



УДК 615.225.2:615.31:547.419.5

В. В. Годован, Н. В. Кресюн

## ВИВЧЕННЯ ПРОТИАРИТМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН — ПОХІДНИХ ДИФОСФОНАТІВ ГЕРМАНІЮ Повідомлення 2

Одеський державний медичний університет

У попередній роботі [1] було показано, що дифосфонати германію з ніотиновою кислотою та нікотинамідом (МІГУ-4 і 5) практично не впливають на зміну максимально відтвореної частоти скорочення папілярного м'яза серця морської свинки, тобто не мають виразної антиаритмічної дії. На відміну від них дифосфонат германію з магнієм (МІГУ-6) виявив виразну протиаритмічну активність, що було доведено за допомогою методики MFF [2]. Проте з початком зміни форми скорочень при збільшенні частоти зовнішніх стимулювальних імпульсів оцінка тривалості періоду рефрактерності за  $\tau_1$  і  $\tau_2$  не є достатньою для підтвердження антиаритмічної дії БАР. Тому в даному дослідженні для подальшого вивчення активності МІГУ-6 нами було використано динаміку змін співвідношення A2/A1, а саме вплив сполуки на процеси реполяризації. Водночас оцінювали дію дифосфонату германію з магнієм у зростаючих концентраціях на міогенний автоматизм за допомогою реєстрації серії скорочень ворітної вени щурів.

### Матеріали та методи дослідження

На додаток до описаного у першому повідомленні [1] слід зауважити, що експерименти на препаратах ворітної вени щурів лінії Вістар масою 180–220 г виконувалися при 35 °С у модифікованому розчині Кребса такого складу в концентраціях у мілімолях на літр (мМ/л): NaCl — 133; KCl — 4,7; NaHCO<sub>3</sub> — 16,3; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1,38; CaCl<sub>2</sub> — 2,5; MgCl<sub>2</sub> — 1,2; глюкоза — 7,8; рН розчину — 7,4. Для виготовлення гіперкалієвого (60 мМ/л) розчину відповідну кількість іонів Na<sup>+</sup> замінювали на іони K<sup>+</sup>. Препарати ворітної вени завдовжки від 4 до 6 мм і масою 2–3,5 мг поміщали у проточну комірку. Реєстрацію скорочень ворітної вени здійснювали самописцем LKB-120 у прямокутній системі координат.

### Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження показали, що при збільшенні частоти стимуляції інтактного міокарда співвідношення A2/A1 зменшується, про що свідчать дані, наве-

дені на рис. 1. Так, збільшення частоти з 5 до 7 Гц привело до зменшення цього співвідношення на 34 % (P<0,05). Зменшення коефіцієнта співвідношення A2/A1 свідчить про вирівнювання амплітуди скорочення незавершеної фази реполяризації до завершеної. Перфузія ізольованої смужки розчином Тіроде з додаванням МІГУ-6 у концентрації 10<sup>-6</sup> М/л приводила до більш швидкого і більш вираженого зменшення співвідношення A2/A1 (рис. 2), яке при збільшенні частоти стимуляції лише на 1 Гц (з 5 до 6 Гц) становило 77,5 % (22,5 % порівняно з 9,4 % при стимуляції інтактного міокарда). При збільшенні частоти стимуляції до 7 Гц, яке відбувається за «повноцінним», скорочення не відтворюється. Проте збільшення концентрації досліджуваної сполуки до 10<sup>-5</sup> М/л приводило до зміни реакції міокарда на частоту стимуляції (рис. 3). Хоча швидкість зміни співвідношення A2/A1 залишається достатньо високою, показник цієї величини не досягає рівня контролю. Водночас при частоті стимуляції 7 Гц відновлюється відтворення скоро-



