

УДК 53.083.91

DOI 10.30837/bi.2020.1(94).14

Н.В. Хмель¹, А.Л. Алтухов², В.Г. Колесников³, А.А. Алтухов⁴

¹Кандидат биологических наук, доцент кафедры биомедицинской инженерии,
Харьковский национальный университет радиоэлектроники,
просп. Науки, 14, Харьков, 61166, Украина, khmilnatali@gmail.com,
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7916-5921>

²Кандидат медицинских наук, заведующий рентгенологическим отделением,
Государственное учреждение “Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой
Национальной академии медицинских наук Украины”, просп. Любви Малой, 2а,
Харьков, 61039, Украина, therapy@amnu.gov.ua

³Кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник,
Институт радиопрофики и электроники им. А.Я. Усикова Национальной академии наук Украины,
ул. Ак. Проскуры, 12, Харьков, 61085, Украина, kolesnik@ire.kharkov.ua,
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7822-4774>

⁴Кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры аналитической химии,
Национальный фармацевтический университет, ул. Пушкинская, 53, г. Харьков, 61002,
Украина, mail@nuph.edu.ua

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ТРАНСДУКЦИИ КЛЕТОЧНОГО СИГНАЛА МЕТОДОМ МИКРОВОЛНОВОЙ ДИЭЛЕКТРОМЕТРИИ ПРИ ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

Представлены результаты обработки трансдукции клеточного сигнала в эритроцитах в условиях физиологической нормы и при развитии дилатационной кардиомиопатии. Проведена апробация метода микроволновой диэлектromетрии для визуализации электромагнитного сигнала от суспензии эритроцитов с помощью “sweep”-режима пьезо-кюветы в звуковом диапазоне частот $f=10\div 12000$ Гц. Оценивалась гидратация эритроцитов по параметру реальной части комплексной диэлектрической проницаемости ϵ' на частоте 37.7 ГГц. Использование стимулятора и модулятора β -адренергических рецепторов – адреналина и простагландина E_2 позволило смоделировать нарушение в системе трансдукции клеточного сигнала через аденилатциклазную систему эритроцитов *in vitro*. Анализ спектров электромагнитного отклика эритроцитов в “sweep”-режиме регистрировал отличия ϵ' в интактных и опытных образцах, а также при скрининге используемых добавок. Проведена верификация диэлектрических данных с данными эхокардиографии и рентгенографии, что позволило рекомендовать микроволновую диэлектromетрию как один из методов неинвазивной оперативной диагностики дилатационной кардиомиопатии.

ЭРИТРОЦИТЫ, ДИЛАТАЦИОННАЯ КАРДИОМИОПАТИЯ, ДИЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ ПРОНИЦАЕМОСТЬ, МИКРОВОЛНОВАЯ ДИЭЛЕКТРОМЕТРИЯ

Представлені результати обробки трансдукції клітинного сигналу в еритроцитах в умовах фізіологічної норми і при розвитку ділатативної кардіоміопатії. Проведено апробацію методу мікрохвильової діелектromетрії для візуалізації електромагнітного сигналу від суспензії еритроцитів за допомогою «sweep»-режиму п'єзо-кювети в звуковому діапазоні частот $f=10\div 12000$ Гц. Оцінювалася гідратація еритроцитів по параметру реальної частини комплексної діелектричної проникності ϵ' на частоті 37.7 ГГц. Використання стимулятора і модулятора β -адренергічних рецепторів – адреналіну і простагландину E_2 дозволило змоделювати порушення в системі трансдукції клітинного сигналу через аденилатциклазну систему еритроцитів *in vitro*. Аналіз спектрів електромагнітного відгуку еритроцитів в «sweep»-режимі реєстрував відмінності ϵ' в інтактних і дослідних зразках, а також при скринінгу використаних добавок. Проведена верифікація діелектричних даних з даними ехокардіографії і рентгенографії, що дозволило рекомендувати мікрохвильову діелектromетрію як один із методів неінвазивної оперативної діагностики ділатативної кардіоміопатії.

ЕРИТРОЦИТЫ, ДИЛАТАЦИОННАЯ КАРДИОМИОПАТИЯ, ДИЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ ПРОНИЦАЕМОСТЬ, МИКРОВОЛНОВАЯ ДИЭЛЕКТРОМЕТРИЯ

The results of processing the transduction of the cell signal in erythrocytes under physiological conditions and during development of dilated cardiomyopathy are presented. The microwave dielectrometry method was tested to visualize the electromagnetic signal from a suspension of erythrocytes using the “sweep”-regime of a piezoelectric cell in the sound frequency range $f=10\div 12000$ Hz. Erythrocyte hydration was estimated by the parameter of the real part of the complex permittivity ϵ' at a frequency of 37.7 GHz. The use of a stimulator and modulator of β -adrenergic receptors – adrenaline and prostaglandin E_2 allowed us to simulate a violation in the system of transduction of the cell signal through the adenylate cyclase system of erythrocytes *in vitro*. Analysis of the erythrocyte's electromagnetic response spectra in the “sweep”-regime recorded differences in the intact and experimental samples, as well as during the screening of the additives used. The dielectric data were verified with the data of echocardiography and radiography, which made it possible to recommend microwave dielectrometry as one of the methods of non-invasive operative diagnosis of dilated cardiomyopathy.

ERYTHROCYTES, DILATED CARDIOMYOPATHY, DIELECTRIC PERMEABILITY, MICROWAVE DIELECTROMETRY

Введение

Система внутриклеточной и межклеточной сигнализации обеспечивается сложными коммуникативными связями и когнитивными взаимодействиями между реагирующими звеньями, которые обуславливают эффективность метаболизма в условиях физиологической нормы и изменяются при патологии различного генеза. При этом клетка рассматривается как биосенсор, который получает, дифференцирует, а также обрабатывает, усиливает и выдает результирующую информацию на влияние определенного физико-химического фактора.

Разнообразные подходы к обработке информации, поступающей в биологическую систему клетки, стали возможны благодаря современным технологиям с аналого-цифровой обработкой сигналов, микропроцессорной технике в медицинской аппаратуре, компьютерному планированию, а также моделированию с использованием расчетных данных молекулярной динамики и метода Монте–Карло [1-3]. Привлечение современных автоматизированных инженерных инструментов (CASE – computer-aided software engineering tools), с помощью которых есть возможность строить диаграммы потока информации (DFDs – dataflow diagrams) и учитывать огромный поток поступающей и выходящей через цитоплазматическую мембрану клетки информации, также способствуют прецизионному анализу ее структурно-функциональных особенностей.

