

2014.- Vol.31(7).- P.373-380.
7. Cadmium sulfide nanoparticles prepared by

chemical bath deposition /N.S.
Kozhevnikova, A.S. Vorokh, A.A.

Uritskaya//Russian Chemical Reviews.-
2015.- Vol.84(3).- P.225-250.

Апыхтина Е.Л.

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ЭКСПОЗИЦИИ ХЛОРИДОМ КАДМИЯ И НАНОЧАСТИЦАМИ СУЛЬФИДА КАДМИЯ РАЗНЫХ РАЗМЕРОВ

Резюме. В статье представлены результаты исследования изменений биохимических показателей в сыворотке крови крыс линии Вистар после 30 и 60 внутрибрюшинных введений $CdCl_2$ и $NH_4 CdS$ размером 4-6 и 9-11 нм в дозе 0,08 мг/кг/сут в пересчете на кадмий и через 1,5 месяца после прекращения экспозиции. Выявленные изменения свидетельствуют о нарушении белкового, липидного и углеводного обмена, токсическое поражение печени, почек и сердца после экспозиции исследуемыми соединениями кадмия.

Ключевые слова: кадмий, наночастицы, биохимические показатели.

Apykhtina O.L.

CHANGES OF THE BIOCHEMICAL INDICATORS OF THE SERUM OF THE BLOOD OF EXPERIMENTAL ANIMALS AFTER EXPOSITION BY CHLORIDE CADMIUM AND NANOPARTICLES OF CADMIUM SULFIDE OF DIFFERENT SIZES

Summary. The article presents the results of the study of changes in biochemical parameters in the blood serum of Wistar rats after 30 and 60 intraperitoneal injections of $CdCl_2$ and NP CdS with the size of 4-6 nm and 9-11 nm in a dose of 0,08 mg/kg/day in terms of cadmium and after 1,5 months after the termination of the exposition. The revealed changes indicate the violation of protein, lipid and carbohydrate metabolism, toxic damage to the liver, kidneys and heart after exposure to the investigated cadmium compounds.

Key words: cadmium, nanoparticles, biochemical indices.

Рецензент - д.мед.н., проф. Ходаківський О.А.

Стаття надійшла до редакції 23.12.2016 р.

Апыхтина Елена Леонидовна - к.мед.н., с.н.с. лабораторії промислової токсикології та гігієни праці при використанні хімічних речовин ДУ "Інститут медицини праці НАМН України"; ol_apyht@ukr.net

© Власенко Ок.В., Чайковська О.В., Рокунець І.В., Барзак Н.С., Власенко Ол.В.

УДК: 612.172.4:57.017.4:616-71

Власенко Ок.В., Чайковська О.В., Рокунець І.Л., Барзак Н.С., Власенко Ол.В.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра нормальної фізіології (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

НОВА МЕТОДИКА ОЦІНКИ ПРОВІДНОСТІ МІОКАРДА В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Резюме. Оцінка змін основних властивостей міокарда, таких як провідність, збудливість і автоматія - є важливою складовою при розробці та дослідженні в клініці нових лікарських препаратів. Електричну складову роботи серця оцінюють всебічно за допомогою електрофізіологічних методів на різних рівнях, починаючи від роботи іонних каналів і насосів, у процесі вивчення препаратів на доклінічному етапі, аж до методу електрокардіографії в клініці. Ми презентуємо нову методику оцінки ряду основних параметрів роботи серця за допомогою багатоканальної системи позаклітинного запису сумарного потенціалу дії кардіоміоцитів. Оригінальна система при оцінці ряду важливих параметрів роботи серця дозволяє об'єктивно оцінити таку властивість як провідність і порохувати швидкість проведення імпульсу, використовуючи міжелектродну затримку виникнення збудження під різними електродами.

Ключові слова: міокард, сумарний потенціал дії, багатоканальний електрод, позаклітинна реєстрація, провідність, доклінічні дослідження.