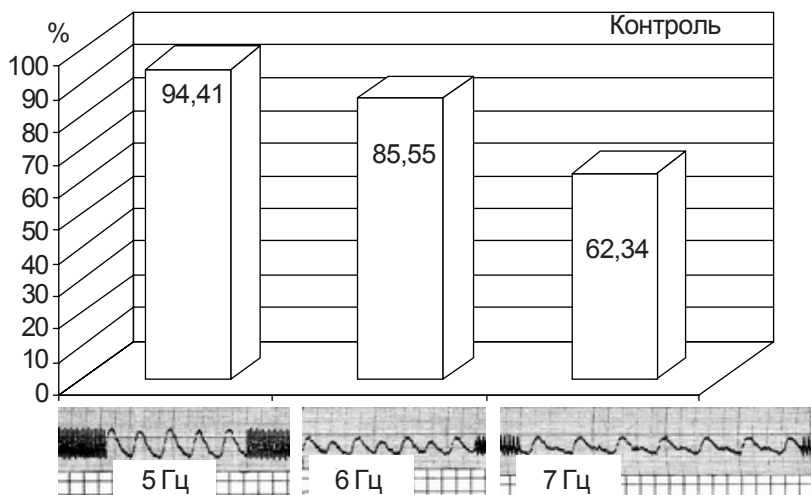


Рис. 1. Зміни співвідношення A2/A1 при збільшенні частоти стимуляції інтактного папілярного м'яза морської свинки при перфузії розчином Тіроде

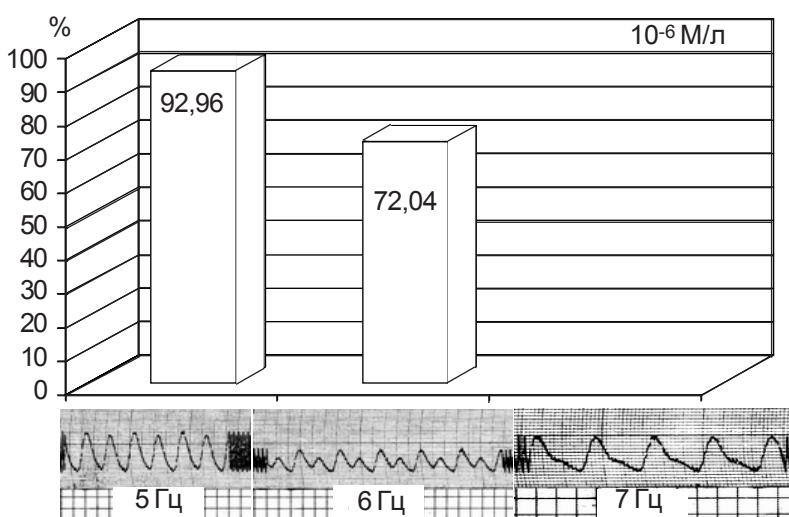


Рис. 2. Зміни співвідношення A2/A1 при збільшенні частоти стимуляції папілярного м'яза морської свинки при перфузії розчином Тіроде з додаванням МІГУ-6 у концентрації  $10^{-6}$  М/л

