

*Н.В. ХМІЛЬ, канд. біол. наук, В.Г. КОЛЕСНИКОВ, канд. фіз.-мат. наук,
О.Л. АЛТУХОВ, канд. мед. наук*

ОЦІНКА ПОРУШЕНЬ АДАПТАЦІЙНИХ МЕХАНІЗМІВ ПРИ СЕРЦЕВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ МЕТОДОМ МІКРОХВИЛЬОВОЇ ДІЛЕКТРОМЕТРІЇ

Вступ

Процес адаптації як фундаментальна біологічна закономірність спостерігається на всіх рівнях організації біологічної системи, її спрямованість добре вивчена: від задовільної адаптації, через напругу та виснаження адаптаційних механізмів, до її зриву, що є початком будь-якого захворювання. Тому, якщо навчитися розпізнавати рівень адаптації організму і спрямованість адаптаційного процесу, стає можливим досить ефективно прогнозувати стан здоров'я. Диференціальна діагностика стану напруги адаптаційних механізмів є одним із напрямків сучасної біомедицинської інженерії та найбільш складною частиною донозологічної діагностики, яка спрямована на виявлення контингенту осіб зі схильністю до захворювання, на визначення латентних випадків захворювання та захворювань, які важко розпізнаються, а також на оцінку факторів ризику [1].

Серцева недостатність супроводжує найважчі захворювання міокарда – кардіоміопатії – дилатаційну кардіоміопатію (ДКМП), гіпертрофічну кардіоміопатію (ГКМП) та ішемічну кардіоміопатію (ІКМП), що характеризуються дисфункцією скорочувальної та провідної здатності міокарда. Ці захворювання охоплюють різні вікові та соціальні групи, вони мають різну етіологію, від спадкової схильності по аутосомно-домінантному, аутосомно-рецесивному типу успадкування та успадкуванню зчепеного з X-хромосомою, до перенесеної вірусної інфекції та впливу токсичних речовин і хімічних факторів [2].

Одним із проявів дезадаптації при серцевій недостатності є порушення механізмів реалізації ланцюга "сигнал-функція", тобто мембранно-рецепторних взаємодій, що забезпечують передачу гормонального сигналу в клітину. В умовах фізіологічної норми динамічна структура β -адренорецепторів мембрани кардіоміоцитів проявляється залежно від гомеостазу, дії фармакологічних препаратів, фізіологічного стану та регулюється природними рецепторними стимуляторами та модуляторами [3]. У патогенезі серцевої недостатності, крім наукових доказів про генералізовані порушення мембранних іонних потоків, розглядається концепція дисбалансу синтезу та деградації вторинного месенджера – циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ). Активація симпатoadреналової системи, гормональна надстимуляція β -адренорецепторів кардіоміоцитів адреналіном і, як наслідок, надмірне збільшення концентрації цАМФ, призводить до дисфункції та гибелі кардіоміоцитів [4, 5]. Внаслідок порушення системи передачі гормонального сигналу на молекулярно-клітинному рівні спостерігається збільшення розміру лівого шлуночка міокарда та збільшення внутрішньошлуночкового тиску внаслідок периферичної вазоконстрикції та підвищення внутрішньосудинного обсягу. Крім того, гормональна стимуляція адреналіном та норадреналіном може спричинити гіпертрофію міокарда, одночасно обмежуючи здатність коронарних артерій забезпечувати кровопостачання шлуночкової стінки [6]. Огляд літературних даних показав, що аденілатциклазна система (АЦС), загалом, відповідає за розвиток стресу на молекулярно-клітинному рівні, і порушення її функціонування відбиваються на ранніх стадіях розвитку патологічного стану в кардіоміоцитах. Більшість клініко-інструментальних методів діагностики не розкривають патогенетичних механізмів кардіальної патології, і тому питання ранньої діагностики серцевої недостатності, прогноз перебігу захворювання, а також контроль ефективності лікувальних заходів залишається відкритим. На сьогодні розробка моделей тестування певних ланцюгів, залучених в трансмембранній передачі сигналів, актуальна як для діагностичних цілей, так і для вибору шляхів терапевтичного впливу.