Цитоплазматическая мембрана клетки является совершенно организованной структурой, которая реализует многие функциональные задачи клетки, состоящие, прежде всего, в передаче и проведении информации, а также в осуществлении строгого обмена веществом и энергией с окружающей её внешней средой [4]. При этом, клеточный гомеостаз поддерживается регуляторными трансмембранными рецепторными системами, ионоселективными каналами и элементами диффузионных транспортных систем, а также электромагнитным и электростатическим полем мембраны. Это, в целом, обеспечивает слаженную внутриклеточную сигнализацию и работу функциональных систем [5-7].

Достичь понимания биологических и физико-химических закономерностей, которые определяют систему клеточной трансдукции, не представляется возможным без детальных исследований особенностей взаимодействия белковых макромолекул с водой. Белки функционируют в водной среде и эволюционно адаптированы к ней. Вода имеет принципиально важное значение, как в формировании активного состояния рецепторов, определяя их структуру и динамику [8, 9], так и участвует в регуляции специфического связывания внеклеточных сигнальных лигандов с рецепторами [10].

Понятие гидратации характеризуется как образование комплекса атомов или молекул с водой в виде устойчивого кристаллогидрата в определенном стехиометрическом соотношении. Гидратная оболочка гетерогенна по структурным и энергетическим признакам, она отражает структурно-динамические свойства макромолекул, результатом которых является перераспределение между количеством связанной с биополимерами воды и свободной водой [11].

Связанная вода, представляет собой слой, состоящий из десятков молекулярных слоев воды, формирующих водородные связи, как с полярными группами белка, так и между собой. Молекулы этого слоя обладают коллективными свойствами, пониженной подвижностью и временем релаксации около $t=10^{-9}$ сек. Меньшая диэлектрическая проницаемость связанной воды, по сравнению со свободной водой, объясняется с точки зрения молекулярно-динамических изменений вращательной подвижности диполей воды, и является результатом усиления энергии межмолекулярных связей в структуре связанной воды, что подтверждается методами неупругого рассеяния нейтронов и ядерного магнитного резонанса [12]. Свободная вода, напротив, частично взаимодействует с удаленными от внутренней части глобулы белка полярными аминокислотными остатками, и отличается по своим физико-химическим свойствам от связанной воды, в первую очередь, энергиями электронных, колебательных и особенно вращательных переходов, что отражается на увеличении диэлектрической проницаемости и уменьшении времени релаксации до $t=10^{-11}$ сек [13].

Известно, что гидратация макромолекулярных комплексов мембраны играет существенную роль в трансдукции клеточных сигналов, которые интенсивно исследуются в миллиметровом и субмиллиметровом диапазонах электромагнитного спектра [14, 15]. Характер и скорость взаимодействия электромагнитной волны с биологической системой клетки определяется, как параметрами излучения, а именно частотой излучения, скоростью распространения, когерентностью колебания, поляризацией волны, так и физическими свойствами биологической системы, как среды, в которой распространяется электромагнитная волна, а именно электрической проводимостью и диэлектрической проницаемостью. Эти физические параметры позволяют оцифровать пространственно-конформационные изменения, происходящие на макромолекулярных структурах клетки в реальном времени, что особенно важно для решения многих медико-биологических задач.

В данной работе рассматривается целесообразность использования микроволновой диэлектростатометрии в диагностике дилатационной кардиомиопатии (ДКМП), которая рассматривается как социально

значимая проблема современного общества, с частотой встречаемости 7.3-8.3 случая на 100 тыс. населения, что составляет до 50 % идиопатических кардиомиопатий [16]. Среди известных факторов риска развития ДКМП выделяют персистирующие воспалительные процессы, кардиотоксические, генетические факторы, а также аутоиммунные реакции, что связано, в определенной мере, с нарушением функционирования адренорецепторного комплекса цитоплазматической мембраны клеток, гетеротримерных G-белков и, в целом, аденилатциклазной системы [17].

Инструментальная и лабораторная диагностика ДКМП, основанная на результатах комплексного обследования пациента, вызывает определенные затруднения. Это связано с асимптомным течением заболевания и завуалированным общими симптомами недомогания и манифестирующими болями в области сердца истинным состоянием пациента, при котором симптоматика кардиомиопатии может начаться внезапно [18]. В связи с этим наибольшую актуальность приобретает разработка новых, высокоинформативных методов ранней диагностики и степени тяжести ДКМП, прогноза течения заболевания, а также контроля над эффективностью лечебных мероприятий. Современная отечественная техническая база способствует биоинженерным разработкам в этом направлении, для того чтобы надежно определять механизмы изменения клеточной регуляции и возникновение молекулярных дефектов в функционировании адренергических рецепторов кардиомиоцитов. Оперативное тестирование клеточных механизмов регуляции до клинических проявлений

заболевания сердца особенно важно, так как дает возможность выдать прогноз за несколько суток до возникновения кризисной ситуации и, тем самым, предупредить скоротечность событий при некрозе кардиомиоцитов в случае, например, острого инфаркта миокарда [19].

Поэтому цель настоящей работы состояла в рассмотрении эффективности применения аппаратно-регистрирующего комплекса на основе микроволновой диэлектromетрии для визуализации процессов трансдукции клеточного сигнала в области γ -дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды для ранней диагностики дилатационной кардиомиопатии.

1. Материалы и методы исследования

1.1. Методика измерения в области g -дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды

Комплексная диэлектрическая проницаемость $\epsilon^* = \epsilon' + i\epsilon''$ характеризует свойство молекул поляризовываться в электрическом поле. В переменном электромагнитном поле в диапазоне высоких частот $f = 10 \div 50$ ГГц (область дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды), наблюдается поляризация молекул воды, из-за свойственной ей инерционности; диполи воды начинают отставать от поляризующего поля. В токе смещения появляется компонента, сдвинутая по сравнению с поляризующим полем на 90° . Вследствие этого реальная часть комплексной диэлектрической проницаемости воды ϵ' уменьшается с 80.36 до 4.32 (в системе СГС) Как видно с рисунка 1, на используемой в эксперименте частоте $f=37.7$ ГГц, значение ϵ' воды при температуре $t=20^\circ\text{C}$ составляет 22; значение $\epsilon'' = 28$.