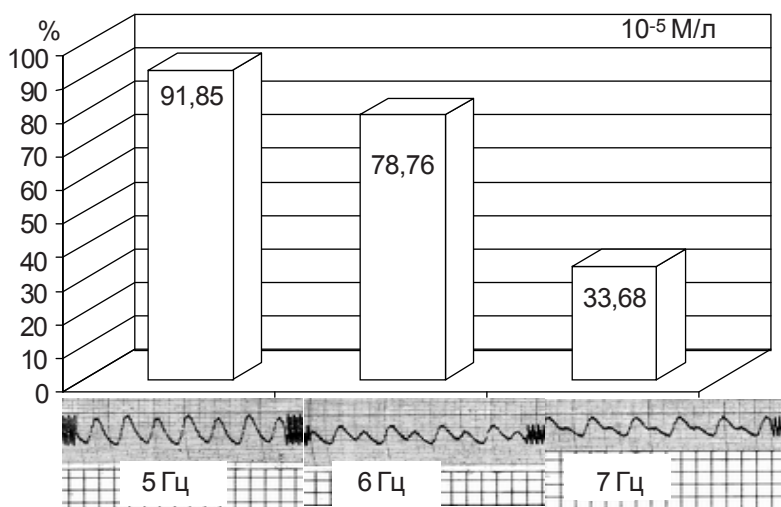


Рис. 3. Зміни співвідношення A2/A1 при збільшенні частоти стимуляції папілярного м'яза морської свинки при перфузії розчином Тіроде з додаванням МІГУ-6 у концентрації  $10^{-5}$  М/л

чення м'яза, яке настає за черговим «нормальним» скороченням.

При підвищенні концентрації МІГУ-6 до  $10^{-4}$  М/л співвідношення «повноцінного» і наступного скорочень зростає за рахунок зменшення амплітуди першого. Цей факт можна пояснити тим, що перше скорочення, з більшою амплітудою (A1), є неповноцінним, тобто розвивається при потраплянні імпульсу стимуляції на нереполаризований м'яз. Підтвердженням цього служить підйом базової лінії.

Отже, МІГУ-6 у концентрації  $10^{-6}$  і  $10^{-5}$  М/л в умовах даного експерименту виявляє виражену антиаритмічну активність і може служити для розробки нового протиаритмічного засобу.

Для дослідження можливого впливу МІГУ-6 на механізми генерації міогенного автоматизму нами використано ворітну вену щурів — об'єкт, який має спонтанну міогенну активність. Величина загального периферичного опору в системі кровопостачання, як відомо, залежить від тонуся так званих судин опору, головним чином артеріол і маленьких артерій діаметром менше 200 мкм. Цим судинам притаманний міогенний автоматизм, тобто спонтанна електрична і механічна активність у вигляді потенціалу дії (ПД) і фазних скорочень відповідно. Через малі розміри цих судин виникають неабиякі труднощі методичного характеру при дослідженні, для подолання яких запропоновано використовувати як модель гладком'язового компонента (ГМК) спонтанно активні резистивні судини поздовжнього шару гладком'язової оболонки ворітної вени [3–5]. Обґрунтуванню даного методу присвячена робота [6].

М'язова оболонка ворітної вени щура складається з поздовжнього і циркулярного прошарків завтовшки 60 і 15 мкм відповідно. Підтверджує на-

явність спонтанної активності міогенної природи у ГМК ворітної вени те, що вона не зникає після блокади альфа- і бета-адренорецепторів і хронічної денервації ворітної вени. Спонтанна ритмічна активність ворітної вени підтримується в експериментальних умовах *in vitro* протягом кількох годин без суттєвих змін, адекватно реагує на вплив (механічний, електричний, медикаментозний) і швидко відновлюється після нього.

Щільність і топографія іннервації ГМК ворітної вени та дрібних резистивних судин багато в чому подібні. Вони мають майже однакові за шириною синаптичні щілини; створена в них концентрація медіатора і механізми його ін активації також аналогічні. Гладком'язові волокна судин цих типів характеризуються однаковою чутливістю до розтягування (тобто відповідають активною міогенною реакцією) та зменшення позаклітинної концентрації іонів  $Ca^{2+}$  [6]. Без сумніву, доти, доки технічні та методичні перешкоди у вивченні ГМК резистивних судин маленького діаметра не буде усунуто, ГМК ворітної вени ще довго служитиме об'єктивною й адекватною моделлю ГМК спонтанно активних резистивних судин. Слід пригадати, що саме на ранніх етапах еволюції у круглоротих риб «Міксин» під печінкою розташовувалося так зване «печінкове серце», яке виконувало функцію насоса кровообігу. В подальшому в процесі еволюції цей орган трансформувалася у ворітну вену.

