



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **88416** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
G01N 1/28 (2006.01)
G01N 33/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 12966	(72) Винахідник(и): Груша Михайло Михайлович (UA), Романенко Олександр Вікторович (UA), Компанченко Надія Михайлівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 08.11.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.03.2014	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, бул. Шевченка, 13, м. Київ-4, 01601 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.03.2014, Бюл.№ 5	

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ МАКСИМАЛЬНОЇ ШВИДКОСТІ СКОРОЧЕННЯ ТА РОЗСЛАБЛЕННЯ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ КИШКИ ЛЮДИНИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

(57) Реферат:

Спосіб визначення максимальної швидкості скорочення та розслаблення гладеньких м'язів кишки людини в експерименті шляхом вимірювання кутів нахилу дотичних до експериментально зареєстрованої кривої ізометричного скорочення. Визначають тангенси максимального куту нахилу дотичної до кривої ізометричного скорочення в фазі наростання його амплітуди до ізолінії м'язового тону при скороченні гладеньком'язових клітин м'язового препарату і максимального куту нахилу дотичної до кривої ізометричного скорочення у фазі спаду його амплітуди до ізолінії м'язового тону при розслабленні гладеньком'язових клітин м'язового препарату, які є числовими коефіцієнтами вказаних характеристик скорочення.

UA 88416 U

Корисна модель належить до галузі експериментальної біології та медицини, а саме експериментальної фізіології людини і тварин, фармакології та біофізики, і може бути використана для визначення максимальних швидкостей скорочення та розслаблення гладеньких м'язів кишки людини та лабораторних тварин за умов ізометричного скорочення м'язового препарату в експерименті.

Однією з проблем сучасної біофізики, фізіології та фармакології органів травної системи є визначення за умови ізометричного скорочення м'язового препарату об'єктивних критеріїв зміни скоротливої активності гладеньких м'язів травної системи, які відіграють провідну роль у моторній активності кишечника [1-7]. Пошук таких критеріїв ініційований відсутністю одноманітності значень амплітуди та тривалості скоротливої реакції, а також тривалості розслаблення кожного окремого скорочення гладеньком'язового препарату, що досліджується. Розбіжності в значеннях амплітуди та тривалості скорочення зумовлені багатьма причинами, в тому числі залученням в скорочення різної кількості м'язових клітин, повільними хвилями деполаризації в гладеньких м'язах, частотою спонтанних потенціалів дії тощо [8-13]. Вказані фактори здатні в цілому змінювати вихідний стан смужки перед кожним скороченням, що і призводить до варіативності значень параметрів скорочень. Внесення в інкубаційне середовище, в якому розміщується м'язовий препарат, різних фармакологічних агентів, здатних взаємодіяти з рецепторами плазматичної мембрани нервових, інтерстиціальних та безпосередньо гладеньком'язових клітин у складі смужки гладеньких м'язів, здійснювати модуляцію активного стану та інактивації іонних каналів плазмолемми та ефективно впливати на утворення вторинних внутрішньоклітинних посередників, збільшує зазначену вище варіативність [14-16]. Таким чином, експериментальне внесення в середовище фармакологічного агента ускладнює зазначену систему і збільшує потребу в об'єктивних критеріях аналізу змін скоротливої активності гладеньких м'язів за експериментальних умов.

Одним з об'єктивних показників скоротливої активності ізольованих м'язових препаратів є визначення та порівняння за різних експериментальних умов максимальних швидкості ізометричного скорочення та швидкості розслаблення м'язової смужки.

За математичними та біофізичними розрахунками швидкість (V) є першою похідною від переміщення (S).

$$V = dS/dt \quad (1)$$

де t - час за який відбувається переміщення (c);

V - швидкість переміщення (m/c);

S - відстань, на яку відбувається переміщення (m).

Оскільки, за умови ізометричного режиму скорочення реєструється не зміна положення однієї ділянки смужки відносно іншої, а зміна напруження яке розвиває м'язовий препарат, то, відповідно V - відображає швидкість наростання напруження (сили) на фазі ізометричного скорочення та швидкість спаду напруження на фазі розслаблення гладеньких м'язів. Тоді формула (1) має вигляд:

$$V = dF/dt \quad (2)$$

де t - час, за який відбувається переміщення (c);

V - швидкість, з якою наростає або зменшується напруження в м'язовому препараті (H/c);

F - сила, яку розвиває м'язовий препарат (H).