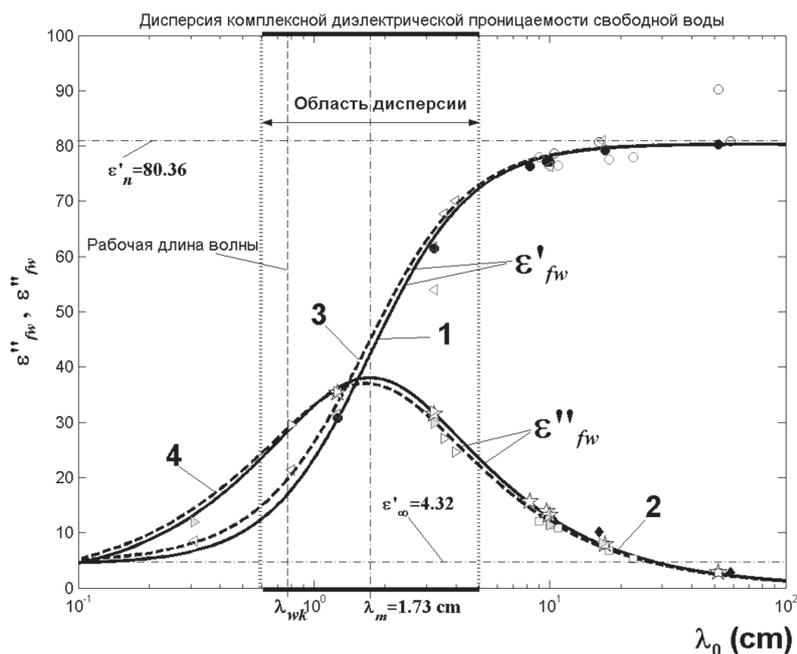


Рис. 1. Значения реальной ϵ'_{fw} (кривые 1 и 3) и мнимой ϵ''_{fw} (кривые 2 и 4) частей комплексной диэлектрической проницаемости ϵ^*_{fw} свободной воды, полученные при помощи моделей Дебая (сплошные линии 1 и 2), Коула-Девидсона (штриховые линии 3 и 4); точками различной конфигурации обозначены экспериментальные данные различных авторов

Существует значительное число моделей, описывающих дисперсию диэлектрических свойств полярных жидкостей [20]. Самые известные из них – это модели Дебая, Коула-Коула, Коула-Девидсона. Предложенная эмпирическая формула Коула-Девидсона, охватывает большое количество жидкостей, в том числе тех, к которым соотношения Дебая непосредственно не применимы.

$$\varepsilon_{f_w}^* - \varepsilon'_\infty = \frac{\varepsilon'_n - \varepsilon'_\infty}{\left(1 + i \frac{\lambda_m}{\lambda_0}\right)^\beta},$$

где $\varepsilon_{f_w}^*$ – комплексная диэлектрическая проницаемость изучаемой жидкости, ε'_n – предельная длинноволновая диэлектрическая проницаемость, ε'_∞ – предельная коротковолновая диэлектрическая проницаемость, λ_0 – рабочая длина волны, λ_m – длина волны, соответствующая максимуму поглощения и связанная с макроскопическим временем релаксации τ , β – эмпирический параметр, изменяющийся в пределах $0 \leq \beta \leq 1,0$ и связанный с коэффициентом распределения времён релаксации.

Для действительной ε'_{f_w} и мнимой ε''_{f_w} частей $\varepsilon_{f_w}^*$ получаем

$$\varepsilon'_{f_w} = \varepsilon'_\infty + (\varepsilon'_n - \varepsilon'_\infty)(\cos \xi)^\beta \cos \beta \xi;$$

$$\varepsilon''_{f_w} = (\varepsilon'_n - \varepsilon'_\infty)(\cos \xi)^\beta \sin \beta \xi,$$

где $\xi = \arctg \frac{\lambda_m}{\lambda_0}$.

Очевидно, что при $\beta = 1,0$ это соотношение переходит в хорошо известное уравнение Дебая, из которого следует

$$\varepsilon'_{f_w} = \varepsilon'_\infty + \frac{(\varepsilon'_n - \varepsilon'_\infty)}{1 + \left(\frac{\lambda_m}{\lambda_0}\right)^2}; \quad \varepsilon''_{f_w} = \frac{(\varepsilon'_n - \varepsilon'_\infty)}{1 + \left(\frac{\lambda_m}{\lambda_0}\right)^2} \left(\frac{\lambda_m}{\lambda_0}\right).$$

Параметры ε'_n , ε'_∞ и λ_m определяются по данным микроволновой диэлектromетрии для каждого конкретного вещества. Для случая свободной воды численные значения параметров моделей Коула-Девидсона и Дебая представлены в таблице 1.

Таблица 1

Значения параметров моделей Коула-Девидсона и Дебая для свободной воды

Параметр	Значение параметра
Температура t °С	~ 20 °С
предельная длинноволновая диэлектрическая проницаемость $\varepsilon'_n = \varepsilon'_{f_w}(\lambda_0 \rightarrow \infty)$	80.36
предельная коротковолновая диэлектрическая проницаемость $\varepsilon'_\infty = \varepsilon'_{f_w}(\lambda_0 \rightarrow 0)$	4.32
длина волны λ_m	1.73 см

Абсолютные значения реальной ε'_{f_w} и мнимой ε''_{f_w} частей комплексной диэлектрической проницаемости $\varepsilon_{f_w}^*$ свободной воды при выбранном значении рабочей длины волны $\lambda_0 = \lambda_{wk}$ приведены в таблице 2.

Таблица 2

Абсолютные значения реальной и мнимой частей комплексной диэлектрической проницаемости при выбранном значении рабочей длины волны

Модель дисперсии	β	Рабочая длина волны λ_{wk}	ε'_{f_w}	ε''_{f_w}
Дебая	1.0	7.56 мм	16.51	27.90
Коула-Девидсона	0.94	7.56 мм	19.22	28.50

Из таблицы 2 следует, что на рабочей длине волны $\lambda_{wk} = 7.56$ мм с экспериментом лучше совпадают значения ε'_{f_w} из модели Коула-Девидсона; ε''_{f_w} из модели Дебая [21].