Для оцінки дії МІГУ-6 на міогенний автоматизм реєстрували серію скорочень ворітної вени щура при дії зростаючих концентрацій речовини. Тривалість запису кожної серії дорівнювала 560 с. Одержані дані обробляли з використанням одиничного аналізу Фур'є, який дозволяє виділити частоти основних міогенних пейсмей-

керних процесів. Результати цієї серії експериментів порівнювалися з аналогічними при запису скорочень *Venae Portae* у нормальному розчині Кребса.

Як свідчать результати аналізу, в діапазоні від 1 до 6 скорочень за хвилину, існують джерела кількох коливальних процесів із різними частотами коливань, які роблять приблизно однаковий внесок у загальну картину скорочення (рис. 4). Під впливом МІГУ-6 у концентрації  $10^{-6}$  М/л починає проявлятися і домінувати основна частота скорочень (при-

близно 3,23 скорочень за хвилину), але при цьому залишаються й додаткові «гармоніки», які беруть менш важливу участь у загальному автоколивальному процесі (рис. 5). Найбільш виразно дія БАР проявлялася у концентрації  $10^{-5}$  М/л. При цьому переважала одна основна частота скорочень, що приблизно дорівнювала 3,13 скорочень за хвилину (рис. 6). Водночас слід відмітити зниження показника основної частоти коливань і збільшення його розмаху при зростанні концентрації сполуки.

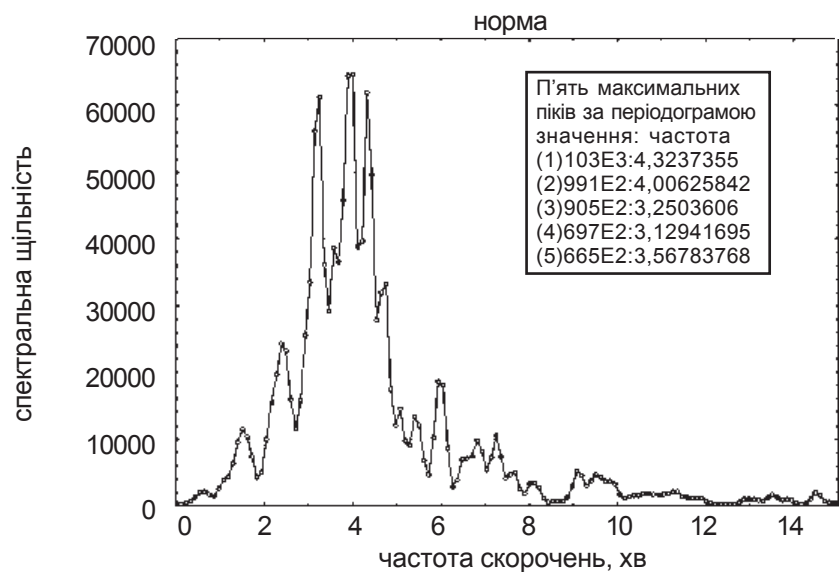


Рис. 4. Спектрограма серії скорочень ворітної вени в розчині Кребса  
Примітка. На рис. 4–7 тривалість запису 560 с.

