefficients (the ratio of the amplitudes of the bioelectric impedance of the rats' body at low (10 or 20 kHz) and high (120 kHz) current frequencies).

Table 2

The amplitude of the bioelectric impedance of the body in the male and female rats in the control and with pulmonary hypertension

The frequency of a current, kHz	Group of animals and the amplitude of the bioelectric impedance of the body, Ohm/cm	Group of animals and the amplitude of the bioelectric impedance of the body, Ohm/cm	The value of the achieved level of statistical significance according to the Bonferroni criterion	The value of the Student criterion and the achieved level of statistical significance (8 comparisons)
5	4: 116,1±18,0	2: 89,1±15,1	$\rho=0,030$	$t=-3,5$, $df=18$, $\rho=0,003$
	3: 71,8±21,0	4: 116,1±18,0	$\rho=0,0003$	$t=-4,9$, $df=17$, $\rho=0,0001$
		1: 117,3±26,2	$\rho=0,002$	
10	4: 113,1±17,4	2: 83,7±14,3	$\rho=0,021$	$t=-4,1$, $df=19$, $\rho=0,0006$
	3: 68,1±20,3	4: 113,1±17,4	$\rho=0,0003$	$t=-5,3$, $df=18$, $\rho=0,00005$
		1: 114,4±25,8	$\rho=0,003$	$t=3,6$, $df=11$, $\rho=0,004$
40	4: 104,1±16,6	2: 77,5±13,4	$\rho=0,031$	$t=-4,1$, $df=20$, $\rho=0,0006$
	3: 57,5±19,7	4: 104,1±16,6	$\rho=0,0004$	$t=-6,0$, $df=20$, $\rho=0,000007$
		1: 106,0±24,5	$\rho=0,003$	$t=4,2$, $df=13$, $\rho=0,001$
120	4: 96,8±15,4	2: 72,0±13,1	$\rho=0,031$	$t=-4,0$, $df=20$, $\rho=0,0007$
	3: 52,7±18,1	4: 96,8±15,4	$\rho=0,0004$	$t=-6,2$, $df=20$, $\rho=0,000005$
		1: 99,1±23,2	$\rho=0,002$	$t=4,3$, $df=13$, $\rho=0,0009$

Note: 1 — males in the control group of rats, 2 — males with pulmonary hypertension, 3 — females in the control group, 4 — females with pulmonary hypertension

A decrease in the ratio of the body impedance amplitudes at low and high current frequencies was noted in postoperative edema and impaired renal and cardiac function [27]. The coefficient has a significant relationship with the level of creatinine and albumin in the blood, and is a marker of inflammation in patients with kidney disease [28, 29]. The resistance of the human body at low current frequency is significantly lower in chronic diseases of the respiratory and cardiovascular systems, the difference between the impedances at low and high current frequency is noticeably reduced, indicating cell damage associated with the disease [30, 28].

Significant changes in the ratios of the amplitudes of the bioelectric impedance of the body in the female rats with pulmonary hypertension compared to the control may indicate inflammation with monocrotaline lesion. No observed gender differences in the polarization coefficients of the body of the rats with pulmonary hypertension were noted in the control group of animals.

Conclusion

Bioimpedance spectroscopy revealed significant differences in the amplitudes and polarization coefficients of the bioelectrical impedance of the body in the rats with experimentally induced pulmonary hypertension compared to the control, indicating the accumulation of extracellular fluid in the body of the males and the inflammatory process in the females. With monocrotaline-induced pulmonary hypertension, greater hypertrophic changes in the heart were detected in the male rats compared to the females. The shown gender differences in the amplitude of the bioelectric impedance of the rats' body may indicate a more pronounced manifestation of pulmonary hypertension in the males compared to the females.