В отличие от области дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды (γ -дисперсия), релаксационные процессы полярных органических биополимеров, таких как белковые макромолекулы, лежат в диапазоне частот $1 \text{ МГц} < f < 10 \text{ МГц}$ (β -дисперсия), при α -дисперсии происходит поляризация целых клеток, что соответствует области низких частот $0,1 \text{ кГц} < f < 100 \text{ кГц}$, поэтому вклад этих компонентов в релаксацию молекул воды незначителен.

1.2. Метод микроволновой диэлектromетрии

Одним из основных технологически обеспеченным участком γ -дисперсии свободной воды является частота $f = 37.7$ ГГц (8-ми мм диапазон радиоволн). Для этой частоты имеется волноводно-элементная база и генерирующие устройства в широком спектре мощностей. Следует отметить, что крайне высокочастотный диапазон (КВЧ) имеет ряд преимуществ перед другими частями сверхвысокочастотного диапазона (СВЧ), одним из которых является существенно меньшие размеры измерительных кювет $V = 10$ мкл, что позволяет проводить скрининг биологических реагентов различного механизма действия в несколько раз больше в течение 2-3 минут каждый. На рис. 2 представлен аппаратно-регистрирующий комплекс для измерения диэлектрической проницаемости биообъектов волноводным методом с помощью измерительной линии P1-39, и непосредственно блок-схема КВЧ-диэлектromетра.

Конструкция и размеры элементов измерительной кюветы для абсолютных измерений ε в статическом режиме, как-то размеры окошек, толщина и материал окошек, высота рабочего объема рассчитаны на основе экспериментальных и расчетных данных, а также результатов математического моделирования на основе строгого решения задачи рассеяния электромагнитных волн [22]. Сигнал поступал с детектора волноводной линии P1-39 на усилитель, с выхода которого через аналого-цифровой преобразователь (АЦП), подавался на персональный компьютер (ПК). В качестве детектора использовался диод 3A123 кристаллическо-планарной структуры с барьером Шоттки. Относительная погрешность

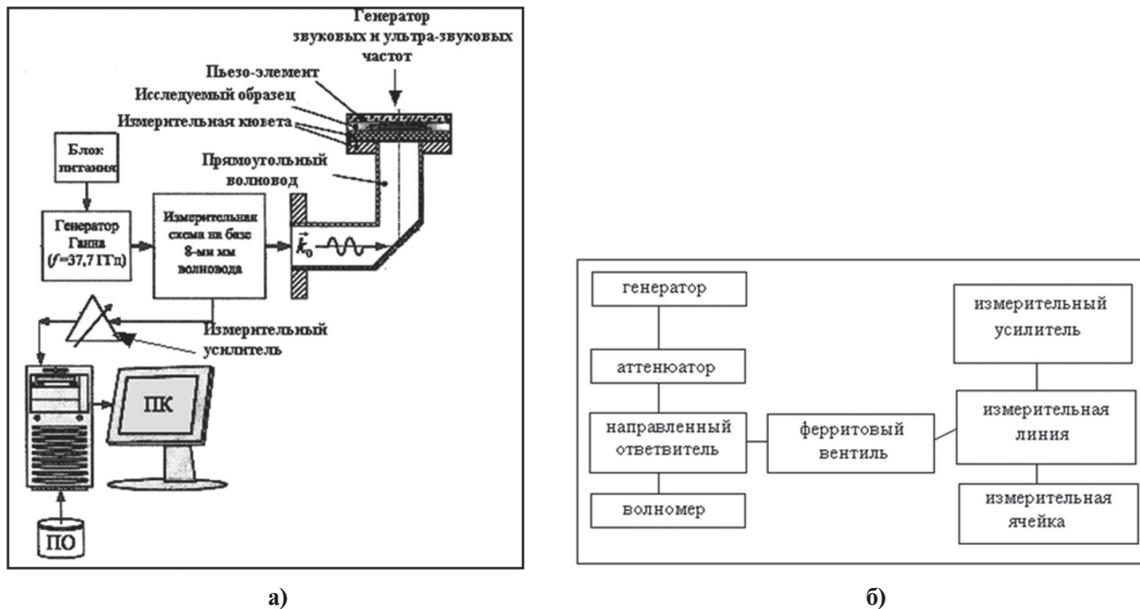


Рис. 2. Аппаратно-регистрарующий комплекс для измерений ϵ' в «sweep»-режиме акустических частот (а).
 Блок-схема КВЧ-диэлектromетра для абсолютных измерений ϵ' в статическом режиме (б)

по ϵ' составила $\pm 0.7\%$, абсолютная погрешность по ϵ' , после соответствующей обработки с применением программ накопления и фильтрации, составила $\pm 1.73 \cdot 10^{-12}$ Ф/м. Контроль и дополнительная калибровка производилась по дистиллированной воде.

Акустический «sweep»-режим — это изменение частоты акустических колебаний волноводной пьезо-кюветы по заданному модуляционному закону в соответствии с программой эксперимента. Необходимость применения акустического «sweep»-режима и измерительной кюветы объемом $V = 167 \pm 5$ мкл была продиктована установлением в измерительной кювете с суспензией эритроцитов стоячих и бегущих волн, чтобы после определения минимума и максимума характеристических частот, перейти к определению диэлектрической проницаемости эритроцитов. Эксперимент был поставлен таким образом, что электромагнитная волна мм-диапазона отражалась от поверхностного слоя суспензии эритроцитов, при этом пьезо-платформа модулировалась акустическими частотами в диапазоне $f = 10 \div 12000$ Гц. Пьезо-кювета помещалась в раскрыв выхода переходного круглого 8-мм волновода; объем исследуемой суспензии или соответствующих контрольных жидкостей составил $V = 167 \pm 5$ мкл.