Вступ

Під час розробки нових ліків за міжнародними рекомендаціями [4] важливим етапом є різнофакторна оцінка впливу препаратів на міокард на різних рівнях, починаючи від рівня іонних каналів, нексусів, потенціалів дії (ПД) і аж до органу і цілісного організму [5, 6]. Тому на етапі доклінічних досліджень надзвичайно важливою є розробка методик, які дозволять швидко, прямо і з мінімальними витратами оцінити параметри роботи міокарда та їх зміну під впливом фармакологічних речовин. Важливими для оцінки ризику серцевої смерті характеристиками є оцінка ICr - швидкого випрямленого деполяризаційного струму, який забезпечується роботою HERG-каналів, інтервалу QT/QT

нормованого на RR електрокардіограми (ЕКГ), амплітуди ПД, частоти серцевих скорочень, швидкості проведення збудження міокардом [5, 9]. Загальноприйнятими методиками оцінки блокади HERG-каналів (відповідають за зміну ПД), яка клінічно виявляється подовженням інтервалу QT і розвитком аритмогенних ускладнень [9], а також є причиною раптової серцевої смерті є методики поляризаційного флюорисцентного аналізу і метод patch-clamp на клітинному рівні [5]. При дослідженні культури клітин in vitro і на працюючому серці при позаклітинній реєстрації сумарного ПД кардіоміоцитів, блокада HERG-каналів буде виявлятися як подовження тривалості комплексу збудження.

Тривалість комплексу збудження є еквівалентом інтервалу QT при реєстрації ЕКГ при оцінці ризику кардіальних ускладнень на моделях експериментальних лабораторних тварин і в науково-практичній медицині [7, 8].

У лабораторії експериментальної нейрофізіології Вінницького національного університету ім. М.І. Пирогова на основі багатоканальної телеметричної системи [1, 2] розроблений оригінальний пристрій для реєстрації позаклітинного сумарного ПД з міокарда в гострому експерименті. Ця методика є особливо цікавою тим, що дає можливість оцінити зміну електричних параметрів роботи серця як *in vitro*, при прямій дії препарату на клітини міокарду, так і *in vivo* в гострому експерименті, адже фармакологічна дія препаратів рідко буває селективною і викликає складні комплексні ефекти, які чітко можна зафіксувати лише в досліді при інших інтактних системах організму.

Мета роботи - розробити методику швидкої оцінки стану міокарду за основними показниками і електричними параметрами сумарного потенціалу дії на основі багатоканального електроду.

Матеріали та методи

Дослідження проведено в акредитованій науково-дослідній лабораторії експериментальної нейрофізіології ВНМУ ім. М.І. Пирогова (свід. про атестацію № 057/15 від 22.10.2015 року). Валідацію комплексу було проведено на чотирьох жабах *Xenopus laevis* відповідно до вимог біоетики згідно Національних "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (2001), що відповідають положенням Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються для експериментальних і інших цілей". Жаби були анестезовані ефірним наркозом, після чого були проведені декапітація і руйнування спинного мозку. Інтактне серце було видалене з перикарду. Дослідження проводилося при температурі 20°C після того як встановлювалася константна базова частота серцевих скорочень.

Позаклітинний сумарний потенціал реєструвався восьмиканальним "плаваючим" електродом, який уведено в міокард. Кожен електрод представляє собою вольфрамову електроізолювану голку діаметром 12 мкм. Пристрій для утримання електродів має два режими роботи - жорсткої фіксації для встановлення електроду та "плаваючий" під час реєстрації. Такий підхід дозволив значно покращити точність і якість запису при скороченні серця.

Блок-схему системи і принцип реєстрації позаклітинного сумарного ПД зображено на рис. 1 і рис. 2.

Зареєстрований позаклітинний потенціал кардіомі-



Рис. 1. Блок-схема електрофізіологічного комплексу для реєстрації сумарного потенціалу дії кардіоміоцитів.

