

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
“КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО”
Факультет електроніки
Кафедра електронної інженерії

До захисту допущено
Завідувач кафедри
_____ В. І. Тимофєєв
“___” _____ 20__ р.

Дипломна робота

освітнього рівня «бакалавр»
за спеціальністю 153 мікро– та наносистемна техніка

на тему: «Моделювання впливу лікарських препаратів на функціональну активність серцевих клітин»

Виконав(ла) студентка 4 курсу, групи ДМ–91
Дмитренко Дарина Анатоліївна
(прізвище, ім'я, по батькові)

_____ (підпис)

Керівник доц. каф. ЕІ доц., к.т.н. Іванушкіна Н.Г.
(посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище та ініціали)

_____ (підпис)

Рецензент доц. каф. МЕ к.т.н., доц. Коваль В.М.
(посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище та ініціали)

_____ (підпис)

Засвідчую, що у цій дипломній роботі немає запозичень з праць інших авторів без відповідних посилань.

Студент _____ (підпис)

Київ – 2023 року

**Національний технічний університет України
“Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського”**

Факультет електроніки
Кафедра електронної інженерії
Освітній рівень «бакалавр»
за спеціальністю 153 мікро– та наносистемна техніка

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

_____ В. І. Тимофєєв
“ ___ ” _____ 20__ р.

**З А В Д А Н Н Я
НА ДИПЛОМНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ**

Дмитренко Дарина Анатоліївна

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Моделювання впливу лікарських препаратів на функціональну активність серцевих клітин»

керівник роботи доц. каф. ЕІ доц., к.т.н. Іванушкіна Н.Г.

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом по університету від “30” травня 2023 року № 2063-с

2. Строк подання студентом роботи 07 червня 2023

3. Вихідні дані до роботи Параметри фармацевтичних засобів для різних іонних каналів, а саме: концентрація речовини, IC50 та коефіцієнт Хілла.

4. Зміст дипломної роботи (перелік питань, які потрібно розробити 1. Структура та функціонування серця: анатомія та методи дослідження. 2. Вплив кардіотоксичних речовин на функціональність серця та його клітин. 3. Основні методи моделювання функціональної активності серцевих клітин. 4. Розробка математичної моделі впливу лікарських препаратів на функціональність кардіоміоцитів.

5. Перелік графічного (ілюстративного) матеріалу (із зазначенням обов'язкових креслень, плакатів, презентацій тощо): структура та робота серця людини; методи дослідження серцевих клітин; електрична активність клітин серця; результати моделювання.

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 13 лютого 2023

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів виконання дипломної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Дослідження літератури щодо роботи серця та методів дослідження серцевих клітин	09.02.2023– 15.03.2023	
2	Написання першого розділу диплому	16.03.2023– 27.03.2023	
3	Дослідження літератури щодо впливу лікарських засобів та методів моделювання функціональності серцевих клітин	01.04.2023– 14.04.2023	
4	Написання другого та третього розділу диплому	14.04.2023– 20.04.2023	
5	Розробка математичної моделі	21.04.2023– 15.05.2023	
6	Аналіз результатів	15.05.2023– 01.06.2023	
7	Оформлення диплому згідно вимог	03.06.2023– 07.06.2023	

Студент

_____ Дмитренко Д.А.
(підпис) (прізвище та ініціали)

Керівник роботи

_____ Іванушкіна Н.Г.
(підпис) (прізвище та ініціали)

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка: 90 с., 4 ч., 21 рис., 67 джерел.

КАРДІОТОКСИЧНІСТЬ, ЛІКИ, КАРДІОМІОЦИТИ, СЕРЦЕ, МОДЕЛЬ ПАРАЛЕЛЬНИХ ПРОВІДНОСТЕЙ

Метою даної роботи є моделювання та аналіз впливу ліків на функціональну активність серцевих клітин для виявлення кардіотоксичності препаратів.

Перший розділ присвячений огляду будови серця та його клітин, аналізу його електричної та механічної активності. Також в даному розділі розглянуто основні методи дослідження активності серця та серцевих клітин.

У другому розділі розглядаються кардіотоксичні властивості різних препаратів. Наведено певні види препаратів, які є найбільш використовуваними у лікарській практиці для лікування певних захворювань, і також аналізувались види лікарських засобів, що можуть виражати кардіотоксичність.

У третьому розділі розглядаються методи моделювання активності серця. Наведено приклад експериментальної моделі – технологія «серце-на-чипі» та її основні компоненти та приклад математичної моделі – це модель паралельних провідностей.

Четвертий розділ присвячений моделюванню потенціалу дії кардіоміоцитів та аналізу змін в електричній активності серцевих клітин під впливом різних препаратів. Проведено аналіз змін у формі, амплітуді та тривалості потенціалу дії для визначення змін у функціональній активності серця.

Моделювання електричної активності серця під впливом різних ліків може бути корисним як для аналізу кардіотоксичності препаратів, так і для виявлення протипоказань, пов'язаних з наявністю хвороб чи при вживанні інших ліків. Моделювання роботи клітин до проведення експериментальних досліджень може здешевити та пришвидшити розробку ліків.

ABSTRACT

Explanatory note: 90 pp., 4 c., 21 figures, 67 references.

CARDIOTOXICITY, DRUGS, CARDIOMYOCYTES, HEART, PARALLEL CONDUCTION MODEL

The purpose of this paper is to model and analyze the effect of drugs on the functional activity of cardiac cells to identify cardiotoxicity of drugs.

The first section is devoted to an overview of the structure of the heart and its cells, analysis of its electrical and mechanical activity. This section also describes the main methods of studying the activity of the heart and heart cells.

The second section discusses the cardiotoxic properties of various drugs. Certain types of drugs that are most commonly used in medical practice for the treatment of certain diseases are presented, and the types of drugs that can express cardiotoxicity are also analyzed.

The third section discusses methods of modeling cardiac activity. An example of an experimental model is given, i.e., the heart-on-a-chip technology and its main components, and an example of a mathematical model is given, i.e., the parallel conduction model.

The fourth chapter is devoted to modeling the cardiomyocyte action potential and analyzing changes in the electrical activity of cardiac cells under the influence of various drugs. Changes in the shape, amplitude, and duration of the action potential were analyzed to determine changes in the functional activity of the heart.

Modeling the electrical activity of the heart under the influence of various drugs can be useful both for analyzing the cardiotoxicity of drugs and for identifying contraindications associated with the presence of diseases or the use of other drugs. Modeling cell function prior to experimental studies can reduce the cost and speed up drug development.

ЗМІСТ

СКОРОЧЕННЯ ТА УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ	8
ВСТУП.....	10
1 СТРУКТУРА ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ СЕРЦЯ: АНАТОМІЯ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	11
1.1 Анатомічна будова серця та його фізіологія.....	11
1.2 Електрична та механічна активність серцевих клітин	18
1.3 Методи дослідження клітин серця	24
1.3.1 Імпедансний метод як неінвазивний спосіб дослідження механічної активності серця	26
1.3.2 Метод петч-кламп, як метод дослідження електричної активності серцевих клітин	33
1.3.3 Біопсія як інвазивний метод дослідження кардіоміоцитів	36
1.3.4 Конфокальна мікроскопія як метод візуалізації дослідження клітин серця	38
Висновок до розділу 1	46
2 ВПЛИВ КАРДІОТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ СЕРЦЯ.....	47
2.1 Фармакологічні препарати, як важливий фактор ризику виникнення кардіотоксичності.....	47
2.2 Вплив фармакологічних препаратів на функціональну активність серця	48
2.2.1 Розвиток кардіотоксичності під дією протипухлинних препаратів та хіміотерапії	48
2.2.2 Нестероїдні протизапальні препарати як причина виникнення кардіотоксичності.....	50

2.2.3 Антиаритмічні препарати як причина кардіотоксичності	52
Висновок до розділу 2	54
3 ОСНОВНІ МЕТОДИ МОДЕЛЮВАННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ СЕРЦЕВИХ КЛІТИН	56
3.1 Технологія «серце-на-чіпі» – експериментальний метод моделювання функціональності серця.....	56
3.2 Модель Ходжкіна-Хакслі як математичний метод моделювання функціональності серцевих клітин.....	59
Висновок до розділу 3	63
4 РОЗРОБКА МАТЕМАТИЧНОЇ МОДЕЛІ ВПЛИВУ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНІСТЬ КАРДІОМІОЦИТІВ	65
4.1. Розробка математичної моделі впливу препаратів на функціональну активність кардіоміоцитів	65
4.2 Дослідження та аналіз результатів моделювання.....	71
Висновок до розділу 4	80
ВИСНОВКИ.....	82
ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ.....	83

СКОРОЧЕННЯ ТА УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

- АВ вузол – атріовентрикулярний вузол
- АТФ – аденозинтрифосфат (аденозинтрифосфорна кислота)
- АФК – активні форми кисню
- ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
- ЕВ – електрична валосиметрія
- ЕДМ – езофагеальний доплерівський моніторинг
- ЕКГ – електрокардіографія
- ЕМБ – ендоміокардіальна біопсія
- ІІ – інсультний індекс
- ІКГ – імпедансна кардіографія
- ІЛР – індекс лівосторонньої роботи
- ІП – індекс прискорення
- ІПСК – індуковані плюрипотентні стовбурові клітини
- ІПСЧ – інтервал початкового систолічного часу
- ІССО – індекс системного судинного опору
- ІССЧ – індекс співвідношення систолічного часу
- ІСЧ – інтервал систолічного часу
- ІХ – індекс Хезера
- ІШ – індекс швидкості
- КСЧ – коефіцієнт систолічного часу
- ЛКА – ліва коронарна артерія
- ЛКТ – легеневий капілярний тиск
- МРТ – магнітно-резонансна томографія
- НПЗП – нестероїдні протизапальні препарати
- ПД – потенціал дії
- ПДМС – полідиметилсилоксан
- ПЕТ – позитронно-емісійна томографія

- ПКА – права коронарна артерія
- ПОТС – поперечно–осьова трубчаста система
- ППВ – період перед викидом
- ППТ – площа поверхні тіла
- ПШ – правий шлуночок
- РНК – рибонуклеїнова кислота
- СА вузол – синоатріальний вузол (синусовий вузол)
- САТ – середній артеріальний тиск
- СВ – серцевий викид
- СІ – серцевий індекс
- СР – саркоплазматичний ретикулум
- ССО – системний судинний опір
- УО – ударний об'єм
- ФВ – фракція викиду
- ЦВТ – центральний венозний тиск
- ЦОГ – циклооксигеназа
- ЧВ – час викиду
- ЧВЛШ – час викиду лівого шлуночка
- ЧСС – частота серцевих скорочень
- APD – action potential duration – тривалість потенціалу дії
- CAST – cardiac arrhythmia suppression trial – дослідження пригнічення
серцевої аритмії
- HER2 – human epidermal growth factor receptor 2 – рецептор 2 епідермального
фактору росту людини
- hERG – human Ether-a-go-go Related Gene – ген (KCNH2), який кодує білок,
відомий як KvII.1 , альфа-субодиниця каналу іонів калію
- MAPD – monophasic action potential duration – тривалість монофазного
потенціалу дії

ВСТУП

Кардіотоксичність, спричинена медикаментами, є значною проблемою як у доклінічному, так і клінічному дослідженні нових лікарських засобів. Це один з найсерйозніших побічних ефектів, пов'язаних з розробкою нових ліків, і відомо, що він спостерігається при різних класах лікарських засобів [1].

Кардіотоксичність не обмежується лише протипухлинними препаратами, антиаритмічними і майже всі класи лікарських засобів можуть мати непередбачувану кардіотоксичність. Однак особливу серйозність представляє кардіотоксичність, що виникає при довготривалому застосуванні препаратів, таких як препарати неврологічного або психіатричного призначення, або хіміотерапевтичні протипухлинні препарати. У таких випадках токсичність може стати очевидною лише після тривалого накопичення препарату або його метаболітів.

Оцінка ризику кардіотоксичності, спричиненою фармацевтичними препаратами, включаючи подовження інтервалу QT, стала необхідною складовою стандартного доклінічного аналізу нових хімічних сполук у сучасній практиці. Це вимагається робочою групою експертів Міжнародної конференції з гармонізації для всіх розроблюваних лікарських засобів [2].

Важливо зауважити, що протягом останніх чотирьох десятиліть близько 10% лікарських засобів були зняті з клінічного використання по всьому світу через проблеми з серцево-судинною безпекою [3]. Незважаючи на значні зусилля, спрямовані на виявлення кардіотоксичності на стадії доклінічної розробки лікарських засобів, проблема кардіотоксичності залишається невтішною з точки зору безпеки, переважно через недостатні знання про механізми кардіотоксичності.

1 СТРУКТУРА ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ СЕРЦЯ: АНАТОМІЯ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

1.1 Анатомічна будова серця та його фізіологія

Серце являє собою фіброзно–м'язовий порожнистий орган кровоносної системи, який відіграє ключову роль у кровообігу, забезпечуючи постачання кисню та поживних речовин до всіх органів і тканин. Воно розташоване у центрі грудної клітки людини, але, якщо подивитися на анатомічну модель людського тіла і умовно провести середню лінію, то по відношенню до неї, серце розташоване несиметрично, приблизно на 2/3 в лівій частині грудної порожнини [4].

Серце, як і багато інших органів в організмі, оточене захисними оболонками. Оболонки серця працюють синхронно, щоб забезпечити нормальну роботу серцево–судинної системи. Вони надають підтримку і захист серця, забезпечують його еластичність та гладкість руху, а також забезпечують правильний потік крові через серцеві камери та клапани. Оболонка складається з трьох шарів – епікарду, міокарда та ендокарда [5].

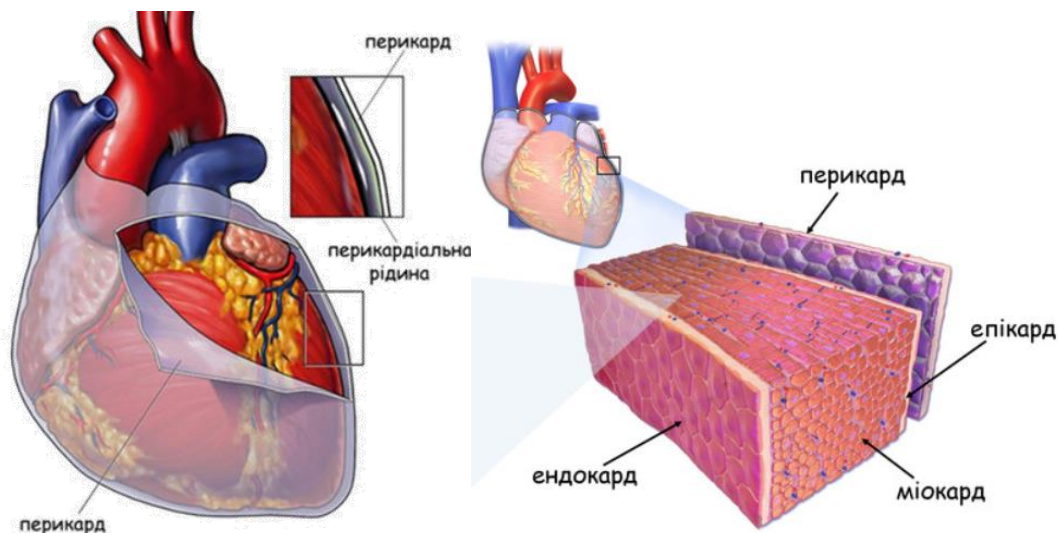


Рисунок 1.1 – Будова стінки серця людини [5]

Перикард є зовнішньою оболонкою серця, по суті являється тонким, але щільним мішком, в якому розташоване серце. Складається з двох шарів –

зовнішнього фіброзного шару та внутрішнього слизового шару. Зовнішній фіброзний шар є міцним та в'язким, і він захищає серце від зовнішніх ударів та пошкоджень. Внутрішній слизовий шар, відомий як синовіальна оболонка, виділяє рідину, яка зменшує тертя між перикардом та іншими оболонками серця, забезпечуючи гладку рухливість серця під час скорочення.

Епікард (вісцеральний перикард) – внутрішній шар перикарда, який безпосередньо прилягає до зовнішньої поверхні серця. Епікард покриває зовнішню поверхню серця, утворюючи найтонший шар серцевої стінки. Шар складається зі сполучної тканини та містить жирові клітини. Жирова тканина епікарда, відома як жировий гребінь, може бути присутньою на різних ділянках серця, особливо в областях між судинами.

У цілому, епікард виступає як захисний шар, який допомагає захистити серцевий м'яз від зовнішніх травм та ударів також він виробляє певну кількість рідини, яка допомагає знизити тертя між епікардом та парієтальним перикардом, полегшуючи рух серцевих стінок під час скорочень серця. Цей шар містить кровоносні судини, які живлять і його самого та серцевий м'яз.

Середнім шаром є міокард, який представляє собою м'язову тканину, що складається з скупчень міокардіальних клітин. Шар відповідає за скорочення серця та перекачування крові через судини. Цей середній шар між внутрішньою і зовнішньою оболонками має велику кількість кровоносних судин, які живлять його киснем і поживними речовинами. Щільно сплетена структура міокарда дозволяє серцю створювати потужні скорочення та підтримувати адекватний кровоток по всьому організму.

Ендокард є внутрішнім шаром оболонок серця і покриває внутрішню поверхню передсердь, шлуночків та клапанів серця. Складається з тонкого шару епітеліальних клітин, які утворюють гладку поверхню, яка запобігає утворенню згустків крові та сприяє нормальному руху крові. Також містить клапани серця, які контролюють потік крові між передсердями та шлуночками, запобігаючи зворотному потоку.

Серце людини є чотирикамерним. Складається з двох передсердь (лівого та правого) і двох шлуночків (лівого та правого).

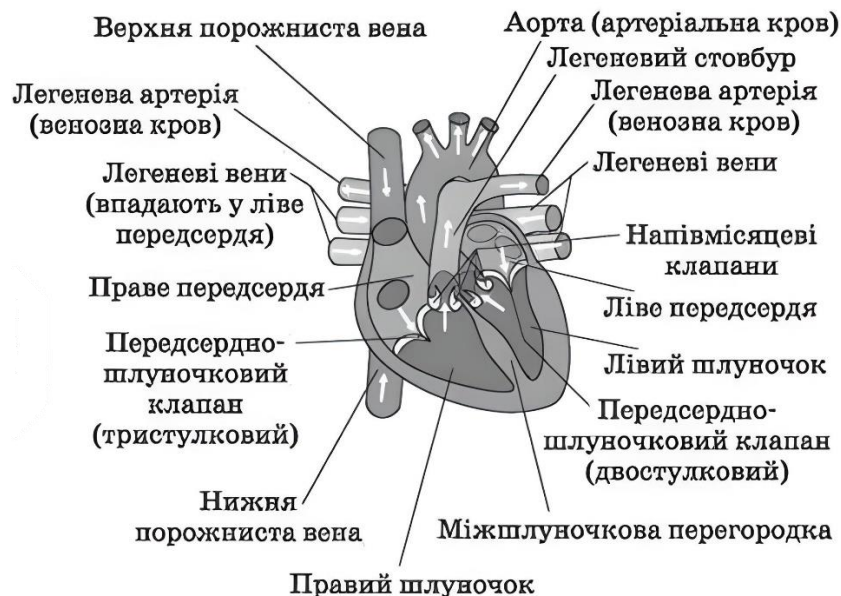


Рисунок 1.2 – Схематична будова серця людини [6]

Передсердя знаходяться у верхній частині серця, мають тонкі стінки, оскільки вони виконують функцію накопичення крові перед її перекачуванням у шлуночки. Це відрізняє їх від шлуночків, які мають товстіші стінки, оскільки їм потрібно створювати достатній тиск для прокачування крові у великі судини тіла. Передсердя також відрізняються формою – вони мають більш округлу форму порівняно зі шлуночками, які мають форму конусів.

Праве передсердя розташоване у верхній частині серця з правого боку. Воно отримує кров із венозної системи, зокрема, з верхньої та нижньої порожнини тіла. У правому передсерді є дві головні структури: венозні судини та трикутник Фаллопія, який з'єднує праве передсердя з правим шлуночком. Головна функція правого передсердя – прийом крові, що містить вуглекислий газ та інші продукти обміну речовин, і направлення її у правий шлуночок для подальшого перекачування до легень.

Так само, ліве передсердя розташоване у верхній частині серця з лівого боку. Воно отримує кров із легневих вен, які приводять оксигеновану кров із легень. Складається з легневих вен та мітрального клапану, який з'єднує ліве передсердя

з лівим шлуночком. Головна функція лівого передсердя – прийом крові, яка містить багато кисню та інші поживні речовини, і її передача у лівий шлуночок для подальшого перекачування у аорту та розподілу по всьому організму [7].

Шлуночки відповідають за перекачування крові у артеріальну систему. Правий шлуночок розташований у нижній частині серця і має форму конуса. Він з'єднаний з правим передсердям через м'язовий відросток, відомий як трикутник Фаллопія. Правий шлуночок має тонкі стінки, оскільки його головна функція полягає в перекачуванні крові у легеневу артерію. Кров, що надходить у правий шлуночок, містить вуглекислий газ та інші продукти обміну речовин, і вона прокачується в легеневу артерію, де відбувається газообмін, а кров насичується киснем.

У свою чергу, лівий шлуночок розташований у верхній частині серця і має більш округлу форму. Він з'єднаний з лівим передсердям через мітральний клапан. Має товсті стінки, оскільки він створює потужний тиск, щоб перекачати кров у найбільшу артерію організму – аорту. Кров, яка надходить у лівий шлуночок, є багата на кисень та інші поживні речовини, і вона перекачується в аорту, звідти розподіляється по всьому організму для забезпечення його потреб.

Кожен шлуночок має свій власний клапан, який регулює потік крові між передсердями та шлуночками. Серцеві клапани забезпечують односторонній потік крові через серце, запобігаючи її зворотному поверненню. Є два основних клапани: мітральний (двостулковий) клапан та трикуспідальний (тристулковий) клапан. Мітральний клапан розташований між лівим передсердям і лівим шлуночком, тоді як тристулковий клапан розташований між правим передсердям і правим шлуночком. Ці клапани відкриваються та закриваються синхронно з рухом крові, забезпечуючи односторонній потік у передньому напрямку.

Кровопостачання серця забезпечує доставку кисню і поживних речовин до серцевого м'язу, необхідних для його функціонування. Це здійснюється через спеціальну мережу кровоносних судин, яка складається з коронарних артерій та вен.

Коронарну артеріальну систему складають дві основні артерії: права коронарна артерія (ПКА) та ліва коронарна артерія (ЛКА). ЛКА виходить з лівої сторони основної аорти неподалік від аортального клапана і поділяється на дві гілки – передню і задню інтравентрикулярні артерії. Передня інтравентрикулярна артерія постачає кров до передньої частини міжшлуночкової перегородки, передньої частини лівого шлуночка та лівого передсердя. Задня інтравентрикулярна артерія живить задню частину міжшлуночкової перегородки та задню частину лівого шлуночка.