1.3. Регистрация электромагнитного сигнала

Во время регистрации электромагнитного отклика от суспензии эритроцитов была использована система временного накопления сигнала в файле при одновременном графическом выводе самого сигнала и его спектра в реальном режиме времени. Обработка полученных данных проводилась с помощью программ накопления электромагнитного сигнала биологической системы эритроцитов из под шумов, анализа оцифрованных данных с последующей обработкой путем применения алгоритма

быстрого преобразования Фурье. Результат одного опыта представлял собой массив данных емкостью от 30 Мб до 80 Мб, который обрабатывался с помощью быстрого Фурье преобразования с функцией фильтра Blackmann-Harris. Максимальное разрешение по акустической частоте при построении частотного анализа не более $f = \pm 0.07$ Гц при длительности трека не менее 17 сек.

1.4. Объекты исследования

Эритроциты являются информативными объектами развития патологии различного генеза, их качественные и количественные характеристики используются как критерии оценки функционального состояния организма, а также сигнальных клеточных систем [23-25]. В данной работе использовали суспензию эритроцитов венозной крови 25 больных ДКМП в возрасте от 30 до 55 лет. Контрольную группу составили интактные образцы крови 13 практически здоровых доноров. Интактные и опытные образцы эритроцитов были получены путем центрифугирования венозной крови в течение 15 минут при 3000 об./мин., затем были стабилизированы 3.8 % раствором цитрата натрия. Трансдукцию клеточного сигнала моделировали в системе «эритроцит-биологическая добавка», в качестве которой использовали водные растворы адреналина и простагландина E_2 . Выбор биологических добавок связан с механизмом действия этих веществ на компоненты аденилатциклазной системы эритроцитов с проявлением эффектов активации и модулирования функции непосредственно адренорецепторов. Постановка эксперимента, обработка и анализ экспериментального материала проводились на базе НИИ терапии им. Л. Т. Малой НАМН Украины. Интерпретация полученных экспериментальных данных основана на том, что процесс взаимодействия биорегуляторов с адренорецепторами

сопровождается увеличением или уменьшением количества свободной воды, что проявляется в изменении диэлектрической проницаемости.

2. Результаты и их обсуждение

Воздействуя различными биологическими добавками, была получена информация о функционировании аденилатциклазной системы эритроцитов при ДКМП по изменению диэлектрической проницаемости.

На основе анализа электромагнитного сигнала от суспензии эритроцитов, полученного из 279 сессий измерений, было показано, что для заданных геометрических размеров пьезо-кюветы и объемов исследуемых проб наиболее информативным оказался первый мод в диапазоне акустических частот $f = 20 \div 65$ Гц.

На рис. 3 показан пример совмещенных треков спектрально-временного поля электромагнитного сигнала от суспензии эритроцитов, помещенной в пьезо-кювету для моделирования и визуализации клеточного ответа интактного образца и опытного образца с добавкой адреналина, активирующей β -адренорецепторы (интактный образец – экспозиция эритроцитов $t = 0 \div 40$ сек и опытный образец – экспозиция эритроцитов с адреналином ($t = 40 \div 80$ сек)).

На рис. 4 представлена обработка совмещенных треков спектрально-временного поля суспензии эритроцитов, помещенной в пьезо-кювету (приведенного на рис. 3) для выявления различий сигнала в диапазоне акустических частот ($f = 20 \div 65$ Гц) при сравнении интактного образца и опытного образца с добавкой адреналина, активирующей аденилатциклазную систему.

В экспериментальных работах широко обсуждается этиология различных форм сердечной недостаточности, в том числе и ДКМП, с точки зрения молекулярной рецепции и нарушений трансдукции

внеклеточных сигналов через аденилатциклазную систему. Доказательством этому является уменьшение количества и плотности адренорецепторов, акцептирующих специфические лиганды на поверхности клеток, что, в свою очередь, сопровождается снижением собственно биохимической возможности аденилатциклазы к β -адренорецепторной стимуляции [26, 27].

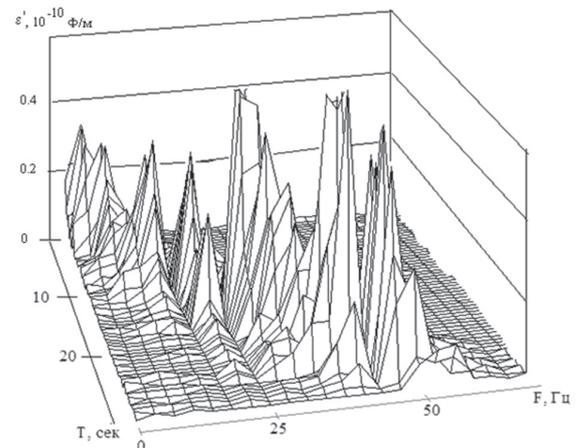


Рис. 4. Обработка совмещенных треков спектрально-временного поля суспензии эритроцитов опытного образца для выявления различий сигнала в диапазоне акустических частот $f=20 \div 65$ Гц с β -адренергической активацией адреналином по отношению к интактному образцу

По иммунологическим данным [28], у больных ДКМП выявляются антитела к β_1 -адренорецепторам и Са-каналам, под влиянием которых также может происходить снижение чувствительности аденилатциклазы. В этиологии ДКМП не исключается активация симпатико-адреналовой системы, результатом которой является возрастание в плазме крови уровня катехоламинов, например, адреналина и норадреналина. В этом случае проявляются механизмы защиты мембраны клеток от чрезмерного действия