Мікрохвильова діелектрометрія області γ -дисперсії діелектричної проникності вільної води є прецизійним методом оцінки гідратації макромолекулярних білкових комплексів мембрани та біологічних рідин [7]. Ефективність застосування цього методу в діагностичному алгоритмі соціально значущих алергодерматозів [8], а також дилатаційної кардіоміопатії [9] підтверджена експериментами в умовах клініки на базі лабораторій алергології та біохімії ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України» та ДУ «Інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України».

Мета роботи – оцінка ефективності мікрохвильової діелектрометрії в алгоритмі донозологічної діагностики серцевої недостатності на основі дослідження діелектричної проникності суспензії еритроцитів в області γ -дисперсії діелектричної проникності вільної води.

Основні положення

В якості моделі для дослідження напруги адаптаційних механізмів при серцевій недостатності були обрані еритроцити, що обумовлено наявністю на їхній мембрані β -адренорецепторів, функціонально та структурно подібних до β -адренорецепторів мембрани кардіоміоцитів міокарда. Досліджувалась суспензія еритроцитів трьох груп пацієнтів: 1) група – пацієнти з підтвердженим діагнозом ДКМП (n=12), ІКМП (n=15); 2) група – пацієнти групи ризику, відібрані на основі анамнезу зі спадковою схильністю (n=23); 3) група – здорові донори (n=30). На попередньому етапі всім хворим та здоровим донорам проводилися рентгенологічні, ультразвукові та клініко-інструментальні дослідження; клінічний діагноз встановлювався на підставі анамнезу та клінічної картини. У всіх обстежених було отримано письмову згоду щодо участі в дослідженні. При виконанні роботи дотримувалися принципів та рекомендацій, прописаних у Гельсінській декларації прав людини та відповідних законах України про охорону здоров'я пацієнтів, моральні та етичні стандарти.

Моделювання напруги адаптаційних механізмів проводилося *in vitro* шляхом тестування мембранних β -адренорецепторів еритроцитів селективними стимуляторами, блокаторами та модуляторами клітинної відповіді за методикою, описаною в науковій роботі [10].

Вимірювання діелектричної проникності еритроцитів проводилося за допомогою апаратурно-реєструючого комплексу на базі НВЧ-діелектрометра (модифікація А-17) (рис. 1). Фіксована частота генерації діода Ганна $f = 37,7$ ГГц, яка належить області γ -дисперсії діелектричної проникності вільної води, при накладенні змінного електромагнітного поля, сприяє вимірюванню гідратації рецепторних макромолекулярних комплексів – вільної, або об'ємної води та зв'язаної води, яка є «реплікою» конформаційній структурі білків мембрани.

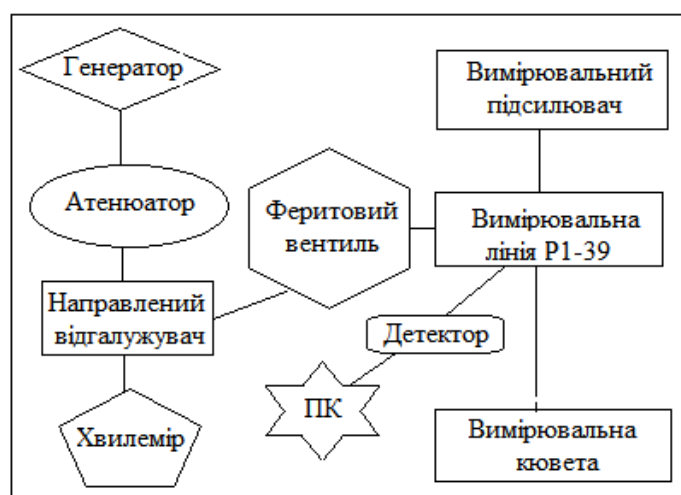


Рис. 1. Блок-схема апаратурно-реєструючого комплексу, модифікованого для вимірювання діелектричної проникності суспензії клітин та біологічних рідин