За умови наявності режиму диференціювання підсилювачем електричного вхідного сигналу, який надійшов від м'язового препарату на реєстраційний прилад, паралельно з кривою зміни напруження відразу видається крива швидкості його зміни. Проте, оскільки значна кількість підсилювачів електричних сигналів, які використовуються для реєстрації м'язового скорочення, не обладнана виходом, здатним до диференціювання вхідного сигналу, то дослідники вимушені визначати швидкості за допомогою вимірів лінійних параметрів скорочення.

Найбільш близьким за технічною суттю до способу, що заявляється, є спосіб визначення максимальних швидкості ізометричного скорочення та швидкості розслаблення м'язового препарату шляхом вимірювання на паперовому носії довжини відрізка з лінійним наростанням (спадом) напруження та співвіднесення цього відрізка до інтервалу часу, за який відбувалася зміна напруження (15).

Задача, яку вирішує корисна модель, що пропонується, - цілеспрямоване визначення максимальних швидкості скорочення та швидкості розслаблення м'язового смужки в експерименті за умови відсутності у підсилювача електричних сигналів, який використовується

для реєстрації м'язового скорочення, виходу здатного провести диференціювання вхідного сигналу.

Технічний результат, який досягається, полягає у визначенні тангенсів (tg) максимальних кутів нахилу дотичних до експериментально зареєстрованої кривої ізометричного скорочення в ділянках наростання та спаду амплітуди скорочення гладеньком'язових клітин при скороченні м'язового препарату до ізолінії м'язового тонусу.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі визначення максимальних швидкості ізометричного скорочення та швидкості розслаблення м'язового препарату шляхом вимірювання на паперовому носії довжини відрізка з лінійним наростанням (спадом) напруження та співвіднесення цього відрізка до інтервалу часу, за який відбувалася зміна напруження, згідно з корисною моделлю, замість вимірювання на паперовому носії довжини відрізка з лінійним наростанням (спадом) напруження та співвіднесення цього відрізка до інтервалу часу, за який відбувалася зміна напруження встановлюють значення максимальних тангенсів (tg) максимального куту нахилу дотичної до кривої ізометричного скорочення в фазі наростання його амплітуди до ізолінії м'язового тонусу при скороченні гладеньком'язових клітин м'язового препарату і максимального куту нахилу дотичної до кривої ізометричного скорочення у фазі спаду його амплітуди до ізолінії м'язового тонусу при розслабленні гладеньком'язових клітин м'язового препарату.

Перевагами способу, який пропонується, є визначення числового значення лише однієї величини (кута нахилу дотичної) замість двох (довжиною відрізка лінійного наростання (спадом) напруження та відрізка інтервалу часу за який відбувається скорочення або розслаблення), відсутність потреби в отриманні графічного зображення ділянок з лінійним наростанням (спадом) сили скорочення та більш коректного визначення максимальних швидкості скорочення та швидкості розслаблення м'язового препарату, оскільки інтервал часу, на якому реєструються максимальні значення сили може виявитися досить коротким для подальших розрахунків, а зміни швидкості на ньому можуть мати нелінійний характер.

Сутність способу, що пропонується, пояснюється графічно на кресленні, на якому представлена ілюстрація розрахунку максимальних швидкості ізометричного скорочення та швидкості розслаблення м'язової смужки в експерименті, де:

1 - ізолінія вихідного м'язового тонусу;

2 - дотична до кривої ізометричного скорочення в ділянці наростання амплітуди скорочення препарату ізольованих гладеньком'язових клітин при скороченні м'язової смужки;

3 - дотична до кривої ізометричного скорочення в ділянці спаду амплітуди скорочення препарату ізольованих гладеньком'язових клітин при розслабленні м'язової смужки;

4 - крива ізометричного скорочення та розслаблення м'язового препарату ізольованих гладеньких м'язів;

α - максимальний кут нахилу дотичної до кривої ізометричного скорочення в ділянці наростання амплітуди скорочення препарату ізольованих гладеньком'язових клітин при скороченні м'язової смужки;

β - максимальний кут нахилу дотичної до кривої ізометричного скорочення в ділянці спаду амплітуди скорочення препарату ізольованих гладеньком'язових клітин при розслабленні м'язової смужки;

A - нормоване значення інтервалу часу тривалістю 1 с на паперовому носії (в мм);

B - нормоване значення сили величиною в 1 мН на паперовому носії (в мм).