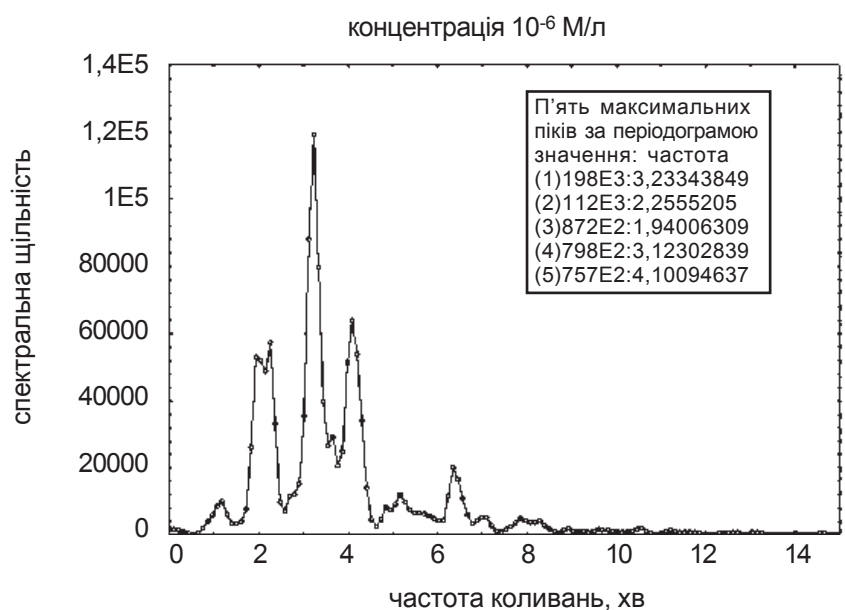


Рис. 5. Спектрограма серії скорочень ворітної вени в розчині Кребса з додаванням МІГУ-6 у концентрації  $10^{-6}$  М/л



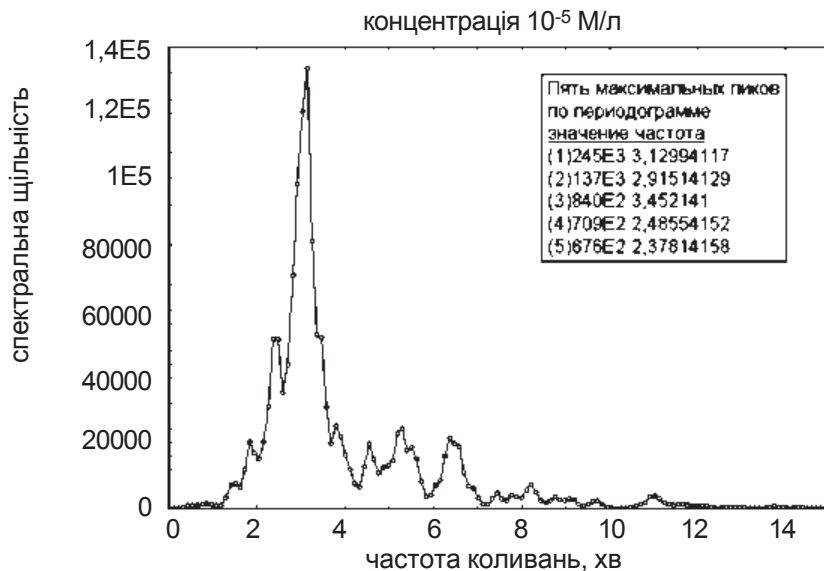


Рис. 6. Спектрограма серії скорочень ворітної вени в розчині Кребса з додаванням МІГУ-6 у концентрації  $10^{-5}$  М/л