До складу генераторної частини НВЧ-діелектрометра входить генератор Ганна, атенюатор, направлений відгалужувач, хвилемір та феритовий вентиль. Вимірювальна частина

НВЧ-діелектрометра включає вимірювальну лінію з вимірювальною кюветою і вимірювальний підсилювач. Конструкція та розміри елементів вимірювальної кювети, а саме розміри, товщина та матеріал віконця кювети, висота робочого об'єму розраховані на основі експериментальних даних, а також результатів математичного моделювання на основі розв'язання задачі розсіювання електромагнітних хвиль [11]. Схема вимірювальної хвилевідної кювети без спеціальних затискачів та посадкових штифтів наведено на рис. 2.

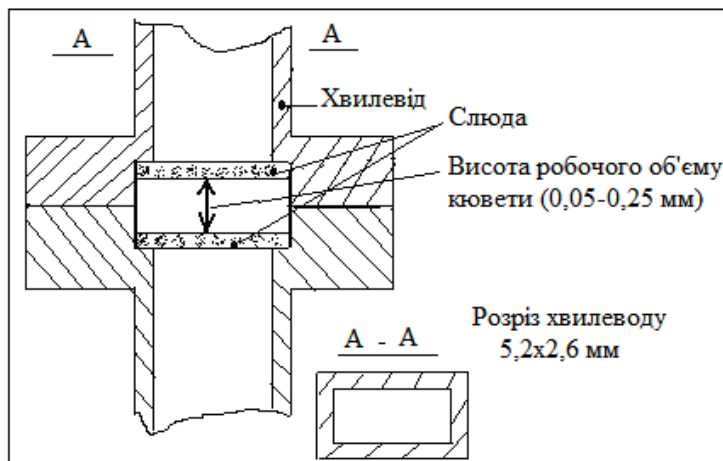


Рис. 2. Схема робочої частини хвилевідної вимірювальної кювети

У процесі діелектричних вимірювань знімали розподіл електричного поля за допомогою вимірювальної лінії P1-39 шляхом пересування зонда вздовж щілини вимірювальної лінії. На рис. 3 представлена схема хвилеводу на ділянці від вимірювальної лінії до кювети для розрахунку розподілу поля стоячої хвилі у хвилеводі.