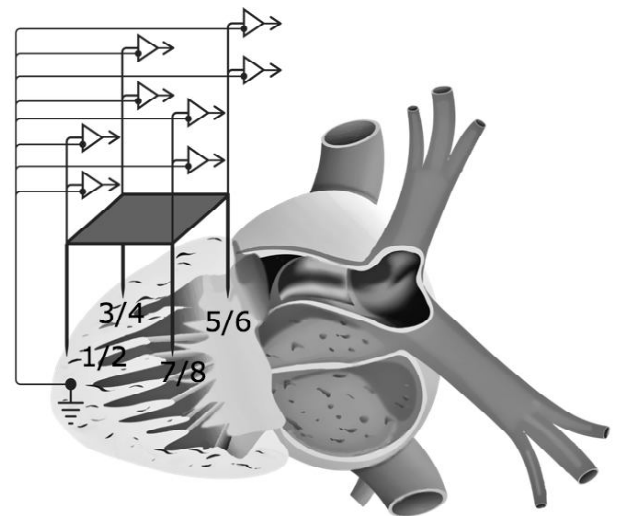


Рис. 2. Схема розташування електродів при позаклітинній реєстрації потенціалів дії кардіоміоцитів восьмиканальним електродом.

оцитів - електроміограма, отриманий з восьми каналів системи (рис. 3А) і суперпозиція восьмиканальної реєстрації (рис. 3Б).

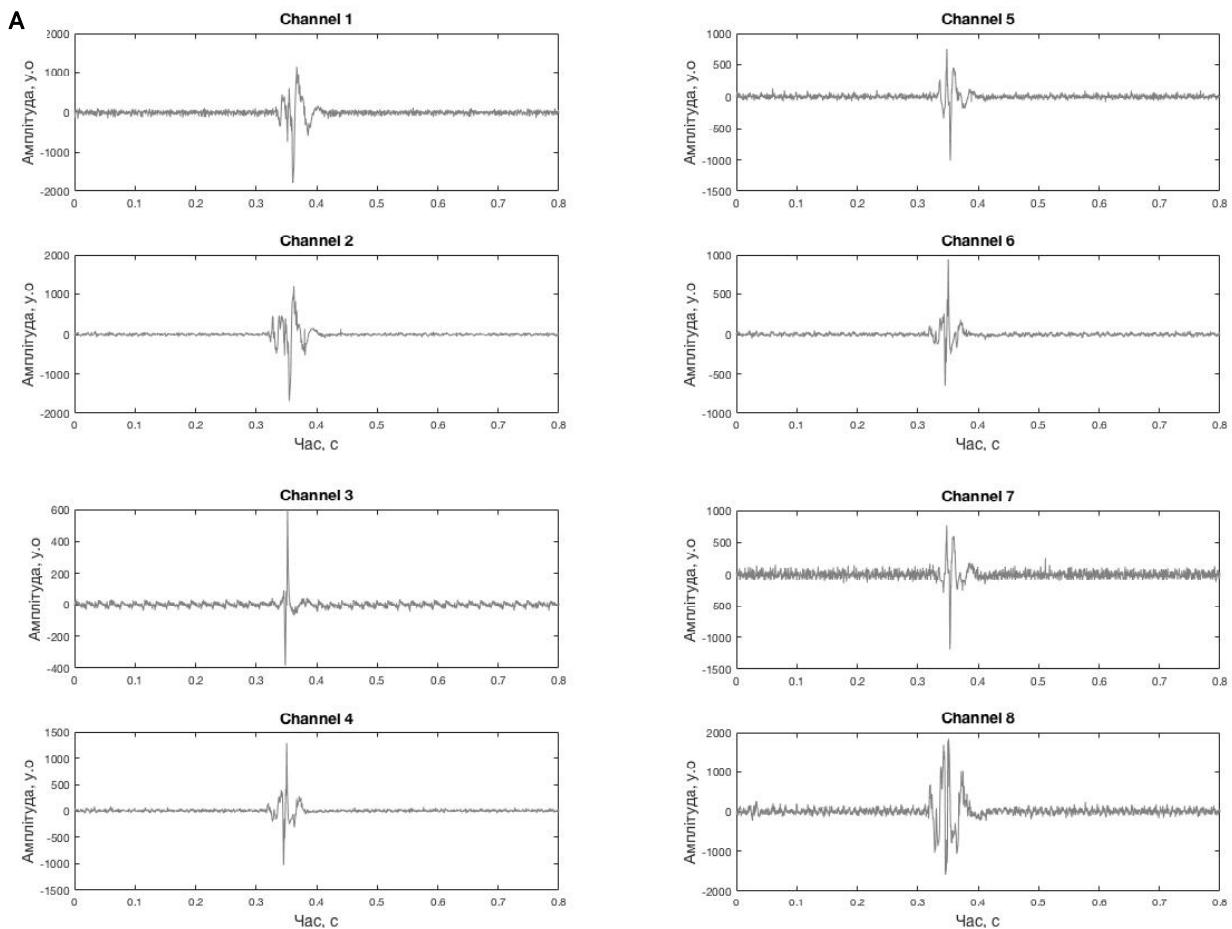
Отриманий сигнал було очищено від артефактів запису, обробка проводилася в середовищі Matlab, Mathworks.