Спосіб здійснюють таким чином:

На кривій скоротливої активності вибирають скорочення, в якому необхідно визначити максимальні швидкість ізометричного скорочення та швидкість розслаблення ізольованого м'язового препарату. До кривої ізометричного скорочення в ділянці наростання та спаду амплітуди скорочення препарату ізольованих гладеньком'язових клітин проводять дотичні з максимальним кутом нахилу до ізолінії м'язового тонусу.

Оскільки відомо, що геометричний сенс першої похідної від переміщення є тангенсом (tg) кута між вектором переміщення і вектором часу, за який відбулося це переміщення, то формула (1) набуває вигляду:

$$V = dS/dt = tgy \quad (3)$$

де t - час за який відбувається переміщення (с);

V - швидкість переміщення (м/с);

S - відстань, на яку відбувається переміщення (м);

$\operatorname{tg} \gamma$ - тангенс кута між вектором переміщення та вектором часу.

Оскільки за при ізометричному скороченні гладеньких м'язів ізольованого м'язового препарату реєструються зміни напруження (сили), яке розвиває м'яз, то формула (3) набуває загального вигляду:

$$V = dF/dt = \operatorname{tg} \gamma \quad (4)$$

де t - час, за який відбувається переміщення (с);

V - швидкість, з якою наростає або зменшується напруження в м'язовому препараті (Н/с);

F - сила, яку розвиває м'язовий препарат (Н);

$\operatorname{tg} \gamma$ - тангенс кута між вектором сили та вектором часу.

Виміряні тангенси (tg) максимальних кутів нахилу дотичних відносять до нормованих значень калібрувального сигналу в 1 с та 1 мН за загальною формулою (5):

$$V = A * \operatorname{tg} \gamma / B \quad (5)$$

де V - швидкість, з якою наростає або зменшується напруження в м'язовому препараті (мН/с);

$\operatorname{tg} \gamma$ - тангенс кута між вектором сили та вектором часу;

A - нормоване значення 1 с на паперовому носії (в мм);

B - нормоване значення 1 мН на паперовому носії (в мм).

Тоді, визначення максимальної швидкості скорочення м'язового препарату здійснюють таким чином: виміряють тангенс (tg) максимального кута нахилу дотичної до кривої ізометричного скорочення в ділянці наростання амплітуди скорочення до ізолінії м'язового тону (рис. 1) та розраховують числове значення швидкості скорочення за формулою (6)

$$V_1 = A * \operatorname{tg} \alpha / B \quad (6)$$

де V_1 - швидкість, з якою наростає напруження в м'язовому препараті (мН/с);

$\operatorname{tg} \alpha$ - тангенс кута між вектором сили в ділянці наростання амплітуди скорочення та вектором часу;

A - нормоване значення інтервалу часу тривалістю 1 с на паперовому носії (в мм);

B - нормоване значення сили величиною в 1 мН на паперовому носії (в мм).