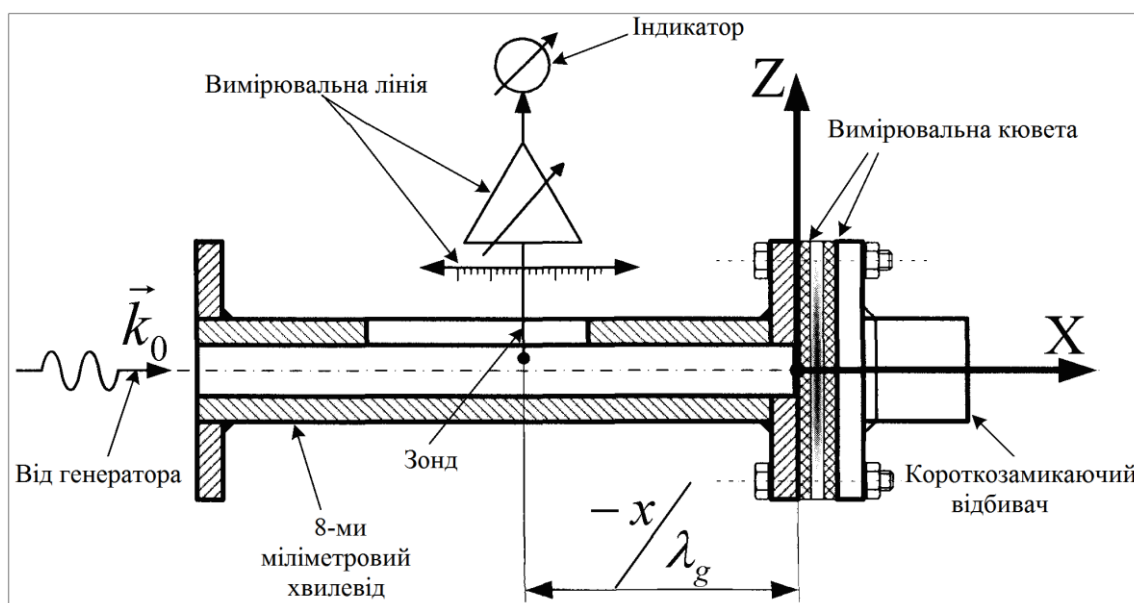


Рис. 3. Вимірювальна секція експериментальної установки, що складається з вимірювальної кювети, хвилевідної вимірювальної лінії та короткозамикаючого (КЗ) хвилевідного відбивача НВЧ-діапазону. Показано обрану систему координат (X, Z) та положення зонда по осі X вимірювальної лінії відносно вхідного вікна вимірювальної кювети, нормовану на довжину хвилі у хвилеводі $\lambda_g(x/\lambda_g)$. k_0 – хвильове число, що характеризує напрямок руху хвилі та періодичність поширення хвилі у просторі

Реєстрація та обробка експериментальних даних забезпечувалася персональним комп'ютером (ПК). Реєстрація електромагнітного відгуку від біологічної системи еритроцитів проводилася на ділянках спектра електромагнітного поля вільних від шумових спектрів навколишнього фону. Електромагнітний відгук – це сигнал, отриманий від суспензії еритроцитів, який реєструється на виході детектора хвилевідної лінії P1-39. Сигнал надходив з детектора

хвилеводної лінії P1-39 на підсилювач, з виходу якого через аналого-цифровий перетворювач (АЦП) подавався на персональний комп'ютер (ПК). В якості детектора використовувався діод 3A123 кристалічно-планарної структури з бар'єром Шоттки [12, 13]. Відносна похибка за ϵ' склала $\pm 0,5\%$, абсолютна похибка за ϵ' , після відповідної обробки із застосуванням програм накопичення та фільтрації, становила $\pm 0,008 \times 10^{-12}$ Ф/м.

Інтерпретація отриманих експериментальних даних полягала в тому, що процес взаємодії біорегуляторів з біологічною системою супроводжується збільшенням або зменшенням відносної кількості вільної води, що призводить до зміни реальної частини комплексної діелектричної проникності ϵ' . Вимірювання комплексної діелектричної проникності хвилевідним методом потребує також вимірювання уявної частини ϵ'' , але ці вимірювання пов'язані зі значною доробкою вимірювальної бази.

Отримані результати опрацьовували статистично. Проведено розрахунки середнього арифметичного (M), стандартного відхилення (m). За допомогою непараметричного U-критерію Манна – Уїтні визначали вірогідність отриманих результатів. Відмінності вважали статистично значущими за $p < 0,05$. Статистичну обробку результатів вимірювань проводили з використанням пакета прикладних програм Excel, Statistika 6.0 [14] та SigmaStat3.5.

Результати експериментальних спостережень та їх аналіз

Експериментальне дослідження суспензії еритроцитів хворих пацієнтів показало різницю в параметрах діелектричної проникності відносно практично здорових донорів (рис. 4, 5). У випадку групи пацієнтів з підтвердженим діагнозом ДКМП реєстрували нівелювання дії гормонального стимулятора – адреналіну внутрішньоклітинним модулятором ПГЕ2, що проявилось в значному зменшенні відносної кількості вільної води – $\Delta\epsilon' = 0,008 \pm 0,008 \times 10^{-12}$ Ф/м. Подібний захист мембрани еритроцитів проявився також і при комбінованій дії адреналіну та кордануму: $\Delta\epsilon' = 0,105 \pm 0,008 \times 10^{-12}$ Ф/м; цей ефект характерний для еритроцитів практично здорових донорів [15]. Одночасна дія трьох біологічних регуляторів (адреналін, ПГЕ2 та корданум) призвела до суттєвої блокади β -адренорецепторів, щоб протистояти надмірній активації адреналіном при пошкодженій регуляції АЦС, при цьому $\Delta\epsilon'$ склала $0,026 \pm 0,008 \times 10^{-12}$ Ф/м (рис.4).