ПКА виходить з правої сторони основної аорти і також поділяється на дві гілки – передню міжшлуночкову артерію та праву коронарну артерію. Передня міжшлуночкова артерія постачає кров до передньої частини правого шлуночка та правої частини міжшлуночкової перегородки.

Кров, яка проходить через коронарні артерії, живить серцевий м'яз, надаючи йому необхідний кисень і поживні речовини. Кров, що надійшла до серця, розподіляється по судинах різних розмірів і проникає в глибину серцевого м'язу, з деякими з найменших коронарних артерій, відомими як мікросудини або капіляри. Капіляри пронизують шари серцевого м'язу, утворюючи мережу між окремими клітинами. Це забезпечує найбільш ефективне постачання кисню та харчових речовин до кожної клітини серцевого м'язу.

Після проходження через судини, кров збирається в коронарних венах, які ведуть її назад до серцевого правого передсердя. Найбільші коронарні вени – велика серцева вена (головна вена серця) і її притоки – збирають кров з різних частин серця. За допомогою синусу Венарум (синус порожнистих вен), ця кров потім відводиться у правий передсердний отвір серця, де вона потім пройде через легеневу артерію, щоб бути окисненою в легенях.

Це кровопостачання є необхідним для забезпечення достатньої кількості кисню та поживних речовин для м'язової тканини серця.

Процес електричної провідності в серці відіграє важливу роль у координації скорочень серцевих м'язів і забезпеченні правильного ритму серцевої діяльності. Цей процес контролюється спеціальною системою провідності.

Провідність електричних сигналів у серці забезпечується за допомогою спеціалізованих клітин, відомих як кардіоміоцити. Кардіоміоцити мають унікальні властивості, які дозволяють їм генерувати та проводити електричні імпульси.

Основні компоненти системи провідності включають (синусо-передсердний), атріовентрикулярний (передсердно-шлуночковий) вузол та пучок Гіса з його ніжками.

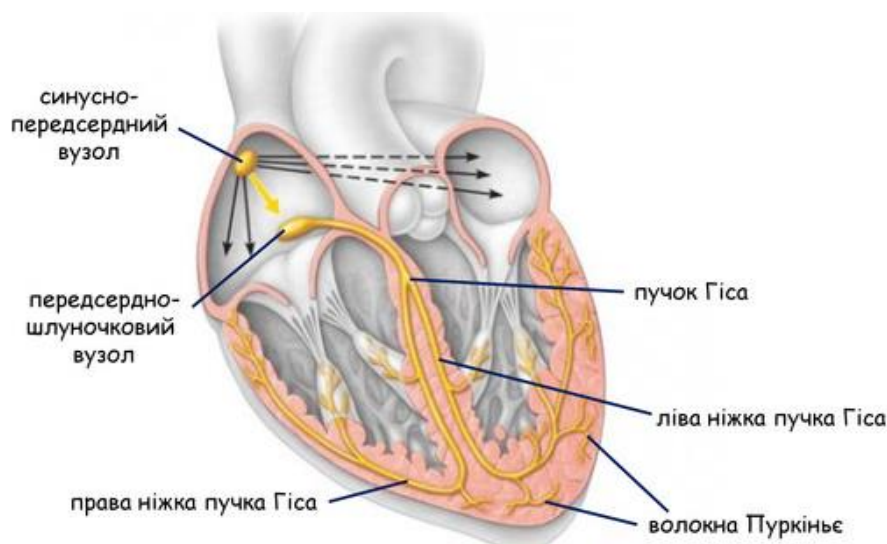


Рисунок 1.3 – Схематична модель провідної системи серця [5]

Синоатріальний вузол (СА вузол) складається зі спеціальних м'язових клітин, які часто називають пейсмейкерними клітинами, і знаходиться в правому передсерді серця близько синусової порожнистої вени. Синусовий вузол виступає як стимулятор серця, генеруючи електричні імпульси. Ці імпульси ініціюють скорочення передсердь, запускаючи серцевий ритм.

У свою чергу, атріовентрикулярний вузол (АВ вузол) розташований між аортальним, мітральним і тристулковим клапанами, на електрично ізолюючому фіброзному кільці, сполучній тканині, яка утримує всі серцеві клапани. Він слугує як затримка для електричного імпульсу, що дозволяє передсерддям закінчити скорочення та перекачати кров у шлуночки перед тим, як імпульс перейде до шлуночків. Ця затримка дозволяє підтримувати координацію між передсерддями та шлуночками. Якщо провідність через атріовентрикулярний вузол не є можливою, відбудеться тимчасова або постійна зупинка серця, що спричинить непритомність

або, в останньому випадку, смерть від асистолії, якщо в клітинах, розташованих далі в провідній системі, не з'явиться ритму виходу.

Зі свого боку, пучок Гіса починається в атріовентрикулярному вузлі, розташованому внизу правого передсердя. Пучок Гіса зазвичай є єдиним електричним мостом через сполучну тканину, який ізолює передсердя від шлуночків.

Пучки мають швидкопровідні міоцити, а також пейсмекерні клітини. Якщо передсердний імпульс припиняється в атріовентрикулярному вузлі, пучок Гіса може генерувати нормальний, хоча й повільніший ритм виходу. Блокада ніжок пучка Гіса може спричинити зупинку серця, якщо не виникає вихідний ритм з гілок пучка Гіса або шлуночків.

Спочатку правий пучок входить в його шлуночок у вигляді окремого кабелю, який далі поширюється в субендокардіум. Таким чином, пошкодження невеликої ділянки ніжки пучка Гіса може блокувати всю праву провідність (блокада правої ніжки пучка Гіса).

Лівий пучок ділиться на дві (іноді три) головні гілки (фасцикули), розташовані високо в перегородці, і вони поділяються на менші гілки в широкій області у формі віяла. Таким чином, повна блокада лівої ніжки пучка Гіса може виявити пошкодження великої м'язової маси.

При блокаді ніжки пучка Гіса один із двох основних електричних зв'язків між пучком Гіса та шлуночками порушується, і міоцити на ураженій стороні мають бути активовані імпульсами, які проходять через м'язові волокна першого активованого шлуночка. Для цього потрібен час, а камери не скорочуються одночасно. Тоді перегородка тремтить, і робота серця стає менш ефективною.

У лівому пучку пучка може виникнути так званий геміблок як у передньому, так і в задньому пучках. Тоді час активації лівого шлуночка помірно подовжується, а поширення активації буде ненормальним.

Далі пучки поділяються на волокна Пуркінє, які поширюються навколо всього субендокарда.

Волокна Пуркінє розташовані в серцевому м'язі шлуночків та представляють собою спеціалізовані волокна, що відходять від пучка Гіса. Вони пронизують м'язові шлуночки, розгалужуючись на багато тонких волокон, які з'єднуються з м'язовими клітинами шлуночків.

Основна функція волокон Пуркінє полягає в ефективній координації скорочення м'язових тканин шлуночків. Коли електричний сигнал доходить до волокон Пуркінє, вони передають його вздовж шлуночків, викликаючи синхронне скорочення м'язів та випорожнення крові у великі судини тіла.

1.2 Електрична та механічна активність серцевих клітин

Кардіоміоцити – це спеціалізовані клітини, які є відповідальними за скорочення серця. Це унікальні м'язові клітини, які складають більшу частину серцевої тканини. Являють собою великі подовжені клітини з маленькими ядрами, великою кількістю цитоплазми, мітохондрій і міофібрил, які з'єднуються один з одним в основному впритул, а також з боку в бік.

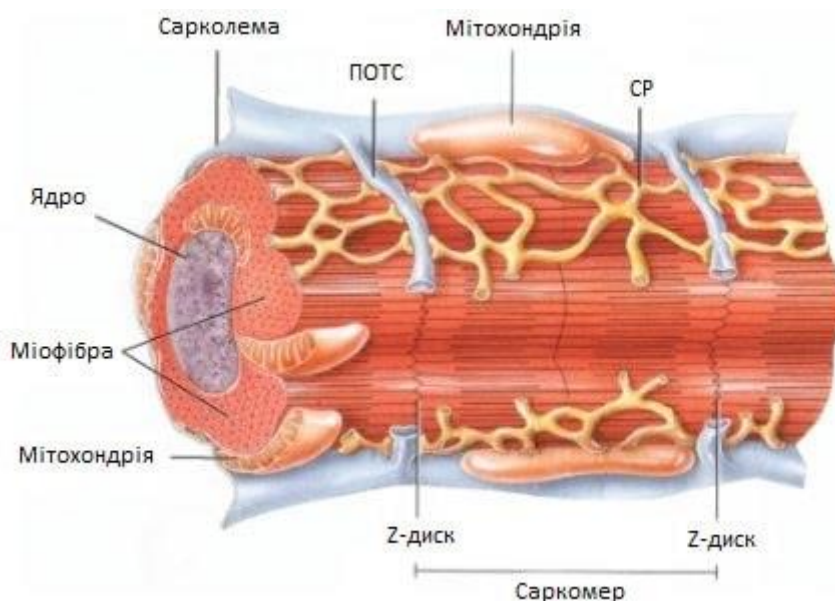


Рисунок 1.4 – Будова кардіоміоциту [8]

Кардіоміоцити мають характерну витягнуту форму, що дозволяє їм утворювати мережу взаємопов'язаних клітин всередині серця. Вони мають ядро, в якому міститься генетичний матеріал клітини, включаючи ДНК і РНК, необхідний для клітинних функцій і синтезу білка. Оточене ядерною оболонкою, яка складається з двох ліпідних шарів і містить ядерні пори для обміну молекулами між ядром і цитоплазмою. Ядро контролює експресію генів, реплікацію ДНК і синтез РНК, відіграючи вирішальну роль у функціонуванні та регуляції клітин.

У цитоплазмі кардіоміоцитів є велика кількість мітохондрій, які мають високу щільність. Внутрішня мембрана мітохондрій містить ферменти, що беруть участь у ланцюзі перенесення електронів, а зовнішня мембрана сприяє обміну метаболітів з цитоплазмою. Мітохондрії генерують аденозинтрифосфат (АТФ) шляхом окисного фосфорилування, забезпечуючи енергію, необхідну для м'язового скорочення.

Цитоплазма також містить міофібрили – скоротливі елементи, довгі циліндричні структури, які йдуть паралельно одна одній всередині кардіоміоцита. Міофібрили складаються з повторюваних скоротливих одиниць, які називаються саркомерами. У свою чергу, саркомери складаються з товстих ниток (що складаються з міозину) і тонких ниток (що складаються з актину), які розташовані у високоорганізованому порядку, так вони створюють характерний посмугований вигляд кардіоміоцитів. І виходить, що взаємодія між актиновими та міозиновими нитками, опосередкована іонами кальцію, призводить до м'язового скорочення.

Кардіоміоцити з'єднані між собою спеціалізованими з'єднаннями, які називаються інтеркалярними дисками, що містять щілинні з'єднання. Завдяки щілинним переходам електричні сигнали швидко поширюються від одного кардіоміоцита до іншого, забезпечуючи координоване скорочення.

Інтеркалярні диски містять три основні типи з'єднань [9]:

- Десмосоми – це якірні з'єднання, які забезпечують механічну міцність і запобігають поділу клітин під час скорочення.
- Білкові комплекси, які з'єднують сусідні клітини і передають скоротливі сили називають адгезивними з'єднаннями.

- Канали, які забезпечують проходження іонів і невеликих молекул, полегшуючи електричний зв'язок і синхронізацію електричних сигналів між клітинами називаються щілинними з'єднаннями.

Під час електричного збудження клітини іони кальцію вивільняються з внутрішньоклітинних сховищ, які називаються саркоплазматичний ретикулум (СР) (спеціалізований тип ендоплазматичної сітки). Він утворює мережу взаємопов'язаних каналців, що оточують міофібрили, скоротливі одиниці клітини.

Коли електричний сигнал, що генерується синоатріальним (СА) вузлом, досягає кардіоміоцитів, він запускає приплив іонів кальцію в клітину. Іони кальцію зв'язуються зі скоротливими білками (актин та міозин) клітини, змушуючи їх ковзати один повз одного, що призводить до скорочення м'язової клітини. Сила скорочення, що генерується кожним окремим кардіоміоцитом, відносно слабка, але в поєднанні з силою скорочення тисяч інших кардіоміоцитів вона створює потужну силу, яка дозволяє серцю перекачувати кров.

Після скорочення відбувається розслаблення серцевих м'язів завдяки зворотному захопленню іонів кальцію в саркоплазматичний ретикулум, що призводить до того, що скорочувальні білки від'єднуються один від одного і м'язова клітина повертається до свого розслабленого стану. Цей процес розслаблення має вирішальне значення для наповнення серця кров'ю і підготовки до наступного скорочення.

На електричну активність кардіоміоцитів впливає наявність і рух різних іонів, зокрема натрію (Na^+), калію (K^+) і кальцію (Ca_2^+). Ці іони відіграють важливу роль у генеруванні та регулюванні потенціалу дії, який є електричним сигналом, що відповідає за ініціювання м'язового скорочення в серці.

Іони натрію мають значний вплив на фазу деполяризації потенціалу дії. Під час деполяризації відкриваються Na^+ канали, що дозволяє приплив Na^+ в кардіоміоцити. Таке швидке збільшення внутрішньоклітинної концентрації Na^+ призводить до швидкої деполяризації клітинної мембрани, запускаючи потенціал дії. Рух іонів Na^+ створює внутрішній струм, відомий як швидкий натрієвий струм (ШНС).

Іони калію беруть участь у фазах деполяризації та реполяризації потенціалу дії. Під час реполяризації K^+ канали відкриваються, дозволяючи вихід K^+ з клітини, що сприяє відновленню мембранного потенціалу до стану спокою. Рух іонів K^+ створює вихідний струм, відомий як запізнілий випрямляючий калієвий струм (ІК). Баланс між вхідним натрієвим струмом і вихідним калієвим струмом є критично важливим для правильної генерації і припинення потенціалу дії.

Іони кальцію відіграють вирішальну роль у зв'язку збудження–скорочення, тобто в процесі, за допомогою якого електричне збудження призводить до скорочення м'язів. Під час потенціалу дії невелика кількість Ca_2^+ надходить у клітину через кальцієві канали, сприяючи фазі деполяризації. Однак основна роль Ca_2^+ в кардіоміоцитах проявляється під час фази плато потенціалу дії. Вхід Ca_2^+ запускає вивільнення більшої кількості Ca_2^+ із саркоплазматичного ретикулу, спеціалізованого внутрішньоклітинного сховища. Вивільнений Ca_2^+ зв'язується зі скоротливими білками, ініціюючи процес м'язового скорочення.

Регуляція руху іонів жорстко контролюється іонними каналами, насосами та обмінниками, присутніми на клітинній мембрані та внутрішніх органелах кардіоміоцитів. Будь-яке порушення балансу концентрацій іонів або зміна активності іонних каналів може призвести до аномальної електричної активності, наприклад, аритмії або порушення скоротливості.

Координація механічної активності серцевих м'язів досягається за допомогою спеціалізованої провідної системи серця.

Генерація електричного імпульсу відбувається в спеціалізованих клітинах синусового вузла. У цих клітинах присутні особливі канали, що забезпечують незвичайно високу проникність кальцію (Ca_2^+). При підвищенні рівня кальцію в клітині відбувається деполяризація, тобто зміна електричного потенціалу, що викликає генерацію електричного імпульсу.

Провідність імпульсу через передсердя забезпечується кардіоміоцитами, які мають властивість передавати електричний сигнал один одному. Це досягається за допомогою щільних з'єднань між клітинами, відомих як десмосоми та нексуси. Ці

структури дозволяють швидке передавання електричного сигналу від однієї клітини до іншої.

Провідність електричних сигналів по серцю починається в спеціалізованому вузлі, відомому як синусовий вузол або синоатріальний вузол. Синусовий вузол генерує імпульси, що викликають скорочення передсердь. Ці імпульси поширюються через міжклітинні зв'язки по всій поверхні передсердь, спричиняючи їх синхронне скорочення.

Далі електричні сигнали проходять через атріовентрикулярний вузол, розташований на межі між передсердями та шлуночками. АВ вузол слугує вузлом затримки, що дає час передсердям зібратись перед передачею сигналу до шлуночків. Після АВ вузла сигнали переходять на пучок Гіса та його ніжки, які розгалужуються по шлуночках серця. Волокна пучка Гіса та його ніжки є спеціалізованими провідними структурами, які забезпечують швидку передачу електричного сигналу від верхівки серця до його бази. Волокна Пуркінє є вельми спеціалізованими клітинами з високою провідністю. Вони швидко передають електричний сигнал з головного пучка Гіса до всіх окремих клітин м'язових шарів шлуночків.

Цей шлях передачі сигналу через пучок Гіса та волокна Пуркінє гарантує синхронне скорочення м'язів шлуночків. Електричний імпульс швидко поширюється вздовж цих провідних шляхів.

Електрична стимуляція викликає деполяризацію і подальше скорочення кардіоміоцитів шлуночків, що призводить до викиду крові з серця.

В електричній активності кардіоміоцитів деполяризація відіграє вагомий роль. Деполяризація – це зміна мембранного потенціалу клітини від стану спокою до більш позитивного значення. У кардіоміоцитах деполяризація ініціює електричний сигнал, який запускає скорочення серця. Процес починається з відкриття специфічних іонних каналів у клітинній мембрані, що дозволяє потік іонів через мембрану.

У стані спокою мембрана кардіоміоцита поляризована, тобто існує різниця потенціалів на клітинній мембрані, причому внутрішня частина клітини заряджена

негативно порівняно із зовнішньою. При ініціації деполяризації відкриваються специфічні іонні канали, відомі як потенціалкеровані натрієві канали. Це відкриття забезпечує приплив іонів натрію в клітину, переміщуючись із позаклітинного простору у внутрішньоклітинний. Рух іонів натрію всередину клітини викликає швидку зміну мембранного потенціалу, роблячи внутрішню частину клітини більш позитивною. Швидка деполяризація має назву фаза підйому потенціалу дії.

Приплив іонів натрію під час деполяризації відповідає за швидку висхідну фазу потенціалу дії, що дозволяє електричному сигналу поширюватися по всьому кардіоміоциту. Деполяризація одного кардіоміоцита викликає деполяризацію сусідніх клітин, що призводить до синхронного скорочення серця. Така скоординована деполяризація кардіоміоцитів забезпечує ефективну насосну дію.

Електрична та механічна активність кардіоміоцитів регулюється різними факторами, включаючи вегетативну нервову систему, гормони та іонні канали:

1. Вплив вегетативної нервової системи:

Симпатична стимуляція збільшує частоту серцевих скорочень, скоротливість і швидкість провідності, що призводить до збільшення електричної та механічної активності.

Парасимпатична стимуляція, опосередкована блукаючим нервом, уповільнює серцевий ритм і зменшує силу скорочення.

2. Гормональний вплив:

Гормони, такі як адреналін і норадреналін, що вивільняються під час стресу або фізичної активності, можуть збільшувати частоту серцевих скорочень і скоротливість, посилюючи електричну і механічну активність серця.

3. Вплив ліків:

Бета–блокатори зменшують частоту серцевих скорочень і скоротливість, тоді як інотропні засоби збільшують скоротливість. Антиаритмічні препарати використовуються для регулювання аномальних серцевих ритмів шляхом зміни електричної активності серця.

4. Електролітний дисбаланс:

Електроліти, такі як калій, натрій, кальцій і магній та їх аномальний рівень може порушити нормальну електричну активність серця, що призводить до аритмії або порушення скоротливості.

5. Захворювання:

Вроджені вади серця, клапанні порушення або захворювання міокарда, можуть також впливати на скорочення серця. Ці аномалії можуть порушувати нормальні провідні шляхи, погіршувати скоротливість і призводити до порушень серцевого ритму або серцевої недостатності.

Недостатнє кровопостачання і недостатня доставка кисню до серцевого м'яза, відомі як ішемія і гіпоксія відповідно, також істотно впливають на електричну і механічну активність серця. Можуть порушити нормальне проведення електричних сигналів, що призводить до аритмій, і знизити скоротливу функцію серцевого м'яза.

1.3 Методи дослідження клітин серця

Методи дослідження клітин серця відіграють важливу роль у вдосконаленні нашого розуміння складних механізмів, що лежать в основі серцевої функції та захворювань. Досліджуючи властивості та поведінку серцевих клітин, вчені та дослідники можуть відкрити важливу інформацію про розвиток серця, регенерацію та захворювання, відкриваючи шлях для інноваційних терапій та методів лікування.

Завдяки використанню різноманітних методів дослідники можуть досліджувати клітини серця на різних рівнях, від їх молекулярного та генетичного складу до їхніх структурних і функціональних властивостей. Ці дослідження проливають світло на фундаментальні клітинні процеси, що лежать в основі

розвитку серця, диференціації кардіоміоцитів, регенерації серця та патофізіології захворювань серця.

Поділ методів дослідження базується на рівні доступу до серцевої тканини або клітин і залежить від того, чи потрібна пряма маніпуляція із об'єктом дослідження, тому виділяють такі дві великі групи: інвазивні та неінвазивні методи.

Інвазивні методи дослідження кардіоміоцитів насамперед передбачають прямий доступ до серцевої тканини або клітин, що часто вимагає хірургічних процедур або інвазивних методик. Саме ці методи забезпечують детальніші та точніші вимірювання, але можуть бути складнішими та пов'язаними з більшим ризиком. Прикладами інвазивних методів є: техніка patch-clamp, внутрішньоклітинний запис, мікроін'єкції, а також виділення та культивування клітин.

У свою чергу, неінвазивні методи дослідження кардіоміоцитів не потребують прямого доступу до серцевої тканини або клітин і будуть зазвичай безпечніші та простіші у виконанні. Однак вони можуть надавати менш детальну інформацію в порівнянні з інвазивними методами. Неінвазивними методами є електрокардіографія (ЕКГ), ехокардіографія, магнітно-резонансна томографія (МРТ) та позитронно-емісійна томографія (ПЕТ) [10].

Вибір між інвазивними та неінвазивними методами залежить від конкретних цілей дослідження, бажаного рівня деталізації та пов'язаних з ними ризиків.

Інвазивні методи забезпечують точніші вимірювання, але вимагають більш детальних, поглиблених та спеціальних знань і пов'язані з вищими ризиками, тоді як неінвазивні методи безпечніші і простіші, але можуть і не надати якусь більш детальну інформацію. Часто використовується комбінація з обох підходів, щоб отримати всебічне розуміння функцій, патологій, відхилень і самої фізіології серця. Вибір методів залежить від цілей дослідження, доступних ресурсів та етичних міркувань.