REFERENCES

1. Simonneau G., Galiè N., Rubin L.J., Langleben D., Seeger W., Domenighetti G. et al. Clinical classification of pulmonary hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004; 43(12): 5S-12S
2. Komukai K., Mochizuki S., Yoshimura M. Gender and the rennin-angiotensin-aldosterone system. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2010; 24(6): 687-698.
3. Maric-Bilkan C., Manigrasso M.B. Sex differences in hypertension: contribution of the renin-angiotensin system. *Gend. Med. Excerpta Medica.* 2012; 9(4): 287-291.
4. Batton K.A., Austin C.O., Bruno K.A., Burger C.D., Shapiro B.P., Fairweather D. Sex differences in pulmonary arterial hypertension: role of infection and autoimmunity in the pathogenesis of disease. *Biol. Sex Differ.* 2018; 9(1): 15.
5. Austin E.D., Lahm T., West J., Tofovic S.P., Johansen A.K., Maclean M.R., Alzoubi A., Oka M. Gender, sex hormones and pulmonary hypertension. *Pulm. Circ.* 2013; 3(2): 294-314.
6. Morimatsu Y., Sakashita N., Komohara Y., Ohnishi K., Masuda H., Dahan D. et al. Development and characterization of an animal model of severe pulmonary arterial hypertension. *J. Vasc. Res.* 2012; 49(1): 33-42.
7. Gomez-Arroyo J.G., Farkas L., Alhussaini A.A., Farkas D., Kraskauskas D., Voelkel N.F. et al. The monocrotaline model of pulmonary hypertension in perspective. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2012; 302(4): L363-369.
8. Tornuev Yu.V., Nepomnyashchikh D.L., Nikityuk D.B., Lapiy G.A., Molodoy O.P., Nepomnyashchikh R.D. and other. Diagnostic capabilities of non-invasive bioimpedansometry. *Basic research.* 2014; (10-4): 782-788 (in Russ).
9. Dittmar M. Reliability and variability of bioimpedance measures in normal adults: effects of age, gender, and body mass. *Am. J. Phys. Anthropol.* 2003; 122(4): 361-370.
10. Kuchnia A.J., Teigen L.M., Cole A.J., Mulasi U., Gonzalez M.C., Heymsfield S.B. et al. Phase Angle and Impedance Ratio: Reference Cut-Points From the United States National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2004 From Bioimpedance Spectroscopy Data. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition.* 2017; 41(8): 1310-1315.
11. Stenmark K.R., Meyrick B., Galie N., Mooi W.J., McMurtry I.F. Animal models of pulmonary arterial hypertension: the hope for etiological discovery and pharmacological cure. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2009; 297(6): L1013-1032.
12. Kay J.M., Suyama K.L., Keane P.M. Failure to show decrease in small pulmonary blood vessels in rats with experimental pulmonary hypertension. *Thorax.* 1982; 37: 927-930.
13. Balestra G.M., Mik E.G., Eerbeek O., Specht P.A., van der Laarse W.J., Zuurbier C.J. Increased in vivo mitochondrial oxygenation with right ventricular failure induced by pulmonary arterial hypertension: mitochondrial inhibition as driver of cardiac failure? *Respir. Res.* 2015; 16: 6.
14. Rafikova O., Rafikov R., Meadows M.L., Kangath A., Jonigk D., Black S.M. The sexual dimorphism associated with pulmonary hypertension corresponds to a fibrotic phenotype. *Pulm. Circ.* 2015; 5(1): 184-97.
15. Nadadur R.D., Umar S., Wong G., Eghbali M., Iorga A., Matori H. et al. Reverse right ventricular structural and extracellular matrix remodeling by estrogen in severe pulmonary hypertension. *J. Appl. Physiol.* 2012; 113(1): 149-158.
16. Balakin A.A., Kuznetsov D.A., Lisin R.V., Mukhlyina E.A., Protsenko Yu.L. Gender-specific adaptation of regulatory mechanisms of myocardial contractility to external load. *Bulletin of the Ural Medical Academic Science.* 2013; (2): 39-43. (In Russian).
17. Lookin O., Kuznetsov D., Protsenko Y. Sex differences in stretch-dependent effects on tension and Ca(2+) transient of rat trabeculae in monocrotaline pulmonary hypertension. *J. Physiol. Sci.* 2015; 65(1): 89-98.
18. Yuan P., Wu W.H., Gao L., Zheng Z.Q., Liu D., Mei H.Y. et al. Oestradiol ameliorates monocrotaline pulmonary hypertension via NO, prostacyclin and endothelin-1 pathways. *Eur. Respir. J.* 2013; 41(5): 1116-1125.
19. Umar S., Iorga A., Matori H., Nadadur R.D., Li J., Maltese F. et al. Estrogen rescues preexisting severe pulmonary hypertension in rats. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 184(6): 715-723.
20. Farhat M.Y., Chen M.F., Bhatti T., Iqbal A., Cathapermal S., Ramwell P.W. Protection by oestradiol against the development of cardiovascular changes associated with monocrotaline pulmonary hypertension in rats. *Br. J. Pharmacol.* 1993. 110(2): 719-723.
21. Tornuev Yu.V., Hachatryan R.G., Hachatryan A.P., Mahnev V.P., Osenniy A.S. *Elektricheskiy impedans biologicheskikh tkaney [Electrical impedance of biological tissues].* Moscow: Izd-vo VZPI. 1990. 155 p. (In Russian).
22. Amorós-Figuera G., Jorge E., García-Sánchez T.,