Визначення максимальної швидкості розслаблення м'язового препарату здійснюють таким чином: виміряють тангенс (tg) максимального кута нахилу дотичної до кривої ізометричного скорочення в ділянці спаду амплітуди скорочення до ізолінії м'язового тону (рис. 1) та розраховують числове значення швидкості розслаблення за формулою (7)

$$V_2 = A * \operatorname{tg} \beta / B \quad (7)$$

де V_2 - швидкість, з якою наростає напруження в м'язовому препараті (мН/с);

$\operatorname{tg} \beta$ - тангенс кута між вектором сили в ділянці спаду амплітуди скорочення та вектором часу;

A - нормоване значення інтервалу часу тривалістю 1 с на паперовому носії (в мм);

B - нормоване значення сили величиною в 1 мН на паперовому носії (в мм). Таким чином, запропонований спосіб дає можливість більш коректно визначати максимальні швидкості скорочення та швидкості розслаблення м'язового препарату, що дає змогу поглиблено трактувати результати експериментів, в яких досліджується скоротлива активність вісцеральних гладеньких м'язів. Спосіб був апробований на кафедрі біології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

Джерела інформації:

1. Burdya Th. V. Kinetic analysis of smooth muscle relaxation / Th. V. Burdya, S.A. Kosterin // Gen. Physiol. Biophys. - 1991. - 10. - P. 589-598.

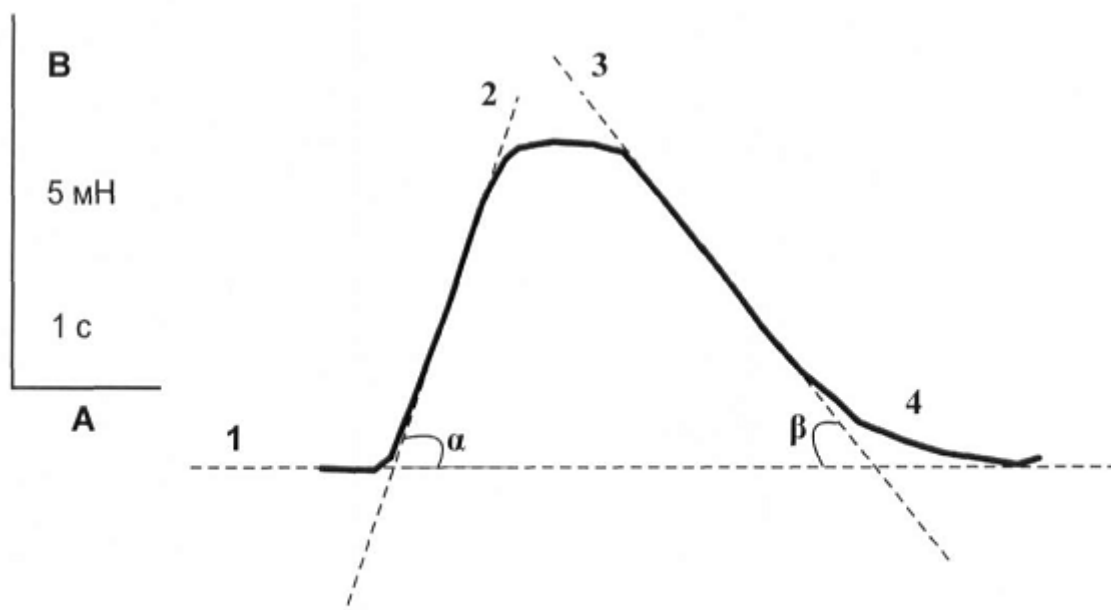
2. Сердюк О.М. Фазно-графічний аналіз скоротливості біометрію миші в умовах гестації / О.М. Сердюк, Ю.П. Бідзіля, Р.І. Янчій // Перспективи медицини та біології. - 2010. - т. II, № 2. - С. 151-154.

3. Li W. Effect of cholecystokinin and secretin on contractile activity of isolated gastric muscle strips in guinea pigs / W. Li, T.Z. Zheng, S.Y. Qu // World J. Gastroenterol. - 2000. - Vol. 6, № 1. - P. 93-95.