1.3.1 Імпедансний метод як неінвазивний спосіб дослідження механічної активності серця

Імпедансний метод, також відомий як імпедансна кардіографія або грудна (торакальна) електрична біоімпедансометрія, це один з методів неінвазивного дослідження серцевої механічної активності. Суть методу полягає у вимірюванні змін електричного імпедансу грудної клітки в часі, що відображає механічні зміни, які відбуваються під час серцевого циклу. Тобто можна сказати, що він базується на принципі, згідно якого зміни в електропровідності тканин можуть бути використані для визначення змін в об'ємі та русі серця.

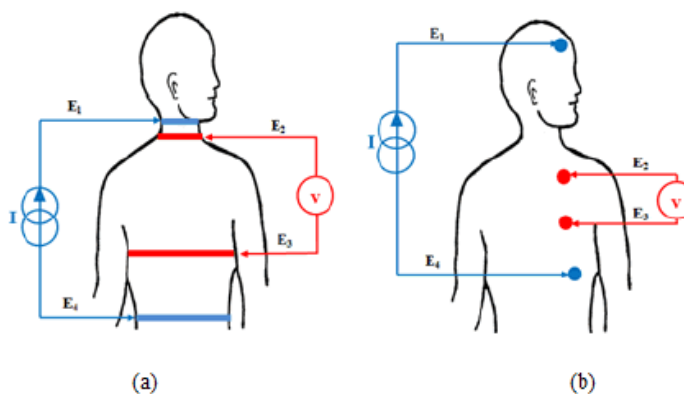
ІКГ дозволяє здійснювати безперервний моніторинг гемодинамічних параметрів без необхідності втручання в організм людини, наприклад, катетеризації артерій. Це робить метод придатним для різних клінічних умов, таких як амбулаторний моніторинг, тестування з фізичним навантаженням та оцінку відповіді на терапію.

Кілька гемодинамічних параметрів та показників можна оцінити за допомогою запису ІКГ [11]:

- Частота серцевих скорочень (ЧСС), виражена в ударах за хвилину.
- Ударний об'єм (УО) — це об'єм крові, який перекачує лівий шлуночок протягом одного циклу скорочення, (мл). Розрахунок цього важливого параметра буде розглянуто в наступному підрозділі.
- Інсультний індекс (ІІ) є відношенням СВ до площі поверхні тіла ППТ ($II = УО/ППТ$), (мл/м²).
- Серцевий викид (СВ) — це об'єм крові, який викидається серцем у великий кровотік протягом 1 хв, (л/хв). Коли ЧСС і СВ відомі, СВ можна легко обчислити ($СВ = ЧСС \times УО$).
- Серцевий індекс (СІ) є відношенням СВ до ППТ ($СІ = СВ/ППТ$), (л/хв/м²).

- Системний судинний опір (ССО) прямо пов'язаний із середнім артеріальним тиском (САТ), центральним венозним тиском (ЦВТ) і СО за таким рівнянням: $ССО = ((САТ - ЦВТ) / СВ) \times 80, (DS \cdot cm^{-5})$.
- Індекс системного судинного опору (ІССО) є відношенням ССО до ППТ ($ІССО = ССО / ППТ$), $(DS \cdot cm^{-5} / m^2)$
- Коефіцієнт систолічного часу (КСЧ) — це відношення періоду перед викидом до часу викиду лівого шлуночка; вона обернено пропорційна функції лівого шлуночка.
- Індекс співвідношення систолічного часу (ІССЧ) являє собою відношенням КСЧ до інтервалу часу між двома послідовними зубцями R на ЕКГ, (c^{-1}) .
- Вміст рідини в грудній клітці, виражений у $K\Omega^{-1}$, є величиною, оберненою базовому імпедансу Z_0 , і він представляє загальний об'єм рідини в грудній клітці. Високий імпеданс відповідає меншому об'єму грудної клітини і низькому вмісту торакальної рідини, але низький імпеданс відповідає більшому об'єму грудної клітки і, отже, високому вмісту грудної рідини.
- Індекс швидкості (ІШ) представляє максимальну швидкість зміни імпедансу та пов'язаний зі змінами швидкості кровотоку в аорті, $(1/1000/c^2)$.
- Індекс прискорення (ІП), являє собою максимальну швидкість зміни швидкості крові та пов'язаний зі змінами прискорення крові в аорті, $(1/100/c^2)$.
- Індекс лівосторонньої роботи (ІЛР) пов'язаний із САТ, легневим капілярним тиском (ЛКТ) і П. визначається наступним рівнянням: $ІЛР = (САТ - ЛКТ) \times П \times 0,0136, (г/м^2)$
- Індекс Хезера (ІХ) — унікальний індекс скоротливості міокарда. Він визначається як відношення амплітуди точки С $(dZ/dt)_{max}$ до інтервалу часу QС (зубець Q на ЕКГ і точка С на ІКГ); виражається в Ω/c^2 .

Вимірювання імпедансу в кардіології, зокрема, імпедансна кардіографія, передбачає розміщення електродів на тілі пацієнта для отримання даних, пов'язаних зі змінами електричного імпедансу під час серцевого циклу.



а) тетраполярні смугові електроди, б) тетраполярні точкові електроди

Рисунок 1.5 – Конфігурації електродів для вимірювання сигналу ІКГ [11]

Для цього зазвичай на шию і грудну клітку розміщують 8 електродів. Як приклад можна привести конфігурацію тетраполярного електрода для реєстрації змін грудного імпедансу протягом серцевого циклу. У цій конфігурації два електроди розміщуються навколо шиї, а два інших – у верхній частині живота. Крім того, введений струм становив близько 4 мА при 100 кГц.

Конфігурація електродів з тетраполярною смугою представлена на рис. 1.5а, де E1 і E4 є електродами зовнішньої смуги, тоді як E2 і E3 є електродами з внутрішньою смугою, які розміщені навколо основи шиї та на рівні мечоподібного відростку.

Інші розташування електродів можна побачити на рис. 1.5б. Полягає в ін'єкції струму 1 мА при 30 кГц через два зовнішні електроди (електроди E1 і E4), які розміщені на лобі та над переднім краєм серця; різниця електричної напруги вимірюється двома внутрішніми електродами (електродами E2 і E3), які розміщуються між зовнішніми електродами з лівого боку грудної клітки пацієнта.

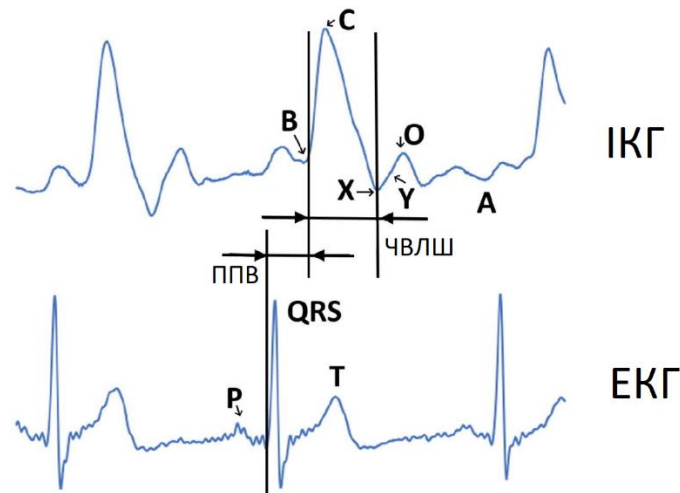


Рисунок 1.6 – Характеристичні точки в трасуванні ЕКГ та ІКГ [11]

Напруга, яка була отримана, буде пропорційна варіації імпедансу (ΔZ) досліджуваної грудної області.

Математично імпеданс (Z) визначається законом Ома як відношення між вимірною електричною напругою (V) і поданим сигналом струму (I). Оскільки відома сила струму, імпеданс можна легко обчислити. Запис ІКГ, позначений як dZ/dt , є першою похідною від сигналу зміни імпедансу (ΔZ). Типовий запис ІКГ та його основні характерні точки представлені на рис. 1.6.

А, В, С, Х і О є основними характерними точками, які пов'язані з різними фізіологічними подіями в серцевому циклі [11].

- Точка А є початком електромеханічної систоли і пов'язана зі зміною об'єму, що відбувається внаслідок активного скорочення передсердь.
- Точка В – важливий момент, який використовується для розрахунку СВ і УО; він позначає початок часу викиду і з'являється одночасно з відкриттям аортального клапана. У літературі запропоновано численні методи визначення справжнього розташування точки В. Однак було повідомлено, що маркер цієї точки не завжди очевидний і може з'явитися в будь-якій точці на зростаючій частині траси до $(dZ/dt)_{\max}$. Таким чином, точна ідентифікація цієї точки має першочергове значення для забезпечення точного обчислення СВ і УО.

- Точка С, зазначена також $(dZ/dt)_{\text{макс}}$, береться на піку ІКГ і відповідає скороченню шлуночків.
- Точка Х – найнижча точка після піку С; він синхронізований із закриттям аортального клапана і вказує на закінчення фази систоли.
- Точка О пов'язана зі зміною об'єму під час діастолічної фази циклу та максимальним відкриттям мітрального клапана.

Існують різні характерні часові інтервали, які можна виміряти за допомогою одночасних записів ІКГ та ЕКГ [11]:

- Період перед викидом (ППВ) і час викиду лівого шлуночка (ЧВЛШ), також званий часом викиду (ЧВ), є загальноживаними інтервалами систолічного часу (ІСЧ). Параметри пов'язані з електромеханічною систолою лівого шлуночка.
- ППВ — це часовий інтервал між зубцем Q на ЕКГ і точкою В на ІКГ. Параметр відображає фазу ізвольоетричного скорочення шлуночків та передсердь.
- ЧВЛШ – це часовий інтервал, виміряний від точки В до точки Х. Параметр являє собою механічну систолу і може бути використаний для оцінки УО і СВ.
- Інший інтервал, званий інтервалом початкового систолічного часу (ІПСЧ), можна виміряти як період часу між піком R на ЕКГ і точкою С на ІКГ. Було підкреслено, що кінцева точка цього інтервалу (точка С) відбулася приблизно в той самий момент максимального діаметра дуги аорти. ІПСЧ може відображати міру затримки часу між електричною та механічною насосною активністю серця.

Правильна ідентифікація цих точок може покращити визначення часових інтервалів, а також оцінку гемодинамічних параметрів.

Щоб встановити точність і надійність ІКГ в оцінці УО, СВ та інших гемодинамічних параметрів, пов'язаних з різними подіями серцевого циклу, цей метод широко порівнювали з різними інвазивними та неінвазивними методами.

Перевірка була проведена на численних клінічних випадках з використанням різних пристроїв ІКГ.

У приклад можна навести такі дослідження:

Кашуба [14] та його команда намагалися знайти зв'язок між параметрами, отриманими з ІКГ, і значенням фракції викиду (ФВ), визначеним ехокардіографією у пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю. Після оцінки різних параметрів ІКГ вони виявили, що тільки ППВ, ЧВЛШ і КСЧ сильно корелюють з ФВ. У цьому дослідженні автори підтвердили, що ІКГ можна розглядати як ефективний метод для оцінки зниженої функції лівого шлуночка.

Лорн [15] та інші намагалися порівняти значення СВ, виміряні за допомогою ІКГ і езофагеального доплерівського моніторингу (ЕДМ) у пацієнтів загальної хірургії. Вони виявили, що значення СВ значно корелюють між двома методами. Крім того, вони помітили, що значення ЧВЛШ, виміряні ІКГ, корелювали зі значеннями, виміряними ЕДМ. Таким чином, вони дійшли висновку, що ІКГ є корисним методом для моніторингу СВ у пацієнтів, які перенесли операцію.

Макінтайр [16] та його команда оцінили узгодженість між ІКГ та ехокардіографією шляхом оцінки УО та СВ у здорових вагітних жінок третього триместру. Виявилось, що узгодження між двома методами було поганим протягом усього оцінювання; отже, вони дійшли висновку, що використання ІКГ для моніторингу УО і СВ не схвалюється у здорових жінок на пізніх термінах вагітності.

Берлінгейм [17] та інші порівнювали ІКГ з ехокардіографією шляхом вимірювання різних параметрів гемодинаміки в три різні моменти часу та в двох різних положеннях матері під час вагітності. У цьому дослідженні ІКГ та ехокардіографія дали значні кореляції в деяких, але не у всіх вимірюваннях гемодинамічних параметрів. Зокрема, вони помітили, що параметри УО, СВ та ССО, виміряні за допомогою ІКГ, значно корелювали з параметрами, виміряними за допомогою ехокардіографії, коли пацієнтки перебували в положенні лежачи на лівому боці під час пологів. Крім того виявилось, що ІКГ може виявити невелику зміну УО, пов'язану зі зміною положення матері в передпологовому періоді.

Борзадж [18] та інші спробували оцінити точність ІКГ порівняно з фазово–контрастною магнітно–резонансною томографією (МРТ) шляхом вимірювання УО у спокої та під час фізичних вправ у здорових суб'єктів. Вимірювання УО показало, що узгодження між ІКГ та МРТ є поганим; вони сигналізували про те, що ІКГ дає занижену оцінку УО при низьких значеннях і завищену при високих значеннях. Таким чином, вони довели, що методика ІКГ не рекомендована для вимірювання УО у порівнянні з МРТ.

Трікман [19] та його команда намагалися оцінити точність і відтворюваність нового алгоритму, реалізованого в пристрої ІКГ, відомого як електрична велосиметрія (ЕВ), порівняно з магнітно–резонансною томографією серця у багатьох пацієнтів із різними серцевими та легневими захворюваннями. Вони довели, що ЕВ показав високу відтворюваність, але недостатню узгодженість з магнітно–резонансною томографією серця.

Методика була проведена не тільки на людях, а й на тваринах. Сасакі [20] у своєму дослідженні порівнював ЕВ і термодилуцію катетера легеневої артерії шляхом вимірювання різних гемодинамічних параметрів у собак, яким проводили серцево–судинну хірургію. Вони також вивчали зв'язок між варіацією УО і УО, а також зв'язок між центральним венозним тиском (ЦВТ) і УО, щоб передбачити реакцію на рідину. Виявилось, що значення СІ, виміряні за допомогою ЕВ, продемонстрували прийнятну відповідність із значеннями, виміряними за допомогою термодилуції, ЕВ міг точно контролювати СВ. Крім того, на відміну від ЦВТ, варіації УО, визначений ЕВ, вважався надійним прогнозуючим параметром реакції рідини під час механічної вентиляції у собак.

Простота і різноманітні переваги методики ІКГ, її використання може бути пов'язане з деякими обмеженнями. Таким чином, неточні та недостовірні результати можуть виникнути в наступних ситуаціях:

- неправильне розташування електродів;
- миготлива аритмія;
- аритмія і тахікардія, які можуть сприяти неправильному визначенню показників гемодинаміки;

- тяжкі захворювання клапанів серця, особливо важка аортальна недостатність;
- ІКГ не підходить для об'єктів дуже маленького або дуже великого розміру та ваги;
- ІКГ не рекомендується пацієнтам із кардіостимуляторами.

Незважаючи на обмеження та певний негативний досвід, отриманий з ІКГ, багато вчених наполягали на тому, що є багато надій щодо клінічної користі та надійності цього важливого методу. Метод вважається дуже перспективним підходом для визначення та моніторингу в реальному часі УО, СВ та інших різноманітних гемодинамічних параметрів. У зв'язку з цим було розроблено пристрої ІКГ, такі як: монітор Niccomo, монітор Cardio Screen 1000, BioZ, монітор Aesculon та інші.

1.3.2 Метод петч-кламп, як метод дослідження електричної активності серцевих клітин

Методика петч-кламп (patch-clamp) є інвазивною, це один з багатьох способів дослідження серцевих клітин, який використовується для вивчення електричної активності, зазвичай це струми, які протікають через іонні канали в клітинній мембрані.

Суть петч-кламп – це створення щільного прилягання між скляною піпеткою та невеликою ділянкою клітинної мембрани, завдяки цьому ізолюється певна ділянка мембрани, що дозволяє виміряти іонні струми, що через неї протікають.

Основне обладнання, яке є необхідним для застосування методики петч-кламп, включає в себе: мікроскоп, мікроманіпулятор для точного позиціонування скляної піпетки, підсилювач для посилення і запису електричних сигналів, тримачів електродів, систему для відсмоктування, завдяки якій формується щільне

прилягання, клітка Фарадея, а також систему збору даних для збору та аналізу записаних даних.

Мікроскоп повинен бути розміщений на антивібраційному столі, оскільки будь-який рух може призвести до проблем з щільним приляганням.

Для точного переміщення піпетки потрібен мікроманіпулятор. Дуже тонкі піпетки формуються шляхом нагрівання і витягування маленьких скляних або кварцових капілярних трубок. Діаметр наконечника піпетки повинен становити близько 1 мкм, бо повинен охоплювати ділянку мембрани, що містить лише кілька або навіть один іонний канал. Потім наконечник піпетки термічно полірують, щоб досягти високоміцного ущільнення після контакту наконечника з мембраною. Піпетку заповнюють розчином, який нагадує позаклітинний розчин або цитоплазму, залежно від режиму запису. Піпетка встановлюється на мікроманіпулятор, щоб забезпечити точні рухи до клітинної мембрани. Для детектування струму використовується дріт з хлорованого срібла. Електрод, який також являє собою хлорований срібний дріт, встановлює нульове значення струму. Диференціальний підсилювач з малошумлячим транзистором підключений до комп'ютера для збору та оцифрування даних. Крім того, для моніторингу струмів можна використовувати осцилограф. За бажанням можна додати перфузійну систему. Речовини можна наносити за допомогою перфузійного олівця [21].

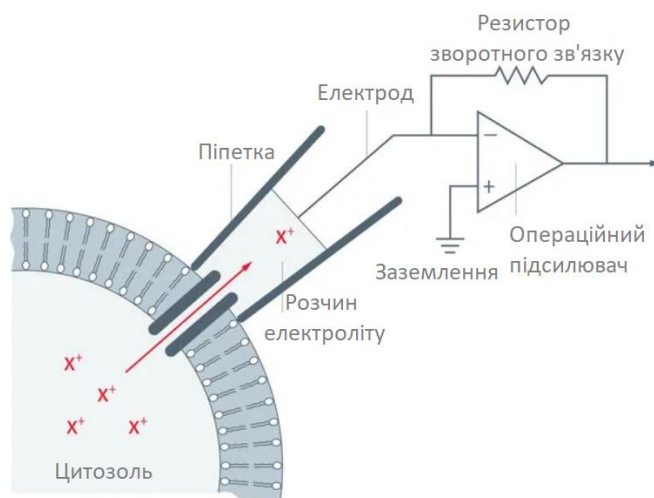


Рисунок 1.7 – Загальний принцип петч-кламп [21]

Існує два основних режими запису в петч-кламп: фіксація напруги (voltage-clamp) і фіксація струму (current-clamp) [21]:

- У режимі фіксації напруги контролюється мембранний потенціал, завдяки подачі керуючої напруги і потім вимірюється при цьому результуючі іонні струми.
- У режимі фіксації струму вводиться певний струм в клітину і вимірюється зміна мембранного потенціалу, що виникає в результаті.

Записані завдяки методу електричні сигнали підсилюються, фільтруються і оцифровуються за допомогою підсилювача і системи збору даних.

Зазвичай виділяють 4 види конфігурації петч-кламп [21]:

- Cell-attached (прикріплення до клітини): коли піпетка знаходиться в безпосередній близькості до клітинної мембрани, застосовується м'яке всмоктування, щоб отримати щільне прилягання між піпеткою та мембраною.
- Whole-cell (уся клітина): шляхом застосування ще одного короткого, але сильного всмоктування клітинна мембрана розривається, і піпетка отримує доступ до цитоплазми.
- Inside-out (навиворіт): у режимі «cell-attached» піпетка відтягується, ділянка мембрани відокремлюється від решти мембрани і виставляється назовні. Цитозольна поверхня мембрани оголюється.
- Outside-out (ззовні-назовні, ззовні-всередину): у режимі «вся клітина» піпетка втягується, у результаті чого утворюються два невеликі шматочки мембрани, які знову з'єднуються і утворюють невелику везикулярну структуру з цитозольною стороною, яка буде звернена до розчину піпетки.

1.3.3 Біопсія як інвазивний метод дослідження кардіоміоцитів

Ендомиокардіальна біопсія (ЕМБ) є інвазивною процедурою взяття зразків міокарда та це стандартна практика лікування захворювань міокарда. Основними показаннями є спостереження за відторгненням серцевого алотрансплантата та діагностика запальних та інфільтративних кардіоміопатій.

ЕМБ можна виконувати в правому або лівому шлуночку. Доступ до правого шлуночка зазвичай виконується через праву або ліву стегнову вену або через праву внутрішню яремну вену. Доступ до лівого шлуночка здійснюється через праву або ліву стегнову артерію або праву променеву артерію.

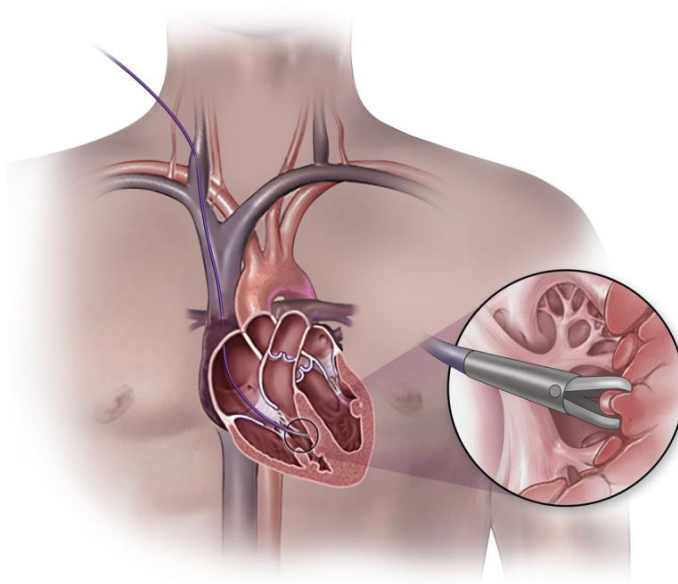


Рисунок 1.8 – Взяття проби за допомогою ЕМБ [27]

ЕМБ зазвичай виконується шляхом взяття проби з перегородки правого шлуночка (ПШ) через праву внутрішню яремну вену за допомогою флюороскопії, хоча можуть використовуватися альтернативні місця взяття зразка.

У праву внутрішню яремну вену вводять оболонку–розширювач за стандартною методикою Сельдингера під ультразвуковим контролем. Якщо використовується жорсткий біоптом, його вводять через венозну оболонку в праве передсердя та направляють повз трикуспідальний клапан до перегородки ПШ.