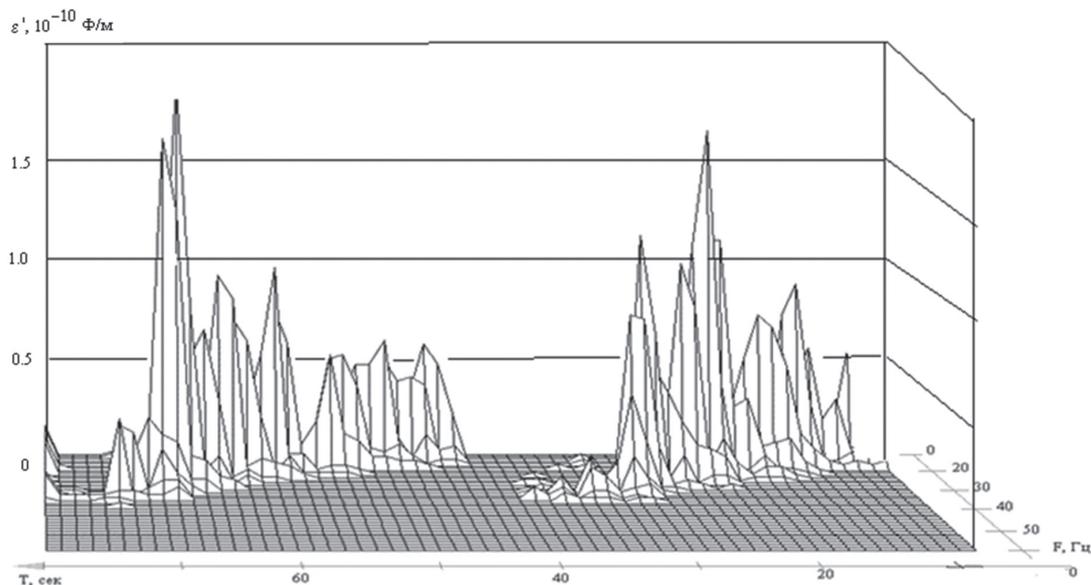


Рис. 3. Совмещенные треки спектрально-временного поля суспензии эритроцитов, помещенной в пьезо-кювету (справа – интактный образец, слева – опытный образец, экспозиция с адреналином)

катехоламинов, что сопровождается конформационными изменениями активных центров адrenoрецепторов с угнетением их молекулярной функции, а также снижением их числа и плотности [29, 30].

В нашей работе выбор модулятора внутриклеточных ответов – простагландина E_2 был не случаен, так как он обеспечивает механизмы нивелирования активности адrenoрецепторов при активации β -адrenoрецепторов мембраны эритроцитов адреналином практически здоровых доноров [31]. Методом микроволновой диэлектromетрии на эритроцитах крови больных ДКМП были обнаружены более выраженные механизмы защиты мембраны клеток простагландином E_2 от действия активатора β -адrenoрецепторов – адреналина. На рис. 5 представлен электромагнитный отклик суспензии эритроцитов с одновременным использованием адреналина и простагландина E_2 при акустическом скрининге пьезо-кюветы в диапазоне акустических частот $f = 20 \div 65$ Гц.

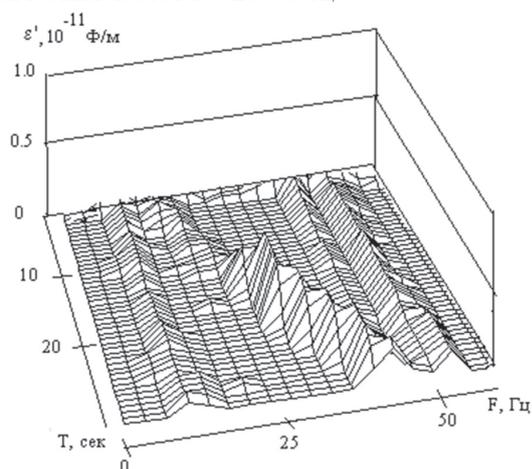


Рис. 5. Обработка совмещенных треков спектрально-временного поля суспензии эритроцитов для выявления различий электромагнитного отклика суспензии эритроцитов опытного образца с комбинированной добавкой адреналина и простагландина E_2 в диапазоне акустических частот $f = 20 \div 65$ Гц по отношению к электромагнитному отклику интактного образца

Результаты обработки клеточного сигнала от эритроцитов, при комбинированном влиянии адреналина и простагландина E_2 , надежно подтверждают гипотезу о модулирующей роли последнего, что проявляется в изменении параметра ϵ' . Уменьшение ϵ' до $0.5 \cdot 10^{-11}$ Ф/м объясняет нивелирующее действие простагландина E_2 при активации адреналином увеличением количества связанной воды на мембранных структурах эритроцитов по отношению к интактному образцу.

Параллельно с диэлектрическими исследованиями, методом эхокардиографии регистрировали развитие кардиомегалии. На рис. 6 представлен эхокардиографический М-профиль передне-систолического движения передней створки митрального клапана по направлению к перегородке и уменьшение амплитуды движения створок митрального клапана в диастолу. Как видно из рис. 6, на М-профиле выражена ассиметрия и гипертрофия левого желудочка: отношение толщины гипертрофированного участка (перегородка и свободная стенка) к толщине задней стенки в диастолу составило 1:3. Удлинение передней створки митрального клапана отразилось на уменьшении площади поперечного сечения выходного тракта левого желудочка и изменении сократимости задней стенки левого желудочка, что заметно сказалось на дилатации камер сердца и сниженном сокращении миокарда.

Диэлектрические измерения подтвердили появления эхокардиографических признаков дилатации и гипертрофии левого желудочка, при этом отмечали изменения со стороны β -адrenoрецепторного комплекса мембран эритроцитов регистрируемые по ϵ' . Данные по микроволновой диэлектromетрии: интактные образцы суспензии эритроцитов практически здоровых доноров $\epsilon' = 1.67 \cdot 10^{-10} \pm 0.023$ Ф/м (стандартное отклонение по 13 пациентам составило $1.77 \cdot 10^{-12}$ Ф/м) и опытные образцы суспензии эритроцитов больных ДКМП $\epsilon' = 1.78 \cdot 10^{-10} \pm 0.027$ Ф/м (стандартное отклонение по 25 пациентам

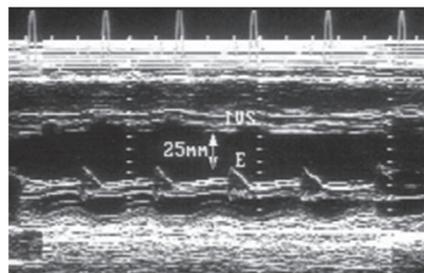
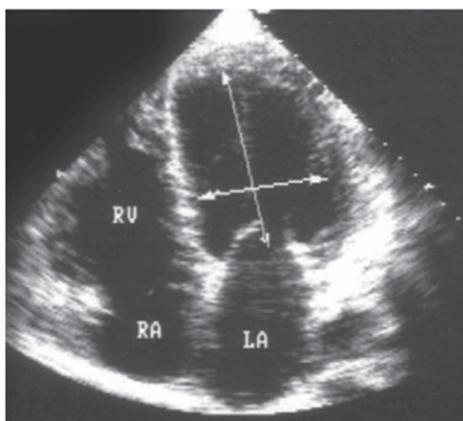