- Bragós R., Rosell-Ferrer J., Cinca J. Recognition of Fibrotic Infarct Density by the Pattern of Local Systolic-Diastolic Myocardial Electrical Impedance. *Front Physiol.* 2016. 31 (7): 389.
23. Ogata T., Shibagaki T., Kamma H., Yokose T., Iizima T. Alveolar damage: epithelial damage and endothelial damage. *Journal of Toxicologic Pathology.* 1989. 2(2): 223-240.
24. Yavuz T., Uzun O., Macit A., Comunoglu C., Yavuz O., Silan C. et al. Pyrrolidine dithiocarbamate attenuates the development of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension. *Pathol. Res. Pract.* 2013. 209(5): 302-308.
25. Kolomeyets N.L., Suslonova O.V., Smirnova S.L., Gulyaeva A.S., Roshchevskaya I.M. Bioelectrical impedance parameters of the lung in female wistar rats with experimental pulmonary hypertension. *Russian Physiological Journal named after I.M. Sechenov.* 2019; 105(8): 1041-1053. (In Russian).
26. Kolomeyets N.L., Suslonova O.V., Smirnova S.L., Roshchevskaya I.M. Bioelectrical impedance of the body in rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Biomedicine.* 2019; 15(1): 95-101. (In Russian).
27. Earthman C.P. Body Composition Tools for Assessment of Adult Malnutrition at the Bedside: A Tutorial on Research Considerations and Clinical Applications. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition.* 2015; 39(7): 787–822.
28. Demirci C., Aşçı G., Demirci M.S., Özkahya M., Töz H., Duman S. et al. Impedance ratio: a novel marker and a powerful predictor of mortality in hemodialysis patients. *Int. Urol. Nephrol.* 2016. 48(7): 1155-1162.
29. Valdespino-Trejo A., Orea-Tejeda A., Castillo-Martínez L., Keirns-Davis C., Montañez-Orozco A., Ortíz-Suárez G. et al. Low albumin levels and high impedance ratio as risk factors for worsening kidney function during hospitalization of decompensated heart failure patients. *Exp. Clin. Cardiol.* 2013; 18(2): 113-117.
30. de Blasio F., de Blasio F., Miracco Berlingieri G., Bianco A., La Greca M., Franssen F.M. et al. Evaluation of body composition in COPD patients using multifrequency bioelectrical impedance analysis. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2016: 11: 2419-2426.

Authors

Natalia L. Kolomeyets
 Federal Research Centre “Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences”
 Cand. Sci. (Physics and Mathematics), Researcher of the departure of Comparative Cardiology
 24, Kommunisticheskaya str., Syktyvkar, Komi Republic, Russian Federation, 167982
 nat.kolomeyets@gmail.com

Olga V. Suslonova
 Federal Research Centre “Komi Science Centre of the Ural

Branch of the Russian Academy of Sciences”
 Researcher of the departure of Comparative Cardiology
 24, Kommunisticheskaya str., Syktyvkar, Komi Republic, Russian Federation, 167982
 evgeniu2006@inbox.ru

Svetlana L. Smirnova
 Federal Research Centre “Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences”
 Cand. Sci. (Bio.), Head of the departure of Comparative Cardiology
 24, Kommunisticheskaya str., Syktyvkar, Komi Republic, Russian Federation, 167982
 smirnova.sl@mail.ru

Irina M. Roschevskaya
 Federal State Budgetary Institution “Research Zakusov Institute Of Pharmacology”, Moscow
 Corresponding Member RAS, Chief Researcher
 8, Baltiyskaya st., Moscow, 125315, Russian Federation
 compcard@mail.ru