Якщо використовується гнучкий біоптом, попередньо сформовану довгу оболонку спочатку вставляють через венозну оболонку та розташовують повз тристулковий клапан, спрямований у бік перегородки, за допомогою провідника або катетера з балонним кінчиком. Потім гнучкий біоптом просувається всередині довгої оболонки повз тристулковий клапан, таким чином уникаючи ризику травми біоптомом апарату трикуспідального клапана. Під час флюороскопії використовується лівий передній косий вид, щоб забезпечити позиціонування вздовж міжшлуночкової перегородки. Щоб зменшити ризик перфорації серця, щипці біоптому відкриваються відразу після виходу з оболонки і залишаються відкритими доти, доки не буде встановлено контакт зі стінкою шлуночка, а стрижень біоптому трохи не згинається. Щипці біоптому закривають, і лікар чекає 2–3 серцевих циклів, перш ніж витягти біоптом.

Коли зразок відділяється від стінки шлуночка, часто відчувається незначне послаблення тяги. Біоптом видаляють з оболонки, а оболонку промивають. Біоптом може бути змінений для взяття зразків різних ділянок міокарда. Цю процедуру повторюють, поки не буде отримано бажану кількість зразків, яка зазвичай становить 3–5.

Різні зразки тканини зберігаються у формальдегіді, глутаральдегіді та рідкому азоті для оцінки за допомогою світлової мікроскопії, електронної мікроскопії, імунофлуоресценції або дослідження вірусних нуклеїнових кислот. Для гістологічного дослідження зразки фарбують гематоксилін–еозином, трихромом Массона, конго червоним для виявлення амілоїдозу та берлінським синім для виявлення відкладень заліза [27].

1.3.4 Конфокальна мікроскопія як метод візуалізації дослідження клітин серця

Конфокальна мікроскопія має значну кількість переваг порівняно зі звичайною широкопольною оптичною мікроскопією, як приклад: можливість контролювати глибину різкості, усунення або зменшення фонової інформації далеко від фокальної площини (що призводить до погіршення зображення), а також можливість збирати послідовні оптичні зрізи з товстих екземплярів.

Основним ключем до конфокального підходу є використання методів просторової фільтрації для усунення розфокусованого світла або відблисків у зразках, товщина яких перевищує безпосередню площину фокусування.

Сучасні конфокальні мікроскопи можна розглядати як повністю інтегровані електронні системи, де оптичний мікроскоп відіграє центральну роль у конфігурації, яка складається з одного або кількох електронних детекторів, комп'ютера, для відображення, обробки, виведення та зберігання зображень, і кількох лазерних систем.

Когерентне світло, випромінюване лазерною системою (джерело збудження), проходить через отвір–обскуру, яка розташована в площині, сполученій (конфокальній) із точкою сканування на зразку, і друга апертура–точка, розташована перед детектором (фотопомножувачем). Коли лазер відбивається від дихроматичного дзеркала та сканується вздовж зразка у визначеній фокальній площині, вторинна флуоресценція, що випромінюється з точок на зразку (у тій самій фокальній площині), проходить назад через дихроматичне дзеркало та фокусується як конфокальна точка на апертура детектора [28 29].

Значна кількість флуоресцентної емісії, яка виникає в точках вище і нижче фокальної площини об'єктива, не фокусується з отвором (так звані розфокусовані світлові промені) і утворює протяжні повітряні диски в площині отвору.

Оскільки лише невелика частина розфокусованого флуоресцентного випромінювання проходить через отвір об'єктива, більша частина цього

стороннього світла не виявляється фотопомножувачем і не впливає на результуюче зображення.

Дихроматичне дзеркало, бар'єрний фільтр і фільтр збудження виконують аналогічні функції, як і ідентичні компоненти в широкопольному епіфлуоресцентному мікроскопі. Перефокусування об'єктива в конфокальному мікроскопі зміщує точки збудження і випромінювання на зразку в нову площину, яка стає конфокальною з отворами джерела світла і детектора.

Як вже зазначалося, конфокальний флуоресцентний мікроскоп складається з декількох джерел лазерного випромінювання, скануючої головки з оптичними та електронними компонентами, електронних детекторів (зазвичай фотопомножувачів) і комп'ютера для збору, обробки, аналізу та відображення зображень.

Скануюча головка знаходиться в центрі конфокальної системи і відповідає за растеризацію сканів збудження, а також за збір фотонних сигналів від зразка, необхідних для складання остаточного зображення.

Типова скануюча головка містить входи від зовнішніх лазерних джерел, набори флуоресцентних фільтрів і дихроматичних дзеркал, систему растрових скануючих дзеркал на основі гальванометра, змінні отвори для генерації конфокального зображення і детектори фотоелектронного помножувача, налаштовані на різні довжини хвиль флуоресценції.

У скануючій конфокальній мікроскопії з епіосвітленням, джерело лазерного світла та детектори фотопомножувачів є відокремленими від зразка об'єктивом, який функціонує як добре скоригована комбінація конденсора та об'єктива.

Компоненти внутрішнього флуоресцентного фільтра (такі як збудливий і бар'єрний фільтри та дихроматичні дзеркала) і фільтри нейтральної щільності знаходяться в скануючому блоці.

Інтерференційні фільтри і фільтри нейтральної щільності розміщені в обертових револьверних голівках або повзунках, їх можна вставляти в траєкторію світла. Лазерний промінь збудження з'єднується зі скануючим блоком за допомогою волоконо-оптичного з'єднувача, за яким слідує розширювач променя,

що дозволяє тонкому лазерному променю повністю заповнити задню апертуру об'єктива – це є критичною вимогою в конфокальній мікроскопії.

Розширене лазерне світло, що проходить через об'єктив мікроскопа, утворює інтенсивну дифракційно–обмежену пляму, яка сканується сполученими дзеркалами гальванометра у вигляді растрової картини по площині зразка (точкове сканування).

Одним з найважливіших компонентів скануючого пристрою є діафрагма, яка діє як просторовий фільтр на спряженій площині зображення, розташованій безпосередньо перед фотопомножувачем. Кілька отворів різного діаметру зазвичай містяться на поворотній револьверній головці, що дозволяє оператору регулювати розмір отвору (і товщину оптичної секції) [31].

Вторинна флуоресценція, зібрана об'єктивом, сканується тими ж дзеркалами гальванометра, які формують растрове зображення, а потім проходить через бар'єрний фільтр перед тим, як потрапити в апертуру пінопласту. Отвір слугує для виключення сигналів флуоресценції від розфокусованих об'єктів, розташованих вище і нижче фокальної площини, які натомість проєктуються на апертуру у вигляді повітряних дисків, діаметр яких набагато більший, ніж ті, що формують зображення.

Ці великі диски розподілені на порівняно великій площі, так що через апертуру проходить лише невелика частка світла, що виникає в площинах, віддалених від фокусної точки. Отвір також слугує для усунення значної частини розсіяного світла, що проходить через оптичну систему.

Поєднання точкового сканування, обмеженого отвором, з просторовим фільтром у спряженій площині зображення є важливою особливістю конфокального мікроскопа.

Джерело лазерного освітлення в конфокальній мікроскопії спочатку розширюється, щоб заповнити задню апертуру об'єктива, а потім фокусується системою лінз в дуже маленьку пляму у фокальній площині.

Розмір точки освітлення коливається приблизно від 0,25 до 0,8 мікрметра в діаметрі (залежно від числової апертури об'єктива) і від 0,5 до 1,5 мікрметра в глибину при найяскравішій інтенсивності [32 33].

Розмір конфокальної плями визначається конструкцією мікроскопа, довжиною хвилі падаючого лазерного випромінювання, характеристиками об'єктива, налаштуваннями скануючого пристрою і зразком.

У лазерній скануючій конфокальній мікроскопії зображення протяжного зразка генерується шляхом сканування сфокусованого променя по визначеній ділянці в растровому шаблоні, керованому двома високошвидкісними коливальними дзеркалами, що приводяться в рух гальванометричними двигунами.

Одне з дзеркал переміщує промінь зліва направо вздовж бічної осі x , тоді як інше переводить промінь у напрямку y . Після кожного сканування вздовж осі x промінь швидко повертається у вихідну точку і зміщується вздовж осі y , щоб почати нове сканування – процес, який називається зворотним скануванням. Під час зворотного сканування інформація про зображення не збирається. Тобто, область інтересу на зразку в одній фокальній площині збуджується лазерним випромінюванням від скануючого пристрою.

Коли кожна лінія сканування проходить уздовж зразка в бічній фокальній площині, флуоресцентне випромінювання збирається об'єктивом і передається назад через конфокальну оптичну систему. Швидкість скануючих дзеркал дуже мала порівняно зі швидкістю світла, тому вторинне випромінювання проходить світловий шлях вздовж оптичної осі, який ідентичний початковому збуджуючому пучку.

Повернення флуоресцентного випромінювання через систему дзеркал гальванометра називається дескануванням. Після виходу зі скануючих дзеркал флуоресцентне випромінювання проходить безпосередньо через дихроматичне дзеркало і фокусується на апертурі детектора.

Флуоресцентне випромінювання, що проходить через отвір, перетворюється фотопомножувачем в аналоговий електричний сигнал, напруга якого безперервно змінюється, відповідно до інтенсивності.

Аналоговий сигнал періодично дискретизується і перетворюється в пікселі за допомогою аналого–цифрового перетворювача, розміщеного в блоці сканування або в супутньому електронному шафі. Інформація про зображення тимчасово зберігається в буферній карті кадру в комп'ютері і виводиться на монітор.

Конфокальне зображення зразка реконструюється з сигналів випромінювання фотонів за допомогою фотопомножувача і додаткової електроніки, а не може існувати як реальне зображення, яке можна спостерігати через окуляри мікроскопа.

Основною перевагою лазерної скануючої конфокальної мікроскопії є можливість серійного отримання тонких від 0,5 до 1,5 мкм оптичних зрізів через флуоресцентні зразки, які мають товщину до 50 мкм і більше [33].

Серія зображень збирається шляхом координації інкрементних змін в механізмі точного фокусування мікроскопа, за допомогою крокового двигуна, з послідовним отриманням зображення на кожному кроці. Інформація зображення обмежується чітко визначеною площиною, без будь–якого ускладнення сигналами, що виникають у віддалених місцях зразка.

Контрастність і чіткість значно покращена завдяки зменшенню флуоресценції фону і покращеному співвідношенню сигнал/шум. Крім того, оптичне секціонування усуває артефакти, які виникають при фізичному секціонуванні і флуоресцентному фарбуванні зразків тканин для традиційних форм мікроскопії [32].

Неінвазивна техніка конфокального оптичного секціонування дозволяє досліджувати як живі, так і фіксовані зразки в різних умовах з підвищеною чіткістю.

Розвиток конфокальної мікроскопії уможливив багатовимірні зображення живих клітин і тканин, які включають інформацію про зображення у вимірах x , y і z , як функцію часу і представлені в декількох кольорах (з використанням двох або більше флуорофорів). Після об'ємної обробки окремих стеків зображень, отримані дані можуть бути відображені у вигляді тривимірних багатоколірних відеопослідовностей в режимі реального часу.

У контексті дослідження кардіоміоцитів конфокальна мікроскопія надає детальні тривимірні зображення клітинної структури, що дозволяє візуалізувати форму, розмір і розташування кардіоміоцитів у серцевій тканині. Це особливо важливо для розуміння організації саркомерів, скоротливих одиниць кардіоміоцитів [33].

Підготовка зразка для конфокальної мікроскопії є важливим етапом для забезпечення оптимальної візуалізації кардіоміоцитів.

Перший крок у підготовці зразка – це фіксація, яка передбачає збереження клітинної структури та запобігання деградації. Вибір фіксатора залежить від конкретних вимог експерименту та цільових структур, які потрібно візуалізувати. Найпоширенішими фіксаторами є формальдегід, параформальдегід і глутаральдегід [28]. Фіксатор зазвичай наносять на зразок і дозволяють йому проникати в тканину протягом певного часу, після чого промивають для видалення надлишку фіксатора.

Другим кроком можна виділити забарвлення. Фарбування використовується для посилення специфічних клітинних структур або молекул, що повинні досліджуватись. Для фарбування зазвичай використовують флуоресцентні барвники або антитіла, кон'юговані з флуорофорами. Вибір барвників залежить від цільових структур, які потрібно візуалізувати. Наприклад, ядерні барвники, такі як DAPI (4', 6-діамідин-2феніліндол) або Hoechst, можна використовувати для мічення клітинних ядер, тоді як фалоїдин забарвлює актинові нитки, а антитіла можуть бути спрямовані на специфічні білки або органели [28]. Фарбування можна проводити до або після фіксації, залежно від експериментальних вимог.

Для конфокальної мікроскопії важливо переконатися, що флуоресцентні барвники, які використовуються для фарбування, адекватно проникають у тканину. Проникнення можна покращити, використовуючи пермеабілізуючі агенти, такі як Triton X-100 або сапонін, які підвищують проникність клітинних мембран [33]. Тривалість і концентрація етапу пермеабілізації повинні бути оптимізовані, щоб забезпечити достатнє проникнення барвника, не порушуючи цілісність клітин. Під час процесу фарбування дуже важливо підтримувати відповідний контроль для

забезпечення специфічності та мінімізації фонового сигналу. Негативний контроль, наприклад, зразки, інкубовані без первинних антитіл або з неспецифічними IgG, допомагає виявити неспецифічне зв'язування або автофлуоресценцію.

Після підготовки зразка забарвлену тканину монтують на предметні скельця або спеціалізовані камери для візуалізації і покривають відповідним монтажним середовищем для збереження флуоресцентного сигналу і запобігання фотознебарвленню. Монтажне середовище повинно мати відповідний показник заломлення, щоб мінімізувати розсіювання світла і оптимізувати якість зображення.

Оптимізація фіксації, фарбування і проникнення барвника забезпечує точну візуалізацію клітинних структур і молекул, що призводить до надійного і змістовного аналізу даних в кардіологічних дослідженнях.

Конфокальна мікроскопія дозволяє отримувати зображення з високою роздільною здатністю, що дозволяє детально вивчати морфологію кардіоміоцитів.

Розташування кардіоміоцитів у серцевій тканині є важливим аспектом для вивчення. Метод дозволяє дослідити просторове розташування та організацію кардіоміоцитів, такі як їх вирівнювання, інтеркальовані дискові структури та міжклітинні контакти. Імунозабарвлення специфічних білків, що беруть участь у міжклітинних з'єднаннях, таких як коннексини, дозволяє візуалізувати ці критичні структури. Методи тривимірної візуалізації, такі як отримання Z-стеку або оптичне секціонування, дають комплексне уявлення про організацію кардіоміоцитів у тканині [31-33].

Також форма кардіоміоцитів, завдяки методу можна точно візуалізувати форму клітини, включаючи такі аспекти, як: подовження, розгалуження та взаємозв'язки. Отримуючи оптичні зрізи клітин, можна простежити їх обриси та розрахувати геометричні параметри. Флуоресцентні барвники або антитіла, націлені на специфічні компоненти цитоскелету, такі як актинові нитки або мікротрубочки, можуть бути використані для виділення структурних особливостей і надання уявлення про форму і розташування клітин. Отримуючи зображення з високою роздільною здатністю окремих клітин, можна окреслити межі

кардіоміоцитів і кількісно оцінити їхню площу за допомогою програмного забезпечення для аналізу зображень. Окрім розміру та форми, конфокальна мікроскопія дозволяє вимірювати різні геометричні параметри кардіоміоцитів. Сюди входять такі параметри, як довжина, ширина та співвідношення сторін клітини. Відстежуючи контури клітин на конфокальних зображеннях, ці параметри можна кількісно оцінити за допомогою програмного забезпечення для аналізу зображень.

Цей метод уможливорює досліджувати структурні компоненти кардіоміоцитів, включаючи клітинну мембрану, цитоплазму та клітинні органели.

Мітохондрії є критично важливими органелами, що беруть участь у виробництві та регуляції енергії в кардіоміоцитах. Конфокальна мікроскопія дозволяє візуалізувати та аналізувати морфологію, розподіл та динаміку мітохондрій. Мітохондрії можна мітити специфічними флуоресцентними барвниками або цільовими флуоресцентними білками для селективної візуалізації та відстеження їх руху в живих кардіоміоцитах. Метод дозволяє оцінити щільність, форму і розмір мітохондрій, а також оцінити зміни, пов'язані з клітинним метаболізмом, окислювальним стресом і захворюваннями.

Саркоплазматичний ретикулум (СР) – це спеціалізована мережа ендоплазматичної сітки в кардіоміоцитах, яка відіграє вирішальну роль у зберіганні та вивільненні кальцію під час м'язового скорочення [29 30]. За допомогою мічення специфічних білків або індикаторів кальцію конфокальна візуалізація дозволяє досліджувати структуру СР та його взаємодію з іншими клітинними компартментами. Це дає змогу досліджувати процеси транспортування кальцію, внутрішньоклітинну динаміку кальцію та вплив патологічних станів на функцію СР.

Конфокальна мікроскопія також може бути використана для вивчення інших органел і структур кардіоміоцитів, таких як ядро, апарат Гольджі та компоненти цитоскелету. Використовуючи специфічні флуоресцентні маркери або антитіла, конфокальна візуалізація дає уявлення про організацію, локалізацію та динаміку цих внутрішньоклітинних компонентів. Ця інформація сприяє всебічному

розумінню клітинної архітектури, субклітинних взаємодій і клітинних відповідей на зовнішні подразники або патологічні процеси.

Візуалізація та аналіз клітинних особливостей, забезпечення розуміння розвитку серця, ремоделювання тканин та функціональних змін, пов'язаних з різними серцевими патологіями стало більш точним та детальнішим з конфокальною мікроскопією.

Висновок до розділу 1

У такого органу як серце дуже складна анатомічна будова, вона включає камери, клапани, кровоносні судини та багато інших різноманітних структур.

Методології описані у розділі роблять значний внесок у розуміння такої важливої складової в нашому організмі, як серце та його функціонування та мають величезне значення для діагностики та лікування серцево-судинних захворювань. Ці методи необхідні для подальшого прогресу в кардіологічних дослідженнях і розробки інноваційних терапевтичних стратегій.

Неінвазивний імпедансний метод став цінним інструментом для дослідження функціональності серця, інвазивний метод петч-кламп дозволяє вимірювати зміни електричного опору клітин і визначати функціональні характеристики. У свою чергу інвазивний метод біопсії обговорювався як засіб отримання зразків тканин для детального аналізу, що дозволяє заглибитися в морфологію і функції серцевих клітин. Конфокальна мікроскопія дає детальне уявлення про структуру серцевих клітин завдяки візуалізації з високою роздільною здатністю.

2 ВПЛИВ КАРДІОТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ СЕРЦЯ

2.1 Фармакологічні препарати, як важливий фактор ризику виникнення кардіотоксичності

Кожна людина у світі хоч раз стикалася з порушеннями роботи у організмі, такими як хвороби або ж травми. У сучасному світі фармакологічні препарати відіграють ключову роль у лікуванні різноманітних захворювань та покращенні якості життя людей.

Поряд із корисними терапевтичними властивостями, препарати мають різні побічні ефекти. Один з потенційно небезпечних побічних ефектів є кардіотоксичність. У більшості випадків, наявність токсичності пов'язана з передозуванням, тобто введенням доз вищих за рекомендовані або дозволені. Різниця між визначними рекомендованими терапевтичними дозами та дозами, що викликають кардіотоксичність може бути не до кінця зрозумілою, бо на це дуже впливає індивідуальна чутливість до препарату. Таким чином, може бути важко визначити чітку різницю між побічними ефектами, що спостерігаються при рекомендованих дозах, і токсичністю, пов'язаною з передозуванням.

Кардіотоксичність – це ураження серцево-судинної системи, яке може бути викликано фармакологічними препаратами, навколишнім середовищем та забороненими речовинами.

Усім відомо, що деякі препарати можуть прямо або опосередковано пошкоджувати структури серця або впливати на його функціональність. Це може включати пошкодження серцевого м'яза, зниження його скорочувальної здатності або зміни в проведенні електричних імпульсів у серцевій тканині.

2.2 Вплив фармакологічних препаратів на функціональну активність серця

2.2.1 Розвиток кардіотоксичності під дією протипухлинних препаратів та хіміотерапії

Сучасні ліки протипухлинної терапії виявились надзвичайно корисними для підвищення шансів на виживання при багатьох видах злоякісних новоутворень. Однак, на жаль, деякі з цих препаратів можуть мати серйозний вплив на серце, що призводить до потенційно небезпечних наслідків. Крім типових побічних ефектів протипухлинних ліків, таких як нудота, блювота і мієлосупресія, існує ризик виникнення численних шкідливих наслідків для серця. Ці наслідки можуть включати морфологічні зміни, які можуть призвести до розвитку кардіоміопатії або порушень серцевої функції, таких як порушення ритму або дисфункція систолічної та діастолічної функції. Клінічна недостатність серця або дисфункція лівого шлуночка вважаються одними з найважливіших кардіотоксичних ефектів деяких протипухлинних препаратів [38].

Пацієнти, що отримують хіміотерапію, мають підвищений ризик виникнення серцево-судинних ускладнень. Цей ризик збільшується ще більше, якщо пацієнт має історію серцевих захворювань або отримує супутню променевою терапію, при цьому частота виникнення подій може збільшуватися на 30% у порівнянні з загальною статистикою [39].

Кардіотоксичність може розвиватися гостро або хронічно. Гостра кардіотоксичність характеризується або виникненням порушень реполяризації шлуночків та електрокардіографічних змін QT-інтервалу, або надшлуночковими та шлуночковими аритміями, або гострими коронарними синдромами та перикардитом, міокардітоподібними синдромами, що спостерігаються у будь-який час від початку терапії до 2 тижнів після припинення лікування. Хронічну кардіотоксичність можна диференціювати на два підтипи залежно від часу появи клінічних симптомів. Перший підтип виникає рано, протягом 1 року після

припинення хіміотерапії, а другий – пізно, більше ніж через 1 рік після хіміотерапії [40 41].

Такі протипухлинні препарати, як: антрацикліни, інгібітори тирозинкінази і інгібітори протеасом та HER2-орієнтована терапія (орієнтована терапія спрямована на рецептор 2 епідермального фактору росту людини) спричиняють кардіотоксичну дію на кардіоміоцити.

Антрацикліни відомі своєю потужною протираковою активністю, але можуть викликати кумулятивну дозозалежну кардіотоксичність. Точний механізм кардіотоксичності, спричиненої антрациклінами, до кінця не вивчений, але вважається, що він включає декілька шляхів. Одним з основних механізмів є утворення активних форм кисню (АФК) та окислювальний стрес, що призводить до пошкодження кардіоміоцитів. Це може призвести до мітохондріальної дисфункції, порушення кальцієвого гомеостазу, пошкодження ДНК та активації апоптичних шляхів у клітинах серця. З часом ці пошкодження можуть призвести до кардіоміопатії та серцевої недостатності.