4. Цимбалюк О.В. Механокінетичні параметри скоротливої активності гладеньких м'язів саесум щура за умов хронічної дії каліксарену C107 in vitro / О.В. Цимбалюк, Р.В. Родік, В.І. Кальченко, С.О. Костерін // Фізика живого. - 2010. - т. 18, № 1. - С. 47-51.
5. Парфенюк Р.Р. Дискретний аналіз амплітуди сорочення гладеньких м'язів / Р.Р. Парфенюк. - Матеріали V Міжнародної науково-технічної конференції молодих вчених "Електроніка - 2012", 4-6 квітня 2012 р. (36. статей). - 2012. - С. 227-230.
6. Янчій Р.І. Моніторинг електрофізіологічних параметрів як спосіб аналізу проєктивної дії нового активатора K_{ATP} каналів міозитів сечоводу людини при аутоімунному ураженні / Р.І. Янчій, З.Д. Скрипнюк, А.Г. Мисюра та ін. // Електроника и связь. Тематический вып. "Электроника и нанотехнологии", Ч. 1. - 2009. - С. 208-215.
7. Давидовська Т.Л. Токсин стафілокока модулює регуляторні механізми скорочення-розслаблення кільцевих гладеньких м'язів товстого кишечника / Т.Л. Давидовська, О.В. Цимбалюк, М.С. Мірошніченко // Біополімери і клітина. - 2001. - т. 17, № 1. - С. 36-42.
8. Меленевська Н.В. Вуглецеві нанотрубки як модулятори спонтанної скорочувальної активності гладеньких м'язів кишечника / Н.В. Меленевська, О.В. Цимбалюк, О.В. Романенко, та ін. // Біотехнологія. - 2012. - т. 5, № 1. - С. 48-52.
9. Huizinga J.D. Two Independent Networks of Interstitial Cells of Cajal Work Cooperatively with the Enteric Nervous System to Create Colonic Motor Patterns / J.D. Huizinga, S. Martz, V. Gil et al. // Front. Neurosci. - 2011. - Vol. 5. - P. 1-14.
10. Kato T. Modulation of the activity of two pacemakers by transmural nerve stimulation in circular smooth muscle preparations isolated from the rat proximal colon / T. Kato, E. Nakamura, K. Imaeda and H. Suzuki // J. Smooth Muscle Res. - 2009. - 45, № 6. - P. 249-268.
11. Телина Э.Н. Гладкая мышца: особенности строения и функционирования / Э.Н. Телина, А.Р. Гиниатуллин, А.Л. Зефирова // Казань: КГМУ, 2006. - 60 с.
12. Tack J. Receptors of the enteric nervous system: potential targets for drug therapy / J. Tack // Gut. - 2000. - 47 (Suppl. IV). - P. iv20-iv22.
13. Goyal R.K. Targets of enteric motor neurons: smooth muscle cells / R.K. Goyal // Gut. - 2000. - 47 (Suppl. IV). - P. iv38-iv39.
14. Романенко О.В. Галоперидол усуває нехолінергічні скорочення гладких м'язів ободової кишки людини / Романенко О.В., Груша М.М. - Міжвід. Зб. "Гастроентерологія". - 2009. - Вип. 42. - С. 245-252.
15. Berridge M.J. Smooth muscle cell calcium activation mechanisms / M.J. Berridge // J. Physiol. - 2008. - Vol. 586, № 21. - P. 5047-5061.
16. Akimoto Y. The β_3 -adrenoceptor-mediated relaxation induced by dopamine in guinea pig taenia caecum / Y. Akimoto, T. Horinouchi, Y. Tanaka, and K. Koike // J. Smooth Muscle Res. - 2003. - Vol. 39, № 3. - P. 39-45.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 40 Спосіб визначення максимальної швидкості скорочення та розслаблення гладеньких м'язів кишки людини в експерименті шляхом вимірювання кутів нахилу дотичних до експериментально зареєстрованої кривої ізометричного скорочення, який **відрізняється** тим, що визначають тангенси максимального куту нахилу дотичної до кривої ізометричного скорочення в фазі наростання його амплітуди до ізолінії м'язового тону при скороченні гладеньком'язових клітин
- 45 м'язового препарату і максимального куту нахилу дотичної до кривої ізометричного скорочення у фазі спаду його амплітуди до ізолінії м'язового тону при розслабленні гладеньком'язових клітин м'язового препарату, які є числовими коефіцієнтами вказаних характеристик скорочення.



Максимальна швидкість ізометричного скорочення (мН/с): $V_1 = A \cdot \tan \alpha / B$.

Максимальна швидкість розслаблення (мН/с): $V_2 = A \cdot \tan \beta / B$.