Рис. 6. Двухмерная эхокардиограмма при ДКМП. М-модальное эхокардиографическое исследование на уровне митрального клапана. Стрелками показаны геометрические размеры левого желудочка, RV – правый желудочек, LA – левое предсердие, RA – правое предсердие, IVS – межжелудочковая перегородка. Расстояние от E-пика передней створки митрального клапана до межжелудочковой перегородки 25 мм

составило $2.07 \cdot 10^{-12}$ Ф/м). При добавлении адреналина у практически здоровых доноров регистрировали $\epsilon' = 1.49 \cdot 10^{-10} \pm 0.025$ Ф/м (стандартное отклонение по 13 пациентам составило $2.7 \cdot 10^{-12}$ Ф/м), у больных ДКМП $\epsilon' = 1.7 \cdot 10^{-10} \pm 0.022$ Ф/м (стандартное отклонение по 25 пациентам составило $2.4 \cdot 10^{-12}$ Ф/м). Обнаруженная нами зависимость между активностью β -адренорецепторного комплекса и степенью выраженности гипертрофии левого желудочка свидетельствует о том, что состояние цитоплазматического рецепторного аппарата клетки может служить маркером молекулярных изменений во время ремоделирования желудочков.

Дилатационная кардиомиопатия с кардиомегалией также была подтверждена рентгенологическими исследованиями (рис. 7, рис. 8). Как видно из рис. 7 и рис. 8, сердце увеличено в размерах в обе стороны, шаровидной либо треугольной формы, правый атриовазальный угол смещен вверх, левый контур сердечной тени удлинен и выпуклый. Левый кардиодиафрагмальный угол острый либо прямой, выбухание второй дуги по левому контуру за счет расширения выходного отдела правого желудочка. Аорта узкая, гипопластичная, пульсации на ней снижены, снижены также пульсации по контурам сердца. В I косом положении, с контрастированием пищевода, отмечается увеличение левого предсердия 1-3 ст. по дуге большого радиуса. Во II косом положении контур левого желудочка накладывается либо выходит за тень позвоночника.

Прозрачность легочных полей (рис. 8) прогностически крайне неблагоприятный признак, поскольку развивается правожелудочковая недостаточность, застой по большому кругу кровообращения и как результат асцит, анasarка и гибель больного.

Эхокардиография и рентгенографические исследования традиционно используются в диагностических алгоритмах выявления сердечной недостаточности. Усовершенствование систем автоматизированной

компьютерной обработки эхокардиографических изображений способствует уменьшению временных затрат на обнаружение дисфункции миокарда и принятие решения кардиологом. Как показали результаты данной работы, микроволновая диэлектрметрия может дополнить диагностический алгоритм и выявить невидимые для этих методов нарушения в цитоплазматических рецепторных комплексах, проявляющиеся в диэлектрических параметрах на ранних этапах развития сердечной недостаточности. Таким образом, с помощью диэлектрметрии миллиметрового диапазона радиоволн есть возможность распознавать дефекты в молекулярных механизмах реализуемых аденилатциклазной системой. При этом диэлектрическая проницаемость может служить критерием развития патологического состояния в миокарде. Тестирование функции аденилатциклазной системы с использованием стимуляторов и модуляторов адренергической рецепции позволит *in vitro* заметить ранние проявления патологии в условиях неразрушающего контроля.

Выводы

Получены данные диэлектрической проницаемости суспензии эритроцитов, на основе которых есть возможность построить алгоритм нарушения системы трансмембранной передачи сигналов через β -адренорецепторный комплекс в кардиомиоцитах при ДКМП. Это позволит объективно оценить степень тяжести заболевания и контролировать эффективность лечебных мероприятий при ДКМП.

Микроволновая диэлектрметрия позволит повысить точность первичной, дифференциальной диагностики сердечной патологии; значительно сократить время обследования больных, является экономически выгодным методом.

Использование результатов исследования позволит решать большое количество задач как теоретической, так и прикладной медицины. Опираясь

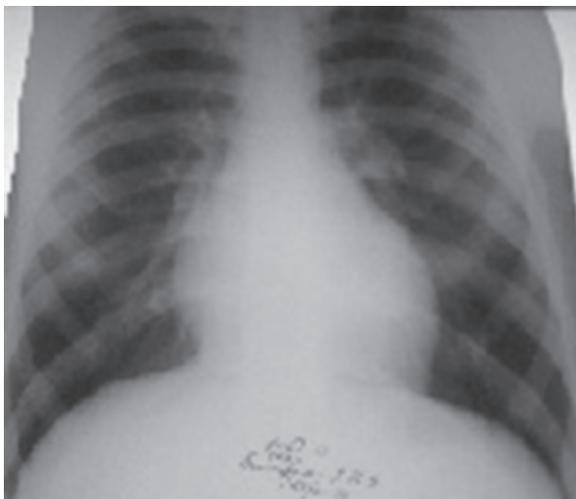


Рис. 7. Рентгенологическое исследование ДКМП с кардиомегалией I степени



Рис. 8. Рентгенологическое исследование ДКМП с кардиомегалией II степени

на знання фундаментальних основ механізмів регуляції на молекулярно-клеточному рівні, єсть можливість перейти к прикладним задачам об'єктивізації терапевтичного впливу для індивідуальної корекції терапії, прогнозування обострень і исхода при теченні захворювання.