За даними часових серій, отриманих з багатоканального реєструючого комплексу, обраховувалися електричні параметри роботи серця - частота серцевих скорочень, міжімпульсний інтервал, тривалість і амплітуда комплексів збудження, міжелектродна затримка проведення збудження, швидкість проведення збудження міокардом. Було проведено спектральний аналіз комплексів збудження методом віконного перетворення Фур'є.

Результати. Обговорення

В експерименті було отримано стабільні записи сумарного позаклітинного ПД міокарда з восьми каналів електроду. Комплекси збудження добре диференціювались візуально.

Для виокремлення комплексів збудження й обра-



хунку частоти серцевих скорочень (ЧСС) використано додаткову цифрову обробку сигналу методом ковзного середнього. Після згладжування сигналу була проведена ідентифікація комплексів збудження за реперними точками. За такі точки були взяті точки найбільших максимумів сумарного ПД, які є спільними для всіх комплексів, що підтверджується візуалізацією суперпозиції електроміографічних комплексів у межах одного каналу (рис. 4).

Далі були розраховані миттєва і середня ЧСС (склала 43.12 ± 0.12 ударів за хвилину), миттєва і середня амплітуда максимумів (склала 984.5 ± 30.3 ум. од). Наступний важливий параметр, який є непрямым аналогом інтервалу QT, і який ми можемо оцінити є тривалість комплексів збудження, яка становила $67,6 \pm 4.4$ мс, міжімпульсний інтервал склав 1327 ± 70 мс.

Усі перераховані параметри є важливими опорними величинами для оцінки стану роботи серця. Їх зміна при впливі фармакологічних речовин має провідне значення для оцінки дії препаратів на серцево-судинну систему та ризику серцево-судинних ускладнень.

На основі даних, отриманих з електрофізіологічного комплексу на "плаваючому" електроді також можливо оцінити міжелектродну часову затримку при реєстрації сумарного ПД на різних каналах і швидкість

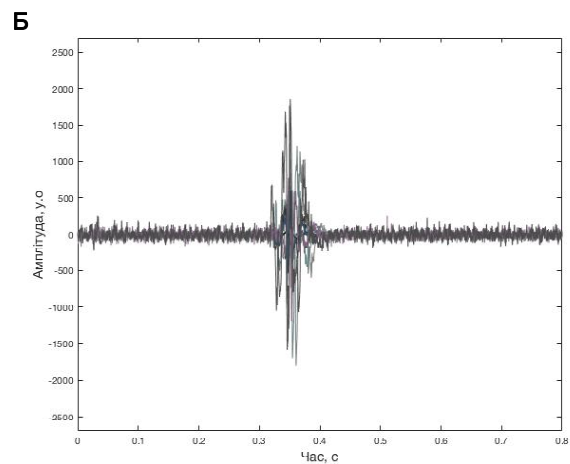


Рис. 3. Приклад відведення сумарних позаклітинних потенціалів дії (ПД) кардіоміоцитів по восьми каналах системи

А - записи ПД по окремих каналах.

Б - суперпозиція ПД.

Вісь абсцис - час в секундах, вісь ординат - амплітуда сигналу в умовних одиницях.