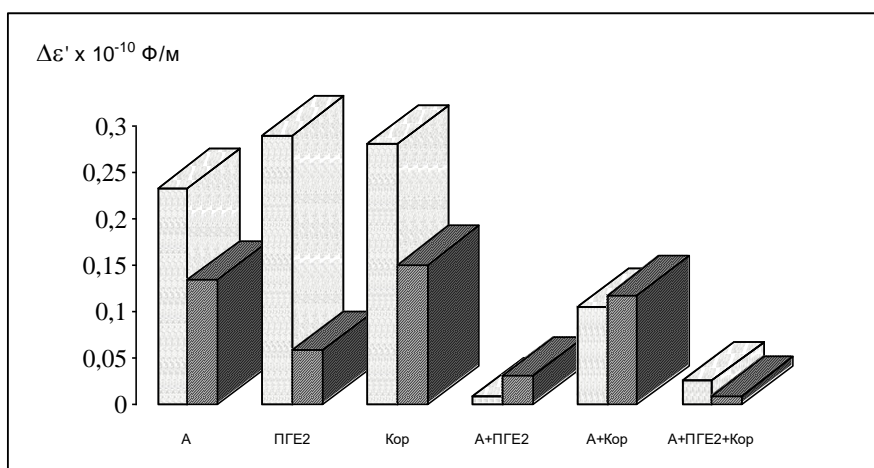


Рис. 4. Зміна діелектричної проникності від еритроцитів хворих на ДКМП (n=12, гістограми сірого кольору) та пацієнтів групи ризику (n=23, заштриховані гістограми) при специфічній стимуляції, модуляції та блокаді β -адренорецепторів мембрани клітин відносно зразків еритроцитів практично здорових донорів: А – адреналін, ПГЕ2 – простагландин E2, Кор – корданум. (абсолютна похибка за всіма значеннями ϵ' становить $\pm 0,008 \times 10^{-12}$ Ф/м). Відмінності за ϵ' відносно до показників контрольних зразків вірогідні ($p < 0,05$).

Зміна діелектричної проникності суспензії еритроцитів групи ризику була менш вираженою, але також спостерігалася тенденція до блокування β -адренорецепторів, особливо при комбінованій дії адреналіну, ПГЕ2 та кордануму, $\Delta\epsilon' = 0,009 \pm 0,008 \times 10^{-12}$ Ф/м. Аналізуючи

діелектричну проникність суспензії еритроцитів групи ризику, слід зазначити формування передумов до зміни в функціонуванні АЦС та розвитку серцевої недостатності, яку супроводжує ДКМП.

В умовах ІКМП ефекти блокування β -адренорецепторів – ПГЕ2 та корданумом були виражені слабше ніж при ДКМП, різниця в діелектричній проникності у випадку комбінованої дії адреналіну та ПГЕ2 склала $\Delta\varepsilon' = 0,088 \pm 0,008 \times 10^{-12}$ Ф/м, для випадку потрійної системи (А+ПГЕ2+Кор) $\Delta\varepsilon' = 0,008 \pm 0,008 \times 10^{-12}$ Ф/м (рис. 5). Тенденція до проявів серцевої недостатності внаслідок ІКМП також спостерігалася, як і при ДКМП, особливо при застосуванні потрійної системи (А+ПГЕ2+Кор), при цьому $\Delta\varepsilon'$ склала $0,009 \pm 0,008 \times 10^{-12}$ Ф/м