HER2-орієнтована терапія, така як трастузумаб, пертузумаб та адотрастузумаб емтанзин (T-DM1), може втручатися в сигналізацію HER2 в кардіоміоцитах. Це втручання може порушити баланс між виживанням і загибеллю клітин, що призводить до порушення серцевої функції. Механізми можуть включати інгібування HER2-опосередкованих кардіопротекторних шляхів та порушення сигналізації серцевих клітин.

Інгібітори тирозинкінази впливають на специфічні сигнальні шляхи в ракових клітинах, але вони також можуть впливати на нормальні клітини, включаючи кардіоміоцити. Деякі інгібітори тирозинкінази, такі як іматиніб та дазатиніб, можуть втручатися в сигнальні шляхи, що беруть участь у роботі серця, такі як Bcr-Abl та Src (кіназа), що призводить до пошкодження та дисфункції кардіоміоцитів. Інгібітори тирозинкінази також можуть впливати на сигналізацію фактору росту ендотелію судин, який відіграє важливу роль у серцево-судинному гомеостазі.

Інгібітори протеасом, такі як бортезоміб і карфілзоміб, порушують систему протеасом, яка регулює деградацію білків і клітинні процеси. Вважається, що пригнічення протеасом у кардіоміоцитах призводить до накопичення токсичних білків і порушує клітинні процеси, необхідні для серцевої діяльності. Це може призвести до пошкодження кардіоміоцитів, порушення скоротливості та розвитку серцево-судинної токсичності.

Варто зазначити, що не у всіх пацієнтів, які лікуються цими протипухлинними препаратами, виникнуть кардіотоксичні ефекти. Для раннього виявлення потенційних серцевих ускладнень існують протоколи оцінки ризику кардіотоксичності та моніторингу. Кардіопротекторні стратегії, такі як використання певних препаратів (наприклад, дексразоксану), модифікація дози та регулярна оцінка серцевої функції (наприклад, ехокардіографія, електрокардіограма), застосовуються для мінімізації ризику та управління кардіотоксичністю у пацієнтів, які отримують ці препарати [40].

2.2.2 Нестероїдні протизапальні препарати як причина виникнення кардіотоксичності

Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) є найбільш застосовуваними безрецептурними лікарськими засобами і найчастіше призначаються для різних станів, включаючи біль, ревматоїдний артрит, остеоартрит, захворювання опорно-рухового апарату та інші супутні захворювання. Ці препарати допомагають мільйонам людей, які страждають від тривалого болю, полегшити симптоми та покращити якість життя. Хоча НПЗП зазвичай вважаються безпечними та ефективними при правильному застосуванні, але вони можуть мати певні кардіотоксичні ефекти, особливо при тривалому застосуванні або у високих дозах. Як і у всіх препаратах, кардіотоксичні ефекти НПЗП можуть відрізнятися залежно від конкретних ліків та індивідуальних особливостей пацієнта.

Неселективні інгібітори ЦОГ можуть заважати обробці кальцію в кардіоміоцитах. Циклооксигеназа (ЦОГ) є ферментом, відповідальним за синтез простагландинів і тромбоксану з арахідонової кислоти. Кальцій відіграє вирішальну роль у регуляції скорочення та розслаблення серця. НПЗЗ можуть порушувати гомеостаз кальцію, впливаючи на кальцієві канали або транспортери в кардіоміоцитах, що призводить до порушення скоротливості та зміни функції серця [45].

НПЗП індукують мітохондріальну дисфункцію в кардіоміоцитах. Мітохондрії відповідають за виробництво енергії (АТФ), необхідної для нормальної роботи серця. Вони можуть порушувати функцію мітохондрій і збільшувати виробництво активних форм кисню, що призводить до клітинного пошкодження та дисфункції [46].

НПЗП можуть модулювати різні клітинні сигнальні шляхи в кардіоміоцитах. Наприклад, вони можуть впливати на активність протеїнкіназ, таких як мітоген-активовані протеїнкінази і протеїнкіназа С, які беруть участь у регуляції серцевої гіпертрофії, апоптозу та запалення. Змінені сигнальні шляхи можуть сприяти змінам у функціональності кардіоміоцитів і сприяти несприятливому ремоделюванню серця. Ремодювання серця – це процес, внаслідок якого відбуваються структурні та функціональні зміни в серцевому м'язі під впливом різних патологічних або фізіологічних факторів. Цей процес включає перебудову тканин серця, зміни у розмірі, формі та функції серцевих камер і судин, а також відхилення в молекулярних і клітинних механізмах.

Хоча, НПЗП в основному використовуються для зменшення запалення, але були припущення, що вони можуть впливати на виробництво та вивільнення прозапальних цитокінів у кардіоміоцитах. Підвищення рівня цитокінів може сприяти запаленню, окислювальному стресу та серцевій дисфункції.

Тривале застосування нестероїдних протизапальних препаратів у різних дозах, може призвести до підвищення артеріального тиску. Цей ефект можна зв'язати з опосередкованим пригніченням судинорозширювальних простагландинів. Дуже часто це призводить до звуження судин і затримки натрію,

сприяючи підвищенню артеріального тиску. Особливо у високих дозах тривале застосування НПЗП підвищує ризик виникнення інфаркту міокарда або загострення серцевої недостатності у схильних до цього осіб. Цей ризик пов'язаний з впливом на функцію тромбоцитів, вазоконстрикцію та баланс рідини. Ще слід виділити, що такі препарати, як індометацин або диклофенак, пов'язані з підвищеним ризиком виникнення аритмій, також враховуючи фібриляцію передсердь [47 48].

2.2.3 Антиаритмічні препарати як причина кардіотоксичності

Антиаритмічні препарати призначені для відновлення і підтримки нормального серцевого ритму у людей, які мають аритмії. Вони допомагають контролювати електричну активність серця і запобігають неправильним ритмічним збудженням. Проте, деякі з цих препаратів можуть мати побічні ефекти, включаючи можливість викликати або посилити аритмію. Це може статися внаслідок індивідуальної реакції на препарат, неправильного дозування або взаємодії з іншими ліками. Тому важливо, щоб призначення антиаритмічних препаратів здійснювалось під наглядом лікаря, який врахує усі фактори.

Під час антиаритмічної терапії часто рекомендують проводити регулярний моніторинг серцевої функції, наприклад, ЕКГ та інші відповідні діагностичні методи, щоб виявити будь-які потенційні кардіотоксичні ефекти на організм людини.

Антиаритмічні препарати першого класу блокують Na^+ канали. Однак багато з цих препаратів мають додаткові дії, які можуть викликати різні серцево-судинні ефекти або токсичність. Наприклад, препарати класу Ia, як для прикладу хінідин, зазвичай також блокують I_{Kr} струм, що може призводити до подовження інтервалу QT і виникнення шлуночкової піруетної тахікардії (*torsades de pointes*). Хінідин протягом десятиліть широко використовувався як антиаритмічний препарат

широкого спектру дії, проте його токсичність суттєво обмежувала його клінічне застосування. Крім значного ризику шлуночкової піруетної тахікардії, хінідин може викликати або погіршити інші аритмії та серцеву недостатність. Сучасною практикою зрідка застосування антиаритмічних препаратів класу Ia [49].

Антиаритмічні препарати класу Ic також мають низькі показники безпеки. Це базується головним чином на дослідженнях придушення серцевої аритмії [50], де такі препарати, як: флекаїнід, енкаїнід і морицизин використовувалися для того, щоб перевірити гіпотезу, що ці засоби можуть захистити пацієнтів після інфаркту міокарда від передчасної шлуночкової екстрасистолії, шлуночкових аритмій і смерті. Але було виявлено значне зниження виживаності у пацієнтів, які отримували лікування препаратами класу Ic. Пропафенон, який є найбільш поширеним препаратом класу Ic, також має виражені β -блокуючі властивості. Він може збільшувати частоту серцевих скорочень у пацієнтів з тріпотінням передсердь, як деякі препарати з класу Ia [51].

Деякі місцеві анестетики також мають антиаритмічні властивості класу Ib, вони насамперед селективно блокують Na^+ канали, але у вищих концентраціях можуть блокувати й інші іонні канали. Різні місцеві анестетики мають різний ступінь токсичності. Найнижчий терапевтичний індекс має рацемічний бупівакаїн, за ним ідуть ропівакаїн і левобупівакаїн. Лідокаїн і мепівакаїн вважаються більш безпечними варіантами. При системній абсорбції місцевих анестетиків їхня токсичність насамперед впливає на центральну нервову систему (наприклад, седативний ефект, летаргія, сплутаність свідомості), а серцево-судинні ефекти виникають при більш високих концентраціях. Серцева токсичність зазвичай проявляється у вигляді брадиаритмії, що потенційно може призвести до зупинки серця, а також гіпотензії. Також можуть виникати шлуночкові тахіаритмії. Гіпотензія є результатом як зниження скоротливості серця, так і прямої периферичної вазодилатації, спричиненої впливом на Na^+ канали гладких м'язів. Хоча системна серцева токсичність від місцевих анестетиків зустрічається відносно рідко і клінічних досліджень не проводилося, лікування таких випадків залишається значним викликом [53].

Деякі препарати з антиаритмічного класу III клінічно застосовуються для лікування різних тахіаритмій через подовження потенціалу дії або QT. Це також подовжує ефективний рефрактерний період кардіоміоцитів.

Антиаритмічні препарати класу III уповільнюють затримку реполяризації, а також блокують активність калієвих каналів гена human-ether-à-go-go (hERG). Ці всі препарати подовжують інтервал QT, а отже, ризик виникнення шлуночкової піруетної тахікардії є очікуваним і клінічно добре задокументованим. Однак аміодарон, ключовий препарат цієї категорії, лише зрідка викликає шлуночкову піруетну тахікардію, це можна пояснити його здатністю блокувати Ca_2^+ канали і Na^+ канали [54].

Висновок до розділу 2

Зазвичай вживання фармакологічних препаратів вважається безпечним та ефективним при правильному застосуванні, але вони можуть мати певні кардіотоксичні ефекти, особливо при тривалому застосуванні або при лікуванні у високих дозах. Варто зазначити, що кардіотоксичні ефекти можуть відрізнятися залежно від конкретних ліків та індивідуальних особливостей пацієнта. Найбільш ризиковими для організму людини є протипухлинні та антиаритмічні препарати.

Хіміотерапевтичні препарати можуть впливати на різні параметри електричної активності кардіоміоцитів. Можуть впливати на мембранний потенціал спокою кардіоміоцитів. Зміни мембранного потенціалу спокою можуть впливати на збудливість кардіоміоцитів та їхню здатність генерувати потенціали дії. Деякі з препаратів можуть знижувати амплітуду потенціалу дії в кардіоміоцитах, це призводить до погіршення скоротливої функції серцевого м'яза. Також слід виділити, що хіміотерапевтичні препарати сповільнюють швидкість проведення електричних імпульсів через серцевий м'яз. Ці препарати можуть зменшити резерв реполяризації, а деякі з хіміотерапевтичних препаратів можуть

втручатися в регуляцію іонів кальцію в кардіоміоцитах, які необхідні для правильного скорочення і розслаблення серцевого м'яза.

Антиаритмічні препарати призначені для відновлення і підтримки нормального серцевого ритму, але деякі з них можуть викликати або посилювати аритмію. Антиаритмічні засоби, а саме певні препарати класу I і класу III, можуть подовжувати інтервал QT на ЕКГ. Подовження інтервалу QT підвищує ризик виникнення особливого типу аритмії, які є небезпечними для життя. Препарати класу I, особливо з підкласу IA та IC, можуть блокувати натрієві канали та змінювати серцеву провідність. Деякі антиаритмічні препарати, особливо ті, що впливають на атріовентрикулярну провідність, можуть викликати уповільнення серцебиття або блокаду серця. Це порушує нормальні електричні сигнали між передсерддями та шлуночками, що призводить до сповільнення або блокування шляху проведення. Слід виділити, що антиаритмічні препарати можуть мати негативний інотропний ефект, а саме, зменшувати силу скорочення серцевого м'яза, погіршуючи ефективність перекачування крові серцем.

3 ОСНОВНІ МЕТОДИ МОДЕЛЮВАННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ СЕРЦЕВИХ КЛІТИН

3.1 Технологія «серце-на-чіпі» – експериментальний метод моделювання функціональності серця

«Орган-на-чіпі» – це пристрій для культури клітин *in vitro*, який використовує мікрофлюїдну технологію для створення висококонтрольованого мікросередовища для клітин. Для різних біомедичних застосувань були розроблені різні «органи-на-чіпі», а саме: «легені-на-чіпі», «нирки-на-чіпі», «пухлини-на-чіпі» та інше [55]. Але серед усіх моделей треба виділити саме «серце-на-чіпі», як метод побудови моделей серця *in vitro*. Були розроблені різні методи виготовлення і запропоновані різні застосування моделі: скринінг ліків, вивчення фізіології і моделювання захворювань.

Високоінтегроване «серце-на-чіпі» включає чотири елементи: мікрофлюїдний чіп, клітини/мікротканини, мікроприводи для фізичних/хімічних стимулів та мікросенсиори для моніторингу стану клітин [56]. У практичних експериментах «серце-на-чіпі» може не включати всі ці чотири елементи, але мікрофлюїдний чіп і клітини/мікротканини необхідні.

Мікрофлюїдна мікросхема (чіп) – це основна частина «серця-на-чіпі», яка забезпечує середовище для клітин. Традиційні матеріали для мікрофлюїдних чіпів включають скло, кремній, полідиметилсилоксан (ПДМС), поліметилметакрилат (ПММА) і папір. Завдяки розвитку 3D-біодруку для мікрофлюїдних чіпів було розроблено деякі типові матеріали, які придатні для друку: термопластичний поліуретан, полікапролактон і силікон.

Для виготовлення мікрофлюїдних чіпів використовуються різні методи, включаючи фотолітографію, м'яку літографію, лазерне травлення, гаряче тиснення та механічну обробку. Фотолітографія дозволяє створювати мікро/наноструктури з високою роздільною здатністю, але є дуже дорогим методом. У свою чергу, лазерне травлення дозволяє створювати мікроструктури в полімерах, тобто матеріали

сублімуються під дією високої температури лазера і глибину мікроструктур можна регулювати за допомогою інтенсивності лазера. Це один із дешевих методів, який можна використовувати для виробництва. Щодо м'якої літографії, то ПДМС заливається на попередньо виготовлену форму. Після затвердіння і відшарування від форми плита ПДМС приклеюється до скляної підкладки.

Механічна обробка є ще одним методом виготовлення мікрофлюїдних чіпів, за допомогою нього матеріали точно фрезеруються програмно завдяки верстату.

Деякі дослідники використовували 3D-біодрук для виготовлення мікрофлюїдних чіпів [57]. У 3D біодруці мікрофлюїдний чіп виготовляється шар за шаром і використовуючи цей метод, мікрофлюїдний чіп можна виготовити за один крок з високою точністю.

Другим компонентом «серця-на-чіпі» є мікротканини. Тип клітини є одним із ключових параметрів, який може вплинути на продуктивність «серця-на-чіпі». Серце дорослої людини в основному складається з кардіоміоцитів, серцевих фібробластів людини, ендотеліальних клітин та інших, кожен з них виконує певну функцію для нормальної роботи серця. У «серці-на-чіпі» зазвичай використовують кардіоміоцити. Загальною метою «серця-на-чіпі» є вивчення серцевих захворювань людини, але важко отримати клітини людини. На сьогоднішній день клітини, які часто використовуються в «серце-на-чіпі», є первинними клітинами тварин. Одним з можливих рішень є використання індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (ІПСК), що пропонують майже необмежене джерело необхідних для дослідників клітин, але у використанні ІПСК є великий недолік, а саме, клітини будуть фенотипічно незрілі [58].

Тканини *in vivo* зазвичай мають тривимірну морфологію. 2D і 3D мікротканини відрізняються експресією білка та реакцією на ліки. Для виготовлення 3D-мікротканин були запропоновані різні методи, включаючи фотолітографію, електроспінінг і 3D-біодрук. 3D-біопринтинг вважається перспективною технікою для виготовлення тривимірних мікротканин. Наповнені клітинами біочорнила друкуються через сопло 3D-принтера. Біочорнила мають велике значення для 3D-біодруку мікротканин. Зараз найчастіше

використовуються гідрогелі. Гідрогелі мають схожу структуру з позаклітинним матриксом і мають пористі властивості, а також забезпечують гарну дифузію біомолекул [59].

Нативні тканини, як правило, складаються з багатьох клітин, які необхідні для виконання складних функцій. Щоб краще імітувати роботу серця, деякі дослідники використовували кілька клітин для виготовлення мікротканин [60].

Третім компонентом «серця-на-чіпі» є мікроприводи, які використовуються для накладення зовнішніх подразників на клітини та мікротканини. У нативних тканинах клітини піддаються різноманітним хімічним, механічним і електричним впливам, які суттєво впливають на поведінку клітин. У «серці-на-чіпі» основна функція мікропривода полягає в стимулюванні клітин, щоб сприяти їх дозріванню.

Кардіоміоцити реагують на електрофізіологічну стимуляцію, вона може збільшити відсоток клітин, які б'ються спонтанно, і сприяти синхронізації клітин і переробці кальцію. У «серці-на-чіпі» електрична стимуляція зазвичай виконується через електроди, які контактують з клітинами [61]. Для виготовлення електричних приводів застосовувались такі матеріали, як: мідь, графіт, титан, срібло, платина та інші сплави. Деякі металеві електроди можуть викликати токсичну реакцію та електроди можуть псуватися через електрохімічну реакцію з культуральним (поживним) середовищем, тому альтернативним рішенням є плівка з оксиду індію і олова. Сприяння міжклітинному електричному зв'язку та дозріванню тканин міокарда можна шляхом додавання інших матеріалів, наприклад, вуглецевих нанотрубок до каркасів клітинних культур.

На додаток до електричної стимуляції, механічна стимуляція також відіграє важливу роль. Зовнішні механічні сили можуть впливати на вирівнювання, фенотип, концентрацію кальцію та скоротливі властивості кардіоміоцитів. Було розроблено різноманітні пристрої для накладення механічного впливу на кардіоміоцити, для того щоб імітувати фізіологічні функції серця. Є два основних типи мікроприводів механічної напруги: електромагнітні мікроприводи та пневматичні мікроприводи.

Якщо накладати як електричні, так і механічні подразники, то клітини можуть дозрівати швидше.

Мікросенсори – четвертий елемент у «серці-на-чипі», їх функція полягає в моніторингу стану клітин або мікротканин. На ранній стадії деякі біохімічні реагенти використовувалися для фарбування клітин, щоб охарактеризувати їх статус і функціональність. Але метод є руйнівним для клітин, і важко реалізувати моніторинг у реальному часі. Зазвичай мікросенсори інтегрують для вимірювання електрофізіологічних сигналів та сили скорочення кардіоміоцитів.

За допомогою «серця-на-чипі» покращується розуміння фізіологічних характеристик серця, розробка ліків через застосування на моделі різних хвороб або для скринінгу на виявлення ранньої кардіотоксичності, спричиненою ліками.

3.2 Модель Ходжкіна-Хакслі як математичний метод моделювання функціональності серцевих клітин

Модель Ходжкіна-Хакслі – це математична модель проходження струму через іон-селективні канали в нейронах або в інших клітинах, які можуть електрично збуджуватись.

Ходжкін і Хакслі провели експерименти на аксоні кальмара у 1952 році і виявили три різні типи іонного струму: натрієвий, калієвий і струм витоку [63].

Специфічні потенціалзалежні іонні канали, які включають в себе натрієвий канал, бо його основними іонами є натрій, та калієвий канал, аналогічно, будуть контролювати потік цих іонів через клітинну мембрану. Струм витоку відповідає за інші типи каналів, але вони не описані в явному вигляді.

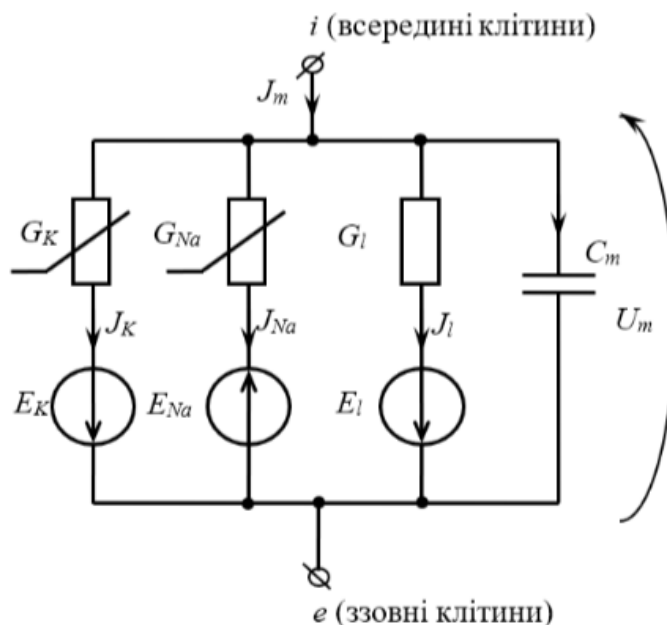


Рисунок 3.1 – Схема основних компонентів моделі Ходжкіна-Хакслі [64]

Напівпроникна клітинна мембрана відокремлює внутрішню частину клітини від позаклітинної рідини і діє як конденсатор. Якщо подати вхідний струм $I(t)$ в клітину, він може додати додатковий заряд на конденсаторі або витікати через канали в клітинній мембрані. Кожен тип каналу представлений електричною провідністю на рис. 3.1. Неспецифічний канал має провідність витоку G_l , натрієвий канал має G_{Na} , а калієвий канал – G_K .

Наявність на схемі варисторів вказує на те, що величина провідності не є фіксованою, а змінюється залежно від того, відкритий чи закритий іонний канал. Через активний транспорт іонів через клітинну мембрану концентрація іонів всередині клітини відрізняється від концентрації в позаклітинній рідині. Потенціал Нернста, що генерується різницею концентрацій іонів, зображений у вигляді джерело напруги на рис. 3.1. Кожен потенціалзалежний канал можна уявити як тунель з кількома послідовно розташованими воротами. Для того, щоб канал був відкритий і пропускав потік іонів, всі ворота в ньому повинні бути одночасно відкриті, але якщо будь-яке з воріт буде закрито, то увесь канал буде закритий.

Оскільки потенціал Нернста є різним для кожного типу іонів, існують окремі «батареї» для натрію, калію та неспецифічного третього каналу, відповідно, з напругами акумулятора E_{Na} , E_K та E_l .

Електрорушійна сила іонів Na та K визначаються такими формулами:

$$E_K = -\varphi_T \ln \frac{[K]_e}{[K]_i}, \quad (3.1)$$

$$E_{Na} = \varphi_T \ln \frac{[Na]_e}{[Na]_i}, \quad (3.2)$$

Різні напрямки потенціалів Нернста для різних іонів відображаються через те, що потенціал Нернста для калію та витоку є від'ємними, тоді як потенціал Нернста для натрію є додатнім.