проведення збудження міокардом. Як відомо, імпульс генерується пейсмейкерними кардіоміоцитами сино-

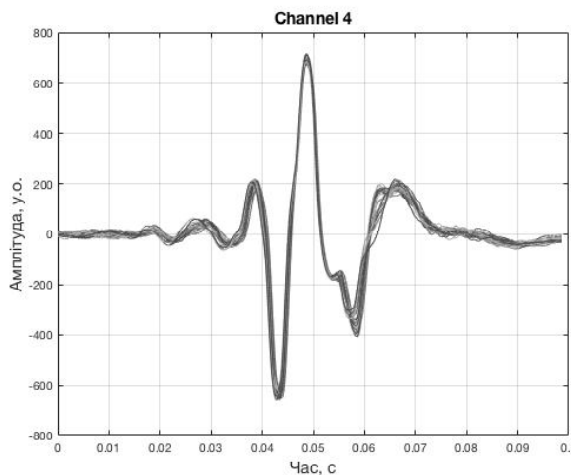


Рис. 4. Суперпозиція 29 сумарних потенціалів дії, отриманих по одному каналу. Вісь абсцис - час в секундах, вісь ординат - амплітуда сигналу в умовних одиницях.

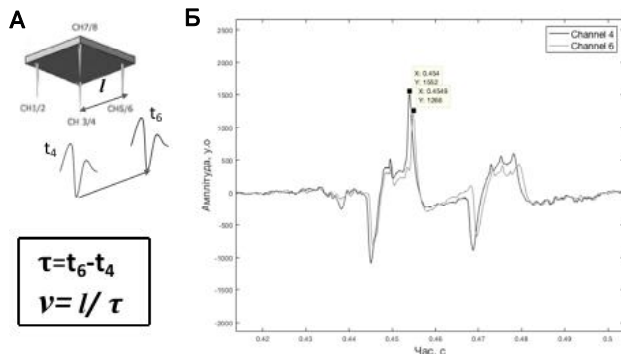


Рис. 5. Принцип розрахунку швидкості провідності міокарда:

А - збудження реєструється по двох каналах: в момент часу t_4 і в момент часу t_6 . Знаючи міжелектродну різницю l відстань між електродами і - рахується швидкість проведення збудження v .

Б - на електроміограмі зображено сигнал, отриманий по двох каналах системи. По координатах максимумів комплексу збудження візуалізується міжелектродна часова затримка. Вісь абсцис - час в секундах, вісь ординат - амплітуда сигналу в умовних одиницях.

атріального вузла, після чого клітинами провідної системи переходить з передсердь на шлуночки й тоді запускає скорочення робочого міокарда шлуночка. На рис. 5А схематично зображено процес реєстрації збудження електродом. Встановлюючи електроди в різних відділах серця електричне збудження спочатку буде реєструватися на каналі 4 в момент часу t_4 і досягне електрода 6 в момент часу t_6 . Знаючи відстань між електродами і міжелектродну часову затримку $\tau = t_6 - t_4$, ми маємо можливість визначити швидкість проведення збудження, яка дорівнюватиме $v = l / \tau$ (рис. 5Б). В експерименті ця швидкість склала 2.63 ± 2.31 м/с.

Комплекси збудження в цілому мали складну осцилюючу форму з декількома локальними максимумами й мінімумами. У ряді робіт була вивчена й доведена діаг-

ностична цінність спектральних характеристик різних елементів ЕКГ, які можуть слугувати додатковими маркерами різних патологічних станів, як то ішемії міокарду, проаритмогенних станів, тощо [3, 10]. Проведений нами спектральний аналіз комплексів виявив схожу спектральну характеристику комплексів збудження при нормальній базовій роботі серця в експерименті (рис. 6).