Список літератури:

- [1] *Evstigneev M.P., Shestopalova A.V.* Structure, thermodynamics and energetics of drug-DNA interactions: computer modeling and experiment. In: Application of Computational Techniques in Pharmacy and Medicine; Series: challenges and advances in computational chemistry and physics.— 2014.— Vol. 17.— P. 21–58.
- [2] *Аврунін О.Г.* Принципи комп'ютерного планування функціональних оперативних втручань // Технічна електродинаміка, тем випуск «Силова електроніка та енергоефективність». — 2011. — Ч. 2. — С. 293–298.
- [3] *Аврунін О.Г., Бодяньський Є.В., Калашник М.В., Семенець В.В., Філатов В.О.* Сучасні інтелектуальні технології функціональної медичної діагностики.— Харків: ХНУРЕ, 2018.— 236 с.
- [4] *Образцов И.Ф., Ханін М. А.* Оптимальные биомеханические системы.— М.: Медицина, 1989.— 271 с.
- [5] *Morris A.J., Craig C.* Physiological Regulation of G Protein-Linked Signaling // *Physiological Reviews.*—1999.—Vol. 79.— № 4.— P. 1373–1430.
- [6] *Kobilka B.K., Deupi X.* Conformational complexity of G-protein-coupled receptors // *Trends Pharmacol Sci.*— 2007.— Vol. 28(8).—P. 397–406.
- [7] *Pardo L., Prosser R.S., Mueller L., Kobilka B.K.* Ligand-specific regulation of the extracellular surface of a G protein coupled receptor // *Nature.*— 2010.— Vol. 463.— P.108–112.
- [8] *Takano K., Yamagata Y., Yutani K.* Buried water molecules contribute to the conformational stability a protein // *Protein Eng.*— 2003.— Vol. 16(1).— P.5–9.
- [9] *Zhang L., Yang Y., Kao Y.T., Zhong D.* Protein hydration dynamics and molecular mechanism of coupled water-protein fluctuations // *J.Am.Chem. Soc.*— 2009.— Vol. 131(30).— P.10677–10691.
- [10] *Setny P., Baron R., Kekenes-Huskey P. M., McCammon J. A., Dzubiella J.* Solvent fluctuations in hydrophobic cavity-ligand binding kinetics // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.*— 2013.— Vol. 110.—P. 1197–1202.
- [11] *Аксенов С.И.* Вода и ее роль в регуляции биологических процессов.— М.: Наука, 1990.— 118 с.
- [12] *Swenson J., Jansson H., Hedstrom J., R Bergman.* Properties of hydration water and its role in protein dynamics // *J. Phys.: Condens. Matter.*— 2007.— Vol. 19(20).— P.1–9.
- [13] *Щеголева Т. Ю., Колесников В. Г., Васильева Е. В., Васильев Ю. М.* Применение миллиметрового диапазона радиоволн в медицине.— Х.: ХИМБ, 1999.— 233 с.
- [14] *Ebbinghaus S., Kim M., Heyden M., Yu X., Heugen U., Gruebele M., Leitner D. M., Havenith M.* An extended dynamical hydration shell around proteins // *PNAS.*—2007.— Vol. 104, № 52.— P. 20749 – 20752.
- [15] *Masson J., Sauviat M., Martin J., Gallot G.* Ionic contrast terahertz near-field imaging of axonal water fluxes // *PNAS.*— 2006.— Vol. 103, № 13.— P. 4808 – 4812.
- [16] *Mahon N.G., Murphy R.T., MacRae C. A., Caforio A.L., Elliott P.M., McKenna W.J.* Echocardiographic evaluation in asymptomatic relatives of patients with dilated cardiomyopathy reveals preclinical disease // *Annals of Internal Medicine.*—2005.— Vol. 143(2).— P. 108 – 115.
- [17] *Reichart D., Magnussen C., Zeller T., Blankenberg S.* Dilated cardiomyopathy: from epidemiologic to genetic phenotypes// *Journal of internal medicine.*— 2019.—Vol. 286, Issue 4.— P. 362 – 372.
- [18] *Барт Б.Я., Беневская В.Ф.* Дилатационная кардиомиопатия: клиника, диагностика и лечение // *Лечебное дело.*— 2005.— №1.— С. 3 – 9.
- [19] *Свиридова Е.В., Щеголева Т.Ю., Бахова Л.К., Васильев Ю.М.* Молекулярно-клеточные аспекты прогнозирования течения острого инфаркта миокарда // *Кардиология.*— 1993.— № 11.— С. 58 – 60.
- [20] *Ахадов Я. Ю.* Диэлектрические свойства чистых жидкостей.— М.: Издательство стандартов, 1972.— 412 с.
- [21] *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.
- [22] *Щеголева Т. Ю.* Исследование диэлектрических характеристик биообъектов в миллиметровом диапазоне радиоволн.— Киев: Наукова думка, 1996.— 187 с.
- [23] *Солошенко Э.Н., Кондакова А.К., Колесников В.Г., Хмель Н.В., Шевченко З.М., Ярмак Т.П.* Оценка диэлектрической проницаемости эритроцитов при выявлении сенсибилизации к анестезирующему средству артифрину с помощью метода КВЧ-диэлектрометрии // *Дерматология и венерология.*— 2013.— № 3 (61).— С. 32 – 37.
- [24] *Солошенко Э.Н., Дунаева А.Е., Мамотюк Е.М.* Морфометрические показатели эритроцитов и функциональное состояние их мембран у больных лекарственной болезнью // *Експериментальна клінічна медицина.*— 2001.— №3.— С. 67 – 72.
- [25] *Chetverykov G., Tereshchenko G., Konarieva I.* Detection of blood cells // *Бионика интеллекта.*— 2019.— № 1(92).— P. 26 – 30.
- [26] *Моисеев В.С., Киякбаев Г. К.* Кардиомиопатии и миокардиты.— М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.— 352 с.
- [27] *Терещенко В.П., Амосова Е.Н.* О морфогенезе дилатационной кардиомиопатии // *Мед. архив.*— 1987.—№.7.— С.25 –26.
- [28] *Рябенко Д.В.* Дилатационная кардиомиопатия // *Укр. кард. журн.*— 1998.—№.1.— С.70 – 76.
- [29] *Ribuer H.S., Plucikski D.A.* Adrenergic receptor // *Amer. J. Cardiol.*— 1985.— Vol.56.— P. 896 – 904.
- [30] *Куренная Г.С., Чекнёва Е.Е., Ткачук В.А.* -адренергический рецептор и аденилатциклаза // *Бюл. експерим. биол. и мед.*— 1987.— Том 104, №11.— С.590 – 594.
- [31] *Коноплева Л.Ф., Кошевский Ю.И.* Современные взгляды на патогенез и лечение больных с дилатационной кардиомиопатией // *Укр. кардиологический журнал.*— 1997.— №.5-6.— С.110 –115.

Поступила в редколлегию 02.06.2020