У моделі паралельних провідностей кожна ділянка мембрани описується як електричне коло. У рамках цієї моделі, кожне «паралельне гіллясте відгалуження» представляє внесок певного типу іонів до загального мембранного струму.

Знаючи провідність групи іонних каналів, можна розрахувати іонний струм, який проходить через ці канали. Це можливо, оскільки зазвичай існує пряма залежність між струмом (I), провідністю (g), мембранним потенціалом (V_m) і рівноважним потенціалом іонів, коли струм переноситься певним типом іонів:

$$I_i = g_i(V_m - E_i). \quad (3.3)$$

Це рівняння можна описати як варіацію закону Ома [65].

Електрорушійна (рушійна) сила означає різницю між мембранним потенціалом V_m і рівноважним потенціалом E_i певного іона. Вона кількісно визначає, наскільки мембранний потенціал відхиляється від рівноважного стану іона. Ця рушійна сила є аналогом напруги в законі Ома, який описує взаємозв'язок між напругою, струмом і опором в електричному ланцюзі. У контексті руху іонів через мембрану рушійна сила визначає напрямок і величину потоку іонів.

Для іона калію:

$$I_k = g_K(V_m - E_K). \quad (3.4)$$

Для іона натрію:

$$I_{Na} = g_{Na}(V_m - E_{Na}). \quad (3.5)$$

Для витоку:

$$I_l = g_l(V_m - E_l). \quad (3.6)$$

Якщо через мембрану проходить нерівномірний потік струму, коли більше позитивного заряду входить в клітину, ніж виходить з неї (або навпаки), це призведе до зміни мембранного потенціалу, що у свою чергу призведе до деполяризації або гіперполяризації. Накопичення або втрата заряду на мембранному конденсаторі сприяє зміні мембранного потенціалу [65].

$$C \frac{dV_m}{dt} = I_c, \quad (3.7)$$

де I_c – ємнісний струм;

C – ємність мембрани;

$\frac{dV_m}{dt}$ – швидкість зміни напруги.

Повний мембранний струм є сумою струмів, що переносяться окремими іонними каналами:

$$I = I_K + I_{Na} + I_l + I_c. \quad (3.8)$$

При стаціонарному стані $I = 0$ та $\frac{dV_m}{dt} = 0$. Тоді можна розписати застосовуючи (3.5 – 3.7):

$$(V_m - E_K)g_K + (V_m - E_l)g_l + (V_m - E_{Na})g_{Na} = 0. \quad (3.9)$$

З цього виразу можна знайти рівняння мембранного потенціалу у стані спокою, що має назву рівняння паралельних провідностей:

$$V_m = \frac{g_K E_K + g_l E_l + g_{Na} E_{Na}}{g_K + g_l + g_{Na}}. \quad (3.10)$$

Модель Ходжкіна-Хакслі для клітин серця, зокрема для кардіоміоцитів, враховує особливості фізіології серця та регуляцію серцевого ритму. У цій моделі додатково враховуються такі фактори, як вплив кальцію (Ca_2^+) на генерацію дійових потенціалів та регуляцію швидкості серцевого ритму. Ця модель дозволяє досліджувати генерацію і поширення дійових потенціалів в кардіоміоцитах.

Ураховуючи сказане вище, формула (3.10) набуває змін:

$$V_m = \frac{g_K E_K + g_{Na} E_{Na} + g_{Ca_2} E_{Ca_2} + g_l E_l}{g_K + g_{Na} + g_{Ca_2} + g_l}. \quad (3.11)$$

Висновок до розділу 3

Кардіотоксичність, яка викликана ліками, є важливою проблемою для розробки ліків. Серце на чіпі як ефективна та точна модель *in vitro* може бути використана для оцінки кардіотоксичності. Високоінтегроване «серце-на-чіпі» включає чотири елементи: мікрофлюїдний чіп, клітини/мікротканини, мікроприводи та мікросенсори. Мікрофлюїдний чіп і мікротканини є своєрідною базою для «серця-на-чіпі». Мікроприводи можна використовувати для накладання електричних та механічних подразників на клітини. Мікросенсори призначені для

моніторингу продуктивності клітин. Можна виділити, що розробка та застосування цієї моделі все ще перебуває на ранній стадії та стикається з проблемами, але «серце-на-чипі» є багатообіцяючим методом.

Є не тільки експериментальні моделі, а й математичні. Один з найуспішніших методів це модель паралельних провідностей, або модель Ходжкіна і Хакслі. Вони змогли описати часову поведінку внутрішньоклітинного мембранного потенціалу і струмів через калієві (K) і натрієві (Na) канали за допомогою простих звичайних диференціальних рівнянь першого порядку. Основна відмінність між моделлю Ходжкіна-Хакслі для нейронів і клітин серця полягає у включенні фізіологічних особливостей серцевої клітини, таких як роль кальцію (Ca_2^+) і його вплив на серцевий ритм.

4 РОЗРОБКА МАТЕМАТИЧНОЇ МОДЕЛІ ВПЛИВУ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНІСТЬ КАРДІОМІОЦИТІВ

4.1. Розробка математичної моделі впливу препаратів на функціональну активність кардіоміоцитів

У моделі, що використовується у даній роботі, потенціал мембрани розраховується як сума постійної (V_{m0}) та змінної ($V_m(t)$) складових:

$$V_m(t) = V_{m0} + V_m(t). \quad (4.1)$$

Постійна складова розраховується як:

$$V_{m0} = \frac{-g_{K0}E_K + g_{Na0}E_{Na} + g_{Ca0}E_{Ca} - g_l E_l}{g_{K0} + g_{Na} + g_{Ca} + g_l}, \quad (4.2)$$

де g_{K0} , g_{Na0} , g_{Ca0} – провідності калієвих, натрієвих та кальцієвих каналів відповідно у стані спокою;

E_K , E_{Na} , E_{Ca} – потенціали Нернста для калію, натрію та кальцію відповідно;

g_l – провідність витоку через мембрану;

E_l – електрорушійна сила, що наявна у мембрані в стані спокою.

Електрорушійна сила, що наявна у (4.2) розраховується по наперед заданим параметрам провідностей та потенціалів Нернста іонів як:

$$E_l = \frac{-g_{K0}E_K + g_{Na0}E_{Na} + g_{Ca0}E_{Ca} - V_{m0}(g_{K0} + g_{Na} + g_{Ca} + g_l)}{g_l}. \quad (4.3)$$

Визначення змінної складової у (4.1) є більш складним і потребує розв'язку неявного диференційного рівняння:

$$\frac{dV_m}{dt} = \frac{-I_K(V_m, t) - I_{Na}(V_m, t) - I_{Ca}(V_m, t) - I_l(V_m) + I_d(t)}{C_m}, \quad (4.4)$$

де C_m – ємність мембрани;

I_d – струм деполяризації (зовнішній струм, що збуджує мембрану);

I_l – струм витоку;

I_K, I_{Na}, I_{Ca} – струми калію, натрію та кальцію відповідно.

Струм деполяризації описується наступним чином:

$$I_d(t) = \begin{cases} I_{d0}, & 0 \leq t \leq T_d \\ 0, & t > T_d \end{cases}, \quad (4.5)$$

де I_{d0} – амплітуда струму деполяризації;

T_d – тривалість деполяризуючого імпульсу.

Струм витоку розраховується як:

$$I_l = g_l(V_{m0} + V_m + E_l). \quad (4.6)$$

Струми іонів розраховуються як:

$$I_K(V_m, t) = (V_{m0} + V_m + E_K) \cdot g_K(V_m, t), \quad (4.7a)$$

$$I_{Na}(V_m, t) = (V_{m0} + V_m - E_{Na}) \cdot g_{Na}(V_m, t), \quad (4.7b)$$

$$I_{Ca}(V_m, t) = (V_{m0} + V_m - E_{Ca}) \cdot g_{Ca}(V_m, t), \quad (4.7b)$$

де g_K, g_{Na}, g_{Ca} – провідності калієвих, натрієвих та кальцієвих каналів відповідно.

Оскільки іонні канали можуть бути як відкритими, так і закритими, то і провідності можуть змінюватися. Провідності для різних іонів описуються наступними рівняннями:

$$g_K(V_m, t) = g_{K_{max}} \cdot n^4(V_m, t), \quad (4.8a)$$

$$g_{Na}(V_m, t) = g_{Na_{max}} \cdot m^3(V_m, t) \cdot h(V_m, t), \quad (4.8b)$$

$$g_{Ca}(V_m, t) = g_{Ca_{max}} \cdot d(V_m, t) \cdot f(V_m, t), \quad (4.8B)$$

де $g_{K_{max}}$, $g_{Na_{max}}$, $g_{Ca_{max}}$ – провідності для іонів калію, натрію та кальцію відповідно, за умови, що всі іонні канали відкриті;

n , m , d – функції активації калієвий, натрієвих та кальцієвих каналів відповідно;

h , f – функції інактивації натрієвих та кальцієвих каналів відповідно.

Функції активації та інактивації вказують на ймовірність знаходження каналу у відкритому чи закритому стані.

Функції активації та інактивації визначаються як розв'язок задачі Коші:

$$\frac{dn}{dt} = \frac{n_{\infty} - n}{\tau_n}, \quad (4.9a)$$

$$\frac{dm}{dt} = \frac{m_{\infty} - m}{\tau_m}, \quad (4.9б)$$

$$\frac{dh}{dt} = \frac{h_{\infty} - h}{\tau_h}, \quad (4.9B)$$

$$\frac{dd}{dt} = \frac{d_{\infty} - d}{\tau_d}, \quad (4.9Г)$$

$$\frac{df}{dt} = \frac{f_{\infty} - f}{\tau_f}, \quad (4.9д)$$

де $\tau_n, \tau_m, \tau_h, \tau_d, \tau_f$ – часи релаксації для відповідних функцій;

$n_{\infty}, m_{\infty}, h_{\infty}, d_{\infty}, f_{\infty}$ – стабільні значення відповідних функцій.

Початковими умовами є:

$$V_m(0) = 0; n(0) = n_0; m(0) = m_0; d(0) = d_0; h(0) = h_0; f(0) = f_0, \quad (4.10)$$

де n_0, m_0, d_0 – вірогідності, що активаційні субодиниці іонів калію, натрію та кальцію відповідно є відкритими у стані спокою;

h_0 , f_0 – вірогідності, що інактивуючі субодиниці натрію та кальцію є відкритими у стані спокою.

Максимальні провідності, наявні у (4.8), розраховуються як:

$$g_{K_{max}} = \frac{g_{K0}}{n_0^4}, \quad (4.11a)$$

$$g_{Na_{max}} = \frac{g_{Na0}}{m_0^3 \cdot h_0}, \quad (4.11b)$$

$$g_{Ca_{max}} = \frac{g_{Ca0}}{d_0 \cdot f_0}. \quad (4.11b)$$

Моделювання ПД, струмів, провідностей були здійснені з додаванням моделі порогового блокування. Модель порогового блокування є найпоширенішим способом опису впливу лікарського засобу на іонні канали серця. Максимальна іонна проникність у формулюванні струму каналу просто зменшується на коефіцієнт (4.12) в залежності від застосовуваного препарату та його концентрації [67].

$$\left(1 + \left[\frac{[D]}{IC50_{ion}} \right]^{h_{ion}} \right)^{-1}, \quad (4.12)$$

де h_{ion} – коефіцієнт Хілла;

$IC50_{ion}$ – позначає концентрацію препарату, при якій струм через канал зменшується на 50%;

D – концентрація речовини.

Узагалі, коефіцієнт Хілла передбачає, що для блокування одного іонного каналу достатньо однієї молекули препарату.

Тобто для визначення кардіотоксичності фармакологічних препаратів група формул (4.11a – 4.11b) буде множитись на коефіцієнт (4.12).

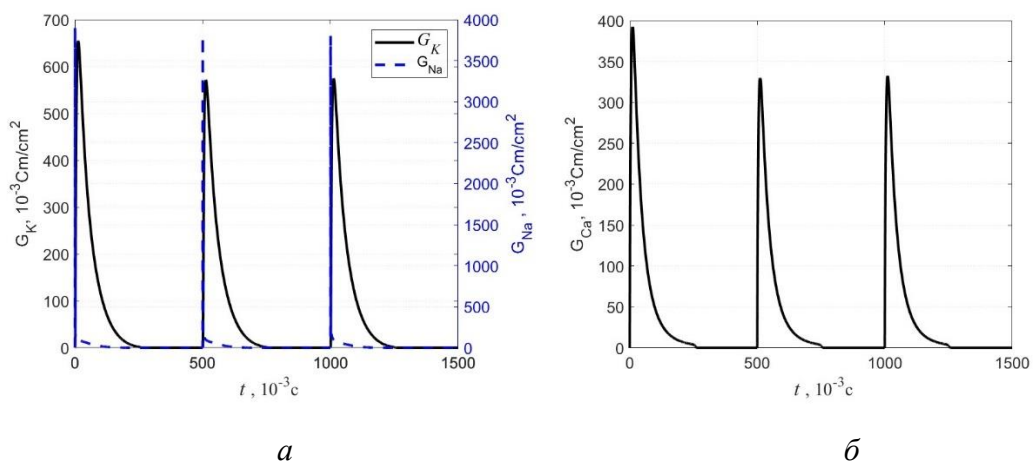


Рисунок 4.1 – Провідності каналів при відсутності в організмі препаратів.

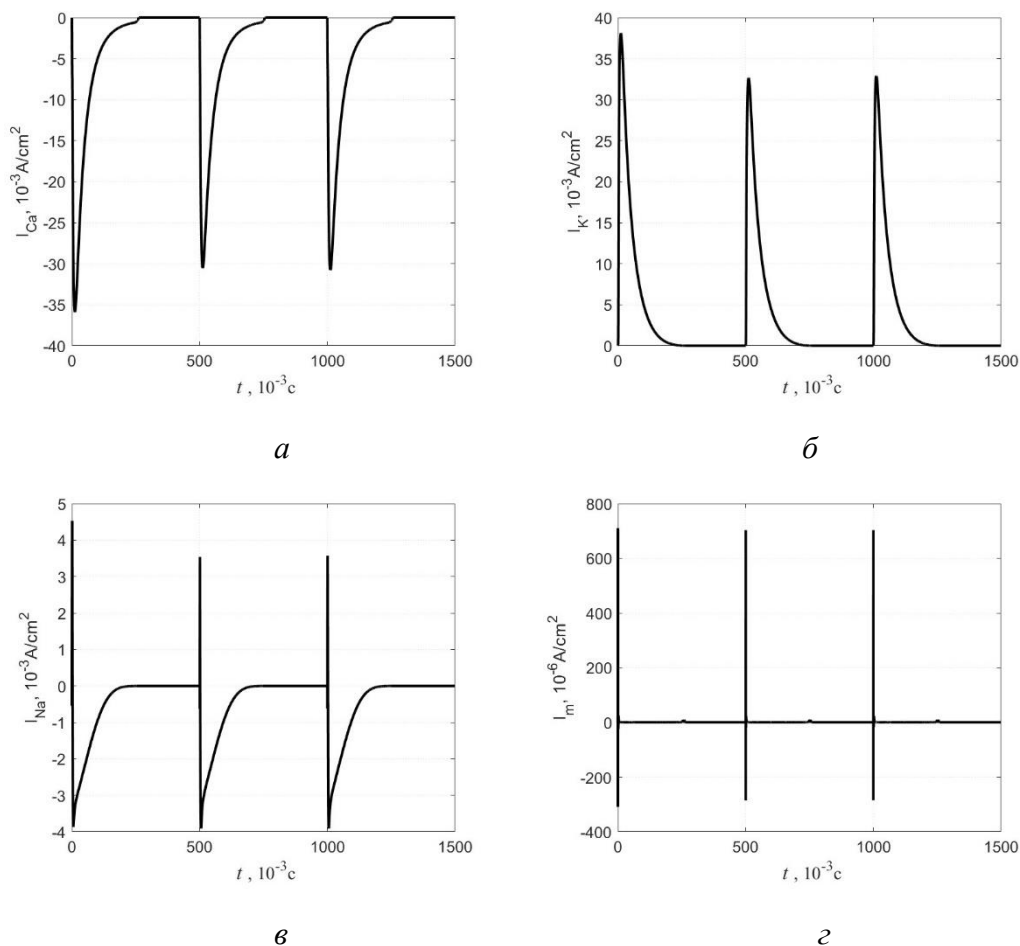


Рисунок 4.2 – Струми каналів та мембрани при відсутності в організмі препаратів.

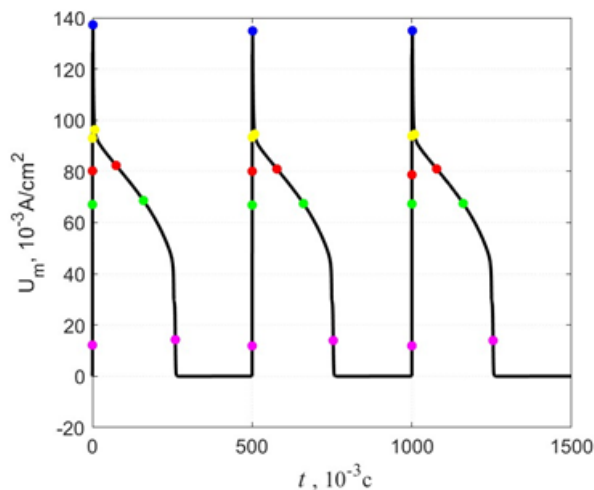


Рисунок 4.3 – Потенціал дії з характерними точками (для визначення APD) при відсутності в організмі препаратів

На рисунках 4.1–4.3 відображено провідності, струми відповідних каналів та мембрани та потенціал дії шлуночків при відсутності впливу фармакологічних препаратів на організм.

Потенціал дії кардіоміоцитів можна поділити на 4 фази:

1. Фаза швидкої деполяризації, вона відбувається на початку акційного потенціалу в мембрані клітини. Ця фаза пов'язана зі швидким входом іонів натрію (Na^+), які проникають через напруго-залежні натрієві канали, що відкриваються при деполяризації мембрани. Вхід іонів натрію в клітину сприяє зміні заряду мембрани від негативного до позитивного.
2. Фаза швидкої початкової реполяризації відбувається після піку акційного потенціалу. Мембранний потенціал починає швидко знижуватись з позитивного значення до більш негативного стану, відновлюючи вихідний потенціал клітини. Цей процес реполяризації відбувається завдяки відкриттю калієвих (K^+) каналів та виходу іонів калію з клітини. Виходячи з клітини, іони калію приносять позитивний заряд з собою, що зменшує загальний заряд клітини та знижує мембранний потенціал до його вихідного значення. Відповідно параметр APD30 характеризує цю фазу.

3. Фаза плато, є другою фазою реполяризації акційного потенціалу. У цій фазі, мембранний потенціал залишається стабільним на високому рівні протягом певного періоду часу перед повним відновленням до базового рівня. Ця фаза виникає через баланс між входом іонів кальцію (Ca_2^+) через відкриті кальцієві канали та виходом іонів калію (K^+) через відкриті калієві канали. Вхід кальцію зберігає мембранний потенціал на високому рівні, що триває деякий час і забезпечує подовження тривалості акційного потенціалу. Відповідно параметр APD40 характеризує цю фазу.
4. Фаза швидкої реполяризації є третьою фазою акційного потенціалу. Саме у цій фазі, мембранний потенціал швидко знижується з високого рівня до його базового значення. Це досягається завдяки відкриттю калієвих (K^+) каналів і виходу калієвих іонів з клітини. Виходження калію забезпечує зниження мембранного потенціалу і відновлення його до початкового рівня. Відповідно параметри APD50 та APD90 характеризують цю фазу.

4.2 Дослідження та аналіз результатів моделювання

У моделюванні потенціалу дії (ПД) під дією певних препаратів аналізувалися такі параметри, як:

- амплітуда;
- тривалість потенціалу дії (APD);
- тріангуляція;
- тривалість монофазного потенціалу дії (MAPD).

Амплітуда: Амплітуда потенціалу дії являє собою величину зміни електричної напруги під час деполяризації та реполяризації. Амплітуда відноситься до висоти хвилі потенціалу дії. Збільшення амплітуди може призвести до більш сильної деполяризації та більшої величини електричної активності в передсердях.

І навпаки, зменшення амплітуди може призвести до слабшої деполяризації. На амплітуду впливають різні фактори, включаючи іонні струми, що беруть участь у генерації потенціалу дії, баланс між вхідними та вихідними струмами та кількість активованих іонних каналів. Зміни експресії іонних каналів, зміни концентрації іонів або варіації активності рецепторів можуть впливати на збудливість і провідність електричних імпульсів у тканині передсердь.

Тривалість потенціалу дії (APD): APD означає тривалість потенціалу дії, а число, що стоїть після APD, вказує на відсоток реполяризації, завершеної протягом цього конкретного інтервалу часу. APD30, APD40, APD50, APD90: ці аббревіатури означають тривалість потенціалу дії при 30%, 40%, 50% і 90% реполяризації відповідно. Зміни цих параметрів відображають зміни тривалості різних фаз потенціалу дії. APD в основному визначається балансом між внутрішнім і зовнішнім іонними струмами. Задіяні первинні струми включають швидкий калієвий струм випрямляча з затримкою (I_{Kr}), повільний калієвий струм випрямляча з затримкою (I_{Ks}) і кальцієвий струм L-типу ($I_{Ca,L}$). Варіації кінетики або щільності цих струмів можуть змінити APD при різних відсотках реполяризації. Скорочення або подовження тривалості APD30, APD40, APD50 може вплинути на рефрактерний період, який є часом, протягом якого тканина передсердя не може бути повторно збуджена. Скорочення тривалості APD30, APD40, APD50 може зменшити рефрактерний період, роблячи тканину більш чутливими до повторного збудження та потенційно призводячи до аритмій. І навпаки, подовження – може збільшити рефрактерний період, роблячи тканину менш схильною до повторного збудження. У свою чергу пролонгація APD90 може призвести до сповільненої реполяризації та збільшення рефрактерного періоду, зниження збудливості та швидкості провідності в тканині передсердь.

Тріангуляція: Тріангуляція є мірою зміни форми потенціалу дії, особливо під час фази реполяризації. Визначається шляхом порівняння тривалості потенціалу дії при 90% реполяризації і тривалості при 30% реполяризації. Тріангуляція може виникнути через специфічні дисфункції іонних каналів, такі як зниження струмів калію або підвищення струмів кальцію. Ця зміна може призвести до затримки

реполяризації, збільшення рефрактерного періоду та підвищеної сприйнятливості до аритмій. Триангуляція посилюється, коли є затримка в реполяризації потенціалу дії.