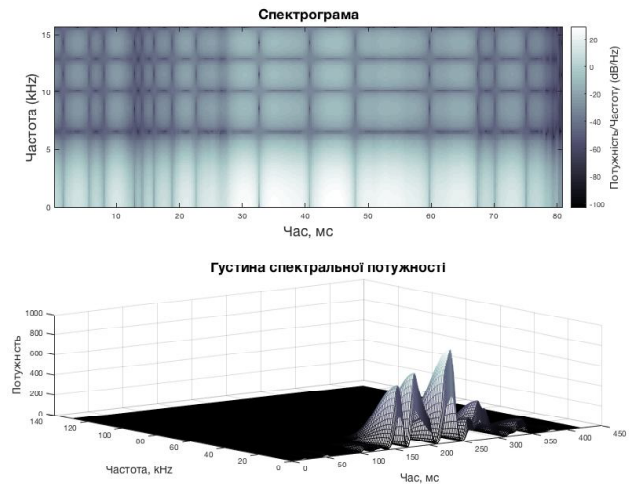


Рис. 6. Спектральне представлення одиночного сумарного потенціалу дії кардіоміоцитів, отримане методом віконного перетворення Фур'є.

Висновки та перспективи подальших розробок

У лабораторії експериментальної нейрофізіології ВНМУ ім. М.І. Пирогова розроблено метод реєстрації сумарної електричної активності кардіоміоцитів "плаваючим" восьмиканальним електродом, який дозволяє отримати нові показники діяльності серця.

1. Шляхом порівняння часових параметрів виникнення ПД кардіоміоцитів під різновіддаленими електродами встановлено швидкість розповсюдження збудження міокардом.

2. На основі аналізу амплітуди, частоти виникнення, тривалості, спектральної характеристики електроміографічних комплексів встановлені нормальні параметри функціонування препарату серця жаби.

3. "Плаваюча" система електродів дозволяє отримувати сигнал високої якості, стабільної форми, амплітуди при тривалому розташуванні електродів у міокарді.

На основі оцінки міжелектродної часової різниці, поряд із показником інтервалу QT на електрокардіограмі, а також шляхом аналізу амплітуди, частоти виникнення, тривалості, спектральної характеристики електроміографічних комплексів. У майбутньому можна досліджувати ефективність дромотропного, інотропного, хронотропного ефектів нових фармакологічних препаратів. Надалі ми плануємо розширити застосування даної системи для малоінвазивної оцінки роботи міокарда на інших видах лабораторних тварин і на культурах клітин.

Список літератури

1. Власенко ОВ, Рокунець ІЛ, Чечель ВВ. Телеметрична восьмиканальна система передачі фізіологічних параметрів лабораторних тварин. Актуал. пробл. сучас. медицини; 10: 9-14.
2. Пат. 55671 UA, МПК А61В 5/04. Багато-канальний пристрій для телеметричної передачі потенціалів дії нейронів головного та спинного мозку / Чечель В.В., Власенко О.В., Рокунець І.Л. (UA); Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (UA). - № у 2010 05836; Заяв. 14.05.2010; Опубл. 27.12.2010, Бюл. № 24.
3. Burri H, Chevalier P, Arzi M, Rubel P, Kirkorian G, Touboul P. Wavelet transform for analysis of heart rate variability preceding ventricular arrhythmias in patients with ischemic heart disease. International journal of cardiology. 2006 Apr 28; 109(1): 101-7.
4. Food and Drug Administration, HHS. ICH: S7B nonclinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals. Fed. Regist. 2005; 70: 61133-4.
5. Gintant G, Sager PT, Stockbridge N. Evolution of strategies to improve preclinical cardiac safety testing. Nature Reviews Drug Discovery. 2016 Jul 1; 15(7): 457-71.
6. Guth BD. Preclinical cardiovascular risk assessment in modern drug development. Toxicological Sciences. 2007 Mar 9; 97(1): 4-20.
7. Meyer T, Boven KH, Günther E, Fejtl M. Micro-electrode arrays in cardiac safety pharmacology. Drug Saf. 2004 Jan 1; 27(11): 763-72.
8. Pradhapan P, Kuusela J, Viik J, Aalto-Setälä K, Hyttinen J. Cardiomyocyte MEA data analysis (CardioMDA)-a novel field potential data analysis software for pluripotent stem cell derived cardiomyocytes. PloS one. 2013 Sep 19; 8(9): e73637.
9. Rampe D, Brown AM. A history of the role of the hERG channel in cardiac risk assessment. Journal of pharmacological and toxicological methods. 2013 Aug 31; 68(1): 13-22.
10. Tsutsumi T, Takano N, Matsuyama N, Higashi Y, Iwasawa K, Nakajima T. High-frequency powers hidden within QRS complex as an additional predictor of lethal ventricular arrhythmias to ventricular late potential in post-myocardial infarction patients. Heart Rhythm. 2011 Oct 31; 8(10): 1509-15.