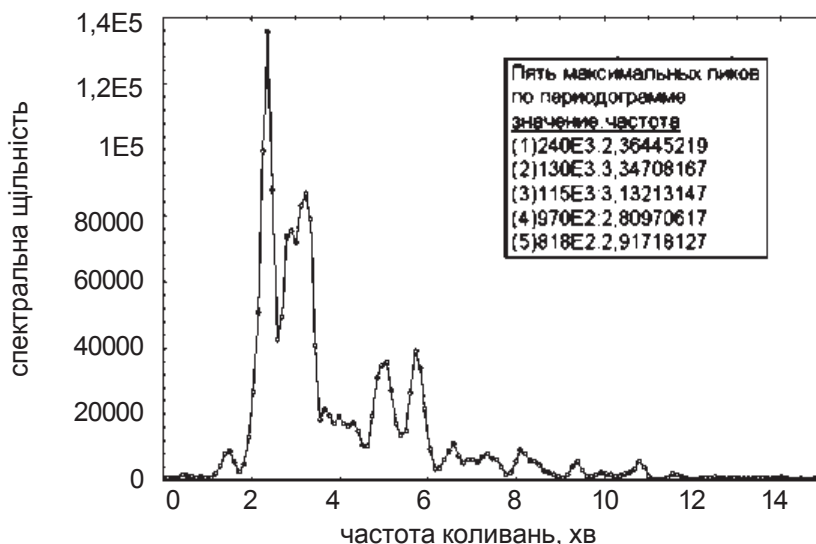


Рис. 7. Спектрограма серії скорочень ворітної вени в розчині Кребса з додаванням МІГУ-6 у концентрації  $10^{-4}$  М/л

Проте трохи несподіваною була дія МІГУ-6 у концентрації  $10^{-4}$  М/л (рис. 7). Хоча показник основної частоти коливань також знижувався, сумарний її внесок в інтегроване скорочення незначно зменшився за рахунок появи кількох доволі суттєвих джерел коливань із більш високими частотами. Однак, аналізуючи дію БАР на міокард у даній концентрації (збільшення співвідношення  $A2/A1$  за рахунок зменшення  $A1$  як результату неповної реполяризації), можна припустити, що за такої концентрації МІГУ-6 починає проявлятися

небажана дія, характер якої потребує подальшого дослідження.

### Висновки

1. Зменшення коефіцієнта співвідношення  $A2/A1$  свідчить про вирівнювання амплітуди скорочення незавершеної фази реполяризації до завершеної.

2. Перфузія ізольованої смужки папілярного м'яза розчином Тіроде з додаванням МІГУ-6 у концентрації  $10^{-6}$  М/л спричинює більш швидке і більш виражене зменшення співвідношення  $A2/A1$ . При збіль-

шенні частоти стимуляції до 7 Гц скорочення, наступне за «повноцінним», не відтворюється.

3. Збільшення концентрації досліджуваної сполуки до  $10^{-5}$  М/л приводить до зміни реакції міокарда на частоту стимуляції. Незважаючи на те, що швидкість зміни співвідношення  $A2/A1$  залишається достатньо високою, її значення не досягає рівня контролю.

4. Підвищення концентрації МІГУ-6 до  $10^{-4}$  М/л приводить до зростання співвідношення  $A2/A1$  (тобто «повноцінного» і наступного) за рахунок зменшення амплітуди першого. Цей факт пояснюється тим, що перше скорочення м'яза (з більшою амплітудою  $A1$ ) є неповноцінним, тобто розвивається при потраплянні імпульсу стимуляції на все ще нереполаризований м'яз. Отже, МІГУ-6 виявляє виражену антиаритмічну активність, яка ґрунтується на здатності збільшувати період реполяризації міокарда, при цьому оптимальними концентраціями є  $10^{-6}$ – $10^{-5}$  М/л.

5. Вивчення впливу МІГУ-6 на міогенний автоматизм за допомогою реєстрації серії скорочень ворітної вени щурів показало, що даній сполуці притаманна властивість впливати на пейсмеркерську активність, тобто на активність водія ритму в гладких м'язах ворітної вени. Цей вплив проявляється синхронізацією ритму вторинних водіїв з ритмом основної частоти, що виражається нормалізацією ритму скорочень.

6. В умовах даного експерименту МІГУ-6 у концентраціях  $10^{-6}$ – $10^{-5}$  М/л має виразну протиаритмічну активність, її можна вважати потенційним кандидатом для розробки нового антиаритмічного засобу.

7. Для того щоб з повною впевненістю інтерполювати одержані дані на пейсмеркерську активність інтактного серця (тобто *in situ*) потрібно провести додаткові експерименталь-



ні дослідження. На нашу думку, такими можуть бути дослідження біофізичних властивостей мембран кардіоміоцитів, впливу на відповідні іонні канали тощо.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Годован В. В., Кресюн Н. В. Вивчення протиаритмічних властивостей БАР — похідних дифосфонатів германію. Повідомлення 1. // Одес. мед. журнал. — 2005. — № 6. — С. 22-25.