Тривалість монофазного потенціалу дії: MAPD — це вимірювання, подібне до APD, але воно зазвичай отримують шляхом реєстрації електричної активності безпосередньо з тканини передсердя за допомогою електрода. Зміни MAPD відображають зміни у фазі реполяризації потенціалу дії, подібні до APD. На MAPD можуть впливати різні фактори, такі як кінетика іонних каналів, концентрації іонів (наприклад, калію, кальцію), активність вегетативної нервової системи та гормональна регуляція. Зміни цих факторів можуть призвести до змін MAPD і можуть мати наслідки для електрофізіології передсердь. Подовження MAPD може призвести до сповільненої реполяризації та підвищеної сприйнятливості до аритмій.

У роботі проведено дослідження впливу певних препаратів на параметри, які визначають кардіотоксичність, загалом це були препарати протиаритмічної дії, такі як: верапаміл – препарат IV класу, соталол – препарат III класу, ранолазин – препарат класу Ib, хінідин – препарат класу Ia, пропафенон – препарат класу Ic, прокаїнамід – препарат класу Ia, аміодарон – препарат III класу, фенітоїн – препарат класу Ib.

Було змодельовано та вивчено параметри та їх зміни під час прийняття ліків відносно норми, а саме при відсутності в організмі будь-яких фармакологічних препаратів.

Результати обчислені програмно та зведено у табличний вигляд.

Таблиця 4.1 – Обчислені параметри у нормі та при вживанні ліків

Лікарський препарат	Концентрація, мкМоль	Амплітуда, мВ	APD30, мс	APD40, мс	APD50, мс	APD90, мс	Тріангуляція, мс	MAPD, мс
Без уживання ліків		135,68	7,70	76,37	160,22	255,90	248,06	254,30
Верапаміл	10	123,88	47,30	48,69	49,17	52,64	5,00	51,89
	15	123,57	68,52	69,77	70,20	72,18	3,30	71,41
Соталол	1200	143,15	29,60	127,44	130,03	141,29	111,52	139,32
	1800	141,85	41,14	166,12	167,43	172,71	131,39	170,68
Ранолазин	250	144,85	26,05	93,65	101,48	159,09	132,86	157,12
	375	143,49	32,20	87,72	93,77	149,09	116,68	147,05
Хінідін	20	139,78	39,79	87,49	91,60	145,94	105,93	143,84
	30	136,80	47,89	79,00	85,01	136,06	87,94	133,81
Пропафенон	5	131,86	37,60	84,71	109,42	157,09	119,26	155,10
	7,5	128,08	46,88	79,42	101,47	144,23	97,10	141,97
Прокаїнамід	1000	128,60	24,53	87,47	128,18	179,38	154,63	177,64
	1500	125,25	35,04	86,74	120,20	164,69	129,41	162,89
Аміодарон	10	128,19	23,95	86,56	127,94	178,76	154,59	177,03
	15	126,81	30,87	85,83	121,29	167,93	136,82	166,11
Фенітоїн	100	124,73	8,81	74,18	130,39	185,28	176,24	184,80
	150	124,30	7,67	66,71	118,18	169,73	161,80	169,25

Продовження таблиці 4.1

Лікарський препарат	Концентрація, мкМоль	Δ Амплітуда, %	Δ APD30, %	APD40, %	Δ APD50, %	Δ APD90, %	Δ Тріангуляція, %	Δ MAPD, %
Без уживання ліків		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Верапаміл	10	-8,70	514,50	-36,25	-69,31	-79,43	-97,99	-79,59
	15	-8,92	790,17	-8,64	-56,19	-71,79	-98,67	-71,92
Соталол	1200	5,51	284,53	66,87	-18,84	-44,79	-55,04	-45,21
	1800	4,55	434,44	117,52	4,50	-32,51	-47,03	-32,88
Ранолазин	250	6,76	238,38	22,63	-36,66	-37,83	-46,44	-38,21
	375	5,76	318,35	14,87	-41,48	-41,74	-52,96	-42,18
Хінідін	20	3,02	416,97	14,56	-42,83	-42,97	-57,30	-43,44
	30	0,83	522,15	3,45	-46,94	-46,83	-64,55	-47,38
Пропафенон	5	-2,81	388,52	10,93	-31,71	-38,61	-51,92	-39,01
	7,5	-5,60	509,08	4,00	-36,67	-43,64	-60,86	-44,17
Прокаїнамід	1000	-5,22	218,63	14,54	-20,00	-29,90	-37,66	-30,14
	1500	-7,68	355,20	13,58	-24,98	-35,65	-47,83	-35,95
Аміодарон	10	-5,52	211,15	13,35	-20,15	-30,15	-37,68	-30,38
	15	-6,54	301,08	12,39	-24,30	-34,38	-44,84	-34,68
Фенітоїн	100	-8,07	14,46	-2,87	-18,62	-27,60	-28,95	-27,33
	150	-8,39	-0,38	-12,65	-26,24	-33,68	-34,78	-33,45

Під дією деяких препаратів, які викликали кардіотоксичність, відбулись зміни не тільки параметрів потенціалу дії, а його візуальної форми. Для таких випадків доцільно аналізувати не тільки параметри, а й часову залежність потенціалу дії.

Верапаміл (Verapamil) – блокатор кальцієвих каналів першого покоління, який використовується для лікування артеріальної гіпертензії, стенокардії та надшлуночкових тахіаритмій.

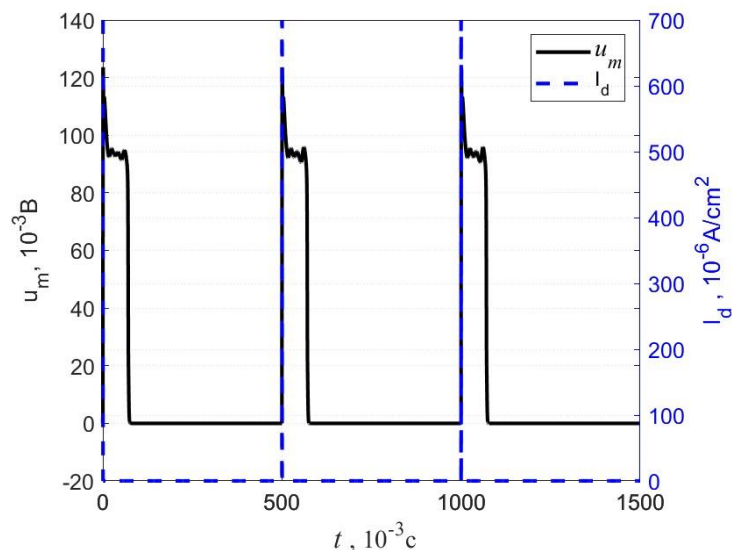


Рисунок 4.4 – Потенціал дії під дією верапамілу

Наочно на рисунку 4.4 видно, що препарат викликав зміни в сигналі потенціалу дії. Наявні коливання у фазі плато, що означає ранню постдеполяризацію у першій та на початку другої фази реполяризації.

Хоча даний препарат є, в першу чергу, блокатором кальцієвих каналів, він також впливає на калієві та, при великих концентраціях, натрієві канали. Коливання потенціалу дії викликані саме флуктуаціями у провідностях калію та натрію, що можна побачити на рисунку 4.6. Це виходить через те, що відповідно до дії препарату блокується кальцієвий канал, і зникає баланс між струмами у мембрані (рис 4.5), що збільшує загальний струм у мембрані, через що, у свою чергу, повторно відкривається частина іонних каналів.

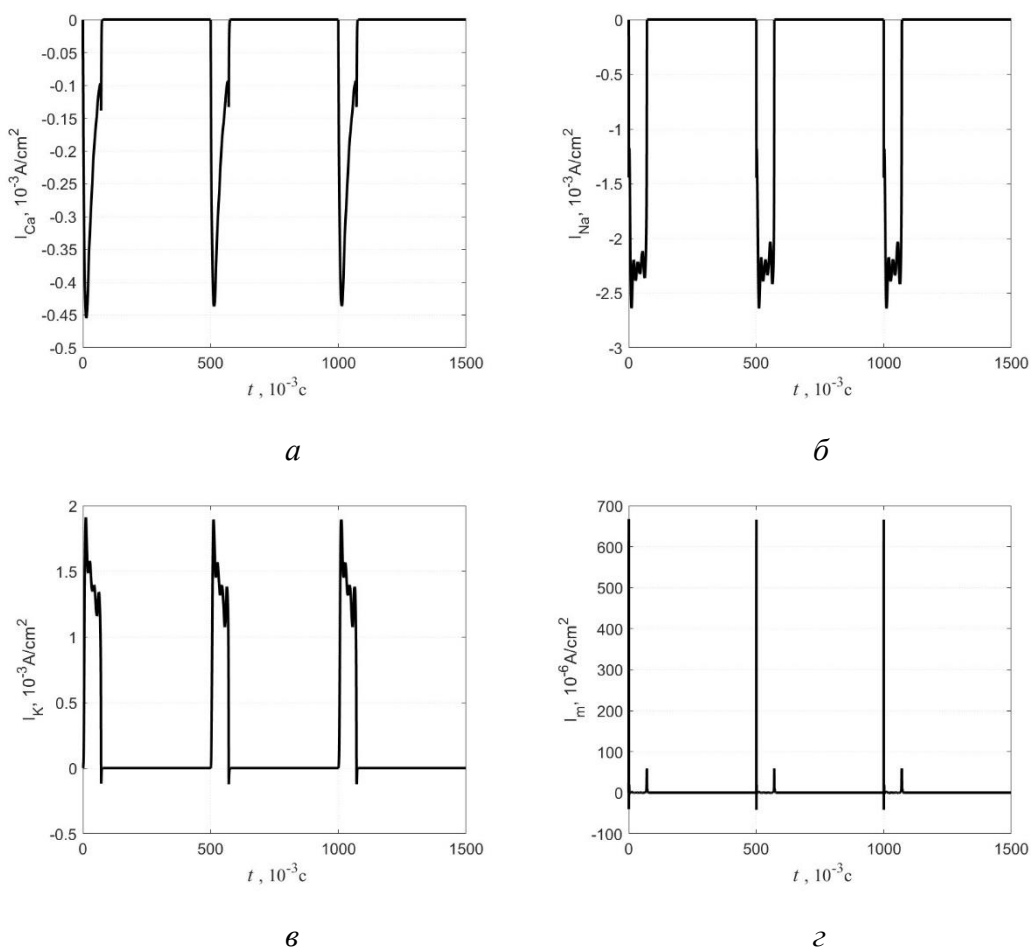


Рисунок 4.5 – Струми іонних каналів під дією верапамілу

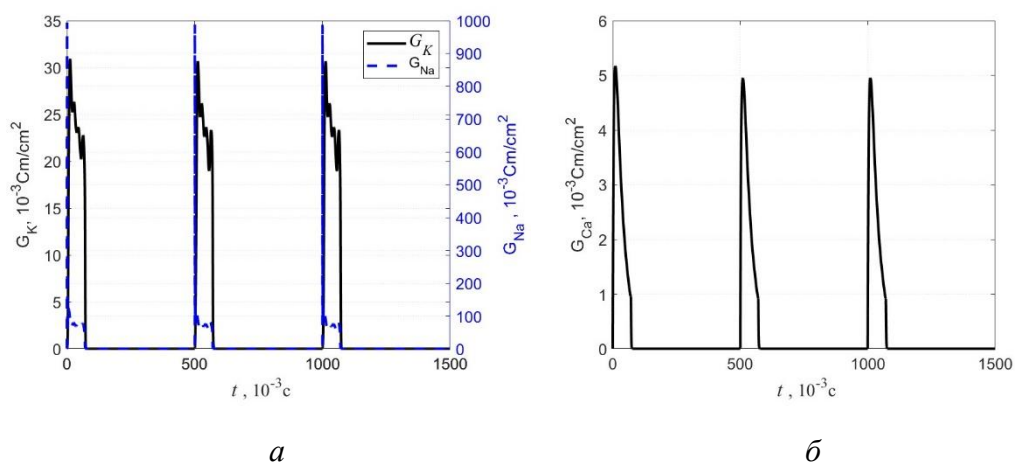


Рисунок 4.6 – Провідність каналів під дією верапамілу

Верапаміл блокує кальцієві канали L-типу, які зазвичай відповідають за входження кальцію у клітини. При надмірній дозі верапамілу відбувається збільшення блокування цих каналів, що може впливати на входження кальцію в

клітини серця та інших тканин. Кальцій, який входить до клітини через кальцієві канали L-типу, зазвичай використовується для активації саркоплазматичного ретикулуму, що відповідає за зберігання кальцію у клітині. Зменшення входження кальцію через кальцієві канали при вживанні надмірної дози верапамілу може призвести до зменшення активності СР та збільшення витоку кальцію з клітини.

Як можна помітити верапаміл блокує й калієві канали, які відповідають за виходження калію з клітини під час реполяризації. Це може призвести до затримки виходу калію з клітини. Також цей препарат впливає на натрієві канали, які зазвичай відповідають за входження натрію в клітину під час деполяризації. Хоча верапаміл не прямо блокує натрієві канали, він може зменшити провідність цих каналів або змінити їх активність.

Соталол (Sotalol) – неселективний β -адреноблокатор та інгібітор калієвого каналу. Його виражена антиаритмічна дія базується на збільшенні тривалості потенціалу дії та рефрактерного періоду на різних ділянках провідникової системи серця. Цей препарат відноситься до III класу антиаритмічних препаратів.

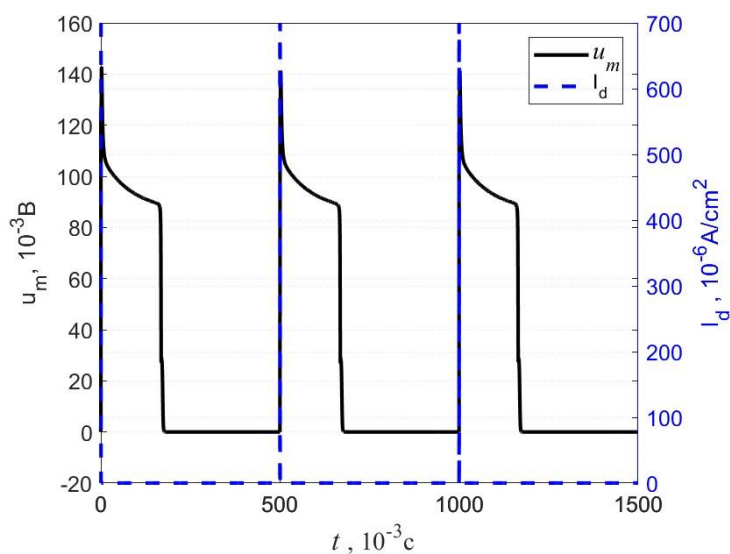


Рисунок 4.7 – Потенціал дії при вживанні соталолу

Соталол є блокатором калієвих каналів і слабо впливає на кальцієві та натрієві канали. Форма потенціалу дії змінюється за рахунок зміни провідності калію (рисунок 4.8а). Скорочення третьої фази реполяризації також викликана блокадою калієвих каналів.

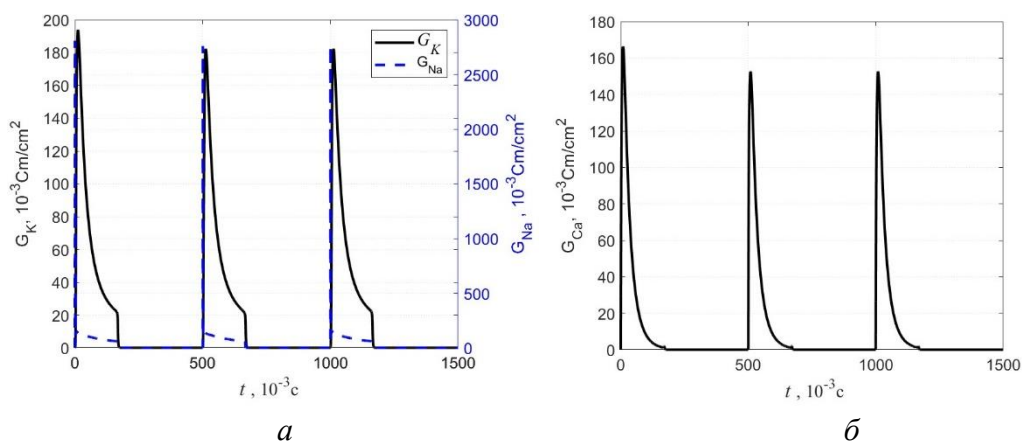


Рисунок 4.8 – Провідності іонних каналів під дією соталолу

Соталол має низький блокуючий вплив на натрієві канали, зокрема на I_{Na} , який розташований на фазі деполяризації. Це може призвести до зниження вхідного натрію в клітини та зменшення швидкості деполяризації. Також дещо впливає на кальцієві канали, зокрема на I_{CaL} , що призводить до зниження вхідного кальцію в клітини та зменшення сили скорочення серцевого м'яза.

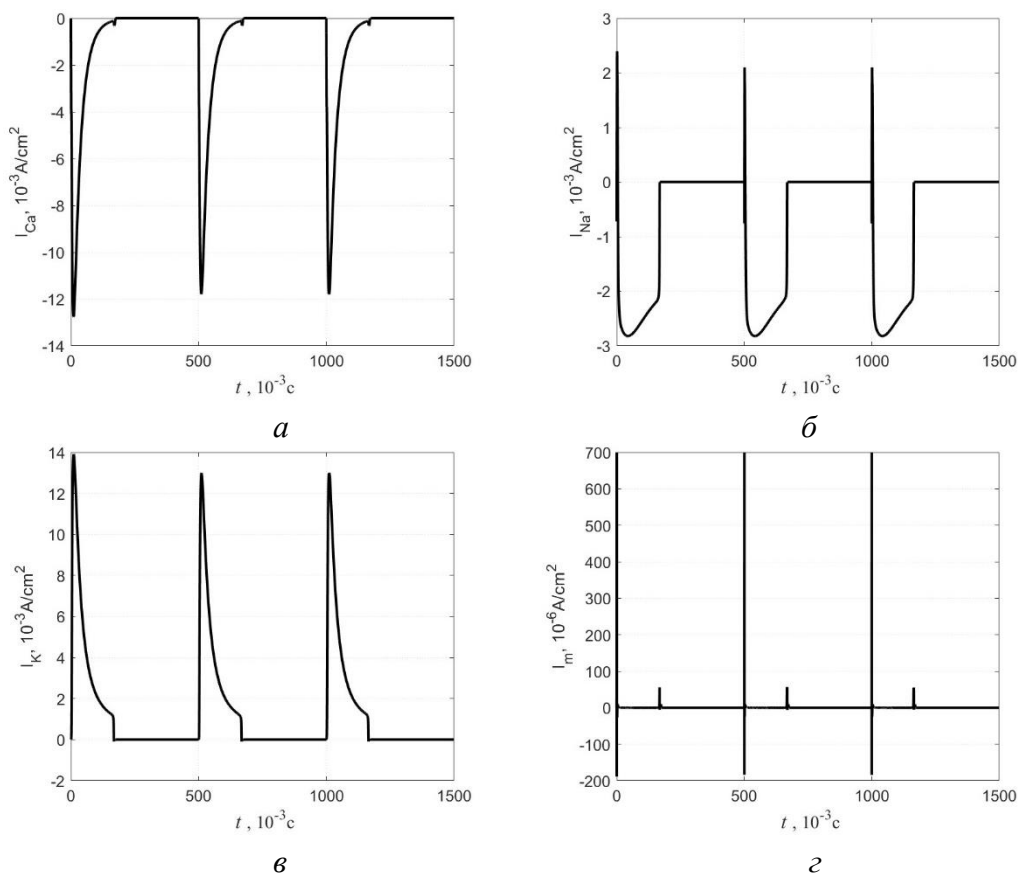


Рисунок 4.9 – Струми в мембрані під дією соталолу

Хінідин (Quinidine) – антиаритмічний засіб класу IA, який використовується для лікування порушень серцевого ритму. Це природний алкалоїд хінної рослини, який має потужну антиаритмічну дію, і десятиліттями використовується для лікування передсердних і шлуночкових аритмій.

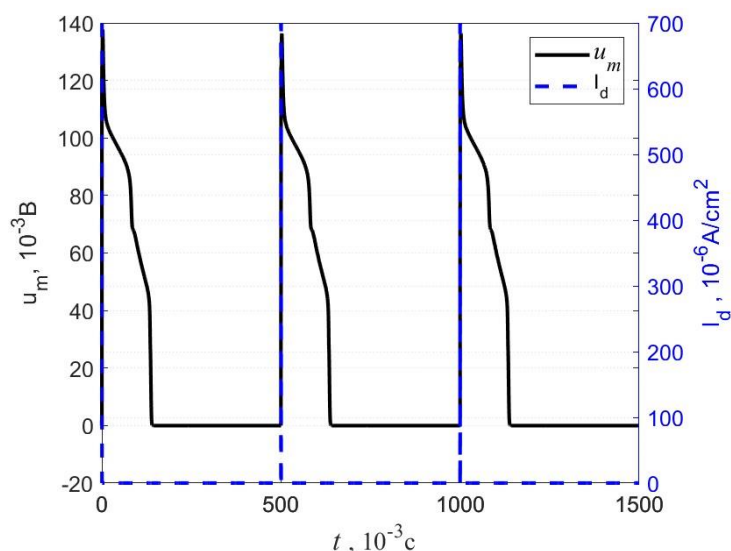


Рисунок 4.10 – Потенціал дії при вживанні хінідину

Хінідин діє як блокатор потенціалзалежних натрієвих каналів, інгібування натрієвого каналу особливо пов'язане з його антиаритмічним ефектом як антиаритмічного засобу класу Ia. Також препарат блокує певні потенціалзалежні калієві канали (hERG та інші).

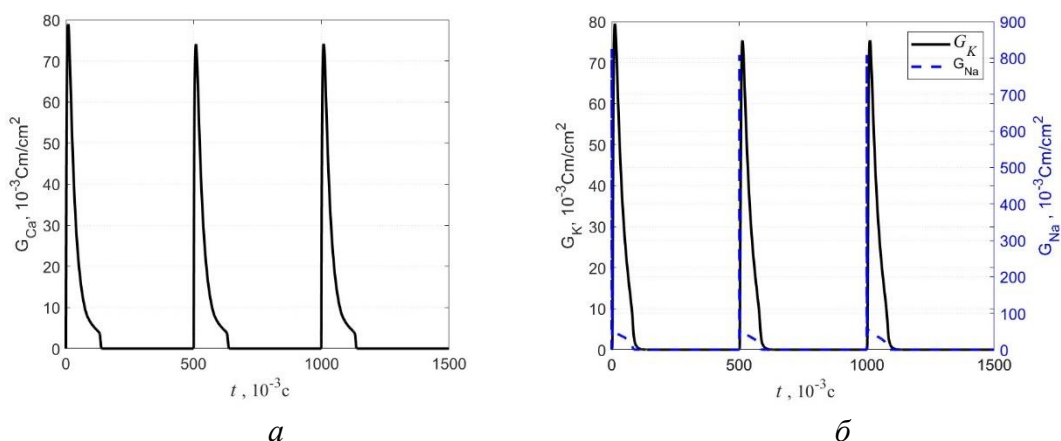


Рисунок 4.11 – Провідності іонних каналів під дією хінідину

При надмірній дозі хінідину спостерігаються зміни в провідності натрієвих каналів. Хінідин блокує ці канали, що призводить до зниження проведення

збудження, затримки розповсюдження електричного імпульсу та зниження швидкості деполяризації. Крім того, хінідин може впливати на реполяризацію шляхом затримки відкриття натрієвих каналів та зміни активності цих каналів на фазі плато потенціалу дії.