Власенко Ок.В., Чайковская О.В., Рокунец І.Л., Барзак Н.С., Власенко Ол.В.

НОВАЯ МЕТОДИКА ОЦЕНКИ ПРОВОДИМОСТИ МИОКАРДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. Оценка основных параметров миокарда, таких как проводимость, возбудимость и автоматия - важная часть разработки новых препаратов и оценки их действия в клинической практике. Электрическую составляющую сердечной деятельности оценивают всесторонне и на разных уровнях, начиная с уровня ионных каналов и насосов на доклиническом этапе и заканчивая методом электрокардиографии в клинике. Мы представляем новую методику оценки ряда основных параметров работы сердца с помощью многоканальной системы внеклеточной записи суммарного потенциала действия кардиомиоцитов. Эта система при оценке целого ряда важных параметров позволяет также оценить проводимость и рассчитать скорость проведения импульса, используя межэлектродную временную задержку возникновения возбуждения под разными электродами.

Ключевые слова: миокард, суммарный потенциал действия, многоканальный электрод, внеклеточная регистрация, проводимость, доклинические исследования.

Vlasenko Ok.V., Chaikovska O.V., Rokunets I.L., Barzak N.S., Vlasenko Ol.V.

A NEW TECHNIQUE FOR MEASURING THE MYOCARDIAL CONDUCTIVITY

Summary. Measuring of basic properties of myocardium: conductivity, excitability and automaticity is an important step in novel drug development. Basic electrical properties the state of heart cycle and myocardium should be estimated on the different structural level starting from the level of ion channels and pumps at preclinical stage and up to the level of whole organism in hospitals. We have presented the new technique for measuring the most important parameters of myocardium with multichannel extracellular recording system. We can assess the series of key properties of myocardium and calculate the myocardial conduction velocity with our electrophysiological system.

Key words: myocardium, field potential, multichannel electrode, extracellular recordings, conductance, preclinical studies.

Рецензент - д.мед.н., проф. Йолтухівський М.В.

Стаття надійшла до редакції 28.12.2016р.

Власенко Оксана Володимирівна - асистент кафедри нормальної фізіології ВНМУ ім. М.І. Пирогова; oxana.dzerelov@gmail.com
 Чайковська Ольга Валеріївна - студентка 6 курсу ВНМУ ім. М.І. Пирогова; tchaikovska@gmail.com
 Рокунець Ігор Леонідович - к.мед.н., доцент кафедри нормальної фізіології ВНМУ ім. М.І. Пирогова; rokunets@vnm.edu.ua
 Барзак Надія Сергіївна - студентка 4 курсу ВНМУ ім. М.І. Пирогова; rasmuska1996@gmail.com
 Власенко Олег Володимирович - д.мед.н., професор, проректор з наукової роботи ВНМУ ім. М.І. Пирогова; vlasenko@vnm.edu.ua

© Kyrychenko Yu.V., Sarafinuk L.A., Lishchyshyn G.V., Ivanova Ye.I., Romanenko O.I.

UDC: 591.112.2:616-053.7:796

Kyrychenko Yu.V., Sarafinuk L.A., Lyshyshyn G.V., Ivanova Ye.I., Romanenko O.I.

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Department of Physical Education and Therapeutic Physical Culture, (56 Pirogova St., Vinnytsya, 21018, Ukraine)

SEXUAL FEATURES OF THE TIME CHARTS OF THE ELECTROCARDIOGRAM IN YOUNG PEOPLE WHO ARE ENGAGED AND NOT ENGAGED IN SPORTS

Summary. The article specifies the features of electrocardiographic indices in young people depending on gender and sport. It is