2. *Observation on models used for the evaluation of antiarrhythmic drugs* / T. Baum, K. K. Eckfeld, A. T. Shropshire et al. // *Archives of International Pharmacodynamics*. — 1971. — Vol. 193. — P. 149-170.

3. *Johansson B., Ljung B. Sympathetic control of rhythmically active vascular smooth muscle as studies by nerve-muscle preparation of portal vein* // *Acta physiol. Scand.* — 1967. — Vol. 70, N 2. — P. 299-311.

4. *Hellstrand P., Johansson B., Norberg K. Mechanical, electrical and*

*biochemical effects of hypoxia and substrate removal on spontaneously active vascular smooth muscle* // *Acta physiol. Scand.* — 1977. — Vol. 100, N 1. — P. 69-83.

5. *Arner A. Energy turnover and mechanical properties of smooth muscle* // *Acta physiol. Scand.* — 1982. — Suppl. 505. — P. 62.

6. *Pegram B. L. The portal vein as a model for resistance vessels. Vascular neuroeffector mechanisms.* — N. Y.: Raven, 1980. — P. 231.

УДК 577.3

А. П. Енглезі

## ВПЛИВ МАГНІТНИХ ПОЛІВ НА ІОННИЙ БАЛАНС ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ УШКОДЖЕННІ

НДІ ТО Донецького державного медичного університету,  
Донецький національний університет

Останнім часом у нейробіології збільшується інтерес до слабких низькочастотних змінних магнітних полів (ЗМП) як терапевтичного засобу. Це зумовлено кількома причинами. Застосування ЗМП є неінвазивним засобом, а отже, не завдає додаткової травми, як, наприклад, вживлення електродів при електростимуляції. Воно не викликає больових відчуттів і його дію можна локалізувати в обмеженій ділянці та за обсягом. Основними методами магнітної стимуляції в нейробіології є транскраніальна магнітна стимуляція (ТМС) і магнітосудорожна терапія (МСТ). Ефект ТМС ґрунтується на здатності електричних сигналів різної частоти спричинювати тривалу депресію або потенціацію нейронів [1]. Це робить ТМС досить привабливим методом для корегування динамічних перебудов, механізмів навчання та

пам'яті, для зміщування активності в альтернативні нейронні сітки.

Разом із тим змінні магнітні поля меншої напруженості, ніж застосовувані в ТМС (близько 1,5 кЕ), мають біологічні ефекти, які можуть виявитися корисними в боротьбі з розвитком патологічних процесів при ушкодженні головного мозку, коли порушується водно-електролітний обмін. Вторинні патологічні процеси при черепно-мозкових травмах (ЧМТ) полягають у зростанні концентрації кальцію, тромбоксанів, простагландинів тощо [2; 3]. У зв'язку з цим, одним із найважливіших напрямків пошуку засобів зниження тяжкості патології в травмованій нервовій тканині є розробка методів корегування концентрації кальцію в ній. Ця обставина зумовлює наш інтерес до електричних і електромагнітних полів (ЕП та ЕМП), оскільки їх пер-

винну дію на біосистеми пов'язують із впливом на транспорт кальцію та інших іонів через клітинні мембрани.

### Теоретичні та експериментальні передумови застосування низькочастотної магнітної стимуляції при травмах нервової тканини

Вплив змінних електромагнітних полів на проникність мембран клітин досліджено як теоретично, так й експериментально. У [4] на стандартній математичній моделі мембрани показано, що зовнішнє змінне електричне поле може викликати зміну провідності іонних каналів, але тільки в тому разі, якщо частота прикладеного поля є близькою до деякої власної частоти. В інших теоретичних роботах [5; 6] дослідили зміну швидкості потоку кальцію через мембранні канали великих сферичних і