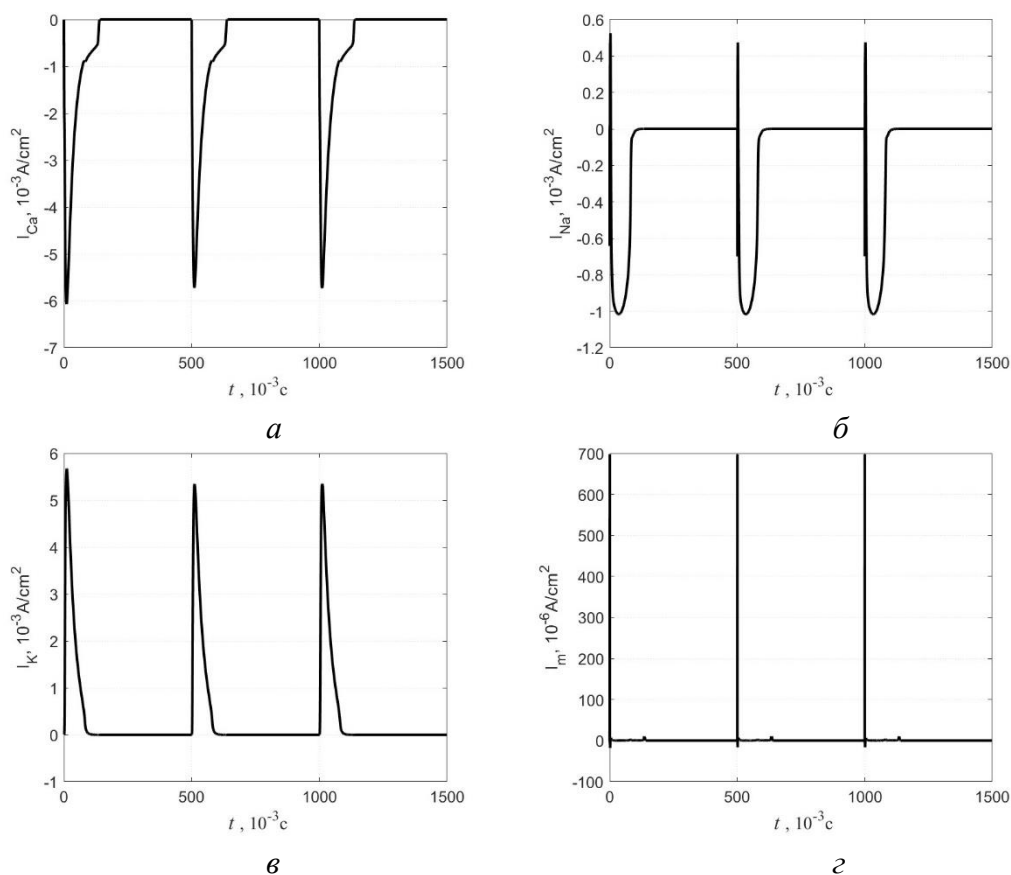


Рисунок 4.12 – Струми в мембрані під дією хінідину

Висновок до розділу 4

Було проведено дослідження впливу різних лікарських препаратів на функціональність кардіоміоцитів шляхом розробки математичної моделі. Зокрема, досліджувалися ефекти антиаритмічних препаратів.

У процесі розробки моделі було враховано різні аспекти впливу препаратів на функцію кардіоміоцитів. Було досліджено зміни у тривалості потенціалу дії

(APD) в різних фазах. Також було вивчено зміни в провідності різних іонних каналів, зокрема натрієвих, калієвих та кальцієвих каналів.

У результаті досліджень було встановлено, що препарати впливають на іонні канали так, що змінюють їх провідності, що у свою чергу впливає на фазу реполяризації потенціалу дії. Також зміни в провідності іонних каналів можуть мати вплив на електричну активність серця та можуть призвести до різних порушень ритму серця, включаючи зниження серцевого ритму, блоки провідності та аритмії.

ВИСНОВКИ

Розробка ліків – це складний і дорогий процес, тому несподівані побічні ефекти фармакологічних засобів на пізніх стадіях або після схвалення може мати значні фінансові наслідки, не кажучи вже про можливі смерті людей.

У даній роботі було створено модель на основі моделі паралельних провідностей з застосуванням моделі порогового блокування. Було розглянуто методи дослідження функціональної активності серцевих клітин, а також промодельовано та проаналізовано потенціали дії, провідності, струми певних каналів та мембрани кардіоміоцитів під дією різних препаратів.

У результаті досліджень було встановлено, що препарати впливають на іонні канали так, що змінюють їх провідності, струми, що у свою чергу впливає на фазу реполяризації потенціалу дії.

Досліджувались головні параметри, APD_{30} – APD_{90} та триангуляція, за допомогою яких є можливим виявити кардіотоксичність препарату на доклінічній стадії. Ці зміни можуть спричинити різні серцево-судинні хвороби.

Найбільш кардіотоксичними виявились такі препарати, як: Верапаміл, Соталол, Хінідін.

Хоча визначення таких параметрів як IC_{50} та коефіцієнт Хілла вимагають проведення експериментальних досліджень, можливість моделювати електричну активність клітин допомагає значно спростити і здешевити аналіз впливу ліків на роботу серця. Також програмні моделі можна використовувати не тільки для аналізу кардіотоксичності речовин, а і для аналізу їх впливу на клітини серця при наявності різних хвороб або комбінації ліків.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

1. Fung M et al. Evaluation of the characteristics of safety withdrawal of prescription drugs from worldwide pharmaceutical markets-1960-1999. *Drug Information Journal*. 2001;35(1):293-317
2. McGowan JV et al. Anthracycline chemotherapy and cardiotoxicity. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 2017;31(1):63-75
3. Varga ZV et al. Drug-induced mitochondrial dysfunction and cardiotoxicity. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. 2015;309(9):H1453-H1467
4. Anatomy Tutorial - Anterior | Atlas of Human Cardiac Anatomy. Visible Heart® Laboratories | Medical School. URL: <http://www.vhlab.umn.edu/atlas/anatomy-tutorial/anterior.shtml>
5. Презентація на тему: "Система кровообігу. Серце: будова та функції. Робота серця". Освітній проект «На Урок» для вчителів. URL: <https://naurok.com.ua/prezentaciya-na-temu-sistema-krovoobigu-serce-budova-ta-funkci-robot-sercy-136107.html>
6. СИСТЕМА КРОВООБІГУ. СЕРЦЕ І ЙОГО РОБОТА - Транспорт речовин. Віртуальна читальня освітніх матеріалів. URL: https://subject.com.ua/lesson/biology/8klas_1/17.html
7. Marino PN, Degiovanni A, Zanaboni J. Complex interaction between the atrium and the ventricular filling process: the role of conduit. *Open Heart*. 2019 Oct 19;6(2):e001042. doi: 10.1136/openhrt-2019-001042. PMID: 31673383; PMCID: PMC6802994.
8. Theakston, E., Walker, C., O'Sullivan, M., & Rajagopal, V. (2010). Stochastic modelling of cardiac cell structure. In 2010 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology. 2010 32nd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC 2010). IEEE. <https://doi.org/10.1109/iembs.2010.5627229>

9. Intercalated Discs Components & Functions | What Are Intercalated Discs?. Study.com. URL: <https://study.com/academy/lesson/intercalated-discs-gap-junctions-desmosomes.html>
10. Recco DP, Roy N, Gregory AJ, Lobdell KW. Invasive and noninvasive cardiovascular monitoring options for cardiac surgery. *JTCVS Open*. 2022 Apr 11;10:256-263. doi: 10.1016/j.xjon.2022.02.028. PMID: 36004243; PMCID: PMC9390282.
11. Mansouri, S., Alhadidi, T., Chabchoub, S., & Salah, R. B. (2018). Impedance cardiography: recent applications and developments. In *Biomedical Research* (Vol. 29, Issue 19). OMICS Publishing Group. <https://doi.org/10.4066/biomedicalresearch.29-17-3479>
12. Estigoy CB, Pontén F, Odeberg J, Herbert B, Guilhaus M, Charleston M, Ho JWK, Cameron D, Dos Remedios CG. Intercalated discs: multiple proteins perform multiple functions in non-failing and failing human hearts. *Biophys Rev*. 2009 Mar;1(1):43. doi: 10.1007/s12551-008-0007-y. Epub 2009 Jan 22. PMID: 28510153; PMCID: PMC5418371.
13. Siedlecka J, Siedlecki P, Bortkiewicz A. Impedance cardiography - Old method, new opportunities. Part I. Clinical applications. *Int J Occup Med Environ Health*. 2015;28(1):27-33. doi: 10.13075/ijomeh.1896.00451. PMID: 26159944.
14. Metshein, M., Krivošei, A., Abdullayev, A., Annus, P., & Märtens, O. (2022). Non-Standard Electrode Placement Strategies for ECG Signal Acquisition. In *Sensors* (Vol. 22, Issue 23, p. 9351). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/s22239351>
15. Kaszuba E, Scheel S, Odeberg H, Halling A. Comparing impedance cardiography and echocardiography in the assessment of reduced left ventricular systolic function. *BMC Research Notes* 2013; 6: 114.
16. Lorne E, Mahjoub Y, Diouf M, Slegthem J, Buchalet C, Guinot PG, Petiot S, Kessavane A, Dehedin B, Dupont H. Accuracy of impedance cardiography for evaluating trends in cardiac output: a comparison with oesophageal Doppler. *Br J Anaesth* 2014; 113: 596-602.

17. McIntyre JP, Ellyett KM, Mitchell EA, Quill GM, Thompson JM, Stewart AW, Doughty RN, Stone PR, Maternal Sleep in Pregnancy Study Group. Validation of thoracic impedance cardiography by echocardiography in healthy late pregnancy. *BMC Pregnancy Childbirth* 2015;15: 70.
18. Burlingame J, Ohana P, Aaronoff M, Seto T. Noninvasive cardiac monitoring in pregnancy: impedance cardiography versus echocardiography. *J Perinatol* 2013; 1-6.
19. Borzage M, Heidari K, Chavez T, Seri I, Wood JC, Blum S. Measuring stroke volume: impedance cardiography vs. phase-contrast magnetic resonance imaging. *Am J Crit Care* 2017; 26: 408-415.
20. Trinkmann F, Berger M, Doesch C, Papavassiliu T, Schoenberg SO, Borggrefe M, Kaden JJ, Saur J. Comparison of electrical velocimetry and cardiac magnetic resonance imaging for the non-invasive determination of cardiac output. *J Clin Monit Comput* 2016; 30: 399-408.
21. Sasaki K, Mutoh T, Mutoh T, Kawashima R, Tsubone H. Electrical velocimetry for noninvasive cardiac output and stroke volume variation measurements in dogs undergoing cardiovascular surgery. *Vet Anaesth Analg* 2017; 44: 7-16.
22. What is the Patch-Clamp Technique?. *Microscopes and Imaging Systems | Leica Microsystems*. URL: <https://www.leica-microsystems.com/science-lab/life-science/the-patch-clamp-technique/>
23. Seibertz, F., Rapedius, M., Fakuade, F.E. et al. A modern automated patch-clamp approach for high throughput electrophysiology recordings in native cardiomyocytes. *Commun Biol* 5, 969 (2022). <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03871-2>
24. Patch-Clamp Technique - an overview. *ScienceDirect*. URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/patch-clamp-technique>
25. Hill CL, Stephens GJ. An Introduction to Patch Clamp Recording. *Methods Mol Biol*. 2021;2188:1-19. doi: 10.1007/978-1-0716-0818-0_1. PMID: 33119844

26. Verkerk, A. O., Marchal, G. A., Zegers, J. G., Kawasaki, M., Driessen, A. H. G., Remme, C. A., de Groot, J. R., & Wilders, R. (2021). Patch-Clamp Recordings of Action Potentials From Human Atrial Myocytes: Optimization Through Dynamic Clamp. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 12). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.649414>
27. Kiamanesh, O., & Toma, M. (2021). The State of the Heart Biopsy: A Clinical Review. In *CJC Open* (Vol. 3, Issue 4, pp. 524–531). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.cjco.2020.11.017>
28. Price RL, Haley ST, Bullard T, Davis J, Borg TK, Terracio L. Confocal microscopy of cardiac myocytes. *Methods Mol Biol.* 2014;1075:185-99. doi: 10.1007/978-1-60761-847-8_8. PMID: 24052352.
29. Küppers, M., Albrecht, D., Kashkanova, A.D. et al. Confocal interferometric scattering microscopy reveals 3D nanoscopic structure and dynamics in live cells. *Nat Commun* 14, 1962 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37497-7>
30. Fernandez-Tenorio, M., & Niggli, E. (2016). Real-time intra-store confocal Ca²⁺ imaging in isolated mouse cardiomyocytes. In *Cell Calcium* (Vol. 60, Issue 5, pp. 331–340). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2016.07.002>
31. Fujita, J., Hemmi, N., Tohyama, S., Seki, T., Tamura, Y., & Fuku, K. (2013). Practical Application of Confocal Laser Scanning Microscopy for Cardiac Regenerative Medicine. *InTech*. doi: 10.5772/55864
32. Simeonov, S., & Schäffer, T. E. (2019). Ultrafast Imaging of Cardiomyocyte Contractions by Combining Scanning Ion Conductance Microscopy with a Microelectrode Array. In *Analytical Chemistry* (Vol. 91, Issue 15, pp. 9648–9655). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b01092>
33. Confocal Microscopy - Introduction | Olympus LS. Olympus - Life Science Solutions. URL: <https://www.olympus-lifescience.com/es/microscope-resource/primer/techniques/confocal/confocalintro/>
34. Brunton L, Chabner B, Knollman B. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12th ed New York: Mc Graw-Hill; 2011.

35. Mladěnka P, Applová L, Patočka J, Costa VM, Remiao F, Pourová J, Mladěnka A, Karlíčková J, Jahodář L, Vopršalová M, Varner KJ, Štěrba M; TOX-OER and CARDIOTOX Hradec Králové Researchers and Collaborators. Comprehensive review of cardiovascular toxicity of drugs and related agents. *Med Res Rev.* 2018 Jul;38(4):1332-1403. doi: 10.1002/med.21476. Epub 2018 Jan 5. PMID: 29315692; PMCID: PMC6033155.
36. The effect of drugs on heart rate - WikiLectures. WikiLectures. URL: https://www.wikilectures.eu/w/The_effect_of_drugs_on_heart_rate
37. Peirlinck, M., Yao, J., Costabal, F. S., & Kuhl, E. (2021). How drugs modulate the performance of the human heart. Cold Spring Harbor Laboratory. <https://doi.org/10.1101/2021.07.12.452066>
38. Tocchetti CG, Cadeddu C, Di Lisi D, Femminò S, Madonna R, Mele D, Monte I, Novo G, Penna C, Pepe A, Spallarossa P, Varricchi G, Zito C, Pagliaro P, Mercurio G. From Molecular Mechanisms to Clinical Management of Antineoplastic Drug-Induced Cardiovascular Toxicity: A Translational Overview. *Antioxid Redox Signal.* 2019 Jun 20;30(18):2110-2153. doi: 10.1089/ars.2016.6930. Epub 2017 May 15. PMID: 28398124; PMCID: PMC6529857.
39. Herrmann J et al. Evaluation and management of patients with heart disease and cancer: Cardio-oncology. In: *Mayo Clinic Proceedings*; Elsevier; 2014 Sep;89(9):1287-1306
40. Albin A, Pennesi G, Donatelli F, Cammarota R, De Flora S, Noonan DM. Cardiotoxicity of anticancer drugs: the need for cardio-oncology and cardio-oncological prevention. *J Natl Cancer Inst.* 2010 Jan 6;102(1):14-25. doi: 10.1093/jnci/djp440. Epub 2009 Dec 10. PMID: 20007921; PMCID: PMC2802286.
41. Dolci A, Dominici R, Cardinale D, Sandri MT, Panteghini M. Biochemical markers for prediction of chemotherapy-induced cardiotoxicity: systematic review of the literature and recommendations for use. *Am J Clin Pathol.* 2008;130(5):688–695.
42. Pai VB, Nahata MC. Cardiotoxicity of chemotherapeutic agents: incidence, treatment and prevention. *Drug Saf.* 2000;22(4):263–302.

43. Huang, M.-F., Pang, L. K., Chen, Y.-H., Zhao, R., & Lee, D.-F. (2021). Cardiotoxicity of Antineoplastic Therapies and Applications of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. In *Cells* (Vol. 10, Issue 11, p. 2823). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/cells10112823>
44. Carlo Gabriele Tocchetti and others, Cardiac dysfunction in cancer patients: beyond direct cardiomyocyte damage of anticancer drugs: novel cardio-oncology insights from the joint 2019 meeting of the ESC Working Groups of Myocardial Function and Cellular Biology of the Heart, *Cardiovascular Research*, Volume 116, Issue 11, 1 September 2020, Pages 1820–1834, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa222>
45. Asfree Gwanyanya and others, Insights into the effects of diclofenac and other non-steroidal anti-inflammatory agents on ion channels, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Volume 64, Issue 10, October 2012, Pages 1359–1375, <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2012.01479.x>
46. Ghosh R, Alajbegovic A, Gomes AV. NSAIDs and Cardiovascular Diseases: Role of Reactive Oxygen Species. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:536962. doi: 10.1155/2015/536962. Epub 2015 Sep 20. PMID: 26457127; PMCID: PMC4592725.
47. Soyun M., Hwang J. E. G., Cui Z., Gomes A. V. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs and Increased Risk of Sudden Cardiac Death. Hauppauge, NY, USA: Nova Science Publisher; 2013.
48. Fosslien E. Cardiovascular complications of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Ann Clin Lab Sci*. 2005 Autumn;35(4):347-85. PMID: 16254252.
49. Mladěnka P, Applová L, Patočka J, Costa VM, Remiao F, Pourová J, Mladěnka A, Karlíčková J, Jahodář L, Vopršalová M, Varner KJ, Štěrbá M; TOX-OER and CARDIOTOX Hradec Králové Researchers and Collaborators. Comprehensive review of cardiovascular toxicity of drugs and related agents. *Med Res Rev*. 2018 Jul;38(4):1332-1403. doi: 10.1002/med.21476. Epub 2018 Jan 5. PMID: 29315692; PMCID: PMC6033155.

50. Pratt, C. M., & Moyé, L. A. (1995). The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial. In *Circulation* (Vol. 91, Issue 1, pp. 245–247). Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <https://doi.org/10.1161/01.cir.91.1.245>
51. The Sicilian gambit. A new approach to the classification of antiarrhythmic drugs based on their actions on arrhythmogenic mechanisms. Task Force of the Working Group on Arrhythmias of the European Society of Cardiology. (1991). In *Circulation* (Vol. 84, Issue 4, pp. 1831–1851). Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <https://doi.org/10.1161/01.cir.84.4.1831>
52. Bourne E, Wright C, Royse C. A review of local anesthetic cardiotoxicity and treatment with lipid emulsion. *Local Reg Anesth.* 2010;3:11-9. doi: 10.2147/lra.s8814. Epub 2010 Feb 26. PMID: 22915863; PMCID: PMC3417942.
53. Wolfe JW, Butterworth JF. Local anesthetic systemic toxicity: Update on mechanisms and treatment. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2011;24:561–566.
54. Shah RR. Drug-induced QT interval prolongation: Regulatory perspectives and drug development. *Ann Med.* 2004;36(Suppl 1):47–52.
55. Chi CW, Lao YH, Ahmed AHR, Benoy EC, Li C, Dereli-Korkut Z, Fu BM, Leong KW, Wang S. High-Throughput Tumor-on-a-Chip Platform to Study Tumor-Stroma Interactions and Drug Pharmacokinetics. *Adv Healthc Mater.* 2020 Nov;9(21):e2000880. doi: 10.1002/adhm.202000880. Epub 2020 Sep 23. PMID: 32965088; PMCID: PMC7665938.
56. Yang Q, Xiao Z, Lv X, Zhang T, Liu H. Fabrication and Biomedical Applications of Heart-on-a-chip. *Int J Bioprint.* 2021 Jun 26;7(3):370. doi: 10.18063/ijb.v7i3.370. PMID: 34286153; PMCID: PMC8287510.
57. He Y, Wu Y, Fu JZ, et al. Developments of 3D Printing Microfluidics and Applications in Chemistry and Biology: A Review. *Electroanalysis.* 2016;28:1658–78.
58. Ramme AP, Koenig L, Hasenberg T, et al. Towards an Autologous iPSC-Derived Patient-on-a-Chip 2018
59. McCain ML, Agarwal A, Nesmith HW, et al. Micromolded Gelatin Hydrogels for Extended Culture of Engineered Cardiac Tissues. *Biomaterials.* 2014;35:5462–71.

60. Skardal A, Murphy SV, Devarasetty M, et al. Multi-Tissue Interactions in an Integrated Three-Tissue Organ-on-a-Chip Platform. *Sci Rep*. 2017;7:8837.
61. Ronaldson-Bouchard K, Ma SP, Yeager K, et al. Advanced Maturation of Human Cardiac Tissue Grown from Pluripotent Stem Cells. *Nature*. 2018;556:239–43.
62. Stoppel WL, Kaplan DL, Black LD. Electrical and Mechanical Stimulation of Cardiac Cells and Tissue Constructs. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016;96:135–55.
63. Hodgkin-Huxley Model. Neuronal Dynamics. URL: <https://neurondynamics.epfl.ch/online/Ch2.S2.html>
64. Прикладна біофізика. Біоелектричні процеси: конспект лекцій для студ. спец.8.05080102 — фізична та біомедична електроніка / Уклад.: Н.Г. Іванушкіна, К.О. Іванько, Ю.В. Прокопенко. — К., 2016. — 115 с.
65. The Hodgkin-Huxley Model. University of St Andrews - Scotland's first university, founded 1413. URL: https://www.st-andrews.ac.uk/~wjh/hh_model_intro/
66. Eder, A., Vollert, I., Hansen, A., & Eschenhagen, T. (2016). Human engineered heart tissue as a model system for drug testing. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 96, pp. 214–224). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.05.010>
67. Kügler, P. Modelling and Simulation for Preclinical Cardiac Safety Assessment of Drugs with Human iPSC-Derived Cardiomyocytes. *Jahresber. Dtsch. Math. Ver.* 122, 209–257 (2020).