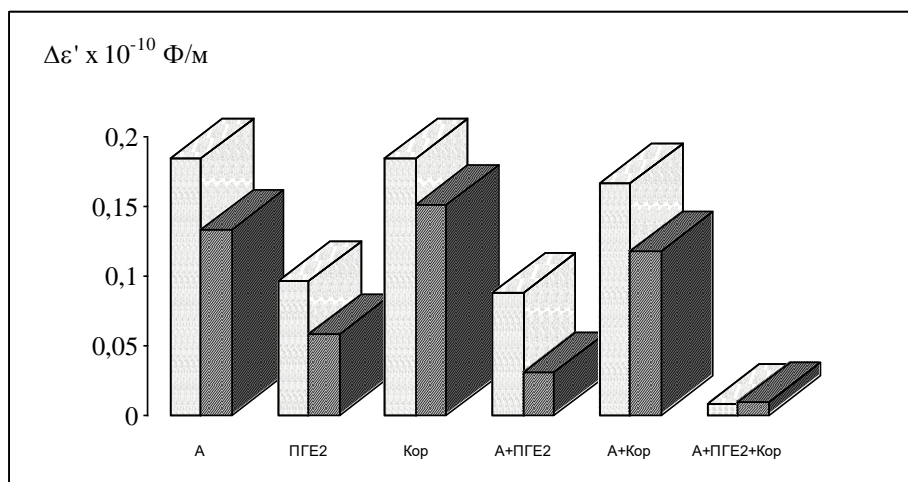


Рис. 5. Зміна діелектричної проникності від еритроцитів хворих на ІКМП (n=15, гістограми сірого кольору) та пацієнтів групи ризику (n=23, заштриховані гістограми) при специфічній стимуляції, модуляції та блокаді β -адренорецепторів мембрани клітин відносно зразків еритроцитів практично здорових донорів: А – адреналін, ПГЕ2 – простагландин Е2, Кор – корданум (абсолютна похибка за всіма значеннями ε' становить $\pm 0,008 \times 10^{-12}$ Ф/м). Відмінності за ε' відносно до показників контрольних зразків вірогідні (p < 0,05)

Таким чином, підхід на основі тестування селективними стимуляторами та блокаторами β -адренорецепторів внутрішньоклітинної сигнальної системи в області γ -дисперсії діелектричної проникності вільної води є ефективним для прогнозування змін на молекулярно-клітинному рівні, які є провісниками швидкоплинних процесів, що можуть привести до серцевої недостатності.

Висновки

Мікрохвильова діелектрометрія може бути запропонована як один із чутливих методів в алгоритмі донозологічної діагностики серцевої недостатності, при цьому параметр діелектричної проникності є надійним критерієм в розробці превентивних заходів для своєчасного попередження дисфункції міокарда.

Перспектива тестування порушень молекулярно-клітинних механізмів у клінічних умовах пов'язана із розробкою алгоритмів індивідуальної форми терапевтичної корекції при серцевій недостатності.

Список літератури:

1. Маракушин Д.І., Чернобай Л.В., Ісаєва І.М., Кармазіна І.С., Ващук М.А., Алексеєнко Р.В., Булініна О.Д., Зеленьська Г.М. Функціональні резерви організму як показник ефективності регуляторних процесів, що забезпечують адаптацію організму до дії факторів навколишнього середовища // Український журнал медицини, біології та спорту. 2020. Т. 5, №1(23). С. 21–28.
2. Maron B.J, Towbin J.A., Thiene G., Antzevitch C., Corrado D., Arnett D., Moss A.J., Seidman C.E., Young J.B. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American heart association scientific statement from the council on clinical cardiology, heart failure and transplantation committee; quality of care and outcomes research and functional genomics and translational biology interdisciplinary working groups; and council on epidemiology and prevention // Circulation. 2006. Vol. 113, No 14. P. 1807–1816.

3. Motiejunaite J., Amar L., Vidal-Petiot E. Adrenergic receptors and cardiovascular effects of catecholamines // *Annales Endocrinologie (Paris)*. 2021. Vol. 82, No 3-4. P. 193–197.
4. Boullaran C., Gales C. Cardiac cAMP: production, hydrolysis, modulation and detection // *Frontiers in Pharmacology*. 2015. Vol. 6.(203). Режим доступу: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2015.00203>
5. Martin J.Lohse, Stefan Engelhardt, Thomas Eschenhagen. What is the role of β -adrenergic signaling in heart failure? // *Circulation Research*. 2003. Vol. 93. P. 896–906.
6. Хроническая сердечная недостаточность: достижения, проблемы, перспективы / Л.Т. Малая и др. Харьков : Торсинг, 2002. 768 с.
7. Солошенко Э.Н., Кондакова А.К., Колесников В.Г., Хмель Н.В., Шевченко З.М., Ярмак Т.П., Беляев Г.М. Исследование параметров гидратации и поверхностного натяжения плазмы крови больных ограниченной склеродермией // *Дерматология и венерология*. 2015. № 1(67). С. 69–74.
8. Солошенко Е.Н., Кондакова А.К., Хмель Н.В., Колесников В.Г. Діагностичне значення методу визначення діелектричної проникності крові для виявлення сенсibiлізації до пеніциліну G і цефтріаксону // *Дерматология и венерология*. 2021. № 2 (92). С. 25–30.
9. Хмель Н.В., Алтухов А.Л., Колесников В.Г., Алтухов А.А. Визуализация трансдукции клеточного сигнала методом микроволновой диэлектротметрии при дилатационной кардиомиопатии // *Бионика интеллекта*. 2020. №1(94). С. 91–99.
10. Щеголева Т.Ю., Колесников В.Г., Древаль Н.В., Будянская Э. Н., Зюганова Л. Ф. Анализ ключевых механизмов систем регуляции клеток для разработки экспресс-тестов индивидуальных особенностей организма при популяционных исследованиях // *Експериментальна і клінічна медицина*. 2004. №1. С. 89–93.
11. Исследование диэлектрических характеристик биообъектов в миллиметровом диапазоне радиоволн / Т. Ю. Щеголева. Киев : Наук. думка, 1996. 187 с.
12. Древаль Н.В., Колесников В.Г., Каменев Ю.Ю., Філімонова А.О. Спосіб визначення впливу на біологічний об'єкт. Патент на корисну модель № 17488, МПК А61N 5/02, дата публікації 15.09.2006. Бюл. №9.
13. Древаль Н. В. Применение миллиметровых и субмиллиметровых радиоволн и их комбинации в исследовании биологических объектов : дис. ... канд. биол. наук: 03.00.02 / Древаль Наталия Владимировна. Симферополь. 2009. 163 с.
14. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ STATISTIKA / О. Ю. Реброва. Москва : МедиаСфера, 2000. 312 с. Режим доступа: https://www.studmed.ru/view/rebrova-oyu-statisticheskiy-analiz-medicinskih-dannyh_0149fe87d1d.html.
15. Хмель Н.В. Дослідження електромагнітного сигналу клітин методом мікрохвильової діелектротметрії при дилатационній кардіоміопатії / Н.В. Хмель, В.Г. Колесников, О.Л. Алтухов // *Матеріали 9-ї Міжнар. наук.-техн. конф. «Інформаційні системи та технології» ICT-2020, 17-20 листопада, Харків*. С. 115–118.

Надійшла до редколегії 02.05.2022

Відомості про авторів:

Хмель Наталія Володимирівна – канд. біол. наук, Харківський національний університет радіоелектроніки, доцент кафедри біомедичної інженерії, Україна; email: nataliia.khmil@nure.ua; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7916-5921>

Колесніков Володимир Григорович – канд. фіз.-мат. наук, Інститут радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова Національної академії наук України, старший науковий співробітник, Україна; email: kolesnik@ire.kharkov.ua; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7822-4774>

Алтухов Олександр Леонідович – канд. мед. наук, ДУ “Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої Національної академії медичних наук України”, завідувач рентгенологічного відділення, Україна; email: therapy@amnu.